

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

На правах рукописи

ТЮТЮННИК

Наталья Викторовна

**КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ПРЕЭКЛАМПСИИ НА ОСНОВАНИИ ИЗУЧЕНИЯ УРОВНЯ
АНТИГЛИКАНОВЫХ АНТИТЕЛ И УГЛЕВОДНОГО
ПРОФИЛЯ ПЛАЦЕНТЫ**

14.01.01 – акушерство и гинекология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук, доцент

КАН Наталья Енқыновна

кандидат биологических наук

ЗИГАНШИНА Марина Михайловна

Москва – 2019

Оглавление

Введение	3
Глава 1. Современные представления о патогенезе и перспективы диагностики преэклампсии	11
1.1. Этиология, классификация, клинико-патогенетические аспекты преэклампсии	11
1.2. Роль аутоантител в патогенезе преэклампсии	27
1.3. Прогнозирование, диагностика и профилактика преэклампсии	36
Глава 2. Материал и методы исследования	46
2.1. Материал исследования	46
2.2. Методы исследования	50
Результаты собственных исследований	
Глава 3. Исходная клинико-anamnestическая характеристика, акушерские и перинатальные исходы у беременных с преэклампсией	64
Глава 4. Течение гестационного периода и его исходы, клинико-патогенетические аспекты преэклампсии на основании определения антигликановых антител и углеводного профиля плаценты	76
4.1. Течение беременности, родов и послеродового периода, перинатальные исходы при преэклампсии	76
4.2. Особенности состава гликокаликса в тканях плаценты при преэклампсии	86
4.3. Характеристика антигликановых антител при преэклампсии	93
4.4. Формула прогноза развития умеренной преэклампсии на основании комплексного исследования антигликановых антител	100
4.5. Корреляционные связи между антигликановыми антителами и клинико-anamnestическими параметрами	104
Глава 5. Обсуждение полученных результатов	109
Выводы	134
Практические рекомендации	136
Список литературы	138

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В современных условиях основными задачами перинатального акушерства является снижение материнской и перинатальной заболеваемости [48, 52, 87, 207, 305]. Одним из самых грозных осложнений беременности является преэклампсия (ПЭ). Данный синдром в структуре причин материнской смертности занимает третье место и является одной из основных причин заболеваемости новорожденных [13, 75, 126, 196, 211].

Несмотря на развитие и внедрение в клиническую практику методов прогнозирования, профилактики, диагностики и лечения преэклампсии, ее частота не имеет тенденции к снижению [11, 14, 54, 163, 298, 306]. По мнению многих исследователей «на сегодняшний день, исходя из современных представлений, преэклампсия является мультисистемным патологическим состоянием, которое проявляется после 20-ой недели беременности, характеризуется артериальной гипертензией в сочетании с протеинурией ($\geq 0,3$ г/л в суточной моче), в частности, отеками, и проявлениями полиорганной/полисистемной недостаточности» [33, 68, 74, 93, 233, 291]. По данным И.С. Сидоровой и соавт. [66] и X. Wu et al. [148] «основным патогенетическим звеном в становлении преэклампсии является плацентарная ишемия, которая развивается вследствие неполноценной гестационной перестройки спиральных артерий в результате нарушения процессов инвазии трофобласта, а также засчет блокады спиральных артерий, к причинам которой относятся врожденные и приобретенные тромбофилии». Существенными последствиями плацентарной ишемии являются развитие системного воспалительного ответа, эндотелиальной дисфункции и иммунной дезадаптации. К наиболее яркому примеру гиперактивации иммунной системы при беременности и нарушению механизмов формирования толерантности к аллоантигенам плода относится преэклампсия [21, 42, 128, 167, 214, 226, 243].

Следует отметить, что, несмотря на значительные успехи, достигнутые в изучении особенностей функционирования врожденного и адаптивного

иммунитета при беременности, молекулярные механизмы, объясняющие феномен «неотторжения плода» изучены недостаточно. Одним из возможных механизмов, обуславливающих этот феномен, могут явиться адекватные углевод-белковые взаимодействия между клетками материнского и фетального происхождения. Такие взаимодействия возможны между функциональными углеводными остатками в составе О- и N-цепей трансмембранных гликоконъюгатов или гликанов формирующих гликокаликс клетки и белками иммунного (антитела) и неиммунного происхождения (эндогенные лектины) [3, 12, 92, 122, 154].

По мнению Д.Н. Водневой и соавт. [10] «выявление различных углеводсвязывающих белков и углеводных лигандов на клетках фетоплацентарной системы относятся к фактам, говорящие о важности роли лектин-углеводных взаимодействий в процессах ангиогенеза и плацентации». В настоящий момент, согласно данным П.С. Обуховой и соавт. [46] «в ходе анализа углеводного профиля плаценты у пациенток с нормальным течением беременностью было показано, что все структуры плаценты (цитотрофобласт, синцитиотрофобласт, эндотелиальные клетки, строма, базальная мембрана эндотелиоцитов, клетки Кащенко-Хофбауэра, и клеток трофобласта) имеют в своей структуре различные углеводные остатки» [46, 56, 179]. М.М. Зиганшина и соавт. [4] и Н.В. Бовин и соавт. [6] считают, что «изучение распределения гликанов в клетках плаценты у женщин с изменением артериального давления во время беременности, и при преэклампсии в том числе, выявило, что это изменение беременности характеризуется нарушенным профилем экспрессии углеводных фрагментов, обусловленным морфофункциональными изменениями в плацентарной ткани». Стоит отметить, что, несмотря на сделанные исследования в этой области, на данный момент не определены данные о характеристике и структуре углеводного профиля плаценты при преэклампсии в зависимости от ее степени тяжести [112, 150, 299].

Другим, неизвестным аспектом при беременности, является иммунный ответ на углеводные антигены. Провоспалительные воздействия, вследствие

развития синдрома системного воспалительного ответа (ССВО), изменяют молекулярное строение гликокаликса и внеклеточного матрикса, что по данным многочисленных исследований «проявляется в формировании связей гипогликозилированных углеводных структур и изменении структурных особенностей и функциональных углеводных остатков в составе гликанов гликокаликса и внеклеточного матрикса» [57, 97, 61, 92, 181, 267, 292]. Так, по данным ряда исследований, сделанных М.М. Зиганшиной и соавт. [12], «данные нарушения приводят к структурным изменениям гликанов, что в последующем способствует формированию DAMP (Danger Associated Molecular Patterns), то есть неоантигенов, к которым возможна организация аутоантитела, что влияет на изменение гомеостатического баланса в пуле естественных антител, существующий в норме» [46, 96, 134, 166]. Установлено, что «большинство естественных антител человека направлено к гликанам, а при патологических состояниях состав этих антител меняется» [19, 32, 57, 84, 187]. Такой же эффект может наблюдаться и при беременности. Однако в настоящее время этот вопрос изучен недостаточно.

Т.Ф. Боровская и соавт. [7] считают, что «гуморальные факторы иммунитета являются перспективными биомаркерами для малоинвазивной диагностики и прогноза развития преэклампсии. Кроме этого, их уровень в крови может являться параметром, который отражает активацию/супрессию иммунного ответа, что также является важным для изучения механизмов развития преэклампсии. Актуальным является поиск патогенетически значимых аутоантител, специфичность которых, наряду с исследованием углеводного профиля плаценты, позволит иметь представление о факторах развития данного осложнения беременности» [20, 111, 118, 159].

Таким образом, недостаточно изученным является исследование роли антигликановых антител и, связанного с их изменениями, углеводного кода плаценты в ранней диагностике и прогнозировании преэклампсии, что позволит снизить акушерские и неонатальные осложнения.

Вышеизложенные данные зарубежной и отечественной литературы говорят об актуальности предложенной темы исследования и дальнейшей перспективе изучения и внедрения полученных результатов в клиническую практику.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время преэклампсию называют «болезнью гипотез», так как известно огромное количество теорий ее развития. Наиболее признанной гипотезой по мнению А.И. Щеголева и соавт. «является нарушение инвазии трофобласта и дальнейшей плацентации» [10, 24, 56, 109, 179, 294]. При этом изменения во время беременности реконструкции спиральных артерий рассматривается как ранний, но при этом не обязательно первичный дефект, вызывающий развитие данного осложнения. Изучению клинко-патогенетических особенностей в диагностике преэклампсии уделяется особое внимание. В работах различных авторов показана роль антигликановых антител, и в том числе роль углеводного профиля плаценты при патологическом течении беременности [4, 19, 57, 92, 112].

Имеются данные о возможности изучения углеводных молекул или гликанов – самых распространенных органических соединений в организме, которые составляют основную массу внеклеточного матрикса и гликокаликса клеток, и встречаются как в свободном виде, так и в составе гликопротеинов и гликолипидов [6, 17, 46, 96, 100, 296]. Они участвуют в формировании межклеточных контактов, миграции клеток и иммунных реакциях, что обосновывает перспективность изучения гликома плаценты, представляющего собой совокупность гликанов.

Учитывая, что исследование гликома плаценты проводится после родоразрешения, особый интерес представляет поиск предикторов преэклампсии во время беременности, к которым относится антигликом – совокупность антител периферической крови, специфически связывающихся с гликанами.

Вышеизложенное послужило основой углубленного изучения данного вопроса в представленном нами исследовании.

Цель исследования

Оптимизировать диагностику преэклампсии на основании изучения уровня антигликановых антител и углеводного профиля плаценты.

Задачи исследования

1. Представить клинико-anamнестическую характеристику, особенности течения и исходы беременности, состояние плодов и новорожденных у пациенток с преэклампсией различной степени тяжести.
2. Разработать модель прогноза развития преэклампсии различной степени тяжести с учетом факторов риска.
3. Изучить особенности локализации и экспрессии гликанов в структурах плаценты (синцитиотрофобласте и эндотелии терминальных ворсин) при преэклампсии.
4. Определить содержание и спектр антигликановых антител в крови при физиологической беременности и при преэклампсии.
5. Оценить диагностическую ценность определения антигликановых антител для уточнения степени тяжести преэклампсии и разработать модель ее прогноза с учетом комплексного определения антигликановых антител.
6. Оптимизировать алгоритм ранней диагностики преэклампсии для снижения акушерских осложнений и улучшения перинатальных исходов.

Научная новизна

На основании проведенного комплексного клинико-лабораторного исследования определен вклад факторов риска и создана прогностическая модель развития преэклампсии.

Изучен и представлен углеводный профиль плаценты при преэклампсии различной степени тяжести.

Определен уровень антигликановых антител при физиологически протекающей беременности, с выделением спектра, ассоциированного с преэклампсией.

Проведение иммунологических и гистохимических параллелей позволяет уточнить новые звенья патогенеза с позиций нарушения иммунологиче-

ской толерантности и выделить наиболее значимые прогностические и диагностические критерии преэклампсии.

Теоретическая и практическая значимость работы

В работе уточнены клиничко-анамнестические предикторы развития преэклампсии. В результате проведенного исследования разработан и внедрен в клиническую практику современный алгоритм диагностики преэклампсии, основанный на проведении многофакторного анализа, включающего клинические, биохимические, иммунологические предикторы, для снижения акушерских осложнений и улучшения перинатальных исходов.

Применение современных методов диагностики и прогнозирования преэклампсии позволяет осуществлять тщательный клиничко-лабораторный контроль и своевременно выявить данное осложнение беременности.

Внедрение алгоритма диагностики преэклампсии в практику акушерских стационаров и перинатальных центров позволит снизить частоту осложнений беременности, родов и послеродового периода, перинатальной заболеваемости и смертности.

Положения, выносимые на защиту

1. Установлена прямая ассоциация развития преэклампсии с неразвивающейся беременностью в анамнезе, нарушением жирового обмена, хроническим пиелонефритом и угрозой прерывания с отслойкой хориона в I триместре беременности. Разработанная модель позволяет определить вероятность развития тяжелой преэклампсии с чувствительностью 78% и специфичностью 69%.

2. Преэклампсия характеризуется изменением углеводного профиля плаценты. При умеренной степени преэклампсии выявляются минимальные отличия от физиологической беременности. При тяжелом течении – отмечаются выраженные изменения, что может являться свидетельством нарушения плацентации.

3. При преэклампсии установлено снижение уровня естественных антигликановых антител. Выявленные изменения гуморального иммунитета

свидетельствуют о нарушенных механизмах регуляции физиологического гомеостаза при преэклампсии и указывают на различные патогенетические механизмы развития ее форм. Сочетания антигликановых антител (IgM + IgG) могут рассматриваться в качестве перспективных маркеров для диагностики, прогнозирования и верификации степени тяжести преэклампсии.

Личный вклад автора

Автор принимал прямое участие в определении и постановке целей и задач работы, разработке дизайна, систематизации данных литературы по теме диссертации и анализе клинико-анамнестических данных. Автор осуществлял ведение части пациентов в дородовом и послеродовом периоде, проводя родоразрешение и забор биологического материала. Диссертантом был произведен анализ медицинской документации, статистическая обработка различных 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, и 4 паспорта «акушерство и гинекология».

Апробация работы

Основные положения работы представлены на: XXI Всероссийском конгрессе с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь: от менархе до менопаузы» (Москва, 2015), VIII^{ом} и IX^{ом} региональных научных форумах «Мать и дитя» (Сочи, 2015, 2016), Всероссийском конгрессе с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая практика: диагностика, лечение, профилактика» (Москва, 2016), X^{ом} Юбилейном региональном научно-образовательном форуме «Мать и дитя» (Геленджик, 2017), 24th European Congress of Obstetrics and Gynaecology (Torino, Italy, 2016), XVI^{ом}, XVII^{ом} и XVIII^{ом} Российских форумах «Мать и дитя» (Москва, 2015, 2016, 2017), XII^{ом} международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 2018), Всероссийской конференции «Клиническая иммунология и

аллергология – практическому здравоохранению» (Москва, 2018), III^{ем} Всероссийском конгрессе «Аутоиммунные и иммунодефицитные состояния» (Москва, 2018).

В рамках конкурса молодых ученых XIX^{ого} Всероссийского научно-образовательного форума «Мать и дитя» (Москва, 2018) доклад занял 3 место.

Обсуждение диссертации состоялось на межклинической конференции сотрудников акушерских отделений (15 ноября 2018 года) и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России (19 ноября 2018 года, протокол № 12).

Внедрение результатов исследования

Практические рекомендации, основанные на результатах исследования, используются в работе акушерских отделений ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России. Материалы и результаты, полученные в ходе работы, используются в учебном процессе в виде практических занятий и лекций для клинических ординаторов, аспирантов, а также врачей различных регионов России, работающих в системе специализированной акушерско-гинекологической помощи.

Публикации результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 24 научные работы, в том числе 13 статей в рецензируемых научных журналах, определенных ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертация представлена на 170 страницах компьютерного текста. Работа состоит из введения, 5 глав, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 24 таблицами и 27 рисунками. Библиографический указатель включает 310 работ цитируемых авторов, из них 81 на русском языке и 229 на иностранных языках.

Глава 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДИАГНОСТИКИ ПРЕЭКЛАМПСИИ (обзор литературы)

1.1. Этиология и классификация, клинико-патогенетические аспекты преэклампсии

Преэклампсия (ПЭ) остается одной из наиболее актуальных проблем акушерства, что обусловлено частотой ее развития, неснижающейся как в Европе составляющей 2-5%, так и в развивающихся странах – 12-15% [13, 43, 53, 63, 87, 89, 126, 196, 207, 298, 305], так и неблагоприятными перинатальными исходами. По данным Министерства Здравоохранения Российской Федерации «частота преэклампсии составляет 3-7%, занимая в структуре причин материнской смертности от 15 до 25%» [48, 52]. В настоящее время И.С. Сидоровой и соавт. доказано, «что инициирующим фактором развития преэклампсии являются ишемические повреждения в тканях плаценты, которые формируются вследствие нарушения плацентации, развития тромбозов или иммунопатологических реакций с последующей активацией системного воспалительного ответа и дисфункции эндотелия» [66, 79, 104, 135, 165].

Преэклампсия относится к гипертензивным расстройствам во время беременности, которые встречаются с частотой около 10% [13, 34, 36, 172, 183, 189, 207, 241]. В 12-18% они являются второй непосредственной причиной ante- и постнатальных потерь, влияя на перинатальную смертность в 20-25% случаях [34, 43, 63, 240, 310]. Распространенность артериальной гипертензии среди беременных в Российской Федерации составляет 5-30% [48].

В рамках Международной статистической классификации болезней 10 пересмотра (МКБ-10) [36] преэклампсия и эклампсия классифицируются следующим образом (таблица 1).

Помимо этого, существует клиническая классификация гипертензивных расстройств во время беременности:

- 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.

Таблица 1

Классификация преэклампсии и эклампсии по Международной статистической классификации (МКБ-10) [36]

Хроническая АГ	Существовавшая ранее гипертензия, осложняющая беременность, роды и послеродовой период	О 10
Хроническая АГ (гипертоническая болезнь)	Существовавшая ранее эссенциальная гипертензия, осложняющая беременность, роды и послеродовой период	О 10.0
Хроническая АГ (вторичная гипертензия)	Существовавшая ранее вторичная гипертензия, осложняющая беременность, роды и послеродовой период	О 10.4
ПЭ на фоне хронической АГ	Существовавшая ранее гипертензия с присоединившейся протеинурией	О 11
Гестационная АГ	Вызванная беременностью гипертензия без значительной протеинурии	О 13
Преэклампсия	Вызванная беременностью гипертензия со значительной протеинурией	О 14
ПЭ умеренно выраженная	Преэклампсия (нефропатия) средней тяжести	О 14.0
ПЭ тяжелая	Тяжелая преэклампсия	О 14.1
Эклампсия		О 15
Эклампсия во время беременности	Эклампсия во время беременности	О 15.0
Эклампсия в родах	Эклампсия в родах	О 15.1
Эклампсия в послеродовом периоде	Эклампсия в послеродовом периоде	О 15.2

Преэклампсия является мультисистемным патологическим состоянием, возникающим во второй половине беременности (после 20-ой недели), которое характеризуется артериальной гипертензией, как правило, в сочетании с протеинурией ($\geq 0,3$ г/л в суточной моче), также, отеками и проявлениями полио-

рганной/полисистемной дисфункции/недостаточности [33, 68, 74, 93, 291]. Тяжелая форма преэклампсии характеризуется высокими цифрами артериального давления (систолическое более 160 мм рт. ст. и диастолическое более 110 мм рт. ст.) при двукратном измерении с интервалом более 6-ти часов и протеинурией (более 5 г белка за 24 ч) в 2-ух образцах с интервалом более 4-х часов. Кроме того, учитываются такие симптомы, как олигурия (менее 500 мл мочи за 24 ч), нарушение зрения, тромбоцитопения, ферментопатия и др. умеренная преэклампсия проявляется наличием отеков конечностей, повышением артериального давления (АД) ($> 140/90$ мм. рт. ст.) и протеинурией ($> 0,3$ г/л) [26, 27, 43, 74, 78, 241, 268].

Следует отметить, что существующие в настоящее время классификации преэклампсии ограничены в своей способности стратифицировать женщин по риску неблагоприятных исходов для матери [8, 13, 25, 63, 91, 196]. За последние десятилетия знания о патогенезе преэклампсии претерпели значительные изменения в силу расширения представлений о гетерогенной природе данного синдрома. Беременные с преэклампсией имеют широкий спектр клинико-лабораторных изменений, которые варьируют от степени проявления (умеренная, тяжелая) и времени манифестации (ранняя, поздняя). Преэклампсия может развиваться до 34 недель (ранее начало) и после 34 недель (позднее начало), во время родов или в послеродовом периоде. Показано, что ранняя и поздняя преэклампсия имеют ранние патофизиологические механизмы развития. Показатели материнской смертности в 12 раз выше при возникновении преэклампсии, развившейся до 34 недель беременности [30, 78, 129, 277, 290].

Преэклампсия с ранним началом в отличие от поздней обычно сопровождается ишемическими нарушениями в плаценте и задержкой роста плода и сопоставима с более высокой частотой неонатальной заболеваемости и смертности, частота которой варьирует от 5 до 25% [28, 34, 43, 52, 87, 281, 305]. Возможные исходы для плода и матери, чаще всего, характеризуются повреждением плаценты. Это наиболее тяжелые клинические варианты тече-

ния преэклампсии, развитие которой связано с дезадаптацией иммунной системы, нарушением плацентации и характеризуется следующими проявлениями: ранняя активация симпатoadреналовой системы, повышение уровня маркеров эндотелиальной дисфункции, недостаточная инвазия трофобласта и незавершенная перестройка спиральных маточных артерий. Течение беременности также осложняется задержкой роста плода и нередко завершается индуцированными преждевременными родами [27, 105, 108, 115, 116, 133, 142, 264].

Поздняя форма составляет большинство всех случаев преэклампсии и увеличивает частоту поздних преждевременных родов, а также материнской заболеваемости и смертности. Поздняя форма преэклампсия, чаще всего, связана с «материнским влиянием»: метаболическим синдромом, дислипидемией, нарушением толерантности к глюкозе, повышенным индексом массы тела, хронической артериальной гипертензией или болезнью почек и изредка сочетается с задержкой роста плода [39, 49, 66, 71, 90, 185].

Клинические признаки преэклампсии многогранны. Она отличается по степени выраженности основных показателей и времени их возникновения. Пациентки предъявляют жалобы на: мелькание «мушек перед глазами», ухудшение зрения, боли в области правого подреберья и эпигастрия, тошноту, рвоту, головокружения, боли в области поясницы и за грудиной, заложенность носа, кожный зуд, нарушение сна. Тяжелые формы преэклампсии могут осложняться таким серьезным состоянием, опасным для жизни, как эклампсия, которая проявляется судорожным состоянием с потерей сознания и комой. При эклампсии и наличии коматозного состояния снижается прогноз для пациентки, если состояние беременной, ухудшается печеночной и почечной недостаточностью, в том числе с длительным периодом отсутствия сознания [44, 73, 169].

По данным различных авторов, а именно М.М. Зиганшиной [17, 19] «существует два пути развития преэклампсии: Первый – фетальный, который характеризуется недостаточной или мелкоклеточной инвазией клеток тро-

фобласта в спиральные артерии матки и отсутствием или незавершенностью этапа замещения гладкомышечных эластичных волокон фибриноидом. В данном варианте не происходит ремоделирования и изменения спиральных артерий, что влияет на качество маточно-плацентарного кровотока. Фетальный этап развития преэклампсии имеет раннюю манифестацию и тяжелое течение, а также большую частоту развития осложнений, как у матери, так и у новорожденного. Иной путь – материнский, при котором снижение маточно-плацентарного кровотока возникает в результате блокады спиральных артерий вследствие экстрагенитальных заболеваний матери, особенно тромбофилий (генетических или приобретенных). Исследование плаценты в данном случае часто указывает на адекватную гестационную перестройку спиральных артерий. Материнский путь чаще всего манифестирует на поздних сроках беременности и имеет более легкое течение. Существует также смешанный путь, при котором помимо нарушения перестройки артерий отмечается их блокада» [10, 19, 27, 68, 81, 205, 252].

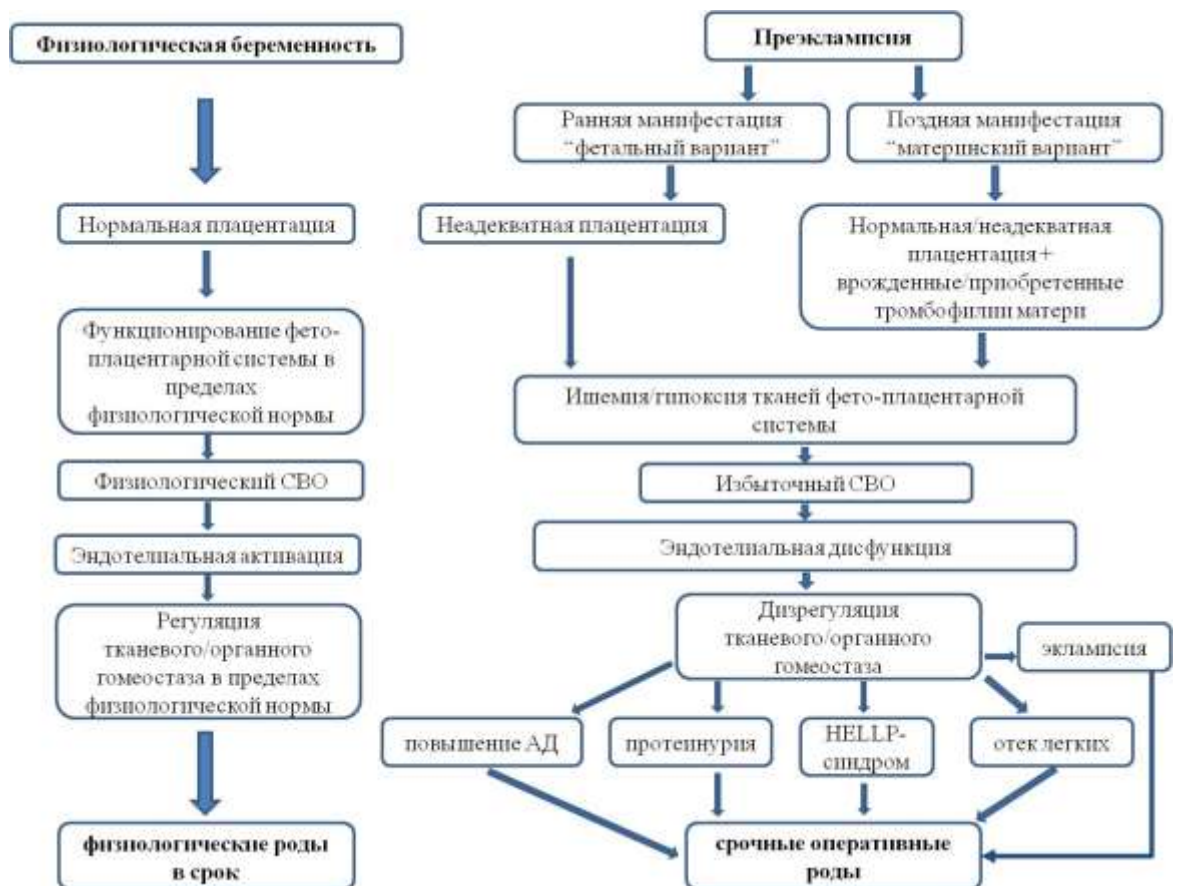


Рис. 1. Современные представления о патогенезе преэклампсии по сравнению с физиологической беременностью

На рисунке 1 отображены современные представления о патогенезе преэклампсии в сравнении с физиологической беременностью.

Нарушение процессов инвазии трофобласта приводит к ишемическим и гипоксическим повреждениям клеток и ткани плаценты, что непосредственно приводит к повышению содержания измененных клеток и микрочастиц фетального происхождения в крови матери. В результате такового механизма происходит активация материнских иммунных клеток и увеличение синтеза провоспалительных цитокинов, что приводит к развитию генерализованной эндотелиальной дисфункции с развитием в тяжелых случаях полиорганной недостаточности [1, 43, 111, 202, 285] (рисунок 1).

Существует ряд теорий патогенеза преэклампсии: иммунологическая, плацентарная, нейрогенная, гормональная, генетическая и др. Каждая взятая теория по-отдельности не может объяснить многогранность ее клинических проявлений, но объективно регистрируемые отклонения подтверждают сложность патогенеза и полиэтиологичность данного осложнения беременности [13, 28, 41, 58, 80, 234, 253].

Научно подтверждено, что основная роль в формировании преэклампсии принадлежит плаценте, а именно неполноценности второй фазы инвазии трофобласта в мышечную часть спиральных артерий [18, 109, 228, 286]. В ходе различных исследований доказано, что основной структурой плаценты являются ворсины хориона. Ворсина, в свою очередь состоит из сосудов плода, мезенхимальной соединительной ткани, немногочисленных макрофагов, и окружена трофобластом, который состоит из делящихся клеток цитотрофобласта и непрерывного слоя многоядерных клеток синцитиотрофобласта, который, в свою очередь покрывает всю поверхность ворсинок плаценты, с формированием фетоплацентарного барьера. Клетки трофобласта продуцируют некоторые стероидные гормоны (плацентарный лактоген, хорионический гонадотропный гормон и др.). Клетки цитотрофобласта дифференциру-

ются в клетки синцитиотрофобласта, а с 14-го дня имплантации, клетки цитотрофобласта формируют вневорсинчатый трофобласт (ВВТ), который внедряется в строму матки. Затем клетки ВВТ делятся и проникают в слизистую матки, доходя до децидуальной оболочки и в том числе до миометрия. Эти клетки осуществляют ремоделирование материнских спиральных артерий, заключающееся в прохождении по артериям и замене эндотелиальных клеток. Клетки ВВТ экспрессируют молекулы адгезии эндотелиоцитов и индуцируют апоптоз эндотелия. При этом недостаточная инвазия трофобласта формирует нарушение процесса ремоделирования спиральных артерий и отмечается повышенный уровень гипоксии в тканях плаценты [15, 24, 53, 224, 256, 275, 294, 295].

При полной перестройке всех спиральных артерий плацентарного ложа при беременности происходит замена мышечно-эластических волокон фибриноидом и увеличение просвета артерий, обеспечивая усиление кровотока маточно-плацентарных сосудов в таком объеме, который нужен для нормального течения беременности и нормального развития плода. Также стоит отметить, что одновременно с этим лизируется эластическая и мышечная оболочки сосудов, повреждаются их адренергические нервные окончания. Эндотелий вышеописанных спиральных артерий выложен фибринсодержащим аморфным матриксом. В ходе данных изменений происходит увеличение и расширение в диаметре маточно-плацентарных сосудов. Кровоток в маточно-плацентарных сосудах становится более устойчивым, более интенсивным и независимым от уровня артериального давления и изменений гемодинамики в общей системе кровоснабжения организма [25, 50, 66, 259].

При неполной инвазии трофобласта маточные артерии не повреждаются, морфологические изменения характерные для беременности не происходят, т.е. не происходит перестройка мышечного слоя. Развивается эндотелиоз, характеризующийся набуханием цитоплазмы с отложением фибрина вокруг базальной мембраны и внутри эндотелиальной цитоплазмы. Гипотеза о том, что нарушение инвазии трофобласта, связанное с гипоперфузией мо-

жет привести к преэклампсии, подтверждается проведенными исследованиями в эксперименте на животных, а также у беременных [10, 27, 258, 264, 294, 295]. Таким образом, была разработана двухступенчатая модель: неполное реконструкция спиральной артерии в матке, приводящая к формированию плацентарной ишемии (стадия 1), и выброс антиангиогенных факторов из структуры плаценты, подверженной ишемии в материнский кровоток, приводит к повреждению эндотелия (стадия 2).

В последние годы многие исследователи описывают преэклампсию как острую патологию эндотелия, которая приводит к нарушению тонуса сосудов, их проницаемости, баланса между тромбогенным потенциалом, а также сосудистой строморезистентностью. Согласно последним данным, эндотелий описывают как активный эндокринный орган, рассеянный диффузно по всем структурам и тканям, существующий как самостоятельная регулирующая система, постоянно вырабатывающая огромное количество биологически активных веществ, которые участвуют в регуляции гомеостаза [33, 150, 155, 192]. В ходе развития преэклампсии нарушается процесс перестройки с эпителиального фенотипа на эндотелиальный, сохраняется экспрессия молекул адгезии данных эпителиальных клеток ($\alpha 6/\beta 4$, $\alpha v/\beta 4$) при пониженном образовании молекул адгезии данных эндотелиальных клеток (тромбоцитарная молекула адгезии-1, $\alpha v/\beta 3$,) [1, 76, 193]. По данным Э.К. Айламазяна и соавт. [24], и V. Gourvas et al. [95] «показано, что снижение формирования сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) способствует для недостаточной инвазии трофобласта в спиральные маточные артерии, а VEGF приводит к экспрессии молекул адгезии сосудистых клеток и межклеточной адгезии 1 типа на клетках эндотелия, приводя к адгезии децидуальных NK-клеток» [4, 17, 82, 88, 95, 106, 238, 280]. Рецепторами к VEGF являются Flt-1 (s-fms-подобная тирозинкиназа) и KDR (рецепторный домен киназы). У пациенток, кормящихся преэклампсией, отмечается нарастание уровня растворимой Flt-1, который является антагонистом VEGF. Формирующаяся маточно-плацентарная ишемия способствует к повышенному образованию вазоко-

нстрикторов и прокоагулянтов и активации эндотелиальных клеток [16, 62, 64, 173, 183, 223].

Измененный эндотелий при преэклампсии приводит к формированию дисбаланса между формированием вазодилататоров и вазоконстрикторов и снижению тромборезистентных свойств сосудов (изменение синтеза тромбомодулина, тканевого активатора фибронектина, плазминогена, фактора Виллебрандта, протеина S, протеина C, антитромбина III), утончению их мышечно-эластичной мембраны, что приводит к формированию генерализованного спазма сосудов [12, 33, 43, 140]. Повышается активность вазоконстрикторов – серотонина, эндотелина 1, ангиотензина II, вазопрессина, катехоламинов и других и понижается обработка вазодилататоров – гистамина, брадикинина, оксида азота и др. [35, 41, 45, 143].

Огромное внимание в последних исследованиях функционального состояния эндотелия на фоне преэклампсии уделяется эндотелиальному фактору вазорелаксации, который представляет собой монооксид азота (NO), синтезирующийся в организме из аминокислоты L-аргинина при воздействии фермента NO-синтазы. Данный монооксид азота – самый сильный эндогенный вазодилататор. Сосуды с малым диаметром синтезируют больше монооксида азота, чем более крупные. За счет этого NO влияет на регуляцию периферического сопротивления, баланс артериального давления и распределение кровотока в сосудистой сети [14, 29, 162, 165].

Исследования, которые были проведены М.М. Зиганшиной [19] «показали, что в крови пациенток с нормально протекающей беременностью и с преэклампсией присутствуют антитела, которые взаимодействуют с антигенами эндотелиальных клеток линии EA.hy 926, выявляемые методом проточной цитометрии. У пациенток с преэклампсией антигенсвязывающая активность антител IgM увеличена на сроках беременности 21-26 недель, а антител IgG – начиная с III триместра беременности, при сравнении с данными показателями в ходе физиологически протекающей беременности. Автор установила, что при таком патологическом процессе как преэклампсия в периферической

крови отмечается повышенное содержание sVCAM-, 1 sICAM-1, и sE-селектина, и сниженное содержание sL-селектина, что характеризуется эндотелиальной активацией и является предиктором развития воспалительного процесса. Максимально выраженные изменения от параметров гуморального иммунитета, которые можно наблюдать при нормальном течении беременности, выявлены при формировании преэклампсии во II и III триместрах. Стоит отметить, что ткань плаценты с преэклампсией характеризуется нарушениями углеводного фенотипа по сравнению с тканями при физиологически протекающей беременности; степень выраженности изменений зависит от степени тяжести преэклампсии. У беременных на фоне тяжелой преэклампсии в эндотелии терминальных ворсин плаценты можно обнаружить максимальное содержание маннозных остатков, являющиеся функциональными рецепторами эндогенных лектинов С-типа. Установлено уменьшение количества терминальных остатков сиаловой кислоты: при умеренной преэклампсии α 2-6 связанной с галактозой, и при тяжелой преэклампсии α 2-3 связанной с лактозамином. Во время беременности выявляются антитела, которые взаимодействуют с широким спектром углеводных антигенов. Такой патологический процесс, как преэклампсия характеризуется выраженным гуморальным ответом на наличие углеводных антигенов, чем во время нормально протекающей беременности, что характеризуется в увеличении уровня антигликановых IgG к коровым структурам гликанов, структурам гликанов с терминальными остатками β -GlcNAc и GalNAc. Дисбаланс гуморальных факторов иммунитета был определен с преэклампсией в III триместре беременности. У пациенток с преэклампсией определялись связи между содержанием молекул клеточной адгезии непосредственно в I и II триместрах беременности; в III триместре была выявлена обратная зависимость между уровнем sE-селектина и активностью связывания IgG и IgM антител с клетками эндотелия. Данная обратная зависимость между количеством антител G класса к структурному дисахариду гиалуроновой кислоты 3GlcNAc β --GlcA β 1- и активностью связы-

вания антиэндотелиальных с клетками эндотелия обнаружена у пациенток с преэклампсией в III триместре беременности».

Л.Е. Мурашко и соавт. [41], F. Lyall и I.A. Greer [193] «считают, что иным маркером дисфункции эндотелия является эндотелин 1, так, по современным представлениям, эндотелин 1 – крупная полипептидная молекула, в большинстве случаев секретирующаяся из эндотелия «внутрь», к мышечным клеткам, где расположены чувствительные к пептиду рецепторы эндотелина (ETA-рецепторы). Меньшая часть синтезируемого эндотелина 1, взаимодействуя с рецепторами эндотелина Б (ETB-типа), стимулирует синтез NO». Таким образом, при помощи единого фактора регулируются сократительная и спазмолитическая деятельность сосудов, которая реализуется различными химическими реакциями [102, 134, 230, 257].

По данным многих исследователей важную роль в формировании преэклампсии играют иммунологические факторы [2, 7, 20, 53, 184, 231, 300]. При первых неделях беременности происходит повышение содержания макрофагов и естественных киллерных клеток в фетоплацентарной системе. Эти иммунные клетки влияют на формирование плаценты за счет привлечения клеток трофобластического ряда, реконструкции спиральных артерий и запуска процессов ангиогенеза. Макрофаги и NK-клетки регулируют степень проницаемости трофобласта и реорганизации тканей с помощью синтеза различных, хемокинов, цитокинов, ангиогенных факторов и протеаз. Изменение популяционного состава децидуальных лейкоцитов может приводить к формированию преэклампсии, низковыраженная инвазия трофобласта, неполноценное реконструкция спиральных артерий может быть следствием сверхвысокого иммунного ответа и формирования зоны воспаления, что в дальнейшем приводит к развитию плацентарной ишемии [38, 72, 198, 255, 308].

Основную роль иммунологической регуляции при формировании плаценты отводят двум типам иммунокомпетентных клеток слизистой оболочки матки. К данным клеткам относятся макрофаги и NK [24, 65, 101, 206].

Более 70% децидуальных лейкоцитов составляет особая популяция маточных натуральных киллеров (uNK). Следует отметить, что с цитотоксическими свойствами натуральных киллеров и способность производить ряд цитокинов, uNK синтезируют протеолитические ферменты, которые обладают антибактериальными свойствами. В ходе взаимодействия натуральных киллеров с клетками трофобласта формируется связи их рецептора (KIR) антигенами основного комплекса гистосовместимости (HLA) фетального трофобласта, в децидуальных натуральных киллерных клетках активации не происходит их цитолитических свойств [63, 68].

Реконструкция спиральных артерий начинается до появления uNK, которые могут запустить или завершить данный процесс. В научных исследованиях на животных было выявлено, что у генно-модифицированных мышей, изначально лишенных NK-клеток (менее 1%), определяется сниженная имплантация, плацента не развивается и как исход происходит потеря беременности. При пересадке данной группе мышей клеток костного мозга от группы мышей у которых выявлен дефицитом Т- и В-лимфоцитов, полностью восстанавливает пул uNK клеток, происходит восстановление структур децидуальной ткани, повышается размер плаценты и увеличиваются шансы выживаемости плода [156]. Доказано, что uNK клетки синтезируют такие провоспалительные цитокины как IL-8, TNF- α , IFN- γ и вазоактивные факторы как ангиопоэтин 1 и 2 и сосудисто-эндотелиальный фактор роста (VEGF)-С, которые приводят к активации апоптоза клеток эндотелия сосудов. Данные факторы являются сигналом от uNK к эндovasкулярным трофобластическим клеткам (EVTs), которые влияют на их дальнейшую миграцию и дифференцировку. Стоит отметить, что TNF- α как самостоятельно, так и совместно с IFN- γ , ингибирует проникновение EVT за счет запуска апоптоза и за счет снижения пролиферации трофобластических клеток. За счет активации неактивной формы урокиназного активатора плазминогена (uPA), матриксной металлопротеиназы-9 (pro-MMP-9), и ингибитора активатора плазмино-

гена (PAI)-1 TNF- α осуществляет свое воздействие на трофобластические клетки.

При нормально протекающей беременности количество макрофагов составляет около 20% от всего количества децидуальных лейкоцитов. В отличие от НК, количество макрофагов при развитии беременности не изменяется, а количественное соотношение НК/макрофаги снижается. Макрофаги в основном располагаются около спиральных артерий, а также контактируют с эндovasкулярными трофобластическими клетками (EVT). Данные макрофаги секретируют огромное количество цитокинов, протеаз и ангиогенных факторов, которые в дальнейшем фагоцитируют апоптотированные трофобластические клетки и апоптотические тела и останавливают секрецию в децидуальную ткань провоспалительных молекул погибшими клетками. Эти данные свидетельствует о положительной роли макрофагов в реализации ранних этапов ремоделирования сосудов [139]. Вместе с тем, в литературе существуют различные данные о наличии макрофагов в децидуальной оболочке найденные при II триместре беременности у пациенток с преэклампсией [69, 161]. Данные противоречия связаны с топографией определяемых клеток и непосредственными различиями в ходе проведенных исследований. Повышенное количество в децидуальной ткани децидуальных макрофагов при преэклампсии было описано в исследованиях с одновременным определением повышенного уровня макрофагальных хемотаксических факторов, а именно макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF) и моноцит хемотаксического белка-1 (MCP-1). Кроме того, влияние макрофагов на трофобластические клетки в большей мере зависит от уровня их активации [168].

Помимо иммунных факторов, расположенных в фетоплацентарной области и описывающих развитие преэклампсии, важное значение в формировании основных клинических симптомов играют компоненты адаптивного иммунитета, эффекторными клетками которого являются лимфоциты и антигенпрезентирующие клетки. На сегодняшний день много работ посвящено

изучению роли воспалительных процессов в развитии ишемии плацентарной ткани при преэклампсии [22, 61, 170, 171, 174, 265]. У женщин с преэклампсией снижено количество CD4⁺CD127^{lo}CD25^{hi} и CD4⁺foxp3⁺ T-регуляторных клеток CD4⁺CD25^{hi}, которые регулируют и предотвращают развитие аутоиммунные заболевания, а также формируют иммунологическую толерантность при беременности. Кроме того, наблюдается значимое повышение провоспалительных CD4⁺ T-лимфоцитов. Глубокое исследование роли данного типа клеток в формировании гипертензии в ответ на плацентарную ишемию было получено в экспериментах на животных. В процессе активации иммунокомпетентные клетки становятся мощными продуцентами провоспалительных цитокинов – TNF- α и IL-6. TNF- α способен усиливать сигнальный компонент ренин-ангиотензивной системы. В зависимости от условий окружения периферические T- и B-лимфоциты являются эффекторными иммунными клетками, воздействующие на васкулярный дисбаланс и гипертензию за счет ишемии плаценты [20, 215, 248, 266].

Следует отметить, что повышенный иммунный ответ и воспаление относятся к важным факторами развития преэклампсии любой степени тяжести [21, 167, 200, 250, 274]. Иной причиной формирования преэклампсии может являться существовавшая еще до беременности эндотелиальные нарушения у матери в результате развития соматической патологии – сахарный диабет, артериальная гипертензия, нарушение жирового обмена, заболевания почек и др. [53, 68, 90, 180, 222, 241]. Наступившая на фоне наличия соматической патологии беременность способствует прогрессированию патологических изменений, так как при данном физиологическом состоянии к материнскому организму предъявляются повышенные требования. Было выявлено, что гипергомоцистеинемия, встречается у 36% пациенток с гипертензией и преэклампсией в анамнезе. У таких женщин возникают изменения в эндотелии, происходящие вследствие ухудшения окислительно-восстановительных реакций, роста свободных радикалов, уменьшения уровня оксида азота [63, 287].

В пользу гипотезы о повреждении эндотелия сосудов микроциркуляции вследствие нарушения иммунологической толерантности свидетельствуют различные неврологические симптомы, формирующиеся у беременных при нарастании степени тяжести преэклампсии, развитие которой начинается во второй половине беременности (сроки развития неокортекса плода), гипоксическое поражение ЦНС новорожденного пациенток с преэклампсией, наличие патоморфологических изменений в головном мозге женщин и их плодов, которые погибли при тяжелейших формах преэклампсии. По данным И.С. Сидоровой и соавт. [49] «определение антигенный компонент данных иммунных комплексов – это нейроспецифические антигены NSE (маркер повреждения дифференцированных нейронов нейроспецифическая энлаза) и GFAP (маркер повреждения астроцитов, глиофибрилярно-кислый протеин)».

«Оксидативный стресс», по данным ряда исследователей, «является одним из главных триггерных механизмов активации эндотелия, возникающих вследствие истощения антиоксидантной системы организма. Он влечет за собой дисбаланс между прооксидантами и антиоксидантами в сторону преобладания процессов окисления, что ведет к повреждению клеток и тканей, нарушается окислительно-восстановительное равновесие, снижается активность ферментов. Свободные кислородные радикалы способствуют появлению липидных перекисей, которые повышают продукцию тромбоксана и угнетают продукцию оксида азота эндотелиальными клетками, способствуя вазоконстрикции и повышению тромбогенного потенциала крови» [47, 60, 77, 98, 135].

Учитывая тот факт, что лидирующим патогенетическим фактором формирования преэклампсии является плацентарная ишемия, возникающая вследствие нарушения процессов инвазии трофобласта в спиральные артерии, а также врожденный и приобретенный тромбофилический профиль, то изучение фенотипических отличий структур плаценты при нормальной беременности и при патологической может быть основным критерием для пони-

мания различных молекулярных механизмов в формировании данной патологии [81, 264, 265].

На данный момент сформированы несколько моделей, которые описывают взаимодействие фетальных и материнских клеток, из которых наиболее популярная модель – эндотелиальная мимикрия [66, 259]. Альтернативной моделью является формат лектин-углеводной воздействия [59, 247], которую в последнее время подтверждают наличие новых данных о гликозилировании $\alpha 5\beta 1$ интегрина – одной из главных молекул, которая участвует в межклеточных взаимосвязях [125]. Доказано, что в основе процесса тромбообразования непосредственно находится адгезия между эндотелиальными и убэндотелиальными клетками с непосредственным участием в дальнейшем, факторов фибринолиза и свертывания, которые приводят к прогрессирование процесса. Адгезионные взаимосвязи опосредуются углеводными молекулами, чему существует на сегодняшний день множество подтверждений описанные различными авторами в своих исследованиях [17, 188, 271, 280, 282, 303].

М.М. Зиганшиной [19] была выдвинуто предположение, что «отражение одной из главных ролей лектин-углеводных взаимосвязей в процессах формирования плаценты и ангиогенеза, которым является обнаружение различных углеводных лигандов а также углеводсвязывающих белков на клетках фетоплацентарной системы, найдехих при изучении углеводного профиля плаценты у беременных с нормальнопротекающей беременностью было описано, что большинство структур плаценты (синцитио-цитотрофобласт, эндотелиальные клетки, строма, базальная мембрана эндотелиоцитов и клеток трофобласта, клетки Кашенко-Хофбауэра) несут в себе разнообразные углеводные остатки» [17, 19, 59, 182, 227]. Кроме того, изучение распределения гликанов в клетках плаценты у пациенток с гипертензивными расстройствами во время беременности, в том числе и при преэклампсии, обнаружило, что патология характеризуется измененным профилем экспрессии углеводных фрагментов, обусловленным морфофункциональными нарушениями

в тканевых структурах плаценты [19, 125, 247]. Несмотря на имеющиеся различные данные в этой области, на данный момент отсутствуют результаты описывающие характеристику углеводного профиля плаценты на фоне течения беременности с преэклампсией в зависимости от ее степени тяжести.

Таким образом, несмотря на полиэтиологичность преэклампсии изучение новых механизмов поможет раскрыть новые звенья патогенеза и, как следствие, разработку диагностических и прогностических мер.

1.2. Роль аутоантител в патогенезе преэклампсии

В настоящее время имеются противоречивые данные о значении иммунных реакций, определяемых активностью пула В-лимфоцитов, в патогенезе преэклампсии. Это относится как к содержанию и функциональной активности различных субпопуляций В-лимфоцитов, так и различных аутоантител у пациенток с преэклампсией в разные сроки беременности. Так, в ряде исследований не выявлялись изменения содержания В-лимфоцитов и аутоантител [72], или, напротив, установлено снижение уровня и функциональной активности В-лимфоцитов [7, 128]; в то же время множество авторов отмечает активацию В-клеточного звена иммунной системы при преэклампсии [20, 45, 63, 167, 220]. В частности, отмечается повышение содержания в периферической крови общей популяции CD19⁺-лимфоцитов, зрелых активированных В-лимфоцитов с фенотипом CD19⁺HLA-DR⁺ и клеток с фенотипом CD19⁺CD5⁺, которые относятся к пулу В1-лимфоцитов, продуцирующих естественные низкоаффинные антитела. Этот феномен в большей степени ассоциирован с преэклампсией тяжелой степени, чем умеренной. Причем, исследование общего пула содержания основных классов иммуноглобулинов в периферической крови (IgM, IgG, IgA), без выделения конкретных специфичностей показал, что содержание общей фракции IgG в крови с ранних сроков беременности ассоциировано с развитием преэклампсии как умеренной, так и тяжелой степени. Но, в III триместре беременности, различия в содержании общего пула IgM, IgG, IgA в крови беременных с данным синдромом не выявлялись при сравнении с физиологически протекающей беремен-

ностью, вне зависимости от степени тяжести преэклампсии [20, 136]. Однако повышение уровня в крови общей фракции IgM и IgG установлено также у пациентов с эссенциальной гипертензией вне беременности [184].

Для изучения роли аутоиммунного фактора в патогенезе заболевания более информативно исследование аутоантител, которые имеют специфичность к конкретному антигену. Также, важным аспектом является поиск специфических для конкретной нозологии антител. В роли кандидатов на молекулярные мишени при гипертензии, рассматривались молекулы, которые выполняют ключевую роль в контроле тонуса сосудов посредством участия в регуляции тонуса, сердечного выброса и/или процессах реабсорбции ионов Na^+ и воды почками. Установлено, что мишенями для цитотоксических антител при гипертензии являются рецепторы, сопряженные с G-белком, активация которых ведет к внутриклеточной передаче сигнала. Такими мишенями были рассмотрены $\beta 1$ -адренорецепторы и $\alpha 1$ -адренорецепторы. Также в качестве мишеней могут быть и ионные каналы, например высокопороговые кальциевые каналы L-типа [85].

В этой связи, при гипертензии, в том числе и при беременности, широко изучены антитела к рецепторам 1 типа ангиотензина II (AT1R), поскольку его взаимодействие с ангиотензином II выполняет одну из ключевых ролей в регуляции артериального давления, так как вызывает сокращение стенки сосуда, активирует пролиферацию клеток эндотелия, приводит к выводу альдостерона из клеток надпочечников и активации симпатической нервной системы. Также было выявлено, что взаимосвязывающие действия AT1-рецептора с ангиотензином II влияет на активацию T-лимфоцитов и способствует активации провоспалительной поляризации T-хелперов, которая в свою очередь влияет на развитие гипертензии [7, 184].

Стоит отметить, что AT1R-активирующие аутоантитела (AT1-AAs) IgG класса, вследствие сцепленности рецептора с G-белком меняют функциональное состояние клетки. Установлена их роль в гуморальном отторжении у пациентов с трансплантированной почкой, поскольку их наличие ассоцииро-

вано с инициацией отторжения и злокачественной гипертензией. Взаимодействие AT1-AAAs с ангиотензином II запускает внутриклеточные сигнальные каскады, итогом которых является включение транскрипционных факторов AP-1 и NF- κ B, ответственных за формирование иммунного и воспалительного ответов [167, 283]. Данные аутоантитела AT1-AAAs встречаются у 95% пациентов с гипертензивными состояниями во время беременности, а их титр имеет прямую положительную корреляцию с тяжестью заболевания. При преэклампсии AT1-AAAs также выявляются, и их патофизиологическая роль подтверждена в модели ее развития у крыс, которым эти антитела вводили внутривенно, что вызывало развитие эндотелиальной дисфункции, повышение продукции эндотелина, появление гипертензии и протеинурии [41, 269]. Также, установлен высокий риск развития заболеваний сердечно-сосудистой системы у пациенток с AT1-AAAs, которые перенесли преэклампсию в анамнезе [14, 26, 260]. Доказана связь между наличием AT1-AAAs в крови беременной и нарушением плацентации, поскольку связывание AT1-AAAs с AT1R, который экспрессируется трофобластом, активирует сигнальный механизм, результатом которого является повышенная продукция ингибитора активатора плазминогена 1 типа (PAI-1) – одного из ключевых регуляторов инвазии трофобласта [94, 152, 194]. Следует отметить, что патофизиологическая роль AT1-AAAs на фоне преэклампсии подтверждена присутствием AT1R в мезангиальных клетках почки. Взаимосвязывающие действия AT1R с ангиотензином II приводит к стимуляции биосинтеза PAI-1 и запуску коагуляционного каскада, повреждению почечной ткани и развитию протеинурии [117, 121].

Важным аспектом исследования роли аутоиммунных антител в патогенезе преэклампсии является изучение антифосфолипидных антител. Антифосфолипидные антитела (АФА) – аутоантитела, взаимодействующие с фосфолипидами или комплексами фосфолипидов с белками, выявляемые при антифосфолипидном синдроме, характеризующиеся тромбозами артерий и вен разной локализации, в том числе и фетоплацентарной системы [43, 178, 268]. Наиболее изученные мишени АФА β 2-гликопротеин-1, кардиолипин, фосфати-

дилсерин и аннексин V. Показано, что антитела против β 2-гликопротеина-1 могут связываться с трофобластом, ограничивая их инвазию в экспериментальных моделях (инвазия *in vitro* в матригеле). Также установлено их участие в образовании иммунных комплексов и активации коагуляционного каскада [15, 21, 204]. Описано ингибирующее влияние антител против β 2-гликопротеина-1 и фосфатидилсерина на синтез хорионического гонадотропина трофобластом, что также негативно регулирует инвазивные свойства клеток при плацентогенезе [26, 78, 106]. При преэклампсии установлено, что АФА ассоциированы с ранней ее манифестацией, по сравнению с беременными, у которых АФА отсутствовали. Этот феномен развивается вследствие васкулопатии сосудов плаценты, формирования тромбов и инфарктов плаценты [158, 227, 302].

Кроме участия АФА в активации свертывающей системы крови и развития тромбозов, важным аспектом их участия в патогенезе преэклампсии является способность связываться с эндотелием, вызывая его активацию и гибель эндотелиальных клеток по механизму апоптоза. Данный аспект чрезвычайно важен, так как эндотелиальная дезорганизация является ключевым звеном патогенеза при такой патологии как преэклампсия и ведет, в тяжелых случаях, к развитию полиорганной недостаточности [3, 47, 77, 195, 224].

В этой связи проводятся исследования антиэндотелиальных антител (АЭАт) при гипертензивных расстройствах во время беременности, включая преэклампсию [100, 276]. АЭАт – гетерогенные антитела, как IgM, так и IgG класса, взаимодействующие с различными антигенами-мишенями на эндотелиальных клетках. В качестве мишеней АЭАт установлены, в частности AT1R, а также β 2-гликопротеин-1 и аннексин II, что свидетельствует о наличии общих мишеней с AT1-AAs и АФА, соответственно. АЭАт также связываются с широким спектром белков цитоскелета, ферментов, шаперонов, компонентами эндотелиального гликокаликса клетки – подробно антигенные мишени охарактеризованы в обзоре литературы, которая представляла М.М. Зиганшина и соавт. [3]. Предложена идея, что АЭАт IgM класса являются регу-

ляторными антителами, а патогенетическое значение имеют антитела АЭАт IgG класса [100, 209].

По данному вопросу практически нет исследований, однако те которые были, показали что АЭАт при беременности в периферической крови в норме отмечается повышение уровня естественных АЭАт (еАЭАт) IgM и IgG. Предполагается, что еАЭАт могут маскировать молекулы HLA, экспрессированные на клетках трофобласта и иметь защитный эффект на плацентарные сосуды [208, 209]. Работы по изучению АЭАт у пациенток с преэклампсией выявили, что АЭАт чаще определяется на фоне тяжелой степени преэклампсии (29,7%), по сравнению с умеренной преэклампсией (20%). Также установлена связь с уровнем данных антител с тяжелой протеинурией (выше 200 мг/мл) и доказан цитотоксический эффект сыворотки, содержащей АЭАт пациенток с преэклампсией на культивируемые эндотелиальные клетки [6, 15, 134]. При анализе эндотелиальных клеток пуповины с сывороткой крови пациенток после самопроизвольного аборта ведет к изменению фенотипа эндотелиоцитов на прокоагулянтный, что предполагает участие АЭАт в активации системы гемостаза и фибринолиза [166, 209, 276]. Исследования изменений активности связывания АЭАт с клетками линии EA.hy 926 cells (воспроизводит основные фенотипические маркеры клеток эндотелия сосудов) в динамике нормальной и осложненной преэклампсией беременности, показали высокую активность связывания АЭАт (IgM) и низкую АЭАт (IgG) с эндотелиальными клетками во всех триместрах нормальной беременности, начиная с ранних сроков. При преэклампсии выявлена повышенная активность связывания АЭАт(IgM) во II триместре, и сниженная активность связывания АЭАт (IgG) с эндотелиальными клетками в III триместре. Полученные результаты подтверждают наличие еАЭАт и их, возможно, регуляторный эффект в определенные интервалы нормальной беременности. Однако, повышенная активность связывания АЭАт с эндотелиальными клетками, выявленная при преэклампсии может быть свидетельством функциональной гетерогенности АЭАт [12].

Анализ представленных литературных данных о роли аутоантител в патогенезе преэклампсии свидетельствует о развитии гуморального аутоиммунного ответа на антигены эндотелиальных клеток [19, 210]. Однако подобный ответ не является исключительно характерным для данного акушерского синдрома, и может наблюдаться также при другой патологии беременности. Вероятнее всего данный феномен является последствием развития эндотелиальной дисфункции и системного воспалительного ответа (СВО), для которых характерно появление нео-антигенов, не встречающихся в норме. При СВО изменяется не только функциональная активность клеток эндотелия, но и претерпевает изменения наружный, поверхностный слой эндотелия – эндотелиальный гликокаликс, который определяет все функции, выполняемые эндотелием. Исследования последних лет подтверждают, что эндотелиальный гликокаликс модифицируется в условиях СВО, поскольку установлено, что в условиях воспалительного ответа меняется активность ферментов гликозилирования и синтезируются гипогликозилированные структуры [6]. Вследствие этого особый интерес для исследования представляют «антитела к гликанам гликокаликса – антигликановые антитела, наиболее изученными при преэклампсии являются антитела – АФА и АЭАт, которые имеют общие антигенные мишени с антигликановыми антителами» [3, 151, 175, 307].

Антигликановые антитела – естественные и адаптивные иммуноглобулины, содержащиеся в биологических жидкостях организма, специфически взаимодействующие с гликанами (углеводами). Гликаны – наиболее распространенные биологические молекулы, являются основой гликокаликса клеток и внеклеточного матрикса (ВКМ). Последний составляет основную субстанцию межклеточного вещества соединительной ткани, которая по массе занимает около 50% массы человеческого организма, что свидетельствует о масштабной представленности гликанов в организме. Кроме этого, гликаны характеризуются значительным разнообразием состава, строения молекулы и структурными особенностями. Точное число гликанов в гликоме (совокупности всех гликанов организма) человека неизвестно, но если ориентироваться на теоретические вы-

числения, свидетельствующие, что количество гексасахаридов (гликанов, состоящих из шести моносахаридных звеньев) может достигать величины 10^{12} , то возможно представить масштаб гликома [12, 97, 190, 191]

Как свидетельствуют многочисленные исследования, «гликаны являются ключевыми молекулами, которые опосредуют межклеточные контакты, следовательно фундаментальные биологические процессы: органогенез, рециркуляция клеток, сигнальная трансдукция при физиологических и патофизиологических процессах, развитие иммунного ответа осуществляется с участием гликанов» [6, 216, 270, 299]. Антигликановые антитела (АгАт) рассматриваются в нескольких аспектах: как молекулы, которые способны участвовать в межклеточных контактах – в качестве блокаторов, ингибируя взаимодействия, или, напротив, в качестве миметиков, имитируя действие других молекул; как диагностические маркеры, которые свидетельствуют об изменении гомеостаза в организме [19, 112, 296, 301].

Последний аспект наиболее важен в клинических исследованиях. Известно, что значительное количество антител, продуцируемых В1-клетками, специфически связывается с гликанами и относится к естественным антителам, генерация которых происходит без антигенной стимуляции. Они обнаруживаются в крови всех здоровых людей и условно [6], подразделяются на несколько групп, которые на сегодняшний день имеют, и могут потенциально иметь в будущем клиническое значение. Это консервативные АгАт, специфичность и уровень которых постоянен на протяжении жизни. Они не связываются с гликанами клетки и ВКМ в норме, но способны связываться с измененными или абберантными молекулами гликанов, синтез которых нарушен или с внутренними (коровыми) частями молекулы гликана, которые в норме скрыты в клетке. Установлено, что они выполняют надзорную роль в организме за появлением измененных, в том числе опухолевых клеток. Также выявлена связь между повышенным содержанием АгАт со специфичностью к 4-O-Su-Gal β 1-4GlcNAc из этой группы с легочной гипертензией и системным склерозом [6, 216].

К естественным АгАт относятся антитела к антигенам групп крови АВ0 (α - и β -изоагглютинины – аллоантитела), которые, как известно, также являются гликанами, клиническая значимость которых обоснована при гемо- и органных трансплантациях [24, 176, 219]. При беременности, более изучен факт связи определенной группы крови с развитием патологии, в частности, показано более частое развитие преэклампсии у пациенток с А (II) и АВ (IV) группами крови [244, 254, 263]. Однако данные клинических исследований, посвященных этому вопросу, неоднозначны.

Для клинической диагностики самыми перспективными являются АгАт из группы пластичных антител (по классификации Н.В. Бовина) [6]. Это антитела, которые относятся и к консервативным, и к аллоантителам, но должны рассматриваться отдельно, так как их уровень меняется при развитии патологических процессов в организме. Изменение уровня АгАт из этой группы также происходят и при беременности, что связывается с их возможным участием в механизмах формирования иммунологической толерантности к плоду [57, 177].

Несмотря на очевидную перспективность исследований в этой области, данные по АгАт в отечественной и зарубежной литературе изучены недостаточно, что связано с особенностями иммунного анализа (различие в методах определения АгАт; а именно в качестве лигандов могут быть использованы либо синтетические, либо природные гликаны, что при одинаковой, охарактеризованной специфичности приводит к разным результатам). В настоящее время для верификации АгАт используются: иммуноферментный метод анализа (ИФА), данный метод является традиционным для определения антител в различных биологических средах, но ограничивает число изучаемых АгАт; методика микрочипирования или углеводных эрреев, данная методика имеет высокую эффективность и более высокую чувствительность [6, 99, 137, 216, 289].

В настоящее время N. Ronda et al. [215] «показано, что антигликановые антитела имеют потенциальное клиническое и диагностическое значение при

воспалительных заболеваниях кишечника – болезни Крона, язвенном колите, муковисцидозе, раке, аутоиммунных и нейродегенеративных заболеваниях, в частности рассеянном склерозе, болезни двигательного нейрона, синдроме Гийена-Барре» [216, 288, 293]. В контексте вышеизложенного было доказано, что повышенный уровень в сыворотке крови антител против Glcα1-4-Glcα (IgM) говорит о рецидиве рассеянного склероза, и может быть использован в качестве дифференциального предиктора в диагностике рецидивирующего рассеянного склероза с различными неврологическими патологиями. Антигликановые антитела – это перспективные маркеры коллоидного рака яичников [219, 247, 296].

В акушерстве имеются ограниченные данные об АгАт. В частности, у пациенток с антифосфолипидным синдромом, которые имели неоднократные потери беременности в анамнезе, выявлен высокий уровень АгАт [15, 68, 118, 249]. Установлена связь анти-GalNAc-β антител с потерями беременности и дана оценка диагностической ценности определения этих антител (с чувствительностью 56% и специфичностью 85%, и значением AUC=0,68, наличие высокого уровня анти-GalNAc-β антител дифференцирует пациенток с наличием в анамнезе привычной потери беременности и с нормальным акушерским анамнезом). Выделенные из крови пациенток с привычным выкидышем анти-GalNAc-β антитела в *in vitro* модели ингибировали инвазию клеток JAR – линии человеческой хориокарциномы, а в *in vivo* модели при введении беременным мышам, индуцировали потерю беременности, что свидетельствует о патогенетической роли АгАт этой специфичности в невынашивании беременности. При этом не было выявлено связи анти-GalNAc-β антител с развитием тромбозов [216].

Способность естественных АгАт ингибировать инвазию клеток установлена в ряде исследований, подтверждающих надзорную функцию этих антител в отношении развития измененных и опухолевых клеток. В модельных системах (*in vitro*) показано, что естественные АгАт(IgG) со специфичностью к остатку Galβ- ограничивают инвазию клеток гепатомы. Аналогичного действия

на первичную культуру клеток мезотелия, у которых отсутствовал аномальный пролиферативный и инвазивный потенциал, выявлено не было [219, 247, 296]. В ряде исследований у пациенток с преэклампсией выявлены антитела к ламинину – высокогликозилированному белку, углеводные цепи которого содержат Gal α - и GalNAc α -терминированные гликаны. Установлено, что антитела к ламинину способны связываться с трофобластом, связывать комплемент и инициировать эффекторные реакции иммунитета, вызывая гибель трофобласта и появление его в материнской крови [2, 19, 123, 124, 132].

Этот эффект, возможно, связан не с Gal α - и GalNAc α -терминированными гликанами ламинина, поскольку точная специфичность антител к ламинину установлена не была. В исследовании Y. Christiane et al. [149] были обнаружены факты, конкурирующие с вышеописанными. При нормальной беременности в инвазивном трофобласте был обнаружен ксеноантиген Галлили (Gal α 1-3Gal-), и установлен высокий титр АгАт. При преэклампсии ксеноантиген отсутствовал в плаценте, но титр Gal α 1-3Gal- антител был сопоставим с нормой. По мнению авторов это является свидетельством регуляторной роли Gal α 1-3Gal- антител в процессах инвазии трофобласта при плацентации.

Приведенные данные об исследованиях АгАт при беременности свидетельствуют о потенциальной роли АгАт в нарушениях плацентации и указывают на необходимость их изучения, как для понимания патогенеза, так и для клинической практики, поскольку диагностическая ценность тестов с использованием АгАт значительно выше, чем рутинных маркеров, используемых в настоящее время. Особенно это справедливо при использовании в диагностике, так называемой сигнатуры (или сочетания маркеров), что повышает показатели диагностической ценности. Данный подход активно апробируется в настоящее время в онкодиагностике, а также активно внедряется в акушерской практике.

1.3 Диагностика и прогнозирование преэклампсии

Несмотря на кажущуюся простоту диагностики преэклампсии по классической клинической триаде (повышение артериального давления, протеинурия, отеки), ее ранняя прогнозирование и диагностика, которые могли бы

обеспечить возможность проведения лечебных или профилактических мероприятий недостаточно изучены [5, 51, 83, 113, 127, 131, 201, 262]. Именно этим объясняется высокая частота материнской заболеваемости и смертности, а также неблагоприятных перинатальных исходов вследствие развития данного патологического состояния [9, 31, 67, 70, 130, 186, 232, 261].

Несмотря на то, что определение факторов риска является предметом пристального изучения многих исследователей, в доступной литературе имеется небольшое количество данных. Федеральные клинические рекомендации Российского Общества Акушеров-Гинекологов (РОАГ) «Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия» [13], в данной работе выделяются следующие факторы развития преэклампсии (следует отметить, что в данном источнике нет разделения на раннюю и позднюю):

1. Первая беременность;
2. Преэклампсия при предыдущей беременности;
3. Перерыв после последних родов 10 и более лет;
4. Возраст > 35 лет;
5. Избыточный вес/ожирение (индекс массы тела (ИМТ) > 25 кг/м²);
6. Семейный анамнез (преэклампсия у матери или сестры);
7. Диастолическое артериальное давление 80 мм рт. ст. и выше;
8. Протеинурия при постановке на учет по беременности ($\geq 1+$ по тест-полоске (двукратное тестирование) или ≥ 300 мг/л в суточной порции);
9. Многоплодная беременность;
10. Экстрагенитальные заболевания (хроническая артериальная гипертензия, хроническая болезнь почек, коллагенозы, заболевания сосудов, сахарный диабет, антифосфолипидный синдром (АФС)).

Согласно данным Американского Колледжа Акушеров-Гинекологов (ACOG) выделяют следующие факторы [87]:

1. Первые роды;
2. Преэклампсия при предыдущих беременностях;

3. Хроническая артериальная гипертензия и хроническая болезнь почек;
4. Тромбофилия в анамнезе;
5. Наличие многоплодной беременности;
6. Использование вспомогательных репродуктивных технологий;
7. Наследственность, преэклампсия в анамнезе;
8. Сахарный диабет 1 или 2 типа;
9. Нарушение жирового обмена;
10. Системная красная волчанка;
11. Возраст женщины > 40 лет.

Указанные факторы риска считаются доказанными большим количеством качественно проведенных эпидемиологических исследований. Однако достоверно неизвестно при наличии каких факторов риска чаще развивается преэклампсия. Так, например, женщины, страдающие избыточной массой тела или ожирением, могут развить данный синдром в связи с тем, что гиперлипидемия, окислительный стресс и эндотелиальная дисфункция чаще встречаются при нарушении жирового обмена. То есть, у таких женщин имеется так называемая сосудистая предрасположенность к развитию преэклампсии [153, 199, 236, 273, 279].

Влиянием ангиогенных факторов также можно объяснить связь тромбофилии, сахарного диабета и системной красной волчанки с преэклампсией [53, 242, 246]. Немолодые женщины, как следствие, могут иметь более плохое состояние сосудистой системы, большее количество сопутствующих заболеваний, что будет обуславливать более частую заболеваемость [13, 160, 251]. Повышенный риск развития преэклампсии, в случае если она уже была при предыдущей беременности, а также при наличии семейного анамнеза, говорит в пользу наличия патофизиологической предрасположенности [63, 73, 115]. Концепция преэклампсии как стресс-теста позволяет объяснить связь заболевания с первыми родами и большим промежутком между родами как недостаточную приспособленность организма [138, 145, 146]. По данным

литературы многорожавшие женщины лучше адаптированы к беременности, и, поэтому, реже заболевают преэклампсией в отсутствие других патогенетических факторов (например, нарушения инвазии трофобласта) [10, 103, 182].

Следует отметить, что помимо доказанных факторов риска, существуют предположения о роли других факторов, которые находили меньшее подтверждение или же их анализ выдавал противоречивые результаты.

Как отечественные, так и зарубежные исследователи отмечают, что эффективных диагностических и прогностических критериев преэклампсии не разработано. По мнению многих исследователей наиболее перспективным скрининговым тестом диагностики преэклампсии является определение пульсационного индекса маточных артерий [28, 133, 144, 147, 229, 235, 237, 278]. Допплерометрия является неинвазивным методом оценки кровотока в плаценте. Обнаружение того факта, что недостаточная перфузия плаценты, демонстрируемая повышением пульсационного индекса маточных артерий, связанная с развитием преэклампсии, подтверждает теорию ее развития вследствие нарушения плацентации. Результаты доплерометрических исследований в I и II триместрах, а также гистологических исследований спиральных артерий матки также подтверждают эту гипотезу. В тоже время, по мнению некоторых авторов [119, 142, 217] даже надежные и точные измерения пульсационного индекса маточных артерий с помощью доплеровской оценки не всегда достаточны для раннего прогнозирования данного синдрома. В будущем требуется проведение большего числа широкомасштабных исследований с целью выявления потенциала ультразвуковых исследований для определения критериев для возможности прогнозирования преэклампсии.

Различными авторами ведется непрерывный поиск различных неинвазивных предикторов данного осложнения беременности с выделением молекулярно-генетических маркеров. Ангиогенез в формировании плацентарной васкулярной системы является ключевым процессом. Ангиогенные факторы и их рецепторы это важные регуляторы развития сосудистой системы плаценты [40, 44, 86, 95, 198, 251]. Широко изученными маркерами преэкламп-

сии являются плацентарный фактор роста (PLGF), сосудисто-эндотелиальный фактор роста (VEGF) а также их антагонисты – растворимая fms-связанная тирозинкиназа-1 (sFlt-1) и растворимый эндоглин (sEng). sFlt-1 является коротким фрагментом мембрансвязанного Flt-1 белка, данный белок свободно циркулирует в крови, может связываться с VEGF и PLGF в результате чего отключает их активность. В различных работах была показана связь между повышением концентрации sFlt-1 в крови и формирование преэклампсии [16, 223, 239, 297]. У пациенток с физиологическим течением беременности, уровень sFlt-1 начинает возрастать за 5 недель до возможных сроках появления первых клинических проявлений преэклампсии и, в последующем значительно возрастает. Отмечается прямая зависимость между уровнем sFlt-1 и тяжестью преэклампсии и развитием протеинурии и гипертензии. Т.Ю. Иванец и соавт. установлено, «что в динамике физиологически протекающей беременности, уровень PIGF возрастает, тогда, как у женщин с преэклампсией – снижается» [16, 64, 239]. При изучении функционального состояния эндотелия сосудов у беременных с данным синдромом, отечественными авторами также было выявлено достоверное снижение VEGF и PIGF, увеличение концентрации sFlt1 в 2-4 раза по сравнению со здоровыми беременными и нормализация данных показателей в течение 2-5 суток после родоразрешения, что подтверждает феномен гестационной эндотелиальной дисфункции при преэклампсии, который завершается после прекращения беременности [64, 297]. Необходимо отметить, что, как при ранней, так при поздней форме преэклампсии изменяется уровень sFlt-1 в крови матери. В ряде исследований было показано увеличение концентрации sFlt-1 в 43 раза при ранней форме преэклампсии и в 3 раза – при поздней форме по сравнению с физиологически протекающей беременностью. В настоящее время считается, что повышение уровня sFlt1 во II триместре достоверно прогнозирует развитие преэклампсии и данный белок является наиболее точным маркером развития ранней ее формы. В исследованиях Т.Ю. Иванец и соавт. [16] и S. Husse et al. [239] показано, что наиболее достоверным считается прогно-

зирование развития преэклампсии по соотношению sFlt1 к PIGF. H. Stepan et al. «показали, что снижение уровня PIGF или соотношения sFLT-1/PIGF в течение беременности рассматривается как прогностический показатель развития данного патологического состояния. H. Stepan et al. [297] показано, что абсолютное значение отношения sFlt1 к PIGF более и/или равное 85, является наиболее точным диагностическим маркером преэклампсии у пациенток высокого риска. S. Verlohren et al. [212] подтвердили высокую диагностическую ценность прогнозирования преэклампсии по определению отношения sFlt1 к PIGF в интервале от 20 до 34 недель с чувствительностью 95% и специфичностью 94%. Следовательно, вышеуказанные маркеры, возможно, применять для прогнозирования преэклампсии.

К маркерам преэклампсии также относятся некоторые иммунорегуляторные белки беременности. Наиболее исследованным является плацентарный белок 13 (PP13), который значительно представлен в тканях плаценты и участвует в процессах ремоделирования сосудов. Уровень PP13 возрастает в периферической крови женщин в динамике физиологической беременности. Низкий уровень PP13 в крови беременных в I триместре, является прогностическим критерием развития ранней преэклампсии [144, 145, 272]. Также, определение PP13 на ранних сроках беременности может являться дополнительным фактором для повышения эффективности прогнозирования тяжелых форм преэклампсии в дополнении доплерометрического исследования пульсационного индекса в маточных артериях [235, 236, 237].

Также, в качестве прогностического маркера преэклампсии рассматривается ассоциированный с беременностью белок плазмы-А (РАРР-А), высоко гликозилированный белковый комплекс, синтезируемый трофобластом. Установлено, что снижение уровня РАРР-А в крови беременных в I триместре ассоциировано с развитием данного синдрома. Однако РАРР-А имеет более высокие показатели диагностической ценности для прогнозирования задержки роста плода, чем для преэклампсии [16, 40, 143, 144, 310].

В многочисленных исследованиях, в качестве диагностических/прогностических маркеров рассматриваются также цитокины (СС). Установлено, что при физиологически протекающей беременности уровень провоспалительных цитокинов в крови нарастает в динамике, что свидетельствует о развитии системной воспалительной реакции в норме. При преэклампсии, которая является ярким свидетельством гиперактивации иммунной системы матери, вследствие развития системного воспалительного ответа, не контролируемого иммунной системой особенно при тяжелой ее форме, выявляется повышенный уровень фактора некроза опухоли- α (TNF- α), IL-1, IL-8, IL-17 и IL-6 [1, 20, 21, 197, 213]. Кроме того, наблюдается дисбаланс в функционировании цитокиновой сети, выражающийся в снижении синтеза противовоспалительных цитокинов и изменении соотношения про-/противовоспалительных цитокинов как на локальном (плацента), так и системном (кровь) уровнях. Однако изменения цитокинов не являются специфичными для преэклампсии, поскольку отражают выраженность проявления воспалительного ответа, который также наблюдается и при других осложнениях беременности.

В качестве перспективных маркеров для диагностики/прогноза ПЭ рассматриваются свободная внеклеточная ДНК плода и, особенно, различные микроРНК (miR-98-5h, miR-222-3p, miR-210-3p, miR-155-5p, miR-296-3p, miR-181a-5p, miR-29b-3p) в крови [55]. Более того имеются данные о возможности использования специфических микроРНК для ранней диагностики преэклампсии (miR-221). Также при данном синдроме подтверждено статистически значимое снижение экспрессии в отношении miR-126, miR-376c, miR-144. Напротив, при преэклампсии было характерным повышение экспрессии для miR-141, miR-29a, miR-20a, miR-29b, miR-34a, miR-210 [37, 55, 110, 157, 203, 284].

Как указывалось выше особый интерес, представляют данные о целесообразности определения уровней внеклеточной ДНК в качестве маркера тяжести преэклампсии и критерия эффективности лечения. В ряде исследо-

ваний сообщалось, что у женщин с диагностированной преэклампсией концентрация в крови как общей, так и внеклеточной ДНК была выше, чем в физиологически протекающей беременности [23, 141, 221, 304, 309]. Было установлена ассоциация данного факта с тяжелой формой преэклампсии, что, по-видимому, объясняется усилением апоптоза трофобласта вследствие ишемии плаценты и снижения клиренса внеклеточной ДНК из крови матери при преэклампсии. Однако повышенное содержание вышеописанных маркеров в крови матери также нельзя признать специфичным для данного синдрома фактором, поскольку аналогичные факты описаны и при других осложнениях беременности [107, 164, 225, 245].

Для скрининга ранней преэклампсии предлагаются также различные биохимические маркеры. Недавние исследования показали, что панель на основе метаболитов, состоящая из триглицеридов, 3-гидроксиизовалерата, 2-гидроксибутирата, ацетона и цитрата, обладает достаточными характеристиками диагностической ценности для прогнозирования ранней преэклампсии [94, 245]. Комплексное использование панели метаболитов с клиническими и ультразвуковыми параметрами потенциально может улучшить скрининг, направленный на раннее выявление преэклампсии. Комбинированная модель логистической регрессии, включающая такие параметры, как уровень триглицеридов 3-гидроксиизовалерата, 2-гидроксибутирата, ацетона и цитрата и скорости кровотока в маточной артерии при доплерометрии имела показатели специфичности 90% для прогнозирования ранней преэклампсии [120, 149].

R.O. Bahado-Singh et al. [298] и N. O'Gorman et al. [217] предложили модель скрининга преэклампсии на основе теоремы Байеса (или формулы Байеса) – одна из основных теорем элементарной теории вероятностей, которая позволяет определить вероятность какого-либо события при условии, что произошло другое статистически взаимосвязанное с ним событие. Другими словами, по формуле Байеса можно более точно пересчитать вероятность, взяв в расчет как ранее известную информацию, так и данные новых наблю-

дений. Формула Байеса может быть выведена из основных аксиом теории вероятностей, в частности из условной вероятности. Особенность теоремы Байеса заключается в том, что для ее практического применения требуется большое количество расчетов, вычислений, поэтому байесовские оценки стали активно использовать только после революции в компьютерных и сетевых технологиях. Авторы высказывают предположение, что данная модель может быть основой для оценки и включения любых новых потенциально полезных биомаркеров, которые могут улучшить эффективность скрининга. Вместе с тем следует отметить, что указанные исследования проведены на небольших выборках и требуют дальнейших исследований для определения возможности и внедрения в рутинную практику.

Таким образом, анализ данных отечественной и зарубежной литературы показал, что проблема большого акушерского синдрома – преэклампсии, являясь предметом пристального внимания большинства исследователей далека от решения основных задач, связанных с диагностикой, прогнозированием, профилактикой, и как следствие лечением. Однако обобщенные данные многочисленных исследований позволили резюмировать, что ведущим фактором развития преэклампсии является плацентарная ишемия, развивающаяся вследствие нарушенных процессов инвазии трофобласта в спиральные маточные артерии, тромбофилических осложнений и тяжелой экстрагенитальной патологии матери. Активация системного воспалительного ответа и эндотелиальной дисфункции является итогом процессов, инициируемых в плаценте. Также, одним из ключевых факторов патогенеза преэклампсии является нарушение формирования иммунологической толерантности к плоду, что характеризуется гиперактивацией иммунных реакций и снижением регуляторной функции иммунной системы. Поскольку в качестве факторов, участвующих в плацентогенезе, а также факторов, регулирующих активность иммунной системы, могут рассматриваться гликаны плаценты, то исследование углеводного профиля плаценты при преэклампсии может дать дополнительные сведения для понимания патогенеза синдрома. Поскольку существу-

ет высокая потребность в разработке новых лабораторных методов для малоинвазивной диагностики и оценки степени тяжести преэклампсии, исследование антигликановых антител как факторов, отражающих патогенетические изменения в плаценте, является актуальным трендом в современной науке.

Вышесказанное позволит изучить некоторые звенья патогенеза и более точно прогнозировать развитие патологических процессов, приводящих к преэклампсии, а также разработать систему профилактических мероприятий для снижения акушерских осложнений и улучшения перинатальных исходов.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материал исследования

В зависимости от полученных данных клинико-лабораторного обследования, особенностей течения беременности, ее исходов и критериев включения в исследование были включены 235 пациенток. В дальнейшем согласно критериям включения и исключения в исследование были отобраны 178 беременных. Из них группу I (основную) составили 83 пациенток с преэклампсией, группу II (контрольную) 95 беременных с физиологически протекающей беременностью (без преэклампсии).

Принимая во внимание различный генез развития умеренной и тяжелой преэклампсии, для уточнения вклада факторов риска и поиска диагностических критериев в развитии данного патологического состояния основная группа была разделена на 2 подгруппы: 1А – 32 пациентки с тяжелой и 1Б – 51 беременная с умеренной преэклампсией.



Рис. 2. Дизайн исследования

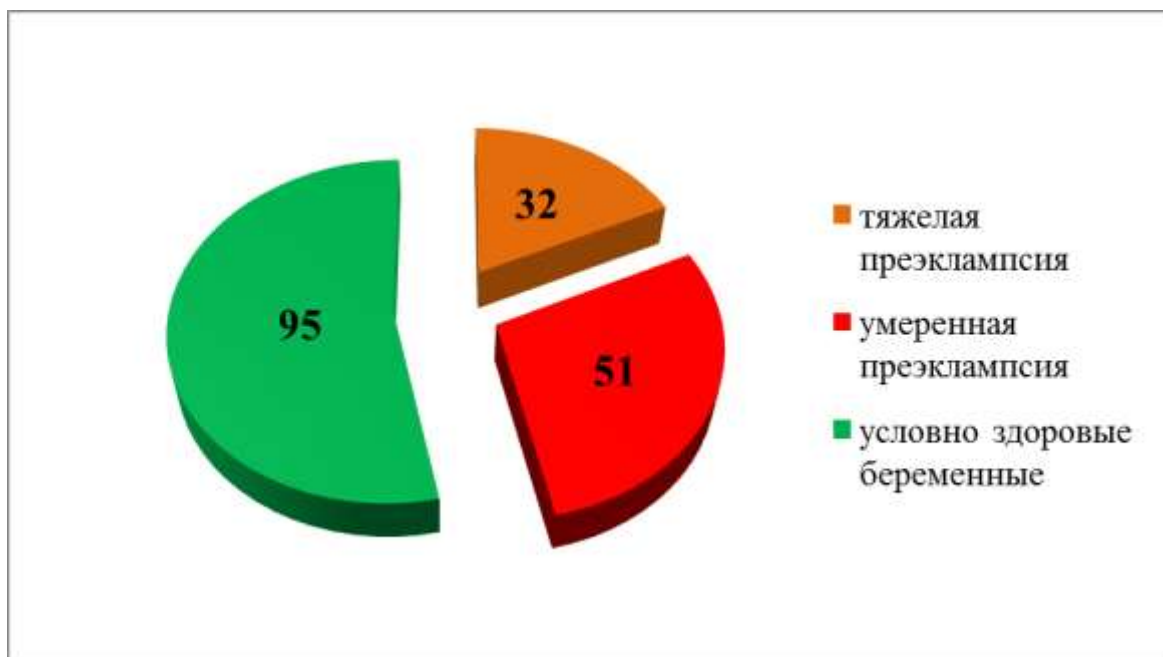


Рис. 3. Распределение беременных по группам исследования

Работа выполнялась в ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России (директор – академик РАН Г.Т. Сухих). Клиническая часть работы выполнена в акушерском отделении (заведующий – д.м.н., доцент Н.Е. Кан). Специальные методы исследования осуществлялись в лаборатории клинической иммунологии (заведующий – к.м.н. Л.В. Кречетова), паталого-анатомическом отделении (заведующий – д.м.н., профессор А.И. Щеголев).

Преэклампсия диагностируется при возникновении *de novo* артериальной гипертензии (значения более 140/90 мм рт. ст.) и протеинурии (более 0,3 г/сут) начиная с 21 недели беременности.

Критерии тяжелой преэклампсии (ВОЗ, 2011):

Тяжелая преэклампсия выставляется при выявлении одного и более из следующих перечисленных симптомов:

- САД более или равно 160/100 мм рт. ст. должно быть измерено как минимум дважды с интервалом в 6 ч при горизонтальном положении пациентки;

- наличие белка в моче при значениях 5 г/сут белка и более или 3+ в отдельных порциях;
- олигурия 500 мл мочи в сутки и менее;
- наличие болевого симптома в эпигастрии или правом подреберье;
- легочная недостаточность;
- почечная недостаточность;
- неврологическая симптоматика;
- наличие тромбоцитопении;
- задержка роста плода по данным УЗИ.

Нами были подробно изучены особенности семейного и собственного анамнеза с акцентом на наличие сердечно-сосудистых заболеваний, тромбоцитических состояний, заболеваний почек, избыточной масс тела, сахарного диабета, заболеваний щитовидной железы, системных заболеваний, наличие преэклампсии в анамнезе у повторнородящих, социального статуса, исходной клинической характеристики, акушерско-гинекологического анамнеза, возраста беременной, течения беременности, особенностей и исхода родов, послеродового периода, а также состояние плода и новорожденного.

Критериями включения в исследование для основной группы являлись:

- Одноплодная беременность при сроке от 22 до 40 недель, наступившая в естественном цикле, осложненная преэклампсией, подтвержденной данными клинико-лабораторных исследований;
- Возраст беременных от 18 до 45 лет.

Критериями включения для группы сравнения являлись:

- Отсутствие преэклампсии;
- Возраст беременных от 18 до 45 лет;
- Одноплодная беременность при сроке от 22 до 40 недель, наступившая в естественном цикле;

Критериями исключения для обеих групп исследования являлись:

- Резус-конфликт;

- Острые воспалительные заболевания в течение настоящей беременности;
- Тяжелая экстрагенитальная патология в стадии декомпенсации;
- Многоплодная беременность;
- Пороки развития плода;
- Онкологические и аутоиммунные заболевания.
- Иммуноглобулинотерапия, лечение низкомолекулярными гепаринами.

Всем пациенткам, которые были включены в исследование, для реализации поставленных задач, был выполнен стандартный набор обследования согласно приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01 ноября 2012 года № 572н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)»».

Перечень различных лабораторных исследований и их сроки проведения а также сроки забора биологических материалов представлен в таблице 2.

Таблица 2

Лабораторные исследования и сроки забора материала для их проведения у обследованных пациенток

Данные/дата	До родов	После родов
	22-40 недель	1 ^{ые} сутки после родов
Клинический анализ крови	+	+
Гемостазиограмма	+	+
Биохимический анализ крови	+	+
RW, ВИЧ, гепатиты	+	
PIGF, sFlt, соотношение PIGF/sFlt	+	–
УЗИ плода	+	–
КТГ плода	+	–
Лектиновая гистохимия ткани плаценты	–	+
Определение антигликановых антител	+	+

Каждая пациентка была проинформирована с целью и методами проводимого исследования, все пациентки подписали информированное согласие на их участие в научном исследовании.

2.2. Методы исследования

В данной работе были использованы современные методы исследования, с применением необходимых реактивов с использованием аппаратуры ведущих фирм-производителей лабораторного оборудования.

Основными принципами при формировании и проведении данного исследования были:

1. Сопоставление клинического течения беременности, родов, морфологических особенностей последа, состояния плода и новорожденного у женщин с преэклампсией и ее отсутствию;
2. Максимально сопоставимы друг к другу сроки исследования различных физиологических и биохимических параметров, а также проведение специальных методов исследования.
3. Применение современных методов статистической обработки для анализа полученных результатов различных.

Общеклинические методы

С каждой пациенткой проводилась беседа для подробного сбора соматического и акушерско-гинекологического анамнеза. В ходе сбора анамнеза особое внимание уделяли перенесенным инфекционно-воспалительным заболеваниям, течению и исходам предыдущих беременностей (выявление в анамнезе неразвивающихся беременностей самопроизвольных выкидышей, внутриутробного инфицирования плода, многоводия, рождению детей-инвалидов, с пороками развития, перинатальные потери), проведению или отсутствию прегравидарной подготовки.

Объективное обследование состояло из общего осмотра беременной, при котором оценивали состояние сердечно-сосудистой системы, дыхательной системы, психоэмоциональный статус, наличие заболеваний пищеварительной и мочевыделительной систем.

При наружном акушерском исследовании проводилась оценка положение и предлежание плода, оценивался характер двигательной активности плода, оценивалась частота СС у плода пальпаторно определялось наличие тонуса матки, степень напряжения ее стенок, соответствие наружных размеров в зависимости от гестационного срока. Показатели при измерении окружности живота и высоты стояния дна матки сравнивали с их нормативными показателями. В случае доношенной беременности высчитывалась предполагаемая масса плода по формулам (Жорданиа, Джонсона, Якубовой).

При гинекологическом осмотре обращали внимание на выделения из половых путей, их цвет, консистенцию, наличие запаха, наличие высыпаний или папиллом на кожных покровах и слизистой половых губ, промежности, влагалища, визуальный осмотр шейки матки, а также пальпаторная оценка ее «зрелости» (расположение, длину, консистенцию, форму, структуру) состояние паховых лимфатических узлов.

Всем пациенткам проводились стандартные исследования: определение группы крови и резус-фактора, клинические и биохимические анализы крови, гемостазиограмма, определение волчаночного антикоагулянта, общий анализ мочи, анализ мазка влагалища и цервикального канала на флору.

Измерение АД производилось ртутным тонометром по методу Н.С. Короткова через 5 мин отдыха пациентки, в положении сидя в удобной позе, рука находилась на столе на уровне сердца. Нижний край стандартной манжеты (ширина 12-13 см, длина 35 см) – на 2 см выше локтевого сгиба. Размер манжеты соответствовал размеру руки. При этом момент появления первых звуков соответствовал I фазе тонов Короткова и показывал систолическое АД, диастолическое АД регистрировали в фазу V тонов Короткова (прекращение). АД измерялось в состоянии покоя (после 5 минутного отдыха) 2 раза с интервалом не менее минуты; при разнице равной или более 5 мм. рт. ст. производили одно дополнительное измерение, при этом два последних значения усреднялись. Измерение АД производилось на обеих руках, если оно было разным, то мы ориентировались на более высокие значения. Показатели

АД фиксировались точностью до 2 мм. рт. ст. Степень повышения уровня АД и классификация преэклампсии в зависимости от уровня протеинурии устанавливалась согласно принятой классификации (таблицы 3 и 4).

Таблица 3

Классификация степени повышения уровня артериального давления у беременных

Категории АД	САД, мм. рт. ст.		ДАД, мм. рт. ст.
Нормальное АД	≤ 140	и	≤90
Умеренная АГ	140-159	и/или	90-109
Тяжелая АГ	160 и более	и/или	110 и более

Таблица 4

Классификация преэклампсии в зависимости от уровня протеинурии

Фенотип преэклампсии	Уровень протеинурии
Умеренная преэклампсия	>0,3 но <5 г/л (в сутки)
Тяжелая преэклампсия	>5 г/24ч или > 3 г/л в двух порциях мочи, взятых с интервалом в 6 час. или значение «3+» по тест-полоске

Молекулярно-биологические методы

Диагностику вируса простого герпеса, цитомегаловируса, хламидий, уреа- и микоплазм проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Материалом для исследования служили соскобы эпителия вульвы, влагалища, цервикальная слизь. ПЦР включала выявление ДНК-инфекционного агента путем праймер-специфической амплификации ДНК в клинических образцах термостабильным полимеразным ферментом до точки, где реакционный продукт может быть обнаружен путем электрофореза в агарозном геле, гибридизацией нуклеиновых кислот или основанной на иммуноферментном тесте колориметрической реакцией.

Биохимические методы

Определение содержания общего белка, глюкозы, мочевины, креатинина, калия, натрия, хлора, аспаратаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в сыворотке крови осуществлялось на биохимическом анализаторе «Ультра», производства фирмы «КОНЕ» (Финляндия) с использова-

нием стандартных компьютерных программ и реактивов. Концентрацию PlGF и sFlt-1 в сыворотке крови беременных определяли с помощью электрохемилюминесцентных диагностических тест-систем Elecsys PlGF и Elecsys sFlt-1 концерна «Ф. Хоффманн-Ля Рош» (Швейцария) на автоматическом анализаторе Cobas- e411 той же фирмы.

Контрольные группы для определения PlGF и sFlt-1 в сыворотке крови составили: I группа пациенток с ранней умеренной и тяжелой, поздней умеренной и тяжелой преэклампсией; II группа женщины с ранней и поздней артериальной гипертензией.

Функциональные методы исследования

Ультразвуковое исследование

Всем беременным был выполнен ультразвуковой скрининг всроках от 22 до40 недель беременности. Исследования проводили вреальноммасштабе времени наультразвуковых аппаратах экспертногокласса с комплексной-цифровой обработкой ультразвукового сигнала «Aloka SSD-680»,«Toshiba-38A» («Toshiba», Япония), «AcusonAntares» («Simens», Германия) при помощи трансабдоминальных и трансвагинальных датчиков, работающих в реальном масштабе времени. Полученныерезультаты биометрии плода сравнивали снормативными значениями, предложенными В.Н. Демидовым исоавт. (1995), рассчитывали предполагаемую массу тела идлину плода. Зрелость плаценты определялипо критериям Р.А. Grannum (1983), которые предполагают 4 степени:0, I, II, III.

Расчет объема околоплодных вод проводили путем измерения свободного пространства вокруг плода,заполненного околоплоднымиводами, за нормативные значения принималипоказатели от 12до 20см.

При заболеваниях почекпроводили дополнительное ультразвуковое исследование для контроля размера, структуры исостояния почечно-лоханочной системы, наличия конкрементови т.д.

Допплерометрическое исследование кровотока в системе «мать-плацента-плод»

Допплерометрия параметров кровотока в сосудах системы мать-плацента-плод проводилась при помощи ультразвуковых сканеров «AlokaSSD-680» и «AlokaSSD-2000» с использованием трансабдоминальных датчиков частотой 3,5 и 5,0 МГц в режиме пульсовой доплеровской волны.

Кровоток в артерии пуповины измерялся при сканировании в непосредственной близости от пупочного кольца плода. Кривая скоростей кровотока (КСК) определялась в дуговых маточных артериях при поперечном сканировании матки в области нижнего маточного сегмента, на границе наружной и средней трети миометрия. Кровоток в средней мозговой артерии плода измерялся при горизонтальном сканировании головки плода на уровне ножек мозга и перекреста зрительных путей. При оценке КСК вычислялось систоло-диастолическое соотношение (С/Д), равное отношению максимальной систолической скорости кровотока. В случае нулевых и отрицательных показателей диастолического компонента кровотока использовался индекс резистентности (ИР). Для одновременного учета изменений кровотока в маточно- и плодово-плацентарном звеньях рассчитывался плацентарный коэффициент (ПК). В качестве нормативных показателей КСК в маточной и пуповинной артериях мы использовали данные А.Н. Стрижакова и соавт. (1996). При этом за отклонение от нормальных значений принимались параметры, превышающие нормативы СДО для маточной артерии и артерии пуповины более чем на два стандартных отклонения для соответствующего срока беременности. Параметры СДО в средней мозговой артерии у плода считали нормальными в случае превышения 4,4.

Аntenатальная кардиотокография

Для наблюдения за состоянием плода в III триместре гестации в 34 и 38 недель проводилась антенатальная кардиотокография методом неинвазивного ультразвукового зондирования, основанного на эффекте Допплера при абдоми-

нальном расположении датчика. Исследование выполняли при помощи аппаратов 8030А фирмы «HewlettPackard» (США), МТ-801 фирмы «Тоити» (Япония) и современного многофункционального монитора «Феталгарт-2000», дополненного персональным компьютером с математическим обеспечением анализа кардиотокограмм в реальном масштабе времени. Запись осуществлялась в течение 60 минут в положении беременной на боку. Скорость движения бумаги составляла 1 см в минуту. При анализе кардиотокограмм определялся характер variability базального ритма сердечных сокращений плода, количество и амплитуда акцелераций, характер, амплитуда и количество децелераций, а также вычисляли интегрированный показатель состояния плода (ПСП), по формуле, предложенной В.Н. Демидовым (1991).

При интерпретации данных ПСП исходили из того, что величина его $\leq 1,0$ указывает на отсутствие нарушения состояния плода; $>1,0 - \leq 2,0$ – свидетельствует о начальных проявлениях внутриутробного нарушения состояния плода; $>2,0 - \leq 3,0$ – о выраженных нарушениях и более $3,0$ – о тяжелом страдании плода.

$$\text{ПСП} = 155 \cdot 10^{-4} (E_{\text{tcp}}) + 87 \cdot 10^{-7} \cdot (E_{\text{hma}})^2 - 64 \cdot 10^{-4} \cdot (E_{\text{hma}}) + 0.33 / \text{Max}_{\text{hma/cp}} + 0.05,$$

где E_{tcp} – общая продолжительность стабильного ритма; E_{hma} – общая амплитуда медленных акцелераций; $\text{Max}_{\text{hma/cp}}$ – отношение амплитуды максимальных акцелераций к максимальному времени стабильного ритма.

Специальные методы исследования

Метод лектиновой гистохимии

Изучение углеводного профиля плаценты проводили методом лектиновой гистохимии. Использовали парафиновые срезы, толщиной 4 мм, на предметных стеклах Superfrost Plus («Menzel-Glaser GmbH и Co», Германия).

В гистохимическое исследование были включены образцы тканей из парацентральной области плаценты, которые согласно результатам рутинного морфологического исследования (макроскопического и гистологического)

не содержали очагов с такими патологическими изменениями, как инфаркты, кровоизлияния, отложения солей кальция.

Для детекции гликанов в структурах плаценты использовали панель, состоящую из шести биотинилированных лектинов растительного происхождения: MAL II, SNA, ECL, UEA I, Con A и VVL («Vector Labs», USA) (таблица 2.4). Все лектины предварительно доводили до конечной концентрации 10 мг/мл фосфатным буфером («PBS, Sigma», USA) с добавлением 4% бычьего сывороточного альбумина («BSA, PanEco», Россия). Углеводная специфичность лектинов суммирована в таблице 5.

Таблица 5

Специфичность лектинов

Группа	Лектин	Моносахаридная специфичность	Комментарии по специфичности
Лектины, связывающие сиаловую кислоту	Лектин из семян маакии амурской <i>Maackia Amurensis</i> (MAL II),	сиаловая кислота (2-3SiaLN)	3'-сиалозиды в составе N-гликанов комплексного типа
	Агглютинин из ягод бузины черной <i>Sambucus nigra</i> (SNA, EBL)	сиаловая кислота (2-6 SiaGal)	6'-сиалозиды в составе N-гликанов комплексного типа
Фукозосвязывающий лектин	Агглютинин из семян утесника европейского <i>Ulex Europaeus</i> (UEA I)	фукоза (α Fuc)	фукозилированные фрагменты в составе гликанов
Галактозо/N-ацетилгалактозамин-связывающие лектины	Агглютинин из семян вики мохнатой <i>Vicia Villosa</i> (VVL, VVA)	N-ацетилгалактозамин (GalNAc)	фрагменты N-ацетилгалактозамина в составе гликанов
	Агглютинин из семян эритрины петушиный гребень <i>Erythrina Crist</i> (ECL, ECA)	Терминальная β 1-Gal	N-гликаны комплексного типа с терминальными олиголактозаминовыми фрагментами
Маннозосвязывающий лектин	Concanavalin A (Con A)	Глюкоза (α Glc), Манноза(α Man)	N-гликаны олигоманнозного типа N-гликаны гибридного типа Биантенные N-гликаны комплексного типа (слабое связывание)

Использовали по 15 срезов из выбранного образца от каждой пациентки: 6 срезов инкубировали с указанными выше лектинами, 3 среза предварительно обрабатывали нейраминидазой (до инкубации с лектинами SNA, MAL II и ECL), 6 срезов служили отрицательным контролем (по одному срезу для каждого лектина).

Окрашивание проводилось в соответствии со стандартным протоколом. Демаскировку гликанов осуществляли в микроволновой печи с использованием цитратного буфера («Spring Bioscience», USA, pH=6,0) при мощности 600 Вт.

С целью блокирования активности эндогенной пероксидазы срезы инкубировали в течение 10 минут в 3%-ном растворе H_2O_2 («Spring Bioscience», USA). Затем проводилось трехкратное отмывание срезов фосфатно-солевым буферным раствором (PBS, pH=7,6) по 5 минут каждое.

В соответствии с рекомендациями («Spring Bioscience», springbio. com) для блокирования неспецифического окрашивания использовали Protein Block («Spring Bioscience», USA) в течение 10 мин при комнатной температуре.

Инкубацию срезов с биотинилированными лектинами проводили в течение ночи при 4°C согласно рекомендациям dos-Santos. После инкубации с лектинами каждый срез промывали три раза PBS и инкубировали с конъюгатом стрептавидин-пероксидазы («Amersham», USA), разбавленным в PBS 1:1000 в течение 30 мин при комнатной температуре.

Для визуализации углеводных фрагментов использовали диаминобензидин (DAB) («Spring Bioscience», USA), содержащий DAB-хромоген (3,3-диаминобензидин), который разбавляли буферным субстратом (pH=7,5), содержащим перекись водорода.

Срезы дополнительно окрашивали раствором гематоксилина Майера (BioVitrum, Россия) в течение 3 секунд для более точной визуализации структур плаценты.

Изучение связывания лектинов UEA I, Con A и VVL проводили без предварительной обработки нейраминидазой. Лектины SNA, MAL II и ECL использовали в двух вариантах протокола: без предварительной обработки и после предварительной обработки нейраминидазой. Применяли нейраминидазу из *Vibrio cholerae* (Type III, buffered aqueous solution, sterile-filtered, 1-5 units/mg protein, «Sigma-ALDRICH», USA) в концентрации 50 mU/ml. Обработку нейраминидазой проводили в течение 1 часа при 37°C для удаления концевых остатков сиаловых кислот из олигосахаридных цепей.

В качестве отрицательных контролей применяли гистохимическое окрашивание без добавления лектинов в инкубационную среду в соответствии с рекомендацией Sgambatia. Положительными контролями служили образцы плацент позднего срока беременности, которые были предметом настоящего исследования.

Для количественного анализа результатов гистохимического окрашивания использовали микроскоп Eclipse 80i («Nikon Corporation», Япония) и программу для морфометрических исследований NIS Elements Advanced Research 3.2 («Laboratory Imaging LTD», Czech Republic).

Интенсивность окрашивания оценивали по уровню оптической плотности окрашенного продукта реакции в составе гликокаликса эндотелия сосудов и синцитиотрофобласта терминальных ворсин в 10 полях зрения каждого среза. Количественная оценка интенсивности реакции проводилась «слепым методом» (на зашифрованных образцах). Полученные измерения оптической плотности умножали на 100 для удобства последующего анализа.

Микрочиповый метод

Антигликановые антитела (IgG и IgM) исследовались в сыворотке крови с помощью гликочипа, содержащего 473 гликана, 216 полисахаридов и 25 пептидов и гликопептидов. Гликочипы были напечатаны как описано в работе Vlixt O. et al., (2004). Каждый лиганд был напечатан в 6 повторах. Чипы выдерживали в течение 15 мин в 0,1 М изотоническом фосфатном буфере (ИФБ) (0,01 М Na₂HPO₄, 0,01 М NaH₂PO₄, 0,138 М NaCl и 0,0027 М KCl, pH

7,4), содержащем 0,1%-ный Tween20 (0,1%-ный ИФБ). Затем на них наносили анализируемые сыворотки крови, разбавленные в 15 раз в 0,1%-ном ИФБ, содержащем 3% БСА (1 чип – 1 образец), и выдерживали на шейкере при относительной влажности 80% в течение 1 ч. После этого чипы промывали 0,05%-ым ИФБ и прибавляли 20 мкг/мл раствора антител в 0,1%-ном ИФБ, узнающих человеческие IgG и IgM, меченные Cy3 и Cy5, соответственно. После инкубации на шейкере при относительной влажности 80% в течение 1 ч чипы промывали сначала 0,05%-ым ИФБ, затем бидистиллированной водой.

Интенсивность флуоресценции, выраженную в относительных единицах (уеф), измеряли с помощью конфокального сканера ProScanArray Gx («PerkinElmer», США) с разрешением 10 мкм. Полученные данные обрабатывали с помощью программного обеспечения ScanArrayExpress 4.0, используя метод фиксированных колец диаметром 70 мкм, а также «Microsoft Excel». Значимыми считались сигналы, интенсивность флуоресценции которых превышала фоновое значение более (т.е. сигналы в зонах, не содержащих гликанов), чем в 5 раз. Для расчета межслайдовой корреляции проводилась инкубация гликочипа с коммерческим комплексным иммуноглобулиновым препаратом (КИП). Уровень антигликановых антител (отражающий аффинность антител и их количество) характеризовали с помощью медианы интенсивностей флуоресценции повторов лигандов гликочипа.

Изучение здоровья новорожденных (перинатальные исходы)

Одним из критериев эффективности проводимых профилактических и лечебных мероприятий является характеристика перинатальных исходов, в том числе оценка состояния младенцев при рождении. Характеристика антропометрических параметров позволяет ретроспективно оценить условия развития внутриутробного «пациента» при преэклампсии. Течение раннего неонатального периода было оценено у 178 новорожденных. Все дети сразу после рождения осматривались неонатологом, определялись оценка их состояния по шкале Апгар, масса, рост, окружности головки и грудной клетки. При

оценке показателей физического развития новорожденных пользовались популяционными региональными нормативами. В соответствии с общепринятыми критериями, в качестве нормативов принимали показатели в пределах 10-90 перцентилей, вне этих пределов – за отклонение от нее. Постнатальным критерием задержки роста плода является снижение массы тела ниже 10 перцентилей для соответствующего гестационного возраста.

При оценке перинатальных исходов нами наряду с абсолютными значениями, использовались специальные оценочные индексы массоростовых соотношений. В дальнейшем изучалась динамика массы новорожденных, срок от падения пуповинного остатка, течение раннего адаптационного периода. По показаниям дети переводились на второй этап выхаживания.

Статистические методы

Все полученные результаты в ходе исследования вносились в специально разработанную для данного исследования тематическую карту и в электронные таблицы MS Excel for Windows.

Статистический анализ проводился с помощью программного обеспечения Statistica for Windows v.11. Для оценки формы распределения изучаемой выборки проводился тест Колмагорова-Смирнова. Были посчитаны средние значения переменных их стандартные ошибки с 95%-ым доверительным интервалом. Для определения различия в группах по средним значениям использовался Т-критерий Стьюдента и дисперсионный анализ. Оценка статистической значимости оценивалась при p менее 0,05.

Дальнейший статистический анализ полученных результатов был проведен на персональном компьютере с помощью программного пакета «SPSS Statistics 20.0 for Windows». Для решения вопроса о выборе статистического метода первоначально верифицировалось, к какой статистической шкале (номинальной, порядковой или интервальной) относятся переменные. Для сравнения в группах средних величин использовались нижеперечисленные непараметрические тесты:

Тест Уайта для малых выборок (обработка результатов иммуногистохимического анализа с малыми выборками была проведена вручную при помощи калькулятора и таблиц значений F); U тест по методу Манна-Уитни при сравнении 2-х независимых выборок.

Для верификации связи между различными переменными определялся ранговый коэффициент корреляции по Спирману. Все полученные результаты были проверены на корреляцию с 13 параметрами (возраст, вес матери и новорожденного, уровень лейкоцитов, нейтрофилов абсолютных и относительных, гемоглобина, тромбоцитов, фибронектина, белка в моче, ферментов – аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), протромбинового индекса).

При анализе достоверности определяемых в различиях между средними значениями выборок и достоверности выявленной корреляции рассчитывалась вероятность ошибки $p \leq 0,05$. В аналитической статистике утверждения, имеющие вероятность ошибки $p \leq 0,05$, называются значимыми; утверждения с вероятностью ошибки $p \leq 0,01$ – очень значимыми, а утверждения с вероятностью ошибки $p \leq 0,001$ – максимально значимыми

Подготовка данных для дальнейшего анализа производилась на программном обеспечении SNP_tools версии 1.61 – свободно-распространяемого расширения для MS Excel.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью свободно распространяемого программного продукта WINPEPI версии 10.7. Для определения статистической значимости различий применялись критерии Фишера и Манна-Уитни для несвязанных совокупностей.

При статистической обработке полученных данных методом лектино-вой гистохимии использовали программный пакет «Statistica for Windows v. 10» («StatSoft Inc.», США). Для анализа распределения первичных данных применяли тест Колмогорова-Смирнова. Определяли средние значения переменных, стандартную ошибку и 95% доверительный интервал. Использовали

t-критерий Стьюдента для сравнения средних значений и анализа дисперсии. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Первичную обработку данных, полученных путем использования микрочипового метода, проводили с помощью Microsoft Office Excel: рассчитывали медиану сигналов и отклонение медианы по 6 повторам каждого лиганда. Статистический анализ проводился с помощью программы R и включал в себя процедуры контроля качества данных, проводимые как описано в работе M.I. Vuskovic et al. [244]; нормализацию данных и их нормализующую трансформацию, а также установление межгрупповых отличий по антигликановым антителам (как класса G, так и M).

Процесс проведения процедуры контроля качества данных был четырех-стадийным. В результате каждой стадии из рассмотрения исключались либо данные целого чипа, либо те или иные лиганды, не проходящие по определенным критериям.

1. Проверка данных чипа на воспроизводимость между 6 повторами. Для каждого чипа рассчитывался обобщенный коэффициент согласованности (overall concordance correlation coefficient, OCCS) и чипы с $OCCS < 0,9$ отсеивались. В результате данные по IgG с 5 чипов и данные по IgM с 17 чипов были удалены из рассмотрения.

2. Фильтрация лигандов, для которых флуоресцентная интенсивность была меньше или равна 95-ому перцентилю абсолютного отклонения медианы между повторами для, как минимум, $n-4$ образцов (n – общее число образцов). В результате по IgG было отсеяно 119 лигандов, по IgM – 50.

3. Исключение лигандов с высокой вариацией между повторами (коэффициент вариации был больше или равен 0,5 для 50% образцов). Таких лигандов не оказалось.

4. Оценка внутрикласового коэффициента корреляции (interclass correlation coefficient, ICC), т.е. соотношения между биологической вариабельностью и общей вариабельностью данных для каждого лиганда. Пороговое зна-

чение для ИСС было 0,85. По IgG 287 лигандов, а по IgM – 384 лиганда с ИСС<0,85 были исключены из рассмотрения.

Суммарно для дальнейшего анализа были взяты 348 образцов, для которых по IgG в рассмотрение были взяты 293 лиганда, а по IgM – 287. Прошедшие контроль данные были подвергнуты процедуре общей внутрислайдовой линейной нормализации, позволяющей убрать линейное межслайдовое смещение с незначительными потерями данных. При этом в процессе нормализации появлялись сигналы, имеющие отрицательные величины. Это указывает на то, что сигнал к данному гликану оказался ниже медианы сигналов всех гликанов на слайде. Степень параметра преобразования выбрана одинаковой для всех гликанов и равной $\lambda=0,2$, что соответствует ее оптимальному значению, подобранному эмпирическим путем в работе [244]. Затем следовало нормализующее преобразование данных, в результате которого получается переменная, чье распределение более похоже на нормальное (симметричное), чем исходное. Для имеющейся выборки было использовано преобразование Бокса-Кокса с поправками, предложенными авторами J.A. John и N.R. Draper [176] для решения проблемы учета отрицательных значений данных. Полученные результаты представлены как медианы преобразованных сигналов в группах и ее отклонения. Далее для установления межгрупповых различий был использован непараметрический тест Вилкоксона-Манна-Уитни (WMW-тест). Значимыми считали отличия, для которых величина $p<0,00017$, что соответствует уровню значимости 0,05 после поправки на множественность $< 0,00017$.

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

Результаты собственных исследований

Глава 3. ИСХОДНАЯ КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА, АКУШЕРСКИЕ И ПЕРИНАТАЛЬНЫЕ ИСХОДЫ У БЕРЕМЕННЫХ С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

Для выполнения настоящей работы на первом этапе исследования были включены 235 женщин, родоразрешенных в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России в период с 2015 по 2018 год. В дальнейшем согласно критериям включения и исключения в исследование были отобраны 178 беременных. На рисунке 4 представлен дизайн проведенного исследования.



Рис. 4. Дизайн исследования

Были сформированы две группы: группа I – основная, состоящая из 83 пациенток, беременность которых осложнилась преэклампсией и группа II – группа сравнения, состоящая из 95 условно здоровых беременных. Кроме того, основная группа была разделена на 2 подгруппы в зависимости от степени

тяжести преэклампсии. Подгруппу IA составили 32 пациентки с тяжелой формой преэклампсии, подгруппу IB – 51 беременная с умеренной формой преэклампсии. Выделение пациенток в основную группу проводилось согласно критериям ВОЗ и клиническим рекомендациям Минздрава России 2016 г.

У всех женщин, включенных в исследование, были изучены данные анамнеза. Внимание было уделено возрасту беременных, экстрагенитальной патологии, менструальной и репродуктивной функциям, перенесенным гинекологическим заболеваниям и оперативным вмешательствам. Особое внимание обращалось на наличие в анамнезе артериальной гипертензии, заболеваний почек и преэклампсии во время предшествующих беременностей. Был также выяснен репродуктивный анамнез: паритет беременностей и их исходы (роды – характер и срок родоразрешения, неразвивающиеся беременности, самопроизвольные выкидыши, аборты и т.д.).

Беременные соответствовали критериям включения, были взяты для наблюдения и обследования по обращаемости, подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

В соответствии с задачами настоящего исследования для сбора необходимой информации была разработана индивидуальная карта обследования беременных, состоящая из двух разделов: первая часть включала медико-социальный и общий анамнез женщины, паритет беременности, родов и их исходы, перенесенные гинекологические и экстрагенитальные заболевания; вторая часть – течение данной беременности, материнские и перинатальные исходы.

Как было указано в главе 2, критериями включения в основную группу послужили: диагностированная преэклампсия, одноплодная беременность. Критериями включения в группу сравнения являлись: одноплодная беременность, родоразрешение на сроке от 22 недель до 40 недель 6 дней беременности, отсутствие регулярной родовой деятельности.

Критериями исключения являлись: многоплодная беременность, пороки развития плода, наличие тяжелой экстрагенитальной патологии, резус-сенсibilизация, иммуноглобулиноterapia, лечение низкомолекулярными гепаринами, онкологические и аутоиммунные заболевания.

Анализ соматического и акушерско-гинекологического анамнеза

При проведении анализа установлено, что все обследованные женщины, были сопоставимы по возрасту и состоянию соматического здоровья.

Возраст беременных, включенных в исследование, колебался в пределах от 18 до 45 года и составил в среднем – $32,4 \pm 0,7$, $31,2 \pm 1,5$ лет (по группам соответственно). На рисунке 5 и в таблице 6 представлено распределение женщин по возрастным градациям.

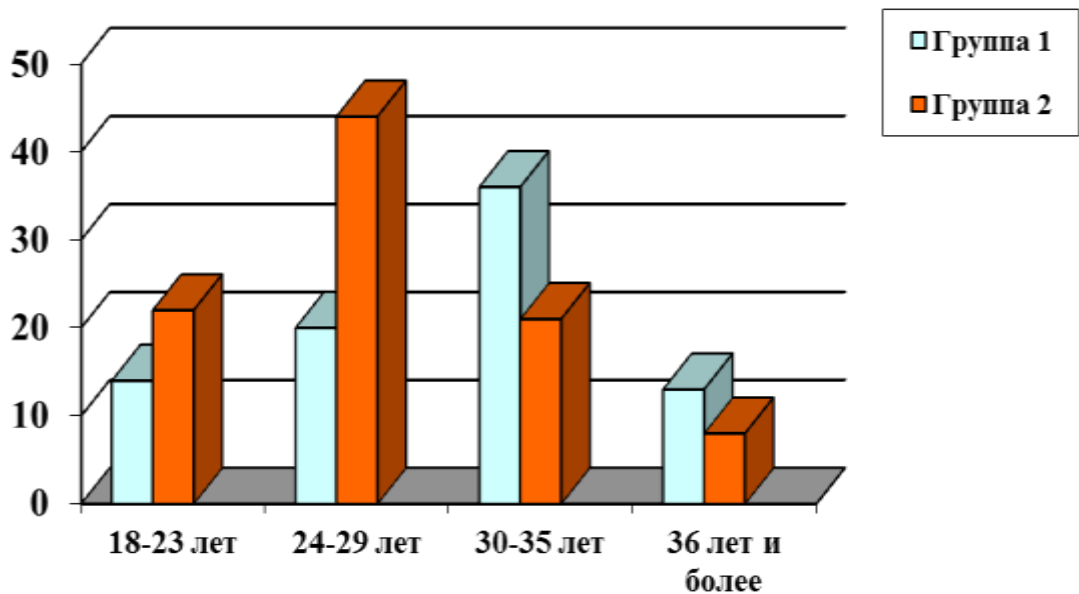


Рис. 5. Распределение беременных по возрастным градациям

Таблица 6

Распределение пациенток исследуемых групп по возрасту (n,%).

Группы/Возраст	18-23 лет		24-29 лет		30-35 лет		36 и более лет	
Группа 1 (n=83)	14	16,9%	20	24,1%	36	43,3%*	13	15,7%
Группа 2 (n=95)	22	23,2%	44	46,3%	21	22,1%	8	8,4%

*Достоверные различия между группами $P < 0,05$

Как видно из представленных в таблице 6 и на рисунке 5 данных в основной группе (беременные с преэклампсией) преобладали пациентки в возрасте от 30 до 35 лет (43,3%), в отличие от группы сравнения (22,1%), что подтверждает представления о связи развития преэклампсии с возрастом женщины.

Анализ массо-ростовых соотношений у обследованных беременных отклонений от популяционных норм не выявил. Однако средняя масса тела в основной группе несколько превышала таковую в группе сравнения и составила $84,1 \pm 2,1$ кг и $65,3 \pm 1,9$ кг (по группам соответственно), а средний рост – $165,1 \pm 3,2$ см и $165,4 \pm 3,9$ см (соответственно по группам).

На следующем этапе исследования был проведен анализ структуры экстрагенитальной патологии в группах исследования. Частота и структура соматических заболеваний представлена на рисунке 6 в таблице 7.

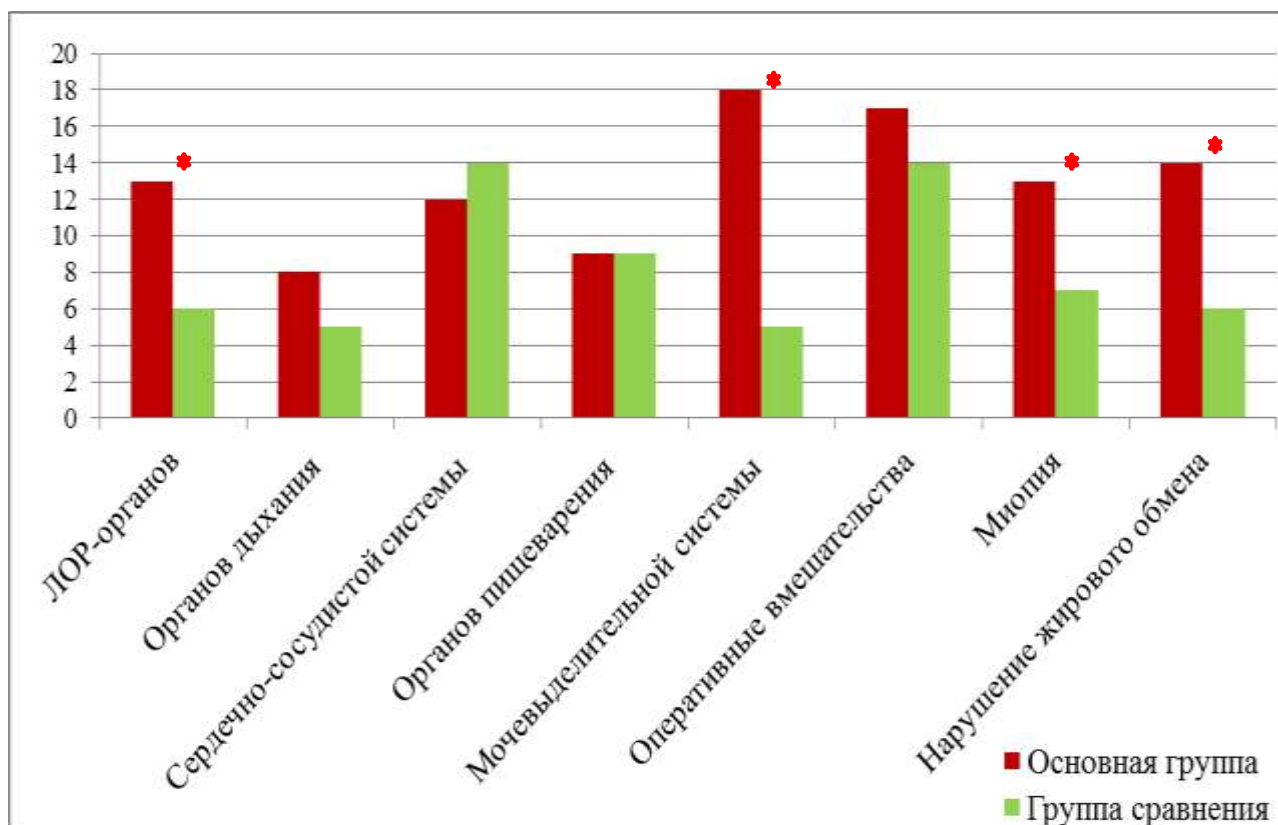


Рис. 6. Частота встречаемости экстрагенитальной патологии

Таблица 7

Структура соматической заболеваемости пациенток в группах (n, %).

Нозологические формы	Группа 1 n=83 (%)	Группа 2 n=95 (%)
Нарушение жирового обмена 1 степени	14 (16,9)*	6 (6,3)
Варикозное расширение вен ног	15 (18,1)*	9 (9,5)
Артериальная гипертензия	3 (3,6)	2 (2,1)
Пролапс митрального клапана	9 (10,8)	12 (12,6)
Миопия различной степени	13 (15,7)*	7 (7,4)
Хронический гастродуоденит	9 (10,8)	9 (9,5)
Пиелонефрит	6 (7,2)*	3 (3,2)
Цистит	9 (10,8)*	2 (2,1)
Мочекаменная болезнь	1 (1,2)	-
Тонзиллит	9 (10,8)	4 (4,2)

*Достоверные различия между группами $P < 0,05$

Проведение сравнительного анализа исходной клинической характеристики женщин исследуемых групп, позволило установить следующие закономерности: у пациенток основной группы (с преэклампсией) в анамнезе отмечена более высокая частота заболеваний сердечно-сосудистой системы ($n=26$, 31,3%) ($OR=7,7$ (2,5-23,4)), $p < 0,05$), онкологических заболеваний ($n=12$, 14,7%) ($OR=1,5$ (0,6-4,2)), $p > 0,05$). Среди перенесенных детских инфекционных заболеваний в основной группе преобладали корь ($n=14$, 16,8%) ($OR=2,2$ (0,8-6,0)), $p > 0,05$), скарлатина ($n=7$, 8,4%) ($OR=1,5$ (0,4-5,5)), $p > 0,05$), паротит ($n=6$, 7,2%) ($OR=1,8$ (0,4-7,3)), $p > 0,05$), а в группе сравнения краснуха ($n=47$, 49,5%) ($OR=0,8$ (0,4-1,6)), $p > 0,05$).

Среди заболеваний верхних дыхательных путей при преэклампсии чаще отмечались тонзиллит ($n=9$, 10,8%) ($OR=2,0$ (0,6-7,0)), $p > 0,05$) и ринит ($n=1$, 1,2%) ($OR=2,0$ (0,6-7,0)), $p > 0,05$), бронхит ($n=2$, 2,4%) ($OR=0,8$ (0,1-6,1)), $p > 0,05$).

Особый интерес представляло изучение структуры заболеваний сердечно-сосудистой системы, которым отводится немаловажное значение как преморбидному фону для развития преэклампсии. Так, частота артериальной

гипертензии в основной группе составила ($n=3$, 3,6%) ($OR=2,6$ (0,3-25,7)), $p>0,05$), варикозной болезни ($n=15$, 18,1%) ($OR=4,5$ (1,5-39,2)), $p<0,05$). Достоверных различий в частоте пролапса митрального клапана не установлено.

Среди заболеваний мочевыводящей системы преобладали хронический пиелонефрит ($n=6$, 7,2%) ($OR=5,4$ (0,6-46,3)), $p>0,05$), цистит ($n=9$, 10,8%) ($OR=5,4$ (1,6-46,3) $p<0,05$) и мочекаменная болезнь ($n=1$, 1,2%) ($OR=0,8$ (0,05-13,8) $p>0,05$)).

В основной группе частота хронического гастрита составила ($n=9$, 10,8%) ($OR=4,1$ (0,8-20,0)), $p>0,05$), гастродуоденита ($n=2$, 2,4%) ($OR=1,7$ (0,1-19,4)), $p>0,05$), холецистита ($n=2$, 2,4%) ($OR=1,7$ (0,1-19,4)), $p>0,05$) и панкреатита ($n=4$, 4,8%) ($OR=3,5$ (0,4-32,4)), $p>0,05$).

Учитывая более высокие показатели индекса массы тела при преэклампсии, была уточнена частота нарушений жирового обмена 1 степени и установлено достоверно ее более высокая частота, составившая ($n=14$, 16,9%) ($OR=3,5$ (1,4-32,4)), $p<0,05$).

Среди других заболеваний следует отметить более высокую частоту фиброзно-кистозной мастопатии ($n=2$, 2,4%) ($OR=1,7$ (0,1-19,4)), $p>0,05$). Отсутствие указаний на наличие сахарного диабета и аутоиммунного тиреоидита обусловлено, по-видимому, критериями исключения в исследование.

Обращала также на себя внимание более статистически значимая более высокая частота миопии в основной группе ($n=13$, 15,7%) ($OR=1,7$ (1,1-19,4)), $p<0,05$).

Полученные данные указывают на отсутствие достоверных различий в частоте заболеваний сердечно-сосудистой системы. В тоже время получены статистически значимые различия в частоте хронического пиелонефрита, цистита, варикозной болезни, нарушении жирового обмена и миопии.

С целью изучения состояния репродуктивного здоровья женщин, был проведен анализ акушерско-гинекологического анамнеза. Данные о времени наступления и характере менструальной функции представлены в таблицах 8 и 9.

Таблица 8

Возраст наступления менархе у обследованных пациенток (n, %).

Возраст наступления менархе	Группа 1 n=83 (%)	Группа 2 n=95 (%)
До 12 лет	16(19,3)	17 (17,9)
12-14 лет	43 (51,8)	50 (52,6)
15 лет и более	24 (28,9)	28 (29,5)

*Достоверные различия между группами (p <0,05)

Таблица 9

Характер менструального цикла у обследованных пациенток (n, %).

Характер менструального цикла	Группа 1 n=83 (%)	Группа 2 n=95 (%)
Продолжительность менструального цикла	54 (65,0)	67 (70,5)
25-35 дней	12(14,5)	12 (12,7)
<25 дней	17 (20,5)	16 (16,8)
>35 дней		
Нарушения менструального цикла	5 (6,0)	4 (4,2)

*Достоверные различия между группами (p <0,05)

Как видно из данных, представленных в таблицах 8 и 9, возраст наступления менархе и характер менструальной функции соответствовал популяционным нормам и различий по группам не было выявлено.

Пациентки всех групп ранее наблюдались и лечились по поводу различных заболеваний половых органов. Данные о частоте гинекологической заболеваемости представлены в таблице 10.

Таблица 10

Структура гинекологической заболеваемости у пациенток в группах исследования (n, %).

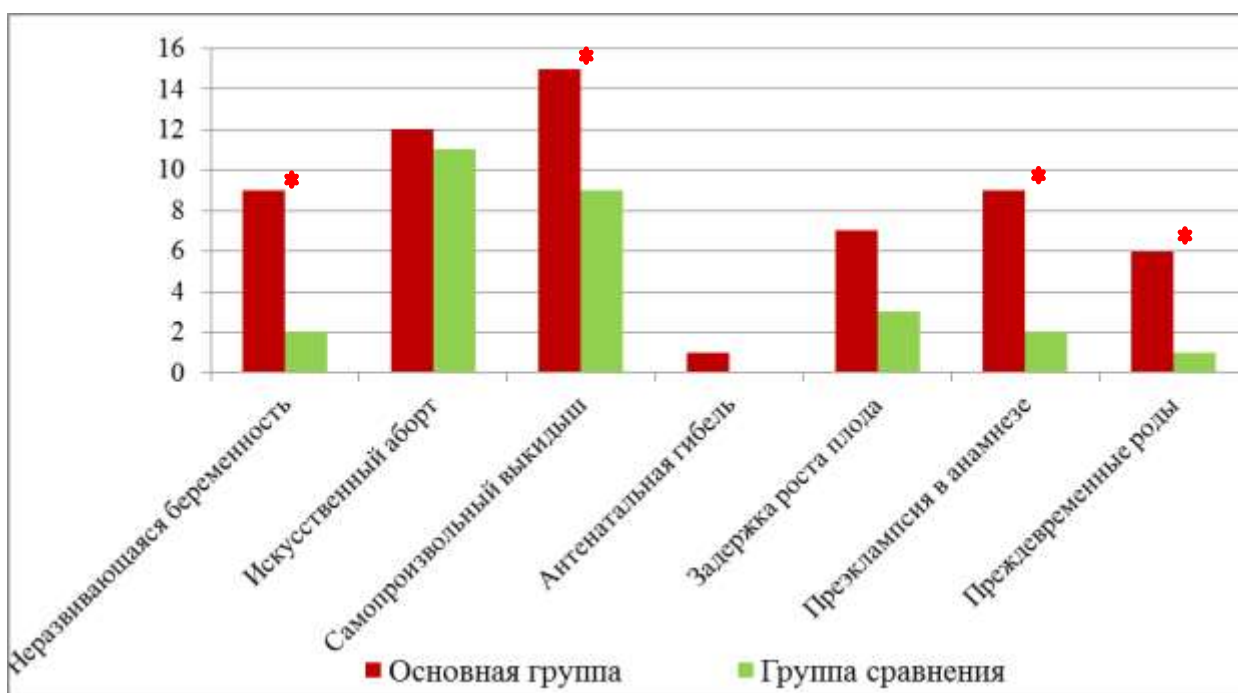
Нозологические формы	Группа 1 n=83 (%)	Группа 2 n=95 (%)
Миома матки	15 (18,1)*	4 (4,2)
Эктопия шейки матки	17 (20,5)	14 (14,7)
Хронический эндометрит	5 (6,0)	5 (5,3)
Доброкачественные новообразования яичников	1 (1,2)	1 (1,1)
Сальпингоофорит	4 (4,8)	6 (6,3)
Бесплодие I и II	6 (7,2)*	2 (2,1)

*Достоверные различия между группами ($p < 0,05$)

Среди гинекологических заболеваний в группе 1 было отмечено увеличение миомы матки ($n=15, 18,0\%$) ($OR=15,4 (2,0-120,3)$), $p < 0,05$), хронического эндометрита ($n=5, 6,0\%$) ($OR=4,5 (0,5-39,2)$), $p > 0,05$), сальпингоофорита ($n=4, 4,8\%$) ($OR=3,5 (0,4-32,4)$), $p > 0,05$), эндометриоза ($n=2, 2,4\%$) ($OR=1,7 (0,1-19,4)$), $p > 0,05$). В группе сравнения отмечалась более высокая частота кандидозного кольпита – $4,9\%$ ($n=5, 5,2\%$) ($OR=1,7 (0,3-17,4)$), $p > 0,05$).

Из 178 обследованной женщины первобеременных было 115 (64,6%), повторобеременных – 63 (35,4%), первородящих – 95 (53,4%), повторнородящих – 83 (46,6%).

Осложнения при предыдущих беременностях и их исходы у обследованных женщин представлены на рисунке 7.



*Достоверные различия между группами $P < 0,05$

Рис. 7. Исходы предыдущих беременностей у пациенток в группах

При анализе репродуктивной функции обследованных женщин выявлено, что частота самопроизвольных выкидышей (по группам соответственно 15 – 18,1% и 9 – 9,5%) ($OR=2,1 (1,1-1,9)$), $p < 0,05$), неразвивающихся беременностей (9 – 10,8% и 2 – 2,1%) ($OR=3,4 (3,2-4,6)$), $p < 0,05$), преждевремен-

ных родов (6 – 7,2% и 1 – 1,0%) (OR=1,6 (1,3-3,7)), $p<0,05$) и преэклампсии (9 – 10,8% и 2 – 2,1%) (OR=4,2 (2,7-4,9)), $p<0,05$) была достоверно выше ($p<0,05$) в основной группе, что свидетельствует о несомненной роли отягощенного акушерско-гинекологического анамнеза при данном виде патологии.

Также при оценке акушерского анамнеза установлено, что антенатальная гибель ($n=1$, 1,2%) (OR=1,8 (2,4-5,3)), $p<0,05$) и пузырный занос ($n=1$, 1,2%) (OR=0,8 (0,05-13,8)), $p>0,05$) отмечены только в основной группе.

Как указывалось в главе 1 большинство исследователей выделяют раннюю и позднюю преэклампсию. Данные формы имеют различную патофизиологию. Кроме того, общепризнанно, что чем раньше манифестирует данный синдром, тем тяжелее течение преэклампсии и, соответственно, это сопровождается большим количеством осложнений беременности и ухудшает прогноз для новорожденного.

Распределение беременных исследуемых групп с учетом формы и степени тяжести преэклампсии представлено на рисунке 8.

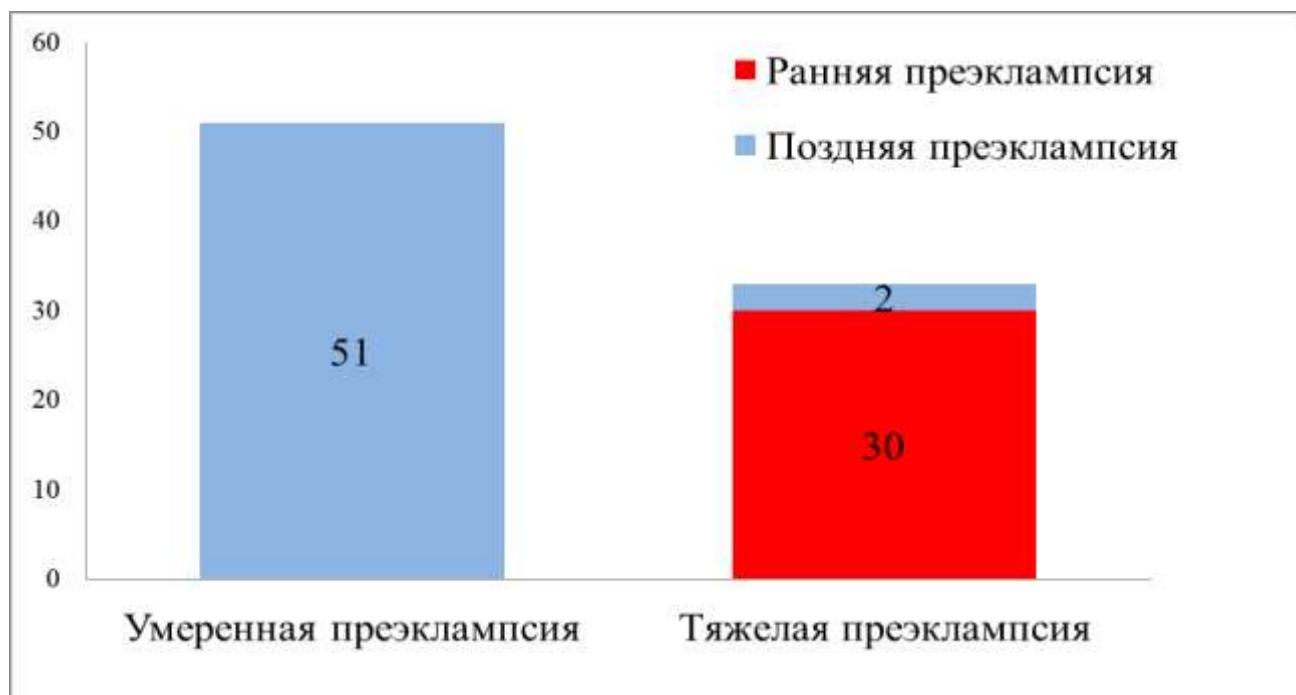


Рис. 8. Распределение беременных исследуемых групп с учетом формы и степени тяжести преэклампсии.

Следующим этапом исследования явилось проведение внутригруппового анализа, при котором было установлено, что тяжелая степень преэклампсии была ассоциирована с ранней манифестацией, иногда в сроке 24 недели, в то время как умеренная в более поздние сроки (после 34 недель).

Ввиду вышеизложенного, в дальнейшем мы проводили изучение клинико-anamnestических особенностей пациенток с учетом форм и тяжести преэклампсии. Структура соматической и гинекологической заболеваемости у пациенток с преэклампсией представлена в таблицах 11 и 12.

Таблица 11

Структура соматической заболеваемости пациенток с преэклампсией (n, %).

Нозологические формы	Группа 1А n=32 (%)	Группа 1Б n=51 (%)
Нарушение жирового обмена 1 степени	7 (21,9)*	7 (13,7)
Варикозное расширение вен нижних конечностей	6 (18,8)*	5 (9,8)
Артериальная гипертензия	3 (9,4)	8 (25,0)*
Малые аномалии развития сердца	3 (9,4)	6 (11,8)
Миопия	7 (21,9)*	6 (11,8)
Хронический гастрит	4 (12,5)	5 (9,8)
Хронический пиелонефрит	3 (9,4)	3 (5,9)
Хронический цистит	4 (12,5)*	5 (9,8)
Мочекаменная болезнь	1 (3,1)	-
Хронический тонзиллит	2 (6,3)	7 (13,7)

*Достоверные различия между группами (p < 0,05)

Таблица 12

Структура гинекологической заболеваемости у пациенток в преэклампсией (n, %).

Нозологические формы	Группа 1А n=32 (%)	Группа 1Б n=51 (%)
Миома матки	7 (21,9)	8 (15,7)
Эктопия шейки матки	9 (28,1)	8 (15,7)
Хронический эндометрит	2 (6,3)	3 (5,9)
Доброкачественные новообразования яичников	-	1 (1,9)
Сальпингоофорит	1 (3,1)	3 (5,9)
Бесплодие I и II	3 (9,4)*	3 (5,9)

*Достоверные различия между группами (p < 0,05)

Следует отметить, что у пациенток с тяжелой преэклампсией отмечена более высокая частота в анамнезе заболеваний сердечно-сосудистой системы ($n=17$, 53,1%) ($OR=19,5$ (5,2-72,4)), $p<0,05$), в отличие от ($n=16$, 31,3%) ($OR=4,4$ (1,7-15,3)), $p<0,05$) умеренной. Достоверных различий в частоте перенесенных детских заболеваний не выявлено.

Среди соматической заболеваемости следует отметить более высокую частоту мигрени при тяжелой преэклампсии – ($n=2$, 6,2%) ($OR=1,5$ (2,5-14,6)), $p<0,05$) нарушение жирового обмена 1 степени – ($n=7$, 21,8%) ($OR=4,4$ (1,4-14,3)), $p<0,05$), и артериальной гипертензии – ($n=8$, 25,0%) ($OR=4,4$ (1,4-14,3)), $p<0,05$).

Таким образом, комплексный анализ клиничко-анамнестических данных пациенток с преэклампсией выявил следующие закономерности:

1. Наибольший удельный вес пациенток, беременность которых осложнилась преэклампсией составили женщины ввозрастной группе 30-35 и лет.
2. При преэклампсии среди заболеваний сердечно-сосудистой системы статистически значимые различия отмечены только в отношении варикозной болезни, и не получено различий в частоте артериальной гипертензии и пролапса клапанов сердца.
3. Среди соматических заболеваний следует отметить достоверно высокую частоту хронических заболеваний мочевыделительной системы (пиелонефрит, цистит) и нарушение жирового обмена 1 степени.
4. Высокая частота гинекологических заболеваний в виде миомы матки и эндометриоза у беременных с преэклампсией указывает на их возможную значимость в качестве факторов риска развития данного осложнения
5. Среди факторов риска развития преэклампсии можно выделить самопроизвольные выкидыши, неразвивающиеся беременности, преждевременные роды и антенатальную гибель плода при предыдущей беременности.
6. Внутригрупповой анализ беременных с преэклампсией установил, что тяжелая ее форма ассоциирована с ранней манифестацией, при этом

у каждой пятой в сроке 24 недели беременности, а умеренная в сроке более 34 недель.

7. Выявленные клинико-анамнестические закономерности, характерные для преэклампсии, были значимы и для ее тяжелой степени.

В следующих разделах исследования изложены данные об особенностях течения беременности, родов, послеродового периода, а также исход родов для плода, состояние здоровья новорожденных у пациенток с преэклампсией.

Глава 4. ТЕЧЕНИЕ ГЕСТАЦИОННОГО ПЕРИОДА И ЕГО ИСХОДЫ, КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРЕЭКЛАМПСИИ, ОПРЕДЕЛЯЕМЫЕ С ПОМОЩЬЮ АНТИГЛИКАНОВЫХ АНТИТЕЛ И УГЛЕВОДНОГО ПРОФИЛЯ ПЛАЦЕНТЫ

4.1. Течение беременности, родов и послеродового периода, перинатальные исходы при преэклампсии

Принимая во внимание указание большинства исследователей на высокую частоту осложнений в период беременности у пациенток с преэклампсией и неблагоприятные перинатальные исходы, был проведен анализ течения беременности, родов, послеродового периода с учетом ранних неонатальных осложнений и заболеваний.

У пациенток с преэклампсией чаще отмечался ранний токсикоз умеренной и тяжелой степени ($n=15$, 18,1%), ($OR=0,8$ (0,4-1,6), $p>0,05$) и ретрохориальная гематома (по данным УЗИ) ($n=5$, 6,0%) ($OR=1,2$ (0,2-12,1), $p<0,05$), а также угроза прерывания ($n=29$, 34,9%), ($OR=1,1$ (0,6-2,2), $p>0,05$). В то время как в группе сравнения в I триместре чаще регистрировали ранний токсикоз легкой степени ($n=39$, 41,1%), ($OR=0,7$ (0,4-1,4), $p>0,05$),

Во II триместре в основной группе достоверно чаще течение беременности осложнялось угрозой прерывания ($n=21$, 25,3%), ($OR=3,4$ (1,3-9,1), $p<0,05$), с формированием истмико-цервикальной недостаточности с последующей ее хирургической коррекцией ($n=8$, 9,6%) $OR=3,5$ (0,4-32,2), $p>0,05$), и коррекцией акушерским пессарием ($n=3$, 3,6%), ($OR=0,7$ (0,4-1,6), $p>0,05$). Следует отметить манифестацию преэклампсии в сроке 24 недели у 12 пациенток ($n=12$, 14,5%) ($OR=0,7$ (0,4-1,4), $p<0,05$) в виде повышения АД с последующим нарастанием клинической симптоматики после 30 недель беременности. Кроме того, обращает на себя внимание более высокая частота анемии ($n=14$, 16,9%) ($OR=2,1$ (0,5-8,4), $p>0,05$) и задержки роста плода ($n=3$, 3,6%) ($OR=1,3$ (0,4-1,9), $p>0,05$).

В III триместре беременности также выявлялась достоверно более высокая частота задержки роста плода ($n=9$, 10,8%) ($OR=4,5$ (1,4-9,6), $p<0,05$).

Следует отметить более высокую частоту маловодия ($n=8$, 9,6%) ($OR=1,3$ (1,4-2,9), $p<0,05$). Достоверных различий в частоте угрозы преждевременных родов и многоводия не выявлено. Структура осложнений настоящей беременности представлена в таблице 13 и на рисунке 9.

Таблица 13

Структура осложнений настоящей беременности у пациенток (n , %).

Осложнения беременности	Группа 1 $n=83$ (%)	Группа 2 $n=95$ (%)
Ранний токсикоз легкой степени	9 (10,8)	17 (17,9)
средней и тяжелой степени	15 (18,1)*	8 (8,4)
Угроза прерывания в I триместре беременности	29 (34,9)	26 (27,4)
Отслойка хориона	5 (6,0)*	1 (1,1)
Истмико-цервикальная недостаточность	8 (9,6)	
Угроза преждевременных родов II триместр	21 (25,3)	15 (15,8)
III триместр	14 (16,9)	16 (16,8)
Маловодие	8 (9,6)	5 (5,3)
Многоводие	4 (4,8)	5 (5,3)
Задержка роста плода	9 (10,8)*	4 (4,2)
Анемия беременных	14 (16,9)*	9(9,5)

*Достоверные различия между группами ($p < 0,05$)

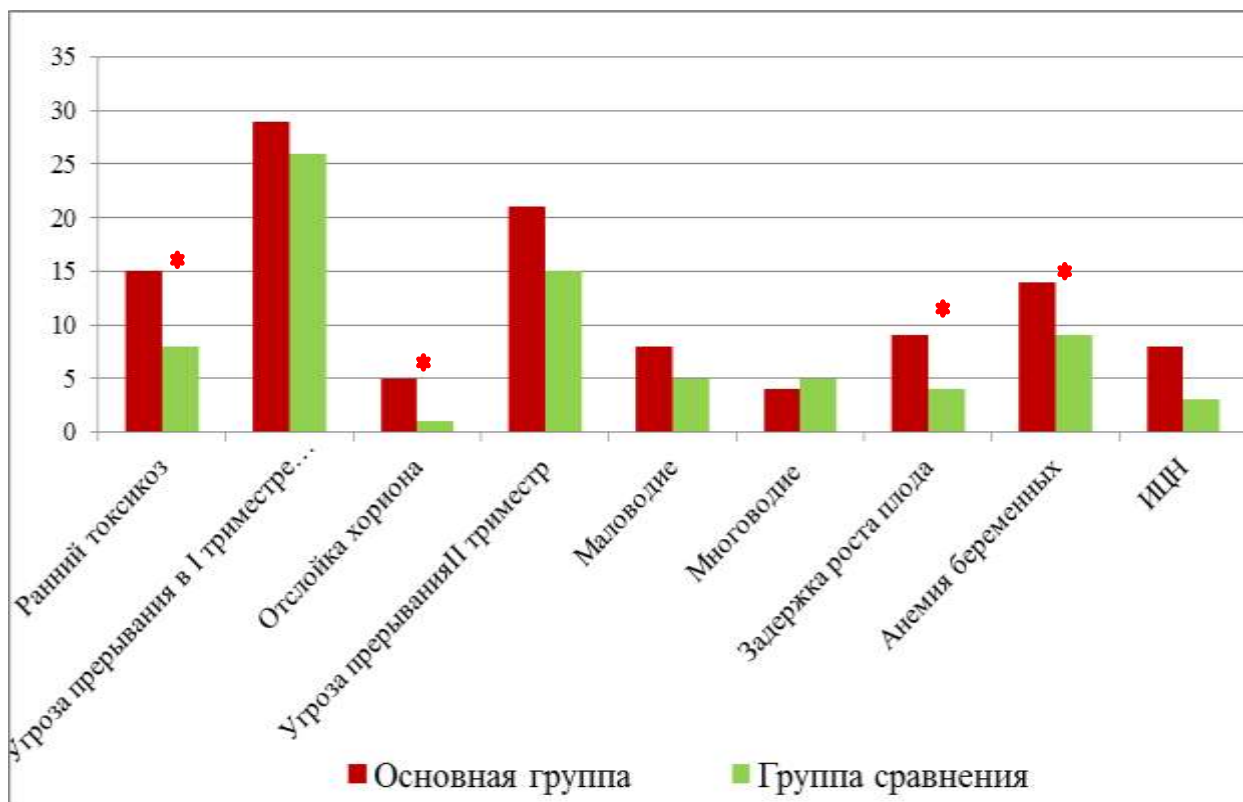


Рис. 9. Частота осложнений при текущей беременности

*Достоверные различия между группами ($p < 0,05$)

Принимая во внимание сопряженность тяжести преэклампсии с протеинурией и повышением трансаминаз, было проведено изучение уровней последних с проведением корреляционного анализа с маркерами преэклампсии.

Так, уровень протеинурии при преэклампсии составил в среднем $2,6 \pm 0,7$ г/л, с диапазоном колебаний от 1,2 до 5,3 г/л. Уровень АЛТ и АСТ составил соответственно $63,2 \pm 12,4$ ЕД/л и $74,2 \pm 9,7$ ЕД/л, а уровень PIGF – $93,8 \pm 11,6$ пг/мл, sFlt-1 – $7965,4 \pm 103,8$ пг/мл соотношение PIGF/sFlt-1 – $135,2 \pm 10,4$ (таблица 14).

Таблица 14

Клинико-лабораторные показатели (n, %).

Клинико-лабораторные показатели	Группа 1 n=83 (%)	Группа 2 n=95 (%)
АЛТ (ЕД/л)	$63,2 \pm 12,4^*$	$24,2 \pm 5,3$
АСТ (ЕД/л)	$74,2 \pm 9,7^*$	$31,6 \pm 7,7$
ЛДГ (ЕД/л)	$672,4 \pm 34,2^*$	$272,4 \pm 27,8$
Уровень тромбоцитов ($\cdot 10^9$ /л)	$137,4 \pm 12,9$	$247,6 \pm 34,9$
Уровень гемоглобина (г/л)	$95,3 \pm 6,8$	$115,8 \pm 13,8$
PIGF (пг/мл)	$93,8 \pm 11,6^*$	$386,7 \pm 171,5$
sFlt-1 (пг/мл)	$7965,4 \pm 103,8^*$	$1480 \pm 124,8$
Соотношение PIGF/sFlt-1	$135,2 \pm 10,4^*$	$31,7 \pm 8,6$
Уровень протеинурии суточной	$2,6 \pm 0,7^*$	$0,2 \pm 0,1$

*Достоверные различия между группами ($p < 0,05$)

Средний гестационный срок, на котором беременные были родоразрешены в основной группе составил 35,6 недель и 38,1 в группе сравнения.

При анализе течения родов была установлена достоверно более высокая частота ($n=54$, 65,1%) ($OR=4,5$ (1,4-9,6), $p < 0,05$) абдоминального родоразрешения у беременных основной группы. При это частота кесарева сечения при тяжелой преэклампсии составила 100%. Данные о структуре показаний к операции кесарева сечения представлены в таблице 15 и на рисунках 10 и 11. Следует отметить, что основными показаниями в основной группе являлись нарастание степени тяжести преэклампсии и отсутствие эффекта от

проводимой терапии, а также прогрессирующая гипоксия плода, преждевременная отслойка плаценты и др.

Таблица 15

Структура показаний к операции кесарева сечения (n, %).

Осложнения беременности	Группа 1 n=83 (%)	Группа 2 n=95 (%)
Рубец на матке после кесарева сечения	7 (8,9)	11 (11,6)
Миопия высокой степени	4 (4,8)	3 (3,2)
Анатомически узкий таз	1 (1,2)	3 (3,2)
Нарастание тяжести преэклампсии и отсутствие эффекта от проводимой терапии	24 (28,9)	-
Неправильные положения плода	2 (2,4)	3 (3,2)
Прогрессирующая гипоксия плода	12 (14,5)	2 (2,1)
Преждевременная отслойка плаценты	4 (4,8)	-

*Достоверные различия между группами ($p < 0,05$)

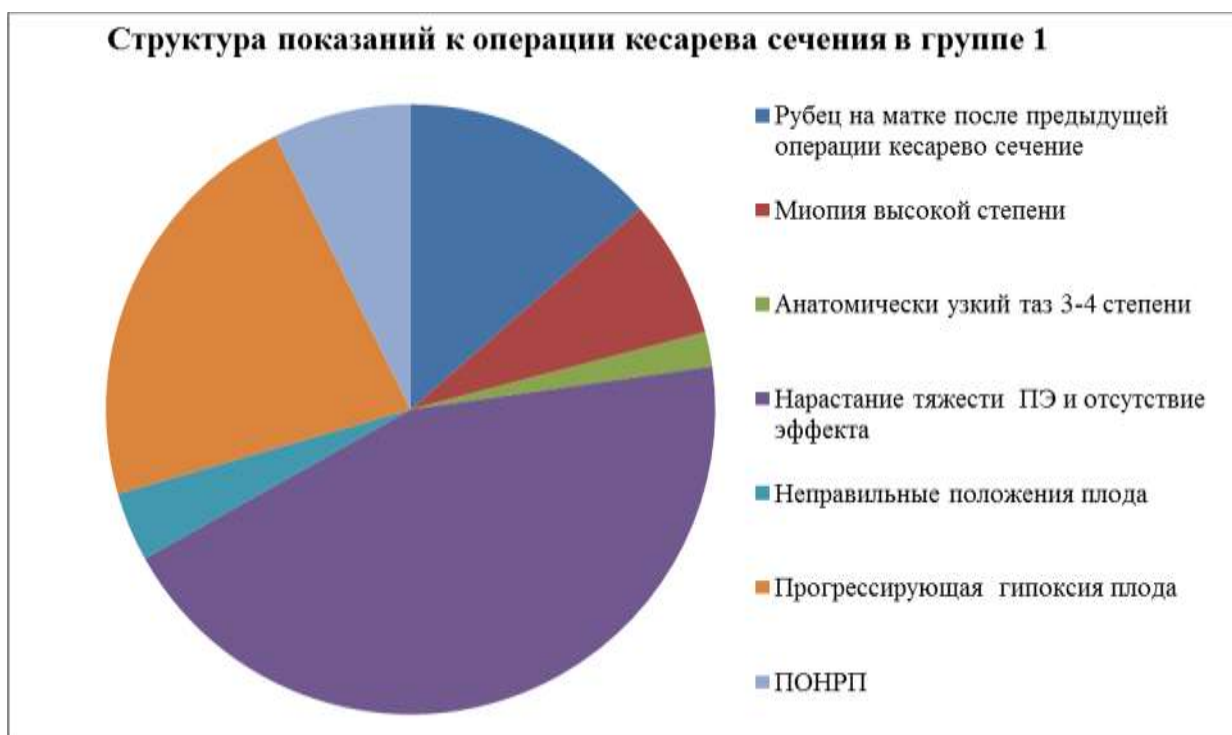


Рис. 10. Структура показаний к операции кесарева сечения у пациенток с преэклампсией



Рис. 11. Структура показаний к операции кесарева сечения у пациенток с физиологически протекающей беременностью

Достоверных различий по продолжительности и осложнениям родового акта по группам выявлено не было. Однако установлены статистически значимые различия в объеме интраоперационной кровопотери, составившей соответственно по группам $1077,1 \pm 123,9$ мл и $556,1 \pm 141,9$ мл, что, по-видимому, объясняется сочетанием исходной тромбоцитопении и нарушениями в системе гемостаза при преэклампсии. Вышеуказанное предопределило в послеродовом периоде у пациенток основной группы наличие статистически значимой более высокую частоту анемии ($n=19$, 22,9%) ($OR=2,5$ (3,4-9,6), $p<0,05$). Также в данной группе в 1 (1,2%) случае ($OR=2,5$ (3,4-9,6), $p<0,05$) был диагностирован эндометрит и в 4 (4,8%) – субинволюция матки ($OR=2,5$ (3,4-9,6), $p<0,05$). Послеродовые осложнения у наблюдаемых пациенток представлены на рисунке 12.

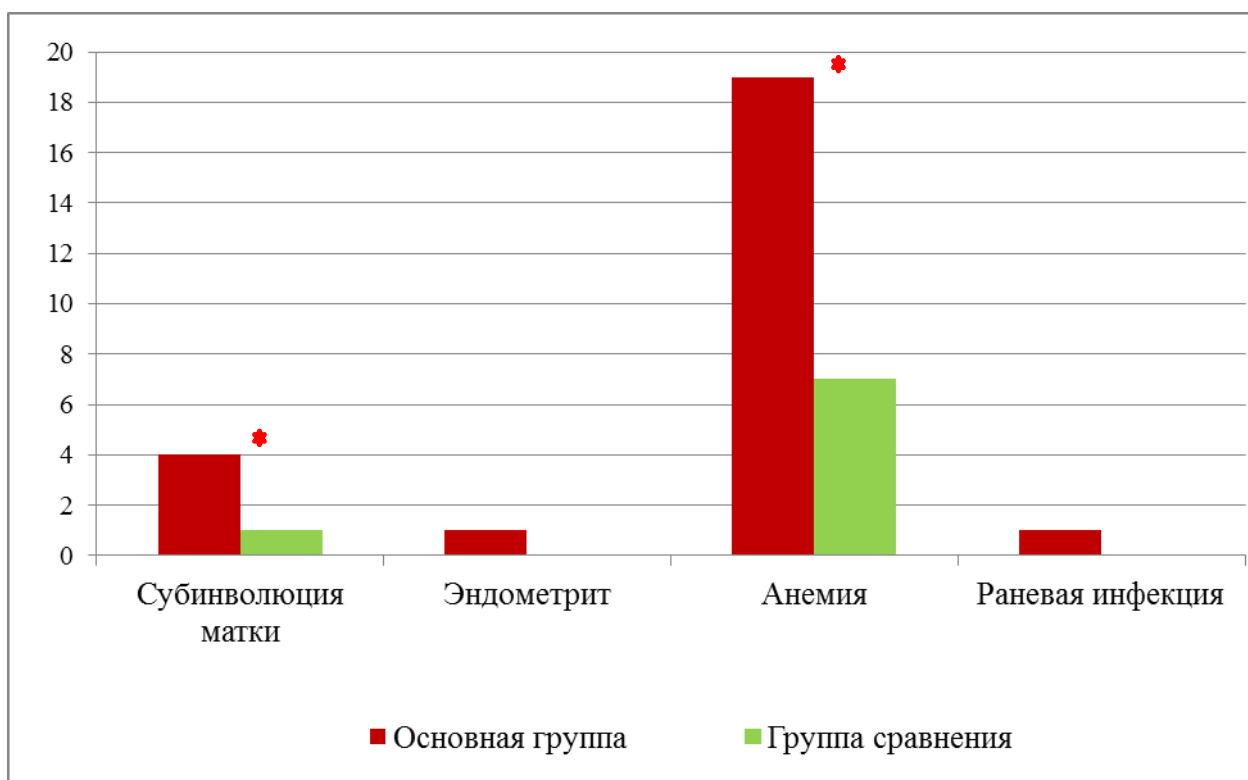


Рис. 12. Послеродовые осложнения у наблюдаемых пациенток

*Достоверные различия между группами ($p < 0,05$)

Особый интерес представляло изучение течения раннего неонатального периода.

Все дети родились живыми. При анализе массо-ростовых показателей новорожденных было выявлено, что средний вес детей в основной группе составил $2335,9 \pm 403,8$ г, средний рост $46,8 \pm 7,0$ см, в группе сравнения $3245,2 \pm 324,0$ г и $51,9 \pm 4,6$ см. Средняя оценка новорожденного по шкале Апгар на 1-й минуте основной группе составила $6,4 \pm 1,4$ баллов, в группе сравнения – $7,5 \pm 1,3$ баллов, на 5-й минуте жизни составила $7,3 \pm 1,3$, и $8,1 \pm 1,7$ баллов соответственно.

Общая неонатальная заболеваемость закономерно выше была у пациенток основной группы, при этом при тяжелой преэклампсии эта закономерность была более выражена.

В структуре неонатальной заболеваемости у детей в основной группе достоверно чаще встречалась врожденная пневмония – ($n=32$, 38,5%)

(OR=2,5 (3,4-9,5), $p<0,05$), при этом чаще данный показатель был отмечен в подгруппе IA в отличие от подгруппы IB – 64,1% против 11,0% (OR=7,3 (4,4-11,6), $p<0,05$). Респираторный дистресс-синдром также преобладал в основной группе новорожденных – 22,9% против 3,6%, (OR=8,19; (1,8-37,1 $p<0,05$) При анализе данного показателя по подгруппам выявлено, что у детей от пациенток с тяжелой формой преэклампсии по сравнению с умеренной ее формой, респираторный дистресс-синдром встречался в 2,8 раз чаще ($n=27$, 32,5%) (OR=3,1 (1,9-4,6) $p<0,05$). Экстремально-низкая масса тела новорожденных при рождении также отмечалась в 3 раза чаще у детей от матерей с преэклампсией, при этом преимущественно с тяжелой ее формой ($n=17$, 20,5%) (OR=2,7 (2,4-4,6), $p<0,05$). Неонатальная желтуха встречалась у новорожденных обеих групп, с превалированием в основной группе – 10,8% против 3,6%, (OR=3,1 (2,1-4,6), $p<0,05$).

Асфиксия новорожденных также чаще отмечалась в данной группе ($n=24$, 28,9%) (OR=5,7 (2,4-5,6), $p<0,05$), при этом следует отметить наличие как тяжелой, так и умеренной асфиксии, в отличие от группы сравнения. Анемия новорожденных встречалась в 5,6 раз чаще у детей от матерей с преэклампсией по сравнению с детьми от матерей группы сравнения ($n=15$, 18,1%) (OR=2,9 (2,1-4,6), $p<0,05$). Дискинезия желудочно-кишечного тракта превалировала в основной группе ($n=6$, 7,2%) (OR=2,7 (0,4-4,6), $p>0,05$). ДВС-синдром чаще диагностировали у новорожденных от матерей с преэклампсией ($n=10$, 12,1%) (OR=3,7 (4,1-7,6), $p<0,05$).

При внутригрупповом анализе была установлена более высокая частота респираторного дистресс-синдрома и экстремально низкая масса тела новорожденных при тяжелой форме преэклампсии, что объясняется ранней манифестацией и тяжелым течением, и как следствие, досрочным родоразрешением. С этих позиций обоснованным является поиск прогностических маркеров преэклампсии, обеспечивающих возможность более раннего проведения лечебно-профилактических мероприятий, в том числе, профилактики респираторного дистресс-синдрома плода.

Неонатальная заболеваемость представлена на рисунке 13.

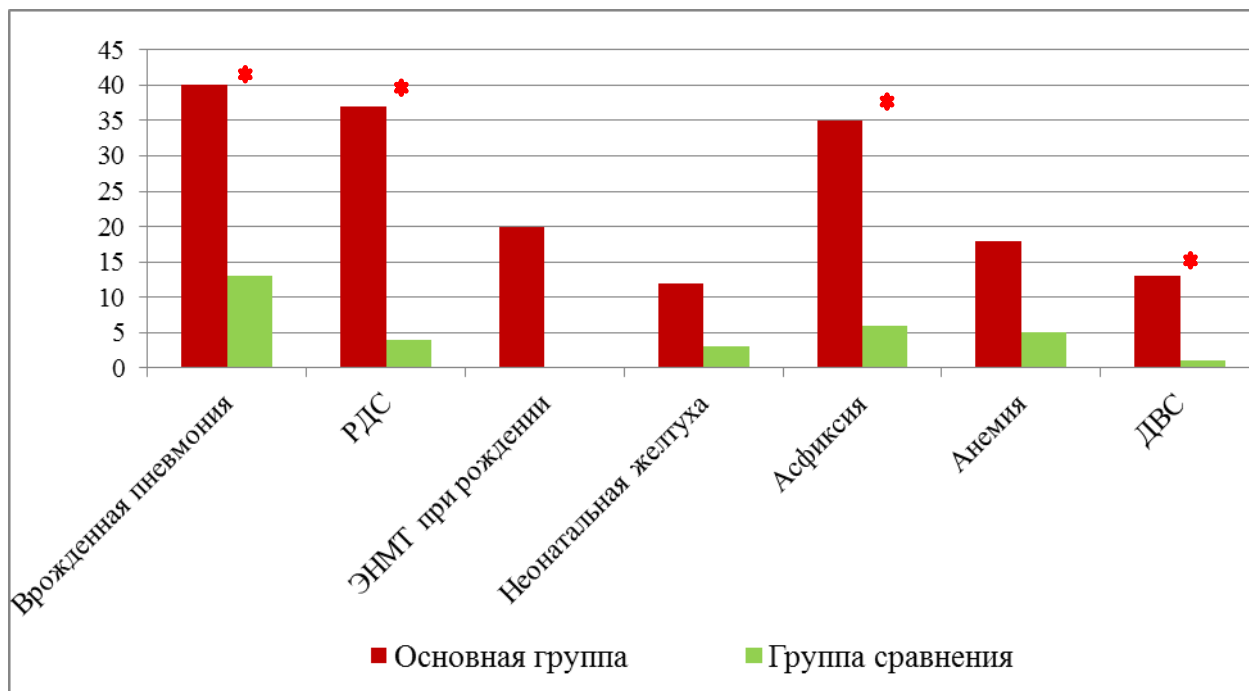


Рис. 13. Неонатальная заболеваемость новорожденных

*Достоверные различия между группами ($p < 0,05$)

Принимая во внимание манифестацию тяжелой преэклампсии в сроке до 34 недель, интерес представлял анализ течения беременности и неонатальных исходов.

Следует отметить, что, несмотря на схожесть течения периода гестации при тяжелой и умеренной формах преэклампсии, имелся ряд отличий. Так, при тяжелой преэклампсии угроза прерывания в I и II триместрах была статистически значимо выше в отличие от умеренной ее формы ($n=14$, 43,7%) ($OR=2,7$ (1,4-3,6), $p < 0,05$) и ($n=11$, 34,4%) ($OR=2,1$ (1,4-8,1), $p < 0,05$), соответственно. При этом следует отметить статистически значимо более высокую частоту ретрохориальной гематомы ($n=3$, 9,3%) ($OR=3,2$ (2,5-7,1), $p < 0,05$) и тенденцию к более частому формированию ИЦН в случае тяжелой преэклампсии ($n=4$, 12,5%) ($OR=1,6$ (0,4-3,6), $p > 0,05$). Учитывая тот факт, что существует сопряженность преэклампсии с задержкой роста плода был проведен анализ данных ввиду общности этиологических и патогенетических механизмов развития вышеуказанных синдромов. В нашем исследовании выяв-

лена достоверно более высокая частота формирования задержки роста плода (n=6, 18,7%) (OR=2,9 (1,8-3,2), p<0,05) и маловодия (n=5, 15,6%) (OR=2,7 (1,4-3,6), p<0,05) при тяжелой форме преэклампсии.

Структура осложнений настоящей беременности у пациенток с преэклампсией представлена в таблице 16.

Таблица 16

Структура осложнений настоящей беременности у пациенток с преэклампсией (n, %).

Осложнения беременности	Группа 1А n=32 (%)	Группа 1Б n=51 (%)
Ранний токсикоз легкой степени	4 (12,5)	5 (9,8)
средней и тяжелой степени	6 (18,7)	9 (17,6)
Угроза прерывания в I триместре беременности	14 (43,7)*	15 (29,4)
Отслойка хориона	3 (9,3)*	2 (3,9)
Истмико-цервикальная недостаточность	4 (12,5)	4 (7,8)
Угроза преждевременных родов		
II триместр	11 (34,4)	10 (19,6)
III триместр	6 (18,7)	8 (15,7)
Маловодие	5 (15,6)*	3 (5,9)
Многоводие	1 (3,1)	3 (5,9)
Задержка роста плода	6 (18,7)*	3 (5,9)
Анемия беременных	5 (15,6)	9 (17,6)

*Достоверные различия между группами (p <0,05)

Учитывая полученные ранее результаты различных клинических признаков, было решено определить факторы риска развития тяжелой преэклампсии при помощи корреляционного анализа. Была выявлена зависимость тяжелой преэклампсии со следующими показателями: прямая зависимость с угрозой прерывания беременности в I триместре беременности (R=0,201 p<0,05); прямая зависимость хроническими заболеваниями мочеполовой системы (R=0,189 p<0,05); прямая зависимость с нарушением жирового обмена (R=0,193 p<0,05); прямая слабая зависимость с маловодием по данным УЗИ (R=0,214 p<0,05), прямая средняя зависимость с неразвивающейся беременностью в анамнезе (R=0,281 p<0,05).

Применив метод бинарной логистической регрессии, на основании анализа клинических и анамнестических данных, определена вероятность развития тяжелой преэклампсии по формуле:

$$P=1/(1+e^{-z})$$

$$z=0,59 + 0,311*X1 + 0,21*X2 + 1,17*X3 + 0,278*X4;$$

где e – основание натурального логарифма и имеет значение 2,71828182845904;

X1 – неразвивающаяся беременность в анамнезе,

X2 – нарушение жирового обмена,

X3 – хронический пиелонефрит,

X4 – угроза прерывания в I триместре с формированием гематомы,

Используя 90 и 10% перцентили, определены границы степеней вероятности развития тяжелой преэклампсии.

Так нами были сформированы 3 группы пациенток:

- с низкой вероятностью ($p \leq 10\%$) $z = 0-0,39$;
- с умеренной вероятностью (p от 10 до 90%) $z = 0,4-0,79$;
- с высокой вероятностью ($p \geq 90\%$) $z = 0,8-1,0$

Данная модель имеет чувствительность 78% и специфичность 69%.

Таким образом, проведенный анализ течения беременности, родов, послеродового и неонатального периодов установил следующие особенности:

1. У пациенток с преэклампсией в I триместре из осложнений беременности преобладали ранний токсикоз средней и тяжелой степени, угроза прерывания с формированием ретрохориальной гематомы.

2. Во II триместре угроза прерывания с формированием истмико-цервикальной недостаточности с последующей ее хирургической коррекцией.

3. В III триместре беременности – задержка роста плода, маловодие, анемия.

4. Высокая частота (40,9%) преждевременных родов, а также родоразрешение в более ранние сроки (35,6 недель и 38,1 соответственно).
5. Высокая частота кесарева сечения (в основном экстренное).
6. Повышенная интраоперационная кровопотеря.
7. В послеродовом периоде анемия и субинволюция матки.
8. У новорожденных более низкая оценка состояния по шкале Апгар, массо-ростовые показатели, а также высокая частота асфиксии при рождении.
9. Высокая частота экстремально-низкой массы тела, респираторного дистресс-синдрома, пневмонии у новорожденных.

По-видимому, нарушение нормального течения процессов имплантации и инвазии, являющихся основой развития гипоксически-ишемических изменений, приводящих к развитию преэклампсии, клинически проявляется угрозой прерывания и формированием гематом, что в свою очередь, усугубляет нарушение процессов плацентации и может являться причиной не только развития преэклампсии, но и нарушением состояния плода.

В следующих разделах, посвященных исследованию углеводного профиля плаценты и определению антигликановых антител крови, будут уточнены патогенетические аспекты преэклампсии и представлена диагностическая ценность теста, основанного на определении комплекса антител.

4.2. Особенности состава гликокаликса в тканях плаценты при преэклампсии

В ходе исследования углеводного профиля плаценты с помощью панели биотинилированных лектинов было отмечено, что во всех исследуемых группах окрашенный продукт реакции визуализировался в области мембран (гликокаликса) эндотелиальных клеток капилляров и синцитиотрофобласта терминальных ворсин, но с разной интенсивностью. При этом во всех исследованных группах интенсивность окрашивания гликокаликса эндотелия была выше, чем синцитиотрофобласта. Результаты окрашивания лектинами структурных элементов плаценты приведены в таблице 17.

Интенсивность окрашивания лектинами структурных элементов плаценты пациенток с физиологически протекающей беременностью и умеренной и тяжелой преэклампсией

Лектин	Синцитиотрофобласт (M ± SE)		
	Группа сравнения	Умеренная ПЭ	Тяжелая ПЭ
Con A	18,5±2,42	18,6±1,38	26,2±2,36 #*, §**
VVL	13,0±1,07	15,1±1,91	16,1±1,89
UEA I	9,0±0,78	13,3±2,22	9,9±1,19
ECL	8,3±0,98 @**	9,3±0,90 @**	16,1±2,56 #**, §**
ECL+H	20,0±1,02	17,5±1,01 #*	12,9±2,41 #**
SNA	25,2±1,81	25,1±1,97 @**	32,4 ±1,89 #**, §*
SNA+H	22,7±1,60	22,8±2,06	28,1±1,64 #*, §*
MAL II	15,8±1,53 @**	15,0±1,82 @**	13,6±0,72 @**
MAL II+H	10,8±1,99	10,1±1,46	7,6±0,82 §*
Лектин	Эндотелий (M ± SE)		
	Группа сравнения	Умеренная ПЭ	Тяжелая ПЭ
Con A	16,2±1,53	16,7±1,20	23,3±1,69 #**, §**
VVL	17,4±0,98	21,0±1,87	20,7±1,78
UEA I	30,2±2,88	32,6±3,83	32,2±3,18
ECL	18,0±1,28 @**	18,9±1,79	23,2±2,32 #*
ECL+H	22,3±1,75	20,0±2,25	19,7±1,98
SNA	36,5±1,68 @**	30,4±1,74 #*	36,4±1,45 §*, @**
SNA+H	33,1±1,76	28,5±1,78 #*	32,3±1,64 §*
MAL II	24,8±1,72 @**	27,6±2,46 @**	17,9±1,59 #**, §**, @**
MAL II+H	12,1±1,08	17,7±1,88 #*	12,6±1,35 §*

Обозначения:

H – предобработка ткани ферментом нейраминидазой*

сравнение с физиологически протекающей беременностью;

§ сравнение с умеренной ПЭ;

@ сравнение с окраской после предварительной обработки нейраминидазой.

M – среднее значение; SE – стандартная ошибка.

p<0,01; ** p<0,05.

Для характеристики изменений углеводного фенотипа клеток эндотелия и синцитиотрофобласта при тяжелой и умеренной преэклампсии, нами были проведены внутригрупповые и межгрупповые сравнения.

Внутригрупповые сравнения содержания гликоконъюгатов в гликокаликсе синцития и эндотелия у пациенток внутри одной группы

При внутригрупповом сравнении интенсивности окрашивания гликоконъюгатов у пациенток группы сравнения было выявлено значимо более высокое значение оптической плотности окрашенного продукта реакции при окрашивании лектинами ECL, SNA, MAL II, VVL и UEA I в гликокаликсе эндотелия капилляров по сравнению с гликокаликсом синцитиотрофобласта ($p < 0,01$). В тканях плаценты пациенток с умеренной преэклампсией аналогичный результат наблюдался при окрашивании лектинами ECL, VVL, MAL II и UEA I ($p < 0,04$). В группе с тяжелой преэклампсией эта закономерность была подтверждена только при окрашивании лектинами ECL, и UEA I и MAL II ($p < 0,05$) (рисунок 14).

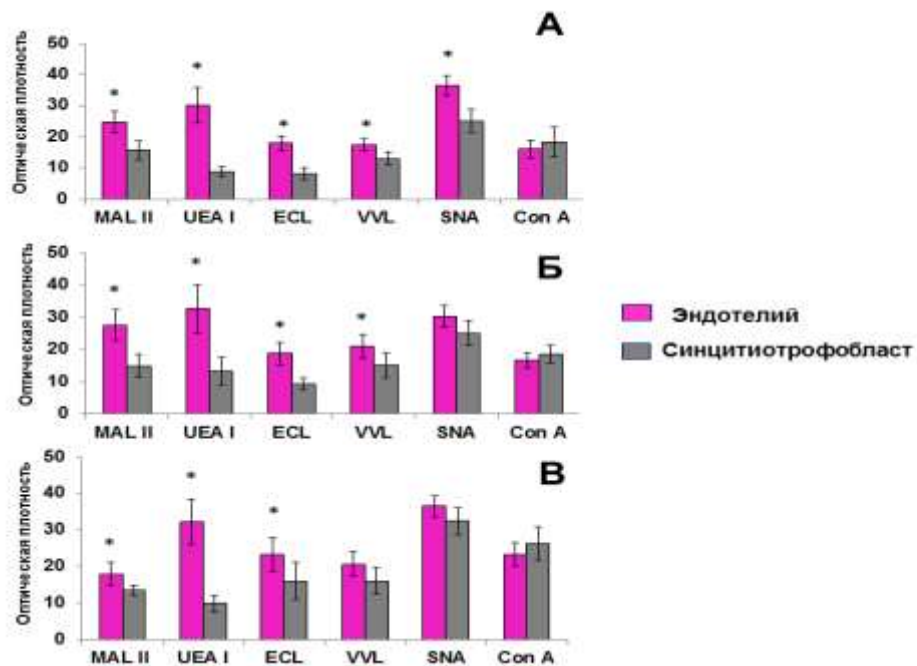


Рис. 14. Интенсивность окрашивания гликоконъюгатов в структурах плаценты у пациенток группы сравнения (А), умеренной (Б) и тяжелой преэклампсией (В)

* – отличия от значений оптической плотности в синцитии достоверны ($p < 0,05$)

Следует также отметить, что при окраске лектином ConA не было выявлено значимых различий в интенсивности окрашивания изучаемых структур ни в одной из групп наблюдения ($p > 0,06$) (рисунок 14).

Межгрупповые сравнения содержания гликоконъюгатов в гликокаликсе синцития и эндотелия у пациенток исследуемых групп

Синцитиотрофобласт

Интенсивность окрашивания лектинами Con A, ECL и SNA гликокаликса синцитиотрофобласта была значимо выше у пациенток группы с тяжелой преэклампсией относительно группы сравнения и группы с умеренной преэклампсией (таблица 17, рисунок 15). Окрашивание всеми используемыми лектинами ткани плацент пациенток группы с умеренной преэклампсией не выявило значимых отличий в интенсивности окрашенного продукта относительно группы сравнения.

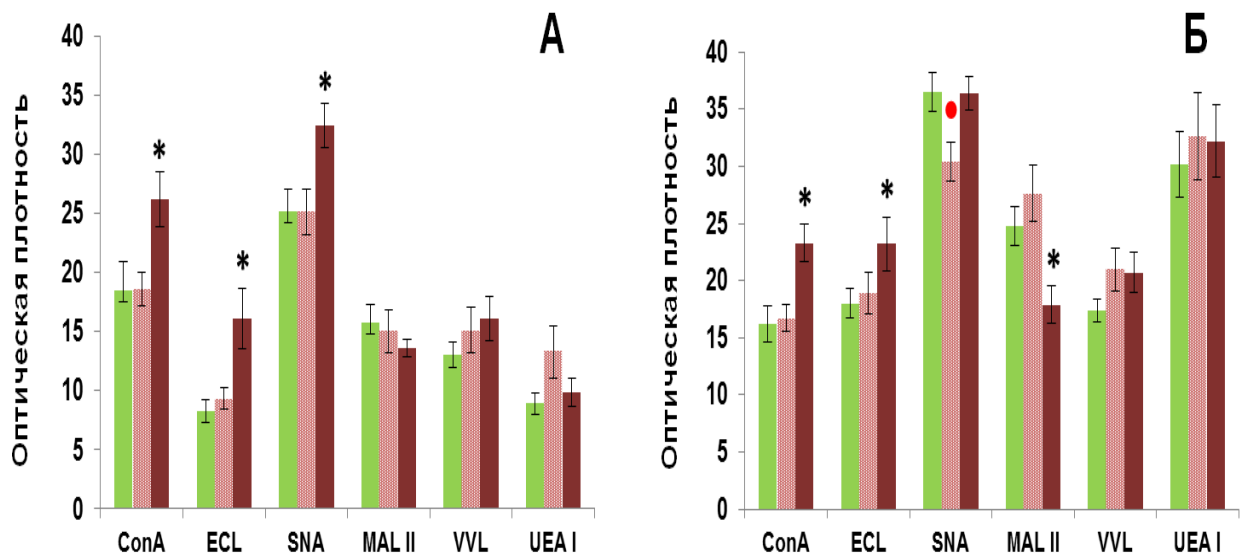


Рис. 15. Интенсивность окрашивания гликоконъюгатов в гликокаликсе синцитиотрофобласта (А) и эндотелия (Б) терминальных ворсин плаценты у пациенток исследуемых групп (■ группа сравнения; ■ умеренная преэклампсия; ■ тяжелая преэклампсия)

Эндотелий капилляров терминальных ворсин

Значимо высокие значения интенсивности окрашивания гликоконъюгатов гликокаликса эндотелиальных клеток лектинами Con A и ECL были выявлены в группе с тяжелой преэклампсией. Окрашивание лектином MAL II, напротив, выявило значимо более низкие значения интенсивности окрашивания в группе с тяжелой преэклампсией относительно обеих групп. Значимо низкая интенсивность окрашивания лектином SNA установлена в группе умеренной преэклампсии относительно группы сравнения (таблица 17, рисунки 16, 17, 18, 19).

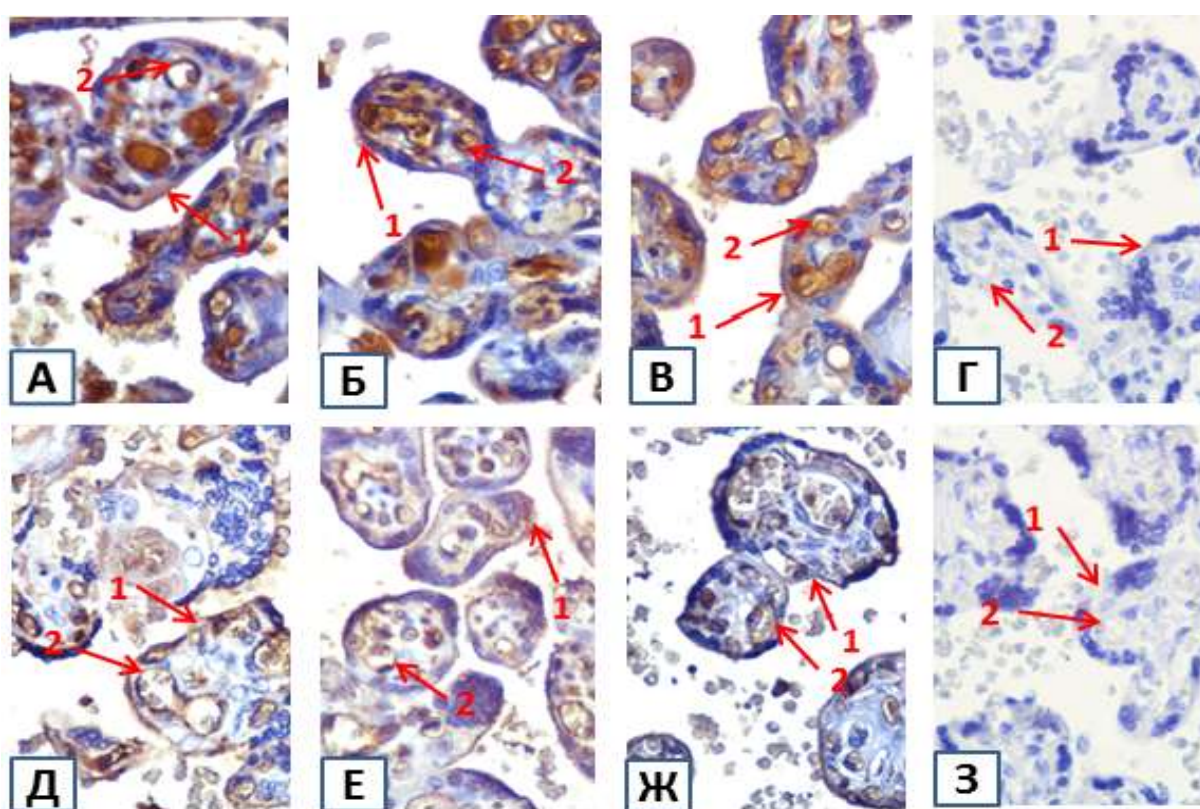


Рис. 16. Микрофотографии, демонстрирующие интенсивность окрашивания α 2,6-сиалогликанов лектином SNA в терминальных ворсинах плаценты. Окрашивание выражено в апикальной мембране (гликокаликсе) синцитиотрофобласта (1) и эндотелиальных клеток (2) в тканях плаценты пациентов всех исследуемых групп: А, Д – группа сравнения; Б, Е – умеренная преэклампсия; В, Ж – тяжелая преэклампсия; Г, З – отрицательный контроль. Окрашивание ткани без нейраминидазы (А, Б, В, Г); с предварительной обработкой нейраминидазой (Д, Е, Ж, З).

Ферментативная обработка ткани нейраминидазой выявила снижение интенсивности мембранного окрашивания гликоконъюгатов лектином MAL

II во всех изученных структурах плаценты ($p < 0,05$). Окрашивание лектином SNA в аналогичных условиях также продемонстрировало снижение интенсивности окрашивания, однако значимые различия выявлены: в группе с тяжелой преэклампсией в эндотелии и синцитиотрофобласте ворсин; в группе сравнения – только в эндотелии терминальных ворсин ($p < 0,05$). Выявлено значимое повышение интенсивности окрашивания лектином ECL в группе сравнения (эндотелий, синцитий) и в группе с умеренной преэклампсией (синцитий) после обработки нейраминидазой. В ткани плаценты пациенток группы с тяжелой преэклампсией не наблюдалось значимых различий в интенсивности окрашивания лектином ECL в аналогичных условиях (таблица 17, рисунки 16, 17, 18).

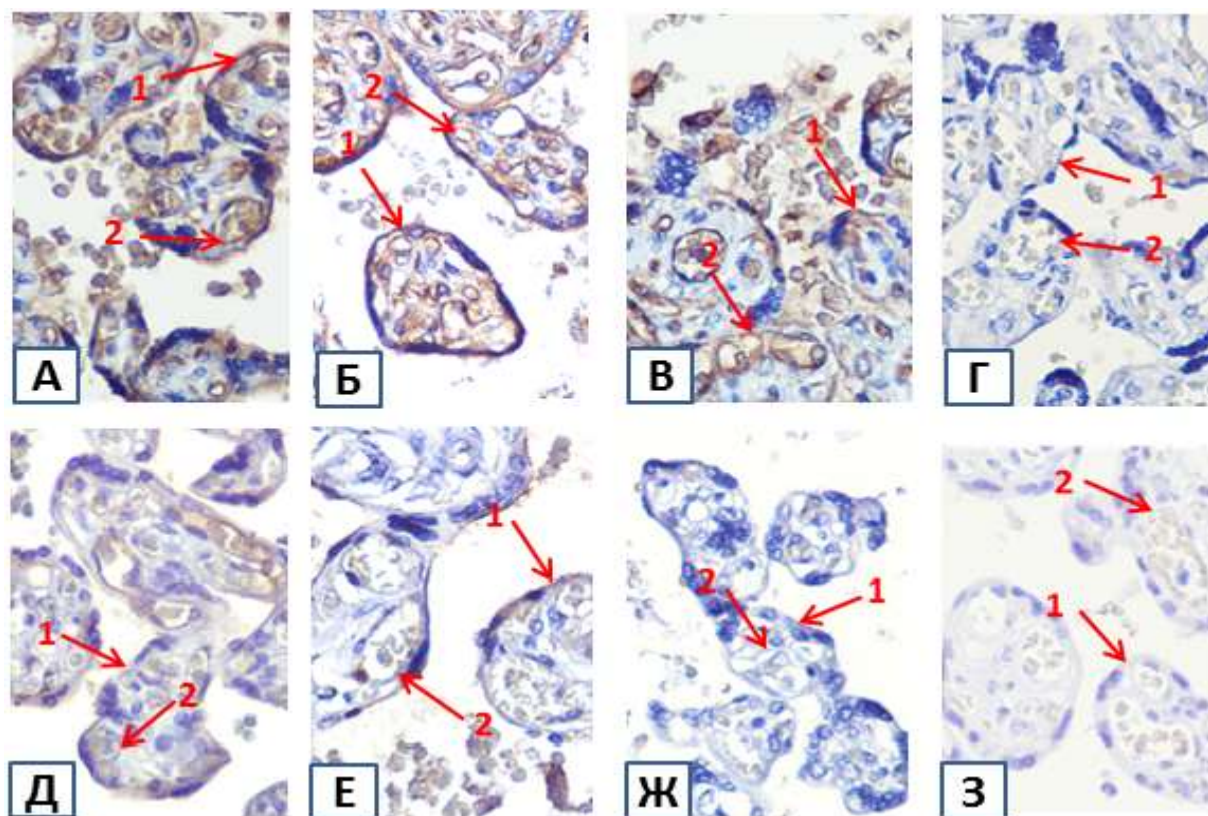


Рис. 17. Микрофотографии, демонстрирующие интенсивность окрашивания $\alpha 2,3$ -сиалогликанов лектином MAL II в терминальных ворсинах плаценты. Окрашивание выражено в апикальной мембране (гликокаликсе) синцитиотрофобласта (1) и эндотелиальных клеток (2) в тканях плаценты пациенток всех исследуемых групп: А, Д – группа сравнения; Б, Е – умеренная преэклампсия; В, Ж – тяжелая преэклампсия; Г, З – отрицательный контроль. Окрашивание ткани без нейраминидазы (А, Б, В, Г); с предварительной обработкой нейраминидазой (Д, Е, Ж, З).

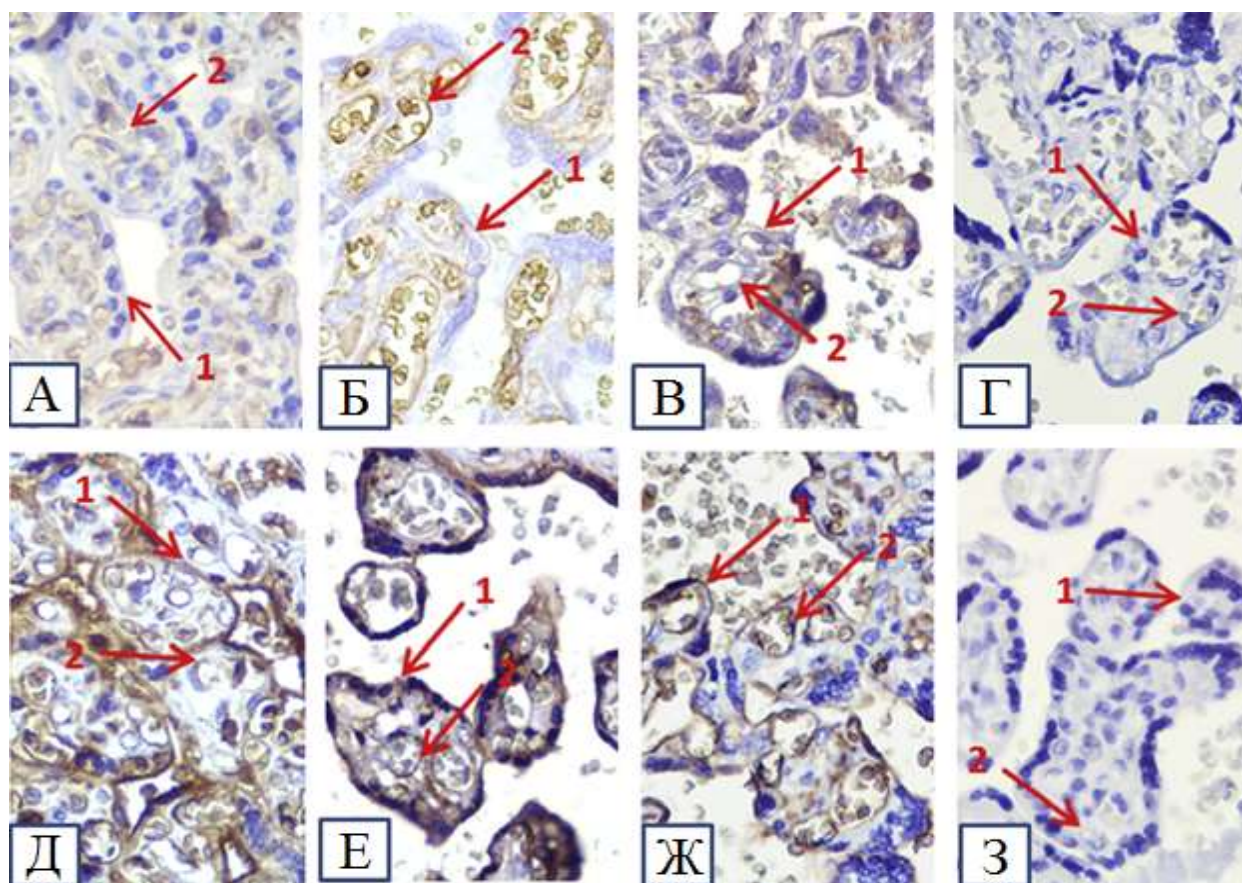


Рис. 18. Микрофотографии, демонстрирующие интенсивность окрашивания терминальных остатков N-ацетиллактозамина лектином ECL в терминальных ворсинах плаценты. Окрашивание выражено в апикальной мембране (гликокаликсе) синцитиотрофобласта (1) и эндотелиальных клеток (2) в тканях плаценты пациенток всех исследуемых групп: А, Д – группа сравнения; Б, Е – умеренная преэклампсия; В, Ж – тяжелая преэклампсия; Г, З – отрицательный контроль. Окрашивание ткани без нейраминидазы (А, Б, В, Г); с предварительной обработкой нейраминидазой (Д, Е, Ж, З).

Таким образом, анализ углеводного профиля плаценты, проведенный с помощью панели биотинилированных лектинов, выявил изменения терминальных и субтерминальных (при окрашивании структур плаценты лектинами после обработки ферментом нейраминидазой, отщепляющей маскирующие остатки сиаловой кислоты) структур гликанов в гликокаликсе синцитиотрофобласта и эндотелия терминальных ворсин плаценты при преэклампсии. При тяжелой преэклампсии выявлены наиболее выраженные изменения.

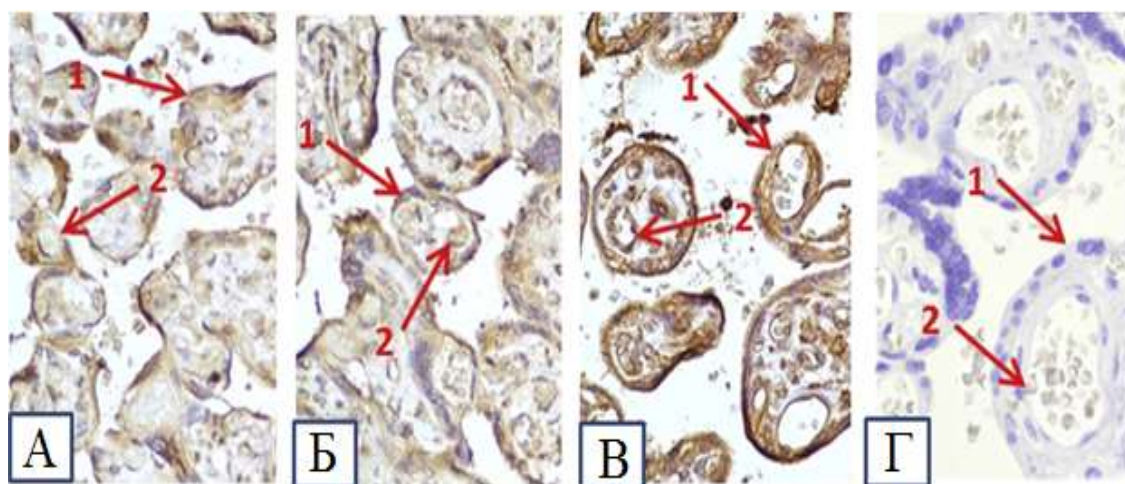


Рис. 19. Микрофотографии, демонстрирующие интенсивность окрашивания терминальных остатков маннозы лектином Con A в терминальных ворсинах плаценты. Окрашивание выражено в апикальной мембране (гликокаликсе) синцитиотрофобласта (1) и эндотелиальных клеток (2) в тканях плаценты пациенток всех исследуемых групп: А – группа сравнения; Б – умеренная преэклампсия; В – тяжелая преэклампсия; Г – отрицательный контроль.

4.3. Характеристика антигликановых антител при преэклампсии

У пациенток всех групп производилась оценка антигликановых антител в периферической крови. Сыворотка крови наносилась на микрочип, содержащий 689 синтетических и природных гликанов и, после проведения анализа, полученные медианы сигналов для каждого антитела анализировались статистическими методами, указанными в главе 2. После проведения процедуры контроля качества данных и их нормализации для каждого антитела была получена медиана интенсивности флуоресценции повторов лигандов гликочипа, которая характеризует уровень антигликановых антител в крови. В данном контексте уровень антител отражает аффинность антител и их количество. С учетом поправки на множественность при межгрупповом сравнении значимыми считали отличия, для которых величина $p < 0,00017$. Из 689 гликанов, антитела к которым (IgM и IgG) определялись у каждой пациентки, после статистической обработки, значимые межгрупповые отличия были получены по 28 антигликановым антителам, приведенным в таблице 18.

Специфичность антигликановых антител, по которым выявлены значимые отличия в исследуемых группах

№ п/п	Идентификационный номер гликана (ID)	Краткое название гликана
1	5	Tn
2	22	GN
3	51	bSia-Bn
4	103	core5
5	123	Mb4GN
6	151	TF6'Su
7	164	GUb3GN
8	220	Aa3'Lac
9	221	Aa3'Lac
10	237	AB _{tri}
11	241	Изомальтотриоза
12	273	Fb2LN
13	293	3'SL
14	296	6'SL
15	398	LeC(Fm)3'LeC
16	434	GD3
17	479	Htype1Lac
18	497	LeYLac
19	529	LSTb
20	632	Гиалуроновая кислота (n=13)
21	800	GNa4GN
22	818	ANa4ANa
23	903	SYPH-3
24	908	SYPH-2
25	1223	<i>E. coli</i> O150
26	1605	<i>P. mirabilis</i> O11
27	1608	<i>P. mirabilis</i> O23
28	2010	<i>Sh. boydii</i> type 7

Среди них следует отметить углеводные составляющие гликолипидов (как № 13, 14, 16-19 в таблице 18), фрагменты О-цепей гликопротеинов, О-полисахариды бактерий (№ 26-28) и гликаны, не встречающиеся у млекопитающих (№ 21 и 22).

При межгрупповом сравнении уровней антигликановых антител у пациенток группы сравнения и пациенток с умеренной преэклампсией на сроках беременности после 34 недель выявлены значимые различия по ряду антигликановых антител (рисунок 20). Примечательно, что все антитела отно-

сятся к IgG классу; значимых различий по антителам класса IgM в данном сравнении выявлено не было.

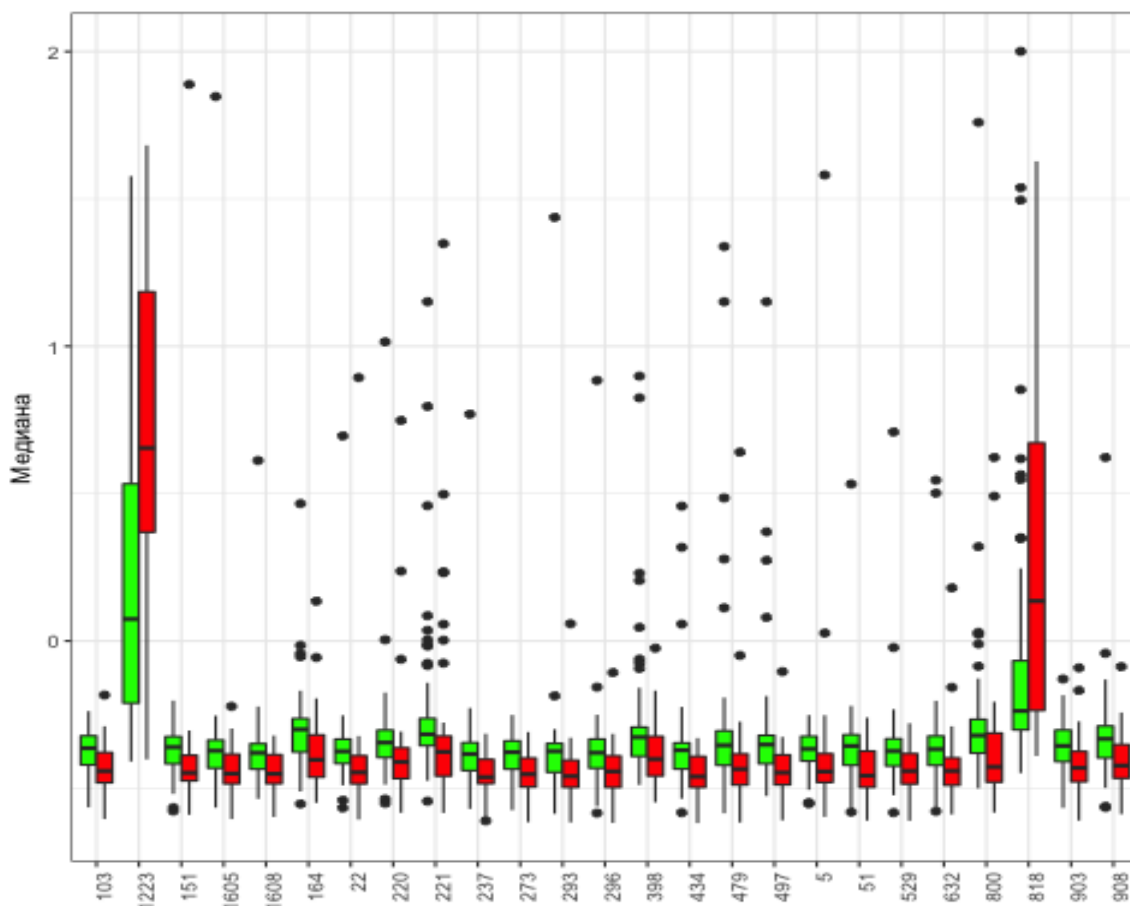


Рис. 20. Уровень антигликановых антител (IgG) у пациенток группы сравнения (зеленые бокс-плоты) и беременных с умеренной преэклампсией (красные бокс-плоты). Приведены данные только для значимых отличий. По оси X указаны идентификационные номера (ID) лигандов, названия которых приведены в таблице 18.

Также, на сроках после 34 недель беременности, выявлены значимые различия по антигликановым антителам IgM класса между пациентками группы сравнения и группы с тяжелой преэклампсией (рисунок 21). Значимых отличий по антигликановым антителам IgG класса при данном сравнении не выявлено.

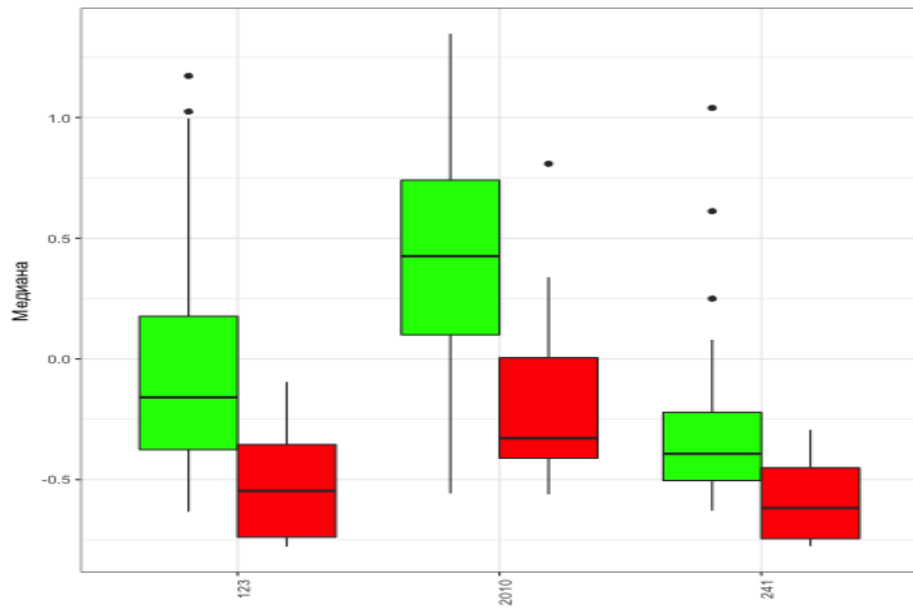


Рис. 21. Уровень антигликановых антител (IgM) у пациенток группы сравнения (зеленые бокс-плоты) и при тяжелой преэклампсии (красные бокс-плоты). Приведены значимые отличия. По оси X указаны идентификационные номера (ID) лигандов, названия которых приведены в таблице 18.

Различия по антигликановым антителам (IgM) выявлены на сроках после 34 недель при тяжелой и умеренной преэклампсии (рисунок 22).

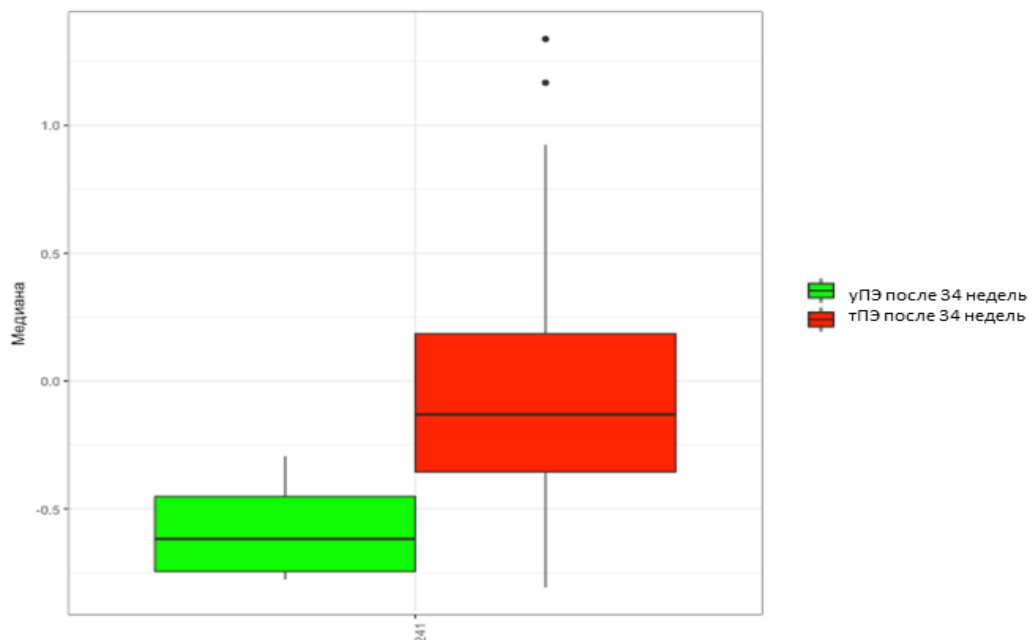


Рис. 22. Уровень антигликановых антител (IgM) у пациенток с преэклампсией умеренной степени (зеленый бокс-плот) и тяжелой степени (красный бокс-плот). По оси X указаны идентификационный номер (ID) лиганда, названия которого приведено в таблице 18. $p < 0,00017$

Приложение полученной информации (характеристика антигликановых антител) к разработке диагностики преэклампсии

Для применения полученных данных к диагностике преэклампсии был использован подход, в котором несколько показателей – в нашем случае несколько антигликановых антител – объединяются, что позволяет достичь лучших диагностических характеристик. Такая комбинация диагностически значимых антител называется сигнатура. Данный подход позволяет объединять антитела разных классов и достичь лучших показателей теста. Данный подход позволяет дать характеристику диагностической ценности теста в случае небольших выборок.

Приведем пример: сравнение тяжелая преэклампсия до 34 недель – здоровые беременные до 34 недель (таблица 19).

Таблица 19

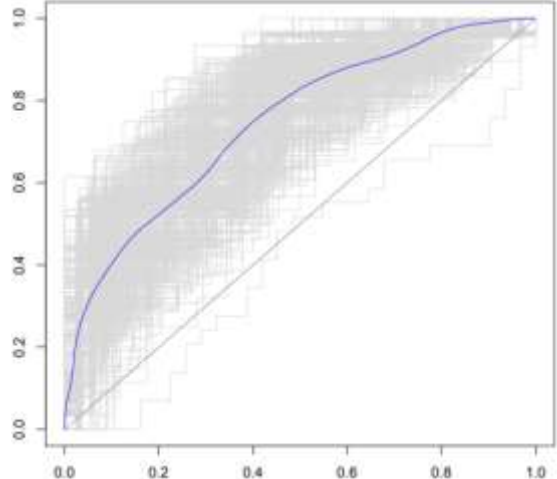
Сравнение диагностической значимости сигнатур, составленных только из антигликановых антител класса G, только из антител класса M и комбинации IgG и IgM.

Сигнатура	AUC	Специфичность	Чувствительность
2 IgG	0.76	0.79	0.57
7 IgM	0.82	0.78	0.68
1 IgM + 2 IgG	0.93	0.88	0.83

Из таблицы видно, что при использовании комбинации иммуноглобулинов классов G и M достигаются лучшие показатели теста, чем если бы каждый из них рассматривался отдельно.

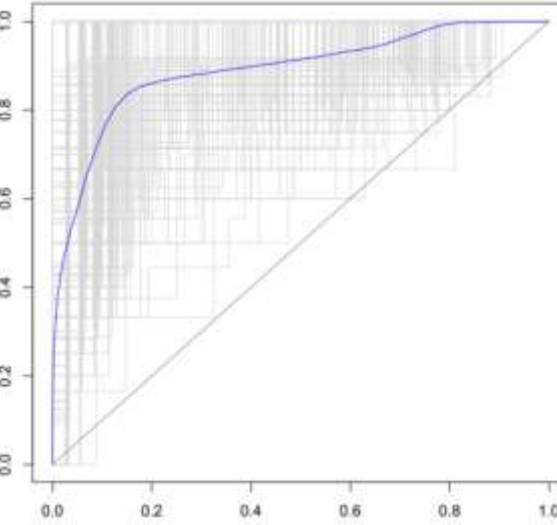
Ниже приведена таблица 20, суммирующая показатели диагностической ценности тестов и соответствующие ROC-кривые.

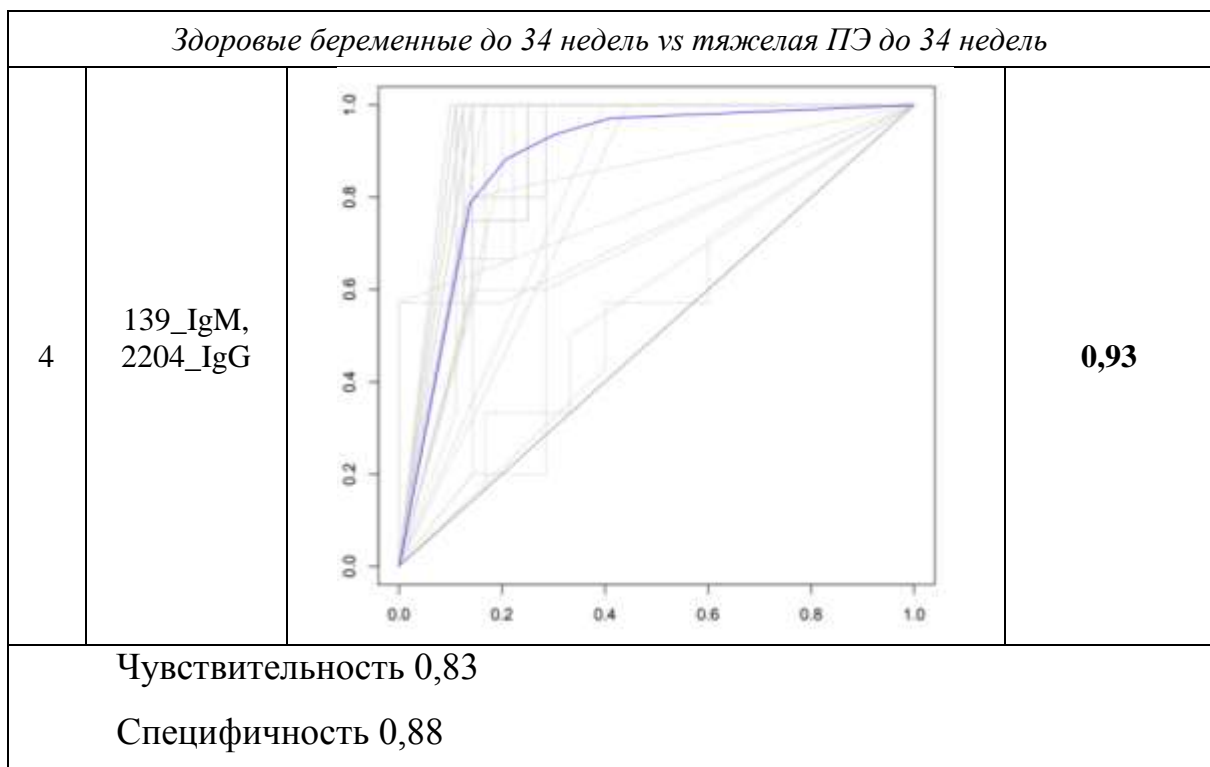
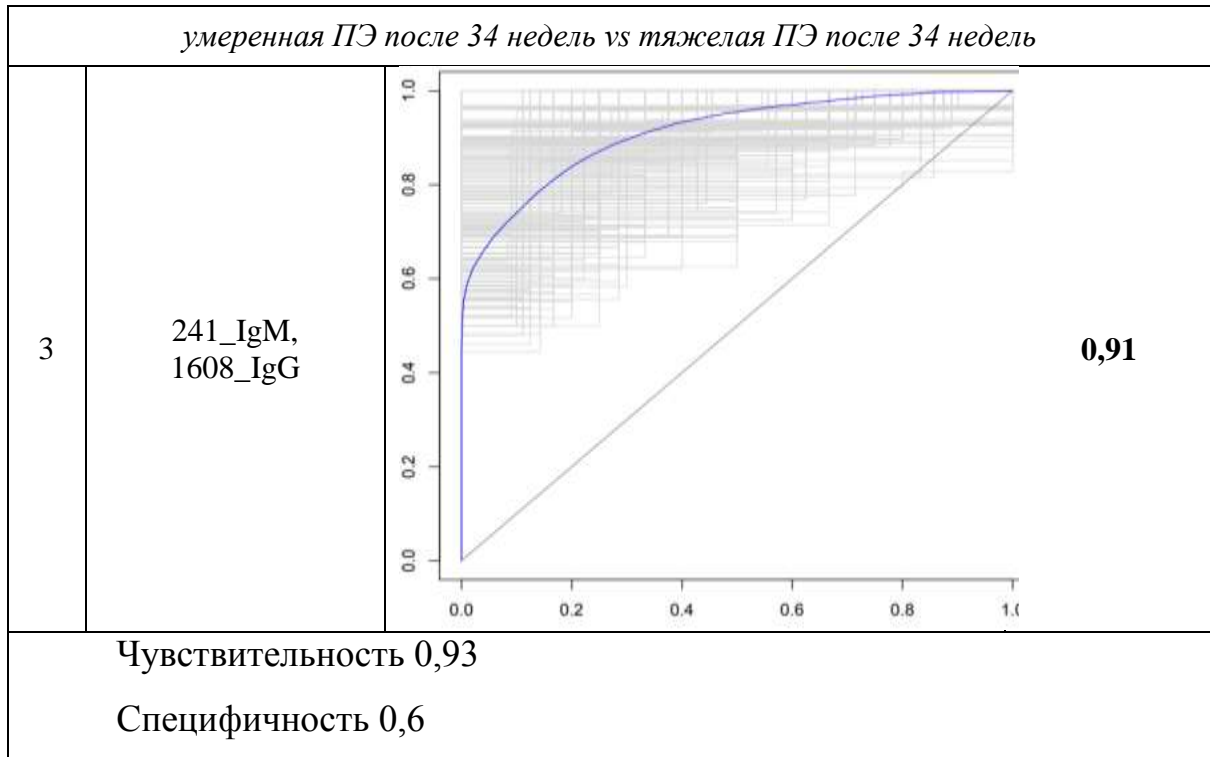
Диагностические сигнатуры и их характеристики. Для ROC-кривых по оси X отложена величина 1-специфичность, по оси Y – 1-чувствительность

№	Сигнатура: ID лиганда_класс антител	ROC-кривая	AUC*
<i>Здоровые беременные после 34 недель vs умеренная ПЭ после 34 недель</i>			
1	497_IgG, 434_IgG		0,75

Чувствительность 0,59

Специфичность 0,72

<i>Здоровые беременные после 34 недель vs тяжелая ПЭ после 34 недель</i>			
2	123_IgM, 2010_IgM		0,91
<p>Чувствительность 0,57</p> <p>Специфичность 0,97</p>			



* полужирным шрифтом выделены значения показателей >0,7

Следует отметить, что существенное улучшение характеристик теста достигается при дифференциации преэклампсии на умеренную и тяжелую, а

также раннюю и позднюю, что открывает возможности уточнения степени тяжести и времени проявления преэклампсии (таблица 20).

4.4. Формула прогноза развития умеренной преэклампсии на основании комплексного исследования антигликановых антител

Для прогнозирования развития умеренной преэклампсии в программе Orange Canvas версии 3.13 [<https://orange.biolab.si/>], которая представляет собой платформу для прогнозного моделирования, была рассчитана формула прогноза. Алгоритм работы с данными представлен на рисунке 23.

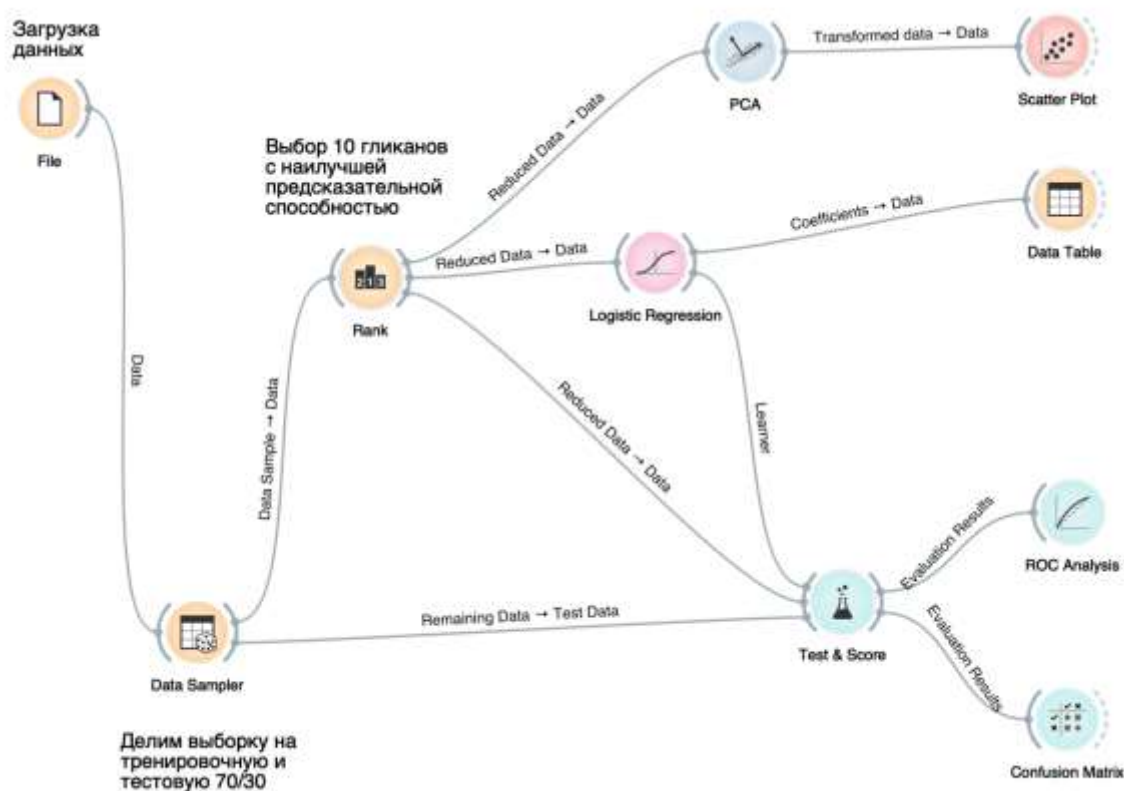


Рис. 23. Схема анализа данных в программе Orange Canvas версии 3.13, позволяющая сформулировать формулу прогноза развития умеренной преэклампсии

В ходе анализа были изучены результаты 1382 антигликановых антител (IgG + IgM) у 110 пациенток, которые были разделены на 2 группы: 48 беременных с умеренной преэклампсией, 62 женщин с физиологически протекающей беременностью. Было произведено деление пациенток на тренировочную (для обучения модели) и тестовую (для проверки модели) выборки, которые составили 70/30% пациентов, соответственно, для создания в дальнейшем модели прогнозирования развития умеренной преэклампсии. Мы применили метод главных компонент, чтобы посмотреть на взаиморасположение образцов. Было произведено ранжирование антигликановых антител для определения предсказательной способности развития умеренной преэклампсии, в ходе чего было отобрано 10 антител с наилучшей предсказательной способностью по критерию (info.gain).

	#	Info. gain	Gain ratio	Gini ▼	χ^2
N igG_3302		0.440	0.220	0.247	28.476
N igG_17		0.322	0.161	0.200	22.253
N igG_1209		0.329	0.164	0.176	21.082
N igG_2206		0.290	0.145	0.175	22.253
N igG_120		0.286	0.143	0.173	11.656
N igG_122		0.272	0.136	0.172	19.768
N igG_87		0.279	0.139	0.169	12.329
N igG_146		0.279	0.139	0.169	20.531
N igM_2502		0.278	0.139	0.164	20.531
N igG_531		0.254	0.127	0.161	15.781
N igG_322		0.247	0.124	0.156	17.295
N igM_26		0.295	0.147	0.155	18.878
N igG_1203		0.295	0.147	0.155	18.878
N igM_1231		0.296	0.148	0.154	14.798
N igG_1302		0.244	0.122	0.152	13.400
N igG_930		0.245	0.122	0.151	10.813
N igG_814		0.250	0.125	0.150	11.656
N igG_248		0.250	0.125	0.150	18.878
N igG_258		0.235	0.118	0.148	14.337
N igG_345		0.235	0.118	0.145	10.419
N igG_6		0.233	0.117	0.145	9.252
N igM_59		0.244	0.122	0.143	17.802

Рис. 24. Выбор антигликановых антител с наибольшей предсказательной способностью (первые десять значений в электронной таблице).

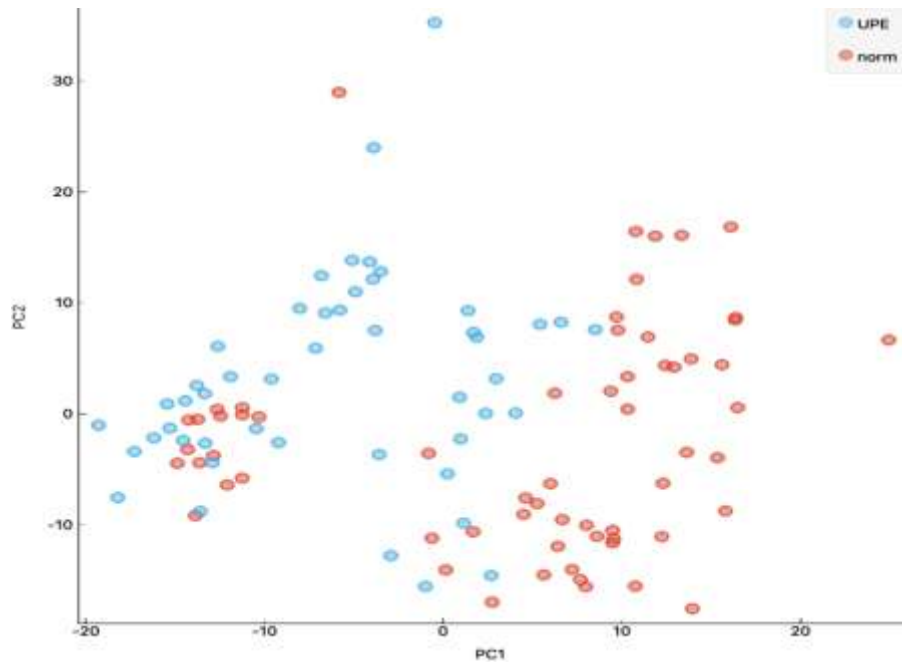


Рис. 25. Разделение контрольных образцов и образцов с умеренной преэклампсией методом главных компонент (синие точки – умеренная преэклампсия, красные – здоровые беременные).

Следующий этап включал в себя обучение логистической регрессии с L1 регуляризацией. Логистическая регрессия применяется для прогнозирования вероятности возникновения некоторого события по значениям множества признаков. Для этого вводится так называемая зависимая переменная, принимающая лишь одно из двух значений – как правило, это числа 0 (событие не произошло) и 1 (событие произошло), и множество независимых переменных (также называемых признаками, предикторами или регрессорами) – вещественных, на основе значений которых требуется вычислить вероятность принятия того или иного значения зависимой переменной. Как и в случае линейной регрессии, для простоты записи вводится фиктивный признак. Применялся метод максимального правдоподобия для подбора параметров. Полученная модель была применена к тестовой выборке для определения ее характеристик. В ходе данного этапа была получена модель, которая была проверена на тестовой выборке для определения ее предсказательной способности риска развития умеренной преэклампсии.

	name	norm
1	intercept	0.0000000
2	igG_3302	0.8900751
3	igG_17	-0.9207811
4	igG_1209	0.6853114
5	igG_2206	-0.4233803
6	igG_120	0.5738404
7	igG_122	0.0000000
8	igG_87	0.0000000
9	igG_146	-0.5807479
10	igM_2502	-0.1604083
11	igG_531	0.0000000

Method	AUC ▼	CA	F1	Precision	Recall
Logistic Regression	0.970	0.879	0.846	0.917	0.786

Рис. 26. Параметры модели логистической регрессии

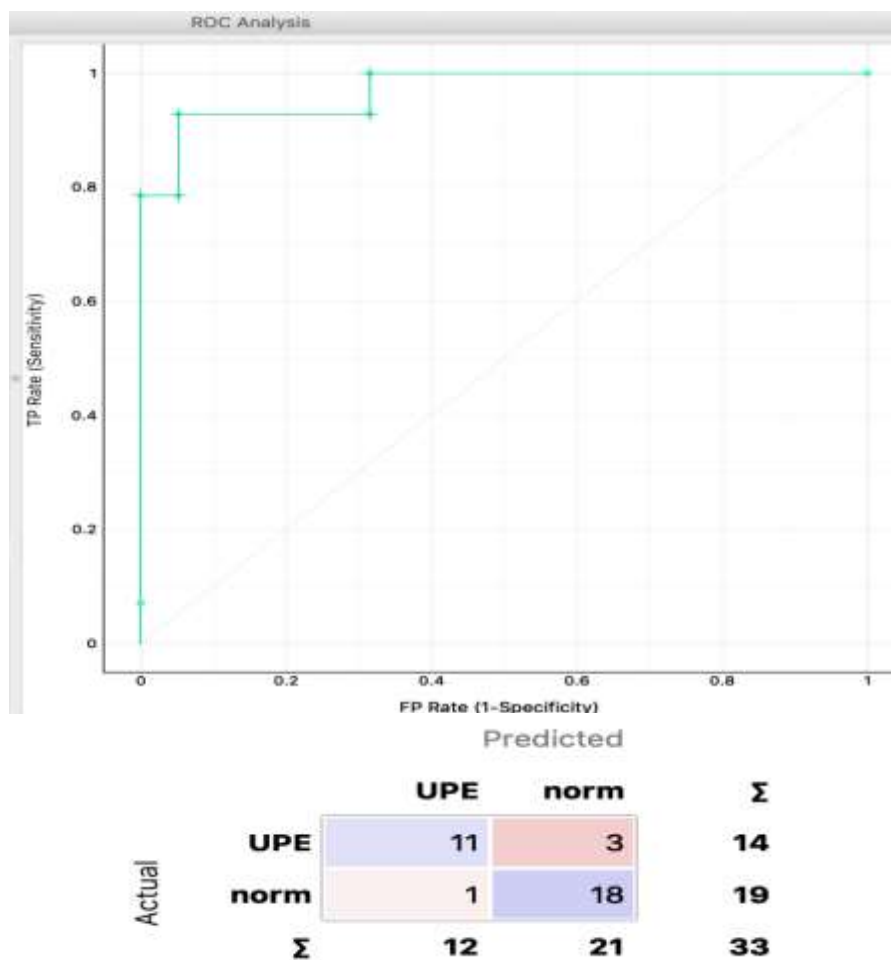


Рис.27. ROC кривая и статистические показатели логистической регрессии для контрольных образцов и образцов с умеренной преэклампсией

Применив метод бинарной логистической регрессии, определена вероятность развития умеренной преэклампсии по формуле:

$$P=1/(1+e^{-z})$$

$$Z = 0,89*X1 - 0,92*X2 + 0,685*X3 - 0,423*X4 + 0,573*X5 - 0,58*X6 - 0,16*X7;$$

где z – основание натурального логарифма и имеет значение 2,71828182845904;

$X1$ – IgG_3302, $X2$ – IgG_17, $X3$ – IgG_1209, $X4$ – IgG_2206, $X5$ – IgG_120, $X6$ – IgG_146, $X7$ – IgM_2502.

где $X1$ - $X6$ – уровень IgG для антител к указанным гликанам после нормализации и трансформации; $X7$ – уровень IgM для антитела к гликану 2502 после нормализации и трансформации.

Нами были определены границы степеней вероятности развития умеренной преэклампсии:

- с низкой вероятностью $z = <0,1$;
- с умеренной вероятностью $z = 0,1-0,9$;
- с высокой вероятностью $z = >0,9$

Данная модель имеет чувствительность 92% и специфичность 78%.

4.5. Корреляционные связи между антигликановыми антителами и клинико-анамнестическими параметрами

Для выявления взаимосвязи между антигликановыми антителами и параметрами анамнеза, а также параметрами клинико-лабораторных исследований были использованы непараметрический метод ранговой корреляции по Спирмену для анализа количественных данных и Т-критерий Вилкоксона для анализа качественных данных для выявления направленности и выраженности изменений. В качестве порога достоверности использовали значение $p\text{-value} < 0,05$ с учетом поправки FDR (коэффициент ложных обнаружений).

Ввиду массивности данных, из 689 исследованных антигликановых антител, в сравнение были включены антигликановые антитела, по которым были выявлены значимые различия в межгрупповом сравнении (представленные в разделе 4.3).

Для выяснения патогенетического значения антигликановых антител конкретной специфичности корреляционные связи были проанализированы в группах, где выборки были репрезентативными: в группе сравнения и в группе с умеренной преэклампсией.

Выявленные корреляционные связи в группе сравнения

Таблица 21

Оценка корреляционной связи между уровнем антигликановых антител и клинико-anamнестическими параметрами (качественные признаки) в группе сравнения

Класс антител/Номер гликана	p-value	Среднее значение в группе с наличием признака	Среднее значение в группе с отсутствием признака	Качественный признак
IgM_237	0,022972	11,05189	11,92808	Уреаплазмоз
IgM_529	0,026792	9,8753	9,185163	Хламидиоз
IgG_151	0,027014	9,495785	10,96319	Вирус простого герпеса
IgM_103	0,029904	12,94547	14,64256	Вирус простого герпеса
IgG_479	0,035764	9,558983	10,90776	Бактериальный вагиноз
IgM_1608	0,036253	10,84018	11,6955	Угроза II триместра
IgM_241	0,036465	11,77898	10,4985	Вирус простого герпеса
IgG_1605	0,039439	9,113407	8,471023	Уреаплазмоз
IgM_434	0,041981	8,900205	9,734039	Вирус простого герпеса
IgG_497	0,04364	9,330473	8,213783	Хламидиоз
IgM_398	0,04421	13,20081	14,48916	Вирус простого герпеса
IgG_497	0,044652	9,090187	9,697959	Угроза I триместра
IgM_903	0,048578	10,79984	11,78978	Нарушение жирового обмена I степени
Примечание: данные отсортированы по значению p-value (от меньшего к большему)				

Как свидетельствуют обобщенные данные, представленные в таблице, значимые зависимости (по p-значению) выявлены между уровнем антител с

заболеваниями, передающимися половым путем, которые пациентки перенесли в анамнезе и угрозой I и II триместров.

Таблица 22

Оценка корреляционной связи между уровнем антигликановых антител и клинико-анамнестическими параметрами (количественные признаки) в группе сравнения

Класс антител/Номер гликана	p-value	Коэффициент r_s	Количественный признак
IgG_241	0,00182	-0,96496	Уровень лимфоцитов
IgG_497	0,021536	0,877659	Уровень лимфоцитов
IgG_2010	0,027397	-0,76376	АЛТ
IgM_1605	0,0294	-0,2814	Уровень тромбоцитов
IgM_1608	0,035091	0,741903	АЛТ
IgG_103	0,035707	0,740289	АСТ
IgG_1605	0,038978	-0,83415	Уровень лимфоцитов
IgG_1608	0,04305	-0,82543	Уровень лимфоцитов
Примечание: данные отсортированы по значению p-val (от меньшего к большему)			

Представленные данные свидетельствуют, что у здоровых беременных ряд антител (IgG_241, IgG_497, IgG_1605 и IgG_1608) имеют тесную обратную корреляционную связь с количеством лейкоцитов крови. Следовательно, чем меньше количество лейкоцитов в крови, тем выше уровень указанных антител. Также, тесная корреляционная связь выявлена между концентрацией АЛТ в крови и уровнем антител IgG_1608 и IgG_103 (прямая) и уровнем IgG_2010 (обратная), что свидетельствует об однонаправленном изменении параметров в первом случае, и обратном – во втором. Слабая обратная связь выявлена между количеством тромбоцитов в крови и уровнем антител IgG_1605.

Выявленные корреляционные связи в группе с умеренной преэклампсией

На следующем этапе исследования нами проведен корреляционной связи между клинико-анамнестическими параметрами беременных с умеренной преэклампсией и уровнем антигликановых антител (таблица 23).

Оценка корреляционной связи между уровнем антигликановых антител и клинико-anamнестическими параметрами у пациенток с умеренной преэклампсией (качественные признаки)

Класс ти- тел_Номер гликана	p-value	Среднее значение в группе с наличием признака	Среднее значение в группе с отсутствием признака	Качественный признак
IgG_164	0,003929	9,750067	10,78161	Миома
IgG_529	0,004936	9,126158	8,267255	ЗРП
IgG_293	0,009086	8,305927	8,470132	Угроза I триместра
IgG_903	0,011263	9,382441	8,685963	ЗРП
IgG_479	0,020266	8,812532	8,010019	Вирус папилломы человека
IgM_2010	0,021666	13,06584	11,09387	Цитомегаловирус
IgG_398	0,022307	9,867046	8,932471	хр. эндометрит
IgG_818	0,022658	12,73673	14,95153	Хр. пиелонефрит
IgM_398	0,024807	12,4354	14,20492	Ретрохориальная гематома
IgM_632	0,026772	11,56662	10,23172	Вирус папилломы человека
IgM_241	0,028313	12,30383	8,63168	Ретрохориальная гематома
IgG_296	0,029088	8,59317	7,834211	Миома
IgM_296	0,030203	9,545307	8,544238	Ретрохориальная гематома
IgG_241	0,030212	9,836005	7,677799	Ретрохориальная гематома
IgM_293	0,030217	9,783021	8,983224	Цитомегаловирус
IgM_903	0,032229	10,77576	12,61687	Цитомегаловирус
IgM_1608	0,032253	11,2847	9,219076	Ретрохориальная гематома
IgM_1608	0,032253	11,2847	9,219076	Ретрохориальная гематома
IgG_296	0,032253	8,553463	7,229558	Ретрохориальная гематома
IgM_164	0,033191	12,76798	12,02515	Задержка роста плода
IgM_529	0,033897	9,484556	9,901717	Повышение АД во II триместре
IgM_529	0,034762	9,761118	8,905888	Хр. эндометрит
IgG_632	0,038526	8,870078	9,312909	Повышение АД во II триместре
IgG_434	0,038825	8,267696	7,642345	Нарушение жирового обмена I степени
IgM_293	0,03883	9,787398	9,184175	Вирус папилломы человека
IgM_2010	0,03949	12,75582	13,17648	Повышение АД во II триместре
IgM_123	0,041548	12,142	8,905885	Ретрохориальная гематома
IgG_398	0,041948	10,01556	9,493121	Угроза I триместра
IgG_241	0,042956	9,601702	10,17921	Угроза II триместра
IgM_818	0,043952	13,74714	13,02655	Повышение АД в I триместре
IgG_273	0,044207	8,731707	8,500568	Угроза II триместра
IgG_151	0,045281	9,313892	8,546045	Уреаплазмоз
IgM_237	0,046457	10,80328	11,36498	Токсикоз легкой степени

Примечание: данные отсортированы по значению p (от меньшего к большему)

При умеренной преэклампсии выявлено больше корреляционных связей с клинико-anamнестическими параметрами пациенток, чем в группе сравнения. Причем, несмотря на наличие одинаковых антител, в норме и при преэклампсии выявлены связи с разными параметрами. В таблице 24 выделены наиболее значимые зависимости (по р-значению).

Таблица 24

Оценка корреляционной связи между уровнем антигликановых антител и клинико-anamнестическими параметрами (количественные признаки)

Класс антител_Номер гликана	p-value	Коэффициент r_s	Количественный признак
IgG_1608	0,011464	0,373639	Вес
IgM_398	0,03325	-0,31804	Вес
Примечание: данные отсортированы по значению р (от меньшего к большему)			

Слабые корреляционные связи выявлены между антителами IgG_1608 (прямая) и IgM_398 (обратная) с весом пациенток.

Таким образом, проведенный анализ клинико-anamнестических данных, особенностей течения беременности, родов, послеродового периода, состояния плодов и новорожденных позволил изучить углеводный профиль плаценты, выявить диагностически значимые сочетания антигликановых антител и рассчитать формулы прогноза развития умеренной и тяжелой преэклампсии, что чрезвычайно важно для практического применения в клинической практике.

В следующем разделе будет проведено обсуждение полученных нами результатов в сопоставлении с современными данными литературы.

Глава 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Этиология и патогенез преэклампсии до настоящего дня остаются недостаточно изученными, и на сегодняшний день не существует ни одного теста с достаточной чувствительностью и специфичностью, обеспечивающего прогнозирование и раннее выявление риска развития данного осложнения беременности [13, 14, 25, 31, 83, 126, 129, 196, 291]. Известно, что основным этиологическим фактором больших акушерских синдромов, и преэклампсии в частности, является патология плацентации, которая развивается вследствие нарушенных процессов инвазии трофобласта в спиральные артерии матки [40, 50, 66, 94, 104, 122, 136, 198]. В результате нарушений ремоделирования артерий не происходит или происходит частично, что характерно для ранней манифестации заболевания. При поздних формах ведущим патогенетическим фактором является экстрагенитальная патология матери, особенно тромбофилии – наследственно обусловленная или приобретенная предрасположенность к формированию тромбов в просвете кровеносных сосудов [56, 78, 95, 128, 294, 302]. Развитие тромбозов ведет к блокаде спиральных артерий вследствие чего, происходят нарушения, выражающиеся в дефиците маточно-плацентарного кровообращения с развитием ишемических изменений в тканях плаценты, что реализуется развитием плацентарной дисфункции и гиперактивации иммунной системы [18, 28, 171, 226, 297].

Однако следует признать, что, несмотря на активное изучение патофизиологических процессов, связанных с преэклампсией, до сих пор нет однозначных представлений об этиологии этого заболевания. Неизвестно, что в патогенезе преэклампсии является причиной, а что – следствием. Существуют различные версии того, какие факторы могут связывать первую и вторую стадию патогенеза заболевания. Не исключено, что в разных случаях действительно имеют место различные механизмы [8, 22, 40, 53, 126, 205]. Несмотря на то, что идея о разделении преэклампсии на раннюю и позднюю формы возникла больше 10 лет назад, в доступной литературе имеется недостаточно данных о факторах риска для этих двух форм заболевания. Со вре-

менем, данная теория получает все больше и больше подтверждений. Ранняя преэклампсия больше связана с нарушением инвазии трофобласта, ишемией плаценты и формированием задержки роста плода, чем поздняя преэклампсия [28, 43, 66, 87, 135, 179, 182, 228].

Поиски фенотипически и патогенетически различных форм преэклампсии продолжают, в том числе с использованием современных биоинформатических методов исследования, позволяющих оценивать большие объемы молекулярно-генетических данных. Принимая во внимание неблагоприятные исходы при преэклампсии и отсутствие эффективных методов лечения, предметом пристального изучения большинства исследователей является поиск предикторов, позволяющих выделить группу пациенток для проведения превентивных мер. Так, например, согласно федеральным клиническим рекомендациям Российского Общества Акушеров-Гинекологов (РОАГ) «Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия» [13], выделяют следующие факторы риска преэклампсии (без деления на раннюю и позднюю): первая беременность; преэклампсия при предыдущей беременности; перерыв после последних родов 10 и более лет; возраст > 35 лет; избыточный вес/ожирение (индекс массы тела (ИМТ) > 25 кг/м²); семейный анамнез (преэклампсия у матери или сестры); ДАД 80 мм рт. ст. и выше; протеинурия при постановке на учет по беременности ($\geq 1+$ по тест-полоске (двукратное тестирование) или ≥ 300 мг/л в суточной порции); многоплодная беременность; экстрагенитальные заболевания (хроническая артериальная гипертензия, хроническая болезнь почек, коллагенозы, заболевания сосудов, сахарный диабет, антифосфолипидный синдром).

По мнению Американского Колледжа Акушеров-Гинекологов (ACOG) [87] к факторам риска относят: первые роды; преэклампсия при предыдущих беременностях; хроническая артериальная гипертензия и хроническая болезнь почек; тромбофилия в анамнезе; многоплодная беременность; экстра-

корпоральное оплодотворение; семейный анамнез преэклампсии; сахарный диабет 1 или 2 типа; ожирение; коллагенозы; возраст женщины > 40 лет.

Представленные факторы риска считаются доказанными множеством качественно проведенных эпидемиологических исследований. Однако достоверно неизвестно, за счет чего у женщин с тем или иным фактором риска чаще манифестирует преэклампсия. Например, у женщин, страдающих избыточной массой тела или ожирением, чаще беременность осложняется преэклампсией в связи с тем, что факторы риска – гиперлипидемия, окислительный стресс и эндотелиальная дисфункция чаще встречаются при данных патологических состояниях. Влиянием ангиогенных факторов также можно объяснить связь тромбофилии, сахарного диабета и коллагенозов с преэклампсией. Немолодые женщины, как следствие, могут иметь более плохое состояние сосудистой системы, большее количество сопутствующих заболеваний, что будет обуславливать более частую заболеваемость преэклампсией [25, 43, 135, 155, 183, 195].

Повышенный риск развития данного синдрома, если она уже была при предыдущей беременности, а также в случае семейного анамнеза, говорит в пользу наличия патофизиологической предрасположенности. В исследовании S. Lisonkova et al. [189] анализировались другие факторы риска. При многофакторном анализе было показано, что незамужние женщины (несостоящие в официальном или гражданском браке) также чаще болеют преэклампсией (OR=1,14 (1,10-1,19), $p<0,05$). При однофакторном анализе, проведенном E. Bartsch et al. [114] была выявлена такая же ассоциация.

Принимая во внимание многообразие данных для выявления факторов риска и особенностей течения беременности, родов, послеродового периода, состояния плода и новорожденного у пациенток с преэклампсией на 1 этапе был проведен клиничко-анамнестический анализ.

Все беременные, включенные в исследование, были сопоставимы по клиничко-анамнестической характеристике. Средний возраст, включенных в исследование женщин, колебался в пределах от 18 до 45 года и составил в

среднем – $32,4 \pm 0,7$, $31,2 \pm 1,5$ лет (по группам соответственно). Однако в основной группе преобладали пациентки более старшей возрастной группы 30-35 лет, что подтверждает представления о связи развития преэклампсии с возрастом женщины [26, 30, 77, 261]. Анализ массо-ростовых показателей у обследованных беременных отклонений от популяционных норм не выявил. Однако средняя масса тела в основной группе несколько превышала таковую в группе сравнения и составила $84,1 \pm 2,1$ кг и $65,3 \pm 1,9$ кг, соответственно, а средний рост – $165,1 \pm 3,2$ см и $165,4 \pm 3,9$ см соответственно по группам.

Принимая во внимание указание ряда авторов [44, 49, 71, 153, 232] о высокой частоте развития преэклампсии на фоне соматической патологии, была изучена ее структура в исследуемых группах. Следует отметить, что в основной группе в анамнезе отмечена более высокая частота заболеваний сердечно-сосудистой системы, онкологических заболеваний. При этом в структуре заболеваний сердечно-сосудистой системы отмечена статистически более значимая высокая частота варикозной болезни ($n=15$, 18,1%) ($OR=4,5$ (1,5-39,2)), $p<0,05$), и тенденция к преобладанию артериальной гипертензии ($n=3$, 3,6%) ($OR=2,6$ (0,3-25,7)), $p>0,05$). Достоверных различий в частоте пролапса митрального клапана не установлено. В структуре заболеваний верхних дыхательных путей при преэклампсии превалировали тонзиллит ($n=9$, 10,8%) ($OR=2,0$ (0,6-7,0)), $p>0,05$) и ринит ($n=1$, 1,2%) ($OR=2,0$ (0,6-7,0)), $p>0,05$), бронхит ($n=2$, 2,4%) ($OR=0,8$ (0,1-6,1)), $p>0,05$). Среди заболеваний мочевыводящей системы превалировали хронический пиелонефрит ($n=6$, 7,2%) ($OR=5,4$ (0,6-46,3)), $p<0,05$), цистит ($n=9$, 10,8%) ($OR=5,4$ (1,6-46,3) $p<0,05$) и мочекаменная болезнь ($n=1$, 1,2%) ($OR=0,8$ (0,05-13,8) $p>0,05$). В основной группе частота хронического гастрита составила ($n=9$, 10,8%) ($OR=4,1$ (0,8-20,0)), $p>0,05$), гастродуоденита ($n=2$, 2,4%) ($OR=1,7$ (0,1-19,4)), $p<0,05$), холецистита ($n=2$, 2,4%) ($OR=1,7$ (0,1-19,4)), $p<0,05$) и панкреатита ($n=4$, 4,8%) ($OR=3,5$ (0,4-32,4)), $p<0,05$). Учитывая более высокие показатели индекса массы тела при преэклампсии, была уточнена частота нарушений жирового обмена 1 степени и установлено достоверно ее более высокая ча-

стота, составившая (n=14, 16,9%) (OR=3,5 (1,4-32,4)), p<0,05). Среди других заболеваний эндокринной системы следует отметить более высокую частоту фиброзно-кистозной мастопатии (n=2, 2,4%) (OR=1,7 (0,1-19,4)), p<0,05). Отсутствие указаний на наличие сахарного диабета и аутоиммунного тиреоидита обусловлено, по-видимому, критериям исключения в исследование. Обращала на себя внимание статистически значимая более высокая частота миопии в основной группе (n=13, 15,7%) (OR=1,7 (1,1-19,4)), p<0,05).

Полученные данные указывают на отсутствие достоверных различий в частоте заболеваний сердечно-сосудистой системы, в тоже время получены статистически значимые различия в частоте хронического пиелонефрита, цистита и нарушения жирового обмена.

Достоверных различий в возрасте наступления менархе и характере менструальной функции, по группам не выявлено. Пациентки всех групп ранее наблюдались и лечились по поводу различных заболеваний женских половых органов. Среди гинекологических заболеваний в группе 1 было отмечено увеличение миомы матки (n=15, 18,0%) (OR=15,4 (2,0-120,3)), p<0,05), хронического эндометрита (n=5, 6,0%) (OR=4,5 (0,5-39,2)), p<0,05), сальпингоофорита (n=4, 4,8%) (OR=3,5 (0,4-32,4)), p<0,05), эндометриоза (n=2, 2,4%) (OR=1,7 (0,1-19,4)), p<0,05). В группе сравнения отмечалась более высокая частота кандидозного кольпита – 4,9%.

Из 178 обследованной женщины первобеременных было 115 (64,6%), повторобеременных – 63 (35,4%), первородящих – 95 (53,4%), повторнородящих – 83 (46,6%). При анализе репродуктивной функции обследованных женщин выявлена достоверно более высокая частота самопроизвольных выкидышей (по группам соответственно 15 – 18,1% и 9 – 9,5%) (OR=2,1 (1,1-1,9)), p<0,05), неразвивающихся беременностей (9 – 10,8% и 2 – 2,1%) (OR=3,4 (3,2-4,6)), p<0,05), преждевременных родов (6 – 7,2% и 1 – 1,0%) (OR=1,6 (1,3-3,7)), p<0,05) и преэклампсии (9 – 10,8% и 2 – 2,1%) (OR=4,2 (2,7-4,9)), p<0,05) была достоверно выше (p<0,05) в основной группе, что свидетельствует о несомненной роли отягощенного акушерско-

гинекологического анамнеза в развитии преэклампсии. Следует отметить, что антенатальная гибель ($n=1, 1,2\%$) ($OR=1,8 (2,4-5,3)$), $p<0,05$), и пузырный занос ($n=1, 1,2\%$) ($OR=0,8 (0,05-13,8)$), $p>0,05$), отмечены только в основной группе.

Принимая во внимание указание большинства исследователей на высокую частоту осложнений в период беременности у пациенток с преэклампсией и неблагоприятные перинатальные исходы, был проведен анализ течения беременности, родов, послеродового периода с учетом ранних неонатальных осложнений и заболеваний [25, 34, 73, 196, 240].

У пациенток с преэклампсией чаще отмечался ранний токсикоз умеренной и тяжелой степени ($n=15, 18,1\%$), ($OR=0,8 (0,4-1,6)$), $p>0,05$) и ретрохориальная гематома (по данным УЗИ) ($n=5, 6,0\%$) ($OR=1,2 (0,2-12,1)$), $p<0,05$), а также угроза прерывания ($n=29, 34,9\%$), ($OR=1,1 (0,6-2,2)$), $p>0,05$). в то время как в группе сравнения в I триместре чаще регистрировали ранний токсикоз легкой степени ($n=39, 41,1\%$), ($OR=0,7 (0,4-1,4)$), $p>0,05$).

Во II триместре в основной группе достоверно чаще течение беременности осложнялось угрозой прерывания ($n=21, 25,3\%$), ($OR=3,4 (1,3-9,1)$), $p<0,05$), с формированием истмико-цервикальной недостаточности с последующей ее хирургической коррекцией ($n=8, 9,6\%$) $OR=3,5 (0,4-32,2)$, $p>0,05$), и коррекцией акушерским пессарием ($n=3, 3,6\%$), ($OR=0,7 (0,4-1,6)$), $p>0,05$). Особый интерес представляет манифестация преэклампсии в сроке 24 недели у 12 пациенток ($n=12, 14,5\%$) ($OR=0,7 (0,4-1,4)$), $p<0,05$) в виде повышения цифр артериального давления с последующим нарастанием клинической симптоматики после 30 недель беременности. Кроме того, обращает на себя внимание более высокая частота анемии ($n=14, 16,9\%$) ($OR=2,1 (0,5-8,4)$), $p>0,05$) и задержки роста плода ($n=3, 3,6\%$) ($OR=1,3 (0,4-1,9)$), $p>0,05$).

В III триместре беременности выявлялась достоверно более высокая частота задержки роста плода ($n=9, 10,8\%$) ($OR=4,5 (1,4-9,6)$), $p<0,05$). Также следует отметить более высокую частоту маловодия ($n=8, 9,6\%$) ($OR=1,3$

(1,4-2,9), $p<0,05$). Достоверных различий в частоте угрозы преждевременных родов и многоводия не выявлено.

Средний гестационный срок родов в основной группе составил 35,6 недель, в группе сравнения – 38,1 недель, что согласуется с данными литературы о более раннем родоразрешении беременных с ранней и/или тяжелой преэклампсии [54, 68, 131, 279].

При анализе течения родового акта была установлена достоверно более высокая частота ($n=54$, 65,1%) ($OR=4,5$ (1,4-9,6), $p<0,05$) абдоминального родоразрешения у беременных основной группы. При это частота кесарева сечения при тяжелой преэклампсии составила 100%. Следует отметить, что основными показаниями в основной группе являлись нарастание степени тяжести преэклампсии и отсутствие эффекта от проводимой терапии, а также прогрессирующая гипоксия плода, преждевременная отслойка плаценты и др.

Достоверных различий по продолжительности и осложнениям родового акта по группам выявлено не было. Однако установлены статистически значимые различия в объеме интраоперационной кровопотери, составившей соответственно по группам $1077,1\pm 123,9$ мл и $556,1\pm 141,9$ мл, что, по-видимому, объясняется сочетанием исходной тромбоцитопении и нарушениями в системе гемостаза при преэклампсии. Вышеуказанное предопределило в послеродовом периоде у пациенток основной группы наличие статистически значимой более высокую частоту анемии ($n=19$, 22,9%) ($OR=2,5$ (3,4-9,6), $p<0,05$). Также в данной группе в 1 (1,2%) случае ($OR=2,5$ (3,4-9,6), $p<0,05$) был диагностирован эндометрит и в 4 (4,8%) – субинволюция матки ($OR=2,5$ (3,4-9,6), $p<0,05$).

Особый интерес представляло изучение течения раннего неонатального периода. Все дети родились живыми. В структуре неонатальной заболеваемости у детей в основной группе достоверно чаще встречалась врожденная пневмония – ($n=32$, 38,5%) ($OR=2,5$ (3,4-9,5), $p<0,05$), при этом чаще данный показатель был отмечен в подгруппе IA в отличие от подгруппы IB – 64,1%

против 11,0% (OR=7,3 (4,4-11,6), $p<0,05$). Респираторный дистресс-синдром также преобладал в основной группе новорожденных – 22,9% (OR=8,19 (1,8-37,1), $p<0,05$) При анализе данного показателя по подгруппам выявлено, что у детей от пациенток с тяжелой формой преэклампсии по сравнению с умеренной ее формой, респираторный дистресс-синдром встречался в 2,8 раз чаще ($n=27$, 32,5%) (OR=3,1 (1,9-4,6), $p<0,05$). Экстремально-низкая масса тела новорожденных при рождении также отмечалась в 3 раза чаще у детей от матерей с преэклампсией, при этом преимущественно с тяжелой ее формой ($n=17$, 20,5%) (OR=2,7 (2,4-4,6), $p<0,05$). Неонатальная желтуха встречалась у новорожденных обеих групп, с превалированием в основной группе – 10,8% против 3,6%, (OR=3,1 (2,1-4,6), $p<0,05$).

Асфиксия новорожденных также чаще отмечалась в основной группе ($n=24$, 28,9%) (OR=5,7 (2,4-5,6), $p<0,05$), при этом следует отметить наличие как тяжелой, так и умеренной асфиксии, в отличие от группы сравнения. Анемия новорожденных встречалась в 5,6 раз чаще у детей от матерей с преэклампсией по сравнению с детьми от матерей группы сравнения ($n=15$, 18,1%) (OR=2,9 (2,1-4,6), $p<0,05$). Дискинезия желудочно-кишечного тракта превалировала в основной группе ($n=6$, 7,2%) (OR=2,7 (0,4-4,6), $p>0,05$). ДВС-синдром чаще диагностировали у новорожденных от матерей с преэклампсией ($n=10$, 12,1%) (OR=3,7 (4,1-7,6), $p<0,05$).

При внутригрупповом анализе была установлена более высокая частота респираторного дистресс-синдрома и экстремально низкая масса тела новорожденных при тяжелой форме преэклампсии, что объясняется ранней манифестацией и тяжелым течением, и как следствие, досрочным родоразрешением. С этих позиций обоснованным является анализ клинической характеристики и течения беременности с учетом форм и тяжести. У пациенток с тяжелой преэклампсией отмечена более высокая частота в анамнезе заболеваний сердечно-сосудистой системы у 54,5%, в отличие от 32,1% при умеренной ее форме. Достоверных различий в частоте перенесенных детских заболеваний не выявлено.

Среди соматической заболеваемости следует отметить более высокую частоту мигрени при тяжелой преэклампсии – 2 (6,2%), нарушение жирового обмена – 7 (21,9%) и артериальной гипертензии – 8 (25,0%). Следует отметить, что несмотря на схожесть течения периода гестации при тяжелой и умеренной формах преэклампсии, имелся ряд отличий. Так, при тяжелой преэклампсии угроза прерывания в I и II триместрах была статистически значимо выше в отличие от умеренной ее формы (n=14, 43,7%) (OR=2,7 (1,4-3,6), p<0,05) и (n=11, 34,4%) (OR=2,1 (4,4-8,1), p<0,05), соответственно. При этом отмечалась статистически значимо более высокая частота ретрохориальной гематомы (n=3, 9,3%) (OR=3,2 (2,5-7,1), p<0,05) и тенденция к более частому формированию истмико-цервикальной недостаточности в случае тяжелой преэклампсии (n=4, 12,5%) (OR=1,6 (0,4-3,6), p>0,05). Многие исследователи указывают на сопряженность преэклампсии с задержкой роста плода ввиду общности этиологических и патогенетических механизмов [40, 43, 95, 105, 116, 159, 179, 282]. В нашем исследовании выявлена достоверно более высокая частота формирования задержки роста плода (n=6, 18,7%) (OR=2,9 (1,8-3,2), p<0,05) и маловодия (n=5, 15,6%) (OR=2,7 (1,4-3,6), p<0,05) при тяжелой форме преэклампсии.

Ввиду вышеизложенного, в дальнейшем в исследовании мы проводили изучение клинико-anamнестических особенностей пациенток с развитием преэклампсии для выделения факторов риска, в том числе с учетом форм. Надо отметить, что в рамках клинических рекомендаций не приводятся данные о различных факторах риска для ранней и поздней преэклампсии. Более того, в доступной литературе (база данных научных статей Pubmed) оказалось не так много данных о связи различных факторов риска с различными формами преэклампсии. В статье S. Lisonkova [189] проводилось сравнение факторов риска ранней и поздней преэклампсии у жительниц штата Вашингтон. В работе было показано, что риск развития ранней преэклампсии значимо больше, чем поздней при наличии хронической артериальной гипертензии и в случае врожденных аномалий плода, в то время как поздняя преэкламп-

сия значимо чаще встречается у молодых пациенток, у первородящих и на фоне сахарного диабета. Помимо факторов риска, авторы также проанализировали исходы беременности, и отметили, что ранняя преэклампсия значимо больше связана с нежелательными неонатальными исходами, чем поздняя. Все проанализированные негативные неонатальные исходы (за исключением крупного новорожденного к гестационному сроку) встречались значимо чаще при ранней, чем при поздней преэклампсии, а также значимо чаще при поздней, чем в контрольной группе. В исследовании E. Bartsch et al. [114] рассчитывали отношение шансов выявления различных факторов риска отдельно для ранней и поздней преэклампсии. В целом они были похожи, однако статистические тесты для оценки различий между ранней и поздней преэклампсии также не применялись.

В ряде работ [16, 144, 225, 310], проведенных в последнее время, предпринимались попытки построить модель для прогнозирования преэклампсии на основании клиничко-анамнестических, лабораторных и инструментальных данных. В качестве лабораторных данных использовались такие маркеры как PAPP-A (pregnancy-associated plasma protein A), свободный человеческий хорионический гонадотропин человека бета, альфа-фетопротеин, плацентарный фактор роста и растворимый рецептор фактор некроза опухоли - 1. Основным инструментальным методом являлось измерение кровотока в маточных артериях с помощью доплерометрии, а также измерение артериального давления. Однако в данных работах до сих пор удавалось достигать лишь умеренного уровня прогностической ценности положительного результата теста.

В связи с этим ACOG [93] выпустил рекомендации, касающиеся использования лабораторно-инструментальных методов для скрининговых исследований в отношении преэклампсии. По мнению ACOG, не следует подвергать женщин столь подробному исследованию, поскольку при имеющемся уровне прогностической ценности риск развития осложнений может быть больше, чем вероятность правильного предсказания случая преэклампсии. В

связи с этим общество рекомендует осуществлять прогнозирование лишь на основании клинико-анамнестических данных.

В нашем исследовании применив метод бинарной логистической регрессии, на основании анализа клинических и анамнестических данных, определена вероятность развития тяжелой преэклампсии по формуле:

$$P=1/(1+e^{-z})$$

$$z=0,59 + 0,311*X1 + 0,21*X2 + 1,17*X3 + 0,278*X4;$$

где e – основание натурального логарифма и имеет значение 2,71828182845904;

X1 – неразвивающаяся беременность в анамнезе,

X2 – нарушение жирового обмена,

X3 – хронический пиелонефрит,

X4 – угроза прерывания в I триместре с формированием гематомы,

Используя 90 и 10% перцентили, определены границы степеней вероятности развития тяжелой преэклампсии.

Так нами были сформированы 3 группы пациенток:

- с низкой вероятностью ($p \leq 10\%$) $z = 0-0,39$;
- с умеренной вероятностью (p от 10 до 90%) $z = 0,4-0,79$;
- с высокой вероятностью ($p \geq 90\%$) $z=0,8-1,0$

Данная модель имеет чувствительность 78% и специфичность 69%.

Таким образом, проведенный анализ клинико-анамнестических данных, акушерских и перинатальных исходов подтвердил значимость анамнеза в риске развития преэклампсии. В тоже время недостаточная предсказательная способность вышеуказанных факторов обуславливает необходимость проведения дальнейших исследований по поиску современных молекулярно-генетических и иммунологических предикторов развития преэклампсии, направленных на раннюю диагностику и верификацию степени тяжести данного осложнения беременности. Основной нерешенный вопрос: в чем причина нарушений плацентации и развития гиперактивации иммунной системы и

какие молекулярные маркеры могут отражать развитие патологии? [20, 40, 53, 123, 139, 172, 200].

Руководствуясь фактами, которые свидетельствуют, что гликаны являются самыми распространенными органическими соединениями в организме и участвуют в межклеточных контактах, миграции клеток и иммунных реакциях наши исследования были направлены на изучение: во-первых, углеводного профиля плаценты как фактора, который отражает патогенез преэклампсии и, во-вторых, антигликановых антител, как показателя, который является амплификацией молекулярных изменений в плаценте и может быть использован для диагностических целей [3, 6, 46, 112, 125, 299, 301].

Существующие подходы к прогнозу и диагностике преэклампсии, основывающиеся на клинических показателях и факторах риска являются наиболее доступными, но реальную их эффективность нельзя признать достаточно высокой. Поэтому задача, заключающаяся в поиске маркеров, отражающих молекулярные детерминанты развития преэклампсии до проявления клинических симптомов, остается актуальной. Вследствие того, что плацента является основным органом, изменения которого предопределяет развитие преэклампсии, одной из ключевых задач данного исследования был поиск плацентарных маркеров, ассоциированных с развитием преэклампсии.

Ишемия является основным инициирующим фактором повреждения плаценты, которое сопровождается появлением в материнской крови трофобластического дебриса и молекул, представляющих собой так называемые «образы опасности», способные активировать иммунную систему матери. Гиперактивация иммунной системы приводит к развитию чрезмерного системного воспалительного ответа и эндотелиальной дисфункции. Многочисленные и противоречивые проявления иммунной дезадаптации при преэклампсии широко описаны в литературе [24, 74, 124, 167, 184, 200]. Однако особый интерес вызывают данные, свидетельствующие о роли гликанов и их рецепторов – эндогенных лектинов в иммунорегуляции репродуктивного

процесса, поскольку они позволяют существенно дополнить существующий взгляд на патогенез преэклампсии [4, 6, 125, 299, 301].

Основными аргументами, которые обосновывают участие гликанов в патогенезе преэклампсии являются:

- наличие на клетках слоя, ассоциированного с мембраной (гликокаликса), состав которого видоспецифичен и терминальные (концевые, наружные) группы гликанов гликокаликса обеспечивают межклеточные контакты, в том числе в процессах морфогенеза и инвазии и, соответственно, обуславливают успешную имплантацию и плацентацию [99, 177];
- участие гликанов в процессах уклонения от иммунного надзора и распознавания «свое-чужое», что определяет их значительную роль в формировании иммунологической толерантности к фетальным аллоантигенам [112];
- данные об изменении углеводного фенотипа клетки при воспалительном процессе и различных клеточных дисфункциях [271].

Изучение состава гликокаликса в терминальных ворсинах плаценты, проведенное в данном исследовании, выявило более низкое содержание гликоконъюгатов, детектируемых лектинами в гликокаликсе синцитиотрофобласта, по сравнению с гликокаликсом эндотелия при физиологической беременности. Развитие преэклампсии характеризуется потерей данной закономерности: при умеренной преэклампсии содержание остатков $\alpha 2,6$ -связанной сиаловой кислоты не отличается в исследуемых структурах; при тяжелой преэклампсии различия в содержании GalNAc-терминированных гликанов также нивелируются.

Известно, что одним из механизмов, ограничивающих иммунный ответ матери на фетальные антигены является отсутствие экспрессии высокополиморфных молекул HLA синцитиотрофобластом, и, напротив, экспрессия малополиморфных или олигоморфных молекул – HLA-C, HLA-E, HLA-G. Избирательная экспрессия обуславливает отсутствие на фетальных клетках, имеющих непосредственный контакт с иммунными клетками матери, мише-

ней, взаимодействие с которыми активирует эффекторные механизмы, направленные на отторжение полуаллогенного плода. Не исключено, что механизм защиты от отторжения не ограничивается только избирательной экспрессией молекул HLA-системы [2, 15, 45, 167, 256]. Поскольку определенный паттерн гликозилирования клетки обеспечивает защиту от иммунного надзора, сводя к минимуму зависимость иммунного ответа от HLA-полиморфизма [20, 112], то детерминированный качественный и количественный состав гликанов, представленных в гликокаликсе щеточной каймы синцитиотрофобласта, может явиться доказательством участия гликанов в уклонении от иммунного надзора при беременности [15, 228, 234]. Мы не обнаружили полного отсутствия изученных нами гликанов на синцитиотрофобласте, но выявленная закономерность указывает на наличие механизмов, ограничивающих представленность функциональных углеводных остатков в синцитии при физиологической беременности, что может быть значимым для формирования иммунологической толерантности при беременности.

При тяжелой преэклампсии выявлены изменения гликокаликса синцитиотрофобласта: повышено содержание терминальных остатков маннозы (окрашивание лектином Con A), β -Gal-терминированных структур гликанов (окрашивание лектином ECL) и α 2,6-связанной сиаловой кислоты (окрашивание SNA) по сравнению с физиологической беременностью и преэклампсией умеренной степени. Обработка ткани нейраминидазой позволила выявить различия между группами исследования в субтерминальных структурах гликанов, после окрашивания соответствующими лектинами. Окрашивание ткани лектином ECL после воздействия нейраминидазы выявило ожидаемое повышение связывания лектина с тканью плаценты пациенток с физиологической беременностью и умеренной преэклампсией, но не зафиксировало изменения связывания ECL в гликокаликсе синцитиотрофобласта в ткани плаценты при тяжелой преэклампсии, что может свидетельствовать о структурных альтерациях/особенностях гликокаликса при тяжелой преэклампсии. Особенности гликокаликса синцитиотрофобласта при тяжелой преэклампсии

подтверждаются окрашиванием нейраминидаза + SNA, поскольку во всех группах выявлено снижение связывания лектина с гликоконъюгатами после обработки ткани нейраминидазой, но только при тяжелой преэклампсии эти изменения статистически значимы. Полученные результаты свидетельствуют, что при умеренной преэклампсии состав гликокаликса синцитиотрофобласта практически не имеет отличий от гликокаликса пациенток с физиологически протекающей беременностью, тогда как при тяжелой преэклампсии выявлены значительные различия в терминальных и, по-видимому, субтерминальных структурах.

Выявленные изменения гликокаликса при тяжелой преэклампсии могут явиться, во-первых, свидетельством нарушенной функции щеточной каймы синцитиотрофобласта ворсин, которая имеет ключевое значение в регуляции местного гемостаза в фетоплацентарной системе [56, 179]. Согласно данным полученным С. J. Jones и J. D. Aplin [177] и С. W. Redman A. C. Staff [256] при морфологическом исследовании установлено, что у пациенток с преэклампсией в плаценте отмечается укорочение, нерегулярное расположение микроворсинок, нарушение целостности апикальной поверхности синцитиотрофобласта. В образцах плацент при тяжелой преэклампсии при трансмиссионной электронной микроскопии выявляется альтерация и очаговое слущивание как локальных участков микроворсин, так и фрагментов всего синцитиотрофобластического пласта. Поскольку факторы регуляции гемостаза (аннексин V, тромбомодулин, гепарин, фактор фон Виллебранда, белки, обладающие тромболитическим действием) локализованы в области гликокаликса, то его интактность является фактором, уравнивающим коагулянтное и антикоагулянтное звенья гемостаза в плаценте и обеспечивающим нейтрализацию состояния физиологической гиперкоагуляции материнской крови [179]. Слущивание/нарушение структуры гликокаликса щеточной каймы, по-видимому, может вести к нарушениям в системе гемостаза, что часто наблюдается у пациенток с тяжелой преэклампсией.

Во-вторых, особенности состава гликокаликса синцитиотрофобласта могут быть еще одним аргументом, свидетельствующим об участии гликанов в распознавании «свое-чужое» при беременности. Подтверждением этому являются исследования, доказывающие что щеточная кайма синцитиотрофобласта представлена композицией разнообразных гликанов. При исследовании терминальных ворсин зрелой нормальной плаценты отмечалось, что в гликокаликсе синцитиотрофобласта представлено значительное количество терминальных групп N-ацетилглюкозамина, но слабо выявляются остатки терминальной сиаловой кислоты [99, 177], что подтверждает наличие механизмов избирательной экспрессии углеводных остатков в области зоны прямого контакта материнских и фетальных клеток. Обнаруженная нами, повышенная экспрессия α 2,6-связанной сиаловой кислоты (окраска SNA) при тяжелой преэклампсии, является подтверждением измененного углеводного профиля синцитиотрофобласта.

Поскольку провоспалительная направленность иммунного ответа при преэклампсии проявляется развитием эндотелиальной активации/дисфункции в зависимости от степени тяжести преэклампсии, то важной частью исследования явилось изучение углеводного фенотипа эндотелиальных клеток. Гликокаликс эндотелия терминальных ворсин плаценты при тяжелой преэклампсии имеет значительные изменения: аналогично с синцитиотрофобластом повышено содержание остатков маннозы (окраска ConA) и терминальных остатков β -Gal (окраска ECL), но, снижено содержание терминальной α 2,3-связанной сиаловой кислоты (MAL II). При умеренной преэклампсии наблюдается выраженное снижение содержания терминальной α 2,6-связанной сиаловой кислоты (SNA). Экспозиция субтерминальных остатков β -Gal после обработки нейраминидазой ведет к значимому увеличению интенсивности окрашивания лектином ECL в плаценте здоровых беременных, и отсутствию значимых изменений в интенсивности окрашивания у пациенток с преэклампсией, что может быть свидетельством изменения биосинтеза/метаболизма сиаловых кислот или последствием воспалительного ответа,

более выраженного при преэклампсии, что подтверждается при окрашивании лектинами SNA и MAL II. Обработка ткани нейраминидаза + MAL II выявило значимое уменьшение интенсивности окрашивания во всех группах исследования, однако, при умеренной преэклампсии количество терминальных остатков α 2,3-связанной сиаловой кислоты осталось достаточно высоким.

Известно, что в условиях воспалительного ответа происходят качественные и количественные изменения гликокаликса клетки, что проявляется в шеддинге компонентов гликокаликса и экспозиции скрытых структур гликанов. Провоспалительные стимулы также ведут к изменению N-гликозилирования белков. Следствием изменения гликоконъюгатов является формирование болезнь-ассоциированных сайтов для воспалительных клеток, в том числе появление в этих местах гликанов, специфически связывающихся с лектинами С-типа, которые широко представлены на клетках врожденного иммунитета [202, 267, 271].

Повышение содержания маннозосодержащих гликанов в составе обеих изученных структур плаценты при тяжелой преэклампсии может негативно сказываться на клетках, поскольку маннозосвязывающие рецепторы – CD207, CD209 и маннозный рецептор (относящиеся к лектинам С-типа), способны распознавать остатки маннозы как патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (ПАМП). Взаимодействие маннозо-связывающего лектина с гликоконъюгатами, содержащими многочисленные остатки маннозы, ведет к запуску лектинового пути активации комплемента с последующей гибелью клеток-мишеней. Повышение экспрессии высокоманнозных и β Gal-терминированных структур отмечается в экспериментах *in vitro* после обработки культуры клеток пупочного канатика человека (HUVEC) цитокинами. В результате обработки эндотелиальных клеток TNF- α , повышается количество терминальных остатков α 2,6-связанной сиаловой кислоты, а также возрастает число N-гликанов, особенно высокоманнозного и/или гибридного типа. Энзиматическое отщепление или маскирование остатков маннозы лектинами ведет к значительному снижению адгезии моноцитов к монослою эн-

дотелиальных клеток, что может свидетельствовать об участии этих структур в трансэндотелиальной миграции при воспалительном процессе [59, 96, 100, 150, 165, 183, 209].

Таким образом, исследование углеводного профиля плаценты, выполненное в рамках данной работы, свидетельствует, что состав гликокаликса синцитиотрофобласта и эндотелия терминальных ворсин существенно изменяется при тяжелой преэклампсии, что может быть следствием: нарушения плацентации; последствием системного воспалительного ответа; нарушением формирования толерантности к фетальным аллоантигенам. Поскольку обе исследованные структуры плаценты входят в состав плацентарного барьера – синцитиотрофобласт контактирует с материнской, а эндотелий – с плодовой кровью, то выявленные изменения, очевидно, значимы для патогенеза преэклампсии и согласуются с современным представлением о разных механизмах развития тяжелой и умеренной преэклампсии.

Изменения, выявленные в плаценте, имеют важное значение для уточнения патогенеза, но основной клинической задачей является поиск маркеров для малоинвазивной диагностики и прогноза развития преэклампсии. С этой точки зрения метод жидкостной биопсии, к которому можно отнести анализ крови на комплексное определение антигликановых антител является информативным и перспективным методом для таких задач, поскольку изменения антител могут отражать морфологический субстрат преэклампсии. Исследование представительного спектра антигликановых антител показало, что из 689 антител (у каждого пациента выявлялись иммуноглобулины классов М и G, т.е. реальное количество проанализированных антител было в 2 раза больше), большое количество антигликановых антител имели стабильный, средний уровень, практически не различающийся между группами исследования. Среди таких антител можно выделить аллоантитела к антигенам групп крови и антитела, относимые по классификации Н.В. Бовина [6] к группе консервативных, что соответствует представлениям о присутствии естественных антигликановых антител у всех здоровых доноров. Межгруп-

повые различия были выявлены у пациенток на поздних сроках беременности (после 34 недель). Причем, спектр антигликановых антител, по которым выявлялись различия между здоровыми беременными и пациентками с умеренной преэклампсией оказался широким и включал 25 антител IgG класса. Обращает на себя внимание, что к подавляющему числу гликанов из этого списка уровень антител при умеренной преэклампсии был снижен. Исключением оказались антитела к гликану 818 (гликан GalNAc α 1-4GalNAc α -, который отсутствует у человека), и гликану 1223 (фрагмент бактериального О-полисахарида).

Несмотря на единичные данные о антигликановых антителах при беременности, исследования Y. Christiane et al. [149] свидетельствуют, что в плаценте иммуногистохимической техникой обнаруживается антиген Галлили (ксеноантиген Gal α 1-2Gal-). У человека наряду с отсутствием антигена Галлили в тканях выявляется высокий титр антител к нему в крови. Поэтому факт наличия антител к не типичным для человека антигенам не является единичным, но в данном случае может свидетельствовать о возможной реактивности подобных антител с измененными (поврежденными) вследствие воздействия ишемии или системного воспалительного ответа гликанами.

Также примечателен факт, что уровень антител к обсуждаемым выше гликанам (818 и 1223) повышен не только при преэклампсии, но и при физиологической беременности. Особенно это справедливо для антител к гликану 1223 – гликану бактериальной природы, уровень которого значительно отличается от среднего уровня других антител, выявляемых при физиологической беременности. Кроме молекулярной мимикрии (сходства эпитопов, узнаваемых антителами) и связывания с поврежденными гликанами, возможным объяснением этого факта может являться выявленная в ряде исследований ассоциация высокого уровня антител к бактериальным и инфекционным агентам, в частности, цитомегаловирусу и *Chlamydomphila pneumonia*, столбнячному анатоксину с повышенным риском развития преэклампсии [112, 125, 299]. В одной из ранних, и не нашедших дальнейшего развития

теорий преэклампсии, отмечается возможная инфекционная природа болезни. В частности, обобщенные данные L.C. Kenny и F.P. Mccarthy [180] отмечают что условно патогенные компоненты микробиоты при определенных условиях могут приводить к развитию воспалительной реакции и стимуляции врожденного иммунитета, что при беременности, с естественным изменением иммунной реактивности может приводить к развитию преэклампсии, у пациенток, имеющих различные факторы риска. Отдельные подтверждения этому описывают тенденцию увеличения риска развития гипертензии во время беременности у женщин, которые проживали в районах, где в питьевой воде зафиксировано незначительное увеличение *E. coli* O157:H7 [85, 167].

Кроме ассоциации риска развития преэклампсии с наличием инфекционного агента, есть работы, в которых была исследована связь развития преэклампсии с уровнем антител периферической крови, специфичность которых была определена с помощью чипа с локализованными антигенами различных штаммов *E. coli*. Установлено, что антитела к антигенам различных штаммов *E. coli* детектируются как при нормальной беременности, так и при преэклампсии. Но при преэклампсии антитела не только связывались с более широким спектром антигенных штаммов *E. coli*, но и имели принадлежность преимущественно к IgG классу, тогда как у здоровых беременных преобладали антитела класса IgM [170, 270].

Полученные нами данные анализа представительного спектра антигликановых антител свидетельствуют, что при умеренной преэклампсии выявляются различия с группой сравнения по антителам IgG класса, при тяжелой – по антителам IgM класса. Опираясь на известные данные о принадлежности естественных антигликановых антител к бактериальным антигенам преимущественно к IgM классу, можно предположить, что при тяжелой преэклампсии изменения затрагивают гуморальное звено врожденного иммунитета, а при умеренной – скорее адаптивного.

Учитывая, что выборку гликанов (за исключением гиалуроновой кислоты (№ 632) и ее структурного дисахарида (№ 164), антитела к которым бы-

ли значимы в межгрупповых сравнениях можно охарактеризовать как измененные гликаны или «образы опасности» мы предполагаем, что мишенями антител являются молекулярные паттерны. Молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением, способны вызывать неинфекционный иммунный ответ, поскольку распознаются иммунной системой как чужеродные молекулы. По-видимому, активация иммунной системы происходит в ответ на генерируемые в результате плацентарной ишемии молекулярные образы, в частности гликаны, изменения которых мы идентифицировали в плацентарной ткани. Однако, в плаценте мы не выявили конкретные структуры гликанов, локализованные на чипе, поскольку лектиновая гистохимия позволяет дать скорее описательную характеристику исследуемым гликанам, но, в то же время, определяет количественные изменения терминальных (концевых) остатков в составе сложных структур гликанов гликокаликса клетки. Так как биоразнообразие гликанов чрезвычайно велико и определяется не только составом, но и строением молекулы, ее конформацией, то лектиновая гистохимия, выполненная в данном исследовании выявила факт измененных терминальных и субтерминальных структур гликанов. Более детальная характеристика изменений гликома (совокупности) гликанов организма может быть представлена по характеристике антигенных мишеней – гликанов, выявленных антител. Выявленные мишени – молекулярные паттерны, по нашему мнению, свидетельствуют не об инфекционной природе синдрома, а отражают изменения вследствие оксидативного стресса, воспаления, апоптоза. Поскольку антитела, особенно естественные полиреактивные IgM, имеют свойство перекрестной реактивности с различными антигенами, то их связывание с гликанами условно патогенных (*P. mirabilis*) и патогенных (*Sh. boydii*) микроорганизмов может иметь место.

Важной частью данного исследования, явилось изучение связей между уровнем антигликановых антител и клинико-лабораторными параметрами. Установлено, что у здоровых беременных уровень антител к ряду гликанов (№241, 1605, 1608, 2010) реципротно связан с количеством лимфоцитов,

тромбоцитов и АЛТ, что может свидетельствовать о регуляторной роли этих антител, поскольку лимфоцитоз, тромбоцитоз и повышение трансаминаз в крови относятся к патологическим состояниям. Однако при физиологической беременности отмечаются признаки физиологической, контролируемой воспалительной реакции [22, 171, 172, 174, 250]. Вследствие этого выявленная прямая сильная корреляционная связь между уровнем антигликановых антител и содержанием лимфоцитов и трансаминаз в крови может быть отражением этого процесса.

Также у здоровых беременных выявлено наличие связи ряда антигликановых антител с наличием в анамнезе инфекций, передаваемых половым путем (ИППП): хламидиоза, уреаплазмоза, ВПГ, а также бактериального вагиноза. Необходимо отметить, что подобные связи выявляются также у пациенток с умеренной преэклампсией. Поскольку не выявлено значимых различий между пациентками обеих групп по ИППП в анамнезе, то выявленные связи, по-видимому, могут отражать принадлежность указанных антител к т.н. «антителам-свидетелям заболевания».

При преэклампсии выявлены принципиально другие зависимости между антигликановыми антителами и данными анамнеза и клинико-лабораторных исследований. Особенности корреляционного анализа в данной группе явились: 1) отсутствие зависимостей между антителами и показателями клинического и биохимического анализов крови, выявленных у здоровых беременных; 2) наличие зависимостей между антителами и факторами риска развития преэклампсии: хроническим пиелонефритом, ретрохориальной гематомой, повышением артериального давления во II триместре беременности, нарушением жирового обмена 1 степени и весом беременных.

Анализ антигликановых антител выявил не только особенности их содержания в периферической крови при нормальной беременности и преэклампсии, что является новым фактом для понимания патогенеза синдрома, но и позволил найти диагностически значимые сочетания антител и рассчитать формулу прогноза развития преэклампсии, что чрезвычайно важно для прак-

тического применения в клинике. В настоящее время подходы, основанные на определении единичных маркеров в диагностических целях, имеют низкую диагностическую ценность. Комплексное исследование представительного спектра молекул и выявление так называемых сигнатур – сочетаний маркеров значительно повышает показатели диагностической ценности теста [19, 84, 97, 100, 216]. Руководствуясь этим подходом, были рассчитаны комбинации антигликановых антител и установлено, что для тяжелой преэклампсии на сроках до 34 недель беременности наиболее эффективно использовать сочетание антигликановых антител (№139_IgM и 2204_IgG), $AUC=0,93$. Сочетанное определение позволяет с чувствительностью 83% и специфичностью 88% диагностировать преэклампсию. Полученная диагностическая ценность теста по существующим критериям для интервала $AUC=0,9-1,0$ характеризуется отличным качеством модели и сопоставима с известными и наиболее широко применяемыми на сегодняшний день в клинической практике дополнительными тестами, основанными на определении sFlt-1 и PlGF и их соотношения sFlt-1/PlGF [16, 64, 223, 239, 297]. Однако sFlt-1/PlGF нельзя признать строго специфичным для преэклампсии, так как известно его использование также при диагностике других акушерских синдромов, связанных с дефектами плацентации. Безусловно, полученные данные требуют дальнейшего осмысления, но подход, основанный на использовании сочетаний маркеров, позволит в дальнейшем дифференцировать преэклампсию с другими гипертензивными расстройствами во время беременности и задержкой роста плода. Предварительные данные для такого утверждения имеются, но не представлены в данной работе. В связи с ограниченной выборкой пациенток с тяжелой преэклампсией, характеристика диагностической ценности ограничивалась рассчитанными значениями AUC и чувствительности и специфичности теста.

Следующим этапом исследования нами была рассчитана модель предсказательной способности риска развития умеренной преэклампсии (поскольку выборка пациентов была репрезентативной и позволила распреде-

лить пациентов на тренировочную и тестовую выборки на репрезентативной выборке беременных). Применяв метод бинарной логистической регрессии определена вероятность развития умеренной преэклампсии по формуле:

$$P=1/(1+e^{-z})$$

$$Z = 0,89*X1 - 0,92*X2 + 0,685*X3 - 0,423*X4 + 0,573*X5 - 0,58*X6 - 0,16*X7;$$

где z – основание натурального логарифма и имеет значение 2,71828182845904;

$X1$ – IgG_3302; $X2$ – IgG_17; $X3$ – IgG_1209; $X4$ – IgG_2206; $X5$ – IgG_120; $X6$ – IgG_146; $X7$ – IgM_2502.

где $X1$ - $X6$ – уровень IgG для антител к указанным гликанам; $X7$ – уровень IgM для антитела к гликану 2502.

Границы степеней вероятности развития умеренной преэклампсии:

- низкая вероятность $z = <0,1$;
- умеренная вероятность $z = 0,1-0,9$;
- высокая вероятность $z=>0,9$

Модель имеет чувствительность 92% и специфичность 78%.

Полученные характеристики чувствительности свидетельствуют, что у 92% больных, у которых данное исследование даст положительный результат болезнь подтверждается. Чем выше чувствительность теста, тем чаще с его помощью будет выявляться заболевание, тем, следовательно, он более эффективен. Рассчитанное значение специфичности свидетельствует, что у 78% здоровых лиц, это исследование даст отрицательный результат. Чем выше специфичность метода, тем надежнее с его помощью подтверждается заболевание, и тем, следовательно, он более эффективен.

Заключение

Таким образом, проведенное исследование позволило установить различные патогенетические особенности ранней и поздней преэклампсии, вы-

явить диагностически значимые сочетания антител и рассчитать формулы (модели) прогноза развития умеренной и тяжелой преэклампсии, что чрезвычайно важно для практического применения в клинической практике для снижения акушерских осложнений и улучшения перинатальных исходов.

ВЫВОДЫ

1. Развитие преэклампсии ассоциировано с высокой частотой хронических заболеваний мочевыделительной системы (OR=5,4), варикозной болезни (OR=4,5) нарушений жирового обмена 1 степени (OR=3,5), а также неразвивающейся беременностью (OR=3,4), антенатальной гибелью плода (OR=1,8) и наличием преэклампсии в анамнезе (OR=4,2).

2. Установлена прямая зависимость развития преэклампсии с угрозой прерывания беременности ($R=0,201$ $p<0,05$) с отслойкой хориона ($R=0,189$ $p<0,05$) в I и формированием истмико-цервикальной недостаточности ($R=0,193$ $p<0,05$) во II триместрах беременности, маловодием ($R=0,214$ $p<0,05$) и задержкой роста плода ($R=0,281$ $p<0,05$).

3. На основании анализа клинических и анамнестических данных разработана модель прогноза, позволяющая определить вероятность развития тяжелой преэклампсии с чувствительностью 78% и специфичностью 69%.

4. Преэклампсия характеризуется изменением углеводного профиля плаценты: выявлены изменения сиалосодержащих гликанов, манногликанов, гликанов с терминальными остатками N-ацетиллактозамина в синцитиотрофобласте и эндотелии капилляров терминальных ворсин плаценты. Наиболее выраженные изменения выявлены при преэклампсии тяжелой степени.

5. В плаценте при физиологической беременности установлено снижение содержания гликанов в составе гликокаликса синцитиотрофобласта по сравнению с эндотелием капилляров терминальных ворсин. При умеренной, и особенно тяжелой преэклампсии отсутствуют различия в содержании α 2,6-сиалозидов и гликанов с терминальными остатками ацетилгалактозамина между обеими исследованными структурами плаценты.

6. При преэклампсии выявлено значимое снижение антигликановых антител в периферической крови по сравнению с физиологически протекающей беременностью. Умеренная преэклампсия в отличие от тяжелой харак-

теризуется более широким спектром антигликановых антител, что подтверждает их различный патогенез.

7. Установлена зависимость между уровнем антигликановых антител, клинико-анамнестическими и лабораторными данными. При преэклампсии установлены связи уровня антител с хроническим пиелонефритом, ретрохориальной гематомой, артериальной гипертензией во II триместре, нарушением жирового обмена I степени. При физиологически протекающей беременности имеется принципиально иной характер корреляционных связей: отмечаются тесные связи (как прямые, так и обратные) с количеством лимфоцитов, уровнем АЛТ и АСТ, а также заболеваниями, передающимися половым путем в анамнезе.

8. Выявленные при преэклампсии сочетания антигликановых антител (IgM+IgG) в крови обладают высокой диагностической ценностью до 34 недель беременности (AUC=0,93) и позволяют верифицировать степень ее тяжести после 34 недель (AUC=0,91), что обосновывает перспективность их дальнейшего использования в качестве диагностических и прогностических маркеров.

9. С использованием тренировочной и тестовой выборок разработана модель прогноза умеренной преэклампсии на поздних сроках (после 34 недель беременности) на основании определения антигликановых антител классов IgM и IgG, имеющая высокую диагностическую ценность (чувствительность 92% и специфичность 78%).

10. Алгоритм диагностики и прогнозирования преэклампсии, включающий определение углеводного профиля плаценты и антигликановых антител позволяет снизить акушерские осложнения и улучшить перинатальные исходы.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациенток с наличием хронических заболеваний мочевыделительной системы, нарушений жирового обмена 1 степени, а также неразвивающейся беременностью, антенатальной гибелью плода и наличием преэклампсии в анамнезе следует относить в группу риска по развитию преэклампсии.

2. У беременных с угрозой прерывания и отслойкой хориона в I триместре, формированием истмико-цервикальной недостаточности во II триместре беременности, маловодием и задержкой роста плода целесообразно использовать разработанную модель прогноза, позволяющую определить вероятность развития тяжелой преэклампсии.

3. В качестве диагностических и прогностических маркеров преэклампсии у беременных группы риска обосновано определение сочетания антигликановых антител (IgM + IgG) в периферической крови, позволяющих своевременно верифицировать степень ее тяжести и своевременно проводить лечебно-профилактические мероприятия.

4. Ведение беременных группы риска по развитию преэклампсии целесообразно согласно разработанному алгоритму диагностики и прогнозирования преэклампсии.

Алгоритм диагностики и прогнозирования преэклампсии



СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллаева, Н.К. Нейроиммунные аспекты преэклампсии / Н.К. Абдуллаева // Российский вестник акушера-гинеколога.-2014.- Т.14, № 5.- С.18-21.
2. Абдуллаева, Н.К. Состояние системы комплемента при преэклампсии / Н.К. Абдуллаева // Российский вестник акушера-гинеколога.-2014.- Т.14, № 6.- С.19-23.
3. Антиэндотелиальные антитела – вершина айсберга: что находится внизу? / М.М. Зиганшина [и др.] // Успехи современной биологии.-2017.- Т.137, № 3.- С.288-99.
4. Аутоантитела к антигенам эндотелия при преэклампсии / М.М. Зиганшина [и др.] // Акушерство и гинекология.-2016.- № 3.- С.24-31.
5. Ацетилсалициловая кислота в профилактике преэклампсии и ассоциированных акушерских и перинатальных осложнений / З.С. Ходжаева [и др.] // Акушерство и гинекология.-2018.- № 8.- С.12-8.
6. Бовин, Н.В. Естественные антитела к гликанам / Н.В. Бовин // Биохимия.-2013.- Т.78, № 7.- С.1008-22.
7. Боровская, Т.Ф. Особенности иммунных взаимоотношений в системе «мать-плацента-новорожденный» при угрозе прерывания беременности и ОПГ-гестозе / Т.Ф. Боровская, Е.А. Ганьчева, В.К. Козлов // Иммунология.-1998.- № 4.- С.46-8.
8. Веропотвелян, П.Н. Современные подходы к диагностике преэклампсии / П.Н. Веропотвелян, Н.П. Веропотвелян, Е.П. Смородская // Здоровье женщины.-2013.- № 8 (84).- С.79.
9. Влияние комплексной патогенетической терапии преэклампсии на исходы и длительность пролонгирования беременности / В.Б. Цхай [и др.] // Акушерство и гинекология.-2011.- № 8.- С.36-41.
10. Воднева, Д.Н. Роль маркеров инвазии трофобласта в развитии преэклампсии и опухолевой прогрессии / Д.Н. Воднева, Р.Г. Шмаков, А.И. Щеголев // Акушерство и гинекология.-2013.- № 11.- С.9-12.

11. Возможность прогнозирования и ранней диагностики преэклампсии по пептидному профилю мочи / Н.Л. Стародубцева [и др.] // *Акушерство и гинекология.*-2015.- № 6.- С.46-52.
12. Выявление антител, связывающихся с эндотелиальными клетками *in vitro*, в сыворотке крови женщин с физиологической беременностью и преэклампсией / М.М. Зиганшина [и др.] // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.*-2015.- Т.159, № 4.- С.467-71.
13. Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия: Федеральные клинические рекомендации (протокол). Г.Т. Сухих [и др.] // *МЗ РФ: Москва, 2013.- 85 с.*
14. Гребенник, Т.К. Возможности прогнозирования преэклампсии / Т.К. Гребенник, С.В. Павлович // *Акушерство и гинекология.*-2011.- № 6.- С.17-21.
15. Гуморальное отторжение в генезе акушерской патологии / М.М. Зиганшина [и др.] // *Акушерство и гинекология.*-2013.- № 6.- С.3-10.
16. Диагностическая значимость определения плацентарного фактора роста и растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 в качестве маркеров преэклампсии / Т.Ю. Иванец [и др.] // *Проблемы репродукции.*-2015.- Т.21, № 4.- С.129-33.
17. Динамика растворимых форм молекул клеточной адгезии при преэклампсии / М.М. Зиганшина [и др.] // *Акушерство и гинекология.*-2011.- № 2.- С.42-8.
18. Долгушина, В.Ф. Особенности плацентарного апоптоза и клеточной пролиферации при преэклампсии / В.Ф. Долгушина, Е.Г. Сюдюкова // *Акушерство и гинекология.*-2015.- № 2.-С.12-9.
19. Зиганшина, М.М. Аутоантитела и молекулы клеточной адгезии при беременности, осложненной преэклампсией: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук / М.М. Зиганшина. – Москва, 2016.- 27 с.

20. Иммунные механизмы развития гестоза: монография / Л.В. Посисеева [и др.]- Иваново: ОАО «Издательство «Иваново», 2008.- 240 с.
21. Иммунология / Под ред. А.А. Ярилина.- Москва: «ГЭОТАР-Медиа»-2010.- 752 с.
22. Инфекционно-воспалительный фактор в генезе преэклампсии / А.Н. Калакуцкая [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.- Т.17, № 2, приложение 1.- XVII Международный конгресс МАКМАХ по антимикробной терапии.- Москва, 20-25 мая, 2015.- С.29.
23. Карапетян, А.О. Роль внеклеточной ДНК плода в прогнозировании больших акушерских синдромов. А.О. Карапетян, М.О. Баева, О.Р. Баев // Акушерство и гинекология.-2018- № 4.- С.10-5.
24. Клетки иммунной системы матери и клетки трофобласта: «конструктивное сотрудничество» ради достижения совместной цели / Э.К. Айламазян [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук.-2013.- № 11.- С.12-21.
25. Клинико-anamнестические и молекулярно-генетические факторы при различных формах артериальной гипертензии и их взаимосвязь с течением и исходами беременности / В.С. Чулков [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук.-2013.- № 11.- С.22-5.
26. Клинико-anamнестические особенности, плацента и плацентарная площадка при ранней и поздней преэклампсии / З.С. Ходжаева [и др.] // Акушерство и гинекология.-2015.- № 4.- С.25-31.
27. Клинико-морфологические особенности ранней и поздней преэклампсии / Д.Н. Воднева [и др.] // Акушерство и гинекология.-2014.-№ 2.- С.35-40.
28. Клинико-патогенетические особенности ранней и поздней преэклампсии / З.С. Ходжаева [и др.] // Акушерство и гинекология.-2015.- № 1.- С.12-7.

29. Клиническое значение предикторов преэклампсии, возможности прогнозирования / А.Е. Николаева [и др.] // *Акушерство и гинекология.*-2017.- № 11.- С.30-6.
30. Комплексный подход к прогнозированию преэклампсии с учетом молекулярно-генетических и клинических факторов / Н.Е. Кан [и др.] // *Акушерство и гинекология.*-2018.- № 4.- С.35-41.
31. Лемешевская, Т.В. Прогнозирование преэклампсии при проведении расширенного комбинированного пренатального скрининга первого триместра беременности / Т.В. Лемешевская, О.В. Прибушня // *Акушерство и гинекология.*-2017.- № 12.- С.52-9.
32. Макаров, О.В. Значение аутоантител в патогенезе преэклампсии / О.В. Макаров, Ю.А. Богатырев, Н.А. Осипова // *Акушерство и гинекология.*-2012.- № 4.- С.16-21.
33. Макаров, О.В. Преэклампсия и хроническая артериальная гипертензия, Клинические аспекты / О.В. Макаров, О.Н. Ткачева, Е.В. Волкова. Москва: «ГЭОТАР-Медиа»-2010.- 131 с.
34. Материнские и перинатальные исходы при ранней и поздней преэклампсии. / Г.В. Хлестова [и др.] // *Акушерство и гинекология.*-2017.- № 6.- С.41-7.
35. Медведев, Б.И. Клинико-биохимические предикторы развития преэклампсии / Б.И. Медведев, Е.Г. Сюндюкова, С.Л. Сашенков // *Акушерство и гинекология.*-2013.- № 5.- С.30-5.
36. Международная классификация болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). – Режим доступа: www.mkb-10.com.
37. Микро РНК как важные диагностические предшественники развития акушерской патологии / Н.В. Низяева [и др.] // *Вестник Российской академии медицинских наук.*-2015.- № 4 (70).- С.484-92.
38. Митохондрии плаценты в норме и при преэклампсии / П.А. Вишнякова [и др.] // *Акушерство и гинекология.*-2017.- № 5.- С.5-8.

39. Молекулярные детерминанты развития ранней и поздней преэклампсии / З.С. Ходжаева [и др.] // *Акушерство и гинекология.*-2014.- № 6.- С.14-9.
40. Мурашко, А.В. Роль факторов роста в развитии плацентарной недостаточности и преэклампсии / А.В. Мурашко, Ш.М. Магомедова // *Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева.*-2015.- Т.2. № 3.- С.25-8.
41. Мурашко, Л.Е. Роль эндотелина в патогенезе преэклампсии / Л.Е. Мурашко, Л.З. Файзуллин, А.В. Мурашко // *Акушерство и гинекология.*-2013.- № 11.- С.4-8.
42. Нарушение цитокиновой регуляции в патогенезе преэклампсии / Л.А. Трунова [и др.] // *Российский иммунологический журнал.*-2015.- Т.9, № 1 (18).- С.187-9.
43. Неотложные состояния в акушерстве: руководство для врачей / В.Н. Серов [и др.].- Москва: «ГЭОТАР-Медиа»-2011.- 784 с.
44. HELLP-синдром: клинико-лабораторные особенности и дисбаланс плацентарных факторов ангиогенеза. / Т.В. Кирсанова [и др.] // *Акушерство и гинекология.*-2018- № 7.- С.46-55.
45. Новикова, Л.В. Иммунологические изменения у беременных женщин с гестозом второй половины беременности / Л.В. Новикова, А.П. Марусов, Л.Е. Новикова // *Современные методы диагностики и лечения в медицине: Сб. научных трудов.*-Саранск, 2000.- С.171.
46. Обухова, П.С. Специфичность естественных анти-углеводных антител человека в норме: Автореф. дисс. ... канд. хим. наук / П.С. Обухова. – Москва, 2011.- 23 с.
47. Окислительный стресс при преэклампсии и при нормальной беременности. / А.М. Красный [и др.] // *Акушерство и гинекология.*-2016.-№ 5.- С.90-5.
48. Основные показатели здоровья матери и ребенка, деятельность службы охраны детства и родовспоможения в Российской Федерации / Министерство здравоохранения Российской Федерации. Департамент монито-

ринга, анализа и стратегического развития здравоохранения. ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» Минздрава Российской Федерации // Под ред. Е.П. Какорина, В.И. Стародубова.- Москва.- 2018.- 171 с.

49. Патогенетическое обоснование дифференцированного подхода к ведению беременных с артериальной гипертензией и преэклампсией / И.С. Сидорова [и др.] // Акушерство и гинекология.-2013.- № 2.- С.35-40.

50. Плацентарное ложе при преэклампсии / З.С. Ходжаева [и др.] // Акушерство и гинекология.-2013.- № 12.- С.10-5.

51. Поиск воспроизводимых биомаркеров для диагностики преэклампсии / Н.Л. Стародубцева [и др.] // Акушерство и гинекология.-2013.- № 2.- С.10-7.

52. Преэклампсия и эклампсия как причина материнской смертности / М.П. Шувалова [и др.] // Акушерство и гинекология.-2014.- № 8.- С.81-7.

53. Преэклампсия: Руководство для врачей / Под ред. Г.Т. Сухих, Л.Е. Мурашко. - Москва: «ГЭОТАР-Медиа»-2010.- 576 с.

54. Преэклампсия. выбор акушерской тактики ведения / Ю.Э. Доброхотова [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней.-2016.- Т.65, № 2.- С.16-23.

55. Прозоровская, К.Н. Особенности профиля микроРНК при преэклампсии различной степени тяжести: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук / К.Н. Прозоровская. – Москва, 2018.- 29 с.

56. Пролиферативная и миграционная активность клеток трофобласта при преэклампсии / К.Н. Фураева [и др.] // Акушерство и гинекология.- 2015.- № 5.- С.49-55.

57. Репертуары антигликановых антител при физиологической и осложненной беременности / М.М. Зиганшина [и др.] // Российский аллергологический журнал.-2017.- Т.14, № S1.- С.49-51.

58. Роль ангиогенных факторов роста в патогенезе преэклампсии и плацентарной недостаточности / О.В. Макаров [и др.] // Акушерство и гинекология.-2014.- № 12.- С.64-70.

59. Роль маннозосвязывающего лектина в развитии преэклампсии / И.П. Князева [и др.] // Акушерство и гинекология.-2012.- № 4-2.- С.29-32.

60. Роль окислительного стресса в патогенезе преэклампсии / Ф.Б. Кокоева [и др.] // Проблемы репродукции.-2014.- № 4.- С.7-10.

61. Роль системного воспалительного ответа в развитии осложнений беременности и родов / Л.В. Соломатина [и др.] // Российский иммунологический журнал.-2015.- Т.9. № 1 (18).- С.111-113.

62. Роль соотношения растворимой fms-подобной тиро-зинкиназы-1 и плацентарного фактора роста в диагностике преэклампсии при физиологической беременности и беременности после вспомогательных репродуктивных технологий / Т.Ю. Иванец [и др.] // Акушерство и гинекология.-2018.-№ 3.- С.37-43.

63. Серов, В.Н. Преэклампсия / В.Н. Серов, В.В. Ветров, В.А. Войнов. - СПб: «Алина»-2011.- 312 с.

64. Серов, В.Н. Прогностическое значение отношения растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 к плацентарному фактору роста у беременных с преэклампсией. / В.Н. Серов, Н.Е. Кан, В.Л. Тютюнник // Акушерство и гинекология.-2016.- № 6.- С.5-10.

65. Сидорова, И.С. Гестоз или преэклампсия? / И.С. Сидорова, Н.А. Никитина // Российский вестник акушера-гинеколога.-2013.- Т.13, № 4.- С.67-73.

66. Сидорова, И.С. Особенности патогенеза эндотелиоза при преэклампсии / И.С. Сидорова, Н.А. Никитина // Акушерство и гинекология.-2015.- № 1.- С.72-78.

67. Сидорова, И.С. Перспективы лечения преэклампсии / И.С. Сидорова, Н.А. Никитина // Акушерство и гинекология. 2018, №6, С 5-10.

68. Сидорова, И.С. Преэклампсия / И.С. Сидорова.- Москва: «МИА».-2016.- 528 с.
69. Синтез матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов периферическими фагоцитами у беременных с гипертензивными расстройствами / И.А. Панова [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней.-2015.- Т.64, Вып. 3.- С.26-32.
70. Скрининг ранней преэклампсии в I триместре беременности на основе комбинированной оценки материнского сывороточного плацентарного фактора роста и доплерометрии маточных артерий / А.М. Холин [и др.] // Акушерство и гинекология.-2015.- № 5.- С.42-8.
71. Структура акушерской патологии у беременных с преэклампсией / Е.Г. Сюдюкова [и др.] // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Образование, здравоохранение, физическая культура. 2013.- Т.13, № 1.- С.90-5.
72. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови беременных женщин с гестозом / Д.И. Соколов [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней.-2007.- Т.LVI, Вып. 4.- С.17-23.
73. Течение и исходы беременности, осложненной преэклампсией, в зависимости от типа центральной материнской гемодинамики / Д.Л. Гурьев [и др.] // Акушерство и гинекология.-2011.- № 7-2.- С.14-19.
74. Тяжелая преэклампсия и эклампсия – критические состояния для матери и плода / И.С. Сидорова [и др.] // Акушерство и гинекология.-2013.- № 12.- С.34-40.
75. Фролова, О.Г. Статистика преэклампсии и эклампсии при современных параметрах учета рождений / О.Г. Фролова, С.В. Павлович, Т.К. Гребенник // Вестник Российского университета дружбы народов.- Серия: Медицина.-2014.- № 2.- С.70-4.
76. Характеристика зрелости адгезионной способности нейтрофилов при преэклампсии / И.А. Панова [и др.] // Российский иммунологический журнал.-2014.- Т.8. № 3 (17).- С.360-4.

77. Ховхаева, П.А. Современные технологии в диагностике и прогнозировании преэклампсии: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук / П.А. Ховхаева. – Москва, 2018.- 24 с.
78. Ходжаева, З.С. Ранняя и поздняя преэклампсия: парадигмы патофизиологии и клиническая практика / З.С. Ходжаева, А.М. Холин, Е.М. Вихляева // *Акушерство и гинекология*.-2013.- № 10.- С.4-11.
79. Черешнев, В.А. Патофизиология: учебное пособие / В.А. Черешнев, Б.Г. Юшков.- Москва: НП «Центр стратегического партнерства Россия».-2014.- 836 с.
80. Экспрессия инсулиноподобных факторов роста в плаценте при преэклампсии / Е.А. Дубова [и др.] // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*.-2014.- Т.157, № 1.- С.116-20.
81. Ярмыш, Н.В. Эндотелиальная дисфункция и ее регуляторные факторы / Н.В. Ярмыш, Л.Н. Грозная // *Вестник проблем биологии и медицины*.-2014.- Т.2, № 3.- С.37-44.
82. A comparative study of vascular cell adhesion molecule-1 and high-sensitive C-reactive protein in normal and preeclamptic pregnancies / M. Farzadnia [et al.] // *Interv Med Appl Sci*. 2013 Mar; 5 (1): 26-30. doi: 10.1556/IMAS.5.2013.1.5.
83. A competing risks model in early screening for pre-eclampsia / D. Wright [et al.] // *Fetal Diagn Ther*. 2012; 32 (3): 171-8. doi: 10.1159/000338470.
84. A new kind of carbohydrate array, its use for profiling antiglycan antibodies, and the discovery of a novel human cellulose-binding antibody / M. Schwarz [et al.] // *Glycobiology*. 2003 Nov; 13 (11): 749-54.
85. Antibodies in the Pathogenesis of Hypertension / Chan C.T. [et al.] // *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 504045. Published online 2014 Jun 23. doi: 10.1155/2014/504045
86. A prospective cohort study of the value of maternal plasma concentrations of angiogenic and anti-angiogenic factors in early pregnancy and midtrimester in the identification of patients destined to develop preeclampsia / J.P.

Kusanovic [et al.] // *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009 Nov; 22 (11): 1021-38. doi: 10.3109/14767050902994754.

87. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia // *Int J Gynaecol Obs.* 2002; 77 (1): 67-75.

88. Adhesion molecules changes at 20 gestation weeks in pregnancies complicated by preeclampsia / M. Chavarria [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008 Apr; 137 (2): 157-64.

89. Adverse maternal and fetal outcomes and deaths related to preeclampsia and eclampsia in Haiti / N. Raghuraman [et al.] // *Pregnancy Hypertens.* 2014 Oct; 4 (4): 279-86. doi: 10.1016/j.preghy.2014.09.002.

90. Adverse perinatal outcomes and risk factors for preeclampsia in women with chronic hypertension: a prospective study / L.C. Chappell [et al.] // *Hypertension.* 2008 Apr; 51 (4): 1002-9. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.107565.

91. Ahmed, A. New insights into the etiology of preeclampsia: identification of key elusive factors for the vascular complications / A. Ahmed // *Thromb Res.* 2011 Feb; 127 Suppl 3:S72-5. doi: 10.1016/S0049-3848(11)70020-2.

92. Alphonsus, C.S. The endothelial glycocalyx: a review of the vascular barrier / C.S. Alphonsus, R.N. Rodseth // *Anaesthesia.* 2014 Jul; 69 (7): 777-84. doi: 10.1111/anae.12661.

93. American College of Obstetricians and Gynecologists; 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 Nov; 122 (5): 1122-31. doi: 10.1097/01.AOG.0000437382.03963.88.

94. Analysis of the placental tissue transcriptome of normal and preeclampsia complicated pregnancies / E.A. Trifonova [et al.] // *Acta Naturae.* 2014 Apr; 6 (2): 71-83.

95. Angiogenic factors in placentas from pregnancies complicated by fetal growth restriction (Review) / V. Gourvas [et al.] // *Mol Med Rep*. 2012 Jul; 6 (1): 23-7. doi: 10.3892/mmr.2012.898.
96. Antiendothelial cell antibody levels in healthy normotensives with high normal blood pressure / D.P. Papandopoulos [et al.] // *Clin Exp Hypertens*. 2006 Nov; 28 (8): 663-7.
97. Anti-glycan antibodies as biomarkers for diagnosis and prognosis / N. Dotan [et al.] // *Lupus*. 2006; 15 (7): 442-50.
98. Antioxidant status and serum levels of selectins in pre-eclampsia / S. Nasrollahi [et al.] // *J Obstet Gynaecol*. 2015 Jan; 35 (1): 16-8. doi: 10.3109/01443615.2014.935710.
99. Aplin, J.D. Fucose, placental evolution and the glycode / J.D. Aplin, C.J. Jones // *Glycobiology*. 2012 Apr; 22 (4): 470-8. doi: 10.1093/glycob/cwr156.
100. Autoantibodies to endothelial cells in patients with hypertensive disorders during pregnancy / M.M. Ziganshina [et al.] // *Pregnancy Hypertension*. 2018 Apr; 12: 65-70. doi: 10.1016/j.preghy.2018.02.010.
101. Bilodeau, J.F. Review: Maternal and placental antioxidant response to preeclampsia – Impact on vasoactive eicosanoids / J.F. Bilodeau // *Placenta*. 2014 Feb; 35 Suppl: S32-8. doi: 10.1016/j.placenta.2013.11.013.
102. Biomarkers of endothelial cell activation serve as .potential surrogate markers for drug-induced vascular injury / J. Zhang [et al.] // *Toxicol Pathol*. 2010 Oct; 38 (6): 856-71. doi: 10.1177/0192623310378866.
103. Box, G.E.P. An analysis of transformations / G.E.P. Box, D.R. Cox // *J R Stat Soc*, 1964 B 26: 211-252.
104. Brennan, L.J. Vascular Dysfunction in preeclampsia / L.J. Brennan, J.S. Morton, S.T. Davidge // *Microcirculation*. 2014 Jan; 21 (1): 4-14. doi: 10.1111/micc.12079.
105. Bujold, E. Prevention of pre-eclampsia and intrauterine growth restriction with aspirin started in early pregnancy: A meta-analysis / E. Bujold [et al.]

// *Obstet Gynecol.* 2010 Aug; 116 (2 Pt 1): 402-14. doi: 10.1097/AOG.0b013e3181e9322a.

106. Burrows, T.D. Expression of adhesion molecules by endovascular trophoblast and decidual endothelial cells: implications for vascular invasion during implantation / T.D. Burrows, A. King, Y.W. Loke // *Placenta.* 1994 Jan; 15 (1): 21-33.

107. Can the quantity of cell-free fetal DNA predict pre-eclampsia: A systematic review / A. Martin [et al.] // *Prenat Diagn.* 2014 Jul; 34 (7): 685-91. doi: 10.1002/pd.4416.

108. Cardiovascular disease risk factors after early-onset preeclampsia, late-onset preeclampsia, and pregnancy-induced hypertension / J.H. Veerbeek [et al.] // *Hypertension.* 2015 Mar; 65 (3): 600-6. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04850.

109. Cell Signaling Pathways Involved During Invasion and Syncytialization of Trophoblast Cells / S.K. Gupta [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* 2016 Mar; 75 (3): 361-71. doi: 10.1111/aji.12436.

110. Chen, D.B. Human placental microRNAs and preeclampsia / D.B. Chen, W. Wang // *Biol Reprod.* 2013 May 23; 88 (5): 130. doi: 10.1095/biolreprod.113.107805.

111. Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array / A. Szarka [et al.] // *BMC Immunol.* 2010 Dec 2; 11: 59. doi: 10.1186/1471-2172-11-59.

112. Clark, G.F. The role of glycans in immune evasion: the human foetoembryonic defence system hypothesis revisited / G.F. Clark // *Mol Hum Reprod.* 2014 Mar; 20 (3): 185-99. doi: 10.1093/molehr/gat064.

113. Clinical practice patterns on the use of magnesium sulphate for treatment of pre-eclampsia and eclampsia: a multi-country survey / Q. Long [et al.] // *BJOG.* 2017 Nov; 124 (12): 1883-1890. doi: 10.1111/1471-0528.14400.

114. Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: systematic review and meta-analysis of large cohort studies / Bartsch E. [et al.] // *BMJ*. 2016; 353: i1753. Published online 2016 Apr 19. doi: 10.1136/bmj.i1753
115. Clinical risk prediction for pre-eclampsia in nulliparous women: Development of model in international prospective cohort / R.A. North [et al.] // *BMJ*. 2011 Apr 7; 342: d1875. doi: 10.1136/bmj.d1875.
116. Cluster analysis to estimate the risk of preeclampsia in the high-risk Prediction and Prevention of Preeclampsia and Intrauterine Growth Restriction (PREDO) study / P.M. Villa [et al.] // *PLoS One*. 2017 Mar 28; 12 (3): e0174399. doi: 10.1371/journal.pone.0174399.
117. Colvin, R.B. Antibody-mediated renal allograft rejection: diagnosis and pathogenesis / R.B. Colvin // *J Am Soc Nephrol*. 2007 Apr; 18 (4): 1046-56.
118. Comparison of printed glycan array, suspension array and ELISA in the detection of human anti-glycan antibodies / T. Pochechueva [et al.] // *Glycoconj J*. 2011 Dec; 28 (8-9): 507-17. doi: 10.1007/s10719-011-9349-y.
119. Competing risk model in screening for pre-eclampsia by mean arterial pressure and uterine artery pulsatility index at 30-33 weeks' gestation / A. Tayyar [et al.] // *Fetal Diagn Ther*. 2014; 36 (1): 18-27. doi: 10.1159/000360792.
120. Competing risks model in early screening for preeclampsia by biophysical and biochemical markers / R. Akolekar [et al.] // *Fetal Diagn Ther*. 2013; 33 (1): 8-15. doi: 10.1159/000341264.
121. Conrad, K.P. The renal circulation in normal pregnancy and preeclampsia: is there a place for relaxin? / K.P. Conrad, J.M. Davison // *Am J Physiol Renal Physiol*. 2014 May 15; 306 (10): F1121-35. doi: 10.1152/ajprenal.00042.2014.
122. Constantinescu, A.A. Elevated capillary tube hematocrit reflects degradation of endothelial cell glycocalyx by oxidized LDL / A.A. Constantinescu, H. Vink, J.A. Spaan // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001 Mar; 280 (3): H1051-7.
123. Crocker, P.R. Siglecs in the immune system / P.R. Crocker, A. Varki // *Immunology*. 2001 Jun; 103 (2): 137-45.

124. Crocker, P.R. Siglecs, sialic acids and innate immunity / P.R. Crocker, A. Varki // *Trends Immunol.* 2001 Jun; 22 (6): 337-42.
125. Dam, T.K. Maintenance of cell surface glycan density by lectin-glycan interactions: a homeostatic and innate immune regulatory mechanism / T.K. Dam, C.F. Brewer // *Glycobiology.* 2010 Sep; 20 (9): 1061-4. doi: 10.1093/glycob/cwq084.
126. Diagnosis, evaluation, and management of the hypertensive disorders of pregnancy: executive summary / L.A. Magee [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Can.*-2014 Jul; 36 (7): 575-576. doi: 10.1016/S1701-2163(15)30533-8.
127. Early administration of low-dose aspirin for the prevention of severe and mild pre-eclampsia: A systematic review and meta-analysis / S. Roberge [et al.] // *Am J Perinatol.* 2012 Aug; 29 (7): 551-6. doi: 10.1055/s-0032-1310527.
128. Early disturbed placental ischemia and hypoxia creates immune alteration and vascular disorder causing preeclampsia / A. Zarate [et al.] // *Arch Med Res.* 2014 Oct; 45 (7): 519-24. doi: 10.1016/j.arcmed.2014.10.003.
129. Early onset preeclampsia in subsequent pregnancies correlates with early onset preeclampsia in first pregnancy / X.L. Li [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014 Jun; 177: 94-9. doi: 10.1016/j.ejogrb.2014.03.043.
130. Early pregnancy biomarkers in preeclampsia: A systematic review and meta-analysis / P. Wu [et al.] // *Int J Mol Sci.* 2015 Sep 23; 16 (9): 23035-56. doi: 10.3390/ijms160923035.
131. Early pregnancy prediction of pre-eclampsia in nulliparous women, combining clinical risk and biomarkers: The Screening for Pregnancy Endpoints (SCOPE) international cohort study / L.C. Kenny [et al.] // *Hypertension* 2014 Sep; 64 (3): 644-52. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03578.
132. Early pregnancy soluble E-selectin concentrations and risk of preeclampsia / D.M. Carty [et al.] // *J Hypertens.* 2012 May; 30 (5): 954-9. doi: 10.1097/HJH.0b013e328352573b.

133. Early-pregnancy multiple serum markers and second-trimester uterine artery Doppler in predicting pre-eclampsia / B. Thilaganathan [et al.] // *Obstet Gynecol.* 2010 Jun; 115 (6): 1233-8. doi: 10.1097/AOG.0b013e3181dd5137.
134. Effects of anti-endothelial cell antibody in pre-eclampsia on endothelin-1 release from cultured endothelial cells / T. Yamamoto [et al.] // *Immunol Cell Biol.* 1997 Aug; 75 (4): 340-4.
135. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress / L.C. Sánchez-Aranguren [et al.] // *Front Physiol.* 2014 Oct 10; 5: 372. doi: 10.3389/fphys.2014.00372.
136. Erlebacher, A. Immunology of the Maternal-Fetal Interface / A. Erlebacher // *Annu Rev Immunol.* 2013; 31: 387-411. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-100003.
137. Essentials of Glycobiology, 3rd edition / Ed. A. Varki, R.D. Cummings, J.D. Esko, P. Stanley, G.W. Hart, M. Aebi, A.G. Darvill, T. Kinoshita, N.H. Packer, J.H. Prestegard, R.L. Schnaar, P.H. Seeberger. // Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2015-2017. 2017.- 823 p.
138. Expression and function of galectins in the endometrium and at the human feto-maternal interface / U. Jeschke [et al.] // *Placenta.* 2013 Oct; 34 (10): 863-72. doi: 10.1016/j.placenta.2013.07.005.
139. Faas, M.M. Monocytes and macrophages in pregnancy and pre-eclampsia / M.M. Faas, F. Spaans, P. de Vos // *Front Immunol.* 2014 Jun 30 ; 5: 298. doi: 10.3389/fimmu.2014.00298.
140. Fernandez-Borja, M. The regulation of leucocyte transendothelial migration by signaling events / M. Fernandez-Borja, J.D. van Buul, P.L. Hordijk // *Cardiovasc Res.* 2010 May 1; 86 (2): 202-10. doi: 10.1093/cvr/cvq003.
141. Fetal hemoglobin in pre-eclampsia: A new causative factor, a tool for prediction/diagnosis and a potential target for therapy / S.R. Hansson, M. Gram, B. Akerstrom // *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2013 Dec; 25 (6): 448-55. doi: 10.1097/GCO.0000000000000022.

142. Fetal Medicine Foundation Second-Trimester Screening Group. Prediction of pre-eclampsia by uterine artery Doppler imaging: Relationship to gestational age at delivery and small-for-gestational age / C.K. Yu [et al.] // *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008 Mar; 31 (3): 310-3. doi: 10.1002/uog.5252.

143. Fetal sex and the circulating renin-angiotensin system during early gestation in women who later develop preeclampsia or gestational hypertension / S.D. Sykes [et al.] // *J Hum Hypertens.* 2014 Feb; 28 (2): 133-9. doi: 10.1038/jhh.2013.51.

144. First trimester maternal serum PIGF, free β -hCG, PAPP-A, PP-13, uterine artery Doppler and maternal history for the prediction of preeclampsia / G. Di Lorenzo [et al.] // *Placenta.* 2012 Jun; 33 (6): 495-501. doi: 10.1016/j.placenta.2012.03.003.

145. First trimester screening for early and late preeclampsia based on maternal characteristics, biophysical parameters, and angiogenic factors / F. Crovetto [et al.] // *Prenat Diagn.* 2015 Feb; 35 (2): 183-91. doi: 10.1002/pd.4519.

146. First-trimester prediction of preeclampsia in nulliparous women at low risk / L. Myatt [et al.] // *Obstet Gynecol.* 2012 Jun; 119 (6): 1234-42. doi: 10.1097/AOG.0b013e3182571669.

147. First-trimester screening for trisomies 21, 18 and 13 by ultrasound and biochemical testing / D.Wright [et al.] // *Fetal Diagn Ther.* 2014; 35 (2): 118-26. doi: 10.1159/000357430.

148. Folate metabolism gene polymorphisms MTHFR C677T and A1298C and risk for preeclampsia: a meta-analysis / X. Wu [et al.] // *J Assist Reprod Genet.* 2015 May; 32 (5): 797-805. doi: 10.1007/s10815-014-0408-8.

149. Galactose alpha 1-3 galactose and anti-alpha galactose antibody in normal and pathological pregnancies / Y. Christiane [et al.] // *Placenta.* 1992 Sep-Oct; 13 (5): 475-87

150. Galley, H.F. Physiology of the endothelium / H.F. Galley, N.R. Webster // *Br J Anaesth.* 2004 Jul; 93 (1): 105-13.

151. Gaudet, A.D. Extracellular matrix regulation of inflammation in the healthy and injured spinal cord / A.D. Gaudet, P.G. Popovich // *Exp Neurol*. 2014 Aug; 258: 24-34. doi: 10.1016/j.expneurol.2013.11.020.
152. Gene expression in chorionic villous samples at 11 weeks of gestation in women who develop preeclampsia later in pregnancy: implications for screening / A. Farina [et al.] // *Prenat Diagn*. 2009 Nov; 29 (11): 1038-44. doi: 10.1002/pd.2344.
153. Genetic variants in pre-eclampsia: a meta-analysis / A.J. Buurma [et al.] // *Hum Reprod Update*. 2013 May-Jun; 19 (3): 289-303. doi: 10.1093/humupd/dms060.
154. Glycocalyx and endothelial (dys) function: from mice to men / B.M. van den Berg [et al.] // *Pharmacol Rep*. 2006; 58 Suppl: 75-80.
155. Goulopoulou, S. Molecular mechanisms of maternal vascular dysfunction in preeclampsia / S. Goulopoulou, S.T. Davidge // *Trends Mol Med*. 2015 Feb; 21 (2): 88-97. doi: 10.1016/j.molmed.2014.11.009.
156. Guimond M.J. Engraftment of bone marrow from severe combined immunodeficient (SCID) mice reverses the reproductive deficits in natural killer cell-deficient tg epsilon 26 mice / M.J. Guimond, B. Wang, B.A. Croy // *J. Exp. Med*. 1998 Jan 19;187 (2): 217-23.
157. Han, T. Differential expression profile of microRNAs in human placentas from preeclamptic pregnancies vs. normal pregnancies / T. Han, X.M. Zhu, I.L. Sargent // *Am J Obstet Gynecol*. 2009 Jun; 200 (6): 661. e1-7. doi: 10.1016/j.ajog.2008.12.045.
158. Haram, K. Genetic aspects of preeclampsia and the HELLP syndrome / K. Haram, J. H. Mortensen, B. Nagy // *J Pregnancy*. 2014; 2014: 910751. doi: 10.1155/2014/910751.
159. Harrington, K. Early screening for pre-eclampsia and intrauterine growth restriction / *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011 May; 37 (5): 623-4. doi: 10.1002/uog.9018.

160. Heil, M. Danger signals – damaged-self recognition across the tree of life / M. Heil, W.G. Land // *Front Plant Sci.* 2014 Oct 31; 5: 578. doi: 10.3389/fpls.2014.00578.
161. Henry, C.B. TNF-alpha increases entry of macromolecules into luminal endothelial cell glycocalyx / C.B. Henry, B.R. Duling // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000 Dec; 279 (6): H2815-23.
162. Hod, T. Molecular Mechanisms of Preeclampsia / T. Hod, A.S. Cerdeira, S.A. Karumanchi // *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015 Aug 20; 5 (10). pii: a023473. doi: 10.1101/cshperspect.a023473.
163. Hofmeyr R. Preeclampsia in 2017: Obstetric and Anaesthesia Management / R. Hofmeyr, M. Matjila, R. Dyer // *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2017 Mar; 31 (1): 125-138. doi: 10.1016/j.bpa.2016.12.002.
164. Hromadnikova, I. Extracellular nucleic acids in maternal circulation as potential biomarkers for placental insufficiency / I. Hromadnikova // *DNA Cell Biol.* 2012 Jul; 31 (7): 1221-32. doi: 10.1089/dna.2011.1530.
165. Hunt, B. J. Endothelial cell activation. A central pathophysiological process / B.J. Hunt, K.M. Jurd // *BMJ.* 1998 May 2; 316 (7141): 1328-9.
166. Identification of target antigens of anti-endothelial cell antibodies in healthy individuals: A proteomic approach / A. Servettaz [et al.] // *Proteomics.* 2008 Mar; 8 (5): 1000-8. doi: 10.1002/pmic.200700794.
167. Immunology in hypertension, preeclampsia, and target-organ damage / S. Verlohren [et al.] // *Hypertension.* 2009 Sep; 54 (3): 439-43. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.120253.
168. Increased levels of macrophage colony-stimulating factor in the placenta and blood in preeclampsia / M. Hayashi [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* 2002 Jan; 47 (1): 19-24.
169. Increased serum concentrations of circulating glycocalyx components in HELLP syndrome compared to healthy pregnancy: an observational study / K.F. Hofmann-Kiefer [et al.] // *Reprod Sci.* 2013 Mar; 20 (3): 318-25. doi: 10.1177/1933719112453508.

170. Inflammation and pregnancy / J.R. Challis [et al.] // *Reprod Sci.* 2009 Feb; 16 (2): 206-15. doi: 10.1177/1933719108329095.
171. Inflammation in pregnancy: its roles in reproductive physiology, obstetrical complications, and fetal injury / R. Romero [et al.] // *Nutr Rev.* 2007 Dec; 65 (12 Pt 2): S194-202.
172. Inflammation, immunity, and hypertension / D.G. Harrison [et al.] // *Hypertension.* 2011 Feb; 57 (2): 132-40. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.163576.
173. Inflammatory cytokines in the pathophysiology of hypertension during pre-eclampsia / B.D. Lamarca [et al.] // *Curr Hypertens Rep.* 2007 Dec; 9 (6): 480-5.
174. Inflammatory disturbances in preeclampsia: relationship between maternal and umbilical cord blood / C. Catarino [et al.] // *J Pregnancy.* 2012; 2012: 684384. doi: 10.1155/2012/684384.
175. Is human placenta proteoglycan remodeling involved in pre-eclampsia? / M. Warda [et al.] // *Glycoconj J.* 2008 Jul; 25 (5): 441-50.
176. John, J.A. An alternative family of transformations / J.A. John, N.R. Draper // *Appl Stat*, 1980 29: 190-197.
177. Jones, C.J. Reproductive glycogenetics – a critical factor in pregnancy success and species hybridization / C.J Jones, J.D. Aplin // *Placenta.* 2009 Mar; 30 (3): 216-9. doi: 10.1016/j.placenta.2008.12.005.
178. Karumanchi, S.A. Preeclampsia pathogenesis: «triple a rating» – autoantibodies and antiangiogenic factors / S.A. Karumanchi, M.D. Lindheimer // *Hypertension.* 2008 Apr; 51 (4): 991-2. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.100735.
179. Kaufmann, P. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia / P. Kaufmann, S. Black, B. Huppertz // *Biol Reprod.* 2003 Jul; 69 (1): 1-7.

180. Kenny, L.C. Risk factors and effective management of preeclampsia / L.C. Kenny, F.P. McCarthy // *Integr Blood Press Control*. 2015 Mar 3; 8: 7-12. doi: 10.2147/IBPC.S50641.
181. Kumagai, R. Role of glycocalyx in flow-induced production of nitric oxide and reactive oxygen species / R. Kumagai, X. Lu, G.S. Kassab // *Free Radic Biol Med*. 2009 Sep 1; 47 (5): 600-7. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.034.
182. Lala, P.K. Mechanisms of trophoblast migration, endometrial angiogenesis in preeclampsia: The role of decorin / P.K. Lala, P. Nandi // *Cell Adh Migr*. 2016 Mar 3; 10 (1-2): 111-25. doi: 10.1080/19336918.2015.1106669.
183. Lamarca, B. Endothelial dysfunction. An important mediator in the pathophysiology of hypertension during preeclampsia / B. Lamarca // *Minerva Ginecol*. 2012 Aug; 64 (4): 309-20.
184. Laresgoiti-Servitje, E. A leading role for the immune system in the pathophysiology of preeclampsia / E. Laresgoiti-Servitje // *J Leukoc Biol*. 2013 Aug; 94 (2): 247-57. doi: 10.1189/jlb.1112603.
185. Leukocytes of pregnant women with small-for-gestational age neonates have a different phenotypic and metabolic activity from those of women with preeclampsia / G. Oggé [et al.] // *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2010 Jun; 23 (6): 476-87. doi: 10.3109/14767050903216033.
186. Limited evidence for calcium supplementation in preeclampsia prevention: a meta-analysis and systematic review / R. Tang [et al.] // *Hypertens Pregnancy*. 2015 May; 34 (2): 181-203. doi: 10.3109/10641955.2014.988353.
187. Lipowsky, H.H. Shedding of the endothelial glycocalyx in arterioles, capillaries, and venules and its effect on capillary hemodynamics during inflammation / H.H. Lipowsky, L. Gao, A. Lescanic // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011 Dec; 301 (6): H2235-45. doi: 10.1152/ajpheart.00803.2011.
188. Lipowsky, H.H. The endothelial glycocalyx as a barrier to leukocyte adhesion and its mediation by extracellular proteases / H.H. Lipowsky // *Ann Bio-med Eng*. 2012 Apr; 40 (4): 840-8. doi: 10.1007/s10439-011-0427-x.

189. Lisonkova, S. Incidence of preeclampsia: risk factors and outcomes associated with early-versus late-onset disease / S. Lisonkova, K.S. Joseph // *Am J Obstet Gynecol.* 2013 Dec; 209 (6): 544. e1-544. e12. doi: 10.1016/j.ajog.2013.08.019.
190. Lisowska, E. Diversity of natural anti- α -galactosyl antibodies in human serum / E. Lisowska, M. Duk // *Adv Exp Med Biol.* 2011; 705: 571-83. doi: 10.1007/978-1-4419-7877-6_30.
191. Loss of the endothelial glycocalyx links albuminuria and vascular dysfunction / A.H. Salmon [et al.] // *J Am Soc Nephrol.* 2012 Aug; 23 (8): 1339-50. doi: 10.1681/ASN.2012010017.
192. Lyall, F. Priming and remodelling of human placental bed spiral arteries during pregnancy: a review / F. Lyall // *Placenta.* 2005 Apr; 26 Suppl A: S31-6.
193. Lyall, F. The vascular endothelium in normal pregnancy and pre-eclampsia / F. Lyall, I.A. Greer // *Rev Reprod.* 1996 May;1(2):107-16.
194. Maternal genotype and severe pre-eclampsia: A HuGE review / F.M. Fong [et al.] // *Am J Epidemiol.* 2014 Aug 15; 180 (4): 335-45. doi: 10.1093/aje/kwu151.
195. Maternal plasma levels of endothelial dysfunction mediators including AM, CGRP, sICAM-1 and tHcy in pre-eclampsia / X. Fei [et al.] // *Adv Clin Exp Med.* 2012 Sep-Oct; 21 (5): 573-9.
196. Maternal preeclampsia and neonatal outcomes / C.H. Backes [et al.] // *J Pregnancy.* 2011; 2011: 214365. doi: 10.1155/2011/214365.
197. Maternal serum cytokines at 30-33 weeks in the prediction of preeclampsia / B. Mosimann [et al.] // *Prenat Diagn.* 2013 Sep; 33 (9): 823-30. doi: 10.1002/pd.4129.
198. Maynard, S.E. Angiogenic factors and preeclampsia / S.E. Maynard, S.A. Karumanchi // *Semin Nephrol.* 2011 Jan; 31 (1): 33-46. doi: 10.1016/j.semnephrol.2010.10.004.

199. Metabolomics and first-trimester prediction of early-onset preeclampsia / R.O. Bahado-Singh [et al.] // *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012 Oct; 25 (10): 1840-7. doi: 10.3109/14767058.2012.680254.
200. Mor, G. The immune system in pregnancy: a unique complexity / G. Mor, I. Cardenas // *Am J Reprod Immunol.* 2010 Jun; 63 (6): 425-33. doi: 10.1111/j.1600-0897.2010.00836.x.
201. Mudjari, N.S. Management of hypertension in pregnancy / N.S. Mudjari, N. Samsu // *Acta Med Indones.* 2015 Jan; 47 (1): 78-86.
202. Mulivor, A. W. Inflammation – and ischemia-induced shedding of venular glycocalyx / A.W. Mulivor, H.H. Lipowsky // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004 May; 286 (5): H1672-80.
203. Murphy, M.S. Maternal Circulating microRNAs and Preeclampsia: Challenges for Diagnostic Potential / M.S. Murphy, C. Tyade, G N. Smith // *Mol Diagn Ther.* 2017 Feb; 21 (1): 23-30. doi: 10.1007/s40291-016-0233-0.
204. Mutter, W.P. Molecular mechanisms of preeclampsia / W.P. Mutter, S.A. Karumanchi // *Microvasc Res.* 2008 Jan; 75 (1): 1-8.
205. Myatt, L. Vascular biology of preeclampsia / L. Myatt, R.P. Webster // *J Thromb Haemost.* 2009 Mar; 7 (3): 375-84. doi: 10.1111/j.1538-7836.2008.03259.x.
206. Naljayan, M.V. New developments in the pathogenesis of preeclampsia / M.V. Naljayan, S.A. Karumanchi // *Adv Chronic Kidney Dis.* 2013 May; 20 (3): 265-70. doi: 10.1053/j.ackd.2013.02.003.
207. National Collaborating Centre for Women's and Children's Health (UK). Hypertension in Pregnancy: The Management of Hypertensive Disorders During Pregnancy; RCOG Press: London, UK, 2010.
208. Natural Antibodies Against Sialoglycans / N. Shilova [et al.] // *Top. Curr. Chem.*-2015; 366: 169-81. doi: 10.1007/128_2013_4692013.
209. Natural anti-endothelial cell antibodies / A. Servettaz [et al.] / *Autoimmun Rev.* 2008 Jun; 7 (6): 426-30. doi: 10.1016/j.autrev.2008.03.010.

210. Naturally occurring anti-alpha-galactosyl antibodies: relationship to xenoreactive anti-alpha-galactosyl antibodies / W/ Parker [et al.] // *Glycobiology*. 1999 Sep; 9 (9): 865-73.

211. New gestational phase-specific cutoff values for the use of the soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio as a diagnostic test for preeclampsia / S. Verlohren [et al.] // *Hypertension*. 2014 Feb; 63 (2): 346-52. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01787.

212. New gestational phase-specific cutoff values for the use of the soluble fms-like tyrosine kinase-1/placental growth factor ratio as a diagnostic test for preeclampsia / S. Verlohren [et al.] // *Hypertension*. 2014 Feb; 63 (2): 346-52. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01787.

213. Nicolaides, K.H. Turning the pyramid of prenatal care / K.H. Nicolaides // *Fetal Diagn Ther*. 2011; 29 (3): 183-96. doi: 10.1159/000324320.

214. Normal and abnormal transformation of the spiral arteries during pregnancy / J. Espinoza [et al.] // *J Perinat Med*. 2006; 34 (6): 447-58.

215. Normal human IgG prevents endothelial cell activation induced by TNFalpha and oxidized low-density lipoprotein atherogenic stimuli / N. Ronda [et al.] // *Clin Exp Immunol*. 2003 Aug; 133 (2): 219-26.

216. Obukhova, P. Normal human serum contains high levels of anti-Gal alpha 1-4GlcNAc antibodies / P. Obukhova, R. Rieben, N. Bovin // *Xenotransplantation*. 2007 Nov; 14 (6): 627-35.

217. O'Gorman, N. The Use of Ultrasound and other Markers for Early Detection of Preeclampsia / N. O'Gorman, K.H. Nicolaides, L.C. Poon // *Womens Health (Lond)*. 2016; 12 (2): 199-207. doi: 10.2217/whe.15.95.

218. Oligosaccharides of hyaluronan are potent activators of dendritic cells / C.C. Termeer [et al.] // *J Immunol*. 2000 Aug 15; 165 (4): 1863-70.

219. Oliveira-Ferrer, L. Role of protein glycosylation in cancer metastasis / L. Oliveira-Ferrer, K. Legler, K. Milde-Langosch. // *Semin Cancer Biol*. 2017 Jun; 44: 141-152. doi: 10.1016/j.semcancer.2017.03.002

220. One percent of human circulating B lymphocytes are capable of producing the natural anti-Galantibody / U. Galili [et al.] // *Blood*. 1993 Oct 15; 82 (8): 2485-93/

221. Optimized real-time quantitative PCR measurement of male fetal DNA in maternal plasma / B. Zimmermann [et al.] // *Clin Chem*. 2005 Sep; 51 (9): 1598-604.

222. Paré, E. Clinical Risk Factors for Preeclampsia in the 21st Century / E. Paré, S. Parry, T. McElrath // *Obstet Gynecol*. 2014 Oct; 124 (4): 763-70. doi: 10.1097/AOG.0000000000000451.

223. Perfusion with magnesium sulfate increases sFlt-1 secretion only in the fetal side of placenta of women with preeclampsia / T. Eshkoli [et al.] // *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2013 Jan; 26 (2): 116-22. doi: 10.3109/14767058.2012.722725.

224. Placental apoptosis in preeclampsia, intrauterine growth retardation, and HELLP syndrome: an immunohistochemical study with caspase-3 and bcl-2 / U. Cali [et al.] // *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2013; 40 (1): 45-8.

225. Placental DNA methylation at term reflects maternal serum levels of INHA and FN1, but not PAPP_A, early in pregnancy / S.L. Wilson [et al.] // *BMC Med Genet*. 2015 Dec 11; 16: 111. doi: 10.1186/s12881-015-0257-z.

226. Placental pathology suggesting that preeclampsia is more than one disease / D.B. Nelson [et al.] // *Am J Obstet Gynecol*. 2014 Jan; 210 (1): 66. e1-7. doi: 10.1016/j.ajog.2013.09.010.

227. Placental syncytiotrophoblast maintains a specific type of glycocalyx at the fetomaternal border: the glycocalyx at the fetomaternal interface in healthy women and patients with HELLP syndrome / K.F. Hofmann-Kiefer [et al.] // *Reprod Sci*. 2013 Oct; 20 (10): 1237-45. doi: 10.1177/1933719113483011.

228. Placental trophoblast cell differentiation: physiological regulation and pathological relevance to preeclampsia / L. Ji [et al.] // *Mol Aspects Med*. 2013 Oct; 34 (5): 981-1023. doi: 10.1016/j.mam.2012.12.008.

229. Placental volume and three-dimensional power Doppler analysis in prediction of pre-eclampsia and small for gestational age between Week 11 and 13 weeks and 6 days of gestation / M. Odeh [et al.] // *J Prenat Diagn.* 2011 Apr; 31 (4): 367-71. doi: 10.1002/pd.2697.
230. Plasma adenosine levels and P-selectin expression on platelets in pre-eclampsia / Y. Yoneyama [et al.] // *Obstet Gynecol.* 2001 Mar; 97 (3): 366-70.
231. Polsani, S. Emerging New Biomarkers of Preeclampsia / S. Polsani, E. Phipps, B. Jim // *Adv Chronic Kidney Dis.* 2013 May; 20 (3): 271-9. doi: 10.1053/j.ackd.2013.01.001.
232. Poon L.C. Early prediction of pre-eclampsia / L.C. Poon, K.H. Nicolaides // *Obstet Gynecol Int.* 2014; 2014: 297397. doi: 10.1155/2014/297397.
233. Poston, L. Endothelial dysfunction in preeclampsia / L. Poston // *Pharmacol Rep.* 2006; 58 Suppl: 69-74.
234. Powe, C.E. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease / C.E. Powe, R.J. Levine, S.A. Karumanchi // *Circulation.* 2011 Jun 21; 123 (24): 2856-69. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.853127.
235. Prediction of early and late preeclampsia from maternal characteristics, uterine artery Doppler and markers of vasculogenesis during first trimester of pregnancy / M. Parra-Cordero [et al.] // *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013 May; 41 (5): 538-44. doi: 10.1002/uog.12264.
236. Prediction of early, intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks / R. Akolekar [et al.] // *Prenat Diagn.* 2011 Jan; 31 (1): 66-74. doi: 10.1002/pd.2660.
237. Prediction of pre-eclampsia by mean arterial pressure at 11-13 and 20-24 weeks' gestation / D. Gallo [et al.] // *Fetal Diagn Ther.* 2014; 36 (1): 28-37. doi: 10.1159/000360287.
238. Predictive value of routine circulating soluble endothelial cell adhesion molecule measurements during pregnancy / T. Krauss [et al.] // *Clin Chem.* 2002 Sep; 48 (9): 1418-25.

239. Predictive value of the sFlt1/PlGF ratio for the diagnosis of preeclampsia in high-risk patients / S. Husse [et al.] // *Z Geburtshilfe Neonatol.* 2014 Feb; 218 (1): 34-41. doi: 10.1055/s-0034-1368713.
240. Predictors of neonatal outcome in women with severe pre-eclampsia or eclampsia between 24 and 33 weeks' gestation / A.G. Witlin [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* 2000 Mar; 182 (3): 607-11.
241. Pre-eclampsia / E.A. Steegers [et al.] // *Lancet.* 2010 Aug 21; 376 (9741): 631-44. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60279-6.
242. Preeclampsia in high risk women is characterized by risk groupspecific abnormalities in serum biomarkers / T.D. Metz [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* 2014 Nov; 211 (5): 512.e1-6. doi: 10.1016/j.ajog.2014.04.027.
243. Pregnancy: tolerance and suppression of immune responses / A. Leber [et al.] // *Methods Mol Biol.* 2011; 677: 397-417. doi: 10.1007/978-1-60761-869-0_25.
244. Processing and analysis of serum antibody binding signals from Printed Glycan Arrays for diagnostic and prognostic applications / M.I. Vuskovic [et al.] // *Int J Bioinform Res Appl.* 2011; 7 (4): 402-26. doi: 10.1504/IJBRA.2011.043771.
245. Proteomic analysis of human placental syncytiotrophoblast microvesicles in preeclampsia / S. Baig [et al.] // *Clin Proteomics.* 2014 Nov 19; 11 (1): 40. doi: 10.1186/1559-0275-11-40.
246. Rabelink, T.J. The glycocalyx--linking albuminuria with renal and cardiovascular disease / T.J. Rabelink, D. de Zeeuw // *Nat Rev Nephrol.* 2015 Nov; 11 (11): 667-76. doi: 10.1038/nrneph.2015.162.
247. Rabinovich, G.A. Regulatory circuits mediated by lectin-glycan interactions in autoimmunity and cancer / G.A. Rabinovich, D.O. Croci // *Immunity.* 2012 Mar 23; 36 (3): 322-35. doi: 10.1016/j.immuni.2012.03.004
248. Raghupathy, R. Cytokines as key players in the pathophysiology of preeclampsia / R. Raghupathy // *Med Princ Pract.* 2013; 22 Suppl 1: 8-19. doi: 10.1159/000354200.

249. Rai, A. Development of the hemochorial maternal vascular spaces in the placenta through endothelial and vasculogenic mimicry / A. Rai, J.C. Cross // *Dev Biol*. 2014 Mar 15; 387 (2): 131-41. doi: 10.1016/j.ydbio.2014.01.015
250. Ramma, W. Is inflammation the cause of preeclampsia? / W. Ramma, A. Ahmed // *Biochem Soc Trans*. 2011 Dec; 39 (6): 1619-27. doi: 10.1042/BST20110672.
251. Rana, S. Angiogenic factors in diagnosis, management, and research in pre-eclampsia / S. Rana, S.A. Karumanchi, M.D. Lindheimer // *Hypertension*. 2014 Feb; 63 (2): 198-202. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02293.
252. Recent advances in understanding of preeclampsia / Y. Bdolah [et al.] // *Croat Med J*. 2005 Oct; 46 (5): 728-36.
253. Recent advances in the understanding of the pathophysiology of pre-eclampsia / J.P. Warrington [et al.] // *Hypertension*. 2013 Oct; 62 (4): 666-73. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.00588.
254. Redirecting reproductive immunology research toward pregnancy as a period of temporary immune tolerance / N. Gleicher, V.A.Kushnir, D.H. Barad // *J Assist Reprod Genet*. 2017 Apr; 34 (4): 425-430. doi: 10.1007/s10815-017-0874-x.
255. Redman, C. Pre-eclampsia, the placenta and the maternal systemic inflammatory response--a review / C. Redman, I.L. Sargent // *Semin.Nephrol.*-2004.-Vol.24, № 6.- P.565-570.
256. Redman, C.W. Preeclampsia, biomarkers, syncytiotrophoblast stress, and placental capacity / C.W. Redman, A.C. Staff // *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Oct; 213 (4 Suppl): S9.e1, S9-11. doi: 10.1016/j.ajog.2015.08.003.
257. Reduction in the severity of early onset severe preeclampsia during gestation may be associated with changes in endothelial cell activation: A pathological case report / Q. Chen [et al.] // *Hypertens Pregnancy*. 2016; 35 (1): 32-41. doi: 10.3109/10641955.2015.1100309.
258. Review: where is the maternofetal interface? / L.W. Chamley [et al.] // *Placenta*. 2014 Feb; 35 Suppl: S74-80. doi: 10.1016/j.placenta.2013.10.014.

259. Rheological and physiological consequences of conversion of the maternal spiral arteries for uteroplacental blood flow during human pregnancy / G.J. Burton [et al.] // *Placenta*. 2009 Jun; 30 (6): 473-82. doi: 10.1016/j.placenta.2009.02.009.
260. Risk factors for new-onset late postpartum preeclampsia in women without a history of preeclampsia / C.A. Bigelow [et al.] // *Am J Obstet Gynecol*. 2014 Apr; 210 (4): 338.e1-338.e8. doi: 10.1016/j.ajog.2013.11.004.
261. Risk factors of pre-eclampsia/eclampsia and its adverse outcomes in low- and middle-income countries: a WHO secondary analysis / V.L. Bilano [et al.] // *PLoS One*. 2014 Mar 21; 9 (3): e91198. doi: 10.1371/journal.pone.0091198.
262. Roberts, J.M. If we know so much about pre-eclampsia, why haven't we cured the disease? / J.M. Roberts, M.J. Bell // *J Reprod Immunol*. 2013 Sep; 99 (1-2): 1-9. doi: 10.1016/j.jri.2013.05.003.
263. Roberts, J.M. The perplexing pregnancy disorder preeclampsia: what next? / J.M. Roberts // *Physiol Genomics*. 2018 Jun 1; 50 (6): 459-467. doi: 10.1152/physiolgenomics.00017.2018.
264. Roberts, J.M. The placenta in preeclampsia / J.M. Roberts, C. Escudero // *Pregnancy Hypertens*. 2012 Apr 1; 2 (2): 72-83.
265. Saito, S. A review of the mechanism for poor placentation in early-onset preeclampsia: the role of autophagy in trophoblast invasion and vascular remodeling / S. Saito, A. Nakashima // *J Reprod Immunol*. 2014 Mar; 101-102: 80-88. doi: 10.1016/j.jri.2013.06.002.
266. Saito, S. Th1/Th2 balance in preeclampsia / S. Saito, M. Sakai // *J Reprod Immunol*. 2003 Aug; 59 (2): 161-73.
267. Salmon, A.H. Endothelial glycocalyx dysfunction in disease: albuminuria and increased microvascular permeability / A.H. Salmon, S.C. Satchell // *J Pathol*. 2012 Mar; 226 (4): 562-74. doi: 10.1002/path.3964.
268. Savaj, S. An overview of recent advances in pathogenesis and diagnosis of preeclampsia / S. Savaj, N. Vaziri // *Iran J Kidney Dis*. 2012 Sep; 6 (5): 334-8.

269. Scazzocchio E. Contemporary prediction of pre-eclampsia / E. Scazzocchio, F. Figueras // *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2011 Apr; 23 (2): 65-71. doi: 10.1097/GCO.0b013e328344579c.
270. Schnaar, R.L. Glycobiology simplified: diverse roles of glycan recognition in inflammation / R.L. Schnaar // *J Leukoc Biol*. 2016 Jun; 99 (6): 825-38. doi: 10.1189/jlb.3RI0116-021R.
271. Scott, D.W. Endothelial heterogeneity and adhesion molecules N-glycosylation: implications in leukocyte trafficking in inflammation / D.W. Scott, R.P. Patel // *Glycobiology*. 2013 Jun; 23 (6): 622-33. doi: 10.1093/glycob/cwt014.
272. Screening models using multiple markers for early detection of late-onset pre-eclampsia in low-risk pregnancy / H.J. Park [et al.] // *BMC Pregnancy Childbirth*. 2014 Jan 20; 14: 35. doi: 10.1186/1471-2393-14-35.
273. Serum placental growth factor in the three trimesters of pregnancy: Effects of maternal characteristics and medical history / A. Tsiakkas [et al.] // *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015 May; 45 (5): 591-8. doi: 10.1002/uog.14811.
274. Severe preeclampsia: are hemostatic and inflammatory parameters associated? / M.B. Pinheiro [et al.] // *Clin Chim Acta*. 2014 Jan 1; 427: 65-70. doi: 10.1016/j.cca.2013.09.050.
275. Shamshirsaz, A.A. Preeclampsia, hypoxia, thrombosis, and inflammation / A.A. Shamshirsaz, M. Paidas, G. Krikun // *J Pregnancy*. 2012; 2012: 374047. doi: 10.1155/2012/374047.
276. Shoenfeld, Y. Classification of anti-endothelial cell antibodies into antibodies against microvascular and macrovascular endothelial cells: the pathogenic and diagnostic implications / Y. Shoenfeld // *Cleve Clin J Med*. 2002; 69 Suppl 2: SII65-7.
277. Sibai B. Pre-eclampsia / B. Sibai, G. Dekker, M. Kupferminc // *Lancet*. 2005 Feb 26-Mar 4; 365 (9461): 785-99.
278. Sibai, B.M. Maternal and uteroplacental hemodynamics for the classification and prediction of preeclampsia / B.M. Sibai // *Hypertension*. 2008 Nov; 52 (5): 805-6. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.119115.

279. Similarities and differences between the risk factors for gestational hypertension and preeclampsia: A population based cohort study in south China / X. Li [et al.] // *Pregnancy Hypertens.* 2016 Jan; 6 (1): 66-71. doi: 10.1016/j.preghy.2015.11.004.
280. Soluble adhesion molecule profile in normal pregnancy and preeclampsia / T. Chaiworapongsa [et al.] // *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002 Jul; 12 (1): 19-27.
281. Soluble adhesion molecules as markers for sepsis and the potential pathophysiological discrepancy in neonates, children and adults / R. Zonneveld [et al.] // *Crit Care.* 2014 Feb 18; 18 (2): 204. doi: 10.1186/cc13733.
282. Soluble adhesion molecules: marker of pre-eclampsia and intrauterine growth restriction / G. Coata [et al.] // *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002 Jul; 12 (1): 28-34.
283. Staff, A.C. Circulating predictive biomarkers in preeclampsia / A.C. Staff // *Pregnancy Hypertens.* 2011 Jan; 1 (1): 28-42. doi: 10.1016/j.preghy.2010.10.012.
284. Syncytiotrophoblast vesicles show altered micro-RNA and haemoglobin content after ex-vivo perfusion of placentas with haemoglobin to mimic preeclampsia / T. Cronqvist [et al.] // *PLoS One.* 2014 Feb 27; 9 (2): e90020. doi: 10.1371/journal.pone.0090020.
285. Systemic inflammatory priming in normal pregnancy and preeclampsia: the role of circulating syncytiotrophoblast microparticles / S.J. Germain [et al.] // *J Immunol.* 2007 May 1; 178 (9): 5949-56.
286. The «Great Obstetrical Syndromes» are associated with disorders of deep placentation / I. Brosens [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* 2011 Mar; 204 (3): 193-201. doi: 10.1016/j.ajog.2010.08.009.
287. The early-onset preeclampsia is associated with MTHFR and FVL polymorphisms / S. Salimi [et al.] // *Arch Gynecol Obstet.* 2015 Jun; 291 (6): 1303-12. doi: 10.1007/s00404-014-3561-5.

288. The endothelial glycocalyx: a potential barrier between health and vascular disease / M. Nieuwdorp [et al.] // *Curr Opin Lipidol.* 2005 Oct; 16 (5): 507-11.
289. The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization / S. Reitsma [et al.] // *Pflugers Arch.* 2007 Jun; 454 (3): 345-59.
290. The influence of fluid management on outcomes in preeclampsia: a systematic review and meta-analysis / T. Pretorius [et al.] // *Int J Obstet Anesth.* 2018 May; 34: 85-95. doi: 10.1016/j.ijoa.2017.12.004.
291. The Pre-Eclampsia Ontology: A Disease Ontology Representing the Domain Knowledge Specific to Pre-Eclampsia / S. Mizuno [et al.] // *PLoS One.* 2016 Oct 27; 11 (10): e0162828. doi: 10.1371/journal.pone.0162828.
292. The role of endothelial glycocalyx components in mechanotransduction of fluid shear stress / M.Y. Pahakis [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun.* 2007 Mar 30; 355 (1): 228-33.
293. The role of heparanase and the endothelial glycocalyx in the development of proteinuria / M. Garsen [et al.] // *Nephrol Dial Transplant.* 2014 Jan; 29 (1): 49-55. doi: 10.1093/ndt/gft410.
294. Trophoblast invasion and oxygenation of the placenta: measurements versus presumptions / B. Huppertz [et al.] // *J Reprod Immunol.* 2014 Mar; 101-102: 74-79. doi: 10.1016/j.jri.2013.04.003.
295. Trophoblastic remodeling in normal and preeclamptic pregnancies: implication of cytokines / A. Kharfi [et al.] // *Clin Biochem.* 2003 Jul; 36 (5): 323-31.
296. Tumor-associated glycans and their role in gynecological cancers: accelerating translational research by novel high-throughput approaches / T. Pochechueva [et al.] // *Metabolites.* 2012 Nov 14; 2 (4): 913-39. doi: 10.3390/metabo2040913.
297. Use of angiogenic factors (sFlt-1/PlGF ratio) to confirm the diagnosis of preeclampsia in clinical routine: first experience / H. Stepan [et al.] // *Z Geburtshilfe Neonatol.* 2010 Dec; 214 (6): 234-8. doi: 10.1055/s-0030-1262827.

298. Validation of metabolomic models for prediction of early-onset preeclampsia / R.O. Bahado-Singh, [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* 2015 Oct; 213 (4): 530.e1-530. e10. doi: 10.1016/j.ajog.2015.06.044.

299. Van Kooyk, Y. Protein-glycan interactions in the control of innate and adaptive immune responses / Y. Van Kooyk, G.A. Rabinovich // *Nat Immunol.* 2008 Jun; 9 (6): 593-601. doi: 10.1038/ni.f.203.

300. Varki, A. Colloquium paper: uniquely human evolution of sialic acid genetics and biology / A. Varki // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 May 11; 107 Suppl 2: 8939-46. doi: 10.1073/pnas.0914634107.

301. Varki, A. Since there are PAMPs and DAMPs, there must be SAMPs? Glycan «self-associated molecular patterns» dampen innate immunity, but pathogens can mimic them / A. Varki // *Glycobiology.* 2011 Sep; 21 (9): 1121-4.

302. Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe pre-eclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome / Y. Zhou [et al.] // *Am J Pathol.* 2002 Apr; 160 (4): 1405-23.

303. Vascular inflammation in central nervous system diseases: adhesion receptors controlling leukocyte-endothelial interactions / B. Rossi [et al.] // *J Leukoc Biol.* 2011 Apr; 89 (4): 539-56. doi: 10.1189/jlb.0710432.

304. Wataganara, T. Fetal cell-free nucleic acids in the maternal circulation: new clinical applications / T. Wataganara, D.W. Bianchi // *Ann N Y Acad Sci.* 2004 Jun; 1022: 90-9.

305. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review / K.S. Khan [et al.] // *Lancet.* 2006 Apr 1;367(9516):1066-1074. doi: 10.1016/S0140-6736(06)68397-9

306. WHO Recommendations for Prevention and Treatment of Pre-Eclampsia and Eclampsia; Geneva: World Health Organization; 2011. WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee.

307. Wright, R.D. Glycobiology of leukocyte trafficking in inflammation // R.D. Wright, D. Cooper // *Glycobiology*. 2014 Dec; 24 (12): 1242-51. doi: 10.1093/glycob/cwu101
308. Zhang, J. Sphingosine signalling regulates decidual NK cell angiogenic phenotype and trophoblast migration / J. Zhang, C.E. Dunk, S.J. Lye // *Hum Reprod*. 2013 Nov; 28 (11): 3026-37. doi: 10.1093/humrep/det339.
309. Zhong, X.Y. The levels of circulatory cell free fetal DNA in maternal plasma are elevated prior to the onset of preeclampsia / X.Y. Zhong, W. Holzgreve, S. Hahn // *Hypertens Pregnancy*. 2002; 21 (1): 77-83.
310. Zhong, Y. First-trimester assessment of placenta function and the prediction of pre-eclampsia and intrauterine growth restriction / Y. Zhong, M. Tuuli, A.O. Odibo // *Prenat Diagn*. 2010 Apr; 30 (4): 293-308. doi: 10.1002/pd.2475.