

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Ставропольский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

ДУБОВОЙ АЛЕКСАНДР АЛЕКСАНДРОВИЧ

ТЯЖЕЛАЯ ПРЕЭКЛАМПСИЯ:
ОСОБЕННОСТИ АНГИОГЕННОГО СТАТУСА

14.01.01 — акушерство и гинекология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор Аксененко Виктор Алексеевич

Научный консультант:
доктор медицинских наук,
профессор Милованов Андрей Петрович

Ставрополь – 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ПРЕЭКЛАМПСИЯ И РОЛЬ АНГИОГЕННЫХ ФАКТОРОВ В ЕЁ ПАТОГЕНЕЗЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)...	11
1.1. Эпидемиология, классификация и особенности патогенеза преэклампсии.....	11
1.1.1. Эпидемиология преэклампсии.....	11
1.1.2. Современная классификация преэклампсии.....	12
1.1.3. Патогенез преэклампсии.....	17
1.2. Биомаркеры – потенциальные предикторы развития преэклампсии.....	22
1.2.1. Проангиогенные факторы роста: сосудисто-эндотелиальный фактор роста.....	24
1.2.2. Антиангиогенные факторы: растворимая fms-подобная тирозинкиназа.....	27
1.2.3. Растворимые молекулы адгезии.....	29
1.2.4. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы.....	31
ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ЖЕНЩИН И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	38
2.1. Общая характеристика обследованного контингента женщин	38
2.2. Клинические методы исследования.....	40
2.3. Оценка ангиогенного статуса обследуемых.....	44
2.4. Статистическая обработка полученных данных.....	48
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	51
3.1. Клиническая характеристика обследованных женщин с тяжелой преэклампсией.....	51

3.2. Особенности течения и исход настоящей беременности.....	57
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНЫХ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	64
4.1. Результаты исследования ангиогенного статуса у беременных изучаемых групп.....	64
4.2. Гистологическое и иммуногистохимическое исследование.....	83
4.2.1. Исследование плацент женщин с доношенной неосложненной беременностью (группа сравнения).....	83
4.2.1.1. Функциональная морфология плацент при нормальной беременности.....	83
4.2.1.2. Взаимоотношения MMPs и их антагонистов TIMPs в нормальной доношенной плаценте.....	93
4.2.2. Исследование плацент женщин с тяжелой ПЭ (основная группа).....	96
4.2.2.1. Патоморфология плацент при тяжелой преэклампсии.....	96
4.2.2.2. Взаимоотношения MMPs и TIMPs в плацентах у женщин с тяжелой ПЭ.....	100
ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	109
ВЫВОДЫ.....	125
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	127
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	129

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ПЭ	преэклампсия
ФГБОУ ВО СтГМУ	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Ставропольский государственный медицинский университет
ГБУЗ СК СККПЦ	Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Ставропольского края Ставропольский краевой клинический перинатальный центр
VEGF-A	сосудистый эндотелиальный фактор роста-A
PlGF	плацентарный фактор роста
sFlt-1	растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1
sICAM-1	межклеточная молекула адгезии-1
sVCAM-1	сосудистая молекула адгезии-1
MMP-2	матриксная металлопротеиназа 2 типа
MMP-9	матриксная металлопротеиназа 9 типа
MMPs	матриксные металлопротеиназы
TIMP-1	тканевой ингибитор матриксной металлопротеиназы-1
TIMP-2	тканевой ингибитор матриксной металлопротеиназы-2
TIMPs	тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ
ИЦТ	интерстициальный трофобласт
ДК	децидуальные клетки
АТ	антитела
МГК	многоядерные гигантские клетки
ИФА	иммуноферментный анализ
ИВЛ	искусственная вентиляция легких
ОКС	операция кесарево сечение
ЗРП	задержка роста плода

МППК	маточно-плодово-плацентарный кровоток
ФПН	фетоплацентарная недостаточность
АГ	артериальная гипертензия
САД	систолическое артериальное давление
ДАД	диастолическое артериальное давление
ИМТ	индекс массы тела
НК-клетки	натуральные киллеры
АлТ	аланинаминотрансфераза
АсТ	аспартатаминотрансфераза
ПТВ	протромбиновое время
ТВ	тромбиновое время
АЧТВ	активированное частичное тромбoplastиновое время

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Преэклампсия (ПЭ) по данным зарубежных авторов осложняет течение от 2 до 8% всех беременностей [30, 79, 110, 113, 123, 185, 198, 205, 217, 233], при этом тяжелая форма развивается в каждом десятом случае [161, 212]. Ежегодно в мире регистрируется 8,5 миллионов случаев ПЭ [59]. В разных странах в структуре материнской смертности ПЭ и ее осложнения ежегодно занимают II-IV место [59], а в России с 2014 года – II место, уступая только экстрагенитальной патологии [31]. Установлено, что за последнее десятилетие материнская летальность в мире при ПЭ снизилась практически вдвое: с 110 тысяч в 1999 году до 60 тысяч в 2014, известно, что ПЭ каждый год является причиной смерти 500 тысяч новорожденных [75, 114, 122, 123, 138, 193, 202, 240]. В то же время в России наметилась отчетливая тенденция к увеличению встречаемости тяжелых форм этого осложнения беременности: тяжелая ПЭ в 2011 году зарегистрирована в 27,14 случаях на 1000 родов, в 2012 году – в 30,28 на 1000 родов [69]. ПЭ остается одной из основных причин заболеваемости новорожденных (640-780‰) и перинатальной смертности (18-30‰) [6]. Таким образом, ПЭ по-прежнему представляет одну из самых серьезных и, к сожалению, нерешенных проблем современного акушерства.

Современные клинические, лабораторные и экспериментальные методы исследования направлены на изучение механизмов возникновения и развития этого акушерского осложнения. Предложено множество теорий, однако и сегодня приходится соглашаться с Jeffcoate Т. N. и Бакшеевым Н. С., назвавшими 50 и 40 лет назад соответственно ПЭ «болезнью теорий» и «болезнью загадок и предположений», как и в 30-х годах прошлого века большинство современных статей, посвященных изучению ПЭ, начинается с утверждения, что полностью причины развития этого заболевания неизвестны [8, 53, 105, 150, 162, 223, 232, 234]. Диагностические критерии по-прежнему основаны на неспецифических клинических и лабораторных признаках и

своевременное точное распознавание развития ПЭ является важной задачей современных исследователей [95].

Степень разработанности темы. В ходе многочисленных исследований показано, что при дисфункции эндотелия, имеющей место при ПЭ и приводящей к осложнениям на уровне сосудов плаценты, изменяется активность факторов, синтезируемых эндотелием, либо являющихся его элементами. Кроме того, повышенное внимание уделяется факторам, участвующим в инвазии трофобласта на рубеже I-II триместров беременности. Существует много сообщений об изменении при ПЭ уровня про- и антиангиогенных факторов, играющих центральную роль в процессе имплантации, пролиферации клеток, ангиогенезе. Однако в подавляющем большинстве работ внимание уделяется отдельным факторам без учета содержания других соединений, участвующих в патогенезе обсуждаемого осложнения беременности.

В результате проработки научной литературы нами не найдено информации о взаимосвязи этих факторов между собой, о корреляции с основными проявлениями ПЭ после ее манифестации. Зависимость же концентрации в крови от их экспрессии тканью плаценты по данным литературы также представлена фрагментарно и, немаловажно отметить, без привязки к отдельным типам клеток плаценты.

В соответствии с изложенным, **цель** настоящего исследования – совершенствование методов оценки тяжелой преэклампсии путем определения показателей ангиогенного статуса беременной женщины.

В соответствии с целью определены **задачи исследования:**

1. Изучить современные особенности анамнеза, течения беременности и перинатальных исходов при тяжелой ПЭ у жительниц Ставропольского края.

2. Выявить при тяжелой ПЭ и при беременности, протекающей без гипертензивных осложнений, закономерности содержания про- и антиангиогенных факторов, а также показателей эндотелиальной дисфункции.

3. Определить зависимость между степенью выраженности клинических проявлений тяжелой преэклампсии и уровнем маркеров ангиогенного статуса в сыворотке крови беременной женщины.

4. Исследовать при тяжелой преэклампсии особенности ангиогенеза на основании морфологических и иммуногистохимических исследований экспрессии матриксных металлопротеиназ 2 и 9 типов и их ингибиторов.

Научная новизна исследования. Впервые при тяжелой ПЭ одновременно изучены уровни VEGF-A, sFlt-1, ICAM-1, VCAM-1, MMP-2, TIMP-2 и MMP-9 в крови беременных с определением их взаимной корреляции и связи с клиникой ПЭ.

Получены приоритетные данные о морфологических и иммуногистохимических особенностях строения плацент при тяжелой ПЭ. Расширены представления о патогенезе ПЭ.

Получены данные об экспрессии MMPs 2 и 9 типов и их ингибиторов отдельными инвазивными типами клеток при тяжелой ПЭ. Впервые определено значимое повышение концентрации TIMP-2 в сыворотке крови пациенток с тяжелой ПЭ, что коррелирует с выраженной его экспрессией структурами плаценты, в первую очередь интерстициальным цитотрофобластом (ИЦТ).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. При тяжелой ПЭ у жительниц Ставропольского края, несмотря на исключение отеков из «больших» критериев, в большинстве случаев (78,28%) отечный синдром имеет место, а в 58,2% выявляется классическая триада симптомов.

2. Тяжелая ПЭ характеризуется значительным преобладанием концентрации антиангиогенных факторов. Наиболее показательное повышение сывороточного уровня sFlt-1 (в 4 раза), отношения sFlt-1/VEGF-A (в 6 раз), а также повышение уровня TIMP-2.

3. У беременных с тяжелой ПЭ изменение содержания про- и антиангиогенных факторов не всегда коррелирует с их локальной экспрессией

структурами плаценты. В сыворотке крови ряд факторов (ММР-2 и -9) подавляются специфическими супрессорами и определяются в неактивном состоянии. Положительная корреляция TIMP-2, продуцируемого интерстициальным цитотрофобластом и оттуда попадающего в кровоток, с содержанием этого фактора в сыворотке крови может являться основой выделения новых дополнительных критериев диагностики тяжелой ПЭ.

Теоретическая и практическая значимость. На основании полученных данных нами доказано, что за последние годы имеется некоторое снижение частоты постановки диагноза «тяжелая ПЭ», что скорее всего связано с введением новой классификации ПЭ и применением новых критериев диагностирования этого осложнения. Результаты иммуноферментного, морфологического и иммуногистохимического анализа расширили представление о роли ключевых факторов ангиогенеза и имплантации в прогрессировании ПЭ и их связи с ее исходами. Полученные данные позволяют оптимизировать тактику ведения пациенток с тяжелой ПЭ.

Внедрение результатов исследования. Основные результаты исследования вошли в отчет по научно-исследовательской работе на кафедре акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет». Материалы исследований используются в учебном процессе при проведении лабораторно-практических занятий, чтении лекций студентам, клиническим ординаторам, врачам-интернам, а также врачам ГБУЗ СК «Ставропольский краевой клинический перинатальный центр».

Апробация результатов и публикации. Основные положения работы доложены, обсуждены и получили положительную оценку: на научно-практической конференции «Здоровье женщины – здоровье нации» (Кисловодск, 2011), Итоговых конференциях молодых ученых Ставропольского края «Инновации молодых ученых» (Ставрополь, 2011, 2012, 2013), VIII межрегиональной научно-практической конференции «Все о здоровье женщины» (Кисловодск, 2013), межрегиональной научно-

практической конференции "Охрана здоровья женщины", (Ставрополь, 2014), II региональной научно-практической конференции "Приоритетные задачи охраны репродуктивного здоровья и пути их решения" (Ростов-на-Дону, 2014), VIII общероссийском семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Сочи, 2015), межрегиональном научно-практическом форуме «Петровские чтения» (Ставрополь, 2016), научно-практических конференциях «Современные подходы к профилактике и терапии поздних осложнений беременности» и «Актуальные вопросы акушерства и гинекологии» (Ставрополь, 2016).

Основные положения диссертации опубликованы в 15 научных работах, 4 из них – в изданиях, входящих в перечень ВАК РФ («Доктор.Ру. Гинекология. Эндокринология», «Медицинский вестник Северного Кавказа», «Вестник Российского государственного медицинского университета»), 1 англоязычная работа, опубликованная в международном журнале, индексируемом базой данных Scopus.

Диссертация изложена на 153 страницах и включает в себя введение, обзор литературы, описание клинической характеристики и методик исследования пациентов, главы с изложением и обсуждением результатов, полученных при клиническом исследовании, заключение, выводы, практические рекомендации, библиографический список и список принятых сокращений.

Библиография содержит 81 отечественный и 161 зарубежный источник. В иллюстративный материал работы вошли 25 таблиц и 32 рисунка.

ГЛАВА 1. ПРЕЭКЛАМПСИЯ И РОЛЬ АНГИОГЕННЫХ ФАКТОРОВ В ЕЁ ПАТОГЕНЕЗЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Эпидемиология, классификация и особенности патогенеза преэклампсии

1.1.1. Эпидемиология преэклампсии

Согласно сообщениям отечественных специалистов, частота встречаемости ПЭ в Российской Федерации достигает 16-27% [3, 11, 190, 58]. В Ставропольском крае этот показатель несколько ниже: 13,7% в 2010 году; 8,8% - в 2014 году, из них на долю тяжелых форм пришлось 1,88% случаев (в 2014 году) [42]. Имеются данные, что в случае эклампсии летальный исход имеет место в 1,8%, а у 35% женщин отмечаются серьезные осложнения [72, 79, 87, 174, 178]. По сообщениям Всемирной организации здравоохранения в развитых странах на долю гипертензивных осложнений, явившихся причиной материнской смертности, приходится до 30% всех факторов [34, 120, 139, 143]. Наряду с недонашиванием беременности, задержкой роста плода и преждевременной отслойкой плаценты, ПЭ относится к так называемым «большим акушерским синдромам» (Great Obstetrical Syndromes), связанным с патологией плацентации, которая обусловлена различной степенью нарушения ремоделирования и обструкции спиральных артерий в переходной зоне и в миометрии [95, 119, 136, 182, 224]. Более 75% всех материнских потерь определяются четырьмя причинами: ПЭ, экстрагенитальными заболеваниями, кровотечениями, и септическими осложнениями, причем нередко последние две обусловлены именно тяжелым течением ПЭ [57, 138]. Следует отметить, что вместе с акушерскими кровотечениями и инфекционными осложнениями ПЭ составляет так называемую «смертельную триаду», которая является причиной подавляющего числа материнских смертей [241].

1.1.2. Современная классификация преэклампсии

Различающиеся данные о встречаемости рассматриваемого осложнения беременности в разных странах до последнего времени не всегда отражали реальную картину распространения ПЭ. По-видимому, это было связано с отсутствием единой, принятой всеми классификации. Большинство существовавших классификаций ПЭ по степени тяжести (шкалы Виттлингера Г., Слепых А. С. и Репиной М.А., Гоеске С. в модификации Савельевой Г. М.) были основаны, в первую очередь, на уровне протеинурии, артериальной гипертензии и выраженности отеков. При этом не учитывалось все многообразие патологических изменений, происходящих в организме женщины при преэклампсии, а также мало внимания уделялось наличию и степени тяжести соматических заболеваний [37, 58]. Анализ литературы показывает, что одно и то же осложнение беременности, сопровождающееся либо классической триадой Цангемейстера (гипертония, протеинурия, отеки), либо двумя из этих симптомов, называется самыми разнообразными терминами: гестационная гипертензия, гестоз, преэклампсия, токсемия, что не позволяет определить частоту его тяжелых форм [50, 56]. В учреждениях, использующих современную классификацию (в соответствии с Федеральными рекомендациями, рекомендованным к применению Министерством здравоохранения Российской Федерации в 2013 году), частота тяжелых форм составляет 33,4-40,5%; в лечебных учреждениях, в которых используется классическая отечественная классификация, она составляет 1,14-6% [76].

До последнего времени в России общепринятой была классификация Гоеске С. в модификации Савельевой Г. М., объединившая в себе как клинические формы заболевания в соответствии с Международной классификацией болезней X пересмотра, утвержденной 43-й сессией ВОЗ в 1989 году и используемой отечественными специалистами с 1999 года (которые сами по себе вносили разночтение в оценку степени тяжести ПЭ),

так и учитывающая принципы отечественного акушерства: гестоз легкий, средний, тяжелый, преэклампсия, эклампсия [5, 33].

Приходится отметить, что критерии, включенные в эту шкалу, не всегда позволяли достоверно оценить степень тяжести ПЭ. В ней не учитывались исходный уровень артериального давления (АД), показатели, отражающие состояние гемостаза, функции печени, почек, головного мозга [65]. При этом имело место частое несовпадение клинической картины, лабораторных и, инструментальных данных с истинной тяжестью состояния пациентки, что в итоге могло привести к несвоевременному оказанию помощи [61].

Согласно Федеральным клиническим рекомендациям «Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия», ПЭ является одним из компонентов понятия «артериальная гипертензия в период беременности» [14]. По своей сути предложенная современная классификация является несколько видоизмененной, предложенной Рабочей группой по изучению высокого артериального давления у беременных в 2000 году [20].

Артериальная гипертензия (АГ) – это состояние, характеризующееся повышенным уровнем АД. Критериями АГ у беременных являются: систолическое АД (САД) > 140 мм рт. ст. и/или диастолическое АД (ДАД) > 90 мм рт. ст. При этом необходимо подтвердить повышение АД, как минимум, двумя измерениями с интервалом не менее 4 часов. АГ встречается у 7-29% беременных, в 70% она является проявлением преэклампсии, а в 30% – это хроническая гипертензия (ХАГ), которая может быть как первичной (гипертоническая болезнь, эссенциальная АГ) – 15-20% всех случаев АГ при беременности, так и вторичной (симптоматическая) – 10-15% случаев АГ [211, 213].

Классификация АГ в период беременности [14, 89, 120, 240]:

1. Хроническая АГ – это артериальная гипертензия, диагностированная до наступления беременности или до 20-й недели. Хроническая АГ – это гипертоническая болезнь или вторичная

(симптоматическая) гипертензия. В период беременности у пациенток с хронической АГ адекватно оценить степень повышения уровня АД не удастся, так как в I и II триместрах обычно отмечается физиологическое снижение уровня АД.

2. Гестационная АГ – индуцированное беременностью повышение уровня АД, впервые зафиксированное после 20-й недели беременности и не сопровождающееся протеинурией. Диагноз «гестационная АГ» может быть выставлен только в период беременности. При сохранении повышенного АД к концу 12 недели после родов диагноз «гестационная АГ» меняется на диагноз «хроническая АГ» и уточняется после дополнительного обследования в соответствии с общепринятой классификацией АГ (гипертоническая болезнь или вторичная АГ). Имеются данные, что у половины беременных с гестационной АГ при прогрессировании развивается клиника ПЭ [241].

3. Преэклампсия – специфичный для беременности синдром, возникающий *de novo* после 20-й недели беременности, в основе которого лежит увеличение проницаемости сосудистой стенки с последующим развитием волевических и гемодинамических нарушений, что проявляется артериальной гипертензией в сочетании с протеинурией, нередко отеками и полиорганной/полисистемной дисфункцией/недостаточностью. ПЭ развивается лишь после начала полноценного функционирования плаценты, что было подтверждено при гистологическом исследовании: клетки трофобласта обнаруживались в кровотоке и легких беременных, умерших от ПЭ [106].

Диагностическим критерием преэклампсии является систолическое артериальное давление более 140 мм рт. ст. и/или диастолическое артериальное давление выше 90 мм рт. ст. при двукратном измерении с интервалом 6 часов [113]. Ранее показателем преэклампсии считалось также повышение САД на 30 мм рт.ст., ДАД на 15 мм рт.ст. по сравнению с исходным. Но в настоящее время считается, что и при неосложненной беременности может иметь место подобное повышение. Однако беременные с

таким повышением АД должны быть обследованы более интенсивно, поскольку в редких случаях описываются случаи эклампсии при АД менее 140/90 мм рт. ст., а внезапное повышение давления, также известное как «дельта гипертензии», должно расцениваться как критерий ПЭ, даже если АД менее 140/90 мм рт. ст. [104]. Имеются данные, что около 20% женщин с эклампсией имеют АД в пределах 140-160/90-100 мм рт. ст., у 25% пациенток эклампсия развивается на фоне «гестоза легкой степени» [213, 220].

Диагностический порог протеинурии составляет 300 мг в суточной моче. Определение белка в моче, собранной за 24 часа является наиболее точным методом определения протеинурии («золотой стандарт»), потому что определение белка в разовой порции мочи может давать ложноположительный результат, связанный с неправильным забором мочи, попаданием выделений в мочу из влагалища, возможной бактериурией [211]. Следует отметить, что наличие отеков не является диагностическим критерием ПЭ (при физиологически протекающей беременности частота отеков достигает 60%), однако при оценке степени ее тяжести имеет значение [14].

Предлагается выделение ПЭ умеренно выраженной, тяжелой, а также ПЭ, развившейся на фоне хронической АГ (в отечественной классификации предлагаются термины «чистая» и сочетанная ПЭ, на долю последней по различным данным приходится от 70 до 86%) [29]. Сочетанная ПЭ характеризуется более ранним началом, более тяжёлым и резистентным к медикаментозной терапии течением, чаще всего развиваются на фоне ожирения, артериальной гипертензии, хронических заболеваний почек, эндокринопатий [36, 58, 234]. Кроме того, выделяют преэклампсию с ранним началом («раннюю»), клинические проявления которой появляются с 20 (а по некоторым данным с 18) по 27-34 недели гестации и позднюю ПЭ [46, 116, 147]. В большинстве публикаций именно срок 34 недели указывается в качестве референсного, поскольку коррелирует с нарушением плацентации в ранние сроки [190]. ПЭ, начавшаяся до 32-34 недель гестации, встречается в

13-40% [74, 211, 212, 214], считается, что это тяжелая ПЭ, при которой наиболее высок процент перинатальной и материнской заболеваемости и смертности [15, 57, 160, 191]. Этот вариант течения заболевания ассоциируется с задержкой роста плода, патологическим плодово-маточным кровотоком по данным ультразвуковой доплерометрии, малым размером плаценты к моменту родов, более высокой частотой индуцированных преждевременных родов, неонатальной заболеваемости и смертности. Развитие ранней ПЭ связано с нарушением инвазии трофобласта, незавершенной трансформацией спиральных маточных артерий, дезадаптацией иммунной системы, повышением уровня маркеров эндотелиальной дисфункции. При ПЭ, развившейся до 24 недель беременности, HELLP-синдром имеет место в 61,5%, эклампсия развивается в 19%, отек легких 16%, а перинатальная смертность достигает 81% [12].

Эклампсия – состояние, при котором в клинических проявлениях ПЭ преобладают поражения головного мозга, сопровождаемые судорожным синдромом, который не может быть объяснен другими причинами, и следующим после него периодом разрешения. По данным европейских исследователей частота встречаемости эклампсии варьирует от 1 случая на 1600 родов (Нидерланды) до 1:2500 (Ирландия) [124, 228].

По мнению большинства специалистов, предшествующее эклампсии состояние правильно называть «преэклампсия» независимо от степени тяжести, поскольку судороги могут возникнуть внезапно и при «гестозе» легкой и средней степени тяжести (в соответствии со старой классификацией), что отражает нелинейную скорость прогрессирования патологического процесса [58].

1.1.3. Патогенез преэклампсии

Изучение этиологии и патогенеза ПЭ остается одной из проблем современного акушерства. Установлено, что ПЭ чаще встречается у молодых и нерожавших женщин (от 3 до 10%) [113]. У беременных с предстоящими повторными родами риск возникновения рассматриваемого осложнения беременности составляет 1,4-4% [185]. Примечательно, что на большую частоту встречаемости ПЭ у первобеременных впервые обратили внимание еще более 300 лет назад [113]. Однако, несмотря на то, что у женщин с предстоящими повторными родами ПЭ развивается реже, у них при ее развитии повышается риск антенатальной гибели плода [93]. Возрастные женщины подвержены большему риску развития хронической АГ с присоединившейся ПЭ. Результаты анализа тяжелых форм ПЭ и данные мультицентровых исследований в качестве факторов риска выделяют также отягощенный семейный анамнез, предшествующую эндотелиальную дисфункцию (хроническая гипертензия, сахарный диабет, заболевание печени и почек, аутоиммунные заболевания и тромбофилии), наступление беременности с помощью современных репродуктивных технологий (экстракорпоральное оплодотворение, стимуляция овуляции) [159, 194]. Кроме того, на заболеваемость во всем мире заметно влияет расовая и этническая принадлежность (по сравнению с представительницами европеоидной расы в 2 раза увеличивается риск у афроамериканок и женщин стран Азии), генетическая предрасположенность, а также экологические и социально-экономические факторы [22]. В многочисленных исследованиях доказана прямая зависимость между риском развития ПЭ и весом беременной. Установлено, что при индексе массы тела (ИМТ) более 30 кг/м², частота встречаемости ПЭ возрастает в 5,3 раз по сравнению с женщинами с нормальным весом [195, 230]. Риску развития ПЭ также подвержены женщины, имеющие ПЭ при предыдущих беременностях [171, 196].

Многоплодная беременность также является фактором риска развития ПЭ. У женщин с двойней частота преэклампсии выше более чем в 2,5 раза, чем при одноплодной беременности и достигает 6-31% [189].

Интересно отметить, что у курящих риск развития гипертензивных осложнений несколько ниже во время беременности, чем у некурящих. Предположительно это связано с влиянием веществ, содержащихся в табачном дыме, на образование проангиогенных и антиангиогенных факторов, играющих одну из ключевых ролей в патогенезе ПЭ. Имеются данные, что курение активирует выработку плацентарного адреномедулина – пептида, обладающего гипотензивным действием [215].

В настоящее время считается, что ПЭ – это генетически детерминированное, мультифакториальное заболевание, проявляющееся недостаточностью процессов адаптации материнского организма к новым условиям существования, возникающих с развитием беременности, пусковым механизмом в развитии которого является эндотелиальная дисфункция [2, 4, 194, 199, 209]. Можно проследить развитие теорий и переход их с органного уровня трактовки этиологии (нейрогенная, гормональная, почечная) до клеточного и молекулярного (генетическая, иммунологическая) [113].

На основании большого числа исследований на настоящий момент можно выделить 4 основных этиологических компонента развития ПЭ:

1. Аномальная плацентация с инвазией цитотрофобласта на недостаточную глубину;
2. Иммунологическая составляющая, выражающаяся в нарушении толерантности между материнскими, плацентарными и эмбриональными тканями;
3. Нарушение адаптации беременной к изменениям в сердечно-сосудистой системе, имеющими место при нормальной беременности;
4. Генетические факторы, включая наследование предрасполагающих генов и эпигенетическое наследование [241].

Неоспоримой является роль плаценты в развитии ПЭ, которая начала обсуждаться исследователями еще 100 лет назад [184]. В качестве пускового механизма заболевания можно рассматривать нарушение взаимодействия инвазивного цитотрофобласта и материнских факторов, приводящее к неполноценной физиологической трансформации стенок спиральных артерий, нарушению кровоснабжения плаценты в виде чередования ее ишемии и реперфузии, а также к генерализации и чрезмерной выраженности оксидативного стресса и системного воспалительного ответа [16, 125, 221]. Оксидативный стресс вызывает нарушение фосфолипидного состава мембран тромбоцитов, что способствует их активации и повышению агрегационной способности, замыкая патологический круг «тромбоциты-эндотелий». Это приводит к повышенному потреблению тромбоцитов и развитию относительной или абсолютной тромбоцитопении [72].

Измерения маточного кровотока вне беременности показали, что его скорость в маточной артерии составляет примерно 45 мл в минуту, в то время как при доношенной беременности общий маточный кровоток достигает 750 мл/мин, что свидетельствует о его почти 17-кратном повышении. Конвертация малокалиберных сосудов матки в ширококалиберные при беременности связана с вневорсинчатым инвазивным (промежуточным) трофобластом [156].

Раннее ремоделирование стенки артерий (интерстициальная инвазия трофобласта) включает трофобластнезависимую и трофобластзависимую фазы [237]. Более выраженные изменения в области плацентарного ложа отмечаются в период второй фазы, характеризующейся миграцией инвазивного трофобласта в децидуальную оболочку, а затем примерно с 8-й недели беременности в прилегающий миометрий. Адекватный ангиогенез ворсинчатого дерева плаценты и ворсин хориона является решающим условием для дальнейшего развития плаценты и эмбриона [51, 106]. После этого на 15-18 неделях гестации наступает II этап интенсивной инвазии трофобласта в миометральные сегменты артерий, в просвете которых появляются клетки трофобласта, проникающие в стенку между

эндотелиальными клетками. В толще стенки сосудов откладывается фибриноидный матрикс – продукт секреции трофобласта, а эндотелиальная выстилка замещается трофобластической. Особенностью плацентации у человека является принятие клетками трофобласта эндотелиального фенотипа – «эндотелиальная мимикрия» [2].

Основы преэклампсии закладываются именно в этот момент, происходит недостаточность второй волны инвазии цитотрофобласта. В результате стенка спиральных артерий сохраняет миоэпителиальный слой, и, как следствие, сосуды реагируют на действие вазоконстрикторных агентов, что приводит к эпизодам ишемии плаценты [90, 111, 170, 183, 209]. В норме физиологическим изменениям подвержены до 96% спиральных артерий матки, при ПЭ же должную модификацию проходят лишь 10% [16]. В исследованиях показано, что наружный диаметр спиральных артерий при патологической плацентации в 2 раза меньше, чем он должен быть при нормальной беременности [113].

В ответ на ишемию начинается активная выработка плацентарных, в том числе антиангиогенных факторов и медиаторов воспаления, которые, как принято полагать, вызывают повреждение эндотелиоцитов [125, 200, 222]. Когда компенсаторные механизмы кровообращения себя исчерпывают, плацента с помощью прессорных агентов начинает активно «подстраивать» под себя артериальное давление беременной, добиваясь тем самым временного усиления кровообращения. Возникающий конфликт между прессорными агентами плаценты и депрессорными механизмами организма женщины результируется дисфункцией эндотелия [58]. Ей способствуют активация перекисного окисления липидов, повышение активности фосфолипаз, нейрогомонов (эндотелин, ацетилхолин, катехоламины), тромбоксана, снижение активности ингибитора протеаз α_2 -макроглобулина, наличие врожденных дефектов гемостаза [4, 13]. В результате активации эндотелия он приобретает проатерогенный и провоспалительный фенотип, характеризующийся повышенной экспрессией молекул адгезии и иницированием воспалительного патологического пути [55]. При этом у

одних пациенток отмечается нарушение монослоя эндотелиоцитов на отдельных участках эндотелия, при более тяжелых формах – разрушение митохондрий, клеточных органелл, вакуолизация, вплоть до тотального слущивания эндотелиоцитов («деэндотелизация») с потерей рецептивности, фетотипических и функциональных свойств эндотелия [59]. Имеются данные, что дисфункция эндотелия, развивающаяся при беременности и являющаяся предпосылкой к возникновению ПЭ, сохраняется на протяжении всей последующей жизни и повышает риск развития хронической артериальной гипертензии, сахарного диабета, ишемической болезни сердца, инсультов [108, 137, 155, 192, 197], а после перенесенной эклампсии риск преэклампсии при последующей беременности составляет 25% [154]. Исследование Nelson и соавт., включающее результаты гистологического исследования плацент более чем 1200 женщин, беременность которых осложнилась ПЭ, показало, что при ПЭ часто наблюдаются инфаркты плаценты и атероз спиральных артерий, причем эти изменения более выражены при развитии ПЭ до 34 недель гестации [184].

Американскими исследователями предложена двухэтапная теория развития преэклампсии: I этап («плацентарный») имеет место еще в начале беременности на стадии плацентации, II («материнский») же связан с системной активацией эндотелия и клинической манифестацией заболевания во II-III триместрах [113, 201].

Вышеозначенные изменения в функционировании эндотелиальных клеток получили название синдрома генерализованной эндотелиальной дисфункции, возникновение которого при ПЭ ведет к генерализованному сосудистому спазму, увеличению агрегации тромбоцитов и, как следствие, к нарушению перфузии всех органов с развитием полиорганной и фетоплацентарной недостаточности [9, 13].

Развитие эндотелиальной дисфункции при ПЭ приводит к повышению сосудистой проницаемости с переходом жидкой части крови в межклеточное пространство, что клинически проявляется появлением отеков. В результате

гиповолемии и дефицита объема циркулирующей крови (ОЦК) значительно возрастает активность симпатической нервной системы, что ведет к прогрессирующему спазму сосудов с последующим повреждением жизненно важных органов (почек, печени, головного мозга). Сидорова И. С. с соавт. отводит важное значение в патогенезе ПЭ нейроспецифическим антигенам головного мозга плода (глиофибрилярный кислый протеин и нейроспецифическая енолаза), в результате этого действия развивается чрезмерный провоспалительный ответ на беременность [54]. Авторы доказывают эту теорию тем, что ПЭ развивается только во II половине беременности (с начала развития неокортекса), только при живом плоде и только у человека, не встречается в живой природе у животных, при анэнцефалии плода, быстро регрессирует при родоразрешении или внутриутробной гибели плода [211]. При иммуноферментном анализе сыворотки крови и иммуноморфологическом исследовании ткани плацент установлено, что развитие ПЭ сопровождается резким повышением уровня нейроспецифических белков в отличие от хронической артериальной гипертензии [68].

1.2. Биомаркеры – потенциальные предикторы развития преэклампсии

Изучение активности факторов, принимающих важное участие в развитии ПЭ, в некоторой степени может позволить предсказать тяжесть и степень патологических изменений при ПЭ [1, 2, 45], тем более, что непосредственное исследование структур эндотелия, одним из первых подвергающегося повреждению при развитии ПЭ, нам недоступно [65].

На сегодняшний день описано несколько десятков обсуждаемых факторов. Установлено, что особого внимания заслуживают следующие вещества:

1. Проангиогенные факторы, одним из главных представителей семейства которых является сосудисто-эндотелиальный фактор роста (VEGF);
2. Антиангиогенные факторы, в том числе растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 (sFlt-1);
3. Растворимые молекулы адгезии: межклеточная молекула адгезии-1 (ICAM-1) и сосудистая молекула клеточной адгезии-1 (VCAM-1).

В последние годы появилось много сообщений о роли в патогенезе ПЭ матриксных металлопротеиназ, играющих решающую роль в процессах инвазии и вызывающих расщепление ряда компонентов внеклеточного матрикса. При ПЭ обнаружена дисрегуляция активности металлопротеиназ в области плодово-материнского контакта [16].

Кроме этого, имеются многочисленные сообщения о таких показателях, играющих ключевые роли в патогенезе ПЭ, как: плацентарный фактор роста (PlGF), оксид азота, гомоцистеин, растворимый эндоглин, фибронектин, эндотелин, тромбомодулин, фактор Виллебранда, трансформирующий фактор роста- β 1, релаксин, инсулиноподобный фактор роста-1, тканевой активатор плазминогена и отношение его ингибиторов 1 и 2 типов, а также многих других [113].

В настоящее время на рынок выходят первые коммерческие наборы для проведения иммуноферментного исследования с целью определения вероятности развития ПЭ, основанные на определении содержания плацентарного фактора роста (DELFIА Xpress PlGF kit, PerkinElmer; США) [133]. Кроме того, предложены скрининговые тесты для прогнозирования и ранней диагностики ПЭ, основанные на определении соотношения sFlt-1 и PlGF (Elecsys sFlt-1/PlGF, Roche, Швейцария), обладающие чувствительностью 89% и 74% и специфичностью 97% и 89% для ранней и поздней ПЭ соответственно [90, 101, 176, 179]. Однако их практическую эффективность еще предстоит доказать, поскольку появляются сведения о противоречивости этого прогностического метода, получены данные, что

использование соотношения sFlt-1/PlGF применимо только к ранней ПЭ [236, 238].

1.2.1. Проангиогенные факторы роста: сосудисто-эндотелиальный фактор роста

Проангиогенные факторы роста ответственны за состояние сосудистой стенки, за васкулогенез и ангиогенез плаценты, за правильное ее формирование и развитие, оказывают влияние на функцию репродуктивной системы женщины в целом. Васкулогенез – это первичное образование и развитие сосудов *de novo* из коммитированных плюрипотентных мезодермальных клеток, а ангиогенез представляет собой процесс образования новых сосудов из уже существующих сосудистых структур в ответ на увеличение потребности тканей в кислороде, либо в ответ на гипоксию [10, 106]. Васкулогенез происходит с 18 по 35 день после зачатия, ангиогенез с 21 дня и продолжается в течение всей беременности [86, 111, 172]. Физиологический ангиогенез наблюдается во время фетального периода развития, у взрослых – при заживлении ран, в женской репродуктивной системе регулярно при развитии желтого тела и в эндометрии в течение менструального цикла. Гипоксия – главный стимулятор ангиогенеза. Когда действие проангиогенных факторов превышает действие антиангиогенных, эндотелиальные клетки переходят в активное состояние, что называется «включением ангиогенеза». Эндометрий, децидуальная оболочка и плацента – источники образования ангиогенных факторов роста, которые запускают ангиогенез через сложную систему медиаторов с вовлечением трансмембранных рецепторов с тирозинкиназной активностью [83]. Установлено, что в процессе образования сосудов принимают участие около 20 стимулирующих и 30 ингибирующих ангиогенез факторов [41]. «Выживание» и апоптоз эндотелиальных клеток – противоположные, но

необходимые для ангиогенеза процессы, регулируемые балансом проангиогенных и антиангиогенных факторов [64].

Список патологических состояний и заболеваний, характеризующихся чрезмерным и неправильно протекающим ангиогенезом, включает в себя: онкопатологию, ретинопатию, артрит, атеросклероз, псориаз, эндометриоз и многие другие. Такие заболевания как ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет, артериальная гипертензия и, наконец, ПЭ характеризуются недостаточным ангиогенезом [100, 207].

В исследованиях доказано участие измененной продукции многочисленных ростовых факторов в развитии ПЭ, так как они являются основными переносчиками митогенного сигнала клеток, способны стимулировать или тормозить рост тканей и кровеносных сосудов [39].

Поскольку растворимые факторы, участвующие в процессах образования сосудов, более доступны для исследования в материнском кровотоке, а изменение содержания их в крови матери также отражает изменение содержания в циркуляции и тканях плода, то исследование данных факторов в крови беременной имеет ключевое значение для осмысления и прогнозирования нарушения процессов морфогенеза сосудов [49]. Наиболее изученными и представляющими особый интерес в плане изучения патогенеза ПЭ являются проангиогенные агенты: сосудисто-эндотелиальный фактор роста (Vascular endothelial growth factor, VEGF) и плацентарный фактор роста (Placental growth factor, PlGF). Роль остальных факторов роста и активных веществ в формировании маточно-плацентарного кровотока изучена недостаточно, поскольку подавляющая масса исследований выполняется в поздние сроки беременности, а основополагающие события, определяющие дальнейшее течение, происходят в самом ее начале [41].

Сосудисто-эндотелиальный фактор роста, известный ранее как фактор сосудистой проницаемости (VPR), впервые выделен и описан в эксперименте в 1983 году Senger и принадлежит к семейству тромбоцитарных факторов роста, основой его является гликопротеин [235]. На данный момент известно

несколько форм VEGF – А, В, С, D и Е [118], наиболее изученной является VEGF-А. VEGF является единственным специфическим митогеном эндотелиальных клеток, стимулирует их рост, миграцию, пролиферацию и протеолитическую активность, увеличивает при этом проницаемость сосудов во многих тканях и способствует васкулогенезу и ангиогенезу [94, 151, 227], играя тем самым важную роль в физиологическом росте плаценты и сосудистой сети стромы ворсин, а также регулируя инвазивные свойства цитотрофобласта [73]. Одной из основных функций VEGF в плаценте на поздних сроках беременности является обеспечение повышенной жизнеспособности эндотелиальных клеток и стабилизация сосудистого русла. Кроме того, VEGF крайне важен для поддержания «здорового» фенотипа эндотелия сосудов в почках, печени и головном мозге [59]. Jojović M. с соавторами показал, что добавление VEGF в культуру клеток мышей стимулирует развитие плацентарной ткани и увеличивает площадь плаценты [152]. VEGF вырабатывается эндотелиальными клетками, фибробластами, гладкомышечными клетками, клетками воспаления [131, 140]. Установлено, что наряду с индукцией ангиогенеза он повышает сосудистую проницаемость, эта способность примерно в 1000 раз выше, чем у гистамина [24, 48]. Децидуальные NK-клетки уже на ранних сроках беременности, на стадии, предшествующей инвазии клеток трофобласта в материнские артерии, продуцируют VEGF [49]. Действие его на клетки опосредуется 3 типами специфических мембранных рецепторов: VEGF-R1 (fms-подобная тирозинкиназа-1, Flt-1), VEGF-R2 (Flk-1/KDR) и VEGF-R3 (Flt-4), причем растворимая форма первой из них – sFlt-1 – рассматривается в качестве антиангиогенного [207]. Известно, что наиболее интенсивная экспрессия VEGF-А и VEGFR-2 отмечается на ранних сроках беременности, а образование VEGF-R1 более интенсивно ближе к доношенному сроку [44].

Соколов Д. И. с соавторами получил данные о том, что при ПЭ происходит снижение жизнеспособности эндотелиальных клеток вследствие сниженной секреции VEGF. Показано, что экспрессия VEGF клетками

синцитиотрофобласта и эндотелиоцитами сосудов ворсин плацент беременных с преэклампсией значимо меньше, чем у беременных без нее [80]. Нарушение секреции VEGF в плаценте, а также нарушение экспрессии его рецепторов может привести к нарушению процессов ангиогенеза в плаценте, плацентарной недостаточности и нарастанию дисфункции эндотелиальных клеток [169, 241].

VEGF также индуцирует экспрессию на эндотелиальных клетках молекул адгезии ICAM-1 и VCAM-1, увеличивает жизнеспособность эндотелиоцитов, защищая клетки от апоптоза, индуцированного фактором некроза опухоли- α (TNF- α), повышая экспрессию антиапоптотического белка Bcl-2 в эндотелиоцитах [64]. В исследованиях Ferrara N. et al. было показано, что VEGF-A индуцирует экспрессию других ключевых факторов патогенеза ПЭ – матриксных металлопротеиназ, участвующих в разрушении базальной мембраны сосуда при ангиогенезе [130].

1.2.2. Антиангиогенные факторы: растворимая fms-подобная тирозинкиназа

Инициация, протекание и завершение ангиогенеза зависит от баланса проангиогенных и антиангиогенных факторов в микроокружении эндотелиальных клеток. Апоптоз эндотелиальных клеток – физиологический процесс, необходимый для нормального развития сосудистой сети плаценты путем ангиогенеза и ремоделирования сосудов. Нарушение баланса между этими факторами приводит к патологической выраженности одного из механизмов ангиогенеза, что сопровождается нарушением нормального строения сосудистой сети плаценты [64]. Продукция антиангиогенных факторов является неотъемлемой частью нормального ангиогенеза. В результате молекулярного диалога, возникающего в процессе васкуляризации, продукция ингибиторов служит сдерживающим фактором для избыточной инвазии клеток трофобласта, а также препятствием для дальнейшего развития

сосудистого русла и формирования васкуляризованных участков тканей, подвергшихся патологическим изменениям [49].

Fms-подобная тирозинкиназа – эндогенный антиангиогенный белок, являющийся трансмембранным рецептором VEGF, продуцируемый различными клетками: эндотелиоцитами, клетками трофобласта, моноцитами/макрофагами, перицитами, остеобластами, гемопоэтическими стволовыми клетками. Известно, что продукция Flt-1 клетками усиливается при ангиогенезе и в условиях гипоксии, что подтверждено в исследованиях *in vitro* и *in vivo* [200, 210].

Нарушение плацентации и гипоксия ведут к более высокой продукции sFlt-1, что, в свою очередь, по принципу обратной связи приводит к подавлению VEGF, тем самым угнетая ангиогенез [142]. В результате образуется порочный цикл продукции sFlt-1, что в конечном итоге приводит к гемодинамическим изменениям при ПЭ и плацентарной недостаточности [157, 163, 210, 214]. Избыточная продукция этого фактора приводит к изменению васкулогенетических свойств предшественников эндотелиальных клеток, участвующих в ангиогенезе, выделяя ростовые факторы, которые участвуют в процессах «обновления эндотелия». Плацентарные факторы, лежащие в основе клинических проявлений ПЭ, обусловлены генерализованным сосудистым воспалением, основным компонентом которого является эндотелиальная дисфункция, важное значение в которой играет sFlt-1.

С 2005 года, по крайней мере, 30 крупных рандомизированных исследований посвящено определению уровню sFlt-1 в сочетании с патологическими изменениями VEGF и PlGF. В основном проводились работы по определению фактора в сыворотке крови, но имеются также сообщения об изменении содержания sFlt-1 в моче и различных тканях [84].

Степень повышения содержания sFlt-1 и снижения концентрации PlGF в сыворотке крови беременных коррелирует с тяжестью гипертензии,

выраженностью отечного синдрома, величиной протеинурии и выраженностью фетоплацентарной недостаточности [65, 200].

Многочисленные исследования показывают, что чрезмерное производство sFlt-1 связано с повышенным риском развития ПЭ. Доказано, что избыточное количество этого фактора высвобождается из плаценты под действием протеаз [181]. Уже в I и II триместрах у женщин, у которых впоследствии она развивалась, сывороточный уровень sFlt-1 значимо выше, чем при физиологически протекающей беременности, причем замечена зависимость между степенью повышения этого фактора и степенью тяжести ПЭ [96, 107, 145, 186, 218, 229].

Также установлено, что повышение содержания sFlt-1 с одновременным снижением VEGF начинается за 5 недель до клинической манифестации ПЭ. Этот факт может быть использован для прогнозирования развития ПЭ у женщин группы высокого риска [9, 162]. В то же время другими исследователями отмечено, что, несмотря на высокую чувствительность теста (96%), изолированное определение sFlt-1 использовать при диагностике ПЭ представляет определённые сложности в связи с низкой специфичностью теста [38, 204].

1.2.3. Растворимые молекулы адгезии

Молекулы адгезии – это белки, обеспечивающие механическое взаимодействие клеток друг с другом, находясь на плазматической мембране. Впервые об их роли в патогенезе преэклампсии было упомянуто в 1994 году, когда Lyall F. с соавторами обнаружил значимое повышение уровня VCAM-1 в сыворотке беременных женщин с ПЭ по сравнению с беременными без нее и небеременными [225]. Авторы связали данное наблюдение с отражением процесса активации лейкоцитов при ПЭ, в то же время было установлено, что существенного различия между уровнем другой молекулы адгезии – ICAM-1 – в аналогичных группах испытуемых нет. Исследователи объяснили

повышение этих маркеров усилением их экспрессии на поверхности эндотелия, что объясняет механизм активации лейкоцитов при ПЭ. Имеются данные, что синтез молекул адгезии в нормальных условиях практически не происходит, однако резко увеличивается при активации эндотелия.

ICAM-1 (межклеточная молекула адгезии – CD54) – интегральный мембранный гликопротеин, экспрессирующийся на различных клетках: эпителиальных, эндотелиальных, фибробластах, моноцитах, тканевых макрофагах, активированных Т-лимфоцитах. Основной функцией молекул является участие в «узнавании» лейкоцитами соответствующих участков поверхности эндотелиоцитов, тем самым являясь медиатором воспалительных реакций и участвуя в иммунных реакциях (связь Т-лимфоцитов с моноцитами и клетками-мишенями). Секреторная форма межклеточной молекулы адгезии (sICAM-1) образуется в результате протеолитического расщепления мембранной формы данной молекулы [43]. Имеются сведения, что растворимые формы молекул адгезии слущиваются с поверхности активированного эндотелия, что рассматривается как форма защитной реакции, предотвращающей адгезию иммунокомпетентных клеток к клеткам плаценты [1, 67].

VCAM-1 (сосудистая или васкулярная молекула клеточной адгезии – CD106) – белок, который относится к семейству иммуноглобулинов, также играет значительную роль в иммунной системе человека. Как и ICAM-1 данная молекула участвует в адгезии лейкоцитов и эндотелиальных клеток, медиации сигналов, может иметь отношение к развитию ряда патологических состояний, связанных с иммунным воспалением [117], а также доказана роль этих молекул в гиперагрегации форменных элементов крови, что приводит к образованию пристеночных тромбов и нарушению микроциркуляции [126].

Несмотря на довольно длительное изучение связи молекул адгезии с развитием преэклампсии, сведения об их содержании в крови беременных неоднозначны. Ряд авторов сообщают о повышении уровня sICAM-1 и sVCAM-1 при развитии ПЭ, при этом уровень этих молекул существенно не

отличается в сыворотке небеременных и женщин с физиологически протекающей беременностью. Сообщается, что высокий уровень молекул адгезии может являться прогностическим признаком развития ПЭ и отражать эндотелиальную активацию и/или повреждение эндотелия [112]. Изучение VCAM-1 при ПЭ полезно, поскольку эта молекула опосредует адгезию лимфоцитов, тромбоцитов, эозинофилов к эндотелию и миграцию лейкоцитов к месту воспаления [77, 112]. В работе Szarka A. с соавторами показано, что уровни рассматриваемых молекул адгезии значимо коррелируют со степенью тяжести ПЭ, выраженностью отеков, протеинурии, величиной артериального давления и уровнем печеночных ферментов [115]. В то же время в других исследованиях подчеркивается прогностическая роль растворимой формы лишь внутриклеточной молекулы адгезии, в то время как sICAM-1 при ПЭ существенно не изменяется [82, 225].

Практически два десятилетия изучается роль молекул адгезии в патогенезе ПЭ, решается вопрос о прогностической их значимости, однако, как видно из вышеизложенного, к единому мнению исследователи так и не пришли. В связи с этим, необходимо продолжение исследовательской работы для возможного практического применения данных маркеров.

1.2.4. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы

Известно, что цитотрофобластическая инвазия осуществляется тремя типами клеток: интерстициальным цитотрофобластом (ИЦТ), многоядерными гигантскими клетками (МГК) и эндovasкулярным цитотрофобластом. Имплантация и формирование плаценты – это инвазивный процесс, один из самых сложных в биологии развития, неотъемлемо связанный с расплавлением стенки спиральных и радиальных маточных артерий специфичными ферментами матриксными металлопротеиназами (MMPs), что в итоге приводит к увеличению просветов маточно-плацентарных артерий [17, 163]. Деструкция базальной мембраны – один из ключевых моментов

ангиогенеза, так как влечет за собой миграцию эндотелиальных клеток, что необходимо для неоваскуляризации [175].

Матриксные металлопротеиназы – семейство внеклеточных цинковых (содержат в активном центре Zn^{2+}) протеиназ, способные специфически гидролизировать основные белки внеклеточного матрикса [21, 32, 47, 81, 149]. Многочисленные исследования свидетельствуют о важной роли семейства MMPs в ключевых процессах клеточной биологии, таких как пролиферация, миграция и морфогенез. MMPs играют центральную роль: в обмене белков соединительной ткани, в процессах нормального развития и ремоделирования клеточного матрикса, эмбриогенеза, репарации тканей, неоангиогенезе, опухолевой трансформации и метастазирования. Накоплено большое количество данных о роли MMPs при ревматоидном артрите, эндометриозе, аневризме аорты, периодонтитах, аутоиммунных поражениях кожи, атероматозе, язвообразовании [146, 231]. Экспрессия, содержание и активность MMPs регулируются половыми гормонами. Повышение уровня гормонов приводит к снижению активности MMPs, в первую очередь таким действием обладает прогестерон. Кроме того, он увеличивает транскрипцию генов, кодирующих образование ингибиторов металлопротеиназ [208].

В настоящее время в литературе описано около 30 MMPs. Все они обладают некоторыми общими характерными чертами, и в то же время они обладают субстратной специфичностью, что позволяет разделить их на 6 подсемейств [149]:

1. Коллагеназы (№ 1, 8, 13);
2. Желатиназы (№ 2, 9);
3. Стромелиназы (№ 3, 10, 11, 12);
4. Матрилизины (№ 7, 26)
5. Мембраносвязанные MMPs или МТ-MMPs (№ 14, 15, 16, 17, 24, 25);
6. Неклассифицируемые MMPs (№18, 19, 20, 21, 23 А и В, 27, 28).

Представители двух первых групп инициируют инвазивные процессы [81]. Концентрация матричных металлопротеиназ отражает барьерную функцию эндотелия сосудов. В экспериментах *in vivo* было показано участие в процессах формирования плаценты только желатиназ (ферментов 2 и 9 типов) [92].

Установлено, что в ремоделировании экстрацеллюлярного матрикса при имплантации ведущую роль играют MMP-2 и MMP-9, являющиеся ключевыми эффекторами этого процесса. Они являются единственными протеолитическими ферментами, способными денатурировать коллаген, являющимся структурным белком базальных мембран, до низкомолекулярных соединений [153, 177]. Адекватные уровни экспрессии MMP-2 и MMP-9 в эндометрии необходимы для успешной имплантации и дальнейшего положительного развития беременности [62, 206].

Матриксная металлопротеиназа-2 (MMP-2, желатиназа А) экспрессируется в мезенхимальных клетках (главным образом, в фибробластах) в период развития и репарации ткани, а также синтезируется нейтрофилами, макрофагами и моноцитами [168]. В литературе имеются указания на то, что на развитие осложнений беременности, в том числе и ПЭ, влияют как избыточная продукция протеаз, так и их недостаток [49]. Во многих исследованиях установлено, что повышение активности и содержания MMP-2 препятствует нормальному процессу инвазии бластоцисты [88, 91]. Amălinei С. с соавт. считает, что MMP-2 может ингибировать ангиогенез (наряду с MMP-7, -9 и -12), образуя антиангиогенные полипептиды путем превращения плазминогена в ангиостатин, угнетающий пролиферацию и усиливающий апоптоз клеток эндотелия [167]. В то же время другими исследователями сообщается, что совместно с MMP-9 матриксная металлопротеиназа 2 типа участвует в деградации коллагена IV типа – главного компонента базальной мембраны и желатина (денатурированного коллагена), а также разрушает другие типы коллагенов (V, VII и X), эластин и фибронектин, тем самым MMP-2 и MMP-9 способствуют инвазии и миграции

клеток через базальные мембраны, облегчая формирование и развитие сосудистой сети [49, 129]. Желатиназы, в том числе синтезирующиеся и самими инвазивными клетками, «протравливают» им дорогу в матриксе децидуальной оболочки и среди пучков миометрия (преимущественно аутокринная регуляция).

В исследованиях *in vitro* показано, что клетки цитотрофобласта при ПЭ обладают меньшей способностью к инвазии, чем в норме [78]. В результате нарушения этого процесса и запускается патогенетический механизм, приводящий, в конечном счете, к развитию ПЭ. Показано, что повышение уровня MMP-2 играет важную роль в изменении сосудов при гипертензии. В ряде работ показано, что уровень MMP-2 значительно выше в сыворотке женщин с ПЭ по сравнению с небеременными и при физиологически протекающей беременности [127, 226].

Матриксная металлопротеиназа-9 (MMP-9, желатиназа В) секретируется в качестве профермента массой 92 кДа. Источниками его являются моноциты, лейкоциты, макрофаги и фибробласты [166]. Субстратами для MMP-9 являются денатурированный коллаген I типа (желатин), нативные коллагены типов IV, V, VII, X и XI, фибриноген, витронектин, IL-1, энтактин, соединяющий ламинин и коллаген IV типа. Для усиленной имплантации клетки трофобласта, экспрессирующие MMP-9 на высоком уровне, должны проникнуть в децидуальную оболочку. При ангиогенезе эндотелиоциты выселяются в окружающую межклеточную среду [63]. Следовательно, снижение уровня MMP-9 в эндометрии является патогенетическим фактором, указывающим на невозможность усиленной имплантации [165]. MMP-9 принимает участие в процессах воспаления (как и MMP-2 обладает про- и противовоспалительной активностью), ремоделирования тканей и репарации, мобилизации матрикссвязанных факторов роста и процессинга цитокинов [18].

MMP-9 обладает стимулирующим эффектом, а MMP-2 ингибирующим в отношении воспаления. Активность ферментов в тканях зависит от уровня

активности их генов и наличия непосредственных активаторов и ингибиторов ферментов в окружающей среде [216].

В организме существуют биологические механизмы ограничения протеолиза тканей и активности инвазивных клеток, вызванного активными MMPs, в виде секреции клетками стромы тканевых ингибиторов металлопротеиназ (TIMPs) – белков небольшого размера, способных формировать нековалентные комплексы со многими представителями семейства MMPs [98, 149].

Концентрация TIMPs зависит от концентрации MMPs в тканях и внеклеточной жидкости, ограничивая, таким образом, протеолитическую активность в фокальном околкеклеточном пространстве. TIMPs содержатся в соединительной ткани. Выделяют 4 типа ингибиторов MMPs [219]. TIMPs отличаются в своей специфичности ингибирования желатиназ с наибольшей активностью TIMP-2 к MMP-2 и TIMP-1, преимущественно связывающейся с MMP-9 [121]. По мнению Клишо Е. В. с соавт., отдельно рассматривать уровень экспрессии тех или иных MMPs или их ингибиторов – значит упускать тот важный факт, что в норме и патологии повышение уровня протеаз приводит к увеличению продукции их ингибиторов и определяющее значение для осуществления протеолиза в итоге имеет нарушение их баланса [21].

Основными источниками TIMP-2 являются НК-клетки децидуальной ткани и клетки вневорсинчатого трофобласта [135]. TIMP-2 обладает 2 типами антиангиогенной активности, дополняющими друг друга. Первая представлена MMP-зависимой ингибиторной активностью, которая может подавлять только эмбриональную неоваскуляризацию, вторая представлена MMP-независимым механизмом, ингибирующим и нормальный ангиогенез, и митоген-опосредованный ангиогенез *in vivo*. TIMP-2 обладает способностью ингибировать пролиферацию капиллярных эндотелиальных клеток, привлеченных ангиогенными митогенами [173].

Концентрация MMP-9 и TIMP-1 значительно снижается на сроке 7-8 недель по сравнению со сроком до 6 недель гестации, а достоверных различий в

концентрации MMP-2 и TIMP-2 на этих сроках не найдено. Постоянные концентрации в системе «протеза-антипротеаза» свидетельствуют о remodelировании внеклеточного матрикса и морфогенезе сосудов, интенсивно происходящих в эти сроки: деградация интерстициальных коллагенов и коллагенов базальной мембраны, осуществляемая с участием этих факторов, носит стабильный характер [49].

Избыток тканевых ингибиторов в сроке беременности 7-8 недель, вероятно, приводит к неполной инвазии трофобласта и недостаточному расширению просвета сосудов, что в условиях повышенной секреции sFlt-1 может привести к вазоспазму и повышению сосудистой проницаемости, что негативно сказывается на развитии эмбриона [102, 239]. Повышение при ПЭ уровня MMP-9, контролирующего ангиогенез и состояние коллагенового компонента сосудистой стенки, свидетельствует об активации ангиогенеза в сосудах пуповины, и, вероятно, может рассматриваться как компенсаторно-приспособительный механизм. В то же время в исследованиях показано незначительное увеличение уровня MMP-9 при гестационной гипертензии по сравнению с ПЭ, что говорит о более адекватном процессе имплантации при гипертензии [164].

В ряде работ показано, что определение активности MMPs в сыворотке крови в сочетании с проведением ультразвуковой доплерометрии можно рассматривать в качестве раннего прогностического признака нарушения процессов имплантации, другие же сообщают о важности изучения активности MMPs в качестве маркеров степени тяжести ПЭ, но не в роли прогностического фактора [78].

Зарубежными исследователями обнаружено, что низкомолекулярные гепарины и аспирин *in vitro* снижают экспрессию TIMPs [99, 158]. Доказанное положительное влияние препаратов на уменьшение частоты ПЭ и улучшение перинатальных исходов в случае ее развития, возможно, связано с влиянием на экспрессию и циркуляцию этих факторов.

Очевидно, что роль MMPs в патогенезе многих заболеваний является несомненной. В связи с этим активно изучаются ингибиторы этих ферментов в качестве терапевтических средств в различных отраслях медицины. Важным направлением является и определение прогностического значения уровня MMPs при различных заболеваниях. Изучение изменения концентрации MMPs может служить теоретической основой для разработки новых методов диагностики и прогнозирования в акушерстве и неонатологии, улучшая перинатальные исходы и снижая частоту осложнений у женщин [78, 81].

Резюмируя данные литературы, можно заключить, что изучение этиологии и патогенеза ПЭ на настоящем этапе должно быть комплексным и учитывать изменения в организме беременной, происходящие на молекулярном уровне. Вышеизложенное определило цель и задачи нашего исследования, посвященного изучению молекулярных показателей, свидетельствующих об изменениях в организме женщины, страдающей ПЭ.

ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ЖЕНЩИН И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика обследованного контингента женщин

Для достижения поставленной цели и решения задач исследования работа проводилась с использованием когортного проспективного метода.

Работа выполнена в период с 2009 по 2013 гг. на базе кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (зав. кафедрой – профессор, д.м.н. Аксененко В.А.) и ГБУЗ СК "Ставропольский краевой клинический перинатальный центр" (гл. врач – Затона Б.Ф.). ГБУЗ СК СККПЦ – акушерский стационар третьей группы (высокой степени риска), в котором, согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ от 1 ноября 2012 г. № 572н, должна оказываться помощь в том числе пациенткам с тяжелой ПЭ. За рассматриваемый период времени 86,3% всех беременных с тяжелой ПЭ, имевшей место в Ставропольском крае, были родоразрешены в этом стационаре.

На первом этапе в исследование были включены 244 беременных, находившихся на стационарном лечении по поводу тяжелой ПЭ в течение указанного периода времени.

Второй этап заключался в обследовании 34 беременных, составивших основную группу. Беременные были выбраны из числа пациенток с так называемой «чистой» ПЭ (58 человек) путем рандомизации, при помощи генерации случайных чисел в пакете Microsoft Excel 2013 (серийный номер 00201-10123-54512-AA875). Прежде чем выделить основную группу, мы провели анализ данных беременных с ранней (n=19) и поздней (n=15) ПЭ. В результате значимых различий в показателях мы не обнаружили и далее рассматривали оба варианта тяжелой ПЭ в одной группе.

Критериями включения пациенток в **основную группу** были:

1. Наличие клинических и лабораторных проявлений тяжелой преэклампсии;
2. Одноплодная беременность;
3. Отсутствие выраженной соматической патологии, аутоиммунных заболеваний;
4. Наступления беременности без применения вспомогательных репродуктивных технологий;
5. Информированное согласие пациентки о включении в исследование.

В **группу сравнения** вошли беременные с доношенным сроком гестации (n=30), а в **контрольную группу** – небеременные здоровые женщины (n=30). Критериями включения в обе эти группы были:

1. Отсутствие заболеваний, сопровождающихся изменением ангиогенного статуса женщины, таких как: системные заболевания и коллагенозы, артериальная гипертензия, пороки сердца, заболевания щитовидной железы, хронический гломерулонефрит, сахарный диабет, варикозное расширение вен, заболевания крови, псориаз, аутоиммунная патология, эндометриоз, синдром склерополикистозных яичников, миома матки, а также женщины, не имеющие в анамнезе ПЭ при прошлой беременности;
2. Информированное согласие пациентки о включении в исследование.

Оперативное родоразрешение женщин из группы сравнения осуществлялось при относительно благополучном течении беременности по следующим показаниям: предполагаемые относительно крупные размеры плода в тазовом предлежании (10 случаев); смешанное ягодичное предлежание плода у первородящей или ножное предлежание плода (5 случаев); косое или поперечное положения плода (6 случаев); высокая миопия с изменениями на глазном дне, требующими выключения II периода родов (4

случая); категорический отказ беременных от возможных естественных родов, имеющих рубец на матке после одной операции кесарево сечение (5 случаев).

Проводимое исследование соответствовало этическим стандартам биоэтического комитета ФГБОУ ВО СтГМУ, разработанным в соответствии с Хельсинской декларацией «Этические принципы проведения медицинских исследований, включающих людей в качестве испытуемых» (Хельсинки, 1964 г., с исправлениями Эдинбург, 2000 г.) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19 июня 2003 г. Все лица, участвующие в исследовании, дали письменное информированное согласие на участие в нем.

2.2. Клинические методы исследования

При обследовании использовали общепринятые методы: тщательный опрос (включая сведения о месте жительства, возрасте, образовании, наличии вредных привычек); соматической патологии (характер, стадия и степень тяжести заболеваний сердечно-сосудистой системы, почек, эндокринной системы) и гинекологической патологии (особенности менструального цикла, характер и длительность бесплодия, воспалительные заболевания, наличие в анамнезе или в данный момент миомы матки, доброкачественных опухолей яичников). Отдельное внимание обращалось на особенности течения и исходы предыдущих беременностей (медицинские и самопроизвольные аборты, оперативные вмешательства и показания к ним, наличие ПЭ), паритет родов, особенности течения настоящей беременности.

Изучение данных объективного исследования включало общий осмотр, измерение массы тела и роста с определением индекса массы тела (ИМТ); акушерское исследование: определение срока беременности, измерения окружности живота и высоты стояния дна матки, предлежания плода, характер его сердечной деятельности.

При постановке диагноза использовалась классификация ПЭ с учетом Федеральных клинических рекомендаций [14] (Таблица 1). Диагноз тяжелой ПЭ устанавливался при наличии двух основных критериев тяжелой степени (АГ и протеинурия) или одного основного критерия любой степени и дополнительного критерия. Кроме того, при диагностике ПЭ в 2009-2012 гг. учитывалась также балльная классификация Goeske С. в модификации Савельевой Г. М. [2], в этом случае рассматривались пациентки с диагнозами «гестоз тяжелой степени» и «преэклампсия».

Таблица 1 – Современная клиническая классификация преэклампсии

1. Умеренная ПЭ	Сочетание двух основных симптомов: I. САД 141-159 мм рт. ст. и/или ДАД 91-99 мм рт. ст. при двукратном измерении с интервалом 6 часов II. Содержание белка в суточной моче 0,3 гр. и более
2. Тяжелая ПЭ	I. Цифры АД 160/100 мм рт. ст. и выше, измеренного как минимум дважды с интервалом 6 часов в горизонтальном положении беременной и/или II. Протеинурия 5 гр. в сутки и более или 3 гр./л в отдельных порциях мочи, полученных дважды с разницей 4 часа и более и/или III. Присоединение к симптомам умеренной преэклампсии хотя бы одного из следующих: 1. Олигурия 500 мл в сутки и менее; 2. Отек легких или дыхательная недостаточность (цианоз); 3. Боль в эпигастрии или правом подреберье, тошнота, рвота, ухудшение функции печени; 4. Церебральные нарушения (головная боль, нарушение сознания, ухудшения зрения - фотопсии); 5. Тромбоцитопения (ниже $100 \times 10^9/\text{мл}$); 6. Выраженная задержка роста плода; 7. Начало до 32-34 недель и наличие признаков фетоплацентарной недостаточности. Данные признаки должны использоваться как независимые критерии для обоснования тяжести преэклампсии.

Поскольку в начале анализируемого периода использовалась старая отечественная классификация, представляло некоторую сложность включение пациенток с диагнозом «гестоз средней степени тяжести» в группы

беременных соответственно новой классификации. К тяжелой ПЭ мы отнесли состояния «гестоз тяжелой степени», «преэклампсия» и «эклампсия».

Выраженность отеков в основной группе оценивалась по 4-степенной системе:

I степень – отеки верхних и нижних конечностей;

II степень – отеки верхних, нижних конечностей и отек передней брюшной стенки;

III степень – отеки верхних, нижних конечностей, отек передней брюшной стенки и отек лица;

IV степень – анасарка.

Артериальное давление измерялось тонометром по методу Короткова Н. С. в покое при комфортной температуре в помещении лежа, после 10-минутного отдыха пациентки. Под гипертензией понималось САД более 140 мм рт. ст. и/или ДАД более 90 мм рт. ст. при двукратном измерении с интервалом 6 часов.

Всем беременным проводили общее лабораторное исследование, включающее следующие методы: общий анализ крови, биохимический анализ крови, исследование параметров свертывающей системы крови, общий анализ мочи. Исследование клинического анализа крови проводилось на автоматизированном гематологическом анализаторе Cell-Dyn 1800 (Abbott Diagnostics, США), оценивались следующие параметры: уровень гемоглобина, число эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, величина гематокрита и скорость оседания эритроцитов. При биохимическом исследовании крови уделялось внимание содержанию белка, уровню билирубина, печеночных трансаминаз (АсТ и АлТ), креатинина и мочевины. При анализе свертывающей системы крови определялось содержание фибриногена, протромбиновое и тромбиновое время (ПТВ и ТВ), а также активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) по стандартным методикам. Референсные показатели анализов крови учитывались согласно мета-анализу Abbassi-Ghanavati M. [85].

Общий анализ мочи проводился на анализаторе Strip Reader 40 (Dialab, Австрия). Помимо автоматического анализа уровень протеинурии определялся также колориметрическим пирогалловым методом. О клинически значимой протеинурии говорили при наличии белка в моче $\geq 0,3$ гр./л в пробе за 24 часа, либо в двух пробах, взятых с интервалом в 6 часов.

Кроме того, совместно со специалистами (терапевт, невропатолог, нейроокулист, эндокринолог) оценивалось состояние соматического здоровья, эндокринный и неврологический статусы, при наличии экстрагенитальной патологии выработывался план ведения беременности, решался вопрос о сроке и методе родоразрешения.

При ультразвуковой фетоплацентометрии определялись длина тела и предполагаемая масса плода (по Hadlock F. P. и Shepard M. J.), соответствие размеров плода сроку беременности, толщина, структура плаценты, количество околоплодных вод. Для оценки маточно-плодово-плацентарного кровотока проводили доплерометрическое исследование. С этой целью использовался аппарат экспертного класса Logiq 7 CRT (General Electric, США) с использованием трансабдоминальных секторных датчиков с длиной волны 3,5-5,0 МГц и конвексного датчика с длиной волны 3,5 МГц. Степень нарушения гемодинамики в системе мать-плацента-плод оценивались согласно классификации Стрижакова А. Н. Для оценки использовались следующие степени нарушений:

IA – изолированное нарушение маточно-плацентарного кровотока;

IB – изолированное нарушение плодово-плацентарного кровотока;

II – нарушение маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока, не достигающее критических изменений;

III – декомпенсированное нарушение с централизацией кровотока.

Для оценки состояния кровотока использовались следующие основные показатели [132]:

- Систолю-диастолическое отношение (СДО) – отношение максимальной систолической ($V_{\text{сист.}}$) к конечной диастолической ($V_{\text{диаст.}}$) скорости кровотока: $SDO = V_{\text{сист.}} / V_{\text{диаст.}}$.

- Пульсационный индекс (PI) – отношение разницы между максимальной систолической и конечной диастолической скоростью к средней ($V_{\text{ср.}}$) скорости кровотока: $PI = (V_{\text{сист.}} - V_{\text{диаст.}}) / V_{\text{ср.}}$.

- Индекс резистентности (IR) – отношение разницы между максимальной систолической и конечной диастолической скоростью к максимальной систолической скорости кровотока: $IR = (V_{\text{сист.}} - V_{\text{диаст.}}) / V_{\text{сист.}}$.

Кардиомониторное наблюдение за состоянием плода осуществляли с помощью фетальных мониторов серии Sonicaid модификаций Team и Team Duo (Huntleigh, Великобритания) с ультразвуковым датчиком частотой 1,5 МГц. Запись производили в положении беременной сидя в течение 40-60 минут. Реактивность сердечно-сосудистой системы плода оценивали по балльной шкале, предложенной Сидоровой И. С. с соавторами [60]. Результаты интерпретировали следующим образом: 5 баллов – реактивность в пределах нормы; 4 балла – начальное нарушение реактивности; 3 балла – умеренное нарушение реактивности; 2 балла – выраженное нарушение реактивности; 1 балл – тяжелое нарушение реактивности; 0 баллов – критическое нарушение реактивности.

2.3. Оценка ангиогенного статуса обследуемых

Имуноферментный анализ (ИФА) проводился на базе лаборатории ООО «Центр клинической фармакологии и фармакотерапии» (г. Ставрополь) под руководством главного врача Центра д. м. н., профессора Батурина В.А. С помощью ИФА проводилось определение про- и антиангиогенных факторов, играющих ключевые роли в патогенезе преэклампсии, а также факторов, отражающих состояние эндотелия: VEGF, sFlt-1, ICAM-1 и VCAM-1, MMP-2

и MMP-9, а также TIMP-2. При исследовании использовалась одна из наиболее часто применяемых модификаций анализа – гетерогенный ИФА (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), принцип которого состоит в одновременном взаимодействии антигена изучаемого образца со специфическим антителом (АТ), иммобилизованным на твердой матрице (первичные АТ) и конъюгатом таких специфических АТ с ферментом (вторичные АТ). Количество связанного конъюгата выявляется с помощью хромогенного субстрата, вступающего в реакцию с ферментом. При этом интенсивность приобретенного окрашивания пропорциональна количеству АТ в образце.

Кровь для исследования бралась из локтевой вены в количестве 10 мл в вакуумные пробирки Vacutainer (Becton Dickinson, США) с активатором свертывания (кремнезем). Материалом для исследования являлась сыворотка крови. В течение 30 минут при комнатной температуре и вертикальном положении пробирки дожидались завершения процесса свертывания крови, после чего для максимального выдавливания сыворотки из сгустка пробирки со свернувшейся кровью центрифугировались со скоростью 2500 оборотов в минуту в течение 10 минут. После этого супернатантная сыворотка отбиралась в пробирки типа Eppendorf объемом 0,5 мл и тотчас замораживалась при температуре -20°C . Хранение аликвот с материалом проводилось не более чем 2 месяца. Непосредственно перед анализом образцы медленно размораживались при комнатной температуре ($23-25^{\circ}\text{C}$) и аккуратно перемешивались.

Стандарты, контроли и предварительно разведенные образцы сыворотки инкубировались в лунках планшета (твердая матрица), сорбированных антителами к вышеуказанным факторам, согласно инструкциям к стандартным тест-системам фирм Bender MedSystems GmbH (Австрия) для определения концентрации VEGF-A, VEGF-R1, ICAM-1, VCAM-1, MMP-9 и R&D Systems (США) для определения концентрации MMP-2 и TIMP-2. В ячейки планшета с иммобилизованными антителами к изучаемым факторам

добавляли сыворотку крови. В процессе инкубации образовывался специфический комплекс антиген-антитело, носитель отмывался от несвязавшихся антигенов и добавлялись меченые антитела – конъюгат моноклональных антител (с пероксидазой хрена, стрептавидин-пероксидаза). При этом количество связавшегося конъюгата прямо пропорционально количеству антигена в исследуемом образце.

После вторичной инкубации и удаления избытка конъюгата добавляли хромогенный субстрат для используемого фермента, который изменял цвет под действием фермента (ферментативная реакция с окрашиванием раствора в лунках). Реакция останавливалась добавлением кислого стоп-раствора. Измерение оптической плотности проводилось анализатором иммуноферментных реакций УНИПЛАН (АИФР-01, ЗАО «Пикон», Россия), концентрация изучаемых факторов в образцах определялась по стандартной кривой, построенной по 7 приготовленным разведениям стандартов факторов, согласно инструкциям к используемым наборам.

Патоморфологическое и иммуногистохимическое исследование проводилось в лаборатории патологии репродукции ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», г. Москва (главный научный сотрудник лаборатории Заслуженный деятель науки РФ, д.м.н., профессор Милованов А.П.).

Материалом для исследования служили участки плаценты, полученные во время операции кесарева сечения (34 плаценты от женщин с тяжелой ПЭ и 30 плацент от беременных из группы сравнения). После извлечения ребенка плацента в течение 1 минуты на фоне внутривенного введения 2 мл окситоцина (10 МЕ) самостоятельно рождалась в рану без активного отделения рукой. Из плаценты вырезали участки размерами 2x2x3 см и фиксировали в 10% нейтральном формалине, в каждом случае отбирались не менее 6 фрагментов.

Кусочки плацент проводились по обычной гистологической схеме, готовились срезы толщиной 5-7 микрон и окрашивались гематоксилином и эозином. После предварительного просмотра окрашенных микропрепаратов (микроскоп Leica DM2500) отбирали те блоки, в которых были видны интересующие компоненты плаценты (ткань ворсин, хориальная и базальная пластинки, клеточные островки и септы). Из этих блоков делали дополнительные срезы и после их депарафинизации укладывали на стекла с полилизинным покрытием; на них осуществлялась иммунопероксидазная визуализация изучаемых факторов.

Иммунореактивность первичных антител обнаруживали с помощью вторичных антител, конъюгированных с пероксидазной системой. На серийных срезах применяли готовые к применению антитела (Novocastra, Leica Microsystems) для выявления MMP-9 (клон 15W2), TIMP-1 (клон 6F6a), MMP-2 (клон 17B11) и TIMP-2 (клон 46E5). Во всех случаях была использована единая система детекции Thermo Scientific Ultravision Detection System Anti-Polyvalent. С помощью данных маркеров исследованы интерстициальный цитотрофобласт (ИЦТ), отдельные многоядерные гигантские клетки (МГК), промежуточный цитотрофобласт (ПЦТ) и материнские децидуальные клетки (ДК). На качественном уровне оценивали интенсивность экспрессии этих клеток при увеличении $\times 200$. Результаты иммуногистохимической реакции оценивали методом полуколичественного анализа по интенсивности окраски: при изучении MMP-2, TIMP-1 и TIMP-2 за негативную «-» был принят уровень окраски окружающих децидуальных клеток, «+-» – незначительная, «+» – слабая, «++» – умеренная, «+++» – выраженная. Для MMP-9 уровень окраски окружающих децидуальных клеток был принят за «+-», так как известно, что эти клетки слабо положительны по этому маркеру [121]. Соответственно, «-» – негативная окраска, «+» – средняя интенсивность, «++» – максимальная интенсивность. Из каждого случая нами было оценено по 10 клеток каждого типа. Иммуногистохимическое

исследование срезов плацентарной ткани в основной группе и группе сравнения проводилось одновременно в строго идентичных условиях.

2.4. Статистическая обработка полученных данных

Статистический анализ данных выполнен в Центре «Биостатистика» под руководством доцента, к. т. н. Леонова В. П. Процедуры статистического анализа выполнялись с помощью статистического пакета Statistica 10.0 (StatSoft, США) (серийный номер AXAR306F596204FA-J), а также в среде пакета SPSS Statistics Standard Edition (IBM, США). Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принималось равным 0,05. В случае превышения достигнутого уровня значимости статистического критерия этой величины, принималась нулевая гипотеза.

Проверка нормальности распределения количественных признаков в отдельных группах сравнения проводилась с использованием критериев Колмогорова-Смирнова, Шапиро-Уилка, Крамера-фон-Мизеса и Андерсона-Дарлинга. Для сравнения центральных параметров групп использовались параметрические и непараметрические методы: дисперсионный анализ, в т.ч. с критерием Краскела-Уоллиса и ранговыми метками Вилкоксона, медианный критерий, и критерий Ван дер Вардена [7, 19, 66]. Для всех количественных признаков в сравниваемых группах производилась оценка средних арифметических и среднеквадратических (стандартных) ошибок среднего, а также коэффициента вариации. Дескриптивные статистики в тексте представлены как $M \pm m$, где M – среднее, а m – ошибка среднего.

Исследование взаимосвязи между парами дискретных качественных признаков проводилось с использованием анализа парных таблиц сопряжённости. Помимо оценок критерия Пирсона Хи-квадрат и достигнутого уровня статистической значимости этого критерия, вычислялись и оценки интенсивности связи анализируемых признаков, такие как коэффициент Фи,

коэффициент контингенции и V-коэффициент Крамера [7, 19, 25, 66]. В случае наличия статистически значимых связей между парой качественных признаков проводился анализ распределения частот в клетках таблицы сопряжённости, позволявший установить структуру выявленной взаимосвязи на уровне сочетаний отдельных градаций обоих признаков.

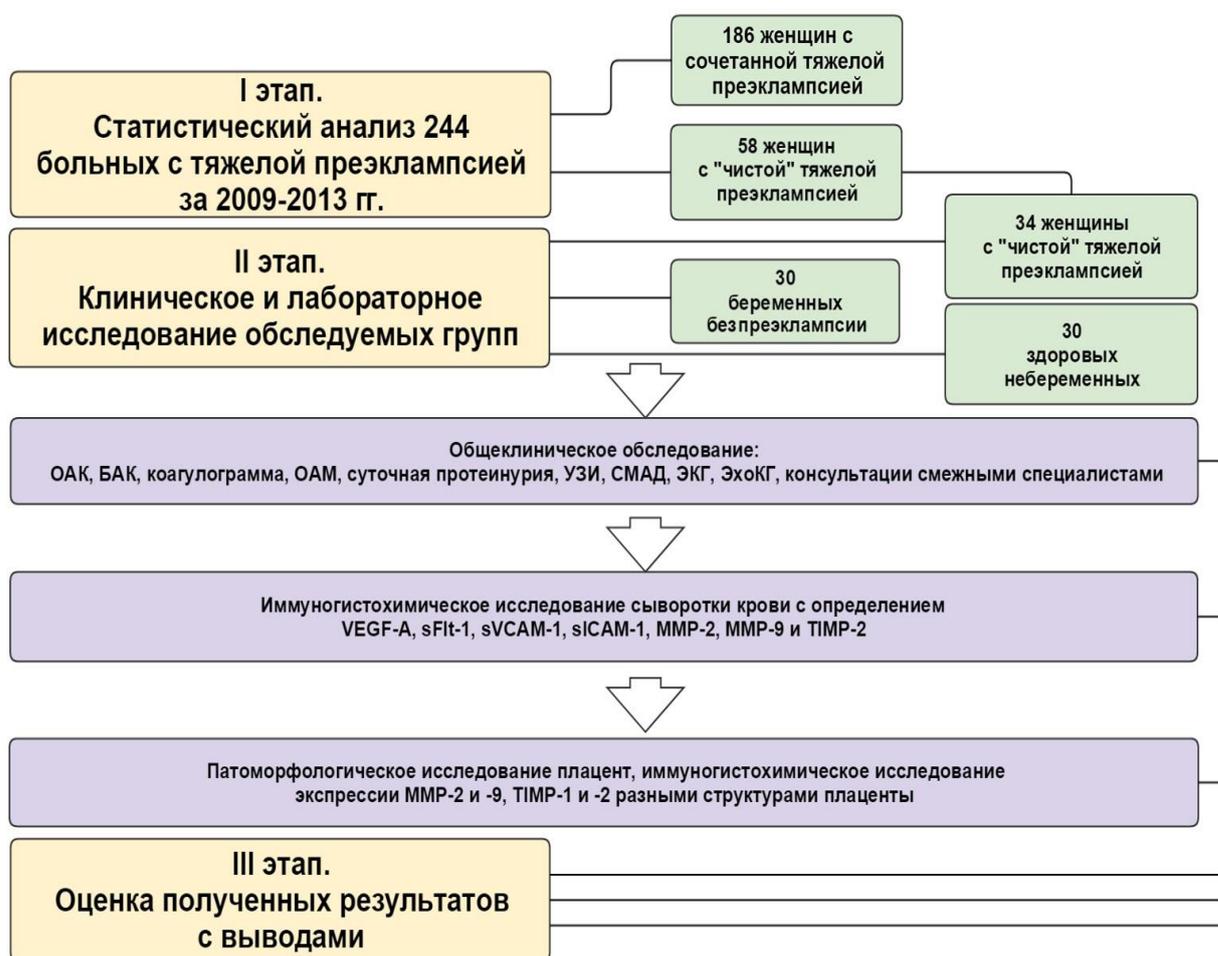
Для анализа взаимосвязи между одним качественным признаком, выступающим в роли зависимого, результирующего показателя, и подмножеством количественных и качественных признаков, использовалась модель логистической регрессии [27, 141] с пошаговым алгоритмом включения и исключения предикторов. Результаты оценки уравнений логистической регрессии представлены набором коэффициентов регрессии, достигнутыми уровнями значимости для каждого коэффициента, а также оценкой показателя согласия (Concordant) фактической принадлежности пациента к той или иной из групп, и теоретической принадлежности, полученной по уравнению логит-регрессии. Всего было получено порядка ста уравнений логит-регрессии, из которых производился отбор уравнений, имеющих самые высокие значения (более 80-90%) этого показателя. Ранжирование выделенных предикторов по степени связи с зависимой переменной производилось путём сортировки предикторов по модулю стандартизованных коэффициентов регрессии [27, 70, 141]. Для интерпретации структуры уравнений использовались результаты анализа таблиц сопряжённости и результаты сравнения центральных мер для групп зависимого признака. Также для решения аналогичных задач использовался дискриминантный анализ. При этом в качестве предикторов использовались только количественные признаки, которые вводились в дискриминантные функции пошаговыми методами отбора [7, 26].

Анализ взаимосвязи между двумя подмножествами количественных признаков, отражающими различные аспекты анализируемого массива данных, использовался метод канонических корреляций [19, 66]. В том случае, когда коэффициент канонической корреляции оказывался статистически

значимым, массив данных пополнялся двумя каноническими осями первого решения, и в них строились двумерные диаграммы рассеяния анализируемых наблюдений. При этом для идентификации отдельных наблюдений использовались основные качественные признаки, отражающие основные анализируемые группировки.

Дизайн исследования представлен на Рисунке 1.

Рисунок 1 – Дизайн исследования



ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Клиническая характеристика обследованных женщин с тяжелой преэклампсией

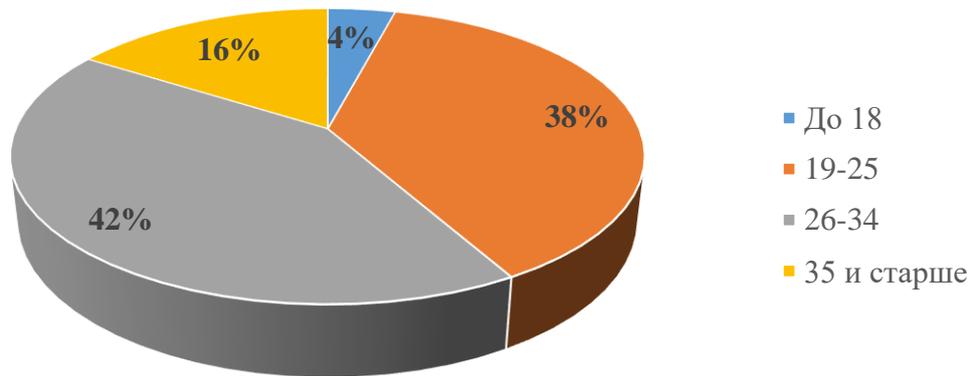
С 2009 по 2013 годы в ГБУЗ СК СККПЦ было родоразрешено 24961 беременных. За этот период диагноз «тяжелая преэклампсия» был поставлен 244 женщинам, что составляет 0,98% от всех родоразрешенных в стационаре (Таблица 2). Все пациентки были включены в основную группу первого этапа исследования.

Таблица 2 – Частота выявления умеренной и тяжелой ПЭ у беременных по данным СКПЦ с 2009 по 2013 гг.

	2009		2010		2011		2012		2013	
	абс.	%								
Количество родов	4857		5209		4880		5053		4962	
Беременные с умеренной ПЭ	244	5,02	225	4,32	241	4,94	230	4,55	220	4,43
Беременные с тяжелой ПЭ	59	1,21	46	0,88	54	1,1	44	0,87	41	0,83

Возраст беременных находился в пределах от 14 до 43 лет (средний возраст 27,62; SD 6,4). Распределение пациенток с тяжелой ПЭ по возрасту представлено на Рисунке 2.

Рисунок 2 – Распределение пациенток с тяжелой преэклампсией по возрасту



Очевидно, что большинство обследуемых – это женщины от 19 до 34 лет (80%), пациентки позднего репродуктивного периода (35 лет и старше) составили 16% (39 человек).

Все беременные проживали в удовлетворительных социально-бытовых условиях. Большая часть пациенток имела среднее (94 человека; 38,52%) и среднее специальное образование (67 человек; 27,46%) и являлись жителями сельской местности (140 человек; 57,36%) (Рисунки 3 и 4).

Рисунок 3 – Образование обследуемых пациенток с тяжелой преэклампсией

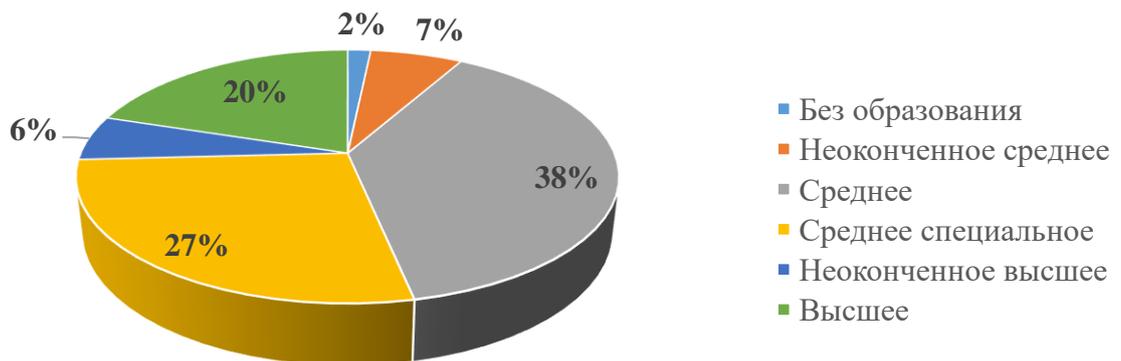
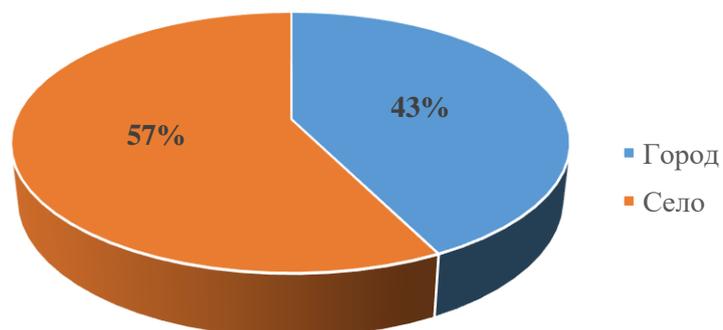


Рисунок 4 – Место жительства обследуемых пациенток



Только около четверти обследуемых беременных (58 человек; 23,77%) имела неотягощенный соматический анамнез, таким образом, в этом случае мы говорили о развитии «чистой» ПЭ, что подтверждает литературные данные о соотношении «чистых» и сочетанных форм.

В Таблице 3 отражены особенности соматического статуса обследуемых беременных с тяжелой сочетанной ПЭ (n=186; 76,23%).

В структуре экстрагенитальных заболеваний у беременных с тяжелой ПЭ основную долю составили заболевания сердечно-сосудистой системы (51,08%), среди которых преобладала гипертоническая болезнь. Обращает на себя внимание большое количество пациенток с ожирением (87 человек; 46,77%), вплоть до его морбидных форм. Генез ожирения уточнить не всегда представлялось возможным и в группу эндокринопатий данные пациентки изолированно по этому признаку отнесены не были. На III месте среди заболеваний, сопутствующих ПЭ, стоит патология почек (32,26%), преимущественно хронический пиелонефрит (52 наблюдения). Кроме того, имелись беременные с заболеваниями щитовидной железы, сахарным диабетом (I типа и гестационным), а также 16 человек (8,6%) с хроническим холециститом.

Таблица 3 – Особенности соматического анамнеза беременных с сочетанной тяжелой преэклампсией

Заболевания	Тяжелая сочетанная ПЭ (n=186)	
	абс.	%
I. Заболевания сердечно-сосудистой системы:	95	51,08
- гипертоническая болезнь	52	27,95
• I степени	20	10,75
• II степени	24	12,9
• III степени	8	4,3
- симптоматическая артериальная гипертензия	25	13,44
• I степени	19	10,21
• II степени	6	3,23
- нейроциркуляторная дистония	15	8,06
- пороки сердца:	34	18,28
• гемодинамически незначимый пролапс митрального клапана	9	4,84
• недостаточность митрального клапана	16	8,6
• недостаточность трикуспидального клапана	5	2,69
• стеноз легочной артерии	1	0,54
• недостаточность клапана легочной артерии	2	1,08
• недостаточность аортального клапана	1	0,54
II. Эндокринопатии:		
- гипертиреоз	4	2,15
- гипотиреоз	4	2,15
- сахарный диабет:	13	6,99
• тип I	6	3,23
• гестационный	7	3,76
III. Ожирение (ИМТ Кетле определялся на основании данных о массе тела перед беременностью)	87	46,77
- I степени	43	23,12
- II степени	19	10,21
- III степени	25	13,44
IV. Заболевания почек:	60	32,26
- хронический пиелонефрит	52	27,96
- хронический гломерулонефрит	10	5,38
V. Заболевания печени и желчевыводящих путей	16	8,6

В Таблице 4 приведены данные об особенностях гинекологического анамнеза обследуемых.

У большинства обследуемых менструальный цикл был регулярный нормопонирующий, нарушение цикла по типу опсоменореи имело место в 3 (1,48%) случаях, дисменорея наблюдалась в 5 (2,46%) наблюдениях.

Анализируя гинекологический анамнез, следует отметить, что 124 (61,08%) пациенток с тяжелой ПЭ имели в анамнезе гинекологические заболевания, у 24 (11,82%) из них анамнез был отягощен бесплодием (длительностью от 2 до 17 лет).

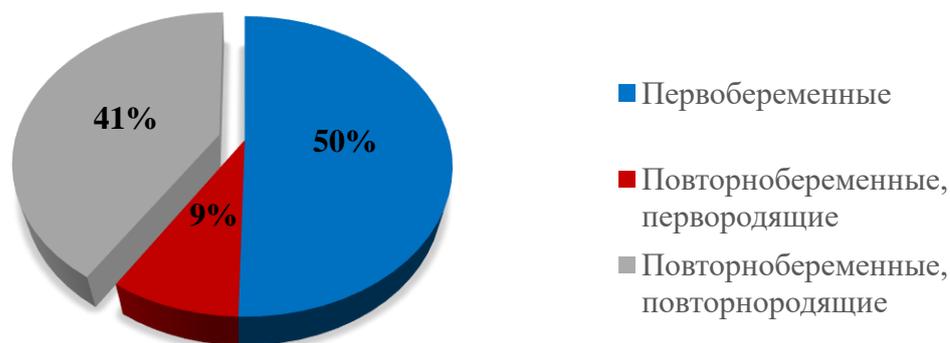
Таблица 4 – Особенности гинекологического анамнеза обследуемых женщин

А. Параметр цикла Б. Заболевание	n=244	
	абс.	%
А. Характеристика цикла		
I. Регулярный и нормопонирующий	211	86,48
II. Нарушения цикла:	33	13,52
- изменение объема кровотечения	5	2,05
- нарушение продолжительности цикла	15	6,15
- нарушение длительности кровотечения	11	4,51
- болезненность	8	3,28
Б. Гинекологический анамнез		
I. Анамнез не отягощен	149	61,1
II. Отягощенный анамнез:	95	38,9
- хронический сальпингоофорит	21	8,6
- миома матки	17	6,96
- эндометриоз	5	2,05
- доброкачественные опухоли яичников	6	2,46
- эрозия шейки матки	35	14,34
- аномалия строения матки	3	1,23
- медицинские аборт	42	17,21
- самопроизвольные аборт	26	10,65
- бесплодие	28	11,47
• первичное	18	7,37
• вторичное	10	4,1
- истмико-цервикальная недостаточность	6	2,46

Данные об акушерском анамнезе обследуемых представлены на Рисунке

5.

Рисунок 5 – Распределение обследуемых беременных по паритету беременностей и родов



Очевидно, что за указанный период времени, из обследованных беременных большую часть составляют нерожавшие (144 человека; 59,02%), тем самым подтверждая утверждение о том, что ПЭ в основном страдают женщины с предстоящими I родами.

Далее в Таблице 5 представлены исходы предыдущих беременностей у женщин с предстоящими повторными родами.

Таблица 5 – Исходы предыдущих беременностей пациенток с предстоящими повторными родами

Исход беременностей	n=100	
	абс.	%
Естественные роды (от 1 до 6, среднее количество 1,75; SD=1,09)	75	75
Операция кесарево сечение, показания:	25	25
- тяжелая ПЭ	11	11
- аномалии родовой деятельности	8	8
- неправильное положение или предлежание плода	3	3
- преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты	1	1
- предлежание плаценты	1	1
- тяжелая экстрагенитальная патология	1	1

У четверти обследуемых с предстоящими повторными родами, предыдущая беременность закончилась операцией кесарево сечение, показанием к которой у 11 человек явилась тяжелая ПЭ. Всего же в анамнезе это осложнение беременности встречалось у 20 пациенток и развилось

повторно при данной беременности, у 3 из них тяжелая ПЭ привела к антенатальной гибели плода при прошлых беременностях.

3.2. Особенности течения и исход настоящей беременности

Данные об особенностях течения настоящей беременности представлены в Таблице 6, при этом информация об осложнениях беременности представлена до манифестации ПЭ.

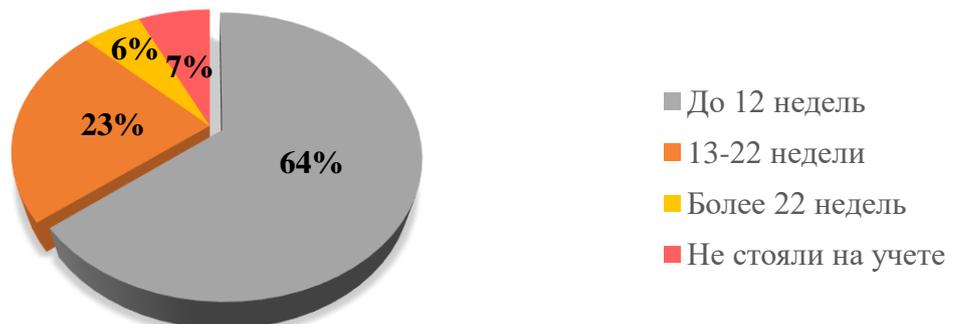
Таблица 6 – Особенности течения настоящей беременности

	Тяжелая ПЭ (n=244)	
	абс.	%
Без особенностей	103	42,21
Особенности:	141	57,79
- ранний токсикоз	42	17,21
- угроза прерывания	85	34,83
- гестационный пиелонефрит	28	11,47

У 85 обследуемых (34,84%) I триместр протекал на фоне угрозы прерывания беременности, ранний токсикоз осложнил течение беременности 42 (17,21%) обследуемых пациенток, гестационный пиелонефрит – 28 (11,46%) человек (к моменту обследования находился в стадии ремиссии).

Распределение беременных с тяжелой ПЭ по группам, в зависимости от срока постановки на учет, представлено на Рисунке 6.

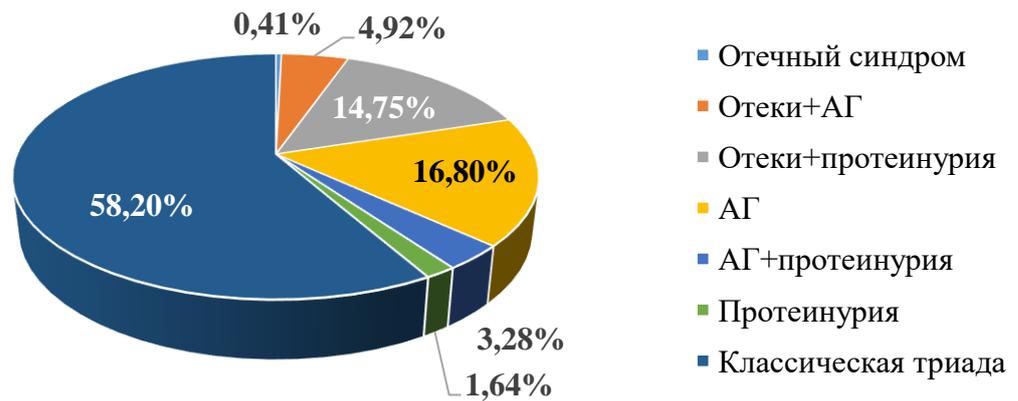
Рисунок 6 – Срок постановки на учет беременных с тяжелой преэклампсией



Примечательным является тот факт, что 17 (6,97%) пациенток с развившейся в дальнейшем тяжелой ПЭ не стояли на учете в женской консультации и впервые при настоящей беременности были обследованы уже после манифестации ПЭ. Ранняя постановка на учет (до 12 недель гестации) среди наблюдаемых амбулаторно имела место лишь в 157 случаях (64,34%). Средний срок первой явки составил 11,9 (SD 5,1) недель, максимальный – 34 недели.

На Рисунке 7 представлено распределение женщин с тяжелой ПЭ по классическим клиническим ее проявлениям при постановке диагноза «тяжелая ПЭ» в стационаре.

Рисунок 7 – Основные клинические проявления тяжелой преэклампсии



В нашем исследовании мы наблюдали несколько клинических вариантов ПЭ: классическая триада Цангемейстера наблюдалась в 58,2% (142 женщины) случаев, отечно-протеинурическая форма имела место в 14,75% (36 случаев) наблюдений, на основании изолированной высокой АГ диагноз тяжелой ПЭ был поставлен в 16,8% случаев (к клинике присоединялись и другие критерии тяжелой ПЭ).

На Рисунках 8 и 9 приведены данные ультразвукового исследования плода на момент постановки диагноза «поздняя ПЭ».

Рисунок 8 – Соответствие размеров плода гестационному возрасту по данным УЗИ

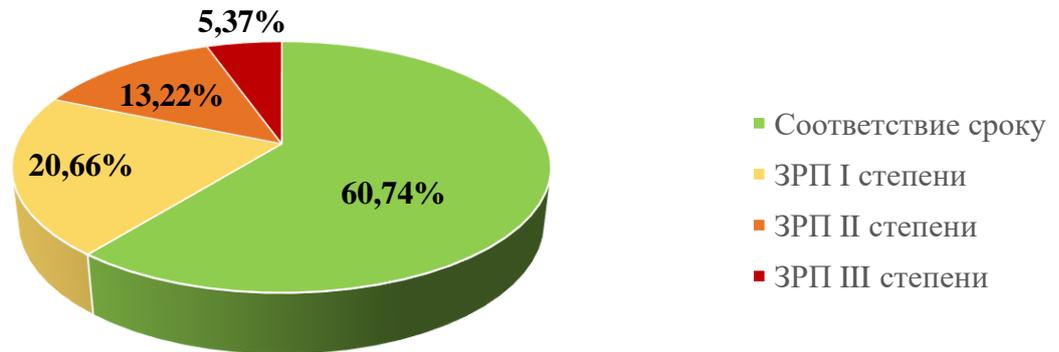
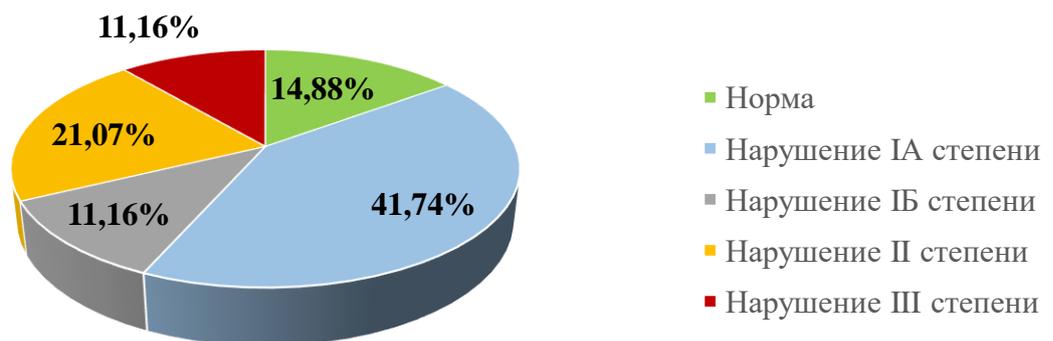


Рисунок 9 – Состояние маточно-плодово-плацентарного кровотока при тяжелой ПЭ по данным ультразвукового исследования



Обращает на себя внимание, что у большого количества пациенток с тяжелой ПЭ имела место плацентарная недостаточность, выражающаяся задержкой роста плода, при этом суб- (ЗРП II степени) и декомпенсация (ЗРП III степени) имели место в 13,22% и 5,37% соответственно. В 2 случаях осложнением тяжелой ПЭ явилась антенатальная гибель плода (в 32 и 35 недель гестации), в обоих случаях беременные были родоразрешены путем операции кесарево сечение, показанием к которой явилась прогрессирующая преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты. Критическое нарушение МППК имело место у 27 пациенток и явилось показанием к экстренному абдоминальному родоразрешению.

Таблица 7 – Исход настоящей беременности

Исход беременности	n=244	
	абс.	%
- срочные роды	95	38,93
- преждевременные роды	149	61,07
Естественные роды		
Всего	72	29,5
Операция кесарево сечение		
Всего	172	70,5
Особенности операции:		
- гипотоническое кровотечение	6	3,49
- перевязка маточных артерий	80	46,51
- перевязка внутренних подвздошных артерий	31	18,02
Показания к операции:		
- аномалии родовой деятельности	10	5,8
- функционально узкий таз	2	1,2
- острая гипоксия плода	33	19,2
- преждевременная отслойка плаценты	10	5,8
- отсутствие эффекта от лечения, отрицательная динамика в течение ПЭ	75	43,6
- сочетание с отягощенным акушерским анамнезом	14	8,1
- сочетание с рубцом на матке после ОКС	17	9,9
- сочетание с тяжелой экстрагенитальной патологией	8	4,7
- неправильное положение плода	3	1,7

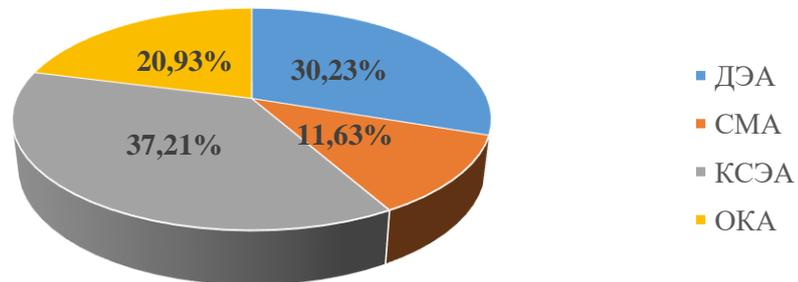
При рассмотрении исходов настоящей беременности (Таблица 7) следует отметить, что только 95 женщин (38,93%) были родоразрешены в срок, досрочно же – 149 (61,07%) беременных, средний срок родоразрешения составил 35,12 (SD 3,1) недель беременности. Большое количество преждевременных родов в этой группе пациенток объясняется прогрессирующим течением тяжелой ПЭ, что требовало досрочного родоразрешения. Роды через естественные родовые пути при тяжелой ПЭ велись только при благоприятной акушерской ситуации: удовлетворительном состоянии роженицы и плода, достигнутых лечением стабильных гемодинамических показателей, головном предлежании некрупного плода, при отсутствии абдоминального родоразрешения в анамнезе и других акушерских осложнений. Все естественные роды проводились под

эпидуральной анестезией. Всего к родам было допущено 95 (38,9%) пациенток с тяжелой ПЭ, однако у 23 из них роды были завершены путем операции кесарево сечение в экстренном порядке: у 9 диагностирован острый дистресс плода при отсутствии условий для немедленного родоразрешения через естественные родовые пути, у 10 в I периоде родов диагностированы аномалии родовой деятельности (у 2 дискоординация, у 8 - слабость родовой деятельности), у 2 рожениц в начале II периода родов выявлены признаки абсолютного функционального несоответствия размеров головки плода тазу матери, а еще у 2 выявлена преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты в I периоде родов, которая и явилась показанием для абдоминального родоразрешения.

У 80 пациенток (46,51%) во время операции кесарево сечение была выполнена перевязка сосудистых пучков матки, а в 31 случае (18,02%) – перевязка внутренних подвздошных артерий. Расширение объема хирургического вмешательства было произведено в 6 случаях в связи с резвившимся интраоперационно гипотоническим кровотечением, в остальных случаях – с целью профилактики его возникновения во время операции и послеоперационном периоде. Однако следует отметить, что профилактическая перевязка внутренних подвздошных артерий в начале рассматриваемого периода (2009-2010 гг.) проводилась практически рутинно при абдоминальном родоразрешении пациенток с тяжелой ПЭ. Среднее время абдоминального родоразрешения составило 45,4 (SD 14,1) минут.

Основными методами анестезии при операции кесарево сечение были выбраны комбинированная спинально-эпидуральная анестезия (64 случая; 37,21%) и длительная эпидуральная анестезия (52 случая; 30,23%). Выбор последней обусловлен нередким принятием решения об экстренном оперативном родоразрешении уже в родах при первоначально выбранной тактике ведения родов через естественные родовые пути (Рисунок 10).

Рисунок 10 – Методы обезболивания при родоразрешении путем операции кесарево сечение беременных с тяжелой преэклампсией



Данные о состоянии новорожденных представлены в Таблицах 8 и 9.

Таблица 8 – Морфофункциональные показатели новорожденных от матерей с тяжелой ПЭ (n=244)

Масса новорожденных	абс.	%
Нормальный вес (более 2500 гр.)	84	34,42
Низкая масса тела (1500-2499 гр.)	112	45,90
Очень низкая масса тела (1000-1499 гр.)	36	14,76
Экстремально низкая масса тела (менее 1000 гр.)	12	4,92
Оценка по шкале В. Апгар		
I. Время	баллы (mean)	SD
I минута	6,8	1,3
V минута	7,8	1,5
II. Распределение по группам (n=242)	абс.	%
8-10 баллов	69	28,51
5-7 баллов	159	65,70
1-4 балла	4	1,66
Искусственная вентиляция легких на I сутки жизни	10	4,13

Масса новорожденных была в интервале от 730 гр. до 4600 гр., средняя масса составила 2240,92 грамма (SD 836,66; нижний квартиль 1675 гр., верхний квартиль 2810 гр.), причем большинство детей имели низкую массу тела (112; 45,9%).

Таблица 9 – Выхаживание новорожденных от пациенток с тяжелой ПЭ (n=242)

Необходимость в ИВЛ на I этапе выхаживания	абс.	%
Да	50	20,66
Нет	192	79,34
Введение сурфактанта	29	11,98
Перевод на следующий этап выхаживания	абс.	%
Переведены	163	67,35
Выписаны с матерью	73	30,17
Смерть в раннем неонатальном периоде	6	2,48
Длительность выхаживания на I этапе	mean	SD
Количество дней	7,4	3,4

Таким образом, у большей части больных с тяжелой ПЭ наблюдается классическая симптоматика ПЭ с наличием триады Цангемейстера. Рассматриваемое осложнение беременности значимо влияет на срок и метод родоразрешения, характерна низкая масса новорожденных от матерей с тяжелой ПЭ, большинство рождается в состоянии гипоксии (оценка по Апгар 5-7 баллов и ниже), выхаживание детей требует длительного пребывания в стационаре с переводом на следующий этап выхаживания и использования современных реанимационных мероприятий.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНЫХ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1. Результаты исследования ангиогенного статуса у беременных изучаемых групп

Средние значения со средними ошибками среднего (m) рассматриваемых показателей, в том числе и введенных нами в исследование нового показателя – отношения концентраций растворимой формы рецептора sFlt-1 и его субстрата VEGF-A (sFlt-1/VEGF) – представлены в Таблице 10.

Таблица 10 – Содержание VEGF и sFlt-1 в сыворотке крови обследуемых женщин

Группы обследуемых	VEGF пг/мл	sFlt-1 пг/мл	sFlt-1/VEGF абс.
Тяжелая ПЭ (n=34)	14,18 ± 2,5*	4362 ± 570,12* ⁺	503,37 ± 67*** ⁺
Отсутствие ПЭ (n=30)	22,71 ± 2,2	1080 ± 435*	86,22 ± 11,81**
Небеременные (n=30)	444,07 ± 23,83	56,13 ± 6,03	0,17 ± 0,22

Знаком (*) отмечены статистически значимые отличия групп пациенток с тяжелой ПЭ и без нее от небеременных: (*) – $p < 0,05$; (**) – $p < 0,01$. Знаком (⁺) отмечены статистически значимые отличия пациенток с тяжелой ПЭ от беременных женщин без ПЭ: (⁺) – $p < 0,05$.

Очевидно, что у женщин с тяжелой ПЭ имеет место значимое снижение концентрации VEGF и повышение сывороточного уровня sFlt-1, что отражает изменение ангиогенного статуса беременной женщины, страдающей ПЭ, в сторону преобладания влияния антиангиогенного фактора. Обращает на себя внимание значение введенного нами суррогатного маркера sFlt-1/VEGF, отражающего отношение изучаемых факторов. При тяжелой ПЭ имеет место шестикратное повышение этого показателя, что говорит о выраженных изменениях в развитии и функционировании сосудистой системы плаценты и выражается значимым снижением содержания проангиогенного VEGF. Наличие отрицательной корреляции в значениях концентраций sFlt-1 и VEGF можно объяснить способностью связывать sFlt-1 ангиогенные факторы (в первую очередь VEGF), что приводит к дисфункции эндотелиальных клеток и реализуется в виде гипертензии, протеинурии и других проявлений ПЭ.

Был выполнен поиск связей маркеров ангиогенного статуса обследуемых женщин с критериями, характеризующими состояние их здоровья, данными объективного исследования, с количественными показателями лабораторных и инструментальных методов обследования, со сроком гестации, методом и способом родоразрешения, показателями, характеризующими состояние новорожденного. Кроме того, обращалось внимание на особенности течения послеродового и неонатального периодов. В следующих таблицах показаны наиболее значимые взаимоотношения изучаемых факторов, в целом же проводился поиск связей концентрации изучаемых сывороточных маркеров с более чем 100 различными количественными показателями, полученными в ходе клинико-лабораторного обследования и анализе исходов беременности при тяжелой ПЭ.

При анализе взаимосвязи уровня проангиогенного VEGF-A с указанными выше параметрами самая сильная и значимая связь была найдена с протеинурией. Причем эта связь была больше у группы беременных без ПЭ (Таблица 11).

Таблица № 11 – Корреляция сывороточного уровня VEGF-A с анализируемыми параметрами

Признак	Тяжелая ПЭ n=34		Отсутствие ПЭ n=30		Небеременные n=30	
	r	p	r	p	r	p
Количество симптомов триады	-0,61	<0,0001	-	-	-	-
Протеинурия	-0,48	0,0254	-0,68	<0,0001	-	-
TIMP-2	-0,48	0,0003	-0,25	0,1027	0,26	0,0794
sVEGF-R1	-0,18	0,2143	-0,42	0,0043	-0,26	0,0849
TIMP-2/MMP-2	-0,52	<0,0001	-0,075	0,6244	-0,043	0,7798

Снижение в периферической крови VEGF-A сопряжено с увеличением теряемого с мочой белка. Полученные нами результаты подтверждают наличие патогенетического механизма, имеющего место при тяжелой ПЭ: «дефект инвазии – снижение VEGF-A – гломерулярно-капиллярный

эндотелиоз – протеинурия». Также найдена значимая связь с количеством симптомов триады Цангемейстера ($r=-0,61$; $p<0,0001$). При классическом течении ПЭ (наличии отеков, протеинурии и артериальной гипертензии) уровень анализируемого ангиогенного фактора ниже, чем при ПЭ, протекающей бисимптомно или моносимптомно. В этом случае количество VEGF отражает глубину изменений в органах и системах при тяжелой ПЭ.

Поскольку VEGF-A индуцирует образование матриксных металлопротеиназ, участвующих в ангиогенезе, была прослежена взаимосвязь анализируемого проангиогенного фактора с ними. Косвенно наличие связи подтверждает определенная только в группе тяжелой ПЭ отрицательная значимая корреляция уровня VEGF с TIMP-2, ингибирующим нормальный ангиогенез ($r=-0,48$; $p=0,0003$).

Мы посчитали необходимым рассмотреть такого суррогатного маркера как соотношение TIMP-2 и его субстрата – MMP-2, в результате была обнаружена обратная значимая связь VEGF и TIMP-2/MMP-2 ($r=-0,52$; $p<0,0001$).

Интересные данные получены при анализе корреляционных отношений антиангиогенного sFlt-1 (Таблица 12).

Таблица 12 – Корреляция сывороточного уровня sFlt-1 и соотношения sFlt-1/VEGF-A с анализируемыми параметрами

Признак	Тяжелая ПЭ n=34		Отсутствие ПЭ n=30		Небеременные n=30		Общее количество n=94	
	r	p	r	p	r	p	r	p
sFlt-1								
Количество симптомов триады	0,56	<0,0001	-	-	-	-	0,56	<0,0001
Протеинурия	0,49	0,0198	0,16	0,303	-	-	0,82	<0,0001
Азот мочевины	0,49	0,0237	-0,23	0,1258	0,31	0,0408	0,36	<0,0001
sICAM-1	0,48	0,0004	0,02	0,8889	0,17	0,2656	0,36	<0,0001
sVCAM-1	0,46	0,0007	0,5	0,0005	-0,08	0,6126	0,35	<0,0001
Кровопотеря при ОКС	0,13	0,5084	-0,58	0,006	-	-	-0,34	0,0198

Признак	Тяжелая ПЭ n=34		Отсутствие ПЭ n=30		Небеременные n=30		Общее количество n=94	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Тромбоциты	-0,44	0,0384	0,03	0,834	0,11	0,4642	-0,32	0,0005
Фибриноген	-0,34	0,1171	0,09	0,5597	-0,5	0,0004	0,69	<0,0001
Масса последа	-0,29	0,1732	0,57	0,0068	-	-	-0,44	0,0027
Масса новорожденного	-0,2	0,1676	0,36	0,0139	-	-	-0,41	<0,0001
VEGF-A	-0,18	0,2143	-0,42	0,0043	-0,26	0,0849	-0,75	<0,0001
sFlt-1/VEGF-A								
Протеинурия	0,85	<0,0001	-	-	-	-	0,85	<0,0001
Количество симптомов триады	0,59	<0,0001	-	-	-	-	0,59	<0,0001
sICAM-1	0,46	0,0007	-0,14	0,3492	0,12	0,4158	0,36	<0,0001
sVCAM-1	0,46	0,0008	0,26	0,0837	-0,14	0,12219	0,33	<0,0001
Азот мочевины	0,45	0,0419	-0,11	0,4886	0,19	0,2089	0,37	<0,0001
TIMP-2/MMP-2	0,44	0,0011	-0,09	0,5441	0,15	0,3094	0,17	0,0481
Масса последа	-0,35	0,0963	0,79	<0,0001	-	-	-0,48	0,0007
Рост новорожденного	-0,3	0,0317	0,39	0,0082	-	-	-0,49	<0,0001
Масса новорожденного	-0,23	0,0999	0,41	0,0047	-	-	-0,4	<0,0001

Значимая прямая связь с уровнем протеинурии ($r=0,49$; $p=0,02$) и количеством симптомов классической триады ($r=0,49$; $p<0,0001$) позволяет говорить о прямо противоположном действии VEGF и его рецептора. Увеличение содержания sFlt-1 сопровождается потерей белка и появлением клинических признаков ПЭ. Обнаружена связь также с еще одним показателем функции почек – азотом мочевины.

Практически равная положительная корреляционная связь найдена нами между антиангиогенным рецептором васкуло-эндотелиального фактора роста sFlt-1 и молекулами адгезии sICAM-1 и sVCAM-1 ($r=0,48$; $p=0,0004$ и $r=0,46$; $p=0,0007$ соответственно). Полученные результаты, по нашему мнению, отражают однонаправленное действие sFlt-1, sICAM-1 и sVCAM-1 в реализации дисфункции эндотелия при ПЭ. Аналогичная связь найдена и с маркером, отражающим соотношение sFlt-1 со своим лигандом (sFlt-1/VEGF-A).

Невыраженная корреляция обнаружена между показателями уровня тромбоцитов, фибриногена, временем оперативного родоразрешения в основной группе и группе сравнения, а также весовыми показателями новорожденного и последа. Однако мы упоминаем о ней в контексте того, что факт наличия ПЭ меняет в рассматриваемых группах знак коэффициента корреляции на противоположный и в очередной раз подтверждает различия между группами пациенток с физиологически протекающим гестационным процессом и беременных с тяжелой ПЭ по анализируемому антиангиогенному фактору.

Вышесказанное также подтверждает характер взаимосвязи с анализируемым параметрами соотношения sFlt-1/VEGF-A. Очень высокая значимая связь прослеживается с уровнем протеинурии ($r=0,85$; $p<0,0001$), также имеется корреляция с клиникой ПЭ и sICAM-1 и sVCAM-1, причем эта связь имеет место лишь в основной группе.

Содержание молекул адгезии приводится в Таблице 13.

Таблица 13 – Содержание sICAM-1, sVCAM-1 и их соотношения sVCAM-1/sICAM-1 в сыворотке крови обследуемых женщин

Группы обследуемых	sICAM-1 нг/мл	sVCAM-1 нг/мл	sVCAM-1/sICAM-1 абс.
Тяжелая ПЭ (n=34)	270,15 ± 48,2*	1391 ± 308,33* ⁺	5,25 ± 0,78 ⁺
Отсутствие ПЭ (n=30)	231,21 ± 37,1*	966,2 ± 165,25	4,48 ± 0,51
Небеременные (n=30)	192,7 ± 24,4	981,25 ± 214,1	5,12 ± 0,64

Знаком (*) отмечены статистически значимые отличия групп пациенток с тяжелой ПЭ и без нее беременных от небеременных: (*) – $p < 0,05$. Знаком (⁺) отмечены статистически значимые отличия пациенток с тяжелой ПЭ от беременных женщин без ПЭ: (⁺) – $p < 0,05$.

В нашем исследовании найдено значимое повышение сывороточной концентрации обеих рассматриваемых молекул адгезии при тяжелой ПЭ. Нами обнаружено превышение концентрации sICAM-1 в сыворотке крови беременных из группы сравнения над пациентками с тяжелой ПЭ, а в отношении sVCAM-1 наблюдается обратное. Повышенное содержание при рассматриваемом гипертензивном осложнении беременности этих агентов,

которые являются медиаторами воспаления эндотелия, в очередной раз подтверждают наличие тяжелого генерализованного эндотелиоза.

При рассмотрении корреляционных связей растворимых форм молекул адгезии VCAM-1 и ICAM-1 в первую очередь обращает на себя внимание высокая положительная взаимосвязь (Таблица 14), причем отмечена она только в группе с тяжелой ПЭ ($r=0,74$; $p<0,0001$).

Таблица 14 – Корреляция с анализируемыми параметрами сывороточного уровня sICAM-1, sVCAM-1 и соотношения sVCAM-1/sICAM-1

Признак	Тяжелая ПЭ n=34		Отсутствие ПЭ n=30		Небеременные n=30		Общее количество n=94	
	r	p	r	p	r	p	r	p
sICAM-1								
sVCAM-1	0,74	<0,0001	0,23	0,1373	0,36	0,016	0,51	<0,0001
MMP-9	0,31	0,0262	0,33	0,0258	0,68	<0,0001	0,51	<0,0001
sVEGF-R1	0,48	0,0004	0,02	0,8889	0,17	0,2656	0,36	<0,0001
sVEGF-R1/ VEGF-A	0,46	0,0007	-0,14	0,3492	0,12	0,4158	0,36	<0,0001
Гематокрит	-0,12	0,6073	-0,52	0,0002	-0,29	0,05	-0,009	0,9274
Тромбоциты	0,018	0,9353	0,5	0,0005	0,07	0,6407	0,16	0,1005
sVCAM-1								
sICAM-1	0,74	<0,0001	0,23	0,1373	0,36	0,0160	0,51	<0,0001
Масса последа	0,49	0,0148	0,21	0,3509	-	-	-0,18	0,2354
sVEGF-R1	0,46	0,0007	0,5	0,0005	-0,08	0,6126	0,35	<0,0001
sVEGF-R1/ VEGF-A	0,46	0,0008	0,26	0,0837	-0,14	0,12219	0,33	<0,0001
Оценка по Апгар на V минуте	-0,42	0,0023	0,27	0,0703	-	-	-0,41	<0,0001
Масса новорожденного	0,005	0,9727	0,45	0,0019	-	-	-0,1879	0,0668
sVCAM-1/sICAM-1								
Длительность ОКС	0,53	0,0049	-0,81	<0,0001	-	-	0,12	0,4065

Признак	Тяжелая ПЭ n=34		Отсутствие ПЭ n=30		Небеременные n=30		Общее количество n=94	
	г	р	г	р	г	р	г	р
Оценка по Апгар на I минуте	-0,53	<0,0001	0,1	0,5145	-	-	- 0,32	0,0017
Оценка по Апгар на V минуте	-0,46	0,0007	- 0,046	0,7672	-	-	- 0,37	0,0002
САД	0,46	0,0203	0,055	0,7183	-0,19	0,2147	0,05	0,5790
Диаст. АД	0,45	0,0252	-0,06	0,6754	-0,39	0,0089	- 0,03	0,7648
Масса последа	0,43	0,0354	-0,18	0,4387	-	-	- 0,03	0,8247
Тяжесть ПЭ по Гоек	0,41	0,0738	-	-	-	-	-	-

Обнаружено, что при увеличении показателя sVCAM-1/sICAM-1, при тяжелой ПЭ, увеличивается продолжительность абдоминального родоразрешения ($r=0,53$; $p=0,0049$), а при беременности, протекающей без ПЭ, наблюдается значимая обратная связь. Мы объясняем это тем, что одним из факторов увеличения длительности операции являются мероприятия, направленные на гемостаз. При ПЭ имеет место повышенная кровоточивость тканей, связанная с поражением системы микроциркуляции, маркером которого и является отношение sVCAM-1/sICAM-1. Средняя длительность операции и один из факторов, влияющих на нее – интраоперационная кровопотеря у беременных основной группы и группы сравнения – представлены в Таблице 15.

Таблица 15 – Продолжительность абдоминального родоразрешения и величина интраоперационной кровопотери беременных без ПЭ и пациенток с тяжелой ПЭ

	Тяжелая ПЭ (n=30)	Отсутствие ПЭ (n=34)	р
Продолжительность ОКС, минуты	48,4 ± 14,1	39,5 ± 9,6	0,028
Кровопотеря, мл	890,5 ± 251,3	720,2 ± 150,2	0,041

Соотношение sVCAM-1/sICAM-1 позволяет характеризовать еще один крайне важный показатель – состояние новорожденного. Чем выше значение данного коэффициента, тем ниже оценивался по шкале Апгар в первые минуты после рождения (I минута: $r=-0,53$; $p<0,0001$; V минута: $r=-0,46$; $p=0,0007$). При эндотелиальной дисфункции, приводящей к артериальной гипертензии, имеет место нарушение плодово-плацентарного кровотока. По нашему мнению, это объясняет связь повышения сывороточного содержания растворимой формы VCAM-1, участвующей в адгезии и миграции лейкоцитов к месту воспаления и в конечном счете в повреждении эндотелия, с гипоксическим поражением плода и низкой оценкой новорожденного.

Средние значения рассматриваемых металлопротеиназ 2 и 9 типов, тканевого ингибитора металлопротеиназ 2 типа, а также введенных нами в исследование двух суррогатных маркеров – отношений TIMP-2/MMP-2 и MMP-9/MMP-2 – представлены в Таблице 16.

Таблица 16 – Содержание MMP-2, MMP-9, TIMP-2 в сыворотке крови обследуемых женщин

Группы испытуемых	MMP-2 нг/мл	TIMP-2 нг/мл	MMP-9 нг/мл	TIMP-2/MMP-2 абс.	MMP-9/MMP-2 абс.
Тяжелая ПЭ	26,27 ± 7,08	319,7 ± 22,08* ⁺	168,3 ± 46,45**	23,55 ± 4,53*	8,77 ± 2,4 ⁺⁺
Отсутствие ПЭ	30,01 ± 9,19	283,21 ± 17,18*	171,59 ± 53,5**	22,14 ± 3,9	13,65 ± 2,8**
Небеременные	27,41 ± 5,83	245,71 ± 11,63	31,26 ± 6,2	18,95 ± 4,06	2,05 ± 0,56

Знаком (*) отмечены статистически значимые отличия групп пациенток с тяжелой ПЭ и без нее от небеременных: (*) – $p < 0,05$; (**) – $p < 0,01$. Знаком (+) отмечены статистически значимые отличия пациенток с тяжелой ПЭ от беременных женщин без ПЭ: (+) – $p < 0,05$; (++) – $p < 0,01$.

Очевидно, что при тяжелой ПЭ имеет место повышение уровня TIMP-2, незначительное снижение обеих металлопротеиназ, а также характерно некоторое снижение соотношения MMP-9/MMP-2 по сравнению с беременными из группы сравнения.

Сравнение концентраций металлопротеиназ 2 и 9 типа показало их значимую положительную корреляцию ($r=0,53$; $p<0,0001$) (Таблицы 17 и 18).

Таблица 17 – Корреляция с анализируемыми параметрами сывороточного уровня MMP-2 и TIMP-2

Признак	Тяжелая ПЭ n=34		Отсутствие ПЭ n=30		Небеременные n=30		Общее количество n=94	
	r	p	r	p	r	p	r	p
MMP-2								
MMP-9	0,53	<0,0001	-0,04	0,7620	0,21	0,1575	0,165	0,0492
Оценка по Апгар на I минуте	0,48	0,0003	-0,15	0,3225	-	-	0,115	0,2609
Фибриноген	0,34	0,1197	-0,69	<0,0001	0,09	0,5356	-0,17	0,0792
Масса новорожденного	0,3	0,0329	0,66	<0,0001	-	-	0,29	0,0043
Рост новорожденного	0,3	0,0257	0,53	0,0002	-	-	0,23	0,0224
АлТ	-0,56	0,0193	0,06	0,6920	0,016	0,9165	0,82	0,4016
Длительность ОКС	-0,39	0,0444	-0,49	0,0253	-	-	-0,25	0,0910
TIMP-2	-0,07	0,6323	0,575	<0,0001	0,15	0,3254	0,2	0,0145
TIMP-2								
Протеинурия	0,56	0,0062	-0,15	0,3334	-	-	0,33	0,0003
VEGF-A	-0,48	0,0003	-0,25	0,1027	0,26	0,0794	-0,46	<0,0001
Кровопотеря при ОКС	0,42	0,0306	0,15	0,5042	-	-	0,27	0,0589
MMP-9/MMP-2	0,4	0,0035	-0,37	0,0133	-0,18	0,2311	0,12	0,1505
sFlt-1/VEGF-A	0,38	0,0056	0,27	0,0752	0,29	0,0548	0,46	<0,0001
sFlt-1	0,22	0,1198	0,2	0,1878	0,38	0,0103	0,45	<0,0001
Общий белок	-0,47	0,0268	-0,44	0,0025	0,05	0,7427	-0,32	0,0006
Фибриноген	-0,27	0,2288	-0,72	<0,0001	0,08	0,6155	0,15	0,1229
Рост новорожденного	-0,14	0,3245	0,53	0,0002	-	-	-0,04	0,6928
Масса новорожденного	-0,15	0,3069	0,51	0,0004	-	-	-0,035	0,7349
MMP-2	-0,07	0,6323	0,575	<0,0001	0,15	0,3254	0,21	0,0145

Таблица 18 – Корреляция с анализируемыми параметрами сывороточного уровня MMP-9

Признак	Тяжелая ПЭ n=34		Отсутствие ПЭ n=30		Небеременные n=30		Общее количество n=94	
	r	p	r	p	r	p	r	p
MMP-9								
sICAM	0,31	0,0262	0,33	0,0258	0,68	<0,0001	0,51	<0,0001
MMP-2	0,53	<0,0001	-0,05	0,7620	0,21	0,1575	0,17	0,0492
Тромбоциты	0,48	0,0237	-0,26	0,0837	-0,3	0,0478	-0,17	0,0694
Масса последа	0,48	0,0179	0,18	0,4387	-	-	-	0,2547
АЧТВ	0,45	0,0486	-0,16	0,3021	-0,09	0,5359	-0,25	0,0089
Оценка по Апгар на I минуте	0,44	0,0014	-0,31	0,0386	-	-	0,12	0,2609
Длительность ОКС	-0,34	0,0836	0,68	0,0006	-	-	0,11	0,4541

Найдены статистически значимые корреляции содержания MMP-2 с уровнем АсТ (обратная связь), росто-весовыми характеристиками новорожденного (положительная связь), а концентрации TIMP-2 с уровнем протеинурии, длительностью операции (положительная связь), с уровнем общего белка (обратная связь); MMP-9 с показателями свертывающей системы (количество тромбоцитов, АЧТВ – положительная связь), особенностями состояния фетоплацентарного комплекса (оценка по шкале Апгар, масса последа – положительная связь). Ожидаемой значимой зависимости MMP-2 от ее ингибитора TIMP-2 при анализе данных, полученных при обследовании основной группы, обнаружено не было.

Обратная статистически значимая корреляция была обнаружена между VEGF-A и TIMP-2 ($r=-0,48$; $p=0,0003$) и положительная между отношениями TIMP-2/MMP-2 и sFlt-1/ VEGF-A ($r=0,44$; $p=0,0011$).

Значимое снижение соотношения MMP-9/MMP-2 и взаимная положительная корреляция обеих MMPs ($r=0,53$; $p<0,0001$) при тяжелой ПЭ говорит о конкордантном действии обоих металлопротеиназ, с самого начала беременности участвующих в формировании сосудистой сети плаценты.

Различия между группами определены с помощью метода дискриминантного анализа, из полного комплекса данных клинико-лабораторного обследования выделен ряд признаков, которым в максимальной степени различаются анализируемые группы. Ниже представлен график распределения в дискриминантных осях проанализированных наблюдений при оценке основных витальных функций исследуемых (состояние сердечно-сосудистой системы, печени, почек, показателей клинического анализа и свертывающей системы крови) и маркеров ангиогенного статуса в основной, контрольной группах и группе сравнения (Рисунок 11), а также стандартизованные коэффициенты для двух дискриминантных осей, введенные для уменьшения размерности исследуемых признаков (Таблица 19). Ряд признаков с максимальным модулем коэффициентов выделен жирным шрифтом.

Рисунок 11 – Распределение в дискриминантных осях проанализированных наблюдений

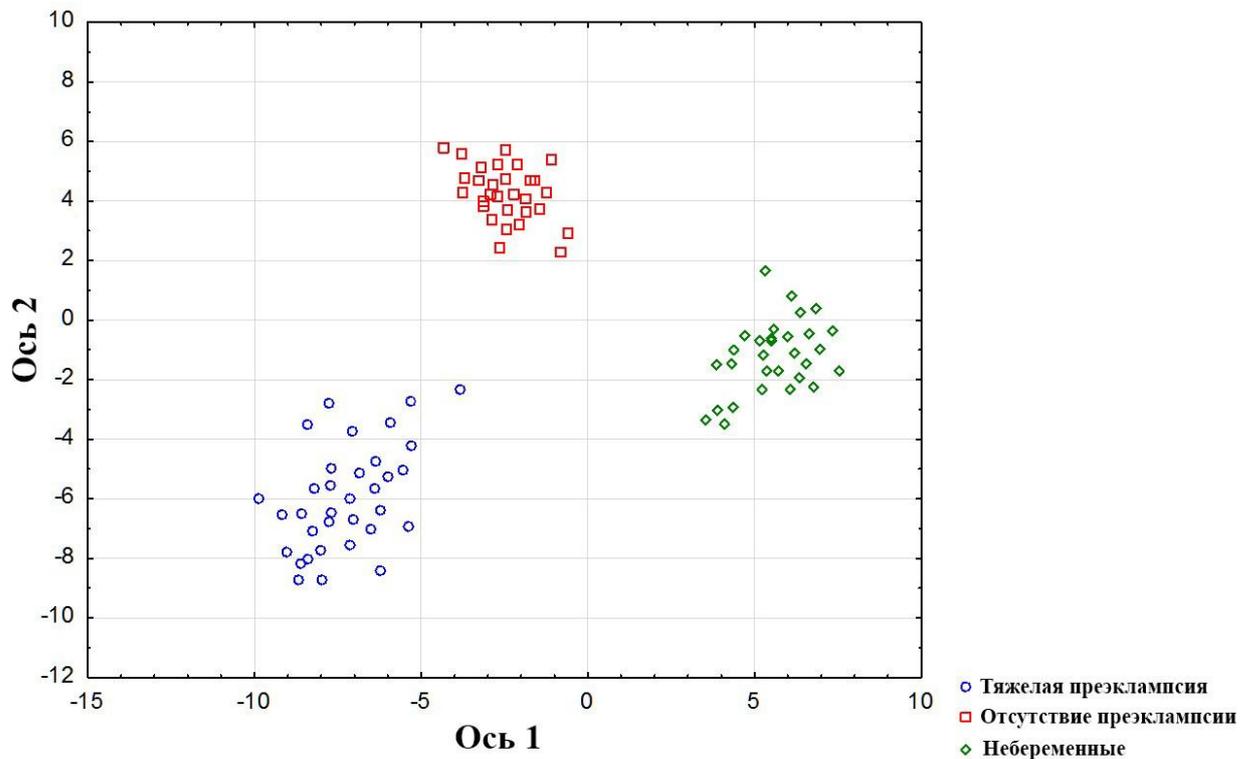


Таблица 19 – Оценка степени вклада отдельных признаков в формирование дискриминантных функций

Признак	Стандартизованные коэффициенты для канонических переменных	
	Ось 1	Ось 2
Диастолическое АД	1,68995	7,8254
Среднее АД	-1,24694	-12,2476
Скорость оседания эритроцитов	-1,08305	0,4263
sVCAM-1/sICAM-1	-1,07091	-0,7093
Эритроциты	1,07788	0,4629
VEGF-A	1,00499	-0,0598
Общий белок	0,86071	0,7763
Гематокрит	-0,71692	1,2271
sVCAM-1	0,60453	0,8220
sVEGF-R1	-0,57357	-0,2520
Гемоглобин	0,56454	-0,1415
Фибриноген	-0,55509	-0,0277
Тромбоциты	0,50150	0,6790
TIMP-2	0,46751	0,7687
Лейкоциты	-0,41921	0,3227
MMP-2	-0,37086	-0,4675
MMP-9	-0,33816	0,0365
ПТВ	0,23074	0,3102
Протеинурия	-0,16560	-0,6252
Систолическое АД	-0,16034	4,1879
АЧТВ	0,08400	-0,4535
<i>Межгрупповая дисперсия</i>	<i>25,07184</i>	<i>16,7658</i>
<i>Суммарная межгрупповая вариация</i>	<i>0,59927</i>	<i>1,0000</i>

Наряду с общепринятыми признаками, объясняющими различия между женщинами с ПЭ, пациентками без ПЭ и небеременными (значения АД, уровень протеинурии, показатели коагулограммы) анализ позволил выделить основные характеристики ангиогенного статуса, по которым различаются обследуемые группы: VEGF-A (уменьшение содержания его отражается в смещении распределения данных влево), sVEGF-R1 (увеличение концентрации ведет к смещению данных влево), а также MMP-2, TIMP-2, MMP-9, sVCAM-1 и отношения sVCAM-1/sICAM-1. Лучше это продемонстрировано на Рисунке 12, где различия между группами определено только маркерами ангиогенного статуса.

Рисунок 12 – Распределение в дискриминатных осях проанализированных наблюдений (ангиогенный статус)

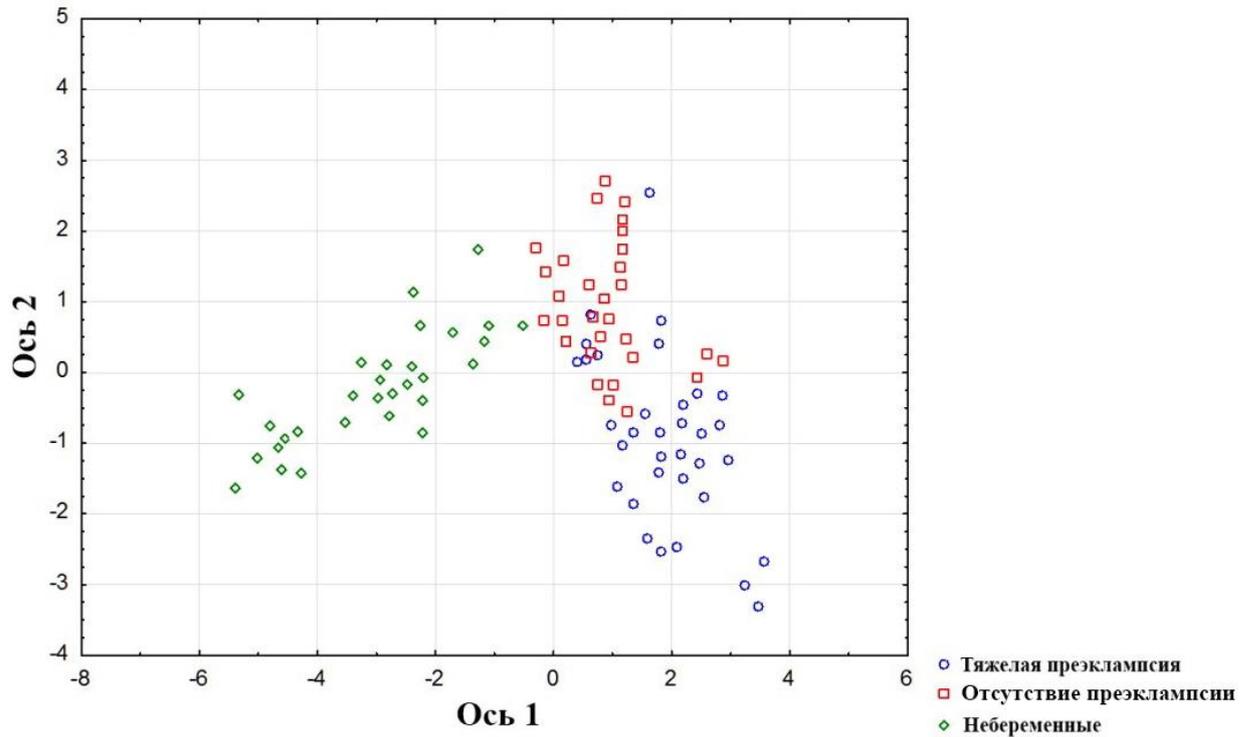


Таблица 20 – Оценка степени вклада отдельных показателей ангиогенного статуса в формирование дискриминантных функций

Признак	Стандартизованные коэффициенты для канонических переменных	
	Ось 1	Ось 2
VEGF-A	-0,811225	-0,368238
sVEGF-R1	0,684281	-0,996470
MMP-9/MMP-2	0,350628	0,368110
TIMP-2	0,309106	-0,114678
sVEGF-R1/ VEGF-A	-0,345213	0,281868
<i>Межгрупповая дисперсия</i>	<i>3,449665</i>	<i>0,470279</i>
<i>Суммарная межгрупповая вариация</i>	<i>0,880029</i>	<i>1,000000</i>

Таблица 21 – Итог дискриминантного анализа данных

n=94	Число переменных: 5, группирующие переменные: 3 группы; Лямбда Уилкса: 0,15285 p<0,0000				
	Лямбда Уилкса	Частная лямбда	Достигнутый уровень значимости	Толерантность	Коэффициент детерминации R ²
VEGF-A	0,339725	0,449931	0,000000	0,993688	0,006312
sVEGF-R1	0,209098	0,731008	0,000000	0,395220	0,604780
MMP-9/MMP-2	0,176689	0,865097	0,000061	0,972957	0,027043
TIMP-2	0,165296	0,924721	0,005281	0,961653	0,038347
sVEGF-R1/ VEGF-A	0,160275	0,953691	0,041718	0,393107	0,606893

Установлено, что основными статистически значимыми маркерами, по которым отличаются группы, являются проангиогенный VEGF-A (при пошаговой процедуре уже на I этапе показатель процента правильной переклассификации (Percent Correct) составил 100% для основной группы) и растворимая форма его рецептора sFlt-1. Дополнительными критериями являются показатели содержания обеих анализируемых металлопротеиназ, ингибитора протеиназы 2 типа и соотношение sFlt-1/VEGF-A. Остальные показатели при сравнении трех групп испытуемых при проведении данного анализа оказались малозначимыми.

Нами была поставлена задача установить наличие взаимосвязи между группой признаков, характеризующих ангиогенный статус исследуемых женщин с основными показателями ее здоровья: состояние свертывающей системы крови, функции почек и печени. Для этого использовался метод канонических корреляций.

В ходе исследования установлено, что наибольший коэффициент канонической корреляции (R), отражающий силу связи двух сравниваемых признаков, имеет место при анализе взаимосвязи показателей ангиогенного статуса с 2 группами параметров, характеризующих состояние свертывающей системы и функцию почек (Таблица 22).

Таблица 22 – Взаимосвязь показателей ангиогенного статуса с параметрами, характеризующими состояние свертывающей системы и функцию почек

Витальная функция	Скорректированный R на число наблюдений	Уровень значимости Pr > F
Состояние свертывающей системы крови	0,888489	<0,0001
Состояние почек	0,828744	<0,0001

Связь статистически значима, что подтверждается при использовании 4 критериев многомерных статистик: определении лямбды Уилкса, наибольшего корня Роя и признаков Пиллая и Хотеллинга-Лоули ($Pr > F < 0,0001$ во всех случаях).

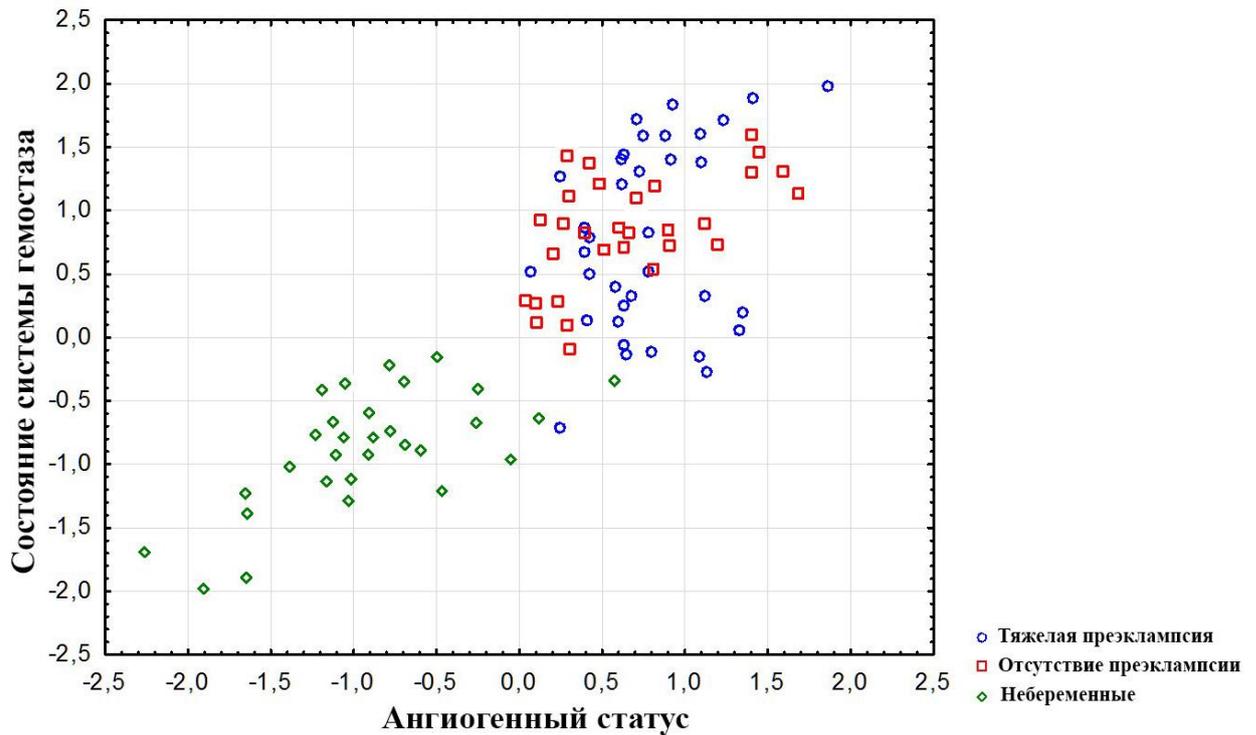
При исследовании взаимосвязи с состоянием системы гемостаза анализ стандартизованных канонических матриц показал, что в группе факторов ангиогенеза наибольший вклад в формирование канонической оси вносит VEGF-A (стандартизованный канонический коэффициент $R = -0,656$), являющийся проангиогенным и одним из ключевых для успешно протекающей беременности.

В то же время анализ отношений ангиогенного статуса и показателей функции почек показал, что в этом случае основным является антиангиогенный, прогностически неблагоприятный для нормально протекающей беременности sFlt-1 ($R = 0,6445$), а также растворимые молекулы адгезии sICAM-1 ($R = -0,4446$) и sVCAM-1 ($R = 0,7232$). Соответственно, выделяется и суррогатный маркер, введенный нами в исследование соотношения указанных молекул адгезии sVCAM-1/sICAM-1 ($R = -0,5789$).

Самым значимым фактором, отражающим состояние почек и коррелирующим с состоянием наблюдаемых женщин, является протеинурия (стандартизованный $R = 0,6079$), а в состоянии системы гемостаза – число тромбоцитов ($R = -0,3192$).

Влияние беременности на изменение ангиогенного статуса женщины позволяет проследить на Рисунке 13.

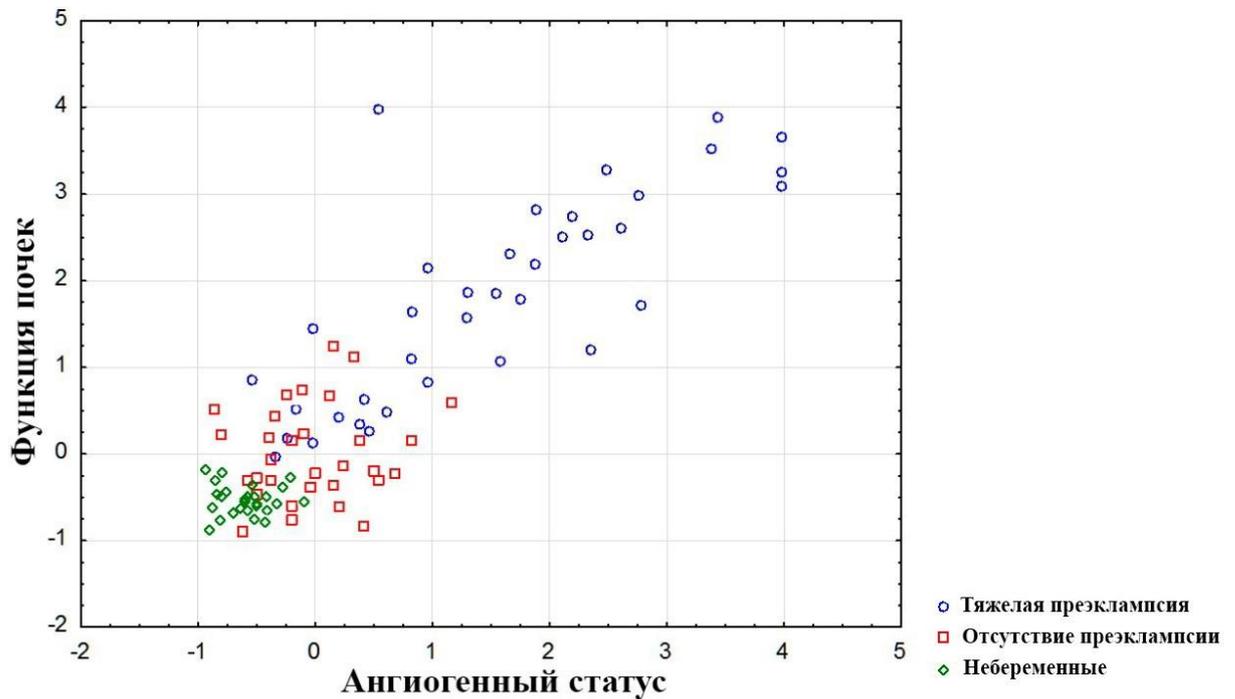
Рисунок 13 – Взаимосвязь ангиогенного статуса испытуемых с состоянием функции системы гемостаза



В данном случае идентификатором является состояние женщины. По показателям ангиогенного статуса и системы гемостаза отличаются небеременные женщины, а беременность (осложненная ПЭ или без нее) несет за собой при этом изменение по обеим каноническим осям и для основной группы, и для группы сравнения. Несмотря на различие трех сравниваемых групп, в общем имеется хорошо выраженная положительная корреляция. Это связано с дрейфом средних значений рассматриваемых признаков.

На Рисунке 14 показано распределение наблюдений в осях канонических функций, отражающих ангиогенный статус пациенток и состояние почек.

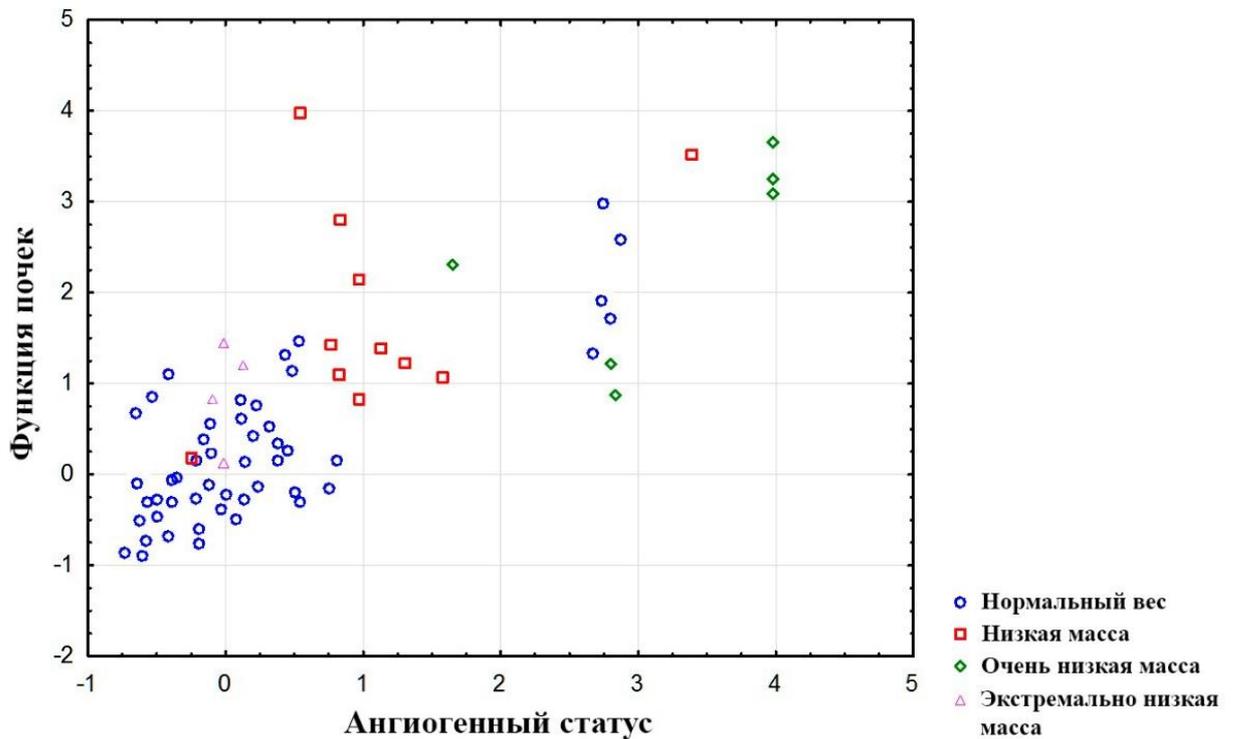
Рисунок 14 – Взаимосвязь ангиогенного статуса испытуемых с состоянием функции мочевыделительной системы



Очевидно, что в основной группе исследуемых имеется наибольшая вариабельность как по оси группы признаков ангиогенного статуса, так и по оси параметров, характеризующих функцию почек (протеинурия, азот мочевины, креатинин, удельный вес мочи). При анализе можно отметить, что сама беременность приводит к повышению вариабельности по двум группам рассматриваемых признаков, при этом значимая корреляция сохраняется и в группе сравнения, и в контрольной группе.

Интересно также графическое отображение взаимосвязи указанных групп признаков, идентифицируя при этом наблюдения по массе новорожденного (Рисунок 15).

Рисунок 15 – Взаимосвязь ангиогенного статуса испытуемых основной группы и группы сравнения с массой новорожденного



Хорошо видно, что масса тела новорожденного взаимосвязана не только со степенью тяжести ПЭ (в данном случае ее характеризует уровень протеинурии), но и соотносится с изменением ангиогенного статуса беременной женщины.

Несколько меньшая, но также значимая корреляция обнаружена нами при анализе взаимосвязи ангиогенного статуса испытуемых с состоянием функции сердечно-сосудистой системы и функции печени (Таблица 23).

Таблица 23 – Взаимосвязь ангиогенного статуса с состоянием функции сердечно-сосудистой системы и функции печени

Витальная функция	Скорректированный коэффициент канонической корреляции R	Pr > F	Вклад показателей ангиогенного статуса в изучение взаимосвязи с состоянием основных функций организма, R			
			sVEGF-R1	sICAM-1	sVCAM-1	sVCAM-1/sICAM-1
Состояние сердечно-сосудистой системы	0,639304	<0,0001	1,1122	-0,539	0,7224	-0,6428
Состояние функции печени	0,656409	<0,0001	1,2622	-0,533	0,8005	-0,517

В группе признаков, характеризующих функцию печени значимыми показателями, оказались уровень АсТ (стандартизованный R=0,7021) и общего билирубина (стандартизованный R=-0,5954), в группе признаков функции сердечно-сосудистой системы – среднее артериальное давление – еще один признак наряду с упомянутой протеинурией входящий в несколько основных шкал тяжести ПЭ (стандартизованный R=-24,9273).

Таким образом, из общего числа изученных нами факторов наиболее яркие отличия при сравнении нормы и патологии демонстрируют sFlt-1, соотношение sFlt-1/VEGF-A, а также TIMP-2. Многомерный статистический анализ подтверждает выраженность изменения ангиогенного статуса при тяжелой ПЭ. Распределение изучаемых групп в большинстве случаев показывает отличия тяжелой ПЭ (группы сравнения и контроля смещаются относительно основной), что свидетельствует об особенностях влияния изучаемых факторов на изменение многих клинических и лабораторных показателей.

4.2. Гистологическое и иммуногистохимическое исследование

4.2.1. Исследование плацент женщин

с доношенной неосложненной беременностью (группа сравнения)

4.2.1.1. Функциональная морфология плацент

при нормальной беременности

Плаценты здоровых женщин из группы сравнения (n=30) после удаления плодных оболочек и пуповины составляли по массе от 400 до 450 гр., были обычной овальной формы, относительно равномерной толщины, на параллельных разрезах умеренно полнокровные. Пуповина прикреплялась в центральной или парацентральной зоне. Со стороны материнской поверхности выделялись либо отчетливые котиледоны – дольки, либо группы слитных котиледонов с умеренным полнокровием. На гладкой плодной поверхности видны извитые сосуды среднего калибра, идущие от места прикрепления пуповины. Из каждой плаценты взяты от 6 до 8 кусочков через всю толщу или фрагменты с базальной пластиной. При гистологическом описании плацент следует выделять главные ее компоненты.

Ворсинчатое дерево. В соответствии с общим числом котиледонов (25-30) от хориальной пластины начинают свое ветвление крупные опорные ворсины I порядка, несущие в составе по одной артериоле и венуле. Далее идут ворсины II порядка, включающие расширенные артериолы и венулы, которые трудно различить из-за однотипности истонченных стенок. Примерно такая же картина эктазированных сосудов прослеживается в опорных ворсинах III порядка, от которых ветвятся многочисленные промежуточные ветки, дающие начало терминальным ворсинам (Рисунок 16).

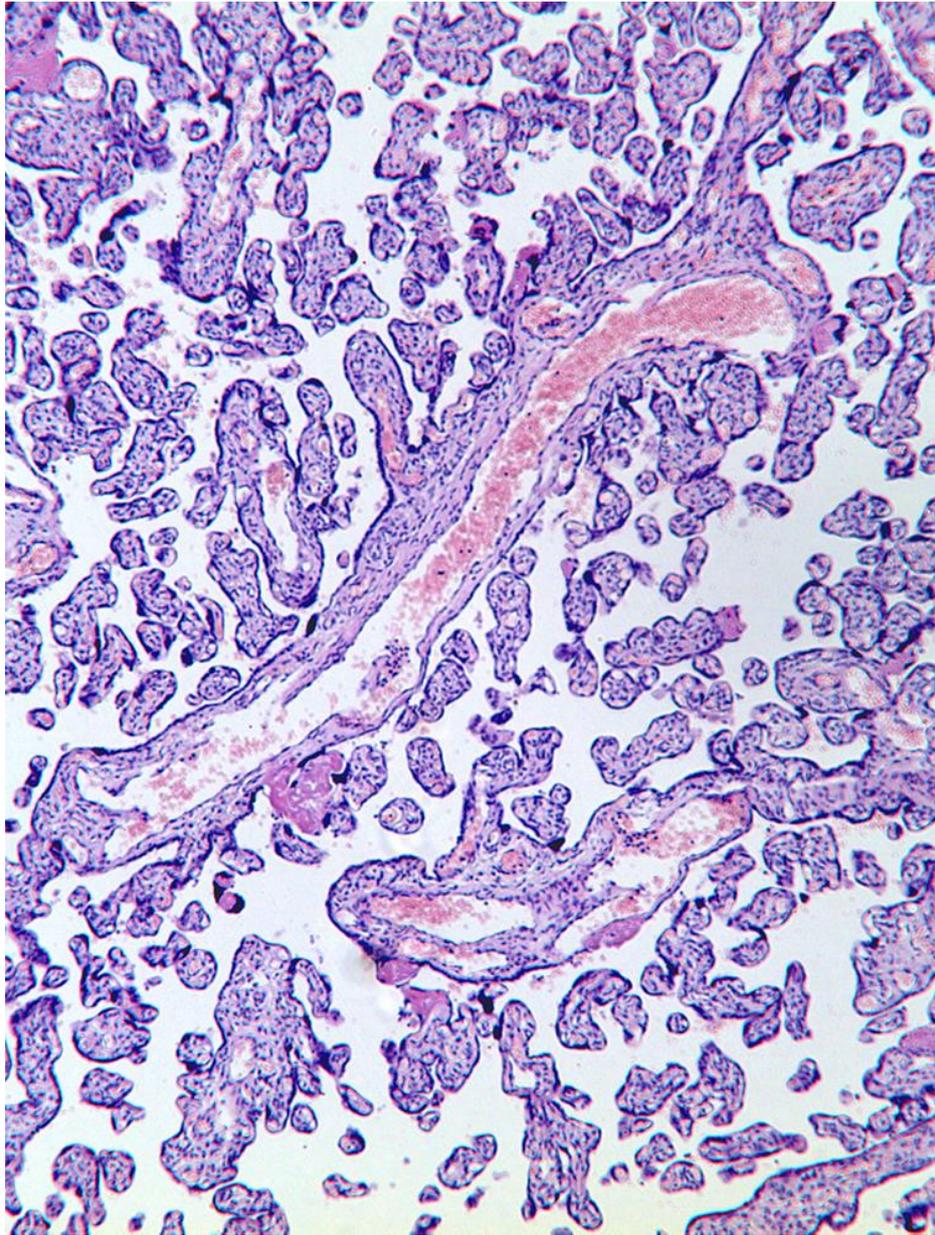


Рисунок 16 – Плацента при нормальной доношенной беременности: от длинной промежуточной ветви отходят множественные терминальные ворсины. Окраска гематоксилином и эозином, х50.

Для оценки зрелости ворсинчатого дерева в целом важно различать два типа терминальных ворсин – обычные и специализированные формы. Первая форма покрыта синцитиотрофобластом без подлежащего слоя ворсинчатого цитотрофобласта; в их строме – несколько преимущественно узких капилляров, которые отдельными сегментами прилежат к эпителиальному покрову; в их составе оказываются ядра синцитиотрофобласта и эндотелиоцитов, которые создают некоторые дополнительные трудности для

диффузионных процессов. Таких терминальных ворсин – большинство, примерно 70-75% всех мелких ветвей (Рисунок 17а). Вторая форма составляет около 15-20% и является терминальными специализированными ворсинами. Эта форма отличается от первой наличием более широких капиллярно-синусоидов, которые тесно прилежат к истонченному синцитиотрофобласту и называются синцитио-капиллярными мембранами, т.е. самыми тонкими участками плацентарного барьера (Рисунок 17б, стрелки), осуществляющими процессы диффузии газов и других полезных продуктов для обмена плода в конце беременности.

Учитывая неравномерность созревания отдельных котиленонов, кусочки плаценты, взятые из центральной и периферической зон, различались по соотношению простых и терминальных специализированных ворсин, что в целом не отразилось на диффузионной способности плацент, что подтверждается нормальной массой новорожденных в группе сравнения.

Покровный эпителий (синцитиотрофобласт) ворсин. В рассматриваемой группе плацент преобладали функционально активные синцитиальные почки (СТ-почки), т.е. со скоплениями изолированных ядер и отмечалось лишь небольшое количество инволютивных почек – с конгломератом базофильных ядер. СТ-почки – концентрация ядер до 15-20 штук в составе СТ – важный компонент эпителия ворсин. В норме они представляют собой скопления изолированных ядер либо в составе эпителия одной ворсины, либо соединяют две соседние ворсины (почки-мостики).

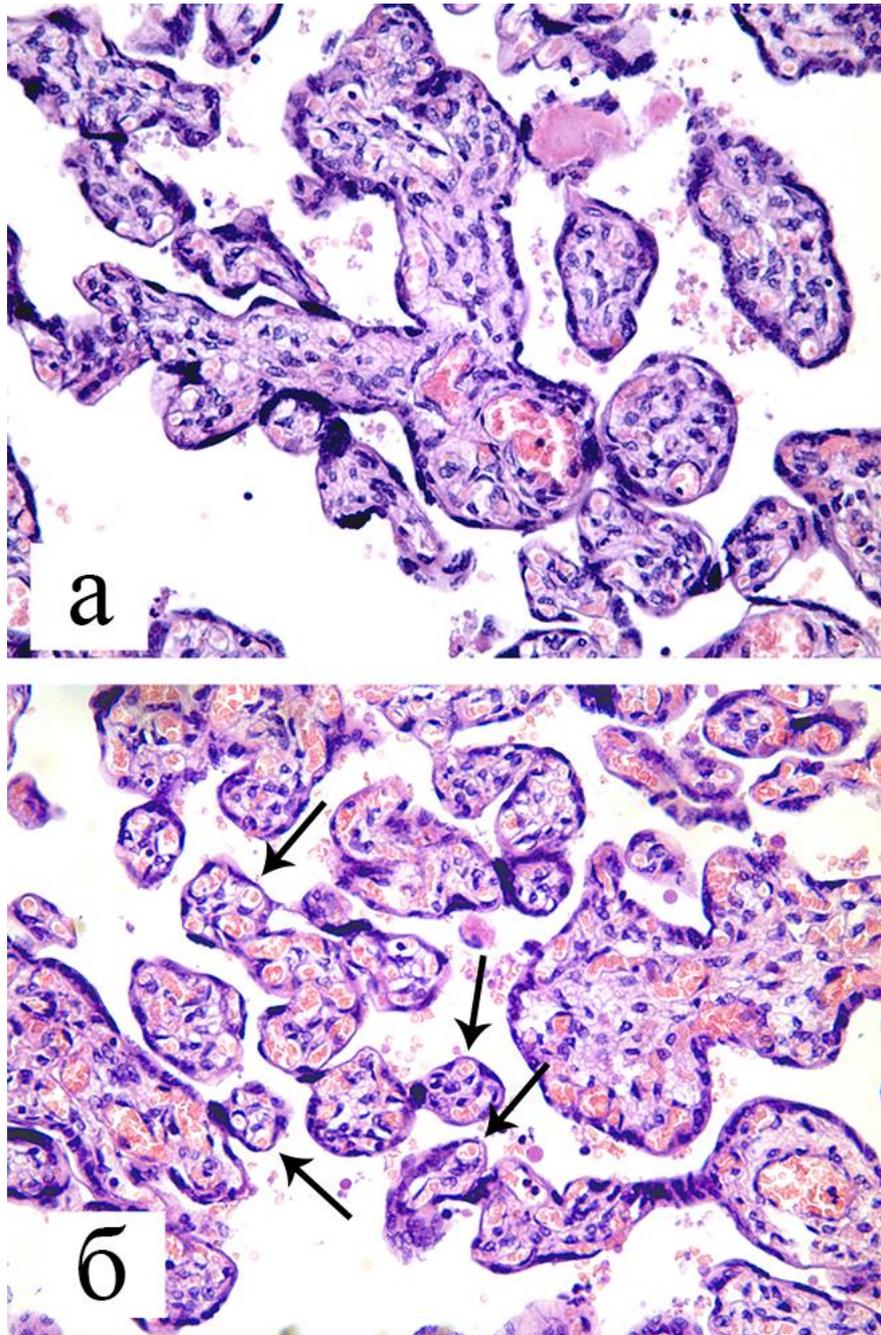


Рисунок 17 – Плацента при нормальной доношенной беременности: а) преобладание обычных терминальных ворсин с капиллярами в центре стромы; б) специализированные терминальные ворсины с формированием синцитиокапиллярных мембран (указаны стрелками). Окраска гематоксилином и эозином, х200.

Клеточные островки и септы. Важным компонентом ворсинчатого дерева являются клеточные островки и септы. Клеточные островки – это микроскопические образования, прикрепленные к нескольким ворсинам; в

местах этих соединений отсутствует покровный слой СТ и ворсинчатый цитотрофобласт пролиферирует в сторону островка, создавая его клеточную основу. В отличие от других вариантов вневорсинчатого цитотрофобласта эти клетки называются промежуточным цитотрофобластом (Рисунок 18а). Они концентрируются обычно по периферии островка, ближе к окружающим ворсинкам. В центре, напротив, преобладают массы фибриноида (Рисунок 18б).

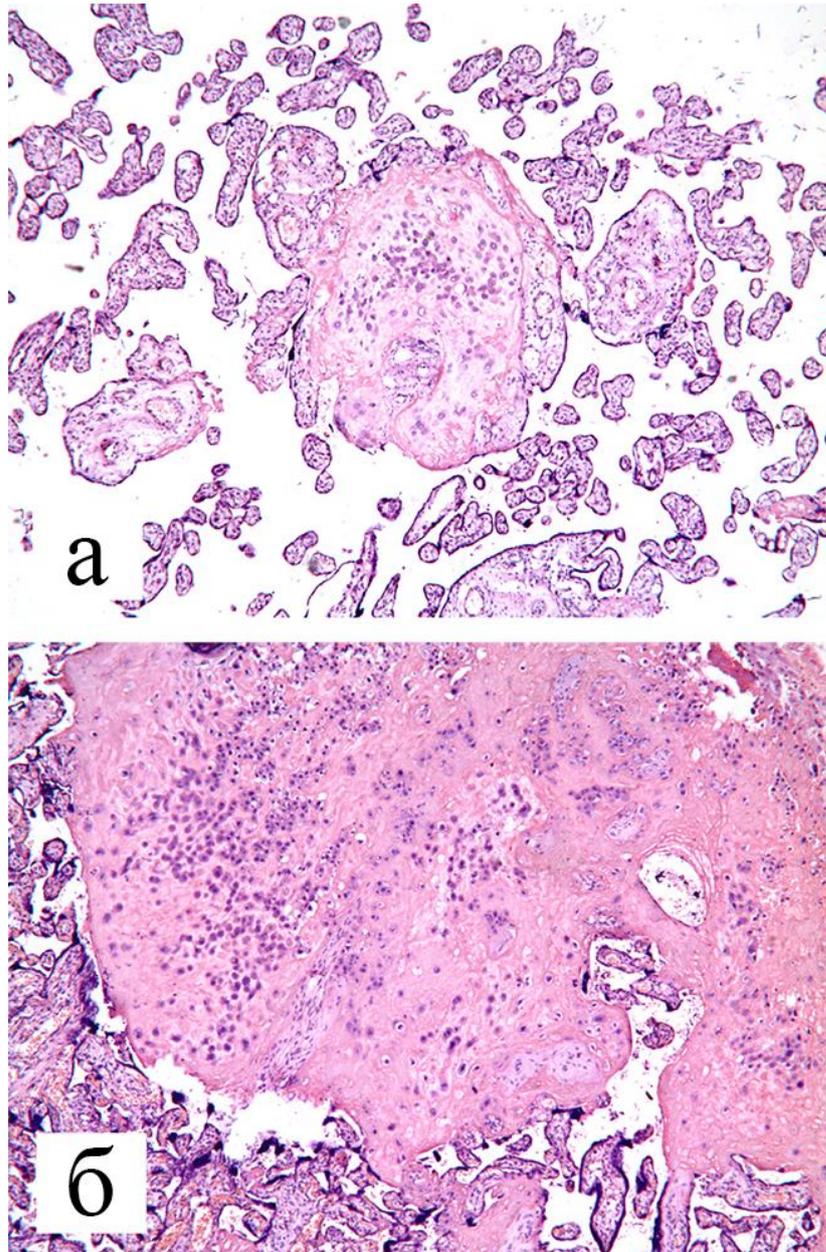


Рисунок 18 – Плацента при нормальной доношенной беременности: а) клеточный островок, прикрепленный к нескольким окружающим ворсинкам, х20; б) фрагмент - наличие групп периферического цитотрофобласта в его составе, х200. Окраска гематоксилином и эозином.

Септы похожи по строению с клеточными островками если они срезаны в поперечном направлении, но на продольных срезах септы начинаются из базальной пластины, что в гистотопографическом плане отличает их от изолированных клеточных островков. По клеточному составу септа подразделяется на две условные части: первая ближе к базальной пластинке, кроме промежуточного цитотрофобласта содержит также материнские децидуальные клетки (ДК) (Рисунок 19а), соседствующие с промежуточным цитотрофобластом. Во второй, отдаленной части, уходящей в толщину плаценты, но никогда не достигающей хориальной пластины, содержится только периферический цитотрофобласт (Рисунок 19б). В центре септ формируются щели или мелкие полости с розоватым содержимым (при окраске гематоксилином и эозином).

Базальная пластинка. Эта зона плаценты чрезвычайно важна, поскольку она содержит как якорные ворсины, соединенные с пластинкой со стороны межворсинчатого пространства, так и материнские элементы (ДК, маточно-плацентарные артерии, местные лимфоциты). Если проследить базальную пластинку на большом протяжении, то становится очевидным, что линия отрыва или рождения плаценты проходит неравномерно; встречаются утолщенные участки базальной пластинки (Рисунок 20а) или резко истонченные, либо она отсутствует. В составе базальной пластинки гнездами встречается ИЦТ, иногда видна другая разновидность инвазивных элементов – МГК. Однако самыми многочисленными фиксируются ДК. Они самые крупные из всех остальных клеточных элементов (Рисунок 20б). Маленькое ядро окружено цитоплазмой, по краям клеток определяется четкая пограничная мембрана. К доношенному сроку многие децидуальные клетки подвергаются вакуольной дистрофии с оттеснением ядра к периферии клетки (Рисунок 20б). Общую тенденцию к структурной регрессии базальной пластинки подтверждает наличие кальцификатов в ее составе как признака минеральной дистрофии матрикса.

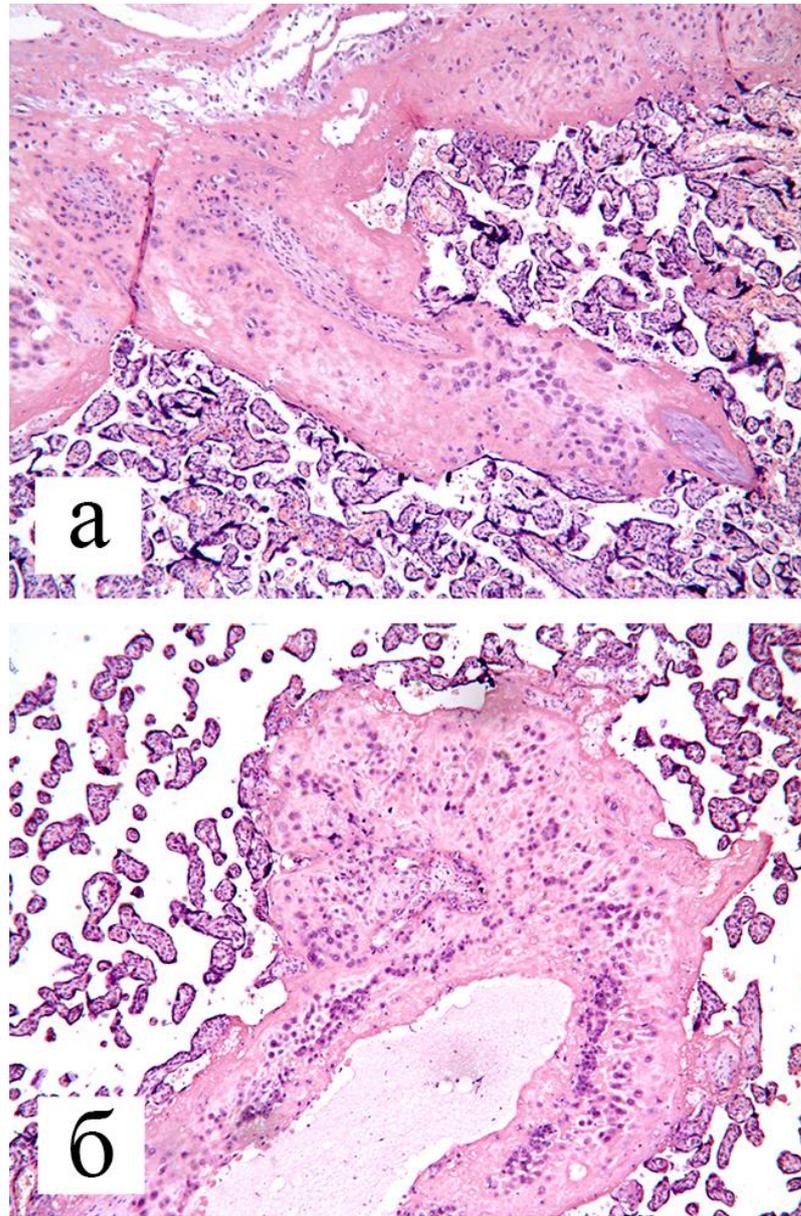


Рисунок 19 – Плацента при нормальной доношенной беременности: а) септа – основание, исходящее из базальной пластины с ДК и периферическим цитотрофобластом, х50; б) дистальная часть септы с полостью вокруг – только периферический цитотрофобласт, х400. Окраска гематоксилином и эозином.

При анализе большого количества кусочков базальной пластинки изредка наблюдаются просветы маточно-плацентарных артерий, которые подвергаются цитотрофобластической инвазии с перестройкой их стенок (Рисунок 20а). В данной группе сравнения отмечено полное замещение эластомышечных элементов розоватыми массами фибриноида и формирование широких просветов этих артерий.

Компенсаторные реакции. Для общей оценки структуры плаценты важно выявить и правильно интерпретировать компенсаторные реакции в виде избыточной капилляризации промежуточных и терминальных ворсин (Рисунок 21а). При кесаревом сечении и отсутствии выжимающего эффекта (в родовых путях) наблюдается расширение капиллярной сети вследствие остаточного объема крови (около 40-60 мл), что необходимо дифференцировать с компенсаторной перестройкой сосудистого русла плаценты (Рисунок 21б). Избыточное кровенаполнение капиллярного русла ворсин в группе сравнения является характерным при оперативном родоразрешении, которое имело место у всех испытуемых.

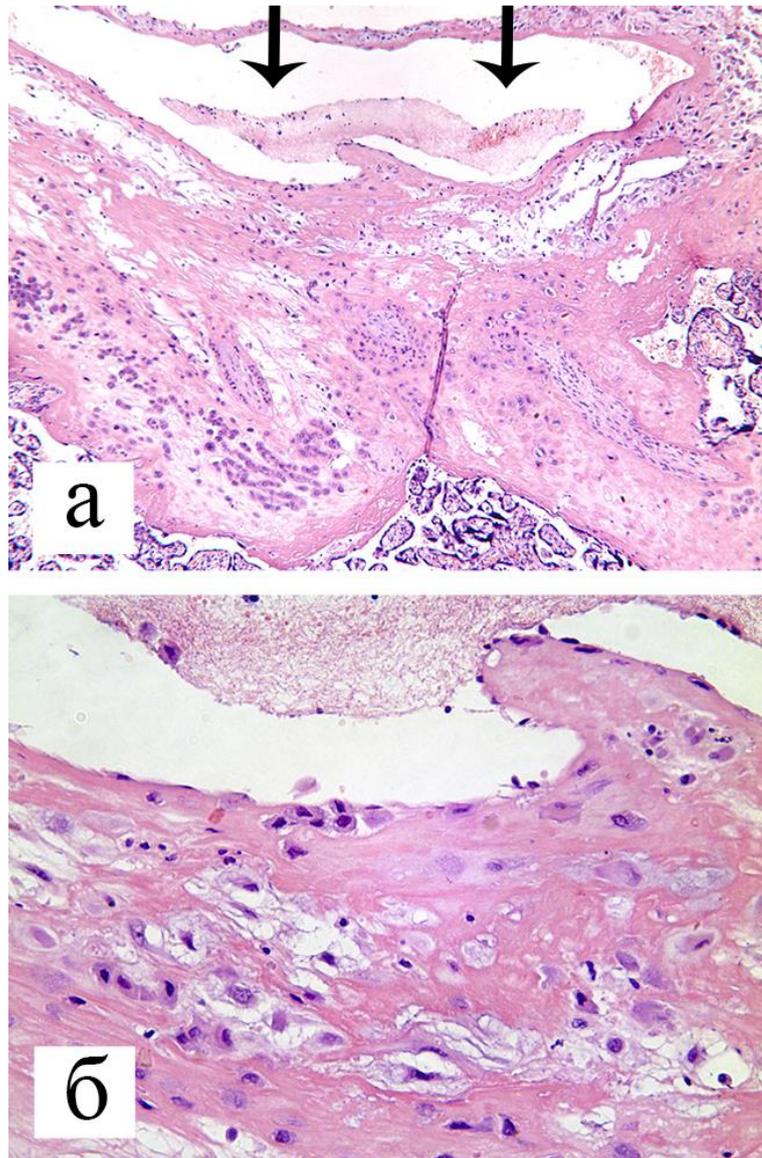


Рисунок 20 – Плацента при нормальной доношенной беременности: а) расширенная часть базальной пластины с внутренним слоем фибриноида, группами децидуальных и инвазивных клеток. Вверху стрелками указана широкая эндометриальная артерия, х50; б) фрагмент: выраженная дистрофия цитоплазмы децидуальных клеток, х400. Окраска гематоксилином и эозином.

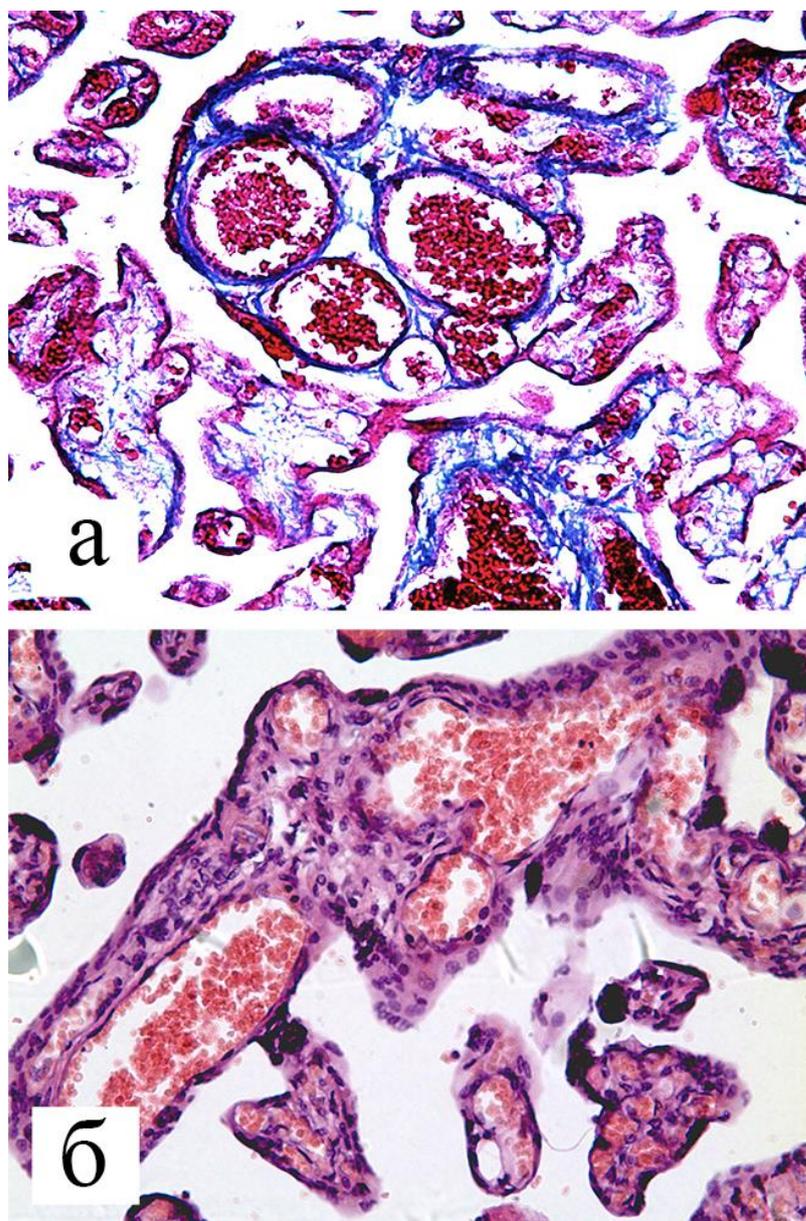


Рисунок 21 – Плацента при нормальной доношенной беременности: а) компенсаторный ангиоматоз опорной ворсины (7-8 расширенных капилляров), х100; б) расширение просветов капилляров в промежуточной ворсине как следствие депонирования крови при кесаревом сечении, х400. Окраска гематоксилином и эозином.

4.2.1.2. Взаимоотношения MMPs и их антагонистов TIMPs в нормальной доношенной плаценте

Поскольку существует сопряжение определенных типов MMP и TIMP (инактиватором MMP-2 является TIMP-2, а инактиватором MMP-9 – TIMP-1), далее их иммуноэкспрессия представлена по данным парам в зависимости от клеточного состава базальной пластины и других компонентов плаценты.

Первая пара MMP-2 и TIMP-2 в нормальной плаценте при доношенном сроке (Таблица 24) представлена слабой иммуноэкспрессией или негативной реакцией в инвазивных клетках (ИЦТ и МГК), а также негативной реакцией в дистрофичных децидуальных клетках, которые представлены в основном дистрофичными, как это видно на Рисунке 20а.

Таблица 24 – Иммуноэкспрессия MMP-2 и TIMP-2 в клетках нормальной плаценты и у женщин с тяжелой преэклампсией (условные баллы)

Отдельные клетки	Норма		Преэклампсия	
	MMP-2	TIMP-2	MMP-2	TIMP-2
Интерстициальный цитотрофобласт	+/-	-	+	++
Многоядерные гигантские клетки	+/-	+	+	+
Промежуточный цитотрофобласт	+	++	+/-	+
Синцитиотрофобласт	-	++	-	++
Синцитиальные почки	-	++	-	++
Децидуальные клетки	-	-	+/-	-

Как следует из Таблицы 24, MMP-2 сохраняет слабую экспрессию только в промежуточном цитотрофобласте в составе клеточных островков. Заслуживает внимания то, что достаточно выраженная иммуноположительная реакция TIMP-2 отмечена ПЦТ, ИЦТ, СТ и СТ-почках.

Другая пара (MMP-9 и TIMP-1) представляется более активной, поскольку в доношенной плаценте отмечена достаточная иммуноэкспрессия MMP-9 в инвазивных клетках (Таблица 25).

Таблица 25 – Иммуноэкспрессия MMP-9 и TIMP-1 в клетках нормальной плаценты и у женщин с тяжелой преэклампсией (условные баллы)

Отдельные клетки	Норма		Преэклампсия	
	MMP-9	TIMP-1	MMP-9	TIMP-1
Интерстициальный цитотрофобласт	+	+	+	+
Многоядерные гигантские клетки	+	-	+	+
Промежуточный цитотрофобласт	-	+	+	++
Синцититрофобласт	+/-	+	-	-
Синцитиальные почки	-	+	-	-
Децидуальные клетки	+/-	+/-	+	+/-

Несмотря на завершение активности цитотрофобластической инвазии в конце беременности, сохраняется иммуноэкспрессия MMP-9 в поверхностном слое ИЦТ, под фибриноидом Рора и в инвазивных клетках, проникающих вглубь децидуальной оболочки (Рисунок 22а). Этой реакции соответствует и примерно такая же степень иммуноэкспрессии TIMP-1 в ИЦТ (Рисунок 22б). Важным дополнением стало выявление экспрессии TIMP-1 в периферическом цитотрофобласте в составе клеточных островков, а также слабоположительной такой же реакции в эпителии окружающих ворсин (Рисунок 22б). Слабоположительная экспрессия TIMP-1 отмечается в эпителии ворсин и синцитиальных почках и негативная или неопределенная в децидуальных клетках.

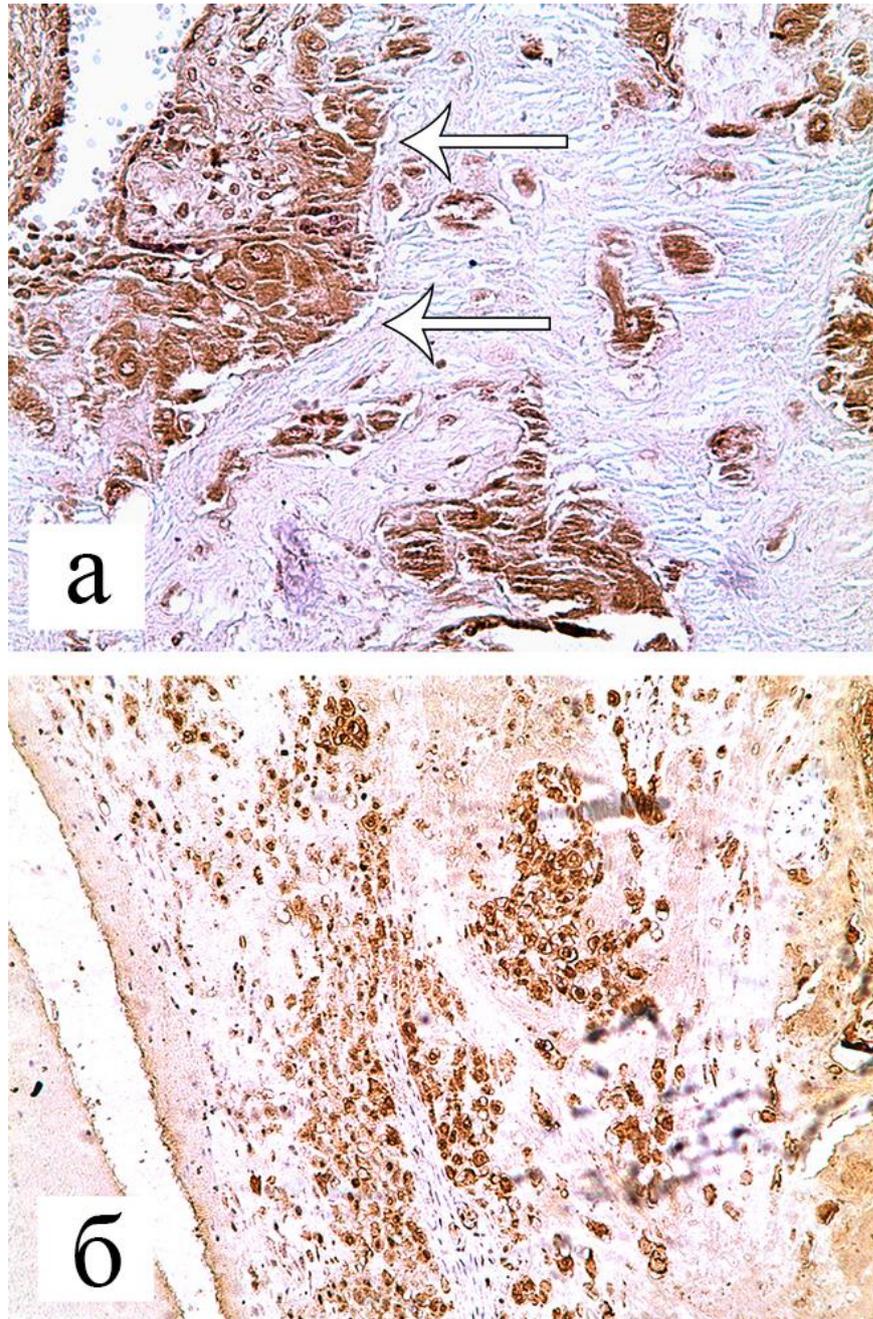


Рисунок 22 – Плацента при нормальной доношенной беременности, иммуновизуализация ММР-9 и ТИМР-1 в базальной пластинке: а) группа ИЦТ (указано стрелками), экспрессирующих ММР-9 (++) в поверхностном слое, x400; б) ИЦТ с иммуноэкспрессией ТИМР-1 (+), x100.

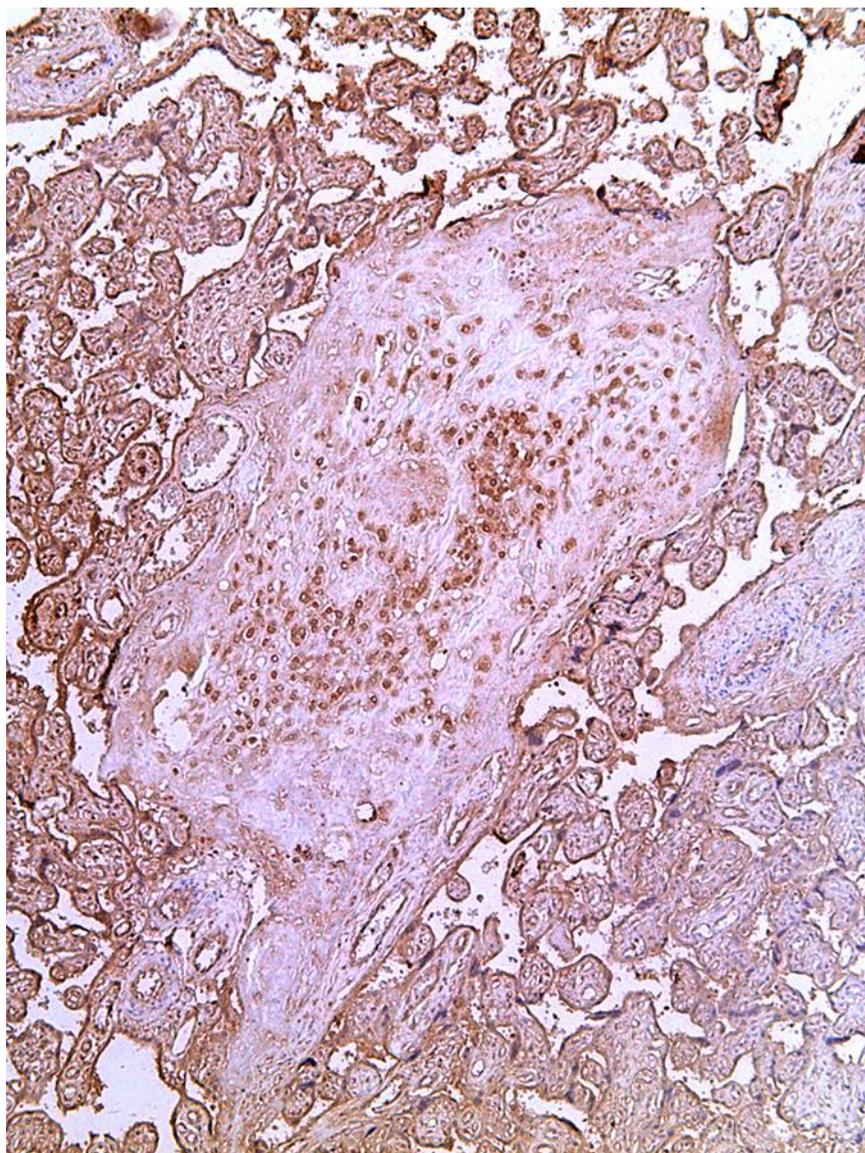


Рисунок 23 – Плацента при нормальной доношенной беременности, иммуновизуализация TIMP-1 в промежуточном цитотрофобласте клеточного острова (++) и синцитиотрофобласте (+) окружающих ворсин (+), x50.

4.2.2. Исследование плацент женщин с тяжелой ПЭ (основная группа)

4.2.2.1. Патоморфология плацент при тяжелой преэклампсии

При гистологическом изучении по 6 фрагментов из разных отделов плацент при тяжелой ПЭ (n=34) выявлена существенная разница строения ворсинчатого дерева с группой сравнения. Общим признаком плацент при ПЭ

было значительное урежение ветвления ворсин. Крупные опорные ворсины I и II порядка формировали небольшое количество промежуточных ветвей, которые давали мелкие, хаотично ветвящиеся, малососудистые ворсины (Рисунок 24а). Столь же характерным признаком ПЭ было наличие артериол с узким просветом и гипертрофией их мышечных стенок (облитерационная ангиопатия, Рисунок 24а). Макроскопически при вырезке материала из плацент в 72% выявлялись разного калибра сероватые или, напротив, полнокровные участки, которые микроскопически представляли собой ишемические некрозы ворсин (Рисунок 24б). Синцитиотрофобласт всех ворсин и особенно терминальных ветвей был атрофичным за счет его истончения и малого количества ядер, которые концентрировались в инволютивных синцитиальных почках (Рисунок 25а). Клеточные островки и септы встречались намного реже, чем в группе сравнения; они были тонкими, составляющий их периферический цитотрофобласт формировал узкие «дорожки» (Рисунок 25б), без явной пролиферации ворсинчатого трофобласта из прилегающих ворсин, т.е. без «подпитки» новым ПЦТ. Ни в одной из просмотренных плацент в базальной пластине не выявлено широких маточно-плацентарных артерий.

Мы не стремились охватить всю многообразную патологию плацент у женщин с тяжелой ПЭ, поскольку наша задача – охарактеризовать активаторы и инактиваторы цитотрофобластической инвазии как основного патогенетического механизма данного акушерского осложнения.

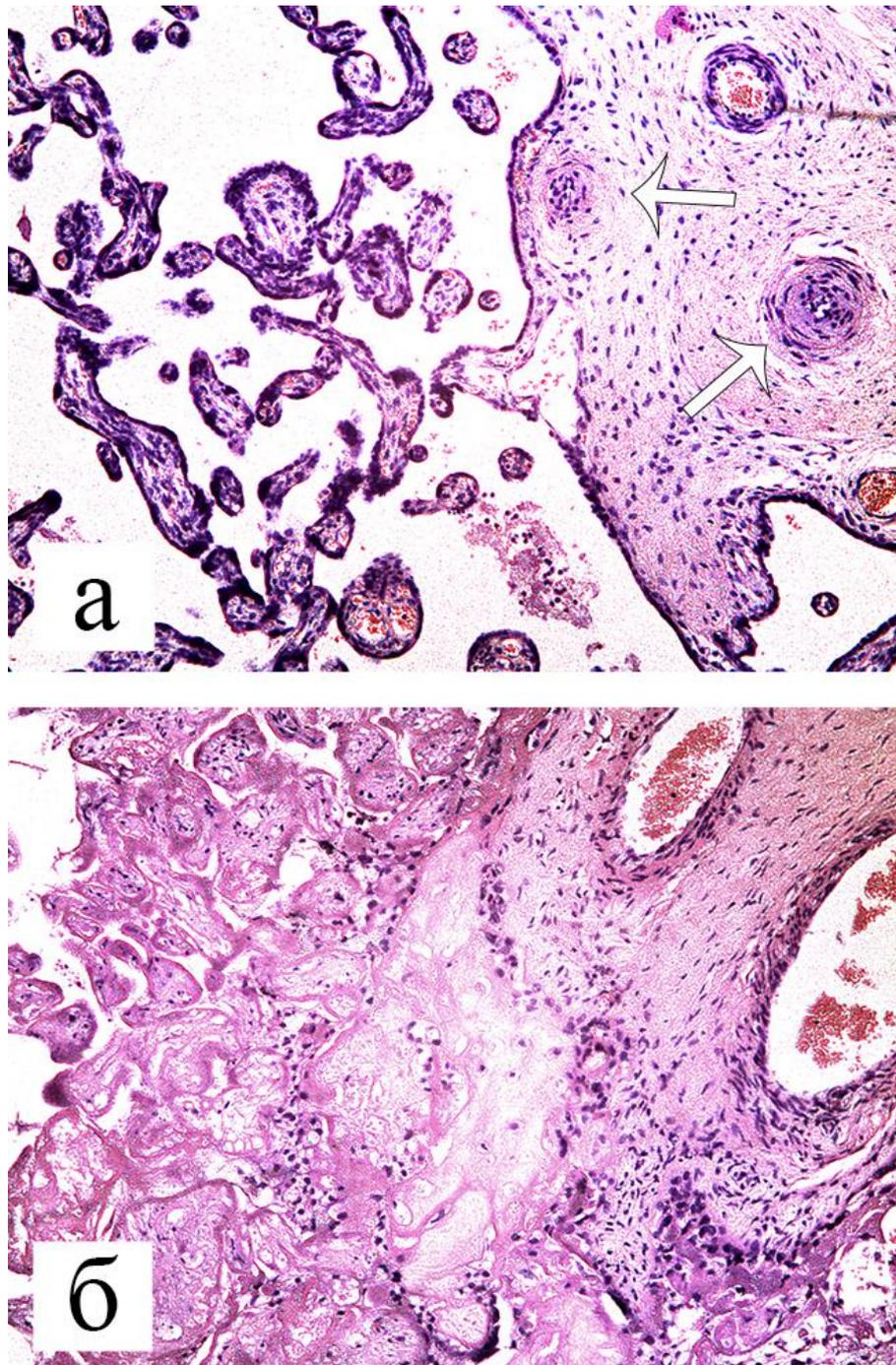


Рисунок 24 – Плацента при тяжелой ПЭ: а) облитерационная ангиопатия (указано стрелками) в опорной ворсине II порядка, вокруг - хаотичные, склерозированные мелкие ворсины, х50; б) некротизированные ворсины (слева) возле крупной опорной ворсины, х200. Окраска гематоксилином и эозином.

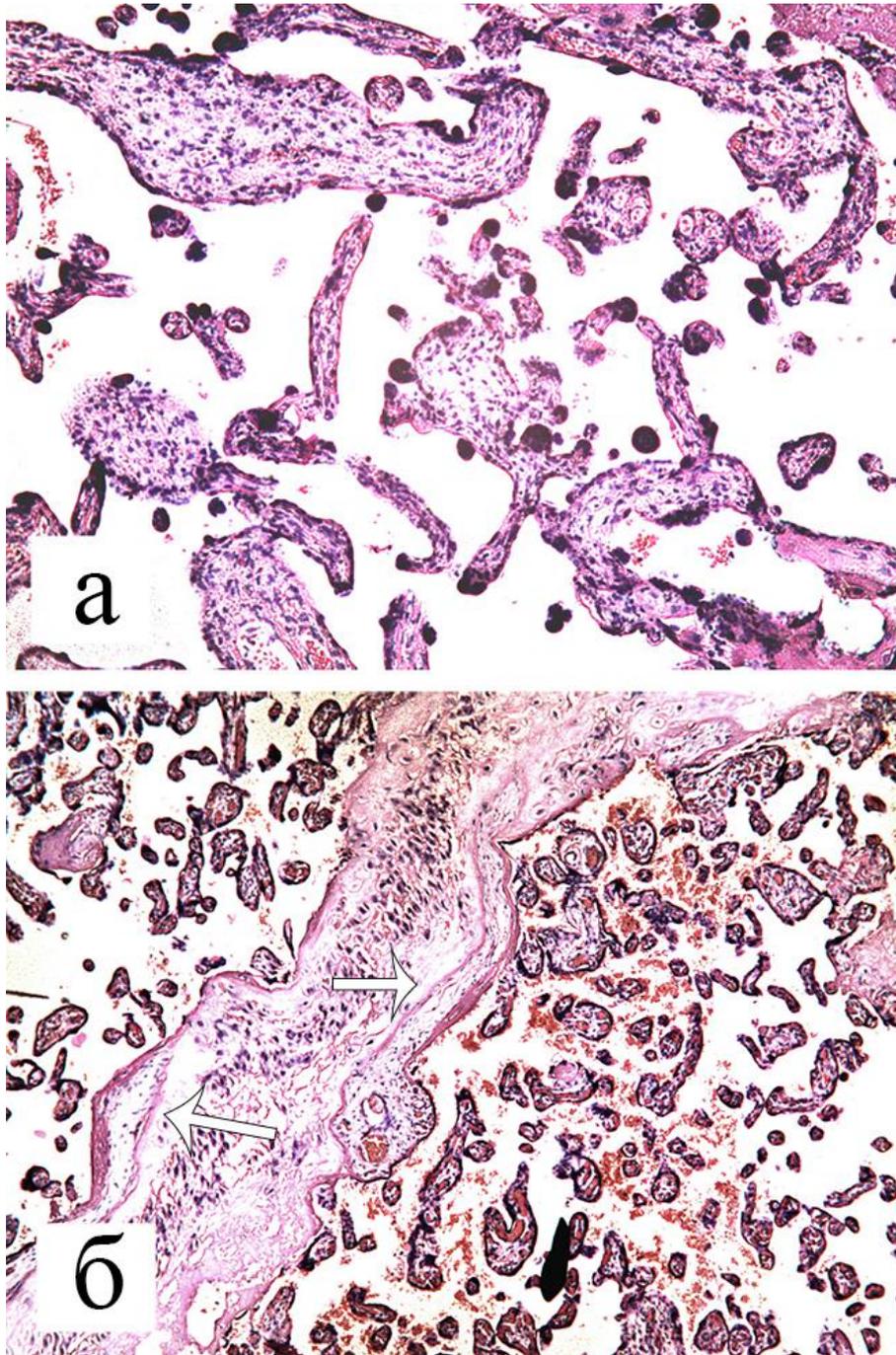


Рисунок 25 – Плацента при тяжелой ПЭ: а) мелкие ворсины с атрофичным эпителием и множеством инволютивных синцитиальных почек – маркеры местной гипоксии, х200; б) тонкая септа с небольшим числом ПЦТ, отсутствие пролиферации ворсинчатого цитотрофобласта из пристеночных ворсин (указано стрелкой), х50. Окраска гематоксилином и эозином.

4.2.2.2. Взаимоотношения MMPs и TIMPs в плацентах у женщин с тяжелой ПЭ

При анализе первой пары MMP-2 и TIMP-2 оказалось, что иммуноэкспрессия металлопротеиназы 2 типа была примерно на таком же уровне, как и в группе сравнения (Таблица 24): она визуализирована только в поверхностном слое децидуальной оболочки и лишь отдельные инвазивные клетки (ИЦТ и МГК) рассеиваются в глубокие ее слои (Рисунок 26а, б). Они теряют иммуноэкспрессию MMP-2 по мере приближения к узкому просвету радиальной артерии с неполной гестационной перестройкой (Рисунок 26б). Более демонстративной оказалась иммуноэкспрессия TIMP-2 (Таблица 24), которая выявлялась в скоплениях ИЦТ в поверхностном слое децидуальной оболочки и демонстрировала в этих клетках достаточную активность этого ингибитора, который продуцировался в самих инвазивных клетках (Рисунок 27а), осуществляя аутокринное сдерживание их дальнейшего продвижения вглубь эндо- и миометрия. Этот же эффект снижения протеолитической активности ИЦТ и МГК дополнялся высокой иммуноэкспрессией TIMP-2 в синцитиотрофобласте многочисленных ворсин (Рисунок 27б), а также в его производных структурах – синцитиальных почках. В клеточных островках иммунореакция TIMP-2 в промежуточной цитотрофобласте была слабой, намного меньше, чем в окружающих ворсинах (Рисунок 28а). К этому следует добавить негативную реакцию децидуальных клеток, которые подвержены разной степени дистрофии цитоплазмы и деструкции ядер.

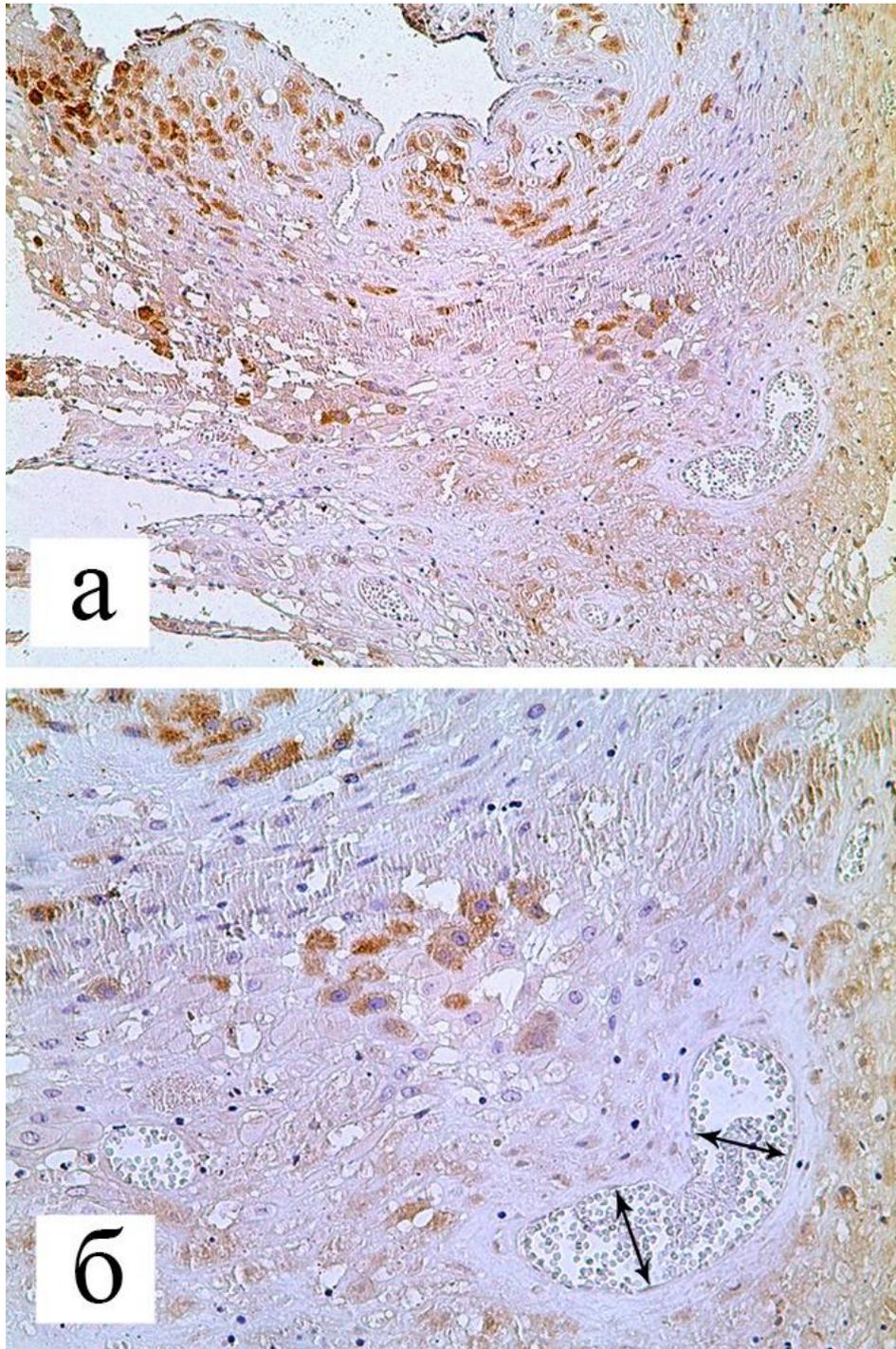


Рисунок 26 – Плацента при тяжелой ПЭ: а) поверхностная цитотрофобластическая инвазия с умеренной иммуноэкспрессией ММР-2 под слоем фибриноида, х100; б) фрагмент: ослабление реакции в ИЦТ возле узкой радиальной артерии с толстой стенкой (отмечено стрелками), х400.

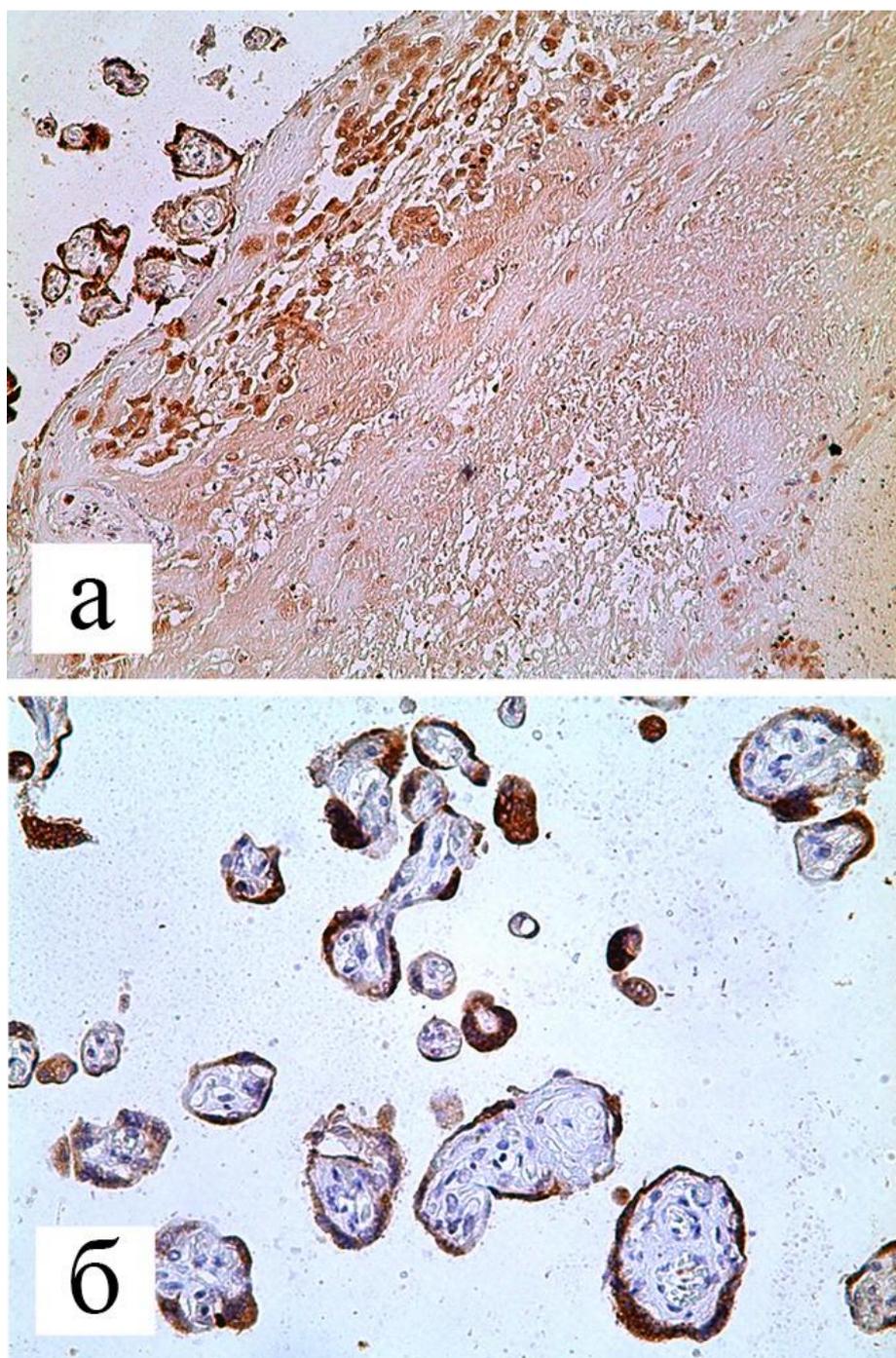


Рисунок 27 – Плацента при тяжелой ПЭ: а) высокая иммуноэкспрессия TIMP-2 в поверхностном слое ИЦТ при аналогичной реакции к прилежащим ворсинам, x100; б) такая же активность TIMP-2 в эпителии ворсин и синцитиальных почках, x200.

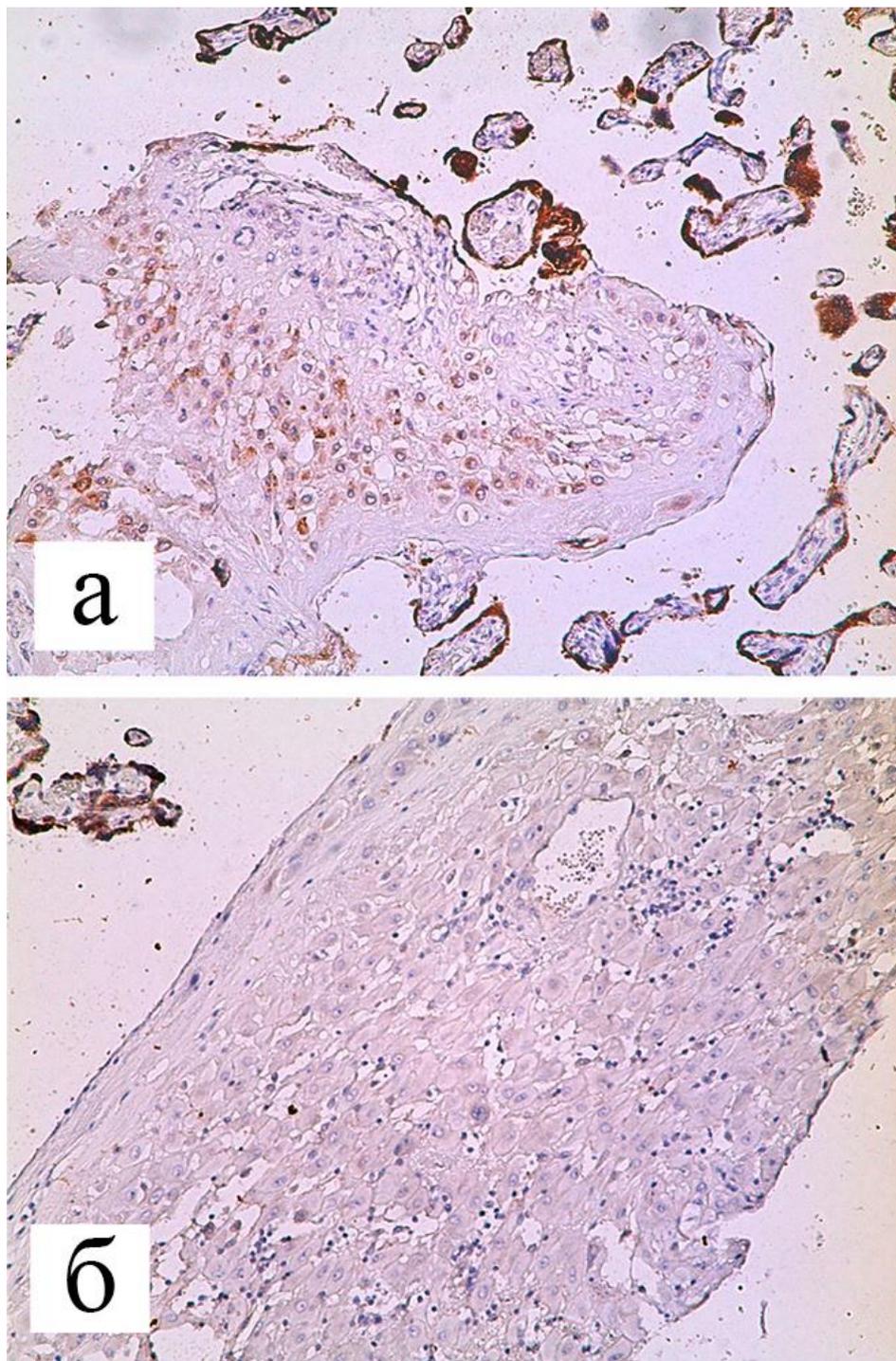


Рисунок 28 – Плацента при тяжелой ПЭ: а) клеточный островок со слабой иммуноэкспрессией TIMP-2 в промежуточном цитотрофобласте; в окружающих ворсинах она была более выраженной, x 50; б) базальная пластина с негативной реакцией TIMP-2 в относительно сохранных и деструктивных децидуальных клетках, x100.

Вторая пара ММР-9 и TIMP-1 обнаружила более контрастные изменения при сравнении с гестационной нормой плацент (Таблица 25). Так, все разновидности инвазивного трофобласта (ИЦТ, МГК и ПЦТ) выявили как количественные, так и качественные изменения. Иммуноэкспрессия ММР-9 в ИЦТ подчеркивает малые размеры этих клеток, имеющих вытянутую или овальную форму в зависимости от того, как прошла линия среза (Рисунок 29а, б). В микропрепаратах иногда видны широкие эндометриальные спиральные артерии, что подтверждает полноценность первой волны цитотрофобластической инвазии (Рисунок 29а). Однако, ИЦТ редко проникает в глубокие отделы базальной пластинки плаценты; клетки меняют направления, формируют разнонаправленные пучки (Рисунок 29б), что вероятно снижает их инвазивную активность.

В отношении ингибитора TIMP-1 складывается мозаичная картина: в одних участках базальной пластинки его экспрессия в ИЦТ достаточно выражена (Рисунок 30а), в других – она имеет следовый характер (Рисунок 30б). Более убедительно представлена экспрессия TIMP-1 в промежуточном цитотрофобласте в составе клеточных островков (Рисунок 31а, б). Резким контрастом в отношении TIMP-1 стала его слабая или неопределенная экспрессия в синцитиотрофобласте ворсин и синцитиальных почках, если сопоставить с выраженной иммуноэкспрессией TIMP-2 в тех же структурах (Рисунок 32а). На этом же рисунке видно, что синцитиотрофобласт терминальных и промежуточных ворсин имеет негативную реакцию (см. Таблицу 25), также, как и активные синцитиальные почки (Рисунок 32а). Децидуальные клетки, несмотря на их структурную сохранность (Рисунок 32б), выявляют лишь слабую или неопределенную иммуноэкспрессию TIMP-1.

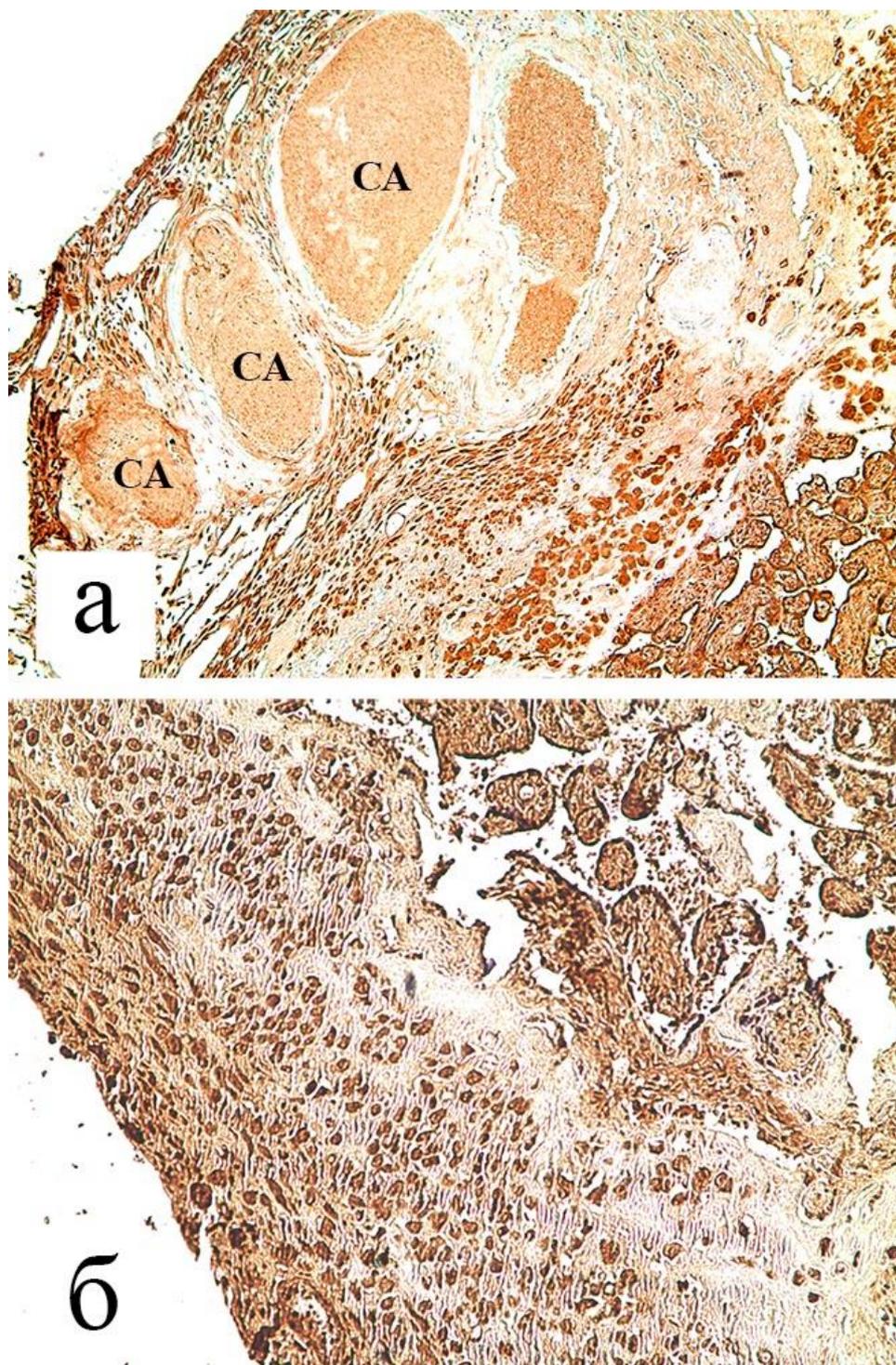


Рисунок 29 – Плацента при тяжелой ПЭ: а) вокруг широких спиральных артерий (СА) пучки узких, мелких инвазивных клеток, х50; б) фрагмент: разная форма ИЦТ, продольная – ближе к ворсинам и поперечная – слева при достаточной экспрессии ММР-9 во всех инвазивных клетках, х200.

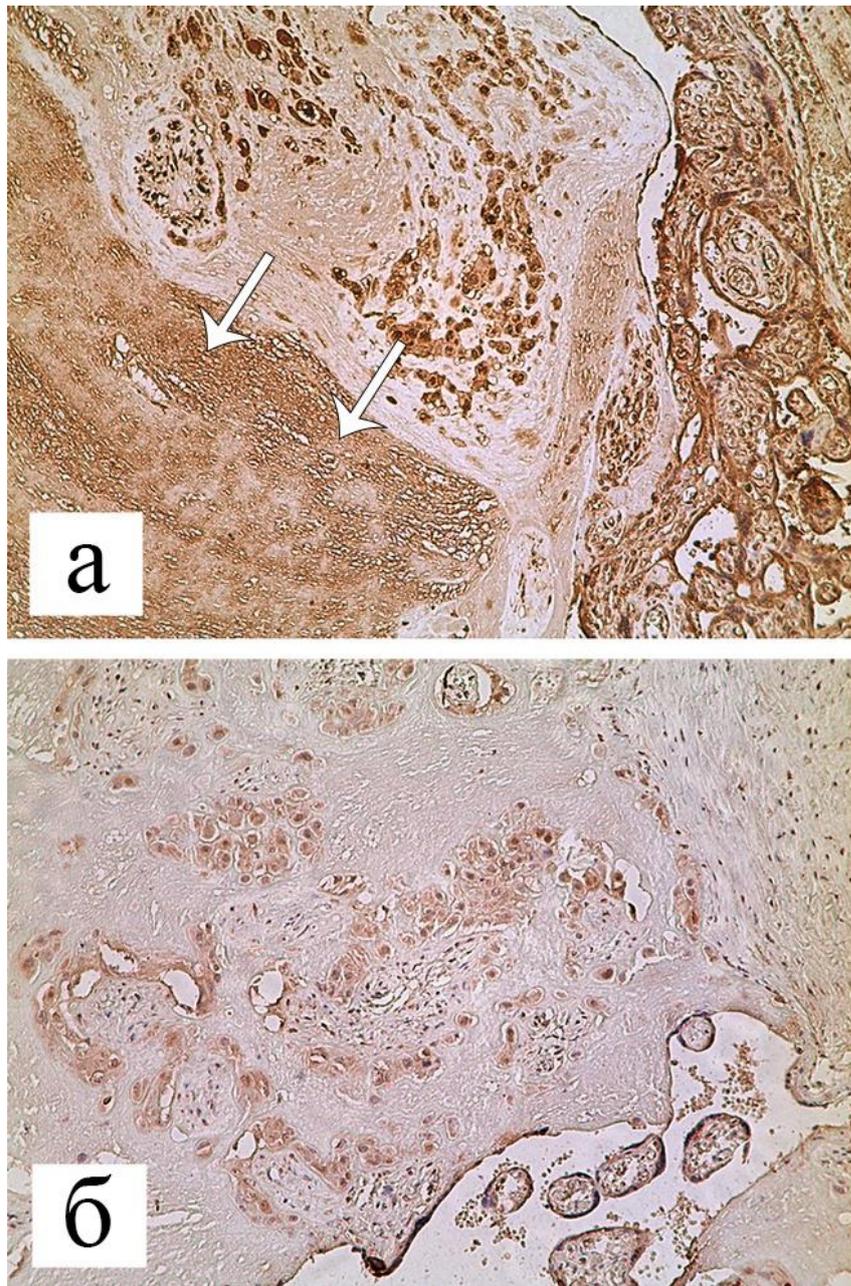


Рисунок 30 – Плацента при тяжелой ПЭ: а) выраженная иммуноэкспрессия TIMP-1 в ИЦТ над ретроплацентарной гематомой (указано стрелками), x200; б) следы экспрессии TIMP-1 в ИЦТ вокруг замурованных ворсин в составе базальной пластинки, x200.

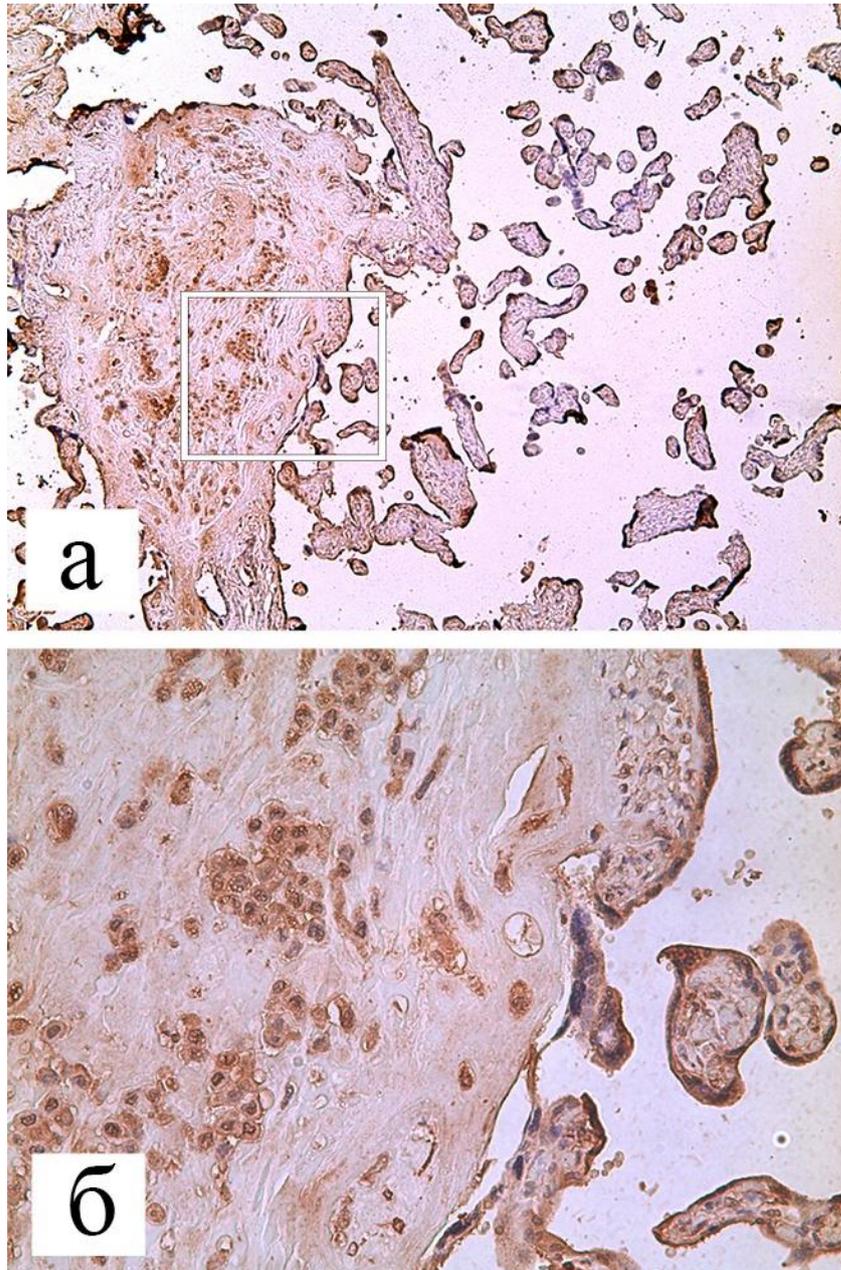


Рисунок 31 – Плацента при тяжелой ПЭ: а) клеточный островок – достаточная экспрессия TIMP-1 в ПЦТ, х50; б) фрагмент: средняя степень иммуноэкспрессии (++) TIMP-1 в ПЦТ, х200.

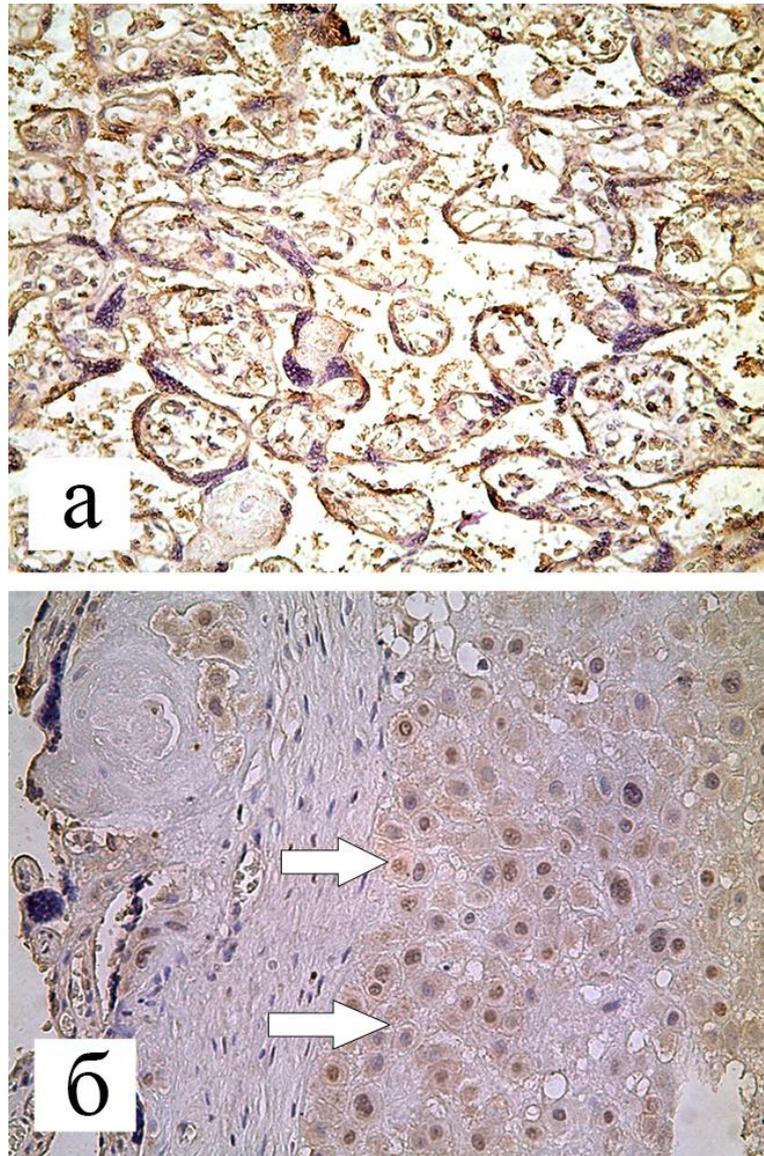


Рисунок 32 – Плацента при тяжелой ПЭ: а) негативная иммуноэкспрессия TIMP-1 в синцитиотрофобласте ворсин и синцитиальных почках, x100; б) слабая иммуноэкспрессия TIMP-1 в децидуальных клетках (указано стрелками) базальной пластины, x400.

Изучая ангиогенные факторы, мы можем говорить, что наиболее информативным иммуногистохимическим маркером тяжелой ПЭ в III триместре, вероятно, является сохранение высокой экспрессии TIMP-2. Влияние этого фактора на неполноценное образование MMP-2 и неадекватную трофобластическую инвазию происходит еще в I-II триместрах, однако даже и к доношенному сроку гестации он активно продуцируется синцитиотрофобластом ворсин и в синцитиальных почках.

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящее время в большинстве развитых стран вектор изучения ПЭ смещается с выбора тактики (она четко определена и утверждена национальными протоколами и рекомендациями) к раннему выявлению и возможному прогнозированию развития и исхода ПЭ. В последние годы активно ведутся работы по изучению вклада про- и антиангиогенных факторов в патогенез ПЭ, только в ведущих журналах, рецензируемых базой данных PubMed ежегодно появляется более 1000 статей, посвященных данной проблеме.

В медицине наступил качественно новый этап – переход от анализов, направленных на постановку диагноза, к тестам, предназначенным для количественной оценки риска возникновения и развития заболеваний на доклинической стадии. Необходим поиск более точных маркеров ПЭ, более обоснованного мнения о возможности пролонгирования беременности или ее прерывания, основанного на определении этих показателей [15]. По мнению Орлова А. В., следует различать скрининговые и диагностические маркеры: первые необходимы для выявления патологии, имеющей «немое течение», до ее клинической манифестации, для проведения дополнительного обследования и, возможно, профилактического лечения. Диагностические маркеры позволяют идентифицировать группу пациентов после клинического проявления заболевания для проведения терапии и профилактики осложнений имеющейся патологии [41].

Поиск и внедрение скрининговых маркеров физиологического и осложненного течения беременности – шаг, без которого нельзя надеяться на существенный прогресс в решении современных акушерских проблем [50]. Только сочетанное изучение изменения содержания про- и антиангиогенных факторов, а также маркеров эндотелиальной дисфункции может позволить прогнозировать еще до беременности развитие ПЭ, предотвращать ее развитие на ранних сроках, оценивать степень поражения после клинической

манифестации, а также оценить способность к восстановлению после окончания патологической беременности. Определение концентраций факторов, указывающих на повреждение эндотелия при ПЭ, является целесообразным и позволит улучшить перинатальные исходы [15]. Маркеры развития ПЭ должны определяться рутинными доступными методами, отражать истинный патогенез ПЭ и с учетом этого будет возможно разработать методы ее профилактики [95]. Разработано множество математических моделей, оценивающих совокупный вклад нескольких предикторов с расчетом фактического риска развития ПЭ, однако прогностическая ценность этих моделей достаточно невысока (от 44% до 68%) [134, 187, 242], за исключением метода, предложенного Audibert с соавт., показавшим практически 100% прогностическую ценность при небольшом количестве ложноположительных результатов [203]. К сожалению, по утверждению ВОЗ до сих пор «отсутствует клинически достоверный и воспроизводимый тест для определения ПЭ как для групп с предрасположенностью к синдрому, так и для групп без предрасположенности к развитию патологии» [46, 188]. В 2014 году Сидоровой И.С. с соавт. разработана 2-этапная предиктивная система обследования беременных для выделения 2 степеней риска развития ПЭ с учетом превентивности, персонафицированного и партнерского подхода. Однако вместе с тем авторы также признают, что в практическом акушерстве еще нет официально рекомендованного маркера, играющего центральную роль в патогенезе ПЭ, определяющегося до ее клинической манифестации, коррелирующего с тяжестью течения и отсутствующего при нормальной беременности [59].

Несмотря на то, что основные события, приводящие в конечном итоге к развитию ПЭ, происходят в I триместре беременности, все же первоначально более удобным представляется изучение факторов, играющих роль в патогенезе этого осложнения беременности, после ее манифестации. В настоящем исследовании мы изучили: особенности анамнеза, течения беременности, родоразрешения и послеродового периода, состояние

новорожденных при тяжелой ПЭ, а также роль проангиогенных факторов: эндотелиального фактора роста, матриксных металлопротеиназ 2 и 9 типов и антиангиогенных агентов: растворимой формы рецептора эндотелиального фактора роста, тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ 1 и 2 типа, васкулярной и межклеточной молекул адгезии в патогенезе рассматриваемого осложнения.

Изначально в проспективное исследование были включены 244 беременных, страдающих тяжелой ПЭ, из которых затем было отобрано 34 пациентки, составившие основную группу. Беременные с доношенным сроком гестации без гипертензивных осложнений (n=30) составили группу сравнения, а небеременные здоровые женщины (n=30) были выделены в контрольную группу.

Наши данные о частоте встречаемости ПЭ совпадают с литературными: за изучаемый период времени 4,83% всех беременностей (у родоразрешенных в ГБУЗ СК СККПЦ) протекали на фоне ПЭ разной степени тяжести [79, 110, 113, 123, 185, 198, 205, 217]. Широкое распространение обсуждаемого гипертензивного осложнения подтверждает важность обсуждаемой проблемы.

В ходе нашего исследования при сборе анамнеза беременных из основной группы выявлено, что только 23,77% имели неотягощенный соматический анамнез, что подтверждает литературные данные о соотношении «чистых» и сочетанных форм ПЭ [28]. В структуре экстрагенитальных заболеваний у беременных с тяжелой ПЭ основную долю составили заболевания сердечно-сосудистой системы (51,08%), среди которых преобладала гипертоническая болезнь, что также согласуется с многими исследованиями, посвященными обсуждаемой проблеме. Сердечно-сосудистые заболевания приводят к срыву адаптации, преобладанию нагрузочных факторов гемодинамического и механического характера, что при действии предрасполагающих факторов находит свое отражение в клинике ПЭ. Кроме того, при хронической АГ изначально имеет место эндотелиальная дисфункция, которая прогрессирует

в случае нарушения имплантации и иммунопатологического воспаления и некроза эндотелицитов, имеющих место при ПЭ [2].

Следует отметить, что практически половина (46,77%) пациенток с тяжелой ПЭ страдала ожирением, а морбидные его формы имели место у 10,25% обследуемых. Из литературы известно, что риск ПЭ удваивается с каждыми 5–7 кг/м² ИМТ, а жировая ткань обладает метаболической активностью и продуцирует провоспалительные цитокины, такие как фактор некроза опухоли α и интерлейкин-8 [180], играющие роль и в патогенезе ПЭ. Тем самым ожирение изначально ассоциировано с повышением активности факторов воспаления и, как следствие, сосудистой дисфункцией. Кроме этого, ожирение ассоциировано с выраженными гемодинамическими изменениями, а также с гиперкоагуляцией, при этом отмечается повышение активности плазматического звена гемостаза, снижение фибринолиза, повышение активности тромбоцитов [103].

У трети (32,26%) пациенток основной группы анамнез был отягощен ренальной патологией, что может отражать участие патологии почек в генезе ПЭ.

Анализ акушерского анамнеза показал, что первые роды предстояли 59,02% беременных с тяжелой ПЭ. В настоящее время этот показатель относят к независимым основным факторам развития ПЭ, у таких пациенток риск ПЭ возрастает от 2,4 до 5,4 раз по сравнению с рожавшими женщинами. Это объясняется разным ангиогенным профилем перво- и повторнородящих и отличающейся у них иммунной адаптацией к качественно новому состоянию, которым является беременность [113].

При исследовании определено, что у 20% ранее рожавших беременных с тяжелой ПЭ обсуждаемое осложнение беременности имело место в анамнезе. Это можно объяснить тем, что, несмотря на завершение прошлой патологической беременности, эндотелиальные структуры восстанавливаются не полностью, что подтверждает повышенный риск возникновения ХАГ у женщин, перенесших ПЭ. Кроме того, известно, что концентрация в крови

антиангиогенных факторов у них превышает таковую у женщин с физиологической беременностью в анамнезе [197]. Таким образом, эти факторы с самого начала беременности препятствуют адекватной инвазии и нормальному ангиогенезу.

Хочется отметить, что 6,97% пациенток, страдающих тяжелой ПЭ, вообще не стояли на учете в женской консультации, а 28,69%, хотя амбулаторно и наблюдались, на учет были поставлены несвоевременно (максимальный срок 34 недели). Данный факт позволяет объяснить наблюдаемое распространение тяжелой ПЭ: при правильном ведении беременности возможно выявление предрасполагающих к ПЭ факторов, адекватное и своевременное обследование и обнаружение ПЭ на этапе умеренной, что позволило бы адекватно провести терапию и улучшить перинатальные исходы.

У большинства пациенток (57,79%) течение беременности было осложненным. Основным осложнением явилась угроза прерывания беременности в I триместре (34,84%), которая может сопутствовать неполноценной трофобластической инвазии и в дальнейшем приводить к эндотелиальной дисфункции [109].

Согласно современным данным классическая триада Цангемейстера встречается лишь в 25-39% ПЭ [4, 50]. В нашем исследовании тяжелая ПЭ манифестировала отечным синдромом, гипертензией и протеинурией в 58,2%. Некоторое расхождение с литературными данными объясняется тем, что анализу подвергались только случаи тяжелой ПЭ, когда клинические проявления более выражены, в то время как при умеренной ПЭ могут иметь место два параметра из трех.

Нами было определено, что по данным ультразвукового исследования только в 147 из 242 случаев размеры плода соответствовали сроку гестации, в 2 же случаях зафиксирована антенатальная гибель. При ПЭ фетоплацентарная недостаточность (ФПН) наблюдается практически всегда (по нашим данным сохранный МППК при доплерометрии имел место только в 14,88%, чаще

всего – в 41,74% – наблюдались нарушения в маточно-плацентарном звене), если ФПН реализуется выраженной задержкой роста плода, то этот синдром является критерием тяжелой ПЭ [14]. В данном случае мы наблюдаем такой патогенетический механизм развития ФПН как дефект первой или второй волны инвазии вневорсинчатого цитотрофобласта, вследствие чего наблюдается редукция маточно-плацентарного кровообращения, приводящая к ЗРП. Признаки декомпенсированной ФПН – ЗРП III степени или нарушение МППК III степени – наблюдались в 5,37% и 11,16% соответственно и во всех случаях явились показанием к досрочному родоразрешению.

При изучении исходов беременности и родов у исследуемых пациенток с тяжелой ПЭ, выявлено, что преждевременно были родоразрешены 61,07% больных, и в 70,5% случаев метод родоразрешения – абдоминальный. Это подтверждает утверждение о том, что ПЭ является одной из причин досрочного родоразрешения. Наши результаты совпадают с данными других исследователей о частоте операции кесарево сечение, которое при тяжелой ПЭ выполняется от 35 до 80% [2]. Однако следует отметить, что практически треть (29,5%) пациенток рожали через естественные родовые пути. Это подтверждает постулат, что тяжелая ПЭ сама по себе абсолютным показанием к абдоминальному родоразрешению не является и успешное ведение влагалищных родов возможно при соблюдении принципов их ведения при гипертензивных осложнениях.

Анализ перинатальных исходов показал, что в 65,58% масса новорожденных была ниже нормальной, при этом в 4,92% наблюдалась экстремально низкая масса тела. Эти показатели коррелируют с литературными данными, согласно которым тяжелая ПЭ в 50-65% сопровождается ЗРП [36, 132]. Данные УЗИ МППК перед родоразрешением, морфофункциональные показатели новорожденных от матерей с тяжелой ПЭ свидетельствуют о чрезвычайной напряженности компенсаторных механизмов фетоплацентарного комплекса в условиях ПЭ, что не позволяет плоду адекватно адаптироваться к прогрессивно ухудшающимся условиям.

Значение ПЭ как медико-социальной и экономической проблемы подтверждают особенности выхаживания новорожденных: 20,66% понадобилось проведение ИВЛ; 11,98% – введение сурфактанта; на следующий этап выхаживания (в отделение патологии новорожденных детской краевой больницы) было переведено 67,35% новорожденных. Кроме этого ранняя неонатальная смертность составила 6 случаев. Таким образом, с учетом 2 случаев антенатальной гибели при тяжелой ПЭ перинатальная смертность составила 32,79%. В общем же наши исследования подтверждают литературные данные о высокой перинатальной заболеваемости, снижении срока родоразрешения, веса новорожденных и оценки по шкале Апгар при тяжелой ПЭ.

Из целого ряда взаимосвязанных патологических процессов, имеющих место при ПЭ – аномальная плацентация с нарушением формирования сосудистой сети плаценты, иммунологическая составляющая, нарушение адаптации беременной и генетические факторы – именно первому отводится ведущая роль. В результате нарушения инвазии трофобласта не происходит нормального ремоделирования спиральных артерий, остающихся с малой емкостью и большой резистентностью, что приводит к эндотелиальной дисфункции, определяющейся дисбалансом между вазодилатирующими и вазопрессорными агентами, синтезирующимися эндотелием [40, 241].

Следующий этап нашего исследования был посвящен определению ключевых факторов, инициирующих (VEGF-A, MMP-2 и -9) и сдерживающих (sFlt-1, TIMP-1 и -2) ангиогенез и имплантацию, а также маркеров развития системного эндотелиоза (sICAM-1 и sVCAM-1).

В литературе в основном имеются результаты исследования изолированного содержания отдельных проангиогенных агентов и их антагонистов, маркеров клеточного воспаления, факторов инвазии трофобласта. Изучены взаимоотношения VEGF и sFlt-1, sICAM-1 и sVCAM-1, MMPs и TIMPs [82, 121, 142]. Работ, посвященных изучению совместного их действия в комплексе, не найдено. Одновременно 7 факторов в их взаимосвязи

друг с другом и с более чем 100 клиническими и лабораторными проявлениями тяжелой ПЭ нами было изучено впервые.

Исследование концентраций VEGF-A и sFlt-1 показало, что при беременности, осложненной тяжелой ПЭ, имеет место значимое повышение антиангиогенного sFlt-1 по сравнению с беременными без ПЭ ($4362 \pm 570,12$ и 1080 ± 435 пг/мл соответственно, $p < 0,05$). Это подтверждает литературные данные [96, 145, 186, 218]. В то же время мы получили неоднозначные данные о концентрации VEGF-A: несмотря на то, что при патологической беременности определялось значимое снижение концентрации этого агента, исследования других специалистов сообщают о более высокой его концентрации в сыворотке крови (сотни, а не десятки пкг/мл) [97]. Мы можем объяснить это тем, что подавляющее большинство исследований по изолированному изучению VEGF-A проводилось в I и II триместрах беременности, в III же триместре активность ангиогенеза снижается и повышается активность инволютивных процессов, маточно-плацентарный кровоток сформирован полностью и уровень проангиогенных факторов закономерно снижается. Кроме того, в различных работах используются разные наборы для определения этого фактора, в ряде случаев возможна перекрестная реакция с другими факторами роста (например, плацентарным фактором роста, который может конкурентно связываться с рецепторами VEGF-A) [65]. Наконец, в некоторых исследованиях определяют 2 формы VEGF: биологически активную свободную и связанную с рецептором, мы определяли только свободный VEGF.

Обнаруженные связи одного из основных проангиогенных маркеров VEGF-A с уровнем протеинурии, степенью выраженности ПЭ, а также рядом антиангиогенных факторов (sFlt-1, TIMP-2) только в основной группе исследуемых позволяют говорить о возможном рассмотрении снижения данного показателя в качестве маркера ПЭ. Кроме этого, мы можем сообщать о целесообразности оценки ангиогенного статуса беременной женщины с комплексным определением нескольких маркеров.

Также выявлена прямая зависимость между сывороточными концентрациями VEGF-A, его рецептора sFlt-1 и критериями тяжелой ПЭ: значимая отрицательная связь VEGF-A с уровнем протеинурии, являющейся одним из основных критериев ПЭ ($r=-0,48$; $p<0,05$ в основной группе и $r=-0,83$; $p<0,0001$ среди всех исследуемых), положительные корреляции sFlt-1 с классическими симптомами ПЭ ($r=0,56$; $p<0,0001$), отражающим состояние белкового обмена и функцию почек азотом мочевины ($r=0,49$; $p<0,05$), отрицательная связь с числом тромбоцитов, снижение которых ниже $100 \times 10^9/\text{л}$ является критерием тяжелой ПЭ и может свидетельствовать о развитии хронического ДВС-синдрома вследствие системного поражения эндотелия ($r=-0,44$; $p<0,05$). Это наблюдение подтверждает утверждение других авторов: чем тяжелее ПЭ, тем ниже концентрация VEGF и выше содержание sFlt-1 [80, 169, 200, 241].

Несмотря на то, что в большинстве исследований, посвященных изучению участия маркеров ангиогенеза в патогенезе ПЭ, показана отрицательная корреляция VEGF с sFlt-1 [148], в нашем исследовании подобной связи отдельно в основной группе испытуемых обнаружено не было. В целом же, за счет беременных без ПЭ и небеременных, вошедших в наше исследование, наличие связи было подтверждено ($r=-0,75$; $p<0,0001$).

Интересно рассмотрение связи sFlt-1 и молекулами адгезии sICAM-1 и sVCAM-1 ($r=0,48$; $p<0,001$ и $r=0,46$; $p<0,001$ соответственно). Повышенный уровень этих молекул отражает изменение свойств эндотелия и может являться маркером эндотелиальной дисфункции. По нашему мнению, указанные взаимоотношения связаны с одновременным участием sFlt-1 и молекул адгезии в сосудистом воспалении, имеющем место при ПЭ. Повышении экспрессии рассматриваемых факторов приводит к развитию феномена «активации» эндотелия, что в конечном итоге реализуется развитием ПЭ [112].

В нашем исследовании мы получили значимые различия в концентрации sVCAM-1 в сыворотке крови беременных основной и контрольной групп, а

также группы сравнения, отличие концентраций sICAM-1 также имело место, однако было статистически незначимо. Обращает на себя внимание высокая взаимная прямая взаимосвязь этих медиаторов воспаления эндотелия в группе с тяжелой ПЭ ($r=0,74$; $p<0,0001$). Найденная закономерность не совпадает с большинством аналогичных исследований, показывающих, что содержание межклеточной молекулы адгезии-1 при развитии ПЭ меняется мало [82, 225]. Мы предполагаем, что обнаруженная в исследовании связь объясняется повреждением эндотелия, имеющим место из рассматриваемых групп только при ПЭ. В то же время других значимых соотношений sICAM-1 с остальными клинико-лабораторными характеристиками найдено не было, поэтому вероятно стоит рассматривать данный маркер только как вспомогательный, например, в соотношении с уровнем sVCAM-1. Мы не нашли значимой взаимосвязи данных факторов с критериями тяжелой ПЭ, но обнаружили корреляцию соотношения sVCAM-1/sICAM-1 со следствием ПЭ – ухудшением состояния новорожденных: с нарастанием отношения молекул адгезии снижалась оценка по шкале Апгар как на I минуте ($r=-0,53$; $p<0,0001$), так и на V минуте ($r=-0,46$; $p<0,001$). Подобной связи ранее в литературе описано не было.

Представляется необходимым также отметить, что при увеличении показателя sVCAM-1/sICAM-1 при тяжелой ПЭ приходилось больше затрачивать времени при родоразрешении путем операции кесарево сечение ($r=0,53$; $p<0,01$). Каскад событий, запускающийся с поражения сосудов микроциркуляторного русла беременной и потом манифестирующий ПЭ, продолжает иметь место, и одним из его проявлений является повышенная кровоточивость тканей, наблюдаемая при оперативном родоразрешении женщин с тяжелой ПЭ (Таблица 16). Даже если общая кровопотеря в итоге окажется допустимой, продолжительность операции будет больше, чем при родоразрешении беременных без ПЭ, одним из объяснений этого является большее время, затрачиваемое на проведение гемостаза.

При изучении активности металлопротеиназ 2 и 9 типов, а также тканевого ингибитора металлопротеиназы 2 типа в периферической крови женщин, страдающих тяжелой ПЭ, отличия от таковой у беременных из группы сравнения хоть и были выявлены во всех случаях (снижение содержания обеих MMPs в основной группе), но значимыми ($p < 0,05$) они были только в случае TIMP-2 (Таблица 17). В то же время выявлены значимое снижение соотношения MMP-9/MMP-2 и взаимная положительная корреляция обеих MMPs ($r = 0,53$; $p < 0,0001$) при тяжелой ПЭ, а также что косвенно свидетельствует о совместном действии изучаемых MMPs. Найденное отношение не совпадает с исследованиями, посвященными изучению роли протеиназ в развитии ПЭ [127, 216]. Однако, принимая во внимание тот факт, что MMP-2 и MMP-9 облегчают формирование сосудистой сети (процесс, который нарушен с самого начала беременности, осложненной в дальнейшем ПЭ), то одномоментное зависимое снижение обеих протеаз становится аргументированным.

Результаты нашего исследования подтверждают мнение зарубежных исследователей о том, что наиболее целесообразно изучение участвующих в цитотрофобластической инвазии протеаз непосредственно на границе функциональной системы плацента-плод (т.е. в тканях плаценты, либо в пуповинной крови) [226].

Не обнаружено значимой зависимости MMP-2 от ее ингибитора TIMP-2 при анализе данных, полученных при обследовании основной группы, в то же время как у беременных, составивших группу сравнения, данная пара зависимых признаков показала достаточно высокую и значимую положительную корреляцию ($r = 0,575$; $p < 0,0001$). Этот факт можно объяснить четким координированным процессом ангиогенеза и имплантации при физиологической беременности. При ПЭ, в основе которой лежит дефект имплантации, напротив, происходит нарушение взаимосвязи коллагеназы и ее ингибитора.

В результате поиска научных исследований, мы обнаружили лишь одну работу, указывающую на совместное влияние VEGF-A и MMPs на процессы трофобластической инвазии [131]. В нашем исследовании ожидаемой связи между содержанием этих факторов мы не нашли. В то же время выявленная отрицательная корреляция между сывороточными концентрациями VEGF-A и TIMP-2 ($r=-0,48$; $p<0,001$) только в основной группе, по нашему мнению, опосредованно подтверждает показанное ранее участие VEGF-A в иницировании экспрессии MMPs, совместно участвующих в разрушении базальной мембраны [131]. При сравнении новых маркеров, пока неиспользуемых для прогноза развития или оценки степени тяжести уже манифестирующей ПЭ, с клинико-лабораторными показателями, давно хорошо себя для этого зарекомендовавшими, мы можем предположить, что определение содержания в периферической крови изучаемых факторов может быть эффективным как для диагностики уже развившейся ПЭ, так и для прогноза ее развития. Это предположение основано на выявлении изменения концентрации этих факторов, происходящее еще до появления первых клинических признаков обсуждаемого осложнения беременности.

Многомерный статистический анализ также показал влияние про- и антиангиогенных факторов на клинические проявления ПЭ. Так, VEGF связан с показателями свертывающей системы крови ($R=-0,656$), sFlt-1 и растворимые формы молекул адгезии sICAM-1 и sVCAM-1 отражают состояние почек ($R=0,64$; $-0,44$ и $0,72$ соответственно). Факт взаимосвязи ангиогенных факторов с основными маркерами степени тяжести ПЭ позволяет нам говорить о роли факторов ангиогенеза в развитии ПЭ и их значении при определении степени тяжести этого осложнения беременности.

Морфологическое исследование плацент обеих групп беременных показало соответствие данным литературы об особенностях строения плацент в норме и при ПЭ. При исследовании «здоровых» плацент выявленное замещение мышечных элементов стенки и широкий просвет спиральных артерий свидетельствуют о достаточной активности первой волны

цитотрофобластической инвазии и о большом объеме материнской крови, поступающей в межворсинчатое пространство плаценты. Истончение СТ терминальных ветвей при тяжелой ПЭ, напротив, говорит о тяжелой местной гипоксии вследствие уменьшения объема артериальной материнской крови в межворсинчатом пространстве. Отсутствие широких маточно-плацентарных артерий в основной группе, по всей видимости, может свидетельствовать о недостаточности второй волны цитотрофобластической инвазии.

По мнению Стрижакова А.Н. плацентарные факторы обладают следующими механизмами действия: аутокринный (факторы взаимодействуют с рецепторами клетки, которая его выработала), паракринный (факторы вырабатываются одними клетками и оказывают влияние на другие, расположенные рядом), интракринный (действие внутри клетки как внутриклеточные мессенджеры) и эндокринный (действие удаленно через кровотоки на клетки-мишени) [71]. Оценивать иммуноэкспрессию MMPs и TIMPs ближе к доношенному сроку беременности – довольно трудная задача, поскольку цитотрофобластическая инвазия к этому времени завершена, и в родившейся плаценте инвазивные элементы сохраняются лишь в базальной пластинке в виде скоплений интерстициального цитотрофобласта, отдельных многоядерных гигантских клеток, а также промежуточного цитотрофобласта в составе клеточных островков и септ, который происходит из ворсинчатого цитотрофобласта соседних «плавающих» ворсин.

В ходе нашей работы было установлено, что стадия цитотрофобластической инвазии в плацентах группы сравнения характеризуется остаточной иммуноэкспрессией пары MMP-2 и TIMP-2 при достаточно определенной реакции MMP-9 и TIMP-1 в самих инвазивных клетках, что является следствием аутокринной, сдерживающей регуляции их активности. Следует подчеркнуть отсутствие ингибиторов MMP в децидуальных клетках базальной пластины плаценты.

Несмотря на накопленный к настоящему времени большой материал экспериментальных исследований о роли металлопротеиназ в генезе «болезней имплантации», во II и III триместрах беременности концентрация MMPs в сочетании с их экспрессией тканью плаценты по данным литературы представлена фрагментарно и, немаловажно отметить, без привязки к отдельным инвазивным типам клеток [17, 128, 164].

При иммуногистохимическом исследовании плацент нами была определена высокая экспрессия TIMP-2 в тех клетках, которые соприкасаются с омывающей материнской кровью (ИЦТ, СТ и СТ-почки), поэтому продуцируемый TIMP-2 попадает в материнское кровообращение через узкие маточно-плацентарные артерии в общий кровоток. В данном случае это яркий пример паракринной регуляции, задача которой – сдерживать цитотрофобластическую инвазию в последние месяцы беременности. Помимо относительно слабой экспрессии TIMP-2 в инвазивных клетках, выявляется более выраженная его экспрессия в цитотрофобласте. Роль ИЦТ к завершению беременности падает, а ДК как потенциальные продуценты TIMPs, находятся в различной степени дистрофии. Как показывают исследования, проведенные ранее, металлопротеиназа 2 типа в I триместре начинает экспрессироваться раньше, чем протеиназа 9 типа [52, 144]. Повышение активности этого фактора, по всей видимости, сохраняется на протяжении всей беременности, несмотря на то, что основные события, приводящие к манифестации ПЭ, происходят еще на границе I и II триместров беременности.

В нормальной доношенной плаценте мы выявили явный спад MMP-2 в виде следовой реакции ИЦТ, МГК, СТ с негативными проявлениями в СТ-почках и ДК. Определённый интерес представляет слабая, но достоверная экспрессия MMP-2 в ПЦТ в составе клеточных островков и септ. Функциональная роль клеточных островков и септ, встречающихся во всех плацентах из группы сравнения, остается неясной. Считается, что периферический цитотрофобласт продуцирует плацентарный лактоген, будучи дополнительным резервом его продукции кроме основного источника

– синцитиотрофобласта ворсин [23]. У этих же женщин обнаружилась несомненная экспрессия TIMP-2 в МГК, ПЦТ, СТ и СТ-почках, что соответствует достоверному увеличению концентрации TIMP-2 в сыворотке крови.

Выявленная нами минимальная экспрессия MMP-2 в инвазивных клетках при ПЭ отражает многочисленные литературные данные о поверхностной неглубокой цитотрофобластической инвазии как основного патогенетического механизма ПЭ. Однако и в норме мы видим минимальную экспрессию MMP-2, что свидетельствует о завершённой цитотрофобластической инвазии в анализируемых нами сроках гестации.

Полученные нами данные не полностью совпадают с литературными о снижении MMP-9 в плацентах только при ПЭ [165]: мы выявили слабую экспрессию MMP-9 в ИЦТ, МГК и ДК в обеих группах беременных. Мы объясняем это тем, что в подавляющем большинстве исследований не проводится разделение на «чистую» и сочетанную ПЭ. По нашему мнению, экстрагенитальная патология может иметь решающее влияние на образование и сывороточное содержание изучаемых факторов, влияя на ангиогенез. Поэтому в наше исследование включены только случаи «чистой» ПЭ. По всей видимости, изменения концентрации обсуждаемых агентов у беременной без фоновой патологии могут быть приспособительными при ПЭ и являться необходимыми для успешного завершения беременности.

Новым фактом явилось обнаружение средней степени экспрессии TIMP-2 практически во всех исследуемых клетках (ИЦТ, МГК, ПЦТ, СТ), являющегося фактором ингибиции инвазии цитотрофобласта. То есть в данном случае наблюдается явное преобладание аутокринного снижения синтеза MMP-2 в собственных инвазивных клетках при тяжелой ПЭ.

Полученные нами результаты согласуются между собой: значимое повышение концентрации TIMP-2 в сыворотке крови пациенток с тяжелой ПЭ совпадает с выраженной его экспрессией структурами плаценты, в первую очередь ИЦТ. Следовательно, аргументировать повышение в крови TIMP-2,

обладающего антиангиогенной MMP-зависимой активностью, можно заинтересованностью именно ИЦТ (в норме показана негативная реакция этой структуры), чего ранее в исследованиях, посвященных обсуждаемой проблеме, выявлено не было. Интерстициальный ворсинчатый цитотрофобласт – важнейший элемент цитотрофобластической инвазии, определяющий ее ход в пределах децидуальной оболочки, в ряде работ показано замедление цитотрофобластической инвазии в III триместре именно за счет количества ИЦТ [35, 52].

Таким образом, только TIMP-2 показал корреляцию содержания в крови с экспрессией его структурами плаценты. MMPs же, несмотря на повышение их концентрации в крови при тяжелой ПЭ, не продемонстрировали значительной локальной экспрессии. Этот факт объясняется подавлением протеаз в крови своими ингибиторами [127], в результате чего в сыворотке MMPs обнаруживаются в большой концентрации, но являются неактивными, и их концентрация уровень экспрессии тканями достоверно не отражает.

ВЫВОДЫ

1. У большей части беременных Ставропольского края с тяжелой ПЭ (58,2%) наблюдается классическая симптоматика ПЭ с наличием триады Цангемейстера. Тяжелая ПЭ значительно влияет на срок и метод родоразрешения (абдоминально родоразрешены 70,5%, досрочное родоразрешение имело место в 61,07% наблюдений). Характерна низкая масса новорожденных от матерей с тяжелой ПЭ (2240,92 гр., SD 836,66), большая часть (65,7%) оценивается по Апгар в 5-7 баллов, выхаживание детей требует длительного пребывания в стационаре с переводом на второй этап выхаживания (67,35%) и использования современных реанимационных мероприятий (ИВЛ, препараты сурфактанта).

2. У беременных с тяжелой ПЭ в сыворотке крови концентрация антиангиогенного фактора sFlt-1 значительно выше по сравнению со беременными без гипертензивных расстройств ($4362 \pm 570,12$ и 1080 ± 435 пкг/мл соответственно; $p < 0,05$), значение соотношения sFlt-1/VEGF почти в 6 раз значительно выше у пациенток с тяжелой ПЭ (503 ± 67 и $86,22 \pm 11,81$ соответственно; $p < 0,01$).

3. При тяжелой ПЭ сывороточный уровень молекул адгезии как показателей эндотелиальной дисфункции выше, между ними определяется высокая положительная связь ($r=0,74$; $p < 0,0001$), значимая разница имеет место при рассмотрении sVCAM-1 ($1391 \pm 308,33$ и $966,2 \pm 165,22$ нг/мл соответственно; $p < 0,05$).

4. При тяжелой ПЭ концентрация металлопротеиназ 2 и 9 типов как одних из ключевых факторов инвазии, а также их ингибиторов отличается от таковой в норме. Наиболее показательно значимое повышение концентрации TIMP-2 при тяжелой ПЭ ($319,7 \pm 22,08$ и $283,21 \pm 17,18$ нг/мл соответственно; $p < 0,05$).

5. У пациенток с тяжелой ПЭ сывороточный уровень проангиогенного VEGF-A и значение впервые введенного соотношения sFlt-

1/VEGF-A значимо связаны с классическими клиническими проявлениями ПЭ: гипертензией, протеинурией и отеками ($r=-0,61$; $p<0,0001$ и $r=-0,59$; $p<0,0001$). Показатель sFlt-1/VEGF-A (как и содержание TIMP-2) значимо коррелирует с уровнем протеинурии при тяжелой ПЭ ($r=0,85$; $p<0,0001$ и $r=0,56$; $p=0,0062$ соответственно). При рассматриваемом осложнении гестации значение sFlt-1/VEGF-A значимо коррелирует с оценкой состояния новорожденного по Апгар (на I минуте: $r=-0,53$; $p<0,0001$; V минута: $r=-0,46$; $p=0,0007$). При тяжелой ПЭ концентрация VEGF-A зависит от показателей системы гемостаза ($R=-0,656$), а при анализе отношений ангиогенного статуса и показателей функции почек демонстрируют наибольший вклад sFlt-1 ($R=0,6445$) и sVCAM-1 ($R=0,7232$).

6. При тяжелой ПЭ выявляется высокая иммуноэкспрессия TIMP-2 в скоплениях ИЦТ (пример паракринной регуляции, необходимой для сдерживания цитотрофобластической инвазии в последние месяцы беременности) и средняя степень экспрессии TIMP-2 в МГК, ПЦТ и СТ (преобладание аутокринного снижения синтеза MMP-2 в собственных инвазивных клетках). Впервые доказана положительная корреляция сывороточного содержания TIMP-2 при тяжелой ПЭ с выраженной его экспрессией структурами плаценты.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Наряду с основными критериями тяжелой ПЭ (гипертензия, протеинурия, отеки) нужно выделить дополнительные признаки, свидетельствующие о тяжелой ПЭ: повышение азота мочевины, креатинина, фибриногена, АсТ, АлТ и общего билирубина. Данные признаки показали значимую связь в ходе многомерного статистического анализа с основными проявлениями тяжелой ПЭ (гипертензией, протеинурией и отечным синдромом).

2. К дополнительным критериям, характеризующим тяжелую ПЭ, в первую очередь нужно отнести отношение сывороточного содержания sFlt-1/VEGF и концентрацию TIMP-2, изменения которых являются маркерами нарушения инвазии и эндотелиальной дисфункции и тесно связано с перинатальными исходами. Шестикратное повышение указанного соотношения по сравнению с нормально протекающей беременностью и концентрацию TIMP-2 более 300 нг/мл нужно рассматривать как индикаторы тяжелой ПЭ.

3. Выявленные при морфологическом и иммуногистохимическом исследованиях плацент особенности могут являться основанием для применения в группах риска по развитию тяжелой ПЭ и после ее манифестации препаратов, улучшающих реологические свойства крови и маточно-плодово-плацентарный кровоток. К таким препаратам в первую очередь следует отнести аспирин и низкомолекулярные гепарины.

Перспективы дальнейших исследований

На наш взгляд, перспективным направлением для изучения данной проблемы является дальнейшее углубленное изучение данного вопроса, касающееся генетических исследований. Изучение генов, кодирующих экспрессию рассматриваемых в нашей работе факторов, позволит отнести их уже не к признакам ПЭ после ее проявления, а к предикторам развития этого

тяжелого осложнения беременности. Также является актуальным и важным продолжение изучения ангиогенного статуса беременных в зависимости от появления признаков ПЭ. Предварительные опубликованные результаты работ показывают отличия изучаемых показателей в случае ПЭ с ранним началом и поздней ПЭ. Все эти исследования должны быть направлены на определение дифференцированного подхода к выбору лечения ПЭ, к определению срока и метода родоразрешения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айламазян, Э.К. Гестоз и атеросклероз: общность патогенетических механизмов / Э.К. Айламазян, Д.И. Соколов, С.А. Сельков // Журнал акушерства и женских болезней. – 2009. – Т. LVIII, № 1. – С. 4-16.
2. Айламазян, Э.К. Гестоз: теория и практика / Э.К. Айламазян, Е.В. Мозговая. – М.: МЕДпресс-информ, 2008. – 272 с.
3. Акушерство и гинекология: Клинические рекомендации / под ред. Г.М. Савельевой, В.Н. Серова, Г.Т. Сухих – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 1024 с.
4. Акушерство: национальное руководство / под ред. Г.М. Савельевой [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 1088 с.
5. Акушерство: уч. для мед. вузов / Г.М. Савельева [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 660 с.
6. Акушерство: учебник / под ред. В.Е. Радзинского, А.М. Фукса. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 1040 с.
7. Аффифи, А. Статистический анализ: подход с использованием ЭВМ / А. Аффифи, С. Эйзен. – М.: Мир, 1982. – 488 с.
8. Бакшеев, Н.С. Клинические лекции по акушерству / Н.С. Бакшеев. – М.: Медицина, 1972. – 512 с.
9. Вихляева, Е.М. Доклинические проявления системных нарушений, клинические исходы и отдаленные последствия преэклампсии / Е.М. Вихляева // Акушерство и гинекология. – 2009. – № 1. – С. 3-6.
10. Внутриутробное развитие человека / под ред. А.П. Милованова, С.В. Савельева. – М.: МВД, 2006. – 384 с.
11. Возможности прогнозирования гестоза и тактика ведения беременности / Т.Ю. Пестрикова [и др.] // Пробл. беременности. – 2001. – №3. – С. 53-56.

12. Возможность прогнозирования и ранней диагностики преэклампсии по пептидному профилю мочи / Н. Л. Стародубцева [и др.] // *Акушерство и гинекология.* – 2015. – № 6. – С. 46-52.
13. Гемодинамическая характеристика гипертензивного синдрома и перинатальных исходов у повторнородящих с ожирением / Н.М. Подзолкова [и др.] // *Рос. вестн. акушера-гинеколога.* – 2009. – № 1. – С.4-8.
14. Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия: федеральные клинические рекомендации / Российское общество акушеров-гинекологов; Сост. Г.Т. Сухих, З.С. Ходжаева, О.С. Филиппов [и др.]. - М., 2013. - 85 с.
15. Зарубенко, Н.Б. Клинико-диагностическое и прогностическое значение маркеров эндотелиоза при гестозе: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2011. – 24 с.
16. Инвазия трофобласта и ее роль в патогенезе гестоза / И.М. Поздняков [и др.] // *Акушерство и гинекология.* – 2008. – № 6. – С. 3-6.
17. Интенсивность экспрессии металлопротеиназ 2-го и 9-го типов клетками инвазивного трофобласта при неосложненной беременности и преэклампсии / И.М. Расстригина [и др.] // *Архив патологии.* – 2014. – № 3. – С. 24-29.
18. Каталог продукции для специалистов группы компаний Биохиммак [Электронный ресурс]: Матриксные металлопротеиназы. – Доступ: http://rusmedserv.com/files/labdiag/43_MMP.pdf. – Дата обращения 27.08.2016.
19. Ким, Дж.О. Факторный, дискриминантный и кластерный анализ / Дж.О. Ким, Ч.У. Мьюллер, У.Р. Клекка; пер. с англ. под ред. И.С. Енюкова. – М.: Финансы и статистика, 1989. – 215 с.
20. Клинический протокол. Диагностика и лечение артериальной гипертензии у беременных / О.Н. Ткачева [и др.] // *Акушерство и гинекология.* – 2012. - № 4/2. – С. 10-13.

21. Клишо, Е.В. Матриксные металлопротеиназы в онкогенезе / Е.В. Клишо, И.В. Кондакова, Е.Л. Чойнзонов // Сибирский онкологический журнал. – 2003. – № 2. – С 62-70.
22. Князева, И.П. Роль маннозосвязывающего лектина в развитии преэклампсии / И.П. Князева, Т.В. Галина, В.Е. Радзинский // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 4/2. – С. 29-32.
23. Колобов, А.В. Плацента человека. Морфофункциональные основы: учебное пособие / А.В. Колобов, В.А. Цинзерлинг, Е.А. Смирнова [и др.]. – СПб.: Элби-СПб, 2011 – 80 с.
24. Крукиер, И.И. Продукция сосудисто-эндотелиального фактора роста и эндотелина в плаценте и пуповине при нормальной и осложненной беременности / И.И. Крукиер, Т.Н. Погорелова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – № 2. – С. 177-179.
25. Ланг, Т.А. Как описывать статистику в медицине. Аннотированное руководство для авторов, редакторов и рецензентов / Т.А. Ланг, М. Сесик; пер. с англ. под ред. В.П. Леонова – М.: Практическая медицина, 2011. – 480 с.
26. Леонов, В.П. Логистическая регрессия в медицине и биологии [Электронный ресурс]. – Доступ: http://www.biometrica.tomsk.ru/logit_1.htm. – Дата обращения 27.08.2016.
27. Леонов, В.П. Обработка экспериментальных данных на программируемых микрокалькуляторах / В.П. Леонов. – Томск: изд-во ТГУ, 1990. – 376 с.
28. Макаров, И.О. Значение эндотелиоза в развитии гестоза / И.О. Макаров, Т.В. Шеманаева, С.Р. Гасанова // Рос. вестн. акушера-гинеколога. – 2010. – № 2. – С. 16-19.
29. Макаров, О.В. Дифференцированный подход к ведению беременных с артериальной гипертензией / О.В. Макаров, Н.Н. Николаев // Акушерство и гинекология. – 2008. – № 1. – С. 9-15.

30. Макаров, О.В. Преэклампсия и хроническая артериальная гипертензия. Клинические аспекты / О.В. Макаров, О.Н. Ткачева, Е.В. Волкова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 136 с.
31. Материнская смертность в Российской Федерации в 2014 году: методическое письмо / под ред. Байбариной Е. Н. – М., 2015. – 72 с.
32. Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах (обзор) / Л.Н. Рогова [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. 18, № 2. – С. 86-89.
33. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем, десятого пересмотра. — Электронный ресурс. – М., 2003. 1 электр. опт. диск (CD-ROM).
34. Милованов, А.П. Анализ причин материнской смертности. Руководство для врачей / под ред. А.П. Милованова. – М., 2008. – 228 с.
35. Милованов, А.П. Морфологическая характеристика второй волны цитотрофобластической инвазии / А.П. Милованов, А.К. Кириченко // Архив патологии. – 2010. – Т. 72, № 1. – С. 3-6.
36. Милованов, А.П. Патология системы Мать-плацента-плод / А.П. Милованов. – М.: Медицина, 1999. – 448 с.
37. Милованов, А.П. Причины и резервы снижения материнской смертности на современном этапе. Руководство для врачей / под ред. А.П. Милованова, И.О. Буштыревой. – М.: МДВ. – 2014. – 336 с.
38. Молекулярные детерминанты развития ранней и поздней преэклампсии / З.С. Ходжаева [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2014. – № 6. – С. 14-19.
39. Мурашко, А.В. Роль факторов роста в развитии плацентарной недостаточности и преэклампсии / А.В. Мурашко, Ш.М. Магомедова // Акушерство и гинекология. – 2012. – Спецвыпуск. – С. 18-21.
40. Мурашко, Л.Е. Роль эндотелина в патогенезе преэклампсии / Л.Е. Мурашко // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 11. - С. 4-8.

41. Орлов, А.В. Скрининговые маркеры физиологической и осложненной беременности: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. / А.В. Орлов – Ростов-на-Дону., 2006. – 49 с.
42. Основные показатели здоровья матери и ребенка, деятельность службы охраны детства и родовспоможения в Российской Федерации [Электронный ресурс]. – Доступ: <http://www.mednet.ru/images/stories/files/CMT/materinstvo2015.pdf>. – Дата обращения 16.08.2016.
43. Оценка концентрации sICAM-1 в сыворотке крови беременных и продукции sICAM-1 тканью плаценты / Д.И. Соколов [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2009. – Том LVIII, № 1. – С. 44-49.
44. Павлов, К.А. Фетоплацентарный ангиогенез при нормальной беременности: роль плацентарного фактора роста и ангиопоэтинов / К.А. Павлов, Е.А. Дубова, А.И. Щеголев // Акушерство и гинекология. – 2010. – № 6. – С. 10-15.
45. Патогенез гестоза как проявление иммунокомплексной патологии эндотелия (острый иммунный эндотелиоз) / И.С. Сидорова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2008. – № 6. – С. 13-17.
46. Поиск воспроизводимых биомаркеров для диагностики преэклампсии / Н. Л. Стародубцева [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 2. – С. 10-17.
47. Потеряева, О.Н. Матриксные металлопротеиназы: строение, регуляция, роль в развитии патологических состояний (обзор литературы) / О.Н. Потеряева // Медицина и образование в Сибири: электронный научный журнал [Электронный ресурс]. – 2010. – № 5. – Доступ: http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=449.
48. Преэклампсия: руководство / под ред. Г.Т. Сухих, Л.Е. Мурашко. – М.: ГЭОТАР-Медиа., 2010. – 576 с.
49. Про- и антиангиогенные факторы в патогенезе ранних потерь беременности. Часть 1. Особенности содержания про- и антиангиогенных

сывороточных факторов в ранние сроки беременности / М. М. Зиганшина [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 3. – С. 14-19.

50. Радзинский, В.Е. Акушерская агрессия / В.Е. Радзинский. – М.: Изд-во журнала StatusPraesens, 2011. – 688 с.

51. Ранние сроки беременности / под ред. В.Е. Радзинского, А.А. Оразмурадова. – М.: StatusPraesens, 2009. – 480 с.

52. Расстригина, И.М. Морфогенез цитотрофобластической инвазии в течение неосложнённой и осложнённой преэклампсией беременности: автореф. дис. ... канд. мед. наук / И.М. Расстригина. – М., 2015. – 23 с.

53. Репина, М.А. Эклампсия. Ошибки акушерской тактики / М.А. Репина. – М: «СИМК», 2014. – 248 с.

54. Роль плода в развитии преэклампсии / И.С. Сидорова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 5. – С. 23-28.

55. Роль сонного апноэ в развитии преэклампсии / В.В. Романова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 4/2. – С. 4-9.

56. Савельева, Г.М. Материнская смертность и пути ее снижения / Г.М. Савельева, М.А. Курцер, Р.И. Шалина // Акушерство и гинекология. – 2009. – № 3. – С. 11-15.

57. Сидорова, И.С. Гестоз и материнская смертность / И.С. Сидорова, О.В. Зайратьянц, Н.А. Никитина // Акушерство и гинекология. – 2008. – № 2. – С. 13-15.

58. Сидорова, И.С. Преэклампсия или гестоз: возможен ли компромисс? / И.С. Сидорова, Н.А. Никитина // StatusPraesens. Акушерство, гинекология, бесплодный брак. – 2013. – № 2 (13). – С. 17- 24.

59. Сидорова, И.С. Преэклампсия в центре внимания врача-практика / И.С. Сидорова, Н.А. Никитина // Акушерство и гинекология. – 2014. – № 6. – С. 4-9.

60. Сидорова, И.С. Руководство по акушерству. Учебное пособие / И.С. Сидорова, В.И. Кулаков, И.О. Макаров. – М.: Медицина, 2006 – 848 с.

61. Сидорова, И.С. Современный взгляд на проблему преэклампсии: аргументы и факты / И.С. Сидорова, Н.А. Никитина // *Акушерство и гинекология*. – 2013. – № 5. – С. 10-16.
62. Соболева, Г.М. Активность матриксных металлопротеиназ -2 и -9 в сыворотке крови / Г.М. Соболева, А.В. Шуршалина, Г.Т. Сухих // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2006. – Т. 141, № 2. – С. 210-213.
63. Соболева, Г.М. Семейство матриксных металлопротеиназ: общая характеристика и физиологическая роль / Г.М. Соболева, Г.Т. Сухих // *Акушерство и гинекология*. – 2007. – № 1. – С. 5-8.
64. Соколов, Д.И. Васкулогенез и ангиогенез в развитии плаценты / Д.И. Соколов // *Журнал акушерства и женских болезней*. – 2007. – Том LVI, № 3. – С.129-133.
65. Солоницын, А.Н. Клиническое значение маркеров ангиогенеза для определения степени тяжести гестоза: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.Н. Солоницын. – М., 2008. – 24 с.
66. Справочник по прикладной статистике. В 2-х т.: пер. с англ./ под ред. Э. Ллойда, У. Ледермана, Ю.Н. Тюрина. – М.: Финансы и статистика, 1989. – Т. 1. – 510 с.; Т. 2. – 526 с.
67. Сравнительная оценка концентрации секреторных вариантов молекул адгезии в сыворотке крови беременных и их продукции тканью плаценты / О.И. Степанова [и др.] // *Молекулярная медицина*. – 2011. – № 1. – С. 48-53.
68. Сравнительная оценка молекулярных и иммуногистохимических маркеров иммунного повреждения эндотелия сосудов у беременных с артериальной гипертензией и преэклампсией / И.С. Сидорова [и др.] // *Акушерство. Гинекология. Репродукция*. – 2012. – Т. 6, № 4. – С. 29-32.
69. Стародубов, В.И. Репродуктивные проблемы демографического развития России / В.И. Стародубов, Л.П. Суханова. – М.: Менеджер здравоохранения, 2012. – 320 с.

70. Статистические выводы и связи: пер. с англ. / под ред. М. Кендалла, А. Стьюарта. – М., 1973. – 899 с.
71. Стрижаков, А.Н. Патолофизиология плода и плаценты / А.Н. Стрижаков, Е.В. Тимохина, И.В. Игнатко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 176 с.
72. Тромбоцитарные параметры при нормально протекающей беременности и гестозе / В.М. Погорелов [и др.] // Акушерство. Гинекология. Репродукция. – 2012. – Т. 6, № 3. – С. 28-33.
73. Характер изменений маркеров ангиогенеза при гестозе / И.С. Сидорова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2009. – № 3. – С. 38-41.
74. Ходжаева, З.С. Ранняя и поздняя преэклампсия: парадигмы патобиологии и клиническая практика / З.С. Ходжаева, А.М. Холин, Е.М. Вихляева // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 10. – С. 4-11.
75. Что нужно врачу в повседневной жизни? Что удобнее в работе? Что спасает жизнь пациентки? Общественное обсуждение / Г.М. Савельева [и др.] // StatusPraesens. Гинекология, акушерство, бесплодный брак. – 2013. - №1 (12). – С. 9-14.
76. Шалина, Р.И. Гестоз. Современное состояние вопроса / Р. И. Шалина // Акушерство и гинекология. – 2007. – № 5. – С. 27-33.
77. Шеманаева, Т.В. Клинико-диагностическое и практическое значение маркеров эндотелиоза при гестозе: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Т.В. Шеманаева. – М., 2008. – 24 с.
78. Шетикова, О.В. Определение роли ангиогенных факторов в прогнозировании развития преэклампсии: автореф. дис. ... канд. мед. наук / О.В. Шетикова. – М., 2010. – 25 с.
79. Шилин, Д.Е. Первичная профилактика преэклампсии кальцием и витамином D (с позиции акушерства, основанного на доказательствах) / Д.Е. Шилин // Гинекология. – 2011. – № 4. – С. 4-11.

80. Экспрессия VEGF и рецептора VEGF-R3 эндотелиальными клетками плаценты в норме и при гестозе / Д.И. Соколов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т. 145, № 3. – С. 321-325.
81. Ярмолинская, М.И. Матриксные металлопротеиназы и ингибиторы: классификация, механизм действия / М.И. Ярмолинская, А.С. Молотков, В.М. Денисова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. – № 1. – С. 113-125.
82. A comparative study of serum soluble vascular cell adhesion molecule-1 and soluble intercellular adhesion molecule-1 in preeclampsia / I. Phocas [et al.] // J. Perinatol. – 2000. – Vol. 20, N 2. – P. 114-119.
83. A longitudinal study of circulating angiogenic and antiangiogenic factors and AT1-AA levels in preeclampsia / A.S. Sahay [et al.] // Hypertens. Res. – 2014. – Vol. 37, N 8. – P. 753-758.
84. A systems biology perspective on sVEGFR1: its biological function, pathogenic role and therapeutic use / F.T. Wu [et al.] // J. Cell Mol. Med. – 2010. – Vol. 14, N 3. – P. 528-552.
85. Abbassi-Ghanavati, M. Pregnancy and laboratory studies: a reference table for clinicians / M. Abbassi-Ghanavati, L.G. Greer, F.G. Cunningham // Obstet. Gynecol. – 2009. – Vol.114, N 6. – P. 1326-1331.
86. Agarwal, I. Preeclampsia and the anti-angiogenic state / I. Agarwal, S.A. Karumanchi // Pregnancy Hypertension: An. Int. J. Women's Cardiovasc. Health. – 2011. – N 1. – P. 17–21.
87. Agida, E.T. Pregnancy outcome in eclamptics at the University of Abuja / E.T. Agida, B.I. Adeka, K.A. Jibril // Niger. J. Clin. Pract. – 2010. – Vol. 13, N 4. – P. 394-398.
88. Altered expression of genes involved in the production and degradation of endometrial extracellular matrix in patients with unexplained infertility and recurrent miscarriages / V. Jokimaa [et al.] // Mol. Hum. Reprod. – 2002. – Vol. 8, N 12. – P. 1111-1116.

89. American College of Obstetricians and Gynecologists: Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in pregnancy / J.M. Roberts [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2013. – Vol. 122. – P. 1122.
90. An automated method for the determination of the sFlt-1/PIGF ratio in the assessment of preeclampsia / S. Verlohren [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2010. – Vol. 202, N 2. – P. 161.
91. Analysis of intra-uterine cytokine concentration and matrix-metalloproteinase activity in women with recurrent failed embryo transfer / N. Inagaki [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2003. – Vol. 18, N 3. – P. 608-615.
92. Analysis of placental growth factor in placentas of normal pregnant women and women with hypertensive disorders of pregnancy / H. Shen [et al.] // *J. Huazhong. Univ. Sci. Technolog. Med. Sci.* – 2006. – Vol. 26, N 1. – P. 116-119.
93. Ananth, C. Impact of pregnancy-induced hypertension on perinatal survival in first and higher order births: a population-based study / C. Ananth, O. Basso // *Materials of 29th Annual Meeting of the Society for Maternal-Fetal Medicine.* – San Diego, 2009. – Abstract N 819.
94. Andraweera, P.H. The vascular endothelial growth factor family in adverse pregnancy outcomes / P.H. Andraweera, G.A. Dekker, C.T. Roberts // *Hum. Reprod. Update.* – 2012. – Vol. 18, N 4. – P. 436-457.
95. Angiogenesis-related biomarkers (sFlt-1/PLGF) in the prediction and diagnosis of placental dysfunction: an approach for clinical integration / I. Herraiz [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2015. – Vol. 16, N 8. – P. 19009-19026.
96. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia / S. Rana [et al.] // *Circulation.* – 2012. – Vol. 125, N 7. – P. 911-919.
97. Aref, S. Circulating vascular growth factor (VEGF) angiopoietin-1 (Angi-1) and soluble Tie-2 receptor in pregnancy complicated with pre-eclampsia: a prospective study / S. Aref, H. Goda, E. Abdelaal. // *J Obstet. Gynaecol. India.* – 2013. – Vol. 63, № 5. – P. 316-320

98. Arpino, V. The role of TIMPs in regulation of extracellular matrix proteolysis / V. Arpino, M. Brock, S.E. Gill // *Matrix Biol.* – 2015. – N 44-46. – P. 247-254.
99. Aspirin inhibits MMP-2 and MMP-9 expression and activity through PPARalpha/gamma and TIMP-1-mediated mechanisms in cultured mouse celiac macrophages / Y. Yiqin [et al.] // *Inflammation.* – 2009. – Vol. 32, № 4. – P. 233-241.
100. Association of metabolic syndrome with inflammatory mediators in women with previous gestational diabetes mellitus / B. Edalat [et al.] // *J. Diabetes Metab. Disord.* – 2013. – Vol. 12, N 1. – P. 8.
101. Automated measurement of sFlt1, PlGF and sFlt1/PlGF ratio in differential diagnosis of hypertensive pregnancy disorders / T. Engels [et al.] // *Hypertens. Pregnancy.* – 2013. – Vol. 32, N 4. – P. 459-473.
102. Bates, D.O. Vascular endothelial growth factors and vascular permeability / D.O. Bates // *Cardiovasc. Res.* – 2010. – Vol. 87. – P. 262-271.
103. Biomarkers of the prothrombotic state in abdominal obesity / M. Montilla [et al.] // *Nutr. Hosp.* – 2014. - Vol. 31, N 3. – P. 1059-1066.
104. Blood pressure change in normotensive, gestational hypertensive, preeclamptic, and essential hypertensive pregnancies / C. Macdonald-Wallis [et al.] // *Hypertension.* – 2012. – Vol. 59, N 6. – P. 1241-1248.
105. Brenner and Rector's the Kidney, 9th ed. / M.W. Taal [et al.]. – US: Saunders, 2011. – 3064 p.
106. Burton G.I. Regulation of vascular growth and function in the human placenta / G.I. Burton, D.S. Charnock-Jones., E. Jauniaux // *Reproduction.* – 2009. – Vol. 138. – P. 895-902.
107. Can changes in angiogenic biomarkers between the first and second trimesters of pregnancy predict development of pre-eclampsia in a low-risk nulliparous patient population? / L. Myatt [et al.] // *BJOG.* – 2013. – Vol. 120, N 10. – P. 1183-1191.

108. Cardiovascular sequelae of preeclampsia/eclampsia: a systematic review and meta-analyses / S.D. McDonald [et al.] // *Am. Heart J.* – 2008. – Vol. 156, N 5. – P. 918-930.
109. Cell-derived microparticles and vascular pregnancy complications: a systematic and comprehensive review / J. Alijotas-Reig [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2013. – Vol. 99, N 2. – P. 441-449.
110. CEMACH. The Confidential Enquiry into Maternal and Child Health (CEMACH). Saving mothers' lives: reviewing maternal deaths to make motherhood safer 2003-2005. London CEMACH. – 2007.
111. Cerdeira, A.S. Angiogenic factors in preeclampsia and related disorders / A.S. Cerdeira, S.A. Karumanchi // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine.* – 2012. – Vol. 2, N 11. – a006585.
112. Chen, X. Maternal biomarkers of endothelial dysfunction and preterm delivery / X. Chen, T.O. Scholl // *PloS One.* – 2014. – Vol. 9, N 1. – e85716.
113. Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 4th ed. / R. N. Taylor [et al.]. – Amsterdam: Academic Press, 2014. – 484 p.
114. Choudhury M. Epigenetics and microRNAs in preeclampsia / M. Choudhury, J.E. Friedman // *Clin. Exp. Hypertens.* – 2012. – Vol. 34, N 5. – P. 334-341.
115. Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array / A. Szarka [et al.] // *BMC Immunol.* – 2010. – N 11. – P. 59.
116. Clinical features and prognosis of early-onset preeclampsia / Q. Liu [et al.] // *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* – 2005. – Vol. 34, N 6. – P. 506-509.
117. Comparative study of serum level of vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1), intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) and high sensitive C-reactive protein (hs-CRP) in normal and pre-eclamptic pregnancies / M. Farzadnia [et al.] // *Iran J. Basic Med. Sci.* – 2013. – Vol. 16, N 5. – P. 689-693.

118. Dehghanian, F. New insights into VEGF-A alternative splicing: key regulatory switching in the pathological process / F. Dehghanian, Z. Hojati, M. Kay // *Avicenna J. Med. Biotechnol.* – 2014. – Vol. 6, N 4. – P. 192-199.
119. Di Renzo, G.C. The great obstetrical syndromes / G.C. Di Renzo // *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* – 2009. – Vol. 22. – P. 633-635.
120. Diagnosis and treatment of hypertensive disorders during pregnancy / I. G. Fabry [et al.] // *Acta Clin. Belg.* – 2010. – Vol. 65, N 4. – P. 229-236.
121. Differential regulation of matrix metalloproteinase 2 and matrix metalloproteinase 9 by activated protein C: relevance to inflammation in rheumatoid arthritis / M. Xue [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2007. – Vol. 56, N 9. – P. 2864-2874.
122. Duhig, K.E. Recent advances in the diagnosis and management of pre-eclampsia / K.E. Duhig, A.H. Shennan // *F1000Prime Rep.* – 2015. – N 7. – P. 24.
123. Duley, L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia / L. Duley // *Semin. Perinatol.* – 2009. – Vol. 33, N 3. – P. 130-137.
124. Eclampsia in the Netherlands / J.J. Zwart [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2008. – Vol. 112. – P. 820-826.
125. Eiland, E. Preeclampsia 2012 / E. Eiland, C. Nzerue, M. Faulkner // *J. Pregnancy.* – 2012. – Vol. 2012. – Article ID 586578.
126. Elevated hypercoagulability markers in hemoglobin SC disease / M.P. Colella [et al.] // *Haematologica.* – 2015. – Vol. 100, N 4. – P. 466-471.
127. Evaluation of metalloproteinases 2 and 9 and their inhibitors in physiologic and pre-eclamptic pregnancy / M. Montagnana [et al.] // *J. Clin. Lab. Anal.* – 2009. – Vol. 23, N 2. – P. 88-92.
128. Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in human trophoblasts of normal and preclamptic placentas: preliminary findings / M. Shokry [et al.] // *Exp. Mol. Pathol.* – 2009. – Vol. 87, № 3. – P. 219-225.
129. Expression pattern of matrix metalloprotenases (MMPs) in human deciduas during pregnancy / J. Anacker [et al.] // *J. Reprod. Immunol.* – 2010. – Vol. 86. – P. 79-111.

130. Ferrara, N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis / N. Ferrara // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2001. – Vol. 280, N 6. – P. 1358-1366.
131. Ferrara, N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress / N. Ferrara // *Endocr. Rev.* – 2004. – Vol. 25, N 4. – P. 581-611.
132. Fetal blood velocity waveforms in normal pregnancy / B. Stuart [et al.] // *Br. J. Obstet. Gynaecol.* – 1980. – Vol. 87, N 9. – P. 780-785.
133. First trimester screening for intra-uterine growth restriction and early-onset pre-eclampsia / G. Vandenberghe [et al.] // *Prenatal Diagnosis.* – 2011. – Vol. 31, N 10. – P. 955-961.
134. First-trimester placental protein 13, PAPP-A, uterine artery Doppler and maternal characteristics in the prediction of pre-eclampsia / A.O. Odibo [et al.] // *Placenta.* – 2011. – Vol. 32, N 8. – P. 598–602.
135. Forbes, K. Maternal growth factor regulation of human placental development and fetal growth / K. Forbes, M. Westwood // *J. Endocrinol.* – 2010. – Vol. 207. – P.1-16.
136. Friedman, A.M. Prediction and prevention of ischemic placental disease / A.M. Friedman, K.L. Cleary // *Semin. Perinatol.* – 2014. – Vol. 38, N 3. – P. 177-182.
137. Genetic variants in pre-eclampsia: a meta-analysis / A. J. Buurma [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2013. – Vol. 19, N 3. – P. 289-303.
138. Ghulmiyah, L. Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia / L. Ghulmiyah, B. Sibai // *Semin. Perinatol.* – 2012. – Vol. 36, N 1. – P. 56–59.
139. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis / L. Say [et al.] // *Lancet Glob. Health.* – 2014. – Vol. 2, N 6. – P. 323-333.
140. Heloterä, H. The VEGF family, the inside story / H. Heloterä, K. Alitalo // *Cell.* – 2007. – Vol. 130, N 4. P. 591-592.
141. Hosmer, D.W. Jr. Applied logistic regression / D.W. Hosmer. Jr., S. Lemeshow. – 2nd ed. – John Wiley & Sons, Inc, 2000. – 397 p.

142. Hund, M. Multicenter prospective clinical study to evaluate the prediction of short-term outcome in pregnant women with suspected preeclampsia (PROGNOSIS): study protocol / M. Hund, D. Allegranza, M. Schoedl // *BMC Pregnancy Childbirth*. – 2014. – Vol. 14. – P. 324.

143. Hutcheon, J.A. Epidemiology of pre-eclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy / J.A. Hutcheon, S. Lisonkova, K.S. Joseph // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2011. – Vol. 25, N 4. – P. 391-403.

144. Immunohistochemistry of matrix metalloproteinases (MMP), their substrates, and their inhibitors (TIMP) during trophoblast invasion in the human placenta / B. Huppertz [et al.] // *Cell Tissue Res.* – 1998. – Vol. 291, N 1. – P. 133-148.

145. Impaired adenosine-mediated angiogenesis in preeclampsia: potential implications for fetal programming / C. Escudero [et al.] // *Front. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 5. – P. 134.

146. Increased expression of matrix metalloproteinase-9 associated with gastric ulcer recurrence / S.L. Li [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 19, № 28. – P. 4590-4595.

147. Involvement of Galectin-9/TIM-3 pathway in the systemic inflammatory response in early-onset preeclampsia / E. Miko [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, N 8. – e71811.

148. Is the imbalance between pro-angiogenic and anti-angiogenic factors associated with preeclampsia? / L.L. Jardim [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2015. – № 447. – P. 34-38.

149. Jain, A. Role of matrix metalloproteinases in dental caries, pulp and periapical inflammation: an overview / A. Jain, R. Bahuguna // *J. Oral. Biol. Craniofac. Res.* – 2015. – Vol. 5, N 3. – P. 212-218.

150. Jeffcoate, T.N. Pre-eclampsia and eclampsia: the disease of theories / Jeffcoate T.N. // *Proc. R. Soc. Med.* – 1966. – Vol. 59, N 5. – P. 397-404.

151. Jelkmann, W. Pitfalls in the measurement of circulating vascular endothelial growth factor / W. Jelkmann // *Clin. Chem.* – 2001. – Vol. 47, N 4. – P. 617-623.
152. Jojović, M. Epidermal growth factor, vascular endothelial growth factor and progesterone promote placental development in rat whole-embryo culture / M. Jojović, F. Wolf, U. Mangold // *Anat. Embryol. (Berl.)*. – 1998. – Vol. 198, N 2. – P. 133-139.
153. Jones, G.T. Matrix metalloproteinases in biologic samples / G.T. Jones // *Adv. Clin. Chem.* – 2014. – Vol. 65. – P. 199-219.
154. Karumanchi, S.A. Advances in the understanding of eclampsia / S.A. Karumanchi, M.D. Lindheimer // *Curr. Hypertens. Rep.* – 2008. – Vol. 10, N 4. – P. 305-312.
155. Kleinrouweler, C.E. Accuracy of circulating placental growth factor, vascular endothelial growth factor, soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin in the prediction of pre-eclampsia: a systematic review and meta-analysis / C.E. Kleinrouweler, M.M. Wiegerinck, C. Ris-Stalpers // *BJOG.* – 2012. – Vol. 119, N 7. – P. 778-787.
156. Kliman, H.J. Trophoblast to human placenta / H.J. Kliman // *Encyclopedia of reproduction* / ed. by E. Knobil, J.D. Neill. – San Diego: Academic Press, 1999. – Vol. 4. – P. 834-846.
157. Lam, C. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia / C. Lam, K.H. Lim, S.A. Karumanchi // *Hypertension.* – 2005. – Vol. 46, N 5. – P. 1077-1085.
158. Low-molecular weight heparin induces in vitro trophoblast invasiveness: role of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors / N. Di Simone [et al.] // *Placenta.* – 2007. – Vol. 28, № 4. – P. 298-304.
159. Maternal health study group of Canadian perinatal surveillance system (public health agency of Canada). Incidence, risk factors, and associated complications of eclampsia / S. Liu [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2011. – Vol. 118, N 5. – P. 987-994.

160. Maternal levels of prostacyclin, thromboxane, ICAM, and VCAM in normal and preeclamptic pregnancies / D.F. Lewis [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2010. – Vol. 64, N 6. – P. 376-383.

161. Maternal mortality in the United States: predictability and the impact of protocols on fatal postcesarean pulmonary embolism and hypertension-related intracranial hemorrhage / S.L. Clark [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2014. – Vol. 211, N 1. – P. 32.

162. Maternal plasma concentrations of angiogenic/antiangiogenic factors in the third trimester of pregnancy to identify the patient at risk for stillbirth at or near term and severe late preeclampsia / T. Chaiworapongsa [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2013. – Vol. 208, N 4. – P. 287.

163. Matrix metalloproteinase 9 (MMP9) expression in preeclamptic decidua and MMP9 induction by tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta in human first trimester decidual cells / C.J. Lockwood [et al.] // *Biol. Reprod.* – 2008. – Vol. 78, N 6. – P. 1064-1072.

164. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 and 2 as potential biomarkers for gestational hypertension / J. A. Hamid [et al.] // *Singapore Med. J.* – 2012. – Vol. 53, N 10. – P. 681-683.

165. Matrix metalloproteinase-9 deficiency phenocopies features of preeclampsia and intrauterine growth restriction / V. Plaks [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2013. – Vol. 110, N 27. – P. 11109-11114.

166. Matrix metalloproteinase-9: many shades of function in cardiovascular disease / A. Yabluchanskiy [et al.] // *Physiology (Bethesda).* – 2013. – Vol. 28, N 6. – P. 391-403.

167. Matrix metalloproteinases involvement in pathologic conditions / C. Amălinei [et al.] // *Rom. J. Morphol. Embryol.* – 2010. – Vol. 51, N 2. – P. 215-228.

168. Matrix metalloproteinases: inflammatory regulators of cell behaviors in vascular formation and remodeling / Q. Chen [et al.] // *Mediators Inflamm.* – 2013. – Vol. 2013. – Article ID 928315.

169. Maynard, S.E. Angiogenic factors and preeclampsia / S.E. Maynard, S.A. Karumanchi // *Seminars in Nephrology*. – 2011. – Vol. 31, N 1. – P. 33-46.
170. MBL interferes with endovascular trophoblast invasion in preeclampsia / C. Agostinis [et al.] // *Clin. Dev. Immunol.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 484321.
171. McDonald, S.D. The recurrence risk of severe de novo pre-eclampsia in singleton pregnancies: a population-based cohort / S.D. McDonald, C. Best, K. Lam // *BJOG*. – 2009. – Vol. 116, N 12. – P. 1578-1584.
172. MicroRNAs in human placental development and pregnancy complications / G. Fu [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2013. – Vol. 14, N 3. – P. 5519-5544.
173. Molecular mechanisms of tissue inhibitor of metalloproteinase 2 in the tumor microenvironment / T.C. Remillard [et al.] // *Mol. Cell Ther.* – 2014. – Vol. 2. – P. 17.
174. Moussa, H.N. Management of hypertensive disorders in pregnancy / H.N. Moussa, S.E. Arian, B.M. Sibai // *Womens Health (Lond. Engl.)*. – 2014. – Vol. 10, N 4. – P. 385-404.
175. MT-MMPS as regulators of vessel stability associated with angiogenesis / N.E. Sounni [et al.] // *Front. Pharmacol.* – 2011. – N 2. – P. 111.
176. Multicenter evaluation of the first automated Elecsys sFlt-1 and PlGF assays in normal pregnancies and preeclampsia / J. Schiettecatte [et al.] // *Clin. Biochem.* – 2010. – Vol. 43, N 9. – P. 768-770.
177. Mutter, W.P. Molecular mechanisms of preeclampsia / W.P. Mutter, S.A. Karumanchi // *J. Microvasc. Res.* – 2008. – Vol. 75, N 1. – P. 1-8.
178. National Institute of Clinical Excellence (NICE) Clinical Guideline. Hypertension in pregnancy. The management of hypertensive disorders during pregnancy [Электронный ресурс] // NICE, 2010. – Доступ: <http://www.nice.org.uk/guidance/cg107>. – Дата обращения 27.08.2016.
179. 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. – Vol. 63, N 2. – P. 346-352.

180. O'Brien, T.E. Maternal body mass index and the risk of preeclampsia: a systematic overview / T.E. O'Brien, J.G. Ray, W.S. Chan // *Epidemiology*. – 2003. – Vol. 14, N 3. – P. 368-374.

181. Placental anti-oxidant gene polymorphisms, enzyme activity, and oxidative stress in preeclampsia / J. Zhang [et al.] // *Placenta*. – 2008. – Vol. 29, N 5. – P. 439-443.

182. Placental bed disorders in preterm labor, preterm PROM, spontaneous abortion and abruptio placentae / R. Romero [et al.] // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2011. – N 25. – P. 313-327.

183. Placental lesions associated with maternal underperfusion are more frequent in early-onset than in late-onset preeclampsia / G. Ogge [et al.] // *J. Perinat. Med.* – 2011. – Vol. 39, N 6. – P. 641-52.

184. Placental pathology suggesting that preeclampsia is more than one disease / D.B. Nelson [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2014. – Vol. 210, N 1. – P. 66.

185. Population-based trends in pregnancy hypertension and pre-eclampsia: an international comparative study / C.L. Roberts [et al.] // *BMJ Open*. – 2011. – Vol. 1, N 1. – e000101.

186. 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. – Vol. 123, N 24. – P. 2856-2869.

187. 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. – Vol. 31, N 1. – P. 66-74.

188. Prediction of preeclampsia: liver function tests during the first 20 gestational weeks / E. Mei-Dan, A. Wiznitzer, R. Sergienko [et al.] // *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* – 2013. – Vol. 26, N 3. – P. 250-253.

189. Pre-eclampsia (PE) and chorionicity in women with twin gestations / A. Singh [et al.] // *J. Clin. Diagn. Res.* – 2014. – Vol. 8, N 1. – P. 100-102.
190. Pre-eclampsia / E.A. Steegers [et al.] // *Lancet.* – 2010. – Vol. 376, N 9741. – P. 631-644.
191. Preeclampsia as a female-specific risk factor for chronic hypertension / J.T. Drost [et al.] // *J. Circulation.* – 2010. – Vol. 122, N 6. – P. 579-584.
192. Preeclampsia is associated with persistent postpartum cardiovascular impairment / K. Melchiorre [et al.] // *Hypertension.* – 2011. – Vol. 58, N 4. – P. 709-715.
193. Preeclampsia up-regulates angiogenesis-associated microRNA (i.e., miR-17, -20a, and -20b) that target ephrin-B2 and EPHB4 in human placenta / W. Wang [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2012. – Vol. 97, N 6. – E1051-1059.
194. Pre-eclampsia: pathophysiology, diagnosis and management / J. Uzan [et al.] // *Vasc. Health Risk Manag.* – 2011. – N 7. – P. 467-474.
195. Pre-pregnancy Body Mass Index (BMI) and delivery outcomes in a Canadian population / A. Vinturache [et al.] // *BMC Pregnancy Childbirth.* – 2014. – Vol. 14, N 1. – P. 422.
196. Primary preeclampsia in the second pregnancy: effects of changes in prepregnancy body mass index between pregnancies / D. Getahun [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2007. – Vol. 110, N 6. – P. 1319-1325.
197. Recurrence and long-term maternal health risks of hypertensive disorders of pregnancy: a population-based study / A.B. Andersgaard [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2012. – Vol. 206, N 2. – P. 143-145.
198. Review: Biochemical markers to predict preeclampsia / U.D. Anderson [et al.] // *Placenta.* – 2012. – Vol. 33 (Suppl.). – P. 42-47.
199. Review: the feto-placental unit, pregnancy pathology and impact on long term maternal health / V.L. Clifton [et al.] // *Placenta.* – 2012. – Vol. 33. – P. S37–S41.
200. Roberts, J.M. Pathophysiology of ischemic placental disease / J.M. Roberts // *Semin. Perinatol.* – 2014. – Vol. 38, N 3. – P. 139-145.

201. Roberts, J.M. The two stage model of preeclampsia: variations on the theme / J.M. Roberts, C.A. Hubel // *Placenta*. – 2009. – Vol. 30, Suppl. A. – P. S32-37.
202. Savaj, S. An overview of recent advances in pathogenesis and diagnosis of preeclampsia / S. Savaj, N. Vaziri // *Iran J. Kidney Dis*. – 2012. – Vol. 6, N 5. – P. 334-338.
203. Screening for preeclampsia using first-trimester serum markers and uterine artery Doppler in nulliparous women / F. Audibert [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2010. – Vol. 203, N 4. – P. 383-385.
204. Screening for pregnancy endpoints consortium. Robust early pregnancy prediction of later preeclampsia using metabolomic biomarkers / L. C. Kenny [et al.] // *Hypertension*. – 2010. – Vol. 56, N 4. – P. 741-749.
205. Second- and third-trimester placental hemodynamics and the risks of pregnancy complications: the Generation R Study / R. Gaillard [et al.] // *Am. J. Epidemiol.* – 2013. – Vol. 177, N 8. – P. 743-754.
206. Secretion of matrix metalloproteinase-2, matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinases into the intrauterine compartments during early pregnancy / S.C. Riley [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 1999. – Vol. 5, N 4. – P. 376-381.
207. Seki, H. Balance of antiangiogenic and angiogenic factors in the context of the etiology of preeclampsia / H. Seki // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2014. – Vol. 93, N 10. – P. 959-964.
208. Sex steroids modulate human aortic smooth muscle cell matrix protein deposition and matrix metalloproteinase expression / A.K. Natoli [et al.] // *Hypertension*. – 2005. – Vol. 46, N 5. – P. 1129-1134.
209. Shamshirsaz, A.A. Preeclampsia, hypoxia, thrombosis, and inflammation / A.A. Shamshirsaz, M. Paidas, G. Krikun // *J. Pregnancy*. – 2012. – Vol. 2012. – Article ID 374047.

210. Shibuya, M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases / M. Shibuya // *J. Biochem.* – 2013. – Vol. 153, N 1. – P. 13-19.
211. Sibai, B.M. Diagnosis, prevention and management of eclampsia / B.M. Sibai // *Obstet. Gynecol.* – 2005. – Vol. 105, N 2. – P. 402-410.
212. Sibai, B.M. Preeclampsia: An inflammatory syndrome? / B.M. Sibai // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2004. – Vol. 191, N 4. – P. 1061-1062.
213. Sibai, B.M. Preeclampsia / B.M. Sibai, G. Dekker, M. Kupfermine // *Lancet.* – 2005. – Vol. 365, N 9461. – P. 785-799.
214. Sircar, M. Pathogenesis of preeclampsia / M. Sircar, R. Thadhani, S.A. Karumanchi // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* – 2015. – Vol. 24, N 2. – P. 131-138.
215. Smoking and preeclampsia protection: cigarette smoke increases placental adrenomedullin expression and improves trophoblast invasion via the adrenomedullin pathway / D. Kraus [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2013. – Vol. 208, N 1. – S. 26.
216. Spinale, F.G. Targeting matrix metalloproteinases in heart disease: lessons from endogenous inhibitors / F.G. Spinale, F. Villarreal // *Biochem. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 90, N 1. – P. 7-15.
217. Standardized Mississippi protocol treatment of 190 patients with HELLP syndrome: slowing disease progression and preventing new major maternal morbidity / J.N.Jr. Martin [et al.] // *Hypertens. Pregnancy.* – 2012. – Vol. 31, N 1. – P. 79-90.
218. Steinberg, G. Angiogenic factors and preeclampsia / G. Steinberg, E.V. Khankin, S.A. Karumanchi // *Thromb. Res.* – 2009. – Vol. 123, Suppl. 2. – P. S93-S99.
219. Sternlicht, M.D. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior / M.D. Sternlicht, Z. Werb // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* – 2001. – Vol. 17. – P. 463-516.

220. Summary of the NHLBI Working Group on Research on Hypertension During Pregnancy / J.M. Roberts [et al.] // *Hypertension*. – 2003. – Vol. 41, N 3. – P. 437-445.
221. Systemic inflammatory stimulation by microparticles derived from hypoxic trophoblast as a model for inflammatory response in preeclampsia / S.M. Lee [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2012. – Vol. 207, N 4. – P. 337.
222. Taylor, R.N. Endothelial cell dysfunction and oxidative stress / R.N. Taylor, S.T. Davidge // *Chesley's Hypertensive Disorders of Pregnancy* / M.D. Lindheimer [et al.]. – New York: Elsevier, 2009. – P. 145.
223. Tew, W.P. Pre-eclampsia / W.P. Tew // *Can. Med. Assoc. J.* – 1938. – Vol. 38, N 1. – P. 20-24.
224. The "Great Obstetrical Syndromes" are associated with disorders of deep placentation / I. Brosens [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2011. – Vol. 204, N 3. – P. 193-201.
225. The cell adhesion molecule, VCAM-1, is selectively elevated in serum in pre-eclampsia: does this indicate the mechanism of leucocyte activation? / F. Lyall [et al.] // *Br. J. Obstet. Gynaecol.* – 1994. – Vol. 101, N 6. – P. 485-487.
226. The effects of preeclampsia and oxygen environment on endothelial release of matrix metalloproteinase-2 / S.J. Merchant [et al.] // *Hypertens. Pregnancy*. – 2004. – Vol. 23, N 1. – P. 47-60.
227. The imbalance in expression of angiogenic and anti-angiogenic factors as candidate predictive biomarker in preeclampsia / P. Nikuei [et al.] // *Iran J. Reprod. Med.* – 2015. – Vol. 13, N 5. – P. 251-262.
228. The incidence of eclampsia in a single defined population with a selective use of magnesium sulfate / C. Akkawi [et al.] // *Materials of 29th Annual Meeting of the Society for Maternal-Fetal Medicine*. – San Diego, 2009. – Abstract N 798.
229. The promise of angiogenic markers for the early diagnosis and prediction of preeclampsia / H. Hagmann [et al.] // *Clin. Chem.* – 2012. – Vol. 58, N 5. – P. 837-845.

230. The risk of adverse pregnancy outcomes in women who are overweight or obese / C. Athukorala [et al.] // *BMC Pregnancy Childbirth*. – 2010. – N 10. – P. 56.
231. Tokito, A. Matrix metalloproteinases in non-neoplastic disorders / A. Tokito, M. Jougasaki // *Int. J. Mol. Sci.* – 2016. – Vol. 17, № 7. – P. 1178.
232. Tranquilli, A.L. The origin of pre-eclampsia: from decidual "hyperoxia" to late hypoxia / A.L. Tranquilli, B. Landi // *Med. Hypotheses*. – 2010. – Vol. 75, N 1. – P. 38-46.
233. Trogstad, L. Pre-eclampsia: risk factors and causal models / L. Trogstad, P. Magnus, C. Stoltenberg // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2011. – Vol. 25, N 3. – P. 329–342.
234. Tsatsaris, V. Pathophysiology of preeclampsia / V. Tsatsaris, T. Fournier, N. Winer // *J. Gynecol. Obstet. Reprod. Biol.* – 2008. – N 1. – P. 16-23.
235. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid / D.R. Senger [et al.] // *Science*. – 1983. – Vol. 219, N 4587. – P. 983-985.
236. Uterine artery Doppler and sFlt-1/PlGF ratio: prognostic value in early-onset pre-eclampsia / P.I. Gómez-Arriaga [et al.] // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2014. – Vol. 43, N 5. – P. 525-532.
237. Uterine natural killer cells initiate spiral artery remodeling in human pregnancy / A. Robson [et al.] // *FASEB J.* – 2012. – Vol. 26, N 12. – P. 4876-4885.
238. Verlohren, S. Angiogenic growth factors in the diagnosis and prediction of pre-eclampsia / S. Verlohren, H. Stepan, R. Dechend // *Clinical Science*. – 2012. – Vol. 122, N 2. – P. 43-52.
239. Wang, A. Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis / A. Wang, S. Rana, S.A. Karumanchi // *Physiology*. – 2009. – Vol. 24. – P. 147-158.
240. WHO Recommendations for prevention and treatment of preeclampsia and eclampsia / Abalos E. [et al.] – Geneva: WHO Department of Maternal and Child Health, 2011. – 38 p.

241. Williams Obstetrics, 24th ed. / F. Cunningham [et al.]. – NY: McGraw-Hill, 2014. – 1376 p.

242. Wortelboer, E.J. First-trimester placental protein 13 and placental growth factor: markers for identification of women destined to develop early-onset pre-eclampsia / E.J. Wortelboer, M.P. Koster, H.S. Cuckle // Br. J. Obstet. Gynaecol. – 2010. – Vol. 117, N 11. – P. 1384-1389.