

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ИМЕНИ В.А. АЛМАЗОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ВАСИЛЬЕВА МАРГАРИТА ЮРЬЕВНА

**ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА РАСТВОРИМОГО ЭНДОГЛИНА И
ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА ПРИ ПРЕЭКЛАМПСИИ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

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

Научный руководитель:
Зазерская Ирина Евгеньевна
Доктор медицинских наук, профессор

Санкт-Петербург - 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Про- и антиангиогенные факторы в патогенезе преэклампсии	13
1.2 Структура и функции гликопротеина эндоглин	15
1.3 Роль эндоглина в патогенезе преэклампсии.....	17
1.4 Церулоплазмин, белок воспалительной реакции.....	22
1.5 Взгляд на возможный вклад церулоплазмينا в патогенез преэклампсии.....	23
1.6 Роль дефицита Омега-3 полиненасыщенных жирных кислот в течении беременности	25
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	26
2.1 Объем и общая структура исследования	26
2.2 Лабораторные методы исследования	33
2.2.1 Иммуноферментный анализ.....	33
2.2.1.1 Определение концентрации sEng в биологических жидкостях с использованием нового набора иммуноферментного анализа, разработанного в лаборатории гибридной технологии ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» Минздрава России	33
2.2.1.2 Определение концентрации растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 и плацентарного фактора роста	34
2.2.2 Метод Вестерн-блота.....	35
2.2.2.1 Анализ п-фенилендиаминоксидазной активности церулоплазмينا по модифицированному для микроформата методу	35
2.3 Методы статистической обработки материала	35
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	37
3.1 Клиническая характеристика в группах исследования	37
3.2 Определение растворимого эндоглина различными тест-системами иммуноферментного анализа	47
3.3 Растворимый эндоглин в биологических жидкостях в группах исследования	50
3.3.1 Оценка концентрации растворимого эндоглина в сыворотке крови и моче в группах исследования	50

3.3.2	Динамическая оценка концентрации растворимого эндоглина в сыворотке крови и моче в группах исследования	55
3.3.3	Связь концентрации растворимого эндоглина в сыворотке крови и моче с клинической симптоматикой	57
3.3.4	Связь концентрации растворимого эндоглина в сыворотке крови и моче с показателями ультразвукового исследования.....	67
3.4	Церулоплазмин в группах исследования.....	71
3.4.1	Оценка концентрации церулоплазмينا в группах исследования.....	71
3.4.2	Оценка концентрации церулоплазмينا в динамике в группах исследования	74
3.4.3	Анализ концентрации церулоплазмينا с клиническими проявлениями преэклампсии.....	75
3.4.4	Анализ концентрации церулоплазмينا с показателями послеродового периода	76
3.5	Оценка коэффициента церулоплазмин / растворимый эндоглин в группах исследования.....	79
3.6	Анализ эталонных факторов – sFlt-1 и PlGF.....	81
3.6.1	Оценка концентрации антиангиогенного фактора – растворимой тирозинкиназы-1 (sFlt-1).....	81
3.6.2	Оценка плацентарного фактора – PlGF	84
3.7	Оценка концентрации растворимого эндоглина, церулоплазмينا, sFlt-1 и PlGF в группах с преэклампсией.....	86
3.8	Динамика лабораторных показателей на фоне проведения стандартной терапии преэклампсии и с добавлением Омега-3-полиненасыщенных жирных кислот	90
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	93
	ВЫВОДЫ	99
	ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	101
	ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ..	102
	СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	103
	СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	104

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы

В течение десятилетий акушеры-гинекологи сталкиваются с проблемой развития гипертензивных расстройств в период беременности. 75% всех случаев материнской смертности возникает из-за кровотечений, инфекционных осложнений, небезопасных аборт и гипертензивных расстройств; из них на долю преэклампсии и эклампсии приходится 14% летальных исходов. По данным службы охраны детства и родовспоможения Российской Федерации, гипертензивные осложнения беременности занимают 4-е место в списке причин материнской смертности в течение последнего десятилетия [8].

Несмотря на существование множества теорий патогенеза преэклампсии и отсутствие финальной точки в данном вопросе, в настоящее время считается, что данная патология плаценты, протекает в 2 стадии: (1) аномальная плацентация в начале первого триместра в виде поверхностной инвазии трофобласта и неадекватного ремоделирования спиральных артерий с последующим (2) «материнским синдромом» в более позднем втором и третьем триместрах, характеризующимся ответом на эндотелиальную дисфункцию и избыток антиангиогенных факторов [15].

Ряд данных подтверждает идею о том, что поврежденная плацента приводит к высвобождению растворимых токсических факторов в материнском кровотоке, за чем следует воспаление, эндотелиальная дисфункция и системное заболевание матери. Эндотелиальная дисфункция является одним из ключевых факторов в патогенезе преэклампсии, и характеризуется снижением выработки оксида азота, отвечающего за регулирование сосудистого тонуса и способствующего расширению сосудов [16]. Несмотря на то, что патогенез преэклампсии не до конца изучен, считается, что он связан с дисбалансом между про- и антиангиогенными

факторами (sFlt-1, PlGF, sEng). Повышенные уровни sFlt-1 ингибируют ангиогенез, в то время как низкие уровни PlGF не стимулируют ангиогенез. Это приводит к недостаточной перфузии плаценты, и как следствие к развитию преэклампсии [17].

Среди антиангиогенных белков широко изучаются при преэклампсии растворимый эндоглин (sEng), эндогенный ингибитор TGF- β 1 (трансформирующий фактор роста β 1). Эндоглин — это белок клеточной мембраны, который экспрессируется на поверхности как нормальных, так и трансформированных клеток человека — клетках эндотелия сосудов, моноцитарных клетках, клетках молочных и предстательных желёз, клетках хориона и трофобласта, нейробластом, глиобластом, карцином желудка, печени, шейки матки и прочих клетках [18]. Растворимая форма эндоглина (sEng) образуется в результате протеолитического расщепления рецептора посредством матриксной металлопротеиназы-14 (MMP-14). Экспрессия эндоглина активируется в ответ на гипоксию, индуцированную агентами, которые ингибируют передачу сигналов сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) [19].

Поскольку считается, что ишемизированная плацента служит мощным источником антиангиогенных факторов: растворимой формы рецептора к сосудистому фактору роста (sFlt-1) и растворимого эндоглина (sEng), избыток которых вызывает системную дисфункцию клеток эндотелия матери и приводит к развитию клинической симптоматики преэклампсии, исследования в данной области остаются актуальными в течение последних десятилетий [14].

В вопросе патогенеза преэклампсии вызывает также интерес изучение концентрации церулоплазмينا, как представителя ферментативного звена антиоксидантной системы защиты организма в третьем триместре беременности. Церулоплазмин — медьсодержащая оксидаза, относящаяся к альфа-2-глобулиновой фракции плазмы крови человека [7]. Церулоплазмин предотвращает неферментативные реакции, дающие начало свободным радикалам и дальнейшему развитию перекисного окисления липидов, и образует прооксидантно-антиоксидантную буферную систему крови, участвующую в поддержании окислительного гомеостаза. Церулоплазмин может выступать как регулятор

функции NO-синтетазы в эндотелиальных клетках сосудов, контролируя сосудистый тонус [20].

Однако на сегодняшний день опубликованные научные данные посвященные изучению церулоплазмينا при преэклампсии весьма неоднородны и малочисленны. Имеются данные об отсутствии изменений уровня церулоплазмينا в зависимости от развития беременности [21]. Также по данным систематического обзора концентрация церулоплазмينا в сыворотке крови значительно выше при преэклампсии как умеренной, так и тяжелой степени, чем при физиологическом течении беременности, в связи с чем предполагается, что дальнейшие исследования в данном направлении могут внести вклад в прогнозирование развития преэклампсии [22]. Считается, что церулоплазмин вероятно вовлечен в регуляцию функции эндотелиальных клеток, которая может быть нарушена при преэклампсии [23]. В связи с потенциальной ролью церулоплазмينا в развитии преэклампсии необходимы дальнейшие исследования, чтобы лучше понять его роль в развитии этого состояния.

В качестве фактора, способного благоприятно повлиять как на закладку систем и органов плода, его рост и развитие, так и на течение беременности рассматривается роль сбалансированного питания при беременности. Так дефицит омега-3-полиненасыщенных жирных кислот может привести со стороны матери к повышению агрегации тромбоцитов, вазоконстрикции и повышению артериального давления [4,24]. Проведение наблюдений по применению Омега -3 полиненасыщенных жирных кислот необходимо для оценки отдаленных результатов для матери и ребенка, для улучшения понимания метаболических путей, в частности, путей роста и развития нервной системы, а также для определения того, отличаются ли и каким образом результаты в зависимости от приема различных типов Омега-3-полиненасыщенных жирных кислот, доз и схем применения; или по характеристикам женщин [25].

Таким образом, на сегодняшний день недостаточно научных данных в мировой литературе об оценке в течении преэклампсии факторов ангиогенеза, антиоксидантной системы и механизмов влияния на них приема препаратов

полиненасыщенных жирных кислот. В связи с этим актуально изучение новых лабораторных показателей для внесения ясности в патогенез заболевания, возможности прогнозирования его исходов и влияния на них.

Цель исследования

Оценить роль растворимого эндоглина и церулоплазмينا в прогнозировании течения преэклампсии и в качестве новой фармакологической мишени.

Задачи исследования

1. Оценить уровни растворимого эндоглина и церулоплазмينا в группах наблюдения при беременности и в послеродовом периоде.
2. Сопоставить концентрацию растворимого эндоглина (sEng) и церулоплазмينا с выраженностью симптомов и сроком манифестации преэклампсии.
3. Установить содержание анти- и проангиогенных факторов (sEng, sFlt-1, PlGF), церулоплазмينا при «чистой» преэклампсии и при преэклампсии в сочетании с хронической артериальной гипертензией.
4. Оценить чувствительность методики определения растворимого эндоглина в сыворотке крови и в моче.
5. Определить динамику исследуемых лабораторных показателей при применении препаратов Омега-3-полиненасыщенных жирных кислот при преэклампсии.

Научная новизна исследования

Подтверждены многократные повышения sEng в ассоциации с рядом симптомов (уровнем артериального давления, протеинурией, выраженностью отеков), что указывает на значимость данного антиангиогенного фактора в патогенезе преэклампсии.

Впервые установлена динамика sEng после родоразрешения при физиологической беременности и преэклампсии как в сыворотке крови, так и в моче. При тяжелой преэклампсии доказано сохранение в послеродовом периоде высоких уровней sEng, указывающее на риски сердечно-сосудистых осложнений в дальнейшем.

Впервые с применением новой иммуноферментной системы 4E4-4C9, разработанной в лаборатории гибридных технологий ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» Минздрава России определена диагностическая значимость оценки концентрации sEng в биологических жидкостях и установлены пороговые значения для прогнозирования тяжелой преэклампсии.

Установлены пороговые значения для дифференциальной диагностики степени тяжести преэклампсии в зависимости от гипертензионного анамнеза – во время беременности соотношение sFlt-1 / PlGF при «чистой» преэклампсии и в послеродовом периоде установленный коэффициент церулоплазмин / sEng при сочетании с хронической артериальной гипертензией.

Теоретическая и практическая значимость работы

Доказанная взаимосвязь уровня sEng с клиническими проявлениями преэклампсии, и наиболее высокими концентрациями sEng в сыворотке крови в случае развития ранней преэклампсии на фоне хронической артериальной

гипертензии с повышением систолического артериального давления 160 и более мм рт.ст., позволяет прогнозировать длительность пролонгирования беременности и сроки родоразрешения.

Определение порогового значения sEng в сыворотке крови, позволяющего прогнозировать развитие ранней преэклампсии и её течение.

Установление нового коэффициента церулоплазмин / sEng для послеродового периода и определение пороговое значения соотношения sFlt-1 / PlGF повысит эффективность выявления пациенток с тяжелой преэклампсией с любым гипертензионным статусом для усиления контроля над их состоянием при пролонгировании беременности и после родоразрешения.

Персистенция высоких уровней sEng в послеродовом периоде ассоциирована с сохранением эндотелиальной дисфункции и необходимостью персонификации тактики ведения в дальнейшем.

Методология и методы исследования

Выполнено проспективное когортное исследование с участием 130 беременных, разделенных на 2 группы: контрольную - с физиологической беременностью (n=40); основную – с преэклампсией (n=90), которая была поделена на подгруппы с умеренной преэклампсией – 43 и тяжелой преэклампсией – 47. Используются клинические, лабораторные (определение уровня растворимого эндоглина, церулоплазмينا и sFlt-1, PlGF), инструментальные методы исследования.

Диссертационное исследование проводилось в рамках выполнения государственного задания (уникальный номер реестровой записи 730000Ф.99.1.БВ10АА00006, регистрационный номер НИОКТР 121031100304-2).

Положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Доказанные однонаправленные изменения sEng и sFlt-1 / PlGF при беременности, осложненной преэклампсией, и снижение sEng в сыворотке крови и моче в послеродовом периоде дополняют представление о патогенезе данного заболевания и указывают на то, что причиной дисбаланса про- и антиангиогенных факторов является сам процесс гестации.

2. Установлена разница в содержании анти- и проангиогенных факторов в зависимости от степени тяжести преэклампсии и гипертензионного анамнеза. Предложен метод прогнозирования развития тяжелой степени заболевания у беременных с начальными клиническими проявлениями преэклампсии без гипертензионного анамнеза на основании соотношения sFlt-1 / PlGF. Полученные данные вносят значимый вклад в диагностику, оценку рисков и особенностей течения заболевания.

3. Применение установленного коэффициента церулоплазмин / растворимый эндоглин позволяет определить вклад преэклампсии в тяжесть состояния у пациенток и провести дифференциальный диагноз между хронической артериальной гипертензией и преэклампсией с хронической артериальной гипертензией для выбора персонафицированной тактики в послеродовом периоде.

4. На основании сравнительного анализа использования стандартных коммерческих систем, оценена эффективность применения новой системы иммуноферментного анализа. Установлена чувствительность 73,7% и специфичность 76,0% методики определения sEng в моче для прогнозирования тяжелой преэклампсии (пороговое значение 20,1 нг/мл). Полученные данные позволяют рассматривать применение оценки sEng в моче в качестве нового - неинвазивного теста для дополнительной диагностики степени тяжести преэклампсии.

5. Прием Омега-3-полиненасыщенных жирных кислот в течение 14 суток в дополнение к стандартной терапии при преэклампсии не продемонстрировал влияния на изменение концентрации растворимого эндоглина, что может быть связано с недостаточной временной экспозицией Омега-3-полиненасыщенных жирных кислот в настоящем исследовании.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность диссертационного исследования достигнута за счет достаточного объема выборки. Полученные результаты проанализированы с помощью современных статистических методов обработки данных, которые отвечали цели и задачам исследования, а также объему выборки пациентов.

По материалам диссертационного исследования опубликовано 9 научных работ, из которых научных статей 4 – в ведущих рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России 3, в зарубежном издании, рецензируемом международной базой данных Scopus 1, – других научных публикаций 5.

Результаты исследования представлены на Европейском конгрессе по Перинатальной Медицине (European Congress Perinatal Medicine) (Санкт-Петербург, 2018), Общероссийской конференции с международным участием «Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству» (Санкт-Петербург, 2022), V Инновационном Петербургском медицинском форуме (Санкт-Петербург, 2022); Алмазовском молодежном медицинском форуме (Санкт-Петербург, 2022); Конкурсе молодых ученых в рамках XXIII Всероссийского научно-образовательного форума «Мать и Дитя» (Москва, 2022), где получен Диплом I степени.

Основные положения диссертации внедрены в учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии с клиникой и лечебную работу подразделений Перинатального центра ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России.

Личный вклад автора в исследование

Автор участвовал в отборе пациентов согласно критериям включения, планировании исследования, провел аналитический обзор литературы. Самостоятельно автором выполнен сбор и систематизация данных клинического обследования, пробоподготовка образцов крови и мочи для лабораторных исследований, обобщение результатов и выполнена статистическая обработка данных, а также апробация результатов, подготовка научных докладов и публикаций по проделанной работе.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы исследования, списка сокращений и списка литературы. Диссертационное исследование изложено на 116 страницах машинописного текста. Список литературы состоит из 101 источника, включая 14 отечественных и 87 зарубежных ресурсов. Работа проиллюстрирована 30 рисунками и 27 таблицами.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Про- и антиангиогенные факторы в патогенезе преэклампсии

Несмотря на отсутствие окончательной ясности в понимании патогенеза преэклампсии, в настоящее время считается, что данная патология плаценты, протекает в 2 стадии: (1) аномальная плацентация в начале первого триместра в виде поверхностной инвазии трофобласта и неадекватного ремоделирования спиральных артерий с последующим (2) «материнским синдромом» в более позднем втором и третьем триместрах, характеризующимся ответом на эндотелиальную дисфункцию и избыток антиангиогенных факторов [26]. Вероятно, при преэклампсии плацента обеспечивает высокий уровень провоспалительных цитокинов, которые могут привести к усилению окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции. Кроме того, плацента также вырабатывает высокий уровень ангиотензина II, что может привести к повышению сосудистого сопротивления и снижению кровотока [27]. Хотя механизм аномальной плацентации является спорным, модели на животных продемонстрировали, что маточно-плацентарная ишемия вызывает гипертензивную реакцию полиорганной недостаточности, наблюдаемую при преэклампсии у матери (стадия 2). Существует ряд теорий плацентарной дисфункции, наблюдаемой на стадии 1, включающих окислительный стресс, деятельность аномальных НК-клеток (натуральные киллеры) на границе «плацента-матка», а также генетические факторы и факторы окружающей среды, однако ни одна из теорий не имеет убедительных доказательств [3,19,28]. Ряд данных подтверждает идею о том, что поврежденная плацента приводит к высвобождению растворимых токсических факторов в материнском кровотоке, за чем следует воспаление, эндотелиальная дисфункция и системное заболевание матери. Эндотелиальная дисфункция является одним из ключевых факторов в

патогенезе преэклампсии, и характеризуется снижением выработки оксида азота, отвечающего за регулирование сосудистого тонуса и способствующего расширению сосудов. Это снижение выработки оксида азота приводит к увеличению сосудистого сопротивления и уменьшению кровотока [16].

Несмотря на то, что патогенез преэклампсии не до конца изучен, считается, что он связан с дисбалансом между про- и антиангиогенными факторами. Двумя ключевыми белками, участвующими в этом процессе, являются растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 (sFlt-1) и плацентарный фактор роста (PlGF). sFlt-1 представляет собой растворимую форму рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR-1). Он связывается с VEGF и PlGF и изолирует их, предотвращая их связывание с соответствующими рецепторами и, таким образом, ингибируя ангиогенез [29]. PlGF — это проангиогенный белок, который вырабатывается плацентой и связывается с VEGFR-1 и VEGFR-2, стимулируя ангиогенез. Считается, что дисбаланс между sFlt-1 и PlGF является основным фактором в патогенезе преэклампсии. Повышенные уровни sFlt-1 ингибируют ангиогенез, в то время как низкие уровни PlGF не стимулируют ангиогенез. Это приводит к недостаточной перфузии плаценты, что, в свою очередь, приводит к развитию преэклампсии [17].

Среди антиангиогенных белков широко изучаются при преэклампсии растворимый эндоглин (sEng), эндогенный ингибитор TGF- β 1 (трансформирующий фактор роста β 1). Известно, что преэклампсия является провоспалительным состоянием, но какие клетки причастны к этому процессу только предстоит выяснить. Синцитио-трофобластные микровезикулы и экзосомы, богатые sFlt-1 и эндоглином, могут вызывать воспалительную реакцию. In vitro микровезикулы синцитиотрофобласта активируют культивированные мононуклеарные клетки периферической крови, вызывая высвобождение провоспалительных цитокинов, которое еще более выражено при воздействии мононуклеарных клеток периферической крови беременных пациенток. Однако данные in vitro противоречивы, поскольку микровезикулы, индуцированные альтернативным механизмом, не являются провоспалительными [19].

Поскольку считается, что ишемизированная плацента служит мощным источником антиангиогенных факторов: растворимой формы рецептора к сосудистому фактору роста (sFlt-1) и растворимого эндоглина (sEng), избыток которых вызывает системную дисфункцию клеток эндотелия матери и приводит к развитию клинической симптоматики преэклампсии, исследования в данной области остаются актуальными в течение последних десятилетий [6,12,14]. Изучение sFlt-1 и PlGF привлекает интерес ученых не только в качестве биомаркеров преэклампсии для раннего диагностирования и обеспечения своевременного лечения, снижения риска осложнений, связанных с гестозом (инсульт, отслойка плаценты, преждевременные роды и т.д.) [9], но и в качестве потенциальных терапевтических агентов для лечения заболевания. Предварительные исследования позволяют предположить, что экстракорпоральное удаление циркулирующего sFlt1 может уменьшить тяжесть преэклампсии. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы подтвердить эти выводы и изучить потенциал регулирования уровней sFlt-1 и PlGF в качестве терапевтической стратегии лечения преэклампсии [30].

1.2 Структура и функции гликопротеина эндоглин

Эндоглин является белком клеточной мембраны, который был открыт в середине 80-х годов [31]. В 1993 г. международная рабочая группа по лейкоцитарным антигенам человека отнесла эндоглин к кластеру дифференцировки CD105 [32]. С конца 20 века начинается активное изучение этого белка в клеточной биологии, иммунологии, онкологии, гематологии, кардиологии, акушерстве и гинекологии и многих других. Экспрессия эндоглина происходит на поверхности как нормальных, так и трансформированных клеток человека – клетках эндотелия сосудов, моноцитарных клетках, клетках молочных и предстательных желёз, клетках хориона и трофобласта, нейробластом,

глиобластом, карцином желудка, печени, шейки матки и прочих клетках [18,33–35]. Растворимая форма эндоглина образуется в результате протеолитического расщепления рецептора посредством матриксной металлопротеиназы-14 (ММР-14). Фрагменты экстраклеточной части молекулы обнаруживают в плазме и сыворотке крови [36–38], моче [39,40], ростовых средах ряда клеточных культур [35], амниотической жидкости [37,42], спинномозговой жидкости. Измерения концентрации растворимого эндоглина в биологических жидкостях проводили в исследованиях по мониторингу роста и метастатической активности опухолей, оценке вероятности развития преэклампсии у беременных женщин [43] и прогноза течения атеросклеротических процессов [38,44–46].

На сегодняшний день сообщается, что эндоглин играет значимую роль в процессах ангиогенеза как нормальных, так и опухолевых структур [32,38], а также связан с процессами функционирования эндотелия, в том числе является звеном в развитии эндотелиальной дисфункции [1,2,47,48].

Эндоглин является мембранным антигеном клеток сосудистого эндотелия и компонентом рецепторных комплексов: трансформирующего фактора роста опухоли β (TGF- β), костно-морфогенетического белка (BMP) и активина [10,49]. Подвергающийся протеолитическому отщеплению эндоглин может быть обнаружен в двух различных изоформах - связанным с мембраной, либо растворимым [50,51].

К функциям эндоглина относят регуляцию сосудистого тонуса путем взаимодействия с эндотелиальной синтазой оксида азота (регулируется NO-зависимая вазодилатация, а также экспрессия эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и ее активность) [18], ингибирование формирования эндотелиальной капиллярной трубки и усиление проницаемости сосудов [52,53]. Экспрессия эндоглина активируется в ответ на гипоксию, индуцированную агентами, которые ингибируют передачу сигналов сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) [19]. Поэтому нацеливание на эндоглин в онкологии представляет собой новый подход к ингибированию ангиогенеза и роста опухоли и дополняет

использование существующих ингибиторов ангиогенеза, которые нарушают путь VEGF [38].

Растворимая форма эндоглина образуется в результате протеолитического расщепления рецептора посредством матриксной металлопротеиназы-14 (ММП-14). Фрагменты экстраклеточной части молекулы обнаруживают в плазме крови и моче. Измерения концентрации растворимого эндоглина в биологических жидкостях проводили в исследованиях по мониторингу роста и метастатической активности опухолей у онкологических больных [54], оценке вероятности развития преэклампсии у беременных женщин [43,55,56] и прогноза течения атеросклеротических процессов [44,57].

Роль эндоглина активно изучается как в онкологии, кардиологии, нейрохирургии, так и в акушерстве, в частности рассматривается его влияние на патогенез гестационных осложнений, таких как преэклампсия, гестационный сахарный диабет, задержка роста плода [58–63]. На сегодняшний день не возникает сомнений в важности вклада эндотелиальной дисфункции в патогенез преэклампсии. Несмотря на должный интерес к роли эндоглина в эндотелиальной дисфункции, как показателя, приводящего к вазоконстрикции и иммунной дисрегуляции, по данным поисковой системы Pubmed по запросу «endoglin endothelial dysfunction» с 2006 года опубликованы результаты только 7 клинических исследований по теме изучения роли эндоглина в эндотелиальной дисфункции[3].

1.3 Роль эндоглина в патогенезе преэклампсии

Несмотря на отсутствие окончательной ясности в понимании патогенеза преэклампсии, в настоящее время считается, что данная патология плаценты, протекает в 2 стадии: (1) аномальная плацентация в начале первого триместра в виде поверхностной инвазии трофобласта и неадекватного ремоделирования

спиральных артерий с последующим (2) «материнским синдромом» в более позднем втором и третьем триместрах, характеризующимся ответом на эндотелиальную дисфункцию и избыток антиангиогенных факторов [26,64–66]. Хотя механизм аномальной плацентации является спорным, модели на животных продемонстрировали, что маточно-плацентарная ишемия вызывает гипертензивную реакцию полиорганной недостаточности, наблюдаемую при преэклампсии у матери (стадия 2). Был предложен ряд теорий плацентарной дисфункции, наблюдаемой на стадии 1, включая окислительный стресс, аномальные NK-клетки (натуральные киллеры) на границе «плацента-матка», а также генетические факторы и факторы окружающей среды, хотя ни одна из них не имеет убедительных доказательств [19,28]. Однако ряд данных подтверждает идею о том, что поврежденная плацента приводит к высвобождению растворимых токсических факторов в материнском кровотоке, за чем следует воспаление, эндотелиальная дисфункция и системное заболевание матери. Среди антиангиогенных белков широко изучаются при преэклампсии растворимый эндоглин (sEng), эндогенный ингибитор TGF- β 1 (трансформирующий фактор роста β 1). Известно, что преэклампсия является провоспалительным состоянием, но какие клетки причастны к этому процессу только предстоит выяснить. Синцитио-трофобластные микровезикулы и экзосомы, богатые sFLT1 и эндоглином, могут вызывать воспалительную реакцию [67,68]. *In vitro* микровезикулы синцитиотрофобласта активируют культивированные мононуклеарные клетки периферической крови, вызывая высвобождение провоспалительных цитокинов, которое еще более выражено при воздействии мононуклеарных клеток периферической крови беременных пациенток. Однако данные *in vitro* противоречивы, поскольку микровезикулы, индуцированные альтернативным механизмом, не являются провоспалительными [3,19]

Поскольку считается, что ишемизированная плацента служит мощным источником антиангиогенных факторов: растворимой формы рецептора к сосудистому фактору роста (sFlt-1) и растворимого эндоглина (sEng), избыток которых вызывает системную дисфункцию клеток эндотелия матери и приводит к

развитию клинической симптоматики преэклампсии, исследования в данной области активно ведутся в течение последних десятилетий [14]. При нормальной беременности концентрации растворимых эндоглина и Flt-1 в плазме крови матери возрастают с увеличением гестационного возраста плода и достигают максимальных значений в конце беременности [13]. Значительное усиление продукции эндоглина в крови матери предшествует появлению симптомов преэклампсии и в большей степени коррелирует с тяжестью заболевания, чем уровень Flt-1 или других растворимых факторов [18].

При нормальной беременности концентрации растворимых эндоглина и Flt-1 в плазме крови матери возрастают с увеличением гестационного возраста плода и достигают максимальных значений в конце беременности [13]. Значительное усиление продукции эндоглина в крови матери предшествует появлению симптомов преэклампсии и в большей степени коррелирует с тяжестью заболевания, чем уровень Flt-1 или других растворимых факторов [18,69]. По данным исследования Romero и соавторов в 2008 году, в среднем у пациенток с умеренной формой преэклампсии повышение концентрации эндоглина отмечают с 30 недели беременности, а с тяжелой – с 23 недели.

В ходе анализа результатов исследований разных научных групп отмечена разнородность информации о сроках повышения концентрации sEng в сыворотке крови беременных. Так в работе Romero и соавторов говорится об увеличении уровня sEng за 2 недели до манифестации преэклампсии, в среднем у пациенток с умеренной формой преэклампсии повышение концентрации эндоглина отмечают с 30 недели беременности, а с тяжелой – с 23 недели [43]. В то время как по результатам Gaber K. и соавторов, отмечен рост концентрации эндоглина за 9-11 недель до первых клинических проявлений заболевания [70].

Представление об изменчивости концентрации растворимого эндоглина при преэклампсии дополняют результаты исследования случай-контроль, основанного на проспективном обсервационном исследовании неблагоприятных исходов беременности, проведенного Jonathan L., Kypros H. Nicolaidis и соавторами. Популяция базового когортного исследования, в которое вошло настоящее

исследование случай-контроль, составила 5099 одноплодных беременностей. У пациенток, включенных в этап данного исследования, осуществлялся забор материнской крови во время визита в первом триместре, на сроке беременности 11⁰–13⁶ недель и визита в третьем триместре, на сроке беременности 30⁰–33⁶ недель, с последующим анализом концентрации растворимого эндоглина методом иммуноферментного анализа. При скрининге по сочетанию характеристик матери и концентрации растворимого эндоглина в третьем триместре, частота выявления промежуточной преэклампсии (то есть потребовавшей родоразрешения на 34–37 неделе) и поздней преэклампсии, с частотой ложноположительных результатов в 10%, составили 64,3 и 50,0% соответственно. Таким образом, проведение скрининга по материнским характеристикам и концентрации растворимого эндоглина в 30–33 недели могло определить большинство беременностей, в которых впоследствии разовьется преэклампсия [71].

В 2018 Zhang ХН и соавторами были опубликованы результаты исследования по оценке экспрессии матриксной металлопротеиназы-14 (ММП-14), эндоглина и растворимого эндоглина в плаценте у пациенток с тяжелой преэклампсией. Помимо определения тканевой экспрессии, локализации ММП-14 и эндоглина с помощью Вестерн-блоттинга и иммуногистохимии, в исследовании были проанализированы уровень растворимого эндоглина в плазме, САД (среднее артериальное давление) и соотношение белок/креатинин в моче. По результатам работы было подтверждено повышение эндоглина в плацентарной ткани и его экспрессия в синцитиотрофобласте у пациенток с тяжелой преэклампсией, обнаружена совместная экспрессия ММП-14 и эндоглина и способствование ММП-14 освобождению растворимого эндоглина [41].

Данные об участии растворимых эндоглина и Flt-1 в патогенезе преэклампсии позволили сделать предположение о возможности смягчения симптомов заболевания посредством ингибирования продукции или удаления этих факторов из циркуляции. Thadhani и соавторы показали, что выполнение афереза плазмы крови через колонку с отрицательно заряженной декстран-сульфат-целлюлозой приводит к снижению концентрации sFlt-1 и умеренному снижению концентрации

растворимого эндоглина. В ходе исследования оценили степень удаления sFlt-1, снижение протеинурии, сохранение беременности и безопасность афереза для новорожденных и плода после одного (n=6), двух (n=4) или трех (n=1) сеансов афереза. Беременность удалось пролонгировать в среднем на 8 дней (от 2 до 11) и 15 дней (от 11 до 21) у женщин, прошедших процедуру афереза однократно и более чем один раз, соответственно, по сравнению с 3 днями (от 0 до 14) у беременных с преэклампсией, которым аферез не проводили в контрольной группе (n=22). Таким образом, процедура терапевтического афереза снижала концентрацию циркулирующей sFlt-1 и протеинурию у женщин с тяжелой преэклампсией и позволяла пролонгировать беременность без серьезных неблагоприятных последствий для матери или плода [72].

Результатов рандомизированных клинических исследований по элиминации и ингибированию продукции растворимого эндоглина у пациенток с преэклампсией не опубликовано на момент написания данной статьи. Однако большинство ученых едины во мнении, что исследование уровней sEng, PlGF и sFlt и оценка коэффициентов их концентраций в сыворотке беременных, способно стать эффективным инструментом в ранней диагностике заболевания [14]

При изучении влияния высоких концентраций растворимых эндоглина и Flt-1 на процесс эндотелиальной дисфункции были изучены экзосомы от женщин с беременностью, осложненной преэклампсией [73]. Согласно результатам исследования экзосомы (мембранно-инкапсулированные везикулы) из плазмы женщин с осложненной беременностью опосредуют эффективную передачу sFlt-1 и sEng в эндотелиальные клетки, чтобы повредить сосудистые функции и вызвать осложнения у пациентов с преэклампсией [3].

Материалы данного раздела отражены в научной статье:

Васильева, М.Ю. Патогенез гестационных осложнений: роль растворимого эндоглина / М. Ю. Васильева, В. В. Ишкараева, И. Е. Зазерская // Женское здоровье и репродукция. – 2022. – № 4(55). – С. 60-69. – EDN NHWVZS.

1.4 Церулоплазмин, белок воспалительной реакции

В вопросе патогенеза преэклампсии вызывает также интерес изучение концентрации церулоплазмينا (ЦП), как представителя ферментативного звена антиоксидантной системы защиты организма в третьем триместре беременности [74–76]. Церулоплазмин — медьсодержащая оксидаза, относящаяся к альфа-2-глобулиновой фракции плазмы крови человека. Основные из известных биологических свойств этого белка — участие в транспорте меди, реакциях острой фазы воспаления, нейроэндокринной регуляции, поддержке кроветворения. Острофазный белок воспаления ЦП обладает целым рядом каталитических свойств, преимущественно антиоксидантных. Есть данные о влиянии этого белка на адгезию и миграцию нейтрофилов в очаг воспаления, предполагается преимущественная роль ЦП, лактоферрина и их комплекса в процессе воспаления, связанном с минимизацией уровня окислительного стресса в очаге воспаления и стимуляцией очистки очага воспаления от остатков погибших клеток, накопившихся белков, ферментов и сигнальных молекул, и пришедших в очаг воспаления клеток [7].

В работе Соколова А.В. было показано, что индентифицированные комплексы церулоплазмينا могут быть дополнительными маркерами течения воспалительного процесса, а характеристика протеолитической деградации церулоплазмينا в биологических жидкостях может быть одним из маркеров осложнения воспаления [11].

Церулоплазмин предотвращает неферментативные реакции, дающие начало свободным радикалам и дальнейшему развитию перекисного окисления липидов, и образует прооксидантно-антиоксидантную буферную систему крови, участвующую в поддержании окислительного гомеостаза. Специфические рецепторы к церулоплазмину были найдены на мембранах различных клеток тканей, в том числе сердечно-сосудистой системы [77], эритроцитов [78], лейкоцитов [79], и клеток плацентарных сосудов [80]. Церулоплазмин может

выступать как регулятор функции NO-синтетазы в эндотелиальных клетках сосудов, контролируя сосудистый тонус 20].

1.5 Взгляд на возможный вклад церулоплазмينا в патогенез преэклампсии

По данным мета-анализа, проведенного Bellos I. и соавт., 2018, концентрация церулоплазмينا в сыворотке крови значительно выше при преэклампсии как умеренной, так и тяжелой степени, чем при физиологическом течении беременности. В связи с чем авторы предполагают, что дальнейшие исследования специфичности и чувствительности церулоплазмينا сыворотки при беременности могут внести вклад в прогнозирование развития преэклампсии [22].

В международной базе данных pubmed обнаружено несколько исследований, посвященных изучению церулоплазмينا при преэклампсии, однако представленные научные данные весьма неоднородны. Так в работе Dey M. и соавт., 2013 в ходе проспективного исследования с участием 306 первобеременных женщин (из них у 24 развилась преэклампсия) при оценке липидного спектра и церулоплазмينا в сыворотке крови, не было выявлено статистически значимой разницы показателей при сроке гестации 14-16 недель между пациентками с преэклампсией и без, а при сроке 18-20 недель имелась достоверная разница уровней холестерина и церулоплазмينا в указанных группах. На основании полученных данных авторы предлагают считать холестерол и церулоплазмин предикторами преэклампсии во втором триместре беременности [81].

Высокая диагностическая точность уровня церулоплазмينا в комбинации с мочево́й кислотой как маркеров оксидативного стресса у пациенток с преэклампсией (n=32) была выявлена в работе Nikolic A. и соавт., 2016 [23].

Тем временем в работе Качалиной Т.С. и соавт., 2006 по изучению активности и концентрации церулоплазмينا в плазме крови беременных женщин (n=36) в третьем триместре гестации существенных различий между концентрациями

церулоплазмина в группах с физиологическим течением беременности, преэклампсией и диагностированной фетоплацентарной недостаточностью выявлено не было.

На сегодняшний день не опубликованы достоверные данные исследований с достаточным размером выборки по оценке уровня церулоплазмина сыворотки среди женщин в третьем триместре беременности с преэклампсией.

В 2014 году Vuhimshi и соавторами было опубликовано исследование, в котором церулоплазмин и ряд таких белков, как амилоидный бета-пептид, альфа-1-антитрипсин, альбумин, легкие цепи Ig G, были отнесены к числу приводящих к отложению амилоидоподобных агрегатов в плаценте и биологических жидкостях [82]. В ходе работы данной группы ученых была обнаружена конгофилия мочи беременных с преэклампсией. Было выявлено окрашивание мочи Конго красным, что свидетельствует о нарушении пространственного строения белка, в результате чего накапливаются амилоидные агрегаты. Для выявления амилоидных отложений в клетке применяется именно краситель Конго красный. Авторы показали возможность выявления белков с неправильной конформацией этим красителем ввиду их сходства с амилоидом. Также была продемонстрирована прямая пропорциональность стойкости и интенсивности окрашивания мочи степени тяжести преэклампсии. По мнению авторов, с помощью такого несложного теста возможна не только диагностика преэклампсии, но и её предикция у пациенток с хронической артериальной гипертензией [82].

Согласно данным некоторых исследований, уровень церулоплазмина ниже у женщин с преэклампсией по сравнению с физиологическим течением беременности. Предполагается, что низкий уровень церулоплазмина может привести к усилению окислительного стресса, который может способствовать развитию преэклампсии. Также было высказано предположение, что церулоплазмин может быть вовлечен в регуляцию функции эндотелиальных клеток, которая может быть нарушена при преэклампсии.

В связи с потенциальной ролью церулоплазмина в развитии преэклампсии необходимы дальнейшие исследования, чтобы лучше понять его роль в развитии

этого состояния. Возможно, уровни церулоплазмина могут быть использованы в качестве маркера заболевания и могут быть для терапевтических мишенью.

1.6 Роль дефицита Омега-3 полиненасыщенных жирных кислот в течении беременности

Значительное внимание в последнее время уделяется роли сбалансированного питания при беременности, как фактора, способного благоприятно повлиять не только на закладку систем и органов плода, его рост и развитие, но и на течение беременности. Так дефицит омега-3 полиненасыщенных жирных кислот может привести со стороны плода к нарушению нормального развития и физиологического формирования структур головного мозга, ангиогенеза, иммунной системы плода [5], а со стороны матери к повышению агрегации тромбоцитов, вазоконстрикции и повышению артериального давления [4,24].

По данным систематического обзора научной библиотеки Cochrane [25] среди беременных, получавших препараты Омега-3 ПНЖК отмечалось уменьшение количества преждевременных (до 37 недель) и ранних преждевременных (до 34 недель) родов, а также число случаев развития преэклампсии. Тем не менее, необходимо проведение дальнейших наблюдений для оценки отдаленных результатов для матери и ребенка, для улучшения понимания метаболических путей, в частности, путей роста и развития нервной системы, а также для определения того, отличаются ли и каким образом результаты в зависимости от приема различных типов Омега-3 ПНЖК, доз и схем применения; или по характеристикам женщин.

Таким образом, необходимо отметить, что на сегодняшний день недостаточно научных данных в мировой литературе об оценке в течении преэклампсии факторов ангиогенеза, антиоксидантной системы и механизмов влияния на них приема препаратов полиненасыщенных жирных кислот.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объем и общая структура исследования

Для выполнения поставленных задач проведено клинико-экспериментальное исследование, дизайн которого представляет собой «случай-контроль». Методы данного исследования одобрены Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России (от 14.01.2019 протокол №23, от 21.03.2022 протокол заседания ЛЭК №03-22). План исследования утвержден на заседании Проблемной комиссии по неонатологии, педиатрии, акушерству и гинекологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России от 11.02.2019г.

В исследование включено и обследовано 130 беременных. Подбор, клиническое наблюдение беременных женщин и забор биологического материала проводился в ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России в Перинатальном центре клиники Института перинатологии и педиатрии в отделении патологии беременности, отделении анестезиологии и реанимации взрослых, родовом отделении, акушерском физиологическом отделении.

Включенные в исследование пациентки составили 2 группы: в основную группу включены 90 беременных с преэклампсией, в контрольную группу – 40 беременных с физиологически протекающей беременностью. Основная группа была поделена на подгруппы: по степени тяжести – умеренная преэклампсия $n=43$, тяжелая $n=47$; по сроку манифестации – с ранней ПЭ 51 беременная (тяжелая ПЭ – 33, умеренная ПЭ – 18), с поздней ПЭ 39 беременных (тяжелая ПЭ – 14, умеренная ПЭ – 25); по гипертензионному анамнезу – «чистая» ПЭ $n=41$ (тяжелая ПЭ – 19, умеренная ПЭ – 22), ПЭ на фоне хронической артериальной гипертензии $n=49$ (тяжелая ПЭ – 28, умеренная ПЭ – 21). В основной группе среди пациенток с преэклампсией выделена часть беременных, которая получала в дополнение к стандартной терапии препарат «Омега-3 90% 1300 мг ПОЛИЕН» (далее Омега-3-

ПНЖК) - пищевая добавка, содержащая в составе 500 мг эйкозапентаеновой и 200 мг докозогексаеновой кислот, по одной капсуле один раз в сутки.

Критерии, используемые для включения пациенток в основную группу (с преэклампсией умеренной или тяжелой степени):

1. Наличие диагностированной преэклампсии согласно критериям степени тяжести ПЭ (Клинические рекомендации Минздрава РФ).

2. Возраст от 20 до 40 лет.

3. Одноплодная беременность.

4. Наличие подписанного добровольного информированного согласия на включение в исследование.

Постановка диагноза преэклампсии осуществлялась на основании жалоб, анамнеза, клинико-лабораторных данных и результатов инструментальных методов исследования. Диагностика и лечение заболевания осуществлены в соответствии с Клиническими рекомендациями Министерства здравоохранения РФ «Преэклампсия. Эклампсия. Отеки, протеинурия и гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде» и локальным клиническим протоколам «Преэклампсия. Профилактика, лечение. Тактика родоразрешения» ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Критерии постановки диагноза умеренная преэклампсия [Преэклампсия. Эклампсия. Отеки, протеинурия и гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. // Клинические рекомендации Министерства здравоохранения РФ. 2021]:

- подъем артериального давления систолического ≥ 140 мм рт. ст. и /или диастолического ≥ 90 мм рт. ст., манифестирующий после 20 недель гестации;
- протеинурия $\geq 0,3$ г/л в сутки или $\geq 0,3$ г/л в 2-х порциях мочи, взятых с интервалом в 6 час.

Критерии постановки диагноза тяжелая преэклампсия [Преэклампсия. Эклампсия. Отеки, протеинурия и гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. // Клинические рекомендации Министерства здравоохранения РФ. 2021]:

- увеличение после 20-й недели беременности систолического АД ≥ 160 мм рт. ст. и/или диастолического АД ≥ 110 мм рт. ст. независимо от уровня АД в анамнезе;
- протеинурия ≥ 5 г в сутки или ≥ 3 г/л в 2-х порциях мочи, взятых с интервалом в 6 час (в сочетании с артериальной гипертензией);
- хотя бы один из параметров, свидетельствующих о присоединении полиорганной недостаточности (в сочетании с артериальной гипертензией).

К параметрам, свидетельствующим о присоединении полиорганной недостаточности, относятся следующие:

- неврологические (церебральные) симптомы: головная боль, нарушение зрения, отек зрительного нерва и др.;
- диспептические расстройства: тошнота, рвота;
- боли в эпигастрии или в правом верхнем квадранте;
- олигурия < 500 мл/сутки (< 30 мл/ч);
- задержка роста плода;
- антенатальная гибель плода;
- отек легких/ цианоз;
- генерализованные отеки (особенно внезапно появившиеся);
- повышение АЛТ, АСТ в крови ≥ 40 МЕ/л;
- тромбоцитопения < 50000 /мкл;
- гемолиз в периферической крови;
- повышение уровня креатинина в крови ≥ 90 мкмоль/л;
- HELLP-синдром.

Для выполнения раздела исследования по анализу динамики лабораторных показателей в зависимости от применяемой терапии исходно было отобрано 46 беременных (стандартную терапию, назначенную согласно клиническим рекомендациям Минздрава РФ по ведению пациентов с преэклампсией – 20 беременных; в дополнение к стандартной терапии Омега-3-ПНЖК – 26 беременных). До этапа с динамическим наблюдением изменчивости параметров

через 14 суток от начала приема препаратов дошли 19 беременных (получавшие стандартную терапию 12 беременных; с добавлением Омега-3-ПНЖК – 7 беременных (26,9%), среди них 4 беременные с преэклампсией умеренной степени тяжести, 3 беременные – с тяжелой преэклампсией). Критериями исключения из исследования на данном этапе являлись выписка из стационара, пропуск контрольного визита; самостоятельная отмена терапии и отказ от участия в исследовании уже на этапе получения препарата; досрочное родоразрешение.

В подгруппу, получающую в дополнение к основной терапии Омега-3-ПНЖК не включались пациенты:

1. наличие хронической артериальной гипертензии в анамнезе;
2. наличие соматической патологии;
3. имеющие аллергические реакции на морепродукты, препараты Омега-ПНЖК в анамнезе;
4. получающие НМГ в лечебной дозе.

Отбор пациенток в группу наблюдения с преэклампсией производился на уровне стационарного лечения в Перинатальном центре ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. В основной группе осуществлялся забор венозной крови и мочи у беременных женщин после постановки диагноза преэклампсия и на 3 сутки в послеродовом периоде. Среди беременных, получающих терапию Омега-3-ПНЖК, осуществлялся забор венозной крови и мочи в 2 этапа: до начала терапии и через 14 суток после ее начала.

Комплекс лабораторных исследований соответствовал стандартам оказания медицинской помощи при ПЭ и включал клинический и биохимический анализы крови, определение уровня лактатдегидрогеназы, стандартных показателей коагулограммы и фибриногена, общий анализ мочи, исследование суточной протеинурии.

Лечение преэклампсии проводили согласно клиническими рекомендациями Министерства здравоохранения «Преэклампсия. Эклампсия. Отеки, протеинурия и гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде» и локальным клиническим протоколам «Преэклампсия. Профилактика,

лечение. Тактика родоразрешения» ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России.

Критерии, используемые для включения пациенток в контрольную группу (с беременностью без гестационных осложнений):

1. Пациентки с физиологически протекающей беременностью.
2. Возраст от 20 до 40 лет.
3. Одноплодная беременность.
4. Наличие подписанного добровольного информированного согласия на включение в исследование.

Отбор пациенток с физиологически протекающей беременностью в группу контроля осуществлялся на уровне стационара в Перинатальном центре ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. Забор венозной крови и мочи осуществлялся до родоразрешения и на 3 сутки послеродового периода.

В группы исследования не включались пациенты, имеющие:

1. Онкологические заболевания в анамнезе или во время беременности.
2. Тромбофилии.
3. Обострение заболеваний гепато-билиарной системы.
4. Трансплантация органов в анамнезе.
5. Антиретровирусная терапия.
6. Наркозависимость.
7. Хромосомные патологии развития плода.

Для выполнения лабораторных методов исследования пациентам определяли уровень растворимого эндоглина (sEng) в сыворотке крови и моче, церулоплазмину, растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 (sFlt-1), плацентарного фактора роста (PlGF). Динамика сбора данных в группах исследования представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Динамика сбора данных

Снимаемые показатели	Период выполнения		
	До родов при включении в исследование	До родов через 14 суток после начала приема терапии (стандартной и с добавлением Омега-3-ПНЖК)	После родов
Сбор анамнеза	*	--	--
Забор венозной крови и мочи:			
- в группе контроля	*	--	*
- в основной группе	*	*(n=12)	*
- в подгруппе, принимающей Омега-3	*	*	--
Определение уровня sEng в сыворотке крови и моче			
- в группе контроля	*	--	*
- в основной группе	*	*(n=12)	*
- в подгруппе, принимающей Омега-3	*	*	--
Определение уровня церулоплазмينا в сыворотке крови			
- в группе контроля	*	--	*
- в основной группе	*	--	*
- в подгруппе, принимающей Омега-3	--	--	--
Определение уровня sFlt-1, PlGF в сыворотке крови			
- в группе контроля	*	--	*
- в основной группе	*	--	*
Ретроспективный анализ историй родов	--	--	*

При поступлении в Перинатальный центр ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России на уровне стационара осуществлялся забор венозной крови и мочи до родоразрешения. Забор крови выполняли в пробирки с ЭДТА (этилендиаминтетрауксусной кислотой), которые далее центрифугировали при 4000 g в течение 10 минут. Мочу собирали в одноразовые контейнеры и без предшествующей анализу пробоподготовки аликвотировали. Полученный материал аликвотировали, замораживали и хранили при -70°C . Перед

выполнением лабораторных анализов необходимое количество пробирок размораживали при комнатной температуре.

В ходе исследования проанализированы антропометрические данные, анамнестические данные беременных, такие как факторы риска развития преэклампсии, показатели клинической картины преэклампсии – критерии оценки тяжести заболевания, результаты доплерометрических исследований в системе «мать-плод», получены результаты определения уровней растворимого эндоглина (sEng) в плазме крови и моче, церулоплазмина растворимой fms-подобной тирозинкиназы 1 (sFlt-1), плацентарного фактора роста (PlGF) в исследуемых группах, а также проведен ретроспективный анализ историй родов по материнской части – срок и способ родоразрешения, объем кровопотери, показания к родоразрешению, объем проводимой терапии ПЭ, сутки выписки из стационара, и по состоянию ребенка – росто-весовые показатели, оценка состояния по шкале Апгар, проведение профилактики и развитие СДР в случае преждевременных родов.

2.2 Лабораторные методы исследования

2.2.1 Иммуноферментный анализ

2.2.1.1 Определение концентрации sEng в биологических жидкостях с использованием нового набора иммуноферментного анализа, разработанного в лаборатории гибридной технологии ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» Минздрава России

Количественное определение концентрации sEng в образцах сыворотки крови и мочи пациенток было выполнено методом ИФА, разработанным в лаборатории гибридных технологий ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» Минздрава России.

Сорбцию захватывающих МКАТ (4Е4) проводили в планшетах Nunc Maxisorp (Thermo Fisher Scientific, США) из ФСР (10 мг/мл) при +4°C в течение 18 ч. Разведенные образцы плазмы крови и мочи инкубировали в лунках планшета при +37°C в течение 1 ч. В качестве калибратора использовали рекомбинантный эндоглин (R&D Systems, Миннеаполис, Миннесота, США). Связанные молекулы АГ выявляли с помощью конъюгированных с пероксидазой хрена МКАТ 4С9. Инкубация с конъюгатом длилась 45 мин при +37°C. Выявление пероксидазной активности проводили с помощью тетраметилбензидина (ТМВ, Хема, Россия) внося по 100 мкл реагента в каждую лунку. Реакцию останавливали добавлением 50 мкл 1 н серной кислоты. Оптические плотности измеряли при длине волны 450 нм. Все образцы тестировали в дважды; при анализе использовали средние значения.

Разведение образцов, конъюгированных МКАТ и удаление не связавшихся компонентов осуществляли с помощью трис-буферного солевого раствора трис

0.05 M, 145 mM NaCl, pH 7.4), содержащего 0.05% Tween-20. Образцы мочи, плазмы крови и восстановленного калибратора хранили при -70°C .

2.2.1.2 Определение концентрации растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 и плацентарного фактора роста

Количественная оценка концентрации sFlt-1, PLGF проводилась на базе ЦКДЛ ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России методом электрохемилюминисцентного иммуноанализа с использованием коммерческих наборов (RocheDiagnostics, Германия) на анализаторе Cobas, E 411 Roche (Швейцария). В наборах представлены готовые комплекты материалов и реагентов для проведения иммуноферментного анализа на «сэндвич»-панелях. Схема исследования включает в себя следующие этапы: 1-я инкубация: 20 мкл образца, биотинилированное моноклональное X-специфичное антитело и моноклональное X-специфичное антитело, меченное рутениевым комплексом вступают в реакцию с формированием «сэндвич-комплекса»; 2-я инкубация: после добавления микрочастиц, покрытых стрептавидином, образовавшийся комплекс связывается с твердой фазой посредством взаимодействия биотина и стрептавидина. Реакционная смесь аспирируется в измерительную ячейку, где микрочастицы оседают на поверхность электрода в результате магнитного взаимодействия. Далее с помощью ProCell удаляются не связавшиеся вещества. Затем приложенное к электроду напряжение вызывает хемилюминесцентную эмиссию, которая измеряется фотоумножителем. Результаты определяются с помощью 2-х точечной калибровочной кривой, полученной для данного образца и референсной калибровочной кривой, данные которой сообщены в штрих-коде набора реагентов.

2.2.2 Метод Вестерн-блота

2.2.2.1 Анализ п-фенилендиаминоксидазной активности церулоплазмينا по модифицированному для микроформата методу

Оксидазная активность церулоплазмينا (ЦП) пропорциональна его концентрации, в качестве субстрата реакции используется пара-фенилендиамин, окисляемый ЦП до продукта фиолетового цвета (с максимумом поглощения при 530 нм). В лунки 96-луночного планшета вносили по 10 мкл анализируемый проб (сыворотка крови) и по 10 мкл растворов, содержащих 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100 и 120 мг/дл очищенного ЦП, во все лунки добавляли по 200 мкл 0,2% пара-фенилендиамин дигидрохлорида в 0,4 М натрий-ацетатном буфере, pH 5,5. Через 60 минут реакцию останавливали, внося в лунки по 40 мкл 0,5% азида натрия (ингибитор активности ЦП). Измеряли поглощение проб при 530 нм с помощью планшетного спектрофлуориметра ClarioStar (BMG Labtech, Германия). В программном обеспечении прибора (Mars), строили градуировочную прямую, по которой прибор автоматически рассчитывает содержание ЦП в образцах – единицы измерения $\text{mg}\% = \text{мг/дл}$.

2.3 Методы статистической обработки материала

Статистический анализ проводили с использованием программы StatTech v. 3.0.6 (разработчик - ООО "Статтех", Россия).

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова-Смирнова (при числе

исследуемых более 50). Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей ($Q1 - Q3$).

Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение двух групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, при условии равенства дисперсий выполнялось с помощью t -критерия Стьюдента. Сравнение трех и более групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, выполнялось с помощью однофакторного дисперсионного анализа, апостериорные сравнения проводились с помощью критерия Тьюки (при условии равенства дисперсий). Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью U -критерия Манна-Уитни. Сравнение трех и более групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью критерия Краскела-Уоллиса, апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна с поправкой Холма.

Сравнение процентных долей при анализе многопольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью критерия хи-квадрат Пирсона. Направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (при распределении показателей, отличном от нормального).

Прогностическая модель, характеризующая зависимость количественной переменной от факторов, разрабатывалась с помощью метода линейной регрессии. Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода, применялся метод анализа ROC-кривых. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определялось по наивысшему значению индекса Юдена.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Клиническая характеристика в группах исследования

В исследование включены пациентки (n=130), составившие 2 группы: основная группа, с преэклампсией (n=90) и контрольная группа (n=40) - пациентки с физиологически протекающей беременностью. Основная группа была поделена на подгруппы: по степени тяжести – умеренная преэклампсия n=43, тяжелая n=47; по сроку манифестации – с ранней ПЭ 51 беременная (тяжелая ПЭ – 33, умеренная ПЭ – 18), с поздней ПЭ 39 беременных (тяжелая ПЭ – 14, умеренная ПЭ – 25); по гипертензионному анамнезу – «чистая» ПЭ n=41 (тяжелая ПЭ – 19, умеренная ПЭ – 22), ПЭ на фоне хронической артериальной гипертензии n=49 (тяжелая ПЭ – 28, умеренная ПЭ – 21).

Срок гестации при котором беременная взята в исследование (Me, IQR): контрольная группа 39, [38;39] недель, умеренная преэклампсия 36, [33;38], тяжелая преэклампсия 33, [27;35] недель. Отмечаются статистически значимые различия срока беременности при котором пациентки взяты в исследование в зависимости от изучаемой группы ($p<0,001$), что можно объяснить отсутствием показаний для госпитализации в течение гестации до доношенного срока при физиологической беременности.

Средний возраст в подгруппе умеренной преэклампсии составил $32,7\pm 5,6$ (M \pm SD) года, в группе тяжелой преэклампсии $32,8\pm 5,4$ года и в контрольной группе показатель составил $29,7\pm 4,1$ лет. При сравнении исследуемых групп в зависимости от возраста выявлены статистически значимые различия ($p=0,007$), результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Сравнение беременных в разных группах исследования по возрасту

Группы исследования	Возраст, полных лет		p-value
	M±SD	95% ДИ	
Контрольная ¹	29,7±4,1	28,4-31,0	0,007*
Умеренная преэклампсия ²	32,7±5,6	31,0-34,4	p ₁₋₂ =0,022*
Тяжелая преэклампсия ³	32,8±5,4	31,3-34,4	p ₁₋₃ =0,013*

Примечание: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

Апостериорный анализ с помощью критерия Тьюки показал, что возраст пациенток в группе контроля был статистически значимо младше, чем возраст пациенток с преэклампсией: умеренной ($p=0,022$) и тяжелой ($p=0,013$). Сравнение возраста пациенток с умеренной и тяжелой преэклампсией не выявило статистически значимых различий ($p=0,989$).

В контрольной группе было 5 беременных позднего репродуктивного возраста, в группе умеренной и тяжелой ПЭ по 16 беременных, что статистически значимо выше, чем в контрольной ($p=0,022$) (применяемый критерий: хи-квадрат Пирсона). Между сопоставляемыми признаками отмечалась средняя сила связи ($V=0,243$). Выявлены статистически значимые различия среди беременных позднего репродуктивного возраста при сравнении контрольной группы с умеренной преэклампсией ($p=0,024$), и контрольной с группой тяжелой преэклампсии ($p=0,029$) (post-hoc анализ с применением поправки Бенджамини-Хохберга).

При сравнении индекса массы тела (ИМТ) в зависимости от группы исследования были получены статистически значимые различия ($p=0,003$), со следующими данными: в контрольной группе медиана показателя составила 27,1 (IQR: 25,3-29,6); в группе умеренной преэклампсии 30,9 (IQR: 27,2-34,1); в группе тяжелой преэклампсии 29,3 (IQR: 26,6-35,0). При сравнении групп попарно показано, что ИМТ в контрольной группе был статистически значимо ниже, чем в группе с умеренной преэклампсией ($p=0,002$). Сравнение ИМТ пациенток в контрольной группе с группой тяжелой преэклампсии, и у беременных с умеренной и тяжелой преэклампсией не выявило статистически значимых различий ($p=0,061$ и $p=0,738$, соответственно).

Пациентки в исследуемых группах распределены в зависимости от интерпретации показателя ИМТ (согласно критериям ВОЗ): норма 18-24,9; избыточная масса тела 25-29,9; ожирение I степени 30-34,9; ожирение II степени 35-39,9; ожирение III степени 40 и более (Таблица 3). В результате сравнения частоты отклонения ИМТ от нормы в исследуемых группах были установлены статистически значимые различия ($p=0,003$). Выявленные различия были обусловлены более высокой частотой наблюдения избыточной массы тела ($p=0,004$) и ожирения I степени ($p=0,003$) среди беременных при сравнении контрольной и группы умеренной преэклампсии. Между сопоставляемыми признаками отмечалась средняя сила связи ($V=0,301$).

Таблица 3 – Распределение исследуемых в группах в зависимости от ИМТ

Интерпретация ИМТ	Группы исследования (Абс. / %)			p-value	
	контрольная ¹	умеренная ПЭ ²	тяжелая ПЭ ³		
Норма	9 / 22,5	6 / 14,0	6 / 12,8	-	0,003* p ₁₋₂ =0,005*
Избыточная масса тела	23 / 57,5	10 / 23,3	19 / 40,4	p ₁₋₂ =0,004*	
Ожирение I степени	4 / 10	18 / 41,9	10 / 21,3	p ₁₋₂ =0,003*	
Ожирение II степени	3 / 7,5	4 / 9,3	10 / 21,3	-	
Ожирение III степени	1 / 2,5	5 / 11,6	2 / 4,3	-	

Примечание: * - различия показателей статистически значимы ($p<0,05$).

Среди метаболических заболеваний, связанных с нарушением секреции и/или действия инсулина в исследуемой выборке сахарный диабет I типа наблюдался только у 2 беременных из группы тяжелой преэклампсии ($p=0,329$), сахарный диабет II типа у 1 беременной с тяжелой преэклампсией ($p=1,0$) и гестационный сахарный диабет (на инсулинотерапии) у 2 беременных с умеренной преэклампсией и 1 пациентки с тяжелой преэклампсией ($p=0,523$). Гестационный

сахарный диабет, потребовавший диетотерапии был выявлен у 1 беременной контрольной группы, 7 и 10 беременных с преэклампсией умеренной и тяжелой, соответственно. При сравнении частоты ГСД (на диетотерапии) в зависимости от развития преэклампсии были получены статистически значимые различия ($p=0,03$), обусловленные более редкой частотой наблюдения ГСД (на диетотерапии) среди исследуемых при попарном сравнении контрольной с группой умеренной преэклампсии ($p=0,046$) и с группой тяжелой преэклампсии ($p=0,026$).

Частота хронической артериальной гипертензии среди беременных с умеренной преэклампсией составила 48,8 % (21 пациентка из 43), среди исследуемых с тяжелой преэклампсией 59,6% (28 беременных из 47) (Рисунок 1). При сравнении частоты развития преэклампсии в зависимости от наличия хронической артериальной гипертензии были получены статистически значимые различия ($p<0,001$). Между сопоставляемыми признаками отмечалась относительно сильная связь ($V=0,519$).

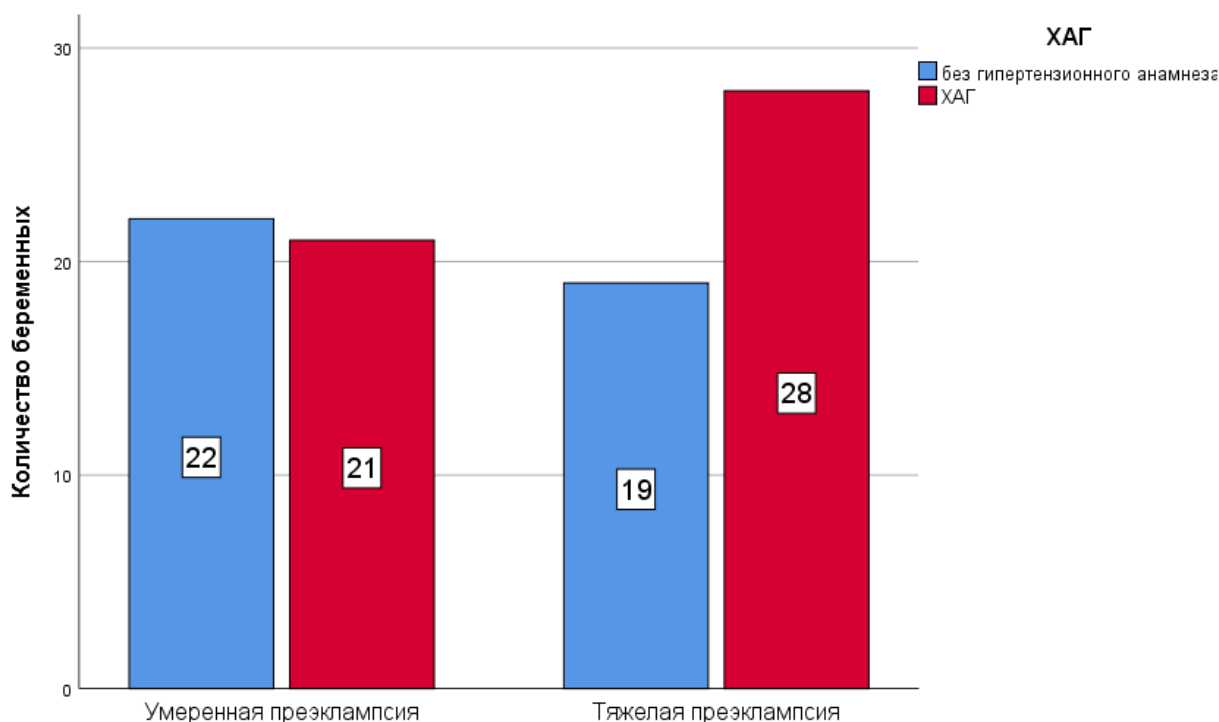


Рисунок 1 – Распределение беременных в зависимости от гипертензионного анамнеза в группах с преэклампсией

Хронические заболевания почек наблюдались у 7 беременных контрольной группы и 7 с умеренной преэклампсией (17,5% и 16,3%, соответственно). Среди беременных с тяжелой преэклампсией данная патология была у 10 пациенток (21,3%). Статистически значимых отличий у сравниваемых признаков не получено ($p=0,847$).

Заболевания соединительной ткани были у 3 беременных только из группы умеренной преэклампсии.

Среди известных факторов риска развития преэклампсии, таких как наличие антифосфолипидного синдрома и мутации Лейдена не было выявлено ни у одной из беременных из исследуемой выборки.

В группе умеренной преэклампсии её развитие в предыдущую беременность наблюдалось у 9,3% (4 пациенток), в группе тяжелой преэклампсии у 17% (8 беременных). При сравнении частоты развития преэклампсии в зависимости от наличия данного заболевания в анамнезе статистически значимых отличий не получено ($p=0,360$).

Беременность наступила в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий у 9,3% (4) и 8,5% (4) пациенток с умеренной и тяжелой преэклампсией, соответственно. Достоверных данных о влиянии частоты использования ВРТ на развитие преэклампсии не получено ($p=1,0$).

При сравнении паритета беременности среди исследуемых статистически значимых различий не получено ($p=0,795$). Во всех группах исследования было равное количество первобеременных; в группе тяжелой преэклампсии наблюдалось наибольшее количество повторобеременных, однако различия были не достоверны (Таблица 4).

Таблица 4 – Сравнение паритета беременности в группах исследования

Группы исследования	Паритет (Абс. / %)		p-value
	Первобеременные	Повторнобеременные	
контрольная	19 / 47,5	21 / 52,5	0,795
умеренная преэклампсия	19 / 44,2	24 / 55,8	
тяжелая преэклампсия	19 / 40,4	28 / 59,6	

Срок родоразрешения в контрольной группе варьировал от 33 до 41 недели, медиана показателя составила 40 [39;40] недель; в группе умеренной преэклампсии от 25 до 41 недели, медиана 38 [36;39] и в группе тяжелой преэклампсии от 23 до 41 недели, медиана 33 [29;36] недели (Рисунок 2). Срок родоразрешения в группе тяжелой преэклампсии статистически значимо ниже, чем в контрольной и группе умеренной преэклампсии ($p < 0,001$) (критерий Краскела-Уоллиса, попарные сравнения поправкой Бонферрони).

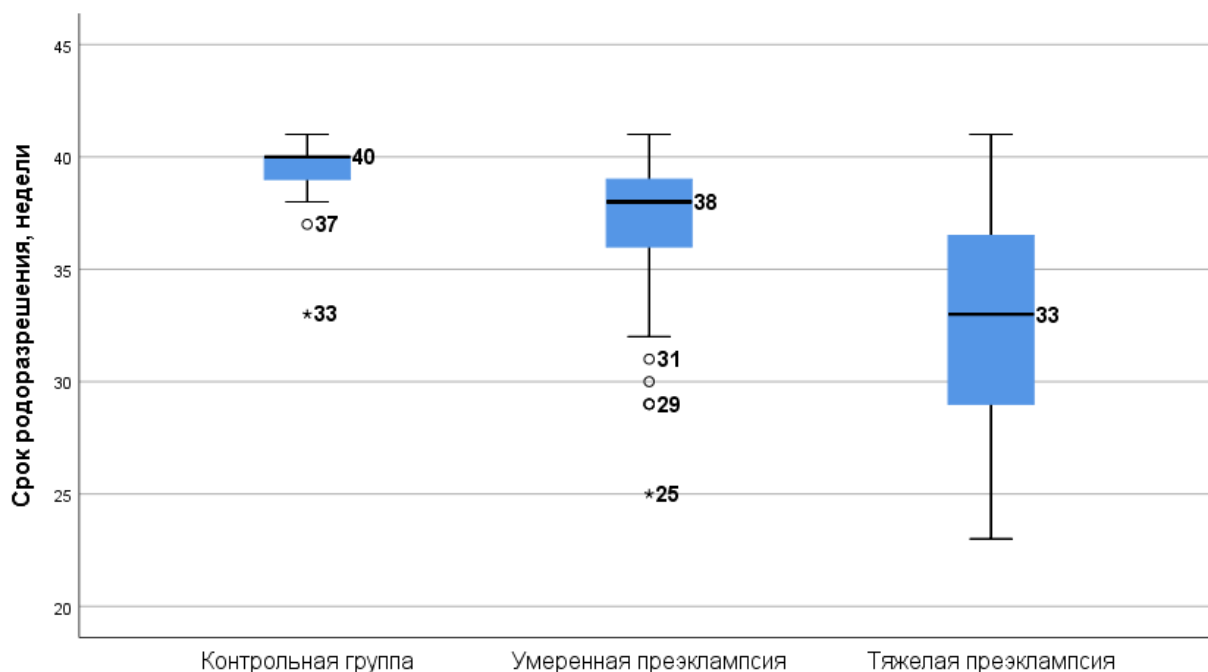


Рисунок 2 – Срок родоразрешения в исследуемых группах

Распределение по способу родоразрешения среди исследуемых представлено в таблице 5. Согласно полученным данным отмечалось статистически значимое различие между группами исследования и способом родоразрешения ($p < 0,0001$): при попарном сравнении роды достоверно чаще происходили через естественные родовые пути в контрольной группе ($p < 0,0001$), путем кесарева сечения в экстренном порядке в группе тяжелой преэклампсии по сравнению с контрольной ($p < 0,0001$) и умеренной преэклампсией ($p = 0,016$). Отмечалась средняя сила связи между исследуемыми параметрами ($V = 0,358$).

Таблица 5 – Способ родоразрешения в исследуемых группах

Способ родоразрешения		Группы исследования (Абс. / %)			p-value	
		контрольная ¹	умеренная ПЭ ²	тяжелая ПЭ ³		
ЕРП		25 / 75,8	17 / 41,5	7 / 15,2	$p_{1-2} = 0,005^*$ $p_{1-3} < 0,0001^*$ $p_{2-3} = 0,006^*$	$< 0,0001^*$ $p_{1-2} = 0,014^*$ $p_{1-3} < 0,001^*$ $p_{2-3} = 0,022^*$
КС	в экстренном порядке	5 / 15,2	20 / 48,8	34 / 73,9	$p_{1-2} = 0,004^*$ $p_{1-3} < 0,0001^*$ $p_{2-3} = 0,016^*$	
	в плановом порядке	3 / 9,1	4 / 9,8	5 / 10,9	$p = 0,965$	

Примечание: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

На рисунке 3 представлена структура показаний к проведению кесарева сечения. Важно отметить, что угрожающая гипоксия плода не являлась самостоятельным показанием для кесарева сечения, а учитывалась в сочетании с наличием рубца на матке после КС или нарастанием симптомов тяжелой преэклампсии или развитием / отсутствием эффекта от терапии при слабости родовой деятельности.

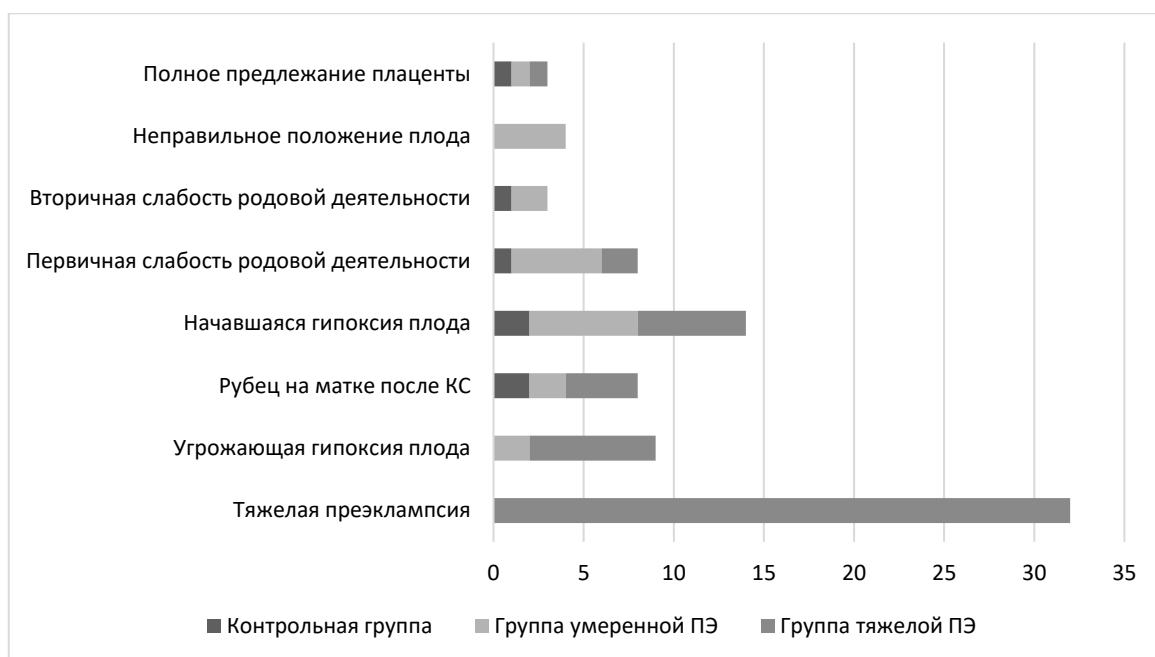


Рисунок 3 – Структура показаний к выполнению кесарева сечения в исследуемых группах

В группе тяжелой преэклампсии (n=47) родоразрешены путем операции кесарева сечения 39 беременных, из них в плановом порядке 5 (при сочетании наличия рубца на матке после КС и тяжелой преэклампсии – 1; при завершении проведения профилактики СДР плода и отсутствии эффекта от проводимой многокомпонентной терапии тяжелой преэклампсии в сроке от 29 до 35 недель – у 4 беременных).

Анализ структуры показаний экстренного родоразрешения путем кесарева сечения в подгруппе тяжелой преэклампсии представлен на рисунке 4. В случае экстренного кесарева (n=34) сечения в группе тяжелой преэклампсии 12 беременных прооперированы в связи с сочетанием тяжелой преэклампсии и наличия рубца на матке после КС (n=2), угрожающей гипоксии плода (n=4), начавшейся гипоксии плода (n=6); по причинам не связанным с основным заболеванием 6 (первичная слабость родовой деятельности и угрожающая гипоксия плода, наличие 2 рубцов на матке после КС и др.); и только для 16 пациенток показанием самостоятельно являлась тяжелая преэклампсия.



Рисунок 4 – Структура показаний экстренного родоразрешения путем кесарева сечения в группе тяжелой преэклампсии

При сравнении объема кровопотери в зависимости от исследуемых групп выявлены статистически значимые различия между контрольной и группами умеренной, тяжелой преэклампсии ($p < 0,001$), результаты указаны в таблице 6. Несмотря на достоверно более низкий показатель медианы кровопотери в контрольной группе в отличие от групп с преэклампсией, обращает на себя внимание максимум кровопотери 1300 мл, больший чем в группах с преэклампсией. Кровотечение произошло у пациентки с физиологической беременностью, родоразрешенной крупным плодом в экстренном порядке в связи с развитием начавшейся гипоксии плода.

Таблица 6 – Сравнение объема кровопотери при родоразрешении в зависимости от группы исследования

Группы исследования	Кровопотеря, мл		p-value
	Me; [IQR]	min-max	
Контрольная ¹	250; [200;300]	150-1300	<0,001* $p_{1-2} < 0,001^*$ $p_{1-3} < 0,001^*$
Умеренная преэклампсия ²	500; [250;600]	150-1000	
Тяжелая преэклампсия ³	500; [500;600]	150-1100	

Примечание: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

Результаты сравнения состояния новорожденных в группах исследования представлены в таблице 7. По всем исследуемым параметрам были получены статистически значимые различия в группах ($p < 0,05$), за исключением показателя Апгар на 1 и 5 минуте при попарном сравнении с поправкой Бонферрони в контрольной и группе умеренной преэклампсии ($p = 0,688$ и $p = 0,628$, соответственно).

Таблица 7 – Оценка состояния новорожденных в группах исследования

Состояние плода Me; [IQR]	Группы исследования			p-value
	Контрольная ¹	Умеренная преэклампсия ²	Тяжелая преэклампсия ³	
Масса, г	3540 [3230;3850]	3120 [2340;3580]	1865 [1100;2890]	<0,001* $p_{3-2} = 0,001^*$ $p_{3-1} < 0,001^*$ $p_{2-1} = 0,021^*$
Рост, см	53 [50;54]	50 [46;52]	43 [37;49]	<0,001* $p_{3-2} = 0,002^*$ $p_{3-1} < 0,001^*$ $p_{2-1} = 0,037^*$
Апгар на 1 минуте, баллы	8 [7;8]	7 [7;8]	7 [6;7]	=0,001* $p_{3-2} = 0,026^*$ $p_{3-1} = 0,001^*$ $p_{2-1} = 0,688$
Апгар на 5 минуте, баллы	9 [8;9]	8 [8;9]	8 [8;8]	<0,001* $p_{3-2} = 0,014^*$ $p_{3-1} < 0,001^*$ $p_{2-1} = 0,628$

Примечание: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

Таким образом, в исследуемой выборке пациенток преэклампсия чаще наблюдалась у беременных более старшего возраста, в том числе позднего репродуктивного возраста (35 лет и более), а также с наличием ХАГ в анамнезе. В подгруппе пациенток с тяжелой преэклампсией в отличие от подгруппы с умеренной преэклампсией и группы контроля установлены более ранние сроки

родоразрешения плодами более низкого веса при рождении и с более низкими баллами по Апгар, что связано с нарастанием тяжести заболевания, приводившим к необходимости досрочного родоразрешения, чаще в экстренном порядке путем операции кесарево сечение.

3.2 Определение растворимого эндоглина различными тест-системами иммуноферментного анализа

Концентрация растворимого эндоглина (sEng), нг/мл в сыворотке крови и моче установлена с помощью двух сэндвич-методов ИФА лаборатории гибридных технологий и с помощью трех коммерческих наборов разных производителей, результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Определение концентрации sEng тест-системами ИФА

Системы ИФА	Концентрация sEng в сыворотке крови, контрольная группа	Концентрация sEng в сыворотке крови, основная группа	Концентрация sEng в моче, основная группа
4E4-4C9	370 (334–412)	1290 (644–2190)	3,2 (1,3–6,0)
SN6h-4E4	343 (304–392)	1240 (648–1990)	1,5 (0,6–3,5)
R&D Systems Kit	4,8 (4,0–5,4)	35,9 (9,5–62,6)	0,1 (0–0,3)
RayBiotech Kit	5,8 (4,4–8,2)	18,8 (7,6–26,1)	0
Aviscera Bioscience Kit	1,4 (4,4–8,2)	1,6 (0,4–4,2)	0

Примечание: данные представлены в формате – среднее значение (минимальное – максимальное).

Высокие и почти идентичные концентрации sEng были измерены в сыворотке крови человека с помощью систем 4E4–4C9 и SN6h–4E4, тогда как гораздо более

низкие уровни были получены при использовании коммерческих наборов. Кроме того, коммерческие анализы не смогли обнаружить sEng в моче.

Были обнаружены различия в диагностической эффективности метода ИФА 4E4–4C9 и коммерческого набора, представленные на рисунке 5. Анализ кривых ROC показал, что уровни sEng в сыворотке, измеренные любой системой, были умеренно прогностическими для ПЭ. Оба теста позволили выделить группу пациенток с тяжелой ПЭ (Рисунок 5А). AUC для теста 4E4–4C9 была немного больше, чем для набора R&D Systems ($p = 0,020$). Прогностическая сила уровней sEng в моче была оценена ниже, чем у антигена в сыворотке крови (Рисунок 5А), но результаты существенно не различались ($p = 0,197$).

Было хорошее совпадение (коэффициент Пирсона — 0,938) между логарифмически преобразованными оценками содержания sEng в сыворотке, полученными с помощью ИФА 4E4–4C9 и коммерческого набора (Рисунок 5В). Однако график различий показал, что по сравнению с измерениями коммерческого набора внутренняя система имела тенденцию к завышению уровней антигена в образцах с низкими концентрациями и к занижению их в образцах с высокими концентрациями (Рисунок 5С). Поскольку эта тенденция была почти линейной, она не повлияла на прогностическую способность ИФА 4E4–4C9 для диагностики ПЭ по сравнению с коммерческим набором.

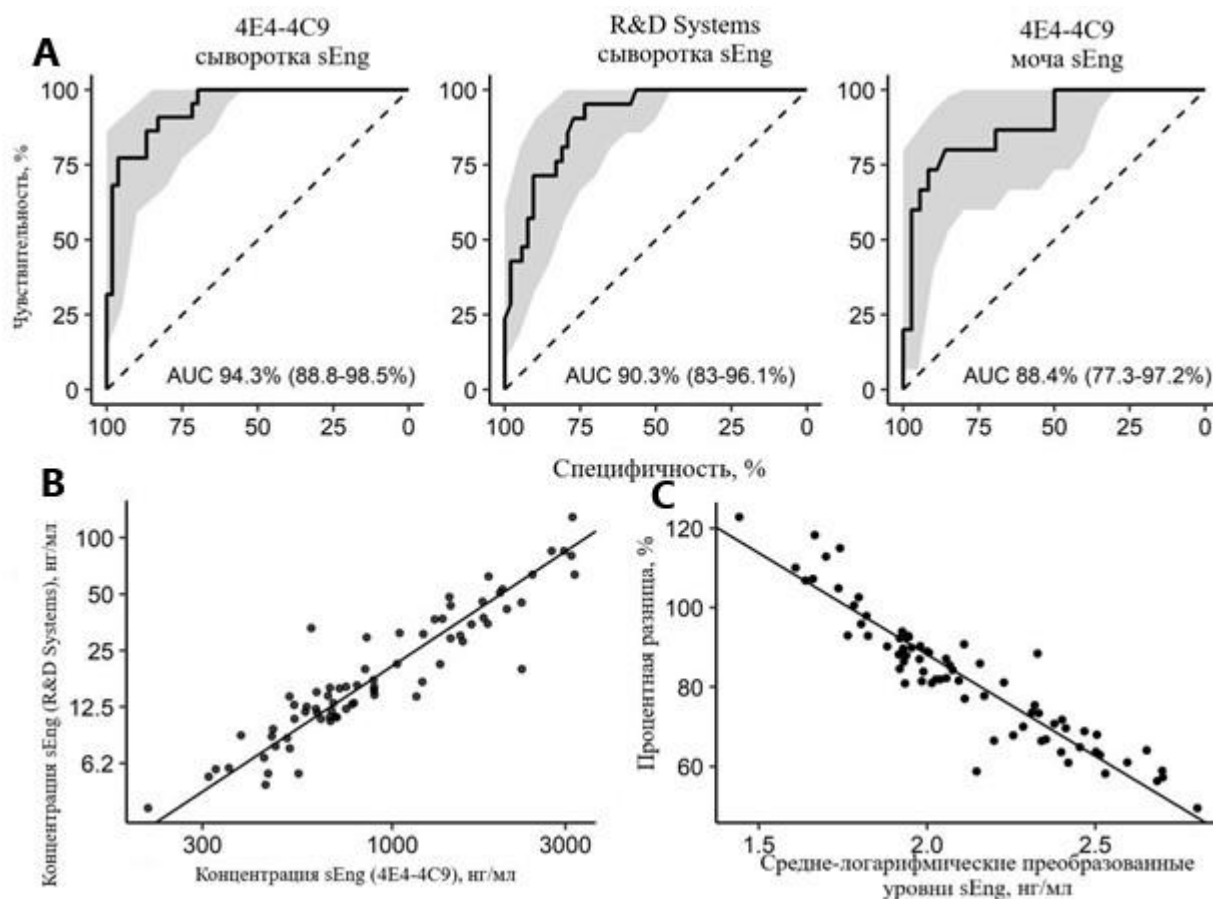


Рисунок 5 - Уровни sEng в сыворотке и моче у женщин с физиологической беременностью или беременностью, осложненной преэклампсией (ПЭ)

Примечание: уровни оценивали с помощью ИФА 4E4-4C9 и набора R&D Systems; А — кривые ROC для прогноза тяжелой ПЭ. Серые области соответствуют 95%-ому ДИ; В — регрессия Деминга между логарифмически преобразованными оценками в двух анализах ($a = -2,528 \pm 0,155$, $b = 1,281 \pm 0,053$, SD (остатки) = 0,130); С — график процентной разницы.

Материалы данного раздела отражены в научных статьях:

Васильева, М.Ю. Сравнительный анализ методик определения эндоглина в диагностике преэклампсии / М. Ю. Васильева, И. Е. Зазерская, С. А. Сельков, Д. И. Соколов // Женское здоровье и репродукция. – 2021. – № 3(50). – С. 8-22. – EDN NOYYGV.

3.3 Растворимый эндоглин в биологических жидкостях в группах исследования

3.3.1 Оценка концентрации растворимого эндоглина в сыворотке крови и моче в группах исследования

Результаты проведения анализа концентрации растворимого эндоглина (sEng) в сыворотке крови при беременности в зависимости от группы исследования представлен в таблице 9.

Таблица 9 – Анализ концентрации sEng в сыворотке крови при беременности в зависимости от группы исследования

Показатель	Категории	[sEng] в сыворотке крови при беременности, (нг/мл)		p-value
		Me	Q ₁ – Q ₃	
Группа исследования	контрольная ¹	699,5	554,7 – 858,6	< 0,001* p ₃₋₁ < 0,001 p ₃₋₂ = 0,007
	умеренная преэклампсия ²	845,4	596,4 – 1570,4	
	тяжелая преэклампсия ³	1662,0	928,5 – 2119,0	

Примечание: * - различия показателей статистически значимы (p<0,05).

В соответствии с представленной таблицей при сопоставлении концентрации sEng в сыворотке крови при беременности в зависимости от группы исследования, были выявлены статистически значимые различия (p<0,001) (используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса). При попарном апостериорном сравнении с помощью критерия Данна с поправкой Холма обнаружено, что медиана показателя sEng в сыворотке крови при беременности, представленная на рисунке 6, статистически значимо выше в группе тяжелой преэклампсии, чем в контрольной группе (p<0,001) и в группе умеренной преэклампсии (p=0,007).

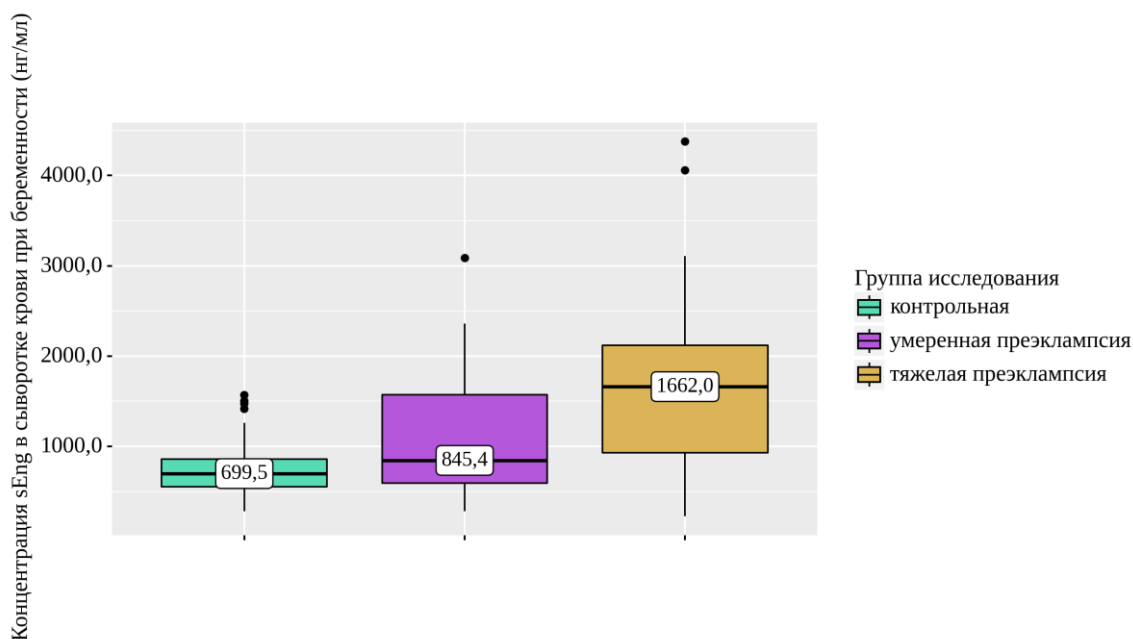


Рисунок 6 – Медиана концентрации растворимого эндоглина в сыворотке крови при беременности в исследуемых группах

В таблице 10 представлены результаты проведения анализа концентрации растворимого эндоглина (sEng) в моче при беременности в зависимости от группы исследования.

Таблица 10 – Анализ концентрации sEng в моче при беременности в зависимости от группы исследования

Показатель	Категории	[sEng] в моче при беременности, (нг/мл)		p- value
		Me	Q ₁ – Q ₃	
Группа исследования	контрольная ¹	10	8 – 17	0,008* p ₃₋₁ = 0,007
	умеренная преэклампсия ²	20	10 – 47	
	тяжелая преэклампсия ³	61	14 – 100	

Примечание: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

В соответствии с представленной таблицей при сопоставлении концентрации sEng в моче при беременности в зависимости от группы исследования, были выявлены статистически значимые различия ($p = 0,008$) (используемый метод:

Критерий Краскела–Уоллиса), что объясняется более высокой медианой показателя sEng в моче при беременности, представленной на рисунке 7, в группе тяжелой преэклампсии по сравнению с контрольной ($p=0,007$) (используемый метод: апостериорное сравнение с помощью критерия Данна с поправкой Холма).

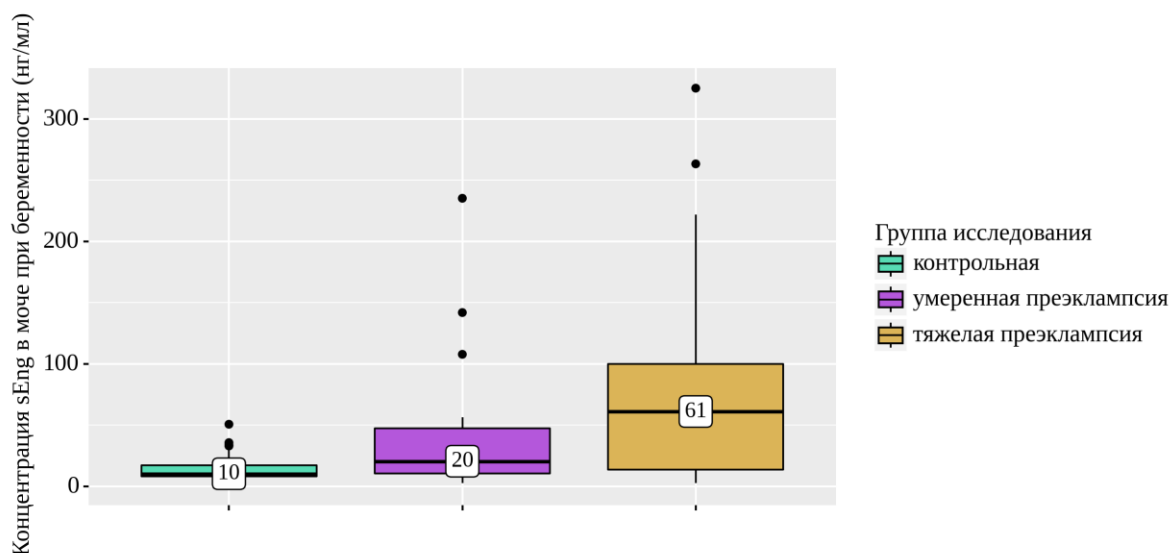


Рисунок 7 – Медиана концентрации растворимого эндоглина в моче при беременности в исследуемых группах

Для оценки диагностической значимости концентрации sEng в сыворотке крови и в моче при беременности в вероятности тяжелой преэклампсии, применялся метод анализа ROC-кривых. ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности тяжелой преэклампсии от концентрации sEng в сыворотке крови представлена на рисунке 8.

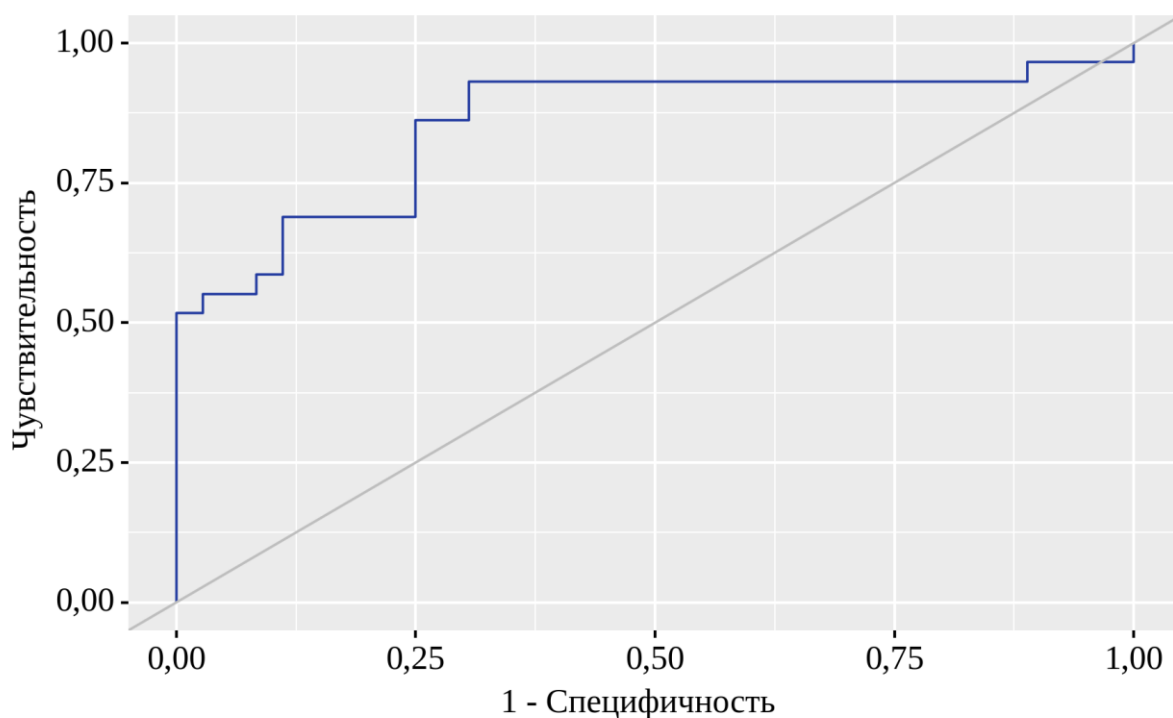


Рисунок 8 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности тяжелой преэклампсии от концентрации sEng в сыворотке крови при беременности

Площадь под ROC-кривой составила $0,855 \pm 0,049$ с 95% ДИ: 0,763 – 0,958. Полученная модель была статистически значимой ($p < 0,001$). Пороговое значение концентрации sEng в сыворотке крови при беременности составило 925,0 нг/мл, тяжелая преэклампсия прогнозировалось при значении показателя выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность модели составили 76,7% и 75,0%, соответственно.

При оценке зависимости вероятности тяжелой преэклампсии от концентрации sEng в моче при беременности с помощью ROC-анализа была получена следующая кривая, представленная на рисунке 9.

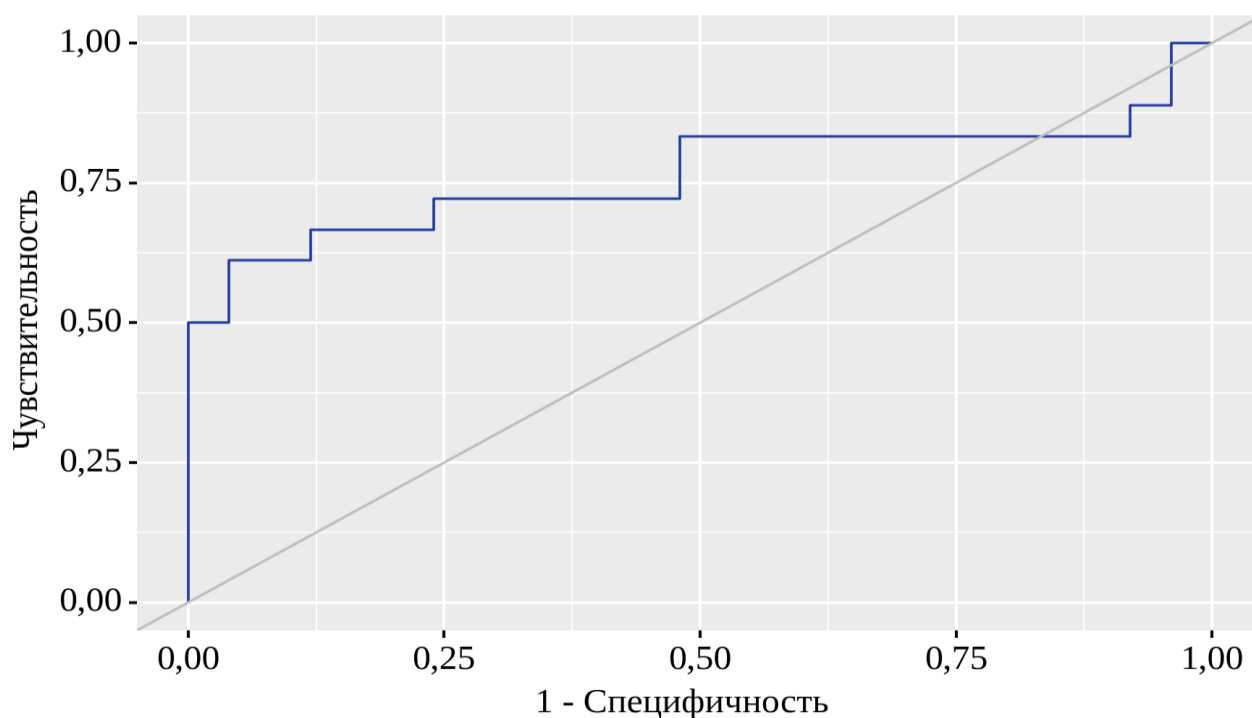


Рисунок 9 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности тяжелой преэклампсии от концентрации sEng в моче при беременности

Площадь под ROC-кривой составила $0,777 \pm 0,083$ с 95% ДИ: 0,615 – 0,939. Полученная модель была статистически значимой ($p=0,003$). Пороговое значение показателя составило 20,1 нг/мл, тяжелая преэклампсия прогнозировалось при значении показателя выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность модели составили 73,7% и 76,0%, соответственно.

ROC -анализ оценки зависимости тяжелой ПЭ от уровня sEng в сыворотке крови в послеродовой период продемонстрировал статистически значимую модель ($p=0,005$): AUC $0,745 \pm 0,074$, 95% ДИ: 0,600 – 0,890, пороговый показатель – 620 нг/мл с чувствительностью 77,3%, специфичностью 65,2%.

Оценка диагностической значимости концентрации sEng в сыворотке крови и в моче при беременности при прогнозировании умеренной преэклампсии, с помощью метода анализа ROC-кривых статистически значимых результатов не дала.

3.3.2 Динамическая оценка концентрации растворимого эндоглина в сыворотке крови и моче в группах исследования

В исследуемых группах – контрольной; умеренной преэклампсии и тяжелой преэклампсии, определена концентрация растворимого эндоглина (sEng) в биологических жидкостях (сыворотке крови и моче) в 2 временных точках: в период беременности и в послеродовой период на 3 сутки после родоразрешения.

Результаты проведения анализа динамики концентрации растворимого эндоглина в сыворотке крови в зависимости от исследуемой группы представлен в таблице 11.

Таблица 11 – Анализ динамики концентрации растворимого эндоглина в сыворотке крови в зависимости от исследуемой группы

Группа исследования	Этапы наблюдения				p-value
	Концентрация sEng в сыворотке крови при беременности		Концентрация sEng в сыворотке крови в послеродовой период		
	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	
контрольная ¹	722,0 (n=27)	613,0 – 815,7	494,6 (n=27)	405,6 – 562,9	< 0,001*
умеренная преэклампсия ²	852,1 (n=23)	658,2 – 1652,4	462,4 (n=23)	353,9 – 868,3	< 0,001*
тяжелая преэклампсия ³	1857,2 (n=22)	1401,6 – 2514,4	946,1 (n=22)	628,2 – 1186,0	< 0,001*
p-value	< 0,001* p ₃₋₁ < 0,001 p ₃₋₂ = 0,006		< 0,001* p ₃₋₁ < 0,001 p ₃₋₂ = 0,002		–

Примечание: * - различия показателей статистически значимы (p<0,05).

Статистически значимые различия (p<0,001) показателей [sEng] в сыворотке крови были установлены на этапах - при беременности и в послеродовом периоде (используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса).

В ходе анализа во всех исследуемых группах (контрольной; умеренной преэклампсии) были установлены статистически значимые (p<0,001) снижения

концентрации сывороточного sEng, представленные на рисунке 10 (используемый метод: критерий Уилкоксона).

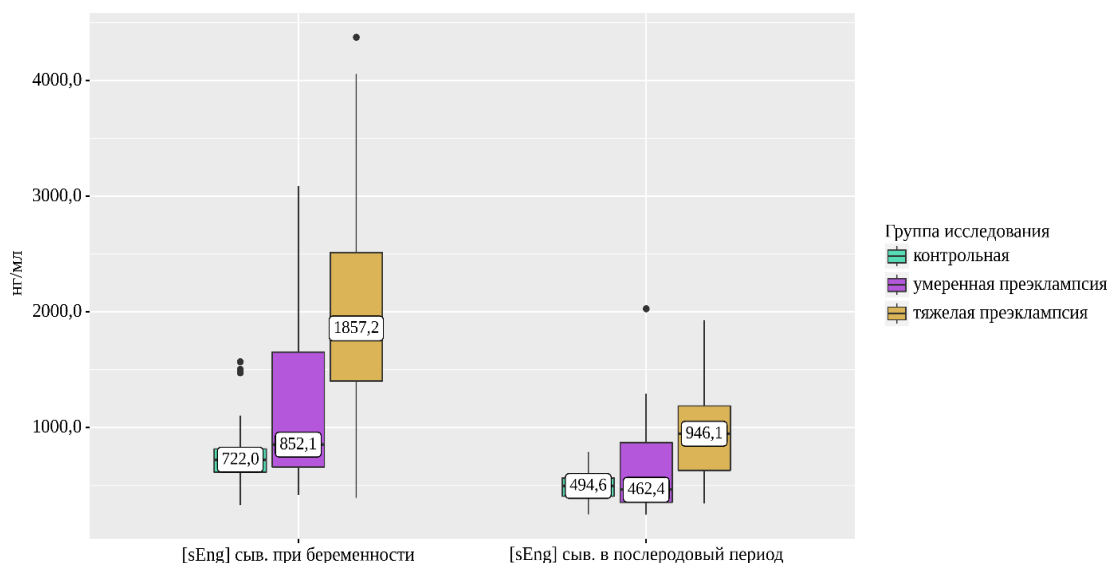


Рисунок 10 – Анализ динамики концентрации растворимого эндоглина в сыворотке крови в группах исследования

Проведенный анализ динамики концентрации sEng в моче в зависимости в исследуемых группах представлен в таблице 12.

Таблица 12 – Анализ динамики концентрации растворимого эндоглина в моче в зависимости от исследуемой группы

Группа исследования	Этапы наблюдения				p-value
	Концентрация sEng в моче при беременности		Концентрация sEng в моче в послеродовой период		
	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	
контрольная ¹	10 (n=21)	8 – 27	6 (n=21)	4 – 8	<0,001*
умеренная преэклампсия ²	19 (n=12)	12 – 69	8 (n=12)	5 – 16	0,042*
тяжелая преэклампсия ³	79 (n=18)	26 – 185	11 (n=18)	7 – 29	<0,001*
p-value	0,003* p ₃₋₁ = 0,002		0,040* p ₃₋₁ = 0,035		–

Примечание: * - различия показателей статистически значимы (p<0,05).

В соответствии с представленной таблицей были установлены статистически значимые различия концентрации sEng в моче как на этапе при беременности ($p = 0,003$), так и в послеродовом периоде ($p = 0,040$) (используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса).

На рисунке 11 представлены отмеченные в ходе анализа статистически значимые снижения концентрации sEng в моче в исследуемых группах: контрольной ($p < 0,001$); умеренной преэклампсии ($p = 0,042$) и тяжелой ($p < 0,001$) (используемый метод: критерий Уилкоксона).

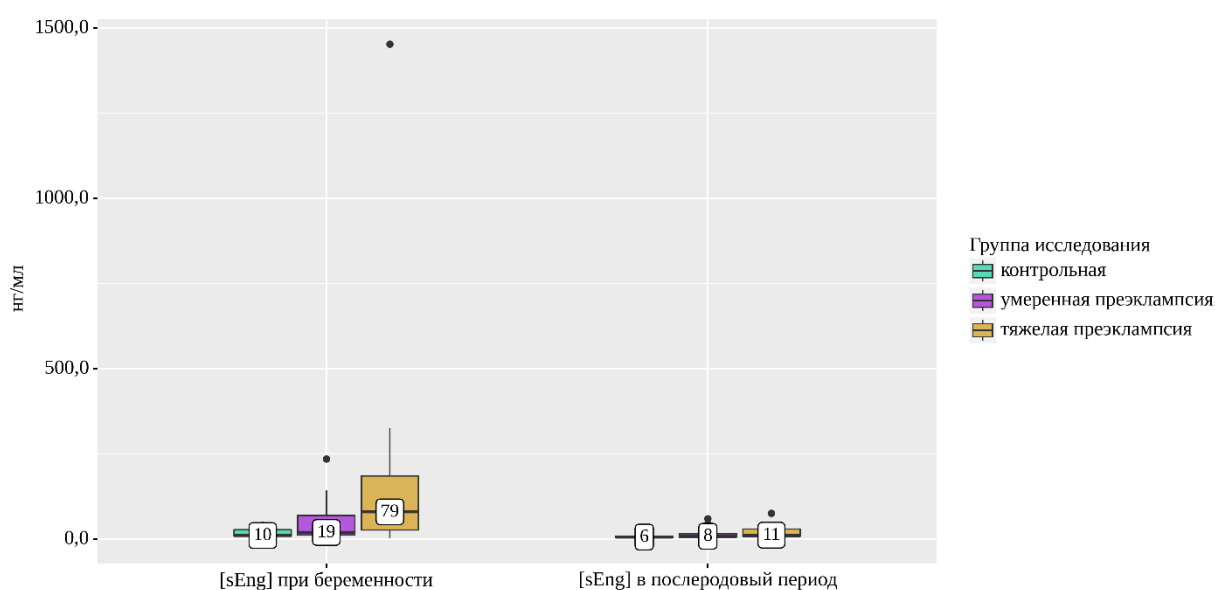


Рисунок 11 – Анализ динамики концентрации растворимого эндоглина в моче в зависимости от исследуемой группы

3.3.3 Связь концентрации растворимого эндоглина в сыворотке крови и моче с клинической симптоматикой

Результаты анализа концентрации растворимого эндоглина в сыворотке крови в зависимости от показателей клинической картины преэклампсии представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Анализ концентрации sEng в сыворотке крови при беременности в зависимости от клинических проявлений преэклампсии

Показатели	Категории	[sEng] сыворотки крови при беременности (нг/мл)			p- value
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
АГ ≥ 140/90, но ≤160/110 мм рт. ст.	нет	830,2	622,1 – 1501,5	63	0,557
	АГ ≥ 140/90, но ≤160/110 мм рт. ст.	905,4	658,2 – 1831,2	27	
САД	< 160 мм рт. ст.	746,9	589,3 – 1183,0	56	< 0,001*
	≥ 160 мм рт. ст.	1475,8	832,4 – 2044,1	34	
ДАД	< 110 мм рт. ст	793,2	610,6 – 1411,4	79	0,002*
	≥ 110 мм рт. ст	1869,4	1452,0 – 2326,9	11	
Суточная протеинурия	<0,3 г/сут (1)	852,1	562,6 – 1495,7	33	0,002* p ₂₋₁ = 0,027 p ₃₋₁ = 0,006
	≥ 0,3 г, но <5 г/сут (2)	1538,8	835,4 – 2243,9	20	
	> 5 г/сут (3)	1941,3	1747,6 – 2514,8	8	
Разовая протеинурия в 2-х порциях мочи, взятых с интервалом в 6 часов	<0,3 г/л (1)	733,0	554,0 – 1183,3	43	< 0,001* p ₂₋₁ = 0,006 p ₃₋₁ = 0,001
	≥ 0,3 г/л, но <3г/л (2)	1102,5	717,3 – 1923,8	35	
	>3 г/л (3)	1857,2	905,6 – 2514,8	12	
Отеки	отеков нет ¹	722,0	638,5 – 758,9	19	0,002* p ₃₋₁ = 0,001
	отеки нижних конечностей ²	836,9	567,5 – 1536,0	51	
	генерализованные отеки ³	1520,4	928,5 – 2119,0	18	
	отек легких/цианоз ⁴	1383,8	1376,7 – 1391,0	2	
Уровень АЛТ, АСТ	<40 МЕ/л	1004,9	596,4 – 1875,5	36	0,143
	≥40 МЕ/л	1383,8	900,7 – 2124,1	24	

Продолжение таблицы 13

Показатели	Категории	[sEng] сыворотки крови при беременности (нг/мл)			p-value
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
Тромбоцитопения	уровень тромбоцитов в пределах референсных значений	1313,0	749,7 – 1942,8	58	0,764
	менее 50x10 ⁹ /л	1294,1	789,8 – 1716,6	3	
Креатинин	в пределах референсных значений	1288,8	708,6 – 1875,5	56	0,173
	гиперкреатининемия (≥90 мкмоль/л)	1994,2	1598,2 – 2361,4	4	
Головная боль	не наблюдалась	1427,0	725,2 – 2025,9	34	0,338
	развитие головной боли	921,4	762,4 – 1762,2	27	
Манифестация преэклампсии	ранняя преэклампсия до 34 недель	1447,0	819,4 – 2124,1	44	0,033*
	поздняя преэклампсия после 34 недель	744,0	628,4 – 1383,6	13	

Примечание: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

В соответствии с представленной таблицей при сопоставлении концентрации sEng сыворотки крови при беременности в зависимости от уровня САД (систолического артериального давления) и ДАД (диастолического артериального давления) установлены статистически значимые различия ($p < 0,001$ и $p = 0,002$, соответственно), отображенные графически на рисунке 12 и 13 (используемый метод: U–критерий Манна–Уитни).

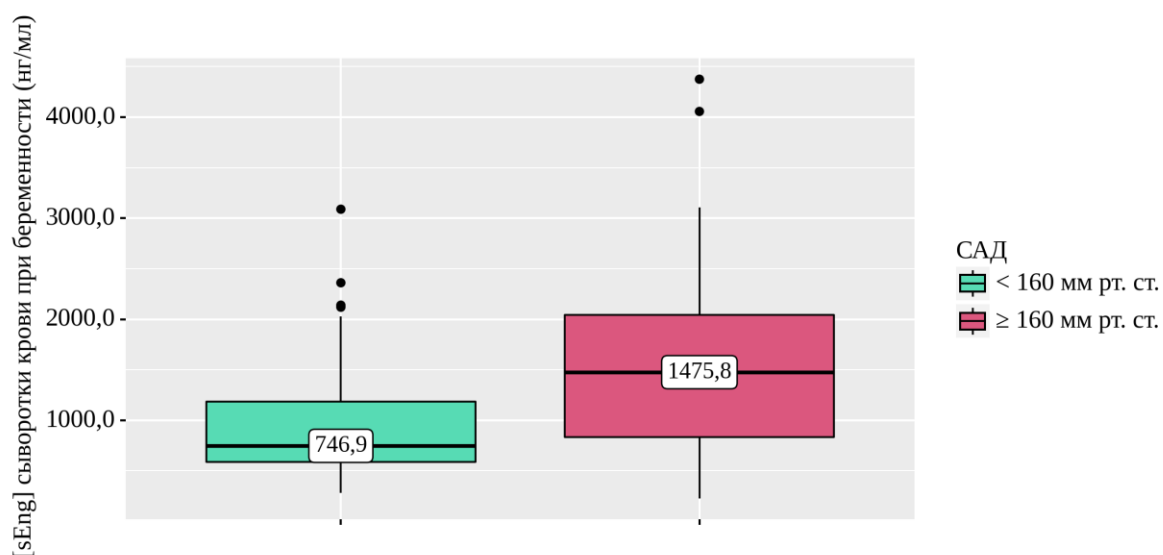


Рисунок 12 – Анализ показателя [sEng] сыворотки крови при беременности в зависимости от уровня САД

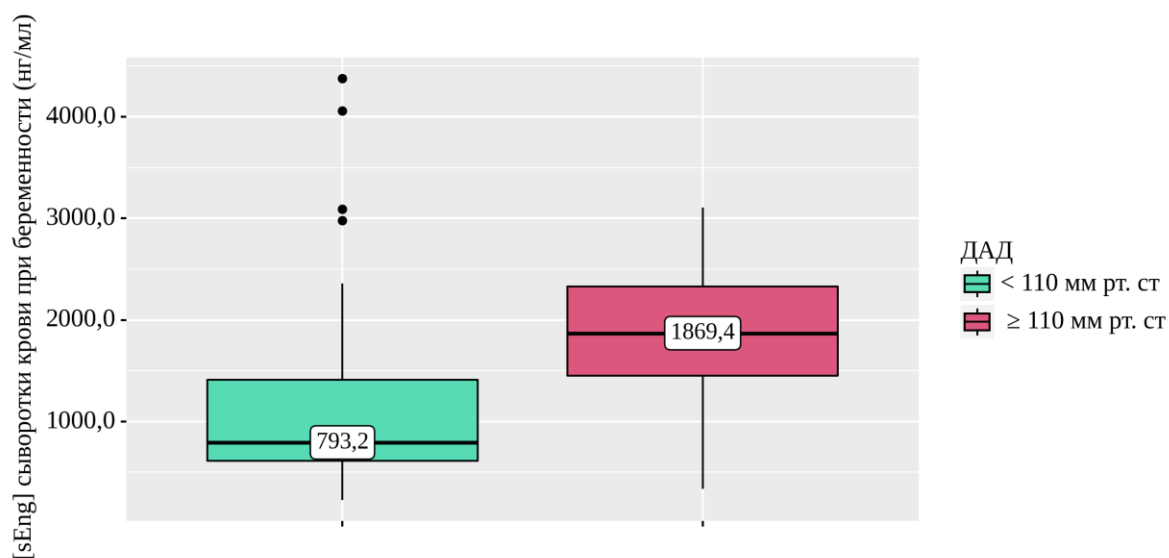


Рисунок 13 – Медиана [sEng] сыворотки крови при беременности в зависимости от уровня ДАД

При анализе концентрации sEng в сыворотке крови в зависимости от показателей протеинурии, как суточной, так и разовой в 2-х порциях мочи, взятых с интервалом в 6 часов были установлены существенные различия ($p=0,002$ и $p<0,001$ соответственно) (используемые методы: критерий Краскела–Уоллиса). Медиана сывороточной концентрации sEng при развитии массивной протеинурии (белок в моче $> 5\text{г/сутки}$) статистически значимо выше ($p=0,006$), чем в случае

протеинурии до 0,3 г/сутки, что отображено на рисунке 14 (используемый метод: апостериорное сравнение с помощью критерия Данна с поправкой Холма).

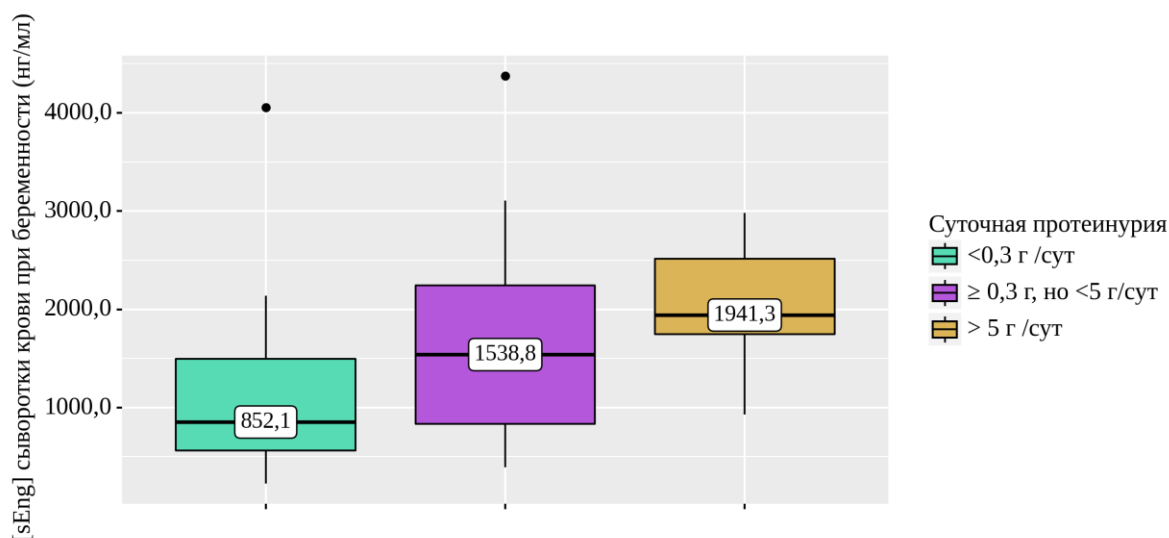


Рисунок 14 – Медиана [sEng] сыворотки крови при беременности в зависимости от суточной протеинурии

Сравнение уровня концентрации сывороточного sEng при беременности в зависимости от локализации и распространенности отеков выявило статистически значимые различия ($p=0,002$), что объясняется двукратным отличием медианы лабораторного показателя при появлении генерализованных отеков, в отличие от их полного отсутствия (рисунок 15).

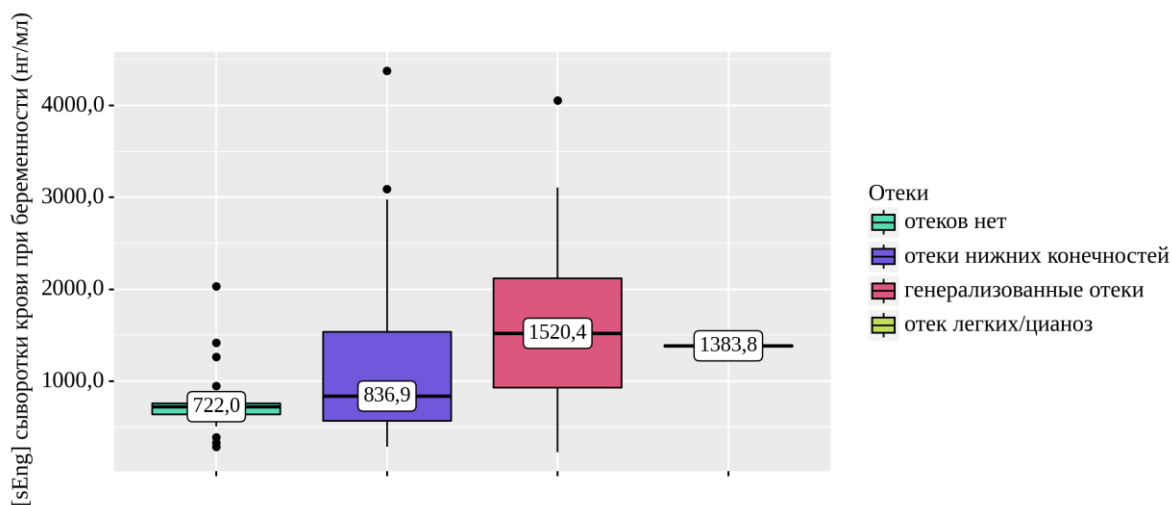


Рисунок 15 – Медиана [sEng] сыворотки крови при беременности в зависимости от локализации и распространенности отеков

Сравнение показателя sEng сыворотки крови в зависимости от уровней трансаминаз (АЛТ, АСТ), тромбоцитов в клиническом анализе крови, креатинина, а также появления головной боли у беременных с преэклампсией достоверных отличий не установило ($p > 0,05$). Среди беременных с тяжелой преэклампсией отмечено появление следующей симптоматики и отклонений в лабораторных показателях: олигурия (снижение темпа диуреза < 500 мл/сутки) - у 2 пациенток; тромбоцитопения (менее 50×10^9 /л), гемолиз (появление шизоцитов в клиническом анализе крови), развитие HELLP-синдрома - у 3 пациенток; 2 беременные жаловались на появление фотопсий; иная неврологическая симптоматика (например, выпадение полей зрения) – 6; развитие диспепсических расстройств (таких как тошнота, рвота) – у 4 пациенток.

При выполнении анализа концентрации sEng сыворотки крови среди беременных с преэклампсией в зависимости от срока развития клинической картины заболевания отмечено, что медиана исследуемого лабораторного показателя статистически значимо выше ($p = 0,033$) при ранней преэклампсии, развившейся до 34 недель гестации (рисунок 16).

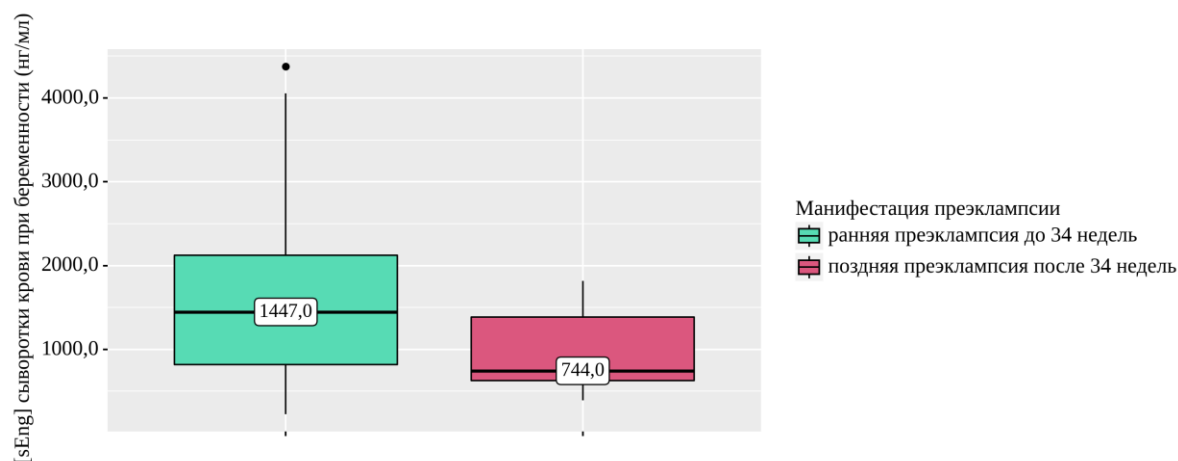


Рисунок 16 – Анализ [sEng] сыворотки крови при беременности в зависимости от дебюта преэклампсии

Результаты выполнения анализа концентрации растворимого эндоглина в моче при беременности в зависимости от клинических проявлений преэклампсии представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Анализ концентрации [sEng] в моче при беременности в зависимости от клинической симптоматики преэклампсии

Показатели	Категории	[sEng] мочи при беременности (нг/мл)			p-value
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
АГ ≥ 140/90, но ≤ 160/110 мм рт.ст.	нет	13	8 – 36	45	0,015*
	АГ ≥ 140/90, но ≤ 160/110 мм рт. ст.	38	16 – 195	14	
САД	< 160 мм рт. ст.	13	8 – 35	39	0,305
	≥ 160 мм рт. ст.	37	9 – 91	20	
ДАД	< 110 мм рт. ст	14	8 – 45	53	0,180
	≥ 110 мм рт. ст	37	26 – 68	6	
Суточная протеинурия	< 0,3 г /сут (1)	15	5 – 38	16	< 0,001* p ₂₋₁ = 0,039 p ₃₋₁ < 0,001
	≥ 0,3 г, но < 5 г/сут (2)	42	27 – 134	12	
	> 5 г /сут (3)	182	111 – 299	6	
Разовая протеинурия в 2-х порциях мочи, взятых с интервалом в 6 часов	< 0,3 г/л (1)	11	8 – 25	35	< 0,001* p ₂₋₁ = 0,022 p ₃₋₁ < 0,001 p ₃₋₂ = 0,020
	≥ 0,3 г/л, но < 3г/л (2)	35	12 – 88	18	
	> 3 г/л (3)	243	162 – 310	6	
Отеки	отеков нет (1)	10	7 – 17	17	0,029* p ₃₋₁ = 0,023
	отеки нижних конечностей (2)	18	9 – 45	27	
	генерализованные отеки (3)	79	18 – 106	14	
	отек легких/цианоз (4)	45	45 – 45	1	
Показатели АЛТ, АСТ в крови	< 40 МЕ/л	35	9 – 91	18	0,459
	≥ 40 МЕ/л	56	14 – 122	15	
Головная боль	без головной боли	67	21 – 106	18	0,138
	развитие головной боли	23	8 – 57	16	
Иная неврологическая симптоматика	нет	36	10 – 96	31	0,412
	развитие неврологической симптоматики	95	55 – 159	3	
Манифестация преэклампсии	ранняя преэклампсия до 34 недель	56	10 – 177	23	0,220
	поздняя преэклампсия после 34 недель	23	16 – 54	7	

Примечание: * - различия показателей статистически значимы (p<0,05).

Среди показателей артериальной гипертензии статистически значимым ($p=0,015$) оказалось сравнение концентрации растворимого эндоглина в моче только для подгруппы с подъемом АД в коридоре $\geq 140/90$, но $\leq 160/110$ мм рт. ст. (используемые методы: U–критерий Манна–Уитни).

Согласно полученным данным при сравнении [sEng] мочи при беременности в зависимости от протеинурии и суточной, и в разовых порциях, установлены статистически значимые различия ($p<0,001$). При попарном сравнении медиана [sEng] в моче в 12 раз выше в случае развития массивной протеинурии (>5 г/сутки) ($p<0,001$), что представлено на рисунке 17. Апостериорные сравнения показателей разовой протеинурии статистически значимо различались как при обнаружении белка в моче более 3 г/л ($p<0,001$), так и если белок в моче был $\geq 0,3$ г/л, но <3 г/л ($p=0,022$).

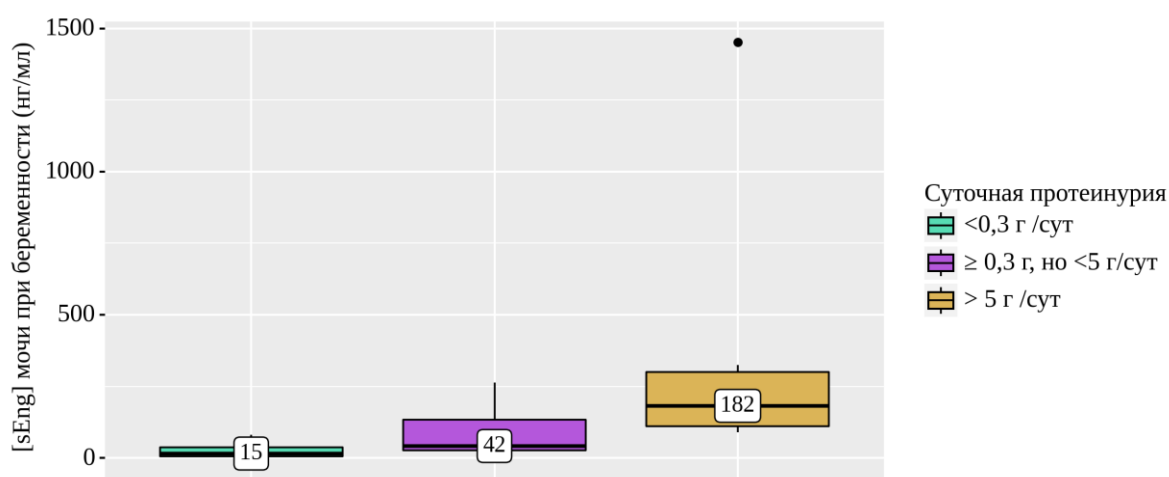


Рисунок 17 – Анализ показателя [sEng] в моче при беременности в зависимости от суточной протеинурии

Аналогично сравнению концентрации sEng сывороточного, данный лабораторный показатель, определенный в моче, имел достоверные отличия ($p=0,029$) в зависимости от локализации и распространения отеков, что объяснялось увеличением медианы концентрации sEng в моче в случае развития генерализованных отеков по сравнению с подгруппой, где отеков не было ($p=0,023$).

Сравнение изменения уровней трансаминаз, креатинина, развития неврологической симптоматики и диспепсических явлений, так же, как и дебюта клинической картины преэклампсии, статистически значимых отличий не показало ($p>0,05$).

При оценке зависимости вероятности ранней преэклампсии от концентрации sEng в сыворотке крови при беременности с помощью ROC-анализа получена следующая кривая, представленная на рисунке 18.

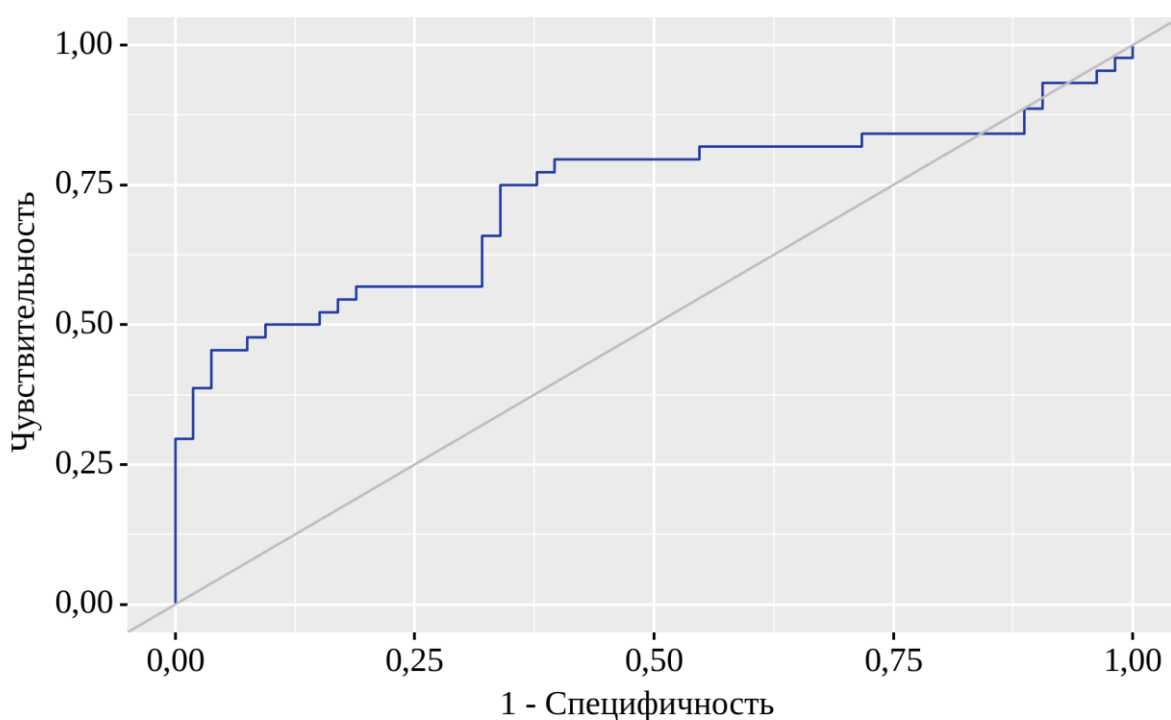


Рисунок 18 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности ранней ПЭ от концентрации sEng в сыворотке крови при беременности

Площадь под ROC-кривой составила $0,732 \pm 0,054$ с 95% ДИ: 0,625 – 0,838. Полученная модель была статистически значимой ($p<0,001$). Пороговое значение показателя составило 830,1 нг/мл, ранняя ПЭ прогнозировалось при значении показателя выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность модели составили 75,6% и 66,0%, соответственно.

В результате проведения двухэтапного кластерного анализа в структуре исследуемой совокупности беременных женщин с концентрацией sEng в сыворотке крови более 925 нг/мл выделены два кластера: доля первого кластера в

общей структуре составляла 56,1% (n=23), второго кластера – 43,9% (n=18). Силуэтная мера связности и разделения составила 0,5, что соответствует хорошему качеству кластеров.

Результаты сравнения полученных кластеров по изучаемым признакам представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Сравнение кластеров беременных женщин по изучаемым признакам

Показатели (в порядке убывания важности)	Исследуемые кластеры		p-value
	Первый (n=23)	Второй (n=18)	
Наличие хронической артериальной гипертензии в анамнезе, абс. (%)	3 (13,0)	16 (88,9)	<0,001*
Развитие ранней ПЭ, абс. (%)	6 (26,1)	18 (100,0)	<0,001*
САД \geq 160 мм рт ст, абс. (%)	4 (17,4)	16 (88,9)	<0,001*
Головная боль, абс. (%)	2 (8,7)	11 (61,1)	=0,001*
Соотношение sFlt-1/PlGF, Ме [Q ₁ -Q ₃]	55,9 [2,6-268,1]	414,8 [190,1-1010,9]	<0,001*
Выявление ранней ЗРП, абс. (%)	2 (8,7)	8 (44,4)	0,012*

Примечание: * - различия показателей статистически значимы (p<0,05).

При сравнении полученных кластеров по изучаемым признакам установлены статистически значимые различия частоты по всем показателям (p<0,05).

Связь принадлежности пациентки к определенному кластеру и признака наличия ХАГ в анамнезе, развития ранней ПЭ, повышения САД 160 и более мм рт. ст. была сильной (V=0,76, V=0,75 и V=0,71, соответственно); появления головной боли и выявления ранней ЗРП – относительно сильной (V=0,56 и V=0,41 соответственно).

3.3.4 Связь концентрации растворимого эндоглина в сыворотке крови и моче с показателями ультразвукового исследования

Нами выполнен анализ концентрации растворимого эндоглина сыворотки крови при беременности в зависимости от ряда результатов ультразвукового исследования, представленный в таблице 16.

Таблица 16 – Анализ концентрации сывороточного [sEng] при беременности в зависимости от показателей ультразвукового исследования

Показатели	Категории	[sEng] сыворотки крови при беременности (нг/мл)			p-value
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
Задержка развития плода	ЗРП не выявлена	932,2	667,9 – 1714,0	44	0,009*
	ранняя ЗРП до 32 недель	2069,7	1398,2 – 2584,2	13	
НППК	НППК не выявлено ¹	757,4	597,8 – 1306,2	68	0,003* p ₃₋₁ = 0,004
	НППК 1 степени	1137,5	796,2 – 2197,4	14	
	НППК 2 степени ³	2305,0	2013,2 – 3105,6	5	
	НППК 3 степени	852,1	768,6 – 1939,4	7	
	НППК 4 степени	1398,2	1163,3 – 1596,3	3	
Оценка количества околоплодных вод	АИ в норме	1288,8	719,5 – 2001,7	54	0,856
	развитие маловодия	1383,6	970,7 – 1596,3	7	

Примечание: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

При сравнении концентрации sEng в сыворотке крови в зависимости от обнаружения задержки развития плода установлены статистически значимые отличия ($p=0,009$), что графически отображено на рисунке 19 (используемый метод: критерий Краскела–Уоллиса). Необходимо отметить, что поздняя ЗРП, выявленная после 32 недель была диагностирована только у 1 пациентки, для выявления достоверных отличий результат лабораторного показателя не использовался.

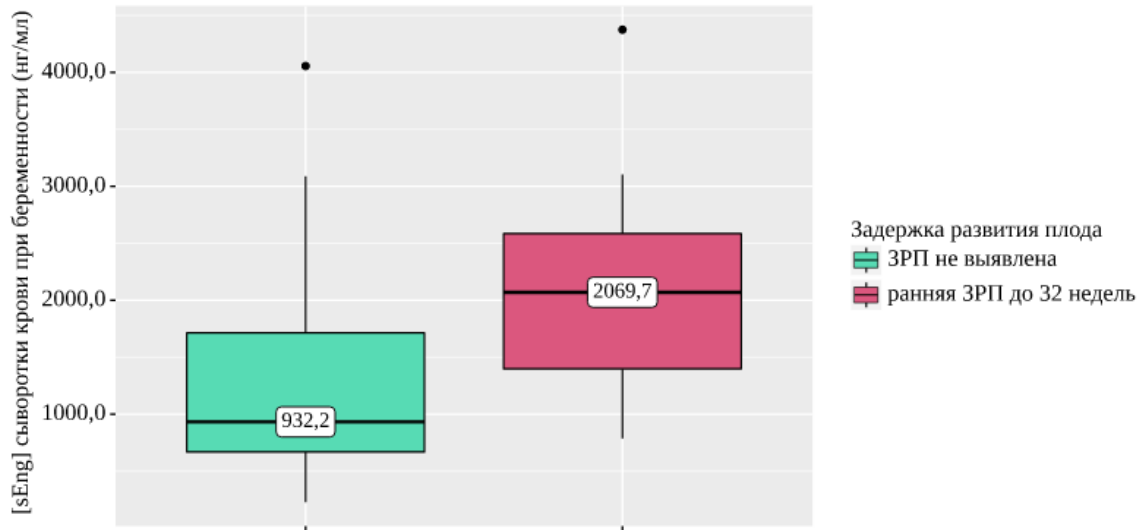


Рисунок 19 – Анализ концентрации sEng сыворотки крови при беременности в зависимости от диагностирования задержки развития плода

В результате сравнения сывороточного sEng при беременности в зависимости от степени нарушения плодово-плацентарного кровотока были установлены существенные различия ($p=0,003$), что объяснялось при апостериорном сравнении 3-кратным увеличением медианы концентрации исследуемого лабораторного показателя при развитии НППК 2 степени в отличие от отсутствия НППК ($p=0,004$) (Рисунок 20).

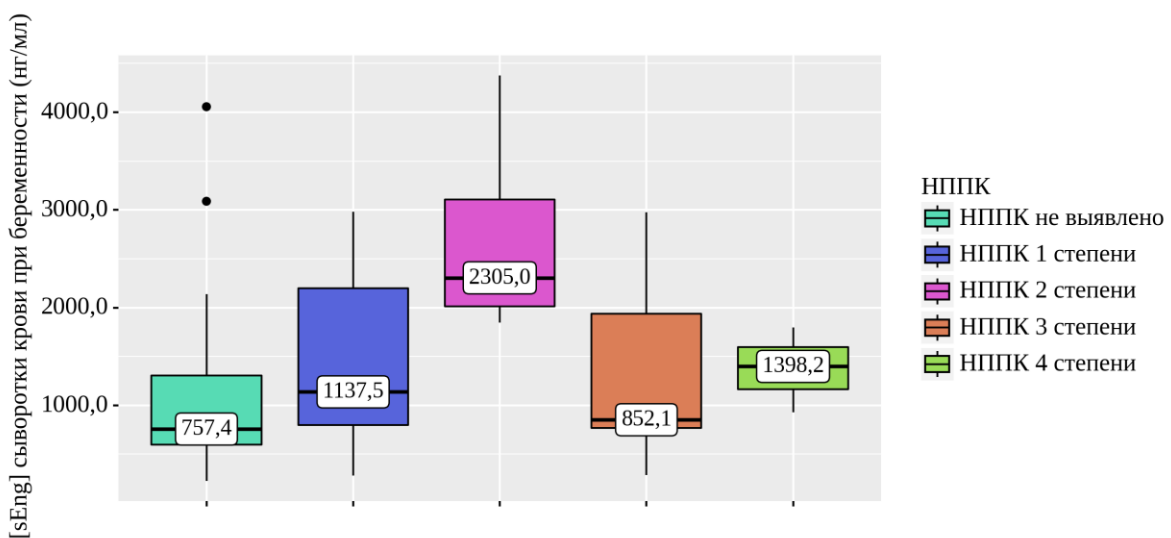


Рисунок 20 – Медиана концентрации sEng сыворотки крови при беременности в зависимости от степени НППК

При оценке [sEng] сыворотки крови при беременности в зависимости от результатов оценки количества околоплодных вод не удалось установить статистически значимых различий ($p=0,856$) (используемый метод: U–критерий Манна–Уитни).

Результаты проведенного анализа концентрации растворимого эндоглина в моче при беременности в зависимости от показателей ультразвукового исследования представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Анализ концентрации sEng в моче при беременности в зависимости от некоторых результатов ультразвукового исследования

Показатели	Категории	[sEng] мочи при беременности (нг/мл)			p-value
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
Задержка развития плода	ЗРП не выявлена	30	9 – 79	27	0,021*
	ранняя ЗРП до 32 недель	213	88 – 243	7	
НППК	НППК не выявлено ¹	13	8 – 34	46	0,003* p ₃₋₁ = 0,015
	НППК 1 степени	70	10 – 116	8	
	НППК 2 степени ³	294	206 – 607	4	
	НППК 3 степени	222	222 – 222	1	
Оценка количества околоплодных вод	АИ в норме	41	10 – 104	31	0,785
	развитие маловодие	34	28 – 36	3	

Примечание: * - различия показателей статистически значимы ($p<0,05$).

Исходя из полученных данных при анализе [sEng] мочи при беременности в зависимости от показателя диагностирования задержки развития плода по УЗИ, выявления НППК, были выявлены существенные различия ($p=0,021$, $p=0,003$ соответственно) (используемые методы: U–критерий Манна–Уитни, Критерий Краскела–Уоллиса). Попарное сравнение установило статистически значимые отличия ($p=0,015$) концентрации sEng мочи при НППК 2 степени, в отличие от отсутствия нарушений кровотока, что представлено на рисунке 21.

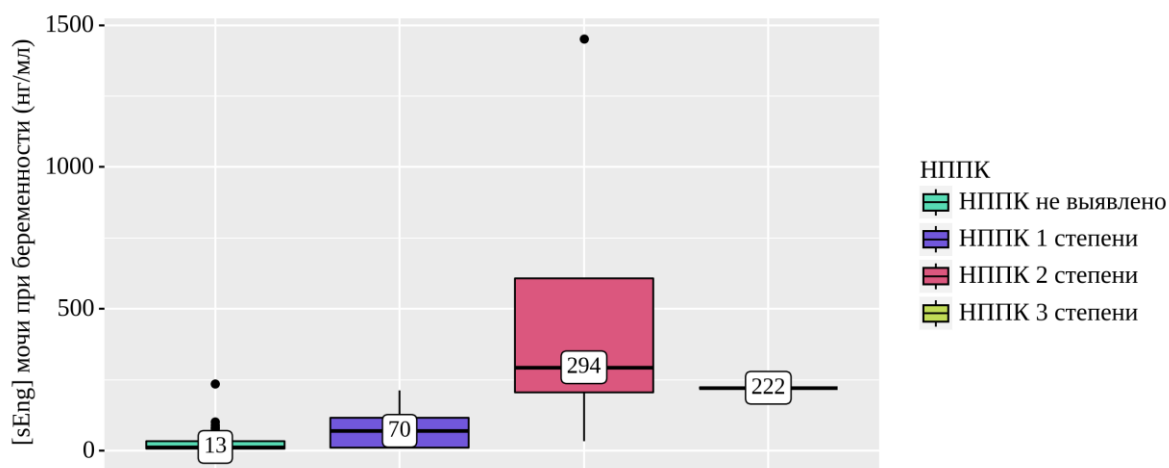


Рисунок 21 – Медиана концентрации sEng мочи при беременности в зависимости от степени НППК

При сравнении концентрации sEng мочи при беременности в зависимости от результатов оценки количества околоплодных вод, нам не удалось выявить значимых различий ($p=0,785$) (используемый метод: U–критерий Манна–Уитни).

Таким образом, концентрация sEng, определенная в сыворотке крови и моче была достоверно выше у беременных с тяжёлой преэклампсией. В ходе динамической оценки на этапах наблюдения беременность – послеродовой период во всех исследуемых группах выявлено снижение концентрации sEng в биологических жидкостях. Анализ показателей клинической картины и уровня sEng показал достоверным сравнение с уровнем АД (систолического и диастолического), протеинурией (как разовой, так и суточной), степенью выраженности отёков. Учитывая наличие статистически значимой разницы уровня sEng в сыворотке крови в зависимости от срока манифестации ПЭ установлено пороговое значение концентрации sEng в сыворотке крови (830,1 нг/мл) при достижении и превышении которого прогнозировалась ранняя ПЭ с чувствительностью 75,6% и специфичностью 66%. Среди показателей УЗИ-исследований выявлены значимые отличия уровня sEng в биологических жидкостях при ранней ЗРП (до 32 недель) и при нарушениях плодово-плацентраного кровотока 2 степени.

Материалы данного раздела отражены в научных статьях:

1. Васильева, М.Ю. Сравнительный анализ методик определения эндоглина в диагностике преэклампсии / М. Ю. Васильева, И. Е. Зазерская, С. А. Сельков, Д. И. Соколов // Женское здоровье и репродукция. – 2021. – № 3(50). – С. 8-22. – EDN HOYYGV.
2. Васильева, М.Ю. Прогностическая ценность анти- и проангиогенных факторов при тяжелой преэклампсии / М.Ю. Васильева, И.В. Смирнов, В.В. Ишкараева, [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. 2023. Т. 72. № 2. С. 5–17. DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD159396>.

3.4 Церулоплазмин в группах исследования

3.4.1 Оценка концентрации церулоплазмина в группах исследования

В изучаемой выборке проведено определение концентрации церулоплазмина в сыворотке крови и выполнен анализ в зависимости от группы исследования, представленный в таблице 18.

Таблица 18 – Анализ концентрации церулоплазмина при беременности в зависимости от исследуемой группы

Показатель	Категории	Концентрация церулоплазмина при беременности (мг%)			p-value
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
Группа исследования	контрольная ¹	105	77 – 115	21	0,009* p ₂₋₁ = 0,044 p ₃₋₁ = 0,018
	умеренная преэклампсия ²	120	103 – 144	17	
	тяжелая преэклампсия ³	131	111 – 154	10	

Примечание: * - различия показателей статистически значимы (p<0,05).

Согласно представленной таблице при оценке концентрации церулоплазмина при беременности в зависимости от группы исследования, нами были выявлены

статистически значимые различия ($p=0,009$) (используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса). Апостериорные сравнения группы умеренной и тяжелой преэклампсии с контрольной группой выявили статистически значимо ($p=0,044$ и $p=0,018$, соответственно) более высокие концентрации церулоплазмينا, что отражено на рисунке 22.

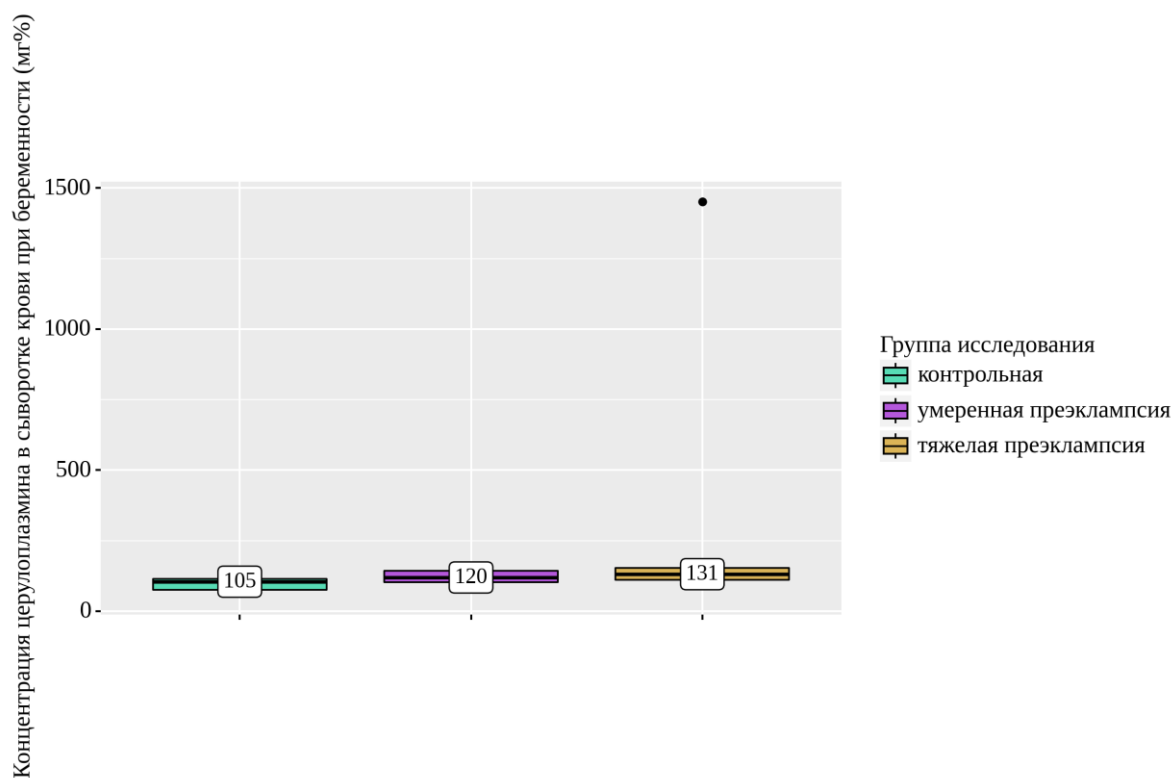


Рисунок 22 – Медианы концентрации церулоплазмينا при беременности в исследуемых группах

При оценке зависимости вероятности тяжелой преэклампсии от концентрации церулоплазмينا при беременности с помощью ROC-анализа была получена кривая, представленная на рисунке 23.

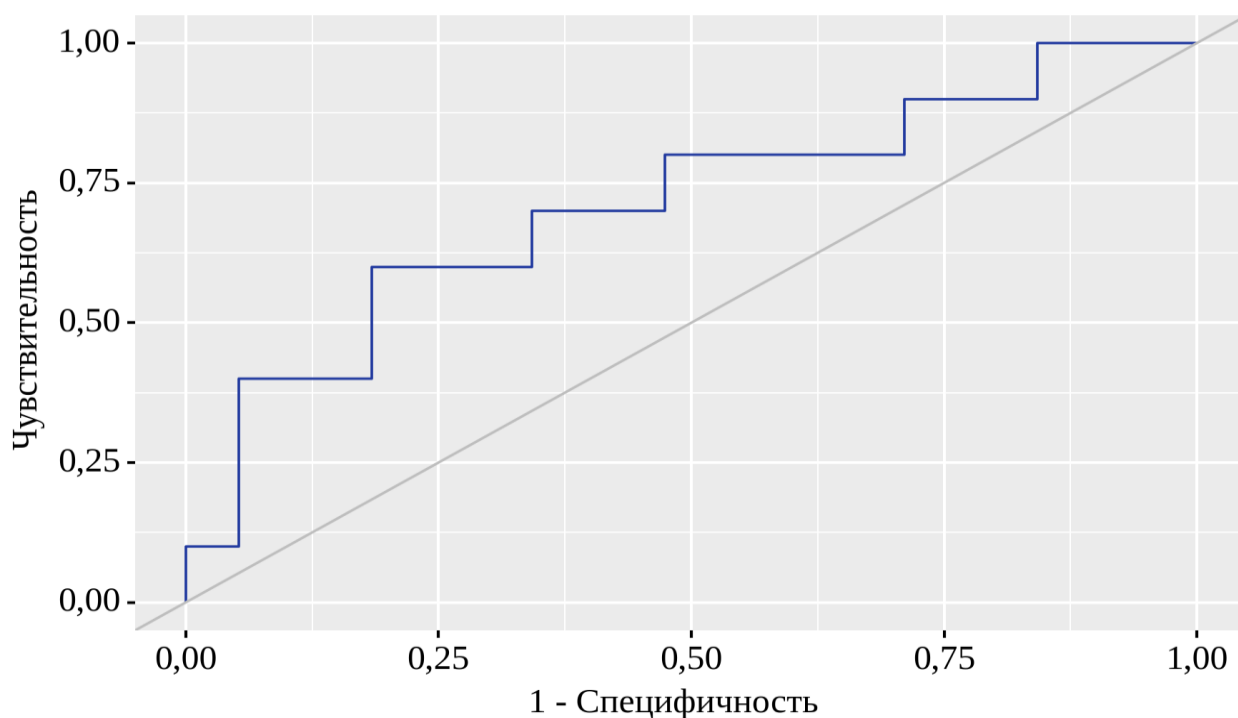


Рисунок 23 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности тяжелой преэклампсии от концентрации церулоплазмينا при беременности

Площадь под ROC-кривой составила $0,711 \pm 0,100$ с 95% ДИ: 0,515 – 0,906. Полученная модель была статистически значимой ($p = 0,042$).

Пороговое значение концентрации церулоплазмينا при беременности составило 118,9 мг%, тяжелая преэклампсия прогнозировалось при значении показателя выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность модели составили 70,0% и 65,8%, соответственно.

ROC-анализ зависимости вероятности умеренной преэклампсии по концентрации церулоплазмينا при беременности не позволил получить статистически значимой модели ($p = 0,178$) (используемый метод: U-критерий Манна–Уитни). Площадь под ROC-кривой составила $0,619 \pm 0,087$ с 95% ДИ: 0,448 – 0,789.

3.4.2 Оценка концентрации церулоплазмينا в динамике в группах исследования

Сывороточный церулоплазмин в исследуемых группах был определен на 2 этапах – при беременности (в день включения в исследование) и в послеродовом периоде на 3 сутки после родоразрешения. Проведенный анализ динамики концентрации церулоплазмينا в группах исследования представлен в таблице 19.

Таблица 19 – Анализ динамики концентрации церулоплазмينا в исследуемых группах

Группа исследования	Этапы наблюдения				p-value
	Концентрация церулоплазмينا при беременности		Концентрация церулоплазмينا в послеродовый период		
	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	
контрольная	107 (n=11)	101 – 111	115 (n=11)	101 – 122	0,240
умеренная преэклампсия	122 (n=12)	98 – 133	116 (n=12)	107 – 131	0,910
тяжелая преэклампсия	126 (n=4)	109 – 138	134 (n=4)	104 – 163	0,375

В соответствии с представленной таблицей оценка концентрации церулоплазмينا не установила статистически значимых различий на обоих этапах – при беременности и в послеродовом периоде в каждой из исследуемых групп: контрольной (p=0,240); умеренной преэклампсии (p=0,910); тяжелой преэклампсии (p=0,375) (используемые методы: критерий Уилкоксона).

3.4.3 Анализ концентрации церулоплазмينا с клиническими проявлениями преэклампсии

При проведении анализа концентрации церулоплазмينا при беременности в зависимости от клинических проявлений преэклампсии получены статистически значимые результаты для степени выраженности отеков ($p=0,017$) (используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса), с апостериорным сравнением подгруппы с генерализованными отеками и отсутствием отеков ($p=0,015$), что графически отображено на рисунке 24.

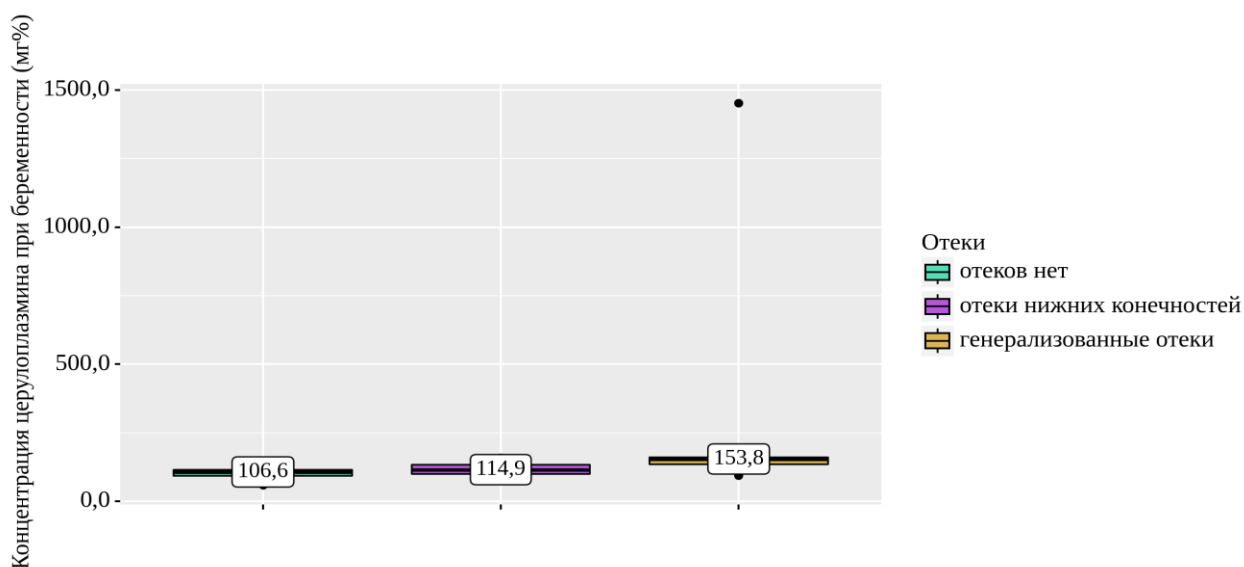


Рисунок 24 – Медианы концентрации церулоплазмينا при беременности в зависимости от степени выраженности отеков

При сравнении концентрации церулоплазмينا при беременности в зависимости от таких клинических проявлений преэклампсии показатели АД, протеинурии разовой и суточной, показателей полиорганной недостаточности не удалось установить статистически значимых различий ($p<0,05$) (используемые методы: U–критерий Манна–Уитни, критерий Краскела–Уоллиса, F–критерий Уэлча).

3.4.4 Анализ концентрации церулоплазмينا с показателями послеродового периода

Среди пациентов исследуемой выборки, которым выполнено определение концентрации церулоплазмينا в послеродовом периоде (n=27), проведен анализ показателей клинического анализа крови с лейкоцитарной формулой и СРБ на 3 сутки после родоразрешения, что представлено в таблице 20.

Таблица 20 – Анализ лабораторных показателей в послеродовом периоде в исследуемых группах

Показатели	Категории	Группа исследования			p-value
		М ± SD / Me	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	n	
Гемоглобин	контрольная	115	103 – 128	20	0,322
	умеренная преэклампсия	113	104 – 122	18	
	тяжелая преэклампсия	105	85 – 116	9	
Тромбоциты	контрольная	214	193 – 231	20	0,050
	умеренная преэклампсия	265	241 – 292	18	
	тяжелая преэклампсия	262	150 – 294	9	
Лейкоциты	контрольная ¹	10	8 – 11	20	0,030* p ₃₋₁ = 0,036 p ₃₋₂ = 0,040
	умеренная преэклампсия ²	10	8 – 11	18	
	тяжелая преэклампсия ³	7	6 – 8	9	
Лимфоциты	контрольная	25	20 – 30	20	0,849
	умеренная преэклампсия	25	19 – 26	18	
	тяжелая преэклампсия	26	14 – 28	9	
Моноциты	контрольная ¹	6	6 – 7	20	0,035* p ₃₋₂ = 0,029
	умеренная преэклампсия ²	8	6 – 9	18	
	тяжелая преэклампсия ³	5	4 – 6	9	

Продолжение таблицы 20

Показатели	Категории	Группа исследования			p-value
		М ± SD / Me	95% ДИ / Q ₁ – Q ₃	n	
Нейтрофилы	контрольная	64	60 – 71	20	0,661
	умеренная преэклампсия	66	63 – 69	18	
	тяжелая преэклампсия	59	43 – 69	9	
СРБ	контрольная	41 ± 32	39 – 121	3	0,974
	умеренная преэклампсия	38 ± 27	5 – 71	5	
	тяжелая преэклампсия	36 ± 10	12 – 61	3	

Примечание: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

Достоверные отличия получены для таких показателей как уровень лейкоцитов и уровень моноцитов, ($p=0,030$, $p=0,035$ соответственно) (используемые методы: критерий Краскела–Уоллиса).

По результатам выполнения корреляционного анализа взаимосвязи концентрации церулоплазмينا в послеродовой период и лабораторных показателей в послеродовом периоде статистически значимой связи не получено (используемые методы: коэффициент корреляции Пирсона при нормальном распределении сопоставляемых показателей; коэффициент корреляции ρ Спирмена при распределении отличном от нормального), что представлено в таблице 21.

Таблица 21 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязи концентрации церулоплазмينا в послеродовой период и лабораторных показателей в послеродовом периоде

Показатели	Характеристика корреляционной связи		
	r_{xy} / ρ	Теснота связи по шкале Чеддока	p-value
Концентрация церулоплазмينا в послеродовой период – Уровень гемоглобина (r_{xy})	-0,026	Нет связи	0,896
Концентрация церулоплазмينا в послеродовой период – уровень тромбоцитов (ρ)	0,133	Слабая	0,510
Концентрация церулоплазмينا в послеродовой период – Уровень лейкоцитов (ρ)	0,032	Нет связи	0,875
Концентрация церулоплазмينا в послеродовой период – лимфоциты (r_{xy})	-0,152	Слабая	0,450
Концентрация церулоплазмينا в послеродовой период – моноциты (r_{xy})	-0,159	Слабая	0,429
Концентрация церулоплазмينا в послеродовой период – нейтрофилы (ρ)	0,230	Слабая	0,248
Концентрация церулоплазмينا в послеродовой период – СРБ (ρ)	-0,469	Умеренная	0,203

При оценке связи СРБ и концентрации церулоплазмينا в послеродовой период была установлена умеренной тесноты обратная связь.

Наблюдаемая зависимость показателей описывается уравнением парной линейной регрессии:

$$Y_{\text{СРБ}} = -0,319 \times X_{\text{концентрация церулоплазмина в послеродовый период}} + 82,306$$

При увеличении концентрации церулоплазмина в послеродовый период на 1 мг% следует ожидать уменьшение показателя СРБ на 0,319. Полученная модель объясняет 19,2% наблюдаемой дисперсии показателя СРБ.

При проведении корреляционного анализа таких показателей как длительность нахождения в реанимации во время беременности и после родов, сутки выписки и концентрации церулоплазмина при беременности и в послеродовый период, взаимосвязь отсутствовала.

Таким образом, концентрация церулоплазмина статистически значимо различалась в группах исследования, а именно между основной группой, ПЭ умеренной и тяжелой степени, и контрольной. Достоверных отличий между уровнями церулоплазмина при наблюдении в динамике от периода беременности к 3 суткам после родоразрешения не выявлено. Корреляции между показателями клинической картины ПЭ, параметрами клинического анализа крови в послеродовом периоде и уровнем церулоплазмина не установлено.

3.5 Оценка коэффициента церулоплазмин / растворимый эндоглин в группах исследования

После проведения пересчета концентрации церулоплазмина в нг/мл мы рассчитали коэффициент соотношения:

$$\text{коэффициент} = [\text{церулоплазмин}], \text{ нг/мл} : [\text{sEng в сыворотке крови}], \text{ нг/мл.}$$

Результаты расчета и анализа указанного коэффициента соотношения в исследуемых группах указаны в таблице 22.

Таблица 22 – Анализ динамики коэффициента церулоплазмин / растворимый эндоглин в группах исследования

Группа исследования	Этапы наблюдения				p-value
	Коэффициент при беременности		Коэффициент после родов		
	M ± SD	95% ДИ	M ± SD	95% ДИ	
контрольная ¹	1523 ± 278 (n=11)	1336 – 1710	2276 ± 727 (n=11)	1787 – 2764	0,001*
умеренная преэклампсия ²	1603 ± 830 (n=12)	1076 – 2131	2716 ± 973 (n=12)	2098 – 3335	<0,001*
тяжелая преэклампсия ³	559 ± 39 (n=3)	462 – 657	1628 ± 740 (n=3)	-210 – 3466	0,121
p-value	0,039* p ₃₋₂ = 0,034		0,138		–

Примечание: * - различия показателей статистически значимы (p<0,05).

По результатам анализа выявлены статистически значимые различия между группами коэффициента при беременности (p=0,039), в том числе при попарном сравнении установлены достоверные отличия между группами тяжелой и умеренной ПЭ (используемый метод: F–критерий Фишера). Полученные результаты демонстрируют важную диагностическую значимость данного коэффициента в дифференциальной диагностике степени тяжести ПЭ.

С использованием парного t–критерия Стьюдента выявлены статистически значимые изменения (p=0,001) в контрольной группе и группе умеренной преэклампсии (p<0,001), что представлено на рисунке 25. В то время как в группе тяжелой преэклампсии не удалось установить статистически значимых изменений (p=0,121), что объясняется более тяжелым характером органного и сосудистого повреждения у данных пациентов.

При расчете коэффициента в послеродовом периоде достоверных различий между исследуемыми группами выявить не удалось ($p=0,138$) (используемый метод: F–критерий Фишера).

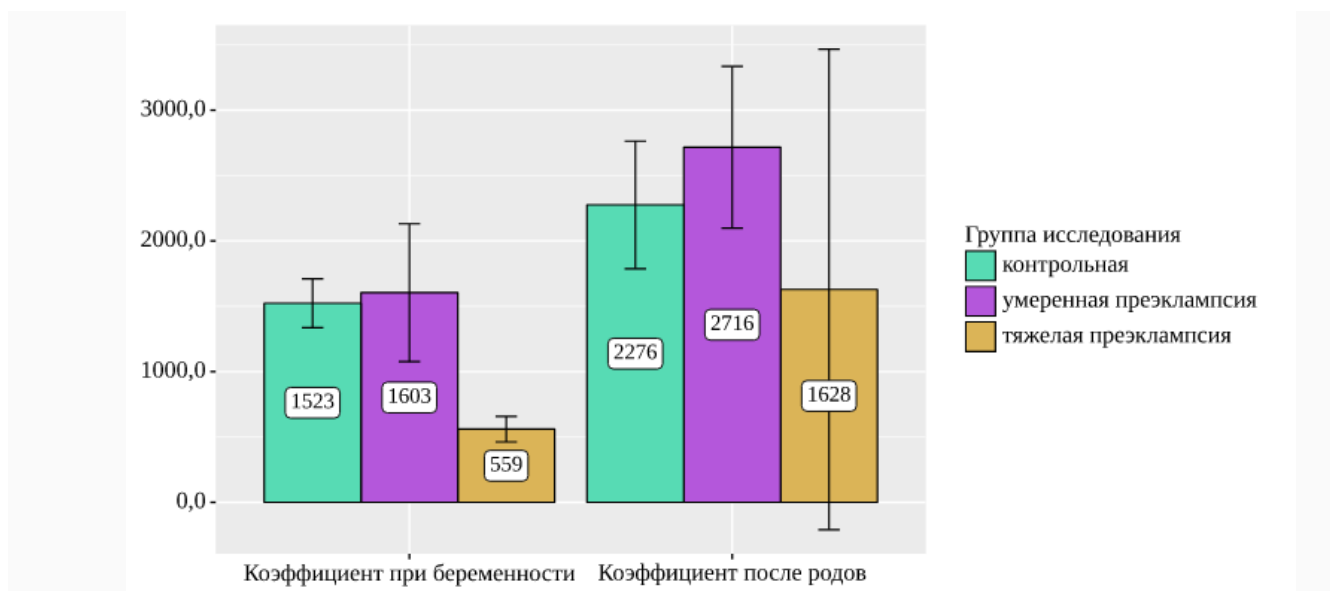


Рисунок 25 – Анализ динамики коэффициент церулоплазмин / растворимый эндоглин в группах исследования

3.6 Анализ эталонных факторов – sFlt-1 и PlGF

3.6.1 Оценка концентрации антиангиогенного фактора – растворимой тирозинкиназы-1 (sFlt-1)

В образцах от исследуемых групп проведен анализ sFlt-1 в сыворотке крови в период беременности, результат представлен в таблице 23.

Таблица 23 – Анализ sFlt-1 в группах исследования

Показатель	Категории	sFlt-1 (пг/мл)			p-value
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
Группа исследования	контрольная ¹	2024	1844 – 2349	40	< 0,001* p ₂₋₁ < 0,001 p ₃₋₁ < 0,001 p ₃₋₂ = 0,033
	умеренная преэклампсия ²	8016	3797 – 14805	38	
	тяжелая преэклампсия ³	12480	7810 – 17752	45	

Примечание: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

По результатам проведенного анализа концентрация sFlt-1 в исследуемых группах существенно различалась ($p < 0,001$) (используемый метод: критерий Краскела–Уоллиса), что объяснялось достоверно более высоким значением медианы в группе тяжелой и умеренной преэклампсии по сравнению друг с другом и контрольной группой (рисунок 26).

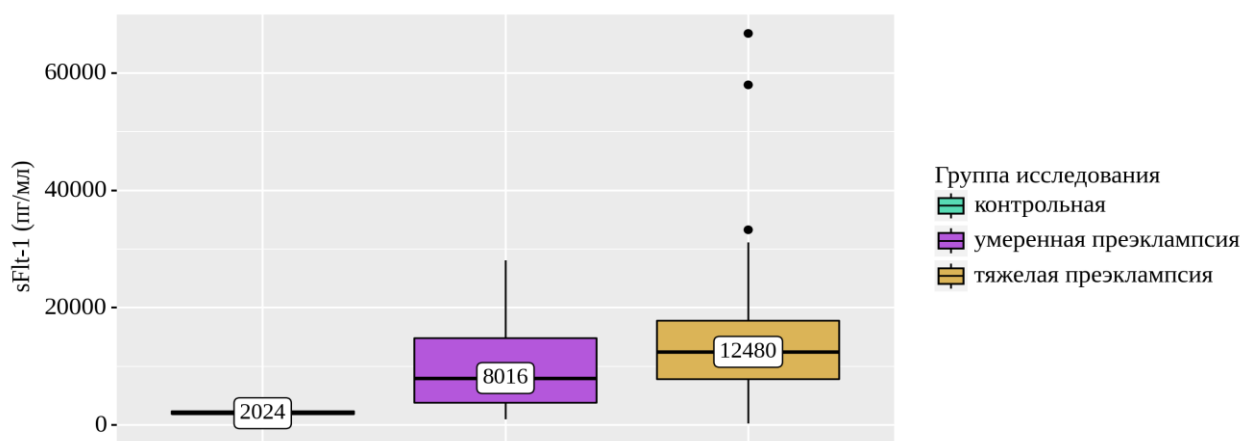


Рисунок 26 – Медианы концентрации sFlt-1 в группах исследования

При оценке зависимости вероятности тяжелой преэклампсии от показателя sFlt-1 с помощью ROC-анализа была получена следующая кривая (рисунок 27).

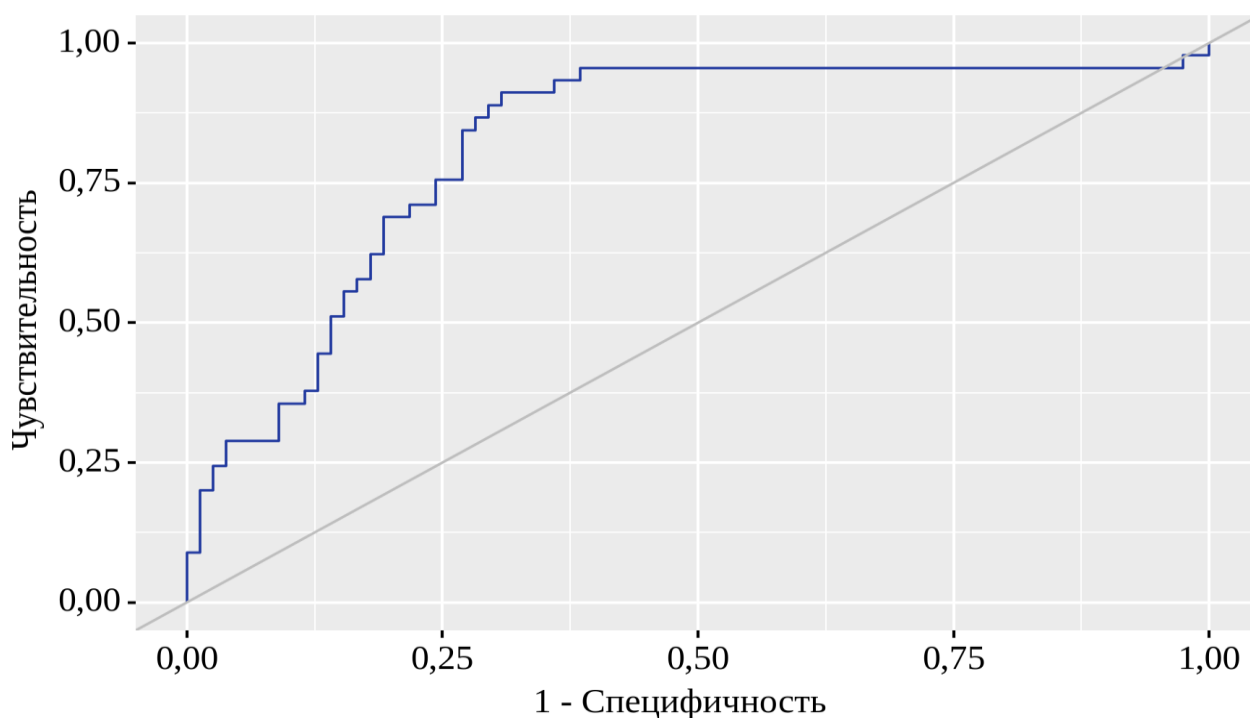


Рисунок 27 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности тяжелой преэклампсии от показателя sFlt-1

Площадь под ROC-кривой составила $0,818 \pm 0,042$ с 95% ДИ: 0,735 – 0,901. Полученная модель была статистически значимой ($p < 0,001$). Пороговое значение sFlt-1 составило 7810,0 пг/мл, при котором тяжелая преэклампсия прогнозировалось выше данной величины или равном ему. Чувствительность и специфичность модели составили по 75,6%.

При анализе sFlt-1 в зависимости от умеренной преэклампсии, не удалось выявить статистически значимых различий ($p = 0,092$) (используемый метод: U-критерий Манна–Уитни). Площадь под ROC-кривой составила $0,595 \pm 0,057$ с 95% ДИ: 0,484 – 0,706. Полученная модель не была статистически значимой ($p = 0,092$).

По результатам проведения корреляционного анализа с применением коэффициента корреляции ρ Спирмена установлены статистически значимые прямые корреляционные связи sFlt-1 с длительностью лечения пациенток в реанимации при беременности ($\rho = 0,363$; $p = 0,021$) и после родов ($\rho = 0,438$; $p = 0,005$). Выявленные связи имели умеренную тесноту по шкале Чеддока.

3.6.2 Оценка плацентарного фактора – PIGF

По результатам проведения анализа показателя PIGF в зависимости от исследуемой группы получены достоверные отличия ($p < 0,001$) (используемый метод: критерий Краскела–Уоллиса), представленные в таблице 24.

Таблица 24 – Анализ концентрации PIGF в зависимости от группы исследования

Показатель	Категории	PIGF (пг/мл)			p-value
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
Группа исследования	контрольная ¹	823,30	712,93 – 1308,75	40	< 0,001* p ₂₋₁ < 0,001 p ₃₋₁ < 0,001 p ₃₋₂ = 0,002
	умеренная преэклампсия ²	103,11	57,98 – 174,62	38	
	тяжелая преэклампсия ³	39,37	22,45 – 52,34	45	

Примечание: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

Медиана показателя PIGF статистически значимо выше в контрольной группе по сравнению с группами умеренной и тяжелой преэклампсии, что отображено графически на рисунке 28.

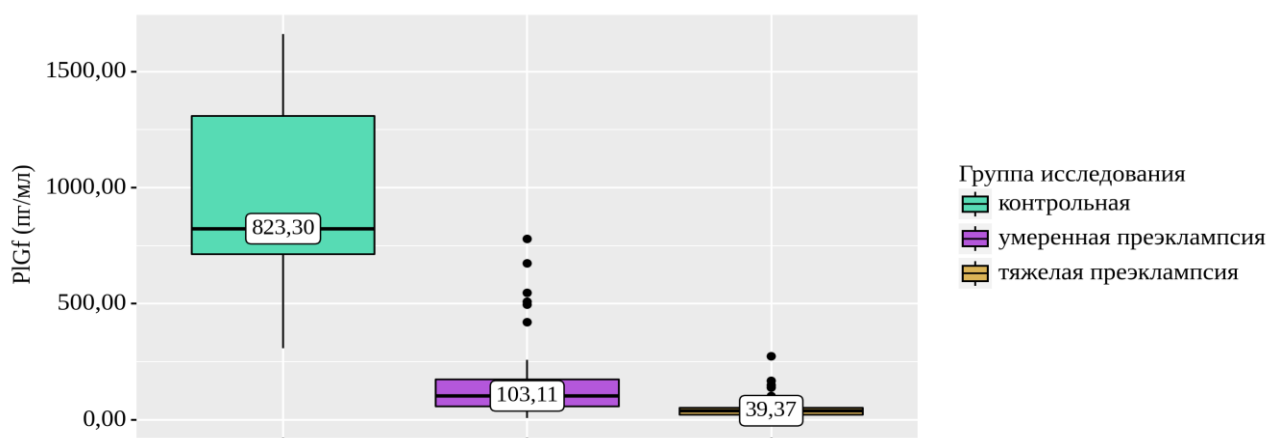


Рисунок 28 – Медианы концентрации PIGF в исследуемых группах

При оценке зависимости вероятности тяжелой преэклампсии от показателя PIGF с помощью ROC-анализа была получена следующая кривая (рисунок 29).

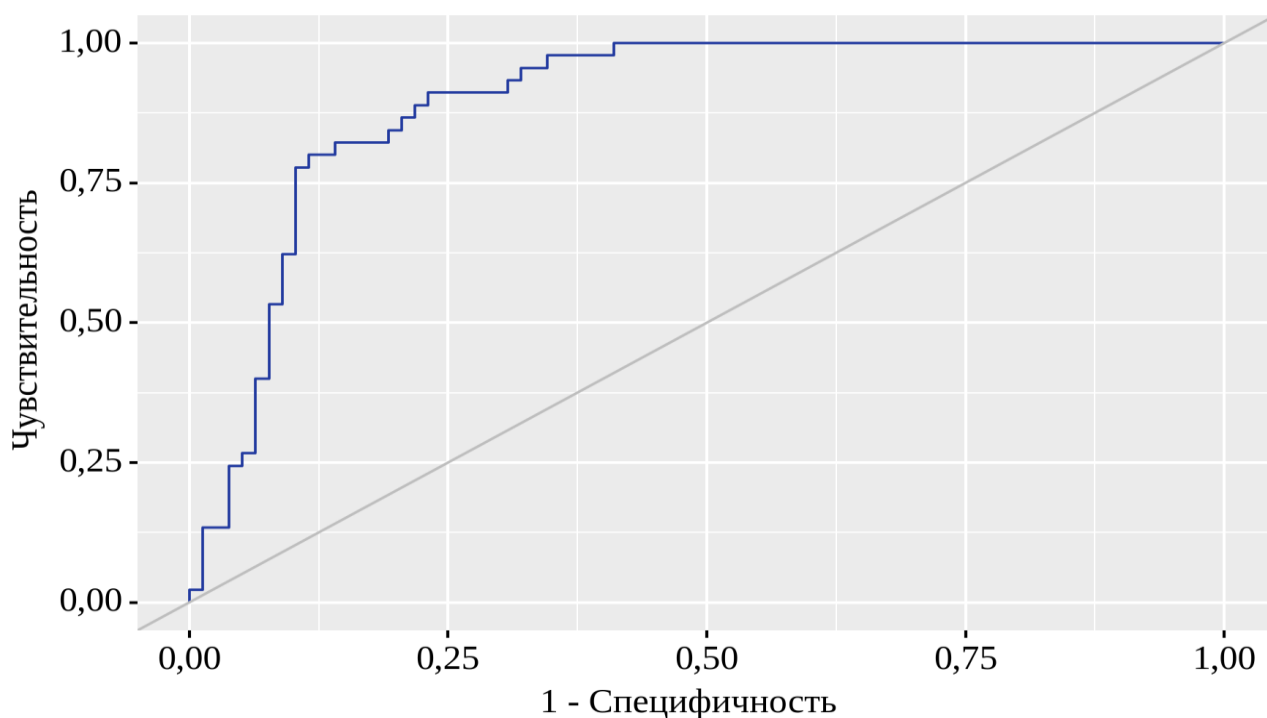


Рисунок 29 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности тяжелой преэклампсии от концентрации PIGF

Площадь под ROC-кривой составила $0,895 \pm 0,028$ с 95% ДИ: 0,840 – 0,950. Полученная модель была статистически значимой ($p < 0,001$).

Пороговое значение показателя PIGF составило 61,63 пг/мл, когда тяжелая преэклампсия прогнозировалось при значении ниже данной величины. Чувствительность и специфичность модели составили 82,2% и 80,8%, соответственно.

ROC-анализ вероятности умеренной преэклампсии от значения PIGF, статистически значимых различий не установил ($p = 0,175$) (используемый метод: U-критерий Манна–Уитни).

С помощью корреляционного анализа с применением коэффициента корреляции ρ Спирмена установлены статистически значимые обратные корреляционные связи PIGF с длительностью лечения пациенток в реанимации при беременности ($\rho = -0,382$; $p = 0,015$) и после родов ($\rho = -0,554$; $p < 0,001$), умеренной и заметной тесноты, соответственно, по шкале Чеддока.

Таким образом, концентрация sFlt-1 статистически значимо выше в подгруппе с тяжёлой ПЭ в сравнении как с умеренной ПЭ, так и с контролем. Уровень PlGF достоверно выше в группе физиологической беременности, чем в основной, с ПЭ, что объясняется отсутствием нарушений в процессе плацентации и данной группы пациенток. Установлены значимые корреляционные связи концентрации sFlt-1 (прямая) и PlGF (обратная) с длительностью лечения пациенток с ПЭ в реанимации при беременности и в послеродовом периоде.

Материалы данного раздела отражены в научных статьях:

Васильева, М.Ю. Прогностическая ценность анти- и проангиогенных факторов при тяжелой преэклампсии / М.Ю. Васильева, И.В. Смирнов, В.В. Ишкараева, [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. 2023. Т. 72. № 2. С. 5–17. DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD159396>.

3.7 Оценка концентрации растворимого эндоглина, церулоплазмина, sFlt-1 и PlGF в группах с преэклампсией.

Среди пациенток с преэклампсией умеренной и тяжелой степени проведен анализ лабораторных показателей в зависимости от гипертензионного анамнеза (таблица 25).

Таблица 25 – Анализ лабораторных показателей в группах с преэклампсией в зависимости от гипертензионного анамнеза

Показатель		Группа исследования				p-value
		умеренная ПЭ ¹	тяжелая ПЭ ²	умеренная ПЭ ¹	тяжелая ПЭ ²	
		без гипертензионного анамнеза		на фоне ХАГ		
sEng сыворотки крови при беременности	Me [IQR]	1004,9 [564,1; 1813,3]	1374,9 [807,8; 1929,0]	755,5 [585,1; 1370,3]	1918,3 [1369,5; 2584,2]	p ₁ =0,474 p ₂ =0,162
	p-value	0,378		0,001*		
sEng сыворотки крови в послеродовый период	Me [IQR]	490,25 [305,5; 1011,0]	680,7 [520,5; 1182,1]	447,7 [374,9; 634,4]	1059,2 [706,6; 1187,3]	p ₁ =0,740 p ₂ =0,262
	p-value	0,310		0,003*		
sEng мочи при беременности	Me [IQR]	15,2 [7,5; 56,2]	92,6 [40,4; 294,1]	25,4 [17,5; 36,4]	41,2 [16,9; 91,3]	p ₁ =0,776 p ₂ =0,283
	p-value	0,200		0,462		
sEng мочи в послеродовый период	Me [IQR]	5,6 [3,8; 27,6]	19,6 [5,5; 33,4]	8,1 [7,6; 8,6]	9,7 [7,5; 28,0]	p ₁ =0,622 p ₂ =0,910
	p-value	0,382		0,442		
Церулоплазмин при беременности	Me [IQR]	115,6 [96,2; 128,1]	- (n=0)	127,4 [106,9; 143,5]	129,1 [109,0; 153,3]	p ₁ =0,370
	p-value	-		0,931		
Коэффициент церулоплазмин / sEng при беременности	Me [IQR]	1371,1 [713,2; 1984,4]	- (n=0)	2270,5 [1185,5; 2426,5]	604,7 [566,6; 970,4]	p ₁ =0,178
	p-value	-		0,054		
Церулоплазмин в послеродовый период	Me [IQR]	115,8 [112,6; 118,6]	- (n=0)	115,3 [105,5; 132,6]	134,1 [97,9; 168,4]	p ₁ =0,755
	p-value	-		0,648		
Коэффициент церулоплазмин / sEng в послеродовый период	Me [IQR]	2289,1 [1459,9; 2435,1]	- (n=0)	2938,9 [2562,1; 3333,4]	1549,0 [1240,0; 1976,5]	p ₁ =0,167
	p-value	-		0,030*		

Продолжение таблицы 25

Показатель		Группа исследования				p-value
		умеренная ПЭ ¹	тяжелая ПЭ ²	умеренная ПЭ ¹	тяжелая ПЭ ²	
		без гипертензионного анамнеза		на фоне ХАГ		
sFlt-1	Me [IQR]	7509,0 [4158,0; 13807,0]	12593,0 [9613,0; 16975,5]	8426,0 [3569,0; 15138,0]	11619,5 [7420,0; 18960,0]	p ₁ =0,988 p ₂ =0,836
	p-value	0,039*		0,101		
PlGF	Me [IQR]	127,5 [65,7; 176,3]	39,4 [30,7; 64,2]	81,0 [45,2; 142,3]	39,2 [16,0; 52,3]	p ₁ =0,294 p ₂ =0,646
	p-value	<0,001*		0,008*		
sFlt-1 / PlGF	Me [IQR]	67,5 [18,9; 158,8]	369,9 [161,0; 558,1]	99,6 [20,2; 266,5]	378,7 [156,4; 1010,9]	p ₁ =0,416 p ₂ =0,679
	p-value	<0,001*		0,011*		

Примечание: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

По результатам проведенного анализа не обнаружено статистически значимой разницы как для группы умеренной преэклампсии, так и тяжелой, в зависимости от гипертензионного анамнеза ($p > 0,05$).

В случае развития преэклампсии у беременных без гипертензионного анамнеза, получены достоверные отличия концентрации sFlt-1, PlGF, и их соотношения sFlt-1/PlGF в зависимости от степени тяжести преэклампсии ($p = 0,039$, $p < 0,001$ и $p < 0,001$, соответственно), (используемый метод: U-критерий Манна-Уитни). Среди пациенток, у которых преэклампсия развилась на фоне хронической артериальной гипертензии, выявлены статистически значимые отличия в зависимости от степени тяжести преэклампсии для следующих показателей – sEng в сыворотке крови при беременности и в послеродовой период, PlGF, соотношение sFlt-1/PlGF, коэффициент церулоплазмин/ sEng ($p = 0,001$, $p = 0,003$, $p = 0,008$, $p = 0,011$ и $p = 0,030$, соответственно), (используемый метод: U-критерий Манна-Уитни). Полученные достоверные результаты представлены на рисунке 30.

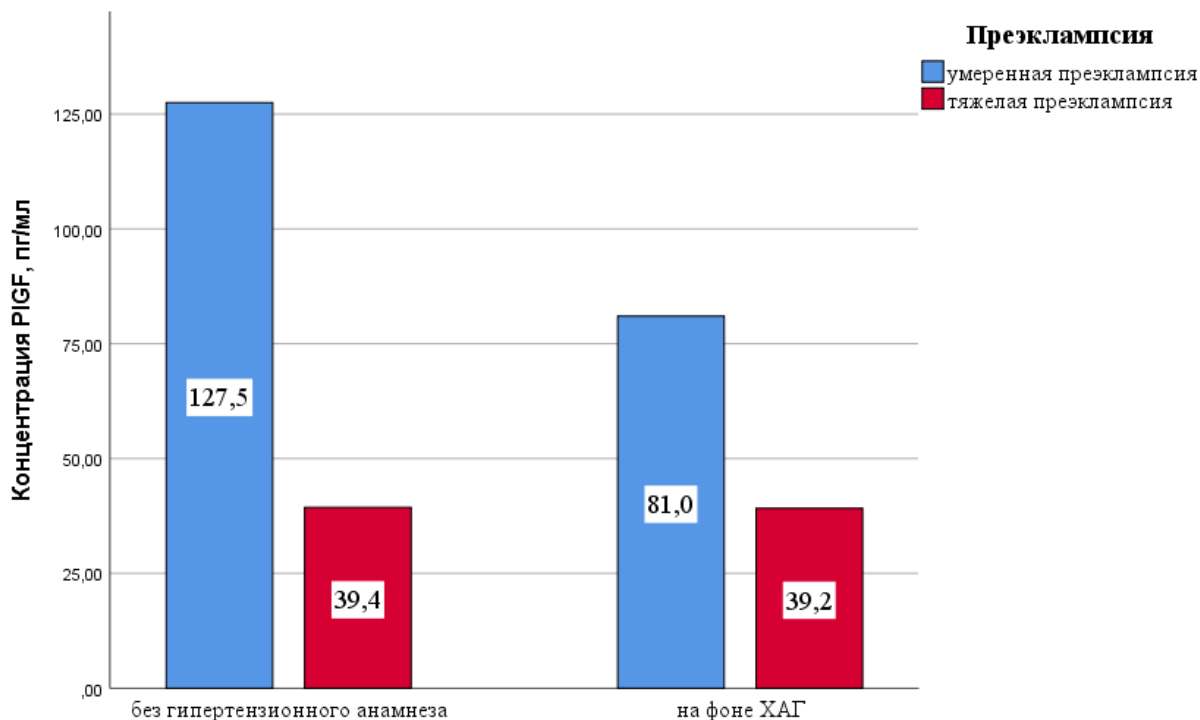


Рисунок 30 – Медианы концентрации PlGF в группах с преэклампсией в зависимости от гипертензионного анамнеза

Выполнен ROC-анализ вероятности развития тяжелой ПЭ у беременных с разным статусом гипертензионного анамнеза. Пороговое значение соотношения sFlt-1 / PlGF при равном и выше которого прогнозировалась «чистая» ПЭ тяжелой степени – 159,6, с чувствительностью 76,2%, специфичностью 78,9% (AUC $0,815 \pm 0,071$ 95% ДИ: 0,676-0,953). При значении коэффициента церулоплазмин / sEng после родов 2100 и более прогнозировалась тяжелая ПЭ в подгруппе с ХАГ с чувствительностью 66,7%, специфичностью 85,7% (AUC $0,952 \pm 0,069$ 95% ДИ: 0,817-1,0).

Таким образом, выявлены достоверные отличия концентрации sEng при беременности и в послеродовом периоде в подгруппе ПЭ, развившейся на фоне ХАГ между умеренной и тяжелой степенью ПЭ. Коэффициент церулоплазмин / sEng статистически значимо отличался при сравнении подгрупп умеренной и тяжелой ПЭ, развившейся на фоне ХАГ, что позволило рассчитать пороговое значение данного коэффициента для прогнозирования тяжелой степени заболевания. Показатели sFlt-1, PlGF и их соотношение достоверно отличались как в подгруппе «чистой» ПЭ, так и на фоне ХАГ в зависимости от степени тяжести,

однако значимых различий между показателями при ПЭ обеих степеней в зависимости от гипертензионного анамнеза не было.

3.8 Динамика лабораторных показателей на фоне проведения стандартной терапии преэклампсии и с добавлением Омега-3-полиненасыщенных жирных кислот

Проведен анализ стандартной профилактики и терапии, получаемой беременными из группы умеренной и тяжелой преэклампсии (таблица 26).

Таблица 26 – Анализ проводимой медикаментозной терапии в зависимости от степени тяжести преэклампсии

Показатели	Категории	Преэклампсия		p-value
		умеренная преэклампсия	тяжелая преэклампсия	
Профилактика преэклампсии	не проводилась	41 (100,0)	42 (89,4)	0,058
	препарат АСК	0 (0,0)	5 (10,6)	
Терапия	без АГТ	1 (2,4)	0 (0,0)	0,466
	получение АГТ	40 (97,6)	47 (100,0)	
Альфа-адреномиметик	не назначен	1 (2,5)	2 (4,3)	1,000
	препарат метилдопа	39 (97,5)	45 (95,7)	
Блокатор кальциевых каналов	не назначен	29 (72,5)	13 (27,7)	< 0,001*
	блокатор кальциевых каналов	11 (27,5)	34 (72,3)	
Бета-блокатор	не назначен	37 (92,5)	41 (87,2)	0,498
	прием бета-блокатора	3 (7,5)	6 (12,8)	
Альфа-2-адреномиметик	не назначен	40 (100,0)	44 (93,6)	0,246
	прием клонидина	0 (0,0)	3 (6,4)	

Примечание: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

По результатам проведенного анализа беременные из группы тяжелой преэклампсии получали лечение блокаторами кальциевых каналов достоверно чаще ($p < 0,001$), чем пациентки с умеренной преэклампсией (используемый метод: Хи-квадрат Пирсона).

Помимо стандартной терапии, назначенной согласно клиническим рекомендациям МЗ РФ по ведению пациентов с преэклампсией, группа беременных ($n=26$), получала в дополнение Омега-3-ПНЖК по одной капсуле один раз в сутки. До этапа с динамическим наблюдением изменяемости параметров через 14 суток от начала приема препаратов дошли - 7 беременных (26,9%), получавших Омега-3-ПНЖК (среди них 4 беременные с преэклампсией умеренной степени тяжести, 3 беременные – с тяжелой преэклампсией); 12 беременных, получавших только стандартную терапию.

Средний возраст в группе беременных с преэклампсией, получающих Омега-3-ПНЖК составил 31 [26;38] год. Срок беременности, при котором пациентки начинали получать вышеуказанный препарат 34 [31;35] недели. Длительность терапии среди беременных с умеренной преэклампсией составила 21 [14;23] сутки, с тяжелой – 7 [3;14] суток.

С целью оценки динамики ряда показателей (sEng сыворотки крови, уровень тромбоцитов, лейкоцитов, моноцитов в клиническом анализе крови, СРБ) на фоне проведения стандартной терапии и с добавлением Омега-3-ПНЖК проводился забор и исследование сыворотки крови поэтапно: 1 этап – при включении беременной в исследование и старте терапии, 2 этап – через 14 суток после начала терапии. Анализ динамики исследуемых лабораторных показателей представлен в таблице 27.

Таблица 27 – Анализ динамики лабораторных показателей на фоне проведения стандартной терапии и с добавлением препарата Омега-3-ПНЖК

Уровень лабораторного показателя		Терапия				p-value
		стандартная		с добавлением Омега-3-ПНЖК		
		Этапы исследования				
		1 (n=20)	2 (n=12)	1 (n=26)	2 (n=7)	
[sEng] сыворотки крови, нг/мл	Me [IQR]	788,2 [652,4; 1583,1]	643,1 [498,9; 1231,4]	761,4 [628,1; 1322,4]	728,1 [537,2; 1206,5]	p ₁ =0,866 p ₂ =0,763
	p-value	0,805		0,786		
Тромбоциты, 10*9/л	Me [IQR]	244 [176; 285]	235 [166; 249]	238 [182; 256]	221 [181; 239]	p ₁ =0,988 p ₂ =0,784
	p-value	0,856		0,763		
Лейкоциты, 10*9/л	Me [IQR]	10 [8; 14]	11 [7;12]	11 [9; 12]	10 [9; 10]	p ₁ =0,988 p ₂ =0,784
	p-value	0,211		0,639		
Моноциты	Me [IQR]	6 [4; 8]	5 [4;7]	5 [4; 7]	5 [5;8]	p ₁ =0,872 p ₂ =0,544
	p-value	0,375		0,873		
СРБ	Me [IQR]	3 [2;18]	3 [2;16]	4 [2; 17]	3 [2; 20]	p ₁ =0,899 p ₂ =0,752
	p-value	0,453		0,769		

Примечание: * - различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

По результатам проведенного анализа не получены статистически значимые различия при сравнении концентрации sEng сыворотки крови на разных этапах исследования, как при назначении стандартной терапии, так и при добавлении препарата Омега-3-ПНЖК ($p=0,866$ и $p=0,763$, соответственно 1 и 2 этапам исследования) (используемый метод: U-критерий Манна-Уитни). Сравнение показателей между 1 и 2 этапом (т.е. через 14 суток после начала терапии) как при назначении стандартной терапии, так и с добавлением омега-3-ПНЖК достоверных отличий не продемонстрировало ($p=0,805$ и $p=0,786$ соответственно вариантам лечения) (используемый метод: U-критерий Манна-Уитни). При сравнении остальных лабораторных показателей – уровня тромбоцитов, лейкоцитов моноцитов, СРБ, - как в зависимости от этапов лечения, так и в зависимости от принимаемой терапии статистически значимых отличий не выявлено ($p > 0,05$).

Таким образом, при сравнении изученных показателей по этапам исследования в зависимости от получения беременной стандартной или терапии с добавлением Омега-3-ПНЖК статистически значимых отличий не получено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование посвящено проблеме патогенеза преэклампсии и возможностям применения ряда про- и антиангиогенных факторов в прогнозировании течения заболевания. Проведена оценка растворимого эндоглина, церулоплазмينا, а также эталонных факторов – sFlt-1, PlGF в образцах биологического материала от женщин с физиологической беременностью и осложненной преэклампсией. Концентрация такого антиангиогенного показателя, как растворимый эндоглин, определена как в сыворотке крови, так и в моче. Также особенностью данной работы является изучение показателей sEng и церулоплазмينا не только при беременности, но и в послеродовом периоде. Оценка лабораторных показателей в динамике позволила дополнить представление о патогенезе преэклампсии и получить возможность ретроспективного использования новых данных при неясной диагностической ситуации и определении групп высокого риска по развитию сердечно-сосудистых заболеваний.

При проведении данной работы в исследуемой выборке пациенток преэклампсия чаще наблюдалась у беременных более старшего возраста, в том числе позднего репродуктивного возраста (35 лет и более), а также с наличием ХАГ в анамнезе. Полученные данные коррелируют с результатами вторичного анализа исследования ASPRE, выполненного L. Shen et al., когда изучались возможные факторы риска среди материнских характеристик, акушерского анамнеза, прогностических маркеров ПЭ в предполагаемой группе риска (n=1592), определенной в соответствии с алгоритмом Фонда медицины плода (FMF). В 3% случаев (n=48) несмотря на профилактику аспирином (150 мг/сутки) именно у пациенток с хронической гипертензией наблюдалось развитие преждевременной ПЭ (в сроке до 37 недель гестации) [83].

По результатам проведенного нами исследования, в подгруппе пациенток с тяжелой преэклампсией в отличие от подгруппы с умеренной преэклампсией и

группы контроля установлены более ранние сроки родоразрешения плодами более низкого веса при рождении и с более низкими баллами по Апгар, что связано с нарастанием тяжести заболевания, приводившим к необходимости досрочного родоразрешения, чаще в экстренном порядке путем операции кесарево сечение. Аналогичные данные приводятся в результатах вторичного анализа исследования PHOENIX, когда по сравнению с выжидательной тактикой плановые роды ассоциировались с более высокими показателями госпитализации новорожденных по поводу недоношенности (но меньшей долей маловесных для гестационного возраста новорожденных), а продолжительность пребывания в неонатальном отделении и неонатальная заболеваемость (включая респираторную поддержку) были одинаковыми в обеих группах вмешательства во всех гестационных сроках [84].

Изучение факторов, связанных с ангиогенезом, в том числе sEng, sFlt-1 и PlGF, вносит значимый вклад в понимание роли плацентарной дисфункции в ряде перинатальных патологий, включая преэклампсию. В проведенном исследовании приняли участие 130 беременных, преимущественно в 3 триместре беременности, что позволило изучить про- и антиангиогенные факторы при уже развившейся преэклампсии с позиции течения заболевания и влияния исследуемых показателей на клинические особенности ПЭ и её исходы. Такой подход существенно отличается, от других работ по оценке данных лабораторных показателей, как прогностических, что было продемонстрировано в ряде других работ [85], в том числе в исследовании Meron M. Kifle et al. по оценке моделей расчета вероятности развития ПЭ в последующие 7 дней по результатам sFlt-1, PlGF и их соотношения [86] и в работе Kate E. Duhig et al по применению в реальной клинической практике оценки уровня PlGF и последующему сокращению срока постановки диагноза ПЭ [87].

Установлены достоверно более высокие концентрации sFlt-1 в подгруппе с тяжёлой ПЭ в сравнении как с умеренной ПЭ, так и с контролем; и PlGF обратно, то есть выше в группе физиологической беременности, чем в основной, что объясняется отсутствием нарушений в процессе плацентации у данной группы

пациенток. Установлены значимые корреляционные связи концентрации sFlt-1 (прямая) и PlGF (обратная) с длительностью лечения пациенток с ПЭ в реанимации при беременности и в послеродовом периоде. В то время как в большинстве исследований многократно подтверждается прогностическая значимость эталонных sFlt-1, PlGF и их соотношения [88], а также демонстрируется экономическая перспективность применения в клинической практике [89–91], возможности применения данных лабораторных факторов в оценивании течения ПЭ и вероятных исходов, изучаются недостаточно.

По результатам настоящего исследования концентрация sEng, определенная в сыворотке крови и моче была достоверно выше у беременных с тяжёлой преэклампсией. Анализ показателей клинической картины и уровня sEng продемонстрировал достоверность сравнения с уровнем АД (систолического и диастолического), протеинурией (как разовой, так и суточной), степенью выраженности отёков. Аналогично в работе A. Leanos-Mirande et al. установлена положительная корреляция sEng с артериальным давлением, протеинурией и уровнями креатинина, мочевой кислоты, аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы и лактатдегидрогеназы и обратно пропорциональная корреляция с гестационным возрастом и массой тела при рождении [92].

В ходе данной работы, проведенной с применением новой системы ИФА для определения концентрации sEng, установлена статистически значимая разница уровня sEng в сыворотке крови в зависимости от срока манифестации ПЭ и определено пороговое значение концентрации sEng в сыворотке крови (830,1 нг/мл) при достижении и превышении которого прогнозировалась ранняя ПЭ с чувствительностью 75,6% и специфичностью 66%. В исследовании M. Lubis et al. не было продемонстрировано возможностей sEng в прогнозировании частоты ранней преэклампсии [93], что показывает противоположность работы L. Zhang et al., по результатам которых sEng в сыворотке крови был значительно повышен при преэклампсии с учетом степени тяжести заболевания [94].

В проведенной нами работе в основной группе среди показателей УЗ-исследований выявлены значимые отличия уровня sEng в биологических

жидкостях при ранней ЗРП (до 32 недель) и при нарушениях плодово-плацентарного кровотока 2 степени, что позволяет предположить возможность использования концентрации sEng в сыворотке крови в комбинации с УЗ-показателям как маркеров развития ПЭ, что было продемонстрировано в работах С. Perez et al. и X. Sun et al. [95,96].

В ходе динамической оценки на этапах наблюдения беременность – послеродовой период во всех исследуемых группах выявлено снижение концентрации sEng в биологических жидкостях, что можно объяснить завершением гестации и удалением из организма матери плаценты, как одного из источников синтеза растворимого эндоглина. В работе Капустина Р.В. и соавторов по оценке уровня экспрессии в том числе эндоглина (Eng), самый высокий уровень плацентарной экспрессии Eng наблюдался именно в группе ПЭ [34].

При проведении исследования оценивалась концентрация церулоплазмينا в изучаемой выборке и установлены статистически значимые различия между основной группой, ПЭ умеренной и тяжелой степени, и контрольной. Также в работе S. Sak et al. были изучены концентрации меди и церулоплазмينا в материнской сыворотке у пациенток с преэклампсией умеренной и тяжелой степени и HELLP-синдромом, с целью определения связи данных лабораторных показателей с тяжестью заболевания. По результатам исследования были выявлены значимые взаимосвязи между уровнями меди и церулоплазмينا, которые являются маркерами окислительного стресса, и тяжестью преэклампсии [97].

Достоверных отличий между уровнями церулоплазмينا при наблюдении в динамике от периода беременности к 3 суткам после родоразрешения не выявлено, также, как и корреляции между уровнем церулоплазмينا и показателями клинической картины ПЭ, параметрами клинического анализа крови в послеродовом периоде. Однако при расчёте коэффициента церулоплазмин / растворимый эндоглин, определенных при беременности, установлены статистически значимые отличия в зависимости от подгруппы исследования, между умеренной и тяжелой степенями ПЭ. Наблюдалось динамическое увеличение коэффициента после родоразрешения в контрольной группе и у

пациенток с умеренной ПЭ, что может указывать на более быстрое восстановление ангиогенного дисбаланса в русле циркуляции у данных пациенток, в отличие от женщин, перенесших ПЭ тяжелой степени.

При оценке концентрации sEng во время беременности и в послеродовом периоде выявлены достоверные отличия между подгруппами ПЭ умеренной и тяжелой степени, развившейся на фоне ХАГ. Показатели sFlt-1, PlGF и их соотношение достоверно отличались как в подгруппе «чистой» ПЭ, так и на фоне ХАГ в зависимости от степени тяжести, однако значимых различий между показателями при ПЭ обеих степеней в зависимости от гипертензионного анамнеза не было. При исследовании эталонных факторов с прогностической позиции, sFlt-1, PlGF и их соотношение продемонстрировали свою диагностическую значимость и для женщин с ХАГ, у которых впоследствии может развиваться сочетанная ПЭ [98].

По результатам исследования в послеродовом периоде коэффициент церулоплазмин / sEng статистически значимо отличался при сравнении подгрупп умеренной и тяжелой ПЭ, развившейся на фоне ХАГ, что позволило рассчитать пороговое значение данного коэффициента для прогнозирования тяжелой степени заболевания. В случае неясной диагностической ситуации и необходимости экстренного родоразрешения возможно уточнение степени тяжести ПЭ в послеродовом периоде с помощью определения на 3 сутки коэффициента церулоплазмин / sEng, при значении 2100 и более с чувствительностью 66,7%, специфичностью 85,7% может быть установлен диагноз ПЭ тяжелой степени. Окончательная верификация степени тяжести ПЭ крайне важна как для последующих беременностей (профилактика препаратами АСК), так и для отнесения пациенток к группе высокого риска по развитию сердечно-сосудистых осложнений в дальнейшем. По результатам мета-анализа Wu P et al., перенесенная ПЭ связана с 4-кратным увеличением сердечной недостаточности в будущем и 2-кратным увеличением риска развития и смерти от ишемической болезни сердца, инсульта, что подчеркивает важность пожизненного кардиологического мониторинга у женщин с ПЭ в анамнезе [99]. Также согласно данным систематического обзора и мета-анализа Yan S. et al., в случае развития ПЭ при

беременности, у рожденных детей, особенно женского пола, более высокий риск развития ожирения, начиная с раннего детства и заканчивая подростковым возрастом [100].

Для проведения оценки лабораторных показателей в динамике на фоне проведения терапии в основной группе среди пациенток с преэклампсией была выделена часть беременных, которая получала в дополнение к стандартной терапии Омега-3-ПНЖК по одной капсуле один раз в сутки – 7 человек. Забор венозной крови и мочи осуществлялся в 2 этапа: при включении в исследование до начала терапии; через 14 суток после ее начала. При сравнении изученных показателей по этапам исследования в зависимости от получения беременной стандартной или терапии с добавлением Омега-3-ПНЖК статистически значимых отличий не получено. Согласно результатам мета-анализа *Vakouei F et al.*, добавка жирных кислот омега-3 считается эффективной стратегией для предотвращения случаев преэклампсии у женщин с беременностью низкого риска [101]. Также по результатам систематического обзора Кохран 2018 года, получение Омега-3-ПНЖК приводило к снижению частоты преждевременных родов < 37 недель и ранних преждевременных родов < 34 недель по сравнению с теми, кто не принимал омега-3 [25]. Однако на сегодняшний день клинических исследований по оценке влияния саплиментации Омега-3-ПНЖК при уже развившейся ПЭ крайне мало. Отсутствие статистически значимых изменений лабораторных показателей при оценке в динамике на этапах – перед началом добавления Омега-3-ПНЖК и через 14 дней после получения может быть связано с поздним назначением препарата.

ВЫВОДЫ

1. При физиологической беременности концентрация растворимого эндоглина в сыворотке крови в 2,6 раз ниже, чем при тяжелой преэклампсии. При неосложненной гестации на 3 сутки после родоразрешения уровень растворимого эндоглина снижается в 1,5 раза. При тяжелой преэклампсии сохраняется в 2 раза более высокая концентрация растворимого эндоглина в сыворотке крови по сравнению с послеродовым периодом физиологической гестации. В динамике в послеродовом периоде при умеренной преэклампсии и физиологической гестации возрастает коэффициент церулоплазмин / растворимый эндоглин в 1,7 и 1,5 раза соответственно.

2. Уровень растворимого эндоглина в сыворотке крови равный 830,1 нг/мл и выше ассоциирован с развитием клинической картины ранней преэклампсии, с чувствительностью 75,6% и специфичностью 66,0%.

3. Выявлена связь концентрации растворимого эндоглина с выраженностью симптомов преэклампсии – уровень в сыворотке более 925 нг/мл ассоциирован с развитием ранней тяжелой преэклампсии на фоне хронической артериальной гипертензии, повышением систолического артериального давления 160 и более мм рт.ст. и развитием задержки развития плода до 32 недель.

4. При «чистой» тяжелой преэклампсии соотношение sFlt-1 / PlGF в 5,5 раз выше, чем при умеренной. При преэклампсии на фоне хронической артериальной гипертензии кратность отличия sEng в сыворотке крови при умеренной и тяжелой степени заболевания составляет 2,5 раза.

5. Установлена чувствительность новой системы иммуноферментного анализа для определения концентрации растворимого эндоглина – получены пороговые значения в сыворотке крови 925,0 нг/мл с чувствительностью 76,7% и специфичностью 75,0%; в моче 20,1 нг/мл с чувствительностью 73,7%, специфичностью 76,0%, что позволяет при первых клинических проявлениях преэклампсии прогнозировать её тяжелое течение.

6. Применение Омега-3-полиненасыщенных жирных кислот в составе стандартной терапии преэклампсии в настоящем исследовании не продемонстрировало влияния на изменение изученных лабораторных показателей, концентрации растворимого эндоглина, что указывает на необходимость проведения дальнейших работ с более ранним назначением Омега-3-полиненасыщенных жирных кислот.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется определение концентрации sEng в моче с применением новой иммуноферментной системы при появлении клинических признаков преэклампсии в сроке 28-36 недель для прогнозирования течения заболевания. Уровень sEng $\geq 20,1$ нг/мл указывает на высокий риск развития тяжелой преэклампсии.

2. Рекомендуется определение sFIT-1 / PlGF у беременных без гипертензионного анамнеза с клиническими проявлениями преэклампсии на сроке 27-35 недель для прогнозирования развития ПЭ тяжелой степени. Соотношение sFIT-1 / PlGF $\geq 159,6$ ассоциировано с риском развития преэклампсии тяжелой степени.

3. В послеродовом периоде рекомендуется определение коэффициента церулоплазмин / sEng при наличии во время беременности гипертензии неясного генеза. На 3 сутки послеродового периода коэффициент церулоплазмин / sEng ≥ 2100 соответствует тяжелой преэклампсии, что требует персонификации дальнейшей тактики ведения.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Определение порогового значения sEng в моче с помощью иммуноферментного анализа закладывает основу для дальнейших исследований по разработке диагностических систем по типу тест-полосок с возможностью использования в амбулаторной практике при ведении отягощенных преэклампсией пациенток с целью прогнозирования течения заболевания и исходов беременности.

2. Диссертационное исследование заложило основу дальнейшего изучения модели прогнозирования сроков родоразрешения и определения персонифицированного подхода при развитии преэклампсии у пациенток с хронической артериальной гипертензией.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ПЭ – преэклампсия

АД – артериальное давление

АИ – амниотический индекс

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСК – ацетилсалициловая кислота

АСТ – аспартатаминотрансфераза

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии

ГСД – гестационный сахарный диабет

HELLP-синдром – hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet, свободный гемоглобин в сыворотке и моче (Hemolysis), повышение АСТ, АЛТ (Elevated Liver enzymes) и тромбоцитопения (Low Platelets)

ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты

НМГ – низкомолекулярные гепарины

ИФА – иммуноферментный анализ

СД – сахарный диабет

СДР – синдром дыхательных расстройств

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беженарь, В.Ф. Почечная дисфункция при преэклампсии: прогнозирование и дифференциальный диагноз. Часть 1 / В.Ф. Беженарь, А.В. Смирнов, Р.Р. Темирбулатов [и др.] // Доктор.Ру. - 2020. - № 19(8). - С. 23–29. - doi: 10.31550/1727-2378-2020-19-6-23-29.
2. Беженарь, В.Ф. Почечная дисфункция при преэклампсии: прогнозирование и дифференциальный диагноз. Часть 2 / В.Ф. Беженарь, А.В. Смирнов, Р.Р. Темирбулатов [и др.] // Доктор.Ру. 2020. - № 19(8). - С. 7–13. - doi: 10.31550/1727-2378-2020-19-8-7-13.
3. Васильева, М.Ю. Патогенез гестационных осложнений: роль растворимого эндоглина / М.Ю. Васильева, В.В. Ишкараева, И.Е. Зазерская // Женское здоровье и репродукция. - 2022. - №. 4 (55). - URL: <https://whfordoctors.ru/statyi/znachenie-rastvorimogo-jendoglina-v-patogeneze-gestacionnyh-oslozhnenij/>(дата обращения: 30.01.2023).
4. Громова, О.А. Роли различных форм омега-3 ПНЖК в акушерстве и неонатологии. / О.А. Громова, И.Ю. Торшин, Г.Т. Сухих [и др.] // Публикация в рамках реализации национального проекта «Здоровье». – Москва. - 2009.
5. Громова, О.А. Омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты в поддержке беременности и развития плода: вопросы дозирования / О.А. Громова, И.Ю. Торшин, Т.Р. Гришина [и др.] // Гинекология. - 2020. - Т. 22. - № 5. - С. 61–69. - doi: 10.26442/20795696.2020.5.200423.
6. Капустин, Р.В. Возможности прогнозирования и профилактики преэклампсии у беременных с сахарным диабетом / Р.В. Капустин // Журнал акушерства и женских болезней. - 2018. - Т. 67. - № 3. - С. 20–29. - doi: 10.17816/JOWD67320-29.
7. Козлов, С.О. Влияние церулоплазмينا, лактоферрина и их комплекса на функциональную активность нейтрофилов / С. О. Козлов, Н. А. Грудинина, И. В. Кудрявцев // Медицинский академический журнал. - 2016. - Т. 16 - № 4. - С. 155–156.

8. Основные показатели здоровья матери и ребенка, деятельность службы охраны детства и родовспоможения в Российской Федерации / Москва: ЦНИИОИЗ. 2018.
9. Рокотянская, Е.А. Технологии прогнозирования преэклампсии / Е.А. Рокотянская, И.А. Панова, А.И. Малышкина [и др.] // Современные технологии в медицине. - 2020. - Т. 12. - № 5. - С. 78. - doi: 10.17691/stm2020.12.5.09.
10. Смирнов, И.В. Иммунохимическое исследование гетерогенности растворимого эндоглина плазмы крови и его комплексов. / И.В. Смирнов, И.В. Грязева, М.П. Самойлович [и др.] // Медицинская иммунология. 2017. – С. 58.
11. Соколов, А.В. Структурно-функциональная характеристика комплексов церулоплазмينا с белками лейкоцитов и их роль при воспалительных процессах: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук: 03.00.04 / Соколов Алексей Викторович - СПб., 2015. - 22 с.
12. Фролова, Н.И. Возможности предикции тяжелой преэклампсии у женщин низкой степени риска / Н.И. Фролова, Т.Е. Белокриницкая, К.А. Колмакова // Фундаментальная и клиническая медицина. - 2021. - Т. 6. - № 2. - С. 51–58. - doi: 10.23946/2500-0764-2021-6-2-51-58.
13. Яковлева, Н.Ю. Изучение динамики концентраций факторов ангиогенеза на протяжении физиологической беременности / Н.Ю. Яковлева, Е.Ю. Васильева, Е.С. Шелепова [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2016. - Т. 8. - С. 49–53. - doi: 10.18565/aig.2016.8.49-53.
14. Яковлева, Н.Ю. Соотношение ангиогенных и антиангиогенного факторов при преэклампсии / Н.Ю. Яковлева, Е.И. Хазова, Е.Ю. Васильева [и др.] // Артериальная гипертензия. - 2016. – Т. 22. - № 5. - С. 488–494. – doi: 10.18705/1607-419X-2016-22-5-488-494.8.
15. Poon, L.C. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on pre-eclampsia: A pragmatic guide for first-trimester screening and prevention / L.C. Poon, A. Shennan, J.A. Hyett [et al.] // International journal of gynaecology and obstetrics. - 2019. - Vol. 145. - P. 1–33.

16. Konukoglu, D. Endothelial Dysfunction and Hypertension / D. Konukoglu, H. Uzun. // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. - 2017. - P. 511–540. doi: 10.1007/5584_2016_90. PMID: 28035582.
17. Rana, S. Imbalances in circulating angiogenic factors in the pathophysiology of preeclampsia and related disorders / S. Rana, S.D. Burke, S.A. Karumanchi // *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. - 2022. - Vol. 226. - № 2. - P. S1019–S1034.
18. Gregory, A.L. Review: the enigmatic role of endoglin in the placenta / A.L. Gregory, G. Xu, V. Sotov [et al.] // *Placenta*. - 2014. - Vol. 35. – Suppl: S93-9. - doi: 10.1016/j.placenta.2013.10.020.
19. Rana, S. Preeclampsia: Pathophysiology, Challenges, and Perspectives / S. Rana, E. Lemoine, J.P. Granger [et al.] // *Circulation Research*. Lippincott Williams and Wilkins. - 2019. - Vol. 124. - № 7. - P. 1094–1112.- doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313276.
20. Bianchini, A. Inhibition of Endothelial Nitric-oxide Synthase by Ceruloplasmin / A. Bianchini, G. Musci, L. Calabrese // *Journal of Biological Chemistry*. - 1999. - Vol. 274. - № 29. - P. 20265–20270.
21. Monia, M.M. Status of zinc and copper in pregnant women and their changes during preeclampsia / M.M. Monia, B.A. Fethi, L.B.A. Wafa [et al.] // *Annales de biologie clinique (Paris)*. - 2012. - Vol. 70. - № 4. - P. 423–429. - doi: 10.1684/abc.2012.0732/
22. Bellos, I. Serum ceruloplasmin levels in preeclampsia: a meta-analysis / I. Bellos, N. Papantoniou, V. Pergialiotis // *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. - 2018. - Vol. 31. - № 17. - P. 2342–2348. - doi: 10.1080/14767058.2017.1340449.
23. Nikolic, A. Ceruloplasmin and antioxidative enzymes in pre-eclampsia / A. Nikolic, V. Cabarkapa, A. Novakov Mikic [et al.] // *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. Taylor and Francis Ltd. - 2016. - Vol. 29. - № 18. - P. 2987–2993. - doi: 10.3109/14767058.2015.1111333.13.
24. Wada, M. Enzymes and receptors of prostaglandin pathways with arachidonic acid-derived versus eicosapentaenoic acid-derived substrates and products / M. Wada, C.J. DeLong, Y.H. Hong [et al.] // *The Journal of biological chemistry*. - 2007. - Vol. 282. - № 31. - P. 22254–22266. - doi: 10.1074/JBC.M703169200

25. Middleton, P. Omega-3 fatty acid addition during pregnancy / P. Middleton, J.C. Gomersall, J.F. Gould // The Cochrane database of systematic reviews. - 2018. - Vol. 11. - № 11. - doi: 10.1002/14651858.CD003402.PUB3
26. Poon, L.C. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on pre-eclampsia: A pragmatic guide for first-trimester screening and prevention / L.C. Poon, A. Shennan, J.A. Hyett [et al.] // International journal of gynaecology and obstetrics. - 2019. - Vol. 145. - Suppl 1. - P. 1–33. - doi: 10.1002/IJGO.12802
27. Kornacki, J. Endothelial dysfunction in pregnancy complications / J. Kornacki, P. Gutaj, A. Kalantarova [et al.] // Biomedicines. MDPI. - 2021. - Vol. 9. - № 12. - doi: 10.3390/biomedicines9121756
28. Szilagyi, A. Placenta-Specific Genes, Their Regulation During Villous Trophoblast Differentiation and Dysregulation in Preterm Preeclampsia / A. Szilagyi, Z. Gelencser, R. Romero [et al.] // International journal of molecular sciences. - 2020. - Vol. 21. - № 2. - doi: 10.3390/IJMS21020628.19.
29. Verlohren, S. Clinical interpretation and implementation of the sFlt-1/PlGF ratio in the prediction, diagnosis and management of preeclampsia / S. Verlohren, S.P. Brennecke, A. Galindo [et al.] // Pregnancy hypertension. - 2022. - Vol. 27. - P. 42–50. - doi: 10.1016/J.PREGHY.2021.12.003/
30. Jena, M.K Pathogenesis of Preeclampsia and Therapeutic Approaches Targeting the Placenta / M.K. Jena, N.R. Sharma, M. Petitt [et al.] // Biomolecules. - 2020. - Vol. 10. - № 6. - P. 1–28. - doi: 10.3390/BIOM10060953.
31. Quackenbush, E.J. Differential localization within human kidney of five membrane proteins expressed on acute lymphoblastic leukemia cells. / E.J. Quackenbush, A. Gougos, R. Baumal [et al.] // Journal of immunology (Baltimore). - 1986. - Vol. 136. - № 1. - P. 118–124. – ISSN 0022-1767.
32. CD antigens 1993: an updated nomenclature for clusters of differentiation on human cells. IUIS / WHO Subcommittee on CD Nomenclature. // Bulletin of the World Health Organization. - 1994. - Vol. 72. - № 5. - P. 807–808. - ISSN 0042-9686.

33. Letamendía, A. Endoglin, a component of the TGF- β receptor system, is a differentiation marker of human choriocarcinoma cells / A. Letamendía, P. Lastres, N. Almendro // *International Journal of Cancer*. - 1998. - Vol. 76. - № 4. - P. 541–546. - doi: 10.1002/(SICI)1097-0215(19980518)76:4<541::AID-IJC16>3.0.CO;2-A.
34. Kapustin, R. V. Placental expression of endoglin, placental growth factor, leptin, and hypoxia-inducible factor-1 in diabetic pregnancy and pre-eclampsia / R.V. Kapustin, E.V. Kopteeva, E.N. Alekseenkova [et al.] // *Gynecological endocrinology*. - 2021. - Vol. 37. - № sup1. - P. 35–39. - doi: 10.1080/09513590.2021.2006513.
35. Ouellette, M.J. Characterization of endoglin on mouse uterine stromal cells / M.J. Ouellette, L. Hamel, N. Tremblay [et al.] // *Journal of reproduction and fertility*. - 1999. - Vol. 117. - № 2. - P. 229–239. - doi: 10.1530/JRF.0.1170229.
36. Nikuei, P. Accuracy of Soluble Endoglin for Diagnosis of Preeclampsia and its Severity / P. Nikuei, M. Rajaei, K. Malekzadeh [et al.] // *Iranian biomedical journal*. - 2017. - Vol. 21. - № 5. - P. 312–320. - doi: 10.18869/ACADPUB.IBJ.21.5.312.
37. Venkatesha, S. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia / S. Venkatesha, M. Toporsian, C. Lam [et al.] // *Nature Medicine*. - 2006. - Vol. 12. - № 6. - P. 642–649. - doi: 10.1038/nm1429.
38. Sier, V.Q. Endoglin/CD105-Based Imaging of Cancer and Cardiovascular Diseases: A Systematic Review / V.Q. Sier, J.R. Vorst, P.H. Quax [et al.] // *International journal of molecular sciences*. - 2021. - Vol. 22. - № 9. - doi: 10.3390/IJMS22094804.
39. Smirnov, I.V. New highly sensitive sandwich ELISA system for soluble endoglin quantification in different biological fluids / I.V. Smirnov, I.V. Gryazeva, M.Y. Vasileva [et al.] // *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. - 2018. - Vol. 78. - № 6. - doi: 10.1080/00365513.2018.1516892.
40. Nogueira, Reis Z.S. Soluble endoglin in urine as an early-pregnancy preeclampsia marker: antenatal longitudinal feasibility study / Z.S. Nogueira Reis, J.B. Pereira, L.A. Costa [et al.] // *Journal of obstetrics and gynaecology*. - 2021. - Vol. 41. - № 5. - P. 693–698. - doi: 10.1080/01443615.2020.1789851.
41. Zhang, X.-H. MMP-14 aggravates onset of severe preeclampsia by mediating soluble endoglin release / X.-H. Zhang, H.Y. Zhang, S. Lu [et al.] // *European Review for*

Medical and Pharmacological Sciences. - 2018. - Vol. 22. - № 5. – P. 1209–1215. - doi: 10.26355/eurrev_201803_14460.

42. Owayolu, A. Amniotic fluid concentrations of soluble endoglin and endothelial cell-specific molecule-1 in pregnancies complicated with neural tube defects / A. Owayolu, G. Owayolu, T. Yuce [et al.] // *Journal of perinatal medicine*. - 2020. - Vol. 48. - № 2. - P. 132–138. - doi: 10.1515/JPM-2019-0303.

43. Romero, R. A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate / R. Romero, L.K. Nien, J. Espinoza [et al.] // *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine*. - 2008. - Vol. 21. - № 1. - P. 9–23. - doi: 10.1080/14767050701830480.

44. Cui, S. Relationship among soluble CD105, hypersensitive C-reactive protein and coronary plaque morphology: an intravascular ultrasound study. / S. Cui, S.-z. Lü, Y.-d. Chen [et al.] // *Chinese medical journal (Engl)*. - 2008. - Vol. 121. - № 2. - P. 128–132. – ISSN 0366-6999.

45. Fletcher, D.A. Endoglin moves and shapes endothelial cells / D.A. Fletcher, R.D. Mullins, D. Hanahan [et al.] // *Nature Cell Biology*. - 2017. - Vol. 463. - № 9. – P. 1107–1121. - doi: 10.1038/ncb3543.

46. Chen, H. Negative correlation between endoglin levels and coronary atherosclerosis / H. Chen, Y. Wang, B. Sun [et al.] // *Lipids in health and disease*. - 2021. - Vol. 20. - № 1. - doi: 10.1186/S12944-021-01545-2.

47. Leite, A.R. Novel Biomarkers for Evaluation of Endothelial Dysfunction / A.R. Leite, M. Borges-Canha, R. Cardoso [et al.] // *Angiology*. - 2020. - Vol. 71. - № 5. - P. 397–410. - doi: 10.1177/0003319720903586.

48. Al-Qaissi, A. Effects of acute insulin-induced hypoglycaemia on endothelial microparticles in adults with and without type 2 diabetes / A. Al-Qaissi, M. Papageorgiou, H. Deshmukh [et al.] // *Diabetes, obesity & metabolism*. - 2019. - Vol. 21. - № 3. - P. 533–540. - doi: 10.1111/DOM.13548.

49. Lawera, A. et al. Role of soluble endoglin in BMP9 signaling. / A. Lawera, Z. Tong, M. Thorikay [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. - Vol. 116(36). – P.17800-17808 - doi: 10.1073/pnas.1816661116.
50. Oujo, B. Membrane and soluble forms of endoglin in preeclampsia / B. Oujo, F. Perez-Barriocanal, C. Bernabeu [et al.] // Current molecular medicine. - 2013. - Vol. 13. - № 8. - P. 1345–1357. - doi: 10.2174/15665240113139990058.
51. Kim, S.K. Minireview Structural biology of betaglycan and endoglin, membrane-bound co-receptors of the TGF-beta family TGF-b family signaling / S.K. Kim, M.A. Henen, A.P. Hinck // Experimental Biology and Medicine. - 2019. - Vol. 244. - P. 1547–1558. - doi: 10.1177/1535370219881160.
52. Perni, U. Angiogenic factors in superimposed preeclampsia: a longitudinal study of women with chronic hypertension during pregnancy / U. Perni, C. Sison, V. Sharma [et al.] // Hypertension. - 2012. - Vol. 59. - № 3. - P. 740–746. - doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.181735.
53. Garzon-Martinez, M. Association of Alk1 and Endoglin Polymorphisms with Cardiovascular Damage / M. Garzon-Martinez, N. Perretta-Tejedor, L. Garcia-Ortiz [et al.] // Scientific Reports. Nature Publishing Group. - 2020. - Vol. 10. - № 1. - doi: 10.1038/S41598-020-66238-9.
54. Takahashi, N. Antiangiogenic therapy of established tumors in human skin/severe combined immunodeficiency mouse chimeras by anti-endoglin (CD105) monoclonal antibodies, and synergy between anti-endoglin antibody and cyclophosphamide. / N. Takahashi, A. Haba, F. Matsuno [et al.] // Cancer research. - 2001. - Vol. 61. - № 21. - P. 7846–7854. – ISSN 0008-5472.
55. Levine, R.J. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia / R.J. Levine, C. Lam, C. Qian [et al.] //The New England journal of medicine. - 2006. - Vol. 355. - № 10. - P. 992–1005. - doi: 10.1056/NEJMOA055352.
56. Mano, Y. The Loss of Endoglin Promotes the Invasion of Extravillous Trophoblasts / Y. Mano, T. Kotani, K. Shibata [et al.] // Endocrinology. - 2011. - Vol. 152. - № 11. - P. 4386–4394. - doi: 10.1210/en.2011-1088.

57. Li, Q. Combination of Endoglin and ASCVD Risk Assessment Improves Carotid Subclinical Atherosclerosis Recognition / Q. Li, F. Lin, D. Ke [et al.] // *Journal of atherosclerosis and thrombosis*. - 2020. - Vol. 27. - № 4. - P. 331–341. - doi: 10.5551/JAT.50898.
58. Chadchan, S.B. Endoglin (CD105) coordinates the process of endometrial receptivity for embryo implantation / S.B. Chadchan, V. Kumar, V.K. Maurya [et al.] // *Molecular and cellular endocrinology*. - 2016. - Vol. 425. - P. 69–83. - doi: 10.1016/J.MCE.2016.01.014.
59. Oxmann, D. Endoglin expression in metastatic breast cancer cells enhances their invasive phenotype / D. Oxmann, J. Held-Feindt, A.M. Stark [et al.] // *Oncogene*. - 2008. - Vol. 27. - № 25. - P. 3567–3575. - doi: 10.1038/sj.onc.1211025.
60. Chadchan, S.B. Endoglin (CD105) coordinates the process of endometrial receptivity for embryo implantation / S.B. Chadchan, V. Kumar, V.K. Maurya [et al.] // *Molecular and cellular endocrinology*. - 2016. - Vol. 425. - P. 69–83. - doi: 10.1016/J.MCE.2016.01.014.
61. Erol Deniz, M. Serial measurement of soluble endoglin for risk assessment at the diagnosis of fetal growth restriction / M. Erol Deniz, A. Deniz, I. Mendilcioglu [et al.] // *International journal of clinical practice*. - 2021. - Vol. 75. - № 12. - doi: 10.1111/IJCP.14840.
62. Haarmann, A. Regulation and Release of Vasoactive Endoglin by Brain Endothelium in Response to Hypoxia/Reoxygenation in Stroke / A. Haarmann, L. Zimmermann, M. Bieber [et al.] // *International journal of molecular sciences*. - 2022. - Vol. 23. - № 13. - P. 7085. - doi: 10.3390/IJMS23137085.
63. Park, E.S. Soluble Endoglin Stimulates Inflammatory and Angiogenic Responses in Microglia That Are Associated with Endothelial Dysfunction / E.S. Park, S. Kim, D.C. Yao [et al.] // *International journal of molecular sciences*. - 2022. - Vol. 23. - № 3. - doi: 10.3390/IJMS23031225.
64. Staff, A.C. Circulating concentrations of soluble endoglin (CD105) in fetal and maternal serum and in amniotic fluid in preeclampsia / A.C. Staff, K. Braekke, J.M. Johnsen [et al.] // *American journal of obstetrics and gynecology*. - 2007. - Vol. 197. - №

2. - P. 176.e1-176.e6. - doi: 10.1016/J.AJOG.2007.03.036.
65. Alahakoon, T.I. Maternal Flt-1 and endoglin expression by circulating monocyte subtype and polarization in preeclampsia and fetal growth restriction / T.I. Alahakoon, H. Medbury, H. Williams [et al.] // *European journal of obstetrics & gynecology and reproductive biology*. - 2019. - Vol. 3. - doi: 10.1016/J.EUROX.2019.100024.
66. Schmella, M.J. Plasma concentrations of soluble endoglin in the maternal circulation are associated with maternal vascular malperfusion lesions in the placenta of women with preeclampsia / M.J. Schmella, V. Assibey-Mensah, W.T. Parks [et al.] // *Placenta*. - 2019. - Vol. 78. - P. 29–35. - doi: 10.1016/J.PLACENTA.2019.02.014.
67. Hawinkels, L.J.A.C. Matrix Metalloproteinase-14 (MT1-MMP)–Mediated Endoglin Shedding Inhibits Tumor Angiogenesis / L.J.A.C. Hawinkels, P. Kuiper, E. Wiercinska [et al.] // *Cancer Research*. - 2010. - Vol. 70. - № 10. - P. 4141–4150. - doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4466.
68. Iannaccone, A. Soluble endoglin versus sFlt-1/PlGF ratio: detection of preeclampsia, HELLP syndrome, and FGR in a high-risk cohort / A. Iannaccone, B. Reisch, L. Mavarani [et al.] // *Hypertension in pregnancy*. -2022. - P. 1–14. - doi: 10.1080/10641955.2022.2066119.
69. Molina Pérez, C.J. Soluble Endoglin and Uterine Artery Flow Doppler Ultrasonography as Markers of Progression to Preeclampsia in Women with Gestational Hypertension / C.J. Molina Pérez, A.G. Nolasco Leños, R.I. Carrillo Juárez [et al.] // *Gynecologic and obstetric investigation*. - 2021. - Vol. 86. - № 5. - P. 445–453. - doi: 10.1159/000519371.
70. Gaber, K. Soluble Endoglin as a new marker for prediction of pre-eclampsia in early pregnancy / K. Gaber, E. Hamdy, A. Hanafy // *Middle East Fertility Society Journal*. - 2010. - Vol. 15. - № 1. - P. 42–46. - doi: 10.1016/j.mefs.2010.03.009.
71. Lai, J. Maternal serum soluble endoglin at 30-33 weeks in the prediction of preeclampsia / J. Lai, A. Syngelaki, L.C.Y. Poon [et al.] // *Fetal Diagnosis and Therapy*. - 2013. - Vol. 33. - № 3. - P. 149–155. - doi: 10.1159/000343220.
72. Thadhani, R. Removal of Soluble Fms-Like Tyrosine Kinase-1 by Dextran Sulfate Apheresis in Preeclampsia / R. Thadhani, H. Hagmann, W. Schaarschmidt [et al.] //

Journal of the American Society of Nephrology. - 2016. - Vol. 27. - № 3. - P. 903–913. - doi: 10.1681/ASN.2015020157.

73. Chang, X. Exosomes From Women With Preeclampsia Induced Vascular Dysfunction by Delivering sFlt (Soluble Fms-Like Tyrosine Kinase)-1 and sEng (Soluble Endoglin) to Endothelial Cells / X. Chang, L. Yao, Q. He [et al.] // Hypertension. - 2018. - Vol. 72. - № 6. - P. 1381–1390. - doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.11706.

74. Varfolomeeva, E.Y. Ceruloplasmin decreases respiratory burst reaction during pregnancy / E.Y. Varfolomeeva, E. V. Semenova, A.V. Sokolov [et al.] // Free Radical Research. - 2016. - Vol. 50. - № 8. - P. 909–919. - doi: 10.1080/10715762.2016.1197395.

75. Guller, S. Placental expression of ceruloplasmin in pregnancies complicated by severe preeclampsia / S. Guller, C.S. Buhimschi, Y.Y. Ma [et al.] // Laboratory Investigation. – Vol. 88(10). – P.1057-67. - doi: 10.1038/labinvest.2008.74.

76. Demir, M.E. Oxidative stress parameters and ceruloplasmin levels in patients with severe preeclampsia. / M.E. Demir, T. Ulas, M.S. Dal [et al.] // La Clinica terapeutica. - 2013. - Vol. 164. - № 2. – ISSN 19726007.

77. Stevens, M.D. Specific receptor for ceruloplasmin in membrane fragments from aortic and heart tissues / M.D. Stevens, R.A. DiSilvestro, E.D. Harris // Biochemistry. - 1984. - Vol. 23. - № 2. - P. 261–266. - doi: 10.1021/bi00297a014.

78. Barnes, G. Ceruloplasmin receptors of erythrocytes / G. Barnes, E. Frieden // Biochemical and Biophysical Research Communications. - 1984. - Vol. 125. - № 1. - P. 157–162. - doi: 10.1016/S0006-291X(84)80348-4.

79. Kataoka, M. Identification of ceruloplasmin receptors on the surface of human blood monocytes, granulocytes, and lymphocytes. / M. Kataoka, M. Tavassoli // Experimental hematology. - 1985. - Vol. 13. - № 8. - P. 806–810. – ISSN 0301-472X.

80. Hilton, M. Characterisation of the copper uptake mechanism and isolation of the ceruloplasmin receptor/copper transporter in human placental vesicles / M. Hilton, D.C. Spenser, P. Ross [et al.] // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects. - 1995. - Vol. 1245. - № 2. - P. 153–160. - doi: 10.1016/0304-4165(95)00084-O.

81. Dey, M. Serum cholesterol and ceruloplasmin levels in second trimester can predict development of pre-eclampsia / M. Dey, D. Arora, N. Narayan // North American Journal

- of Medical Sciences. - 2013. - Vol. 5. - № 1. - P. 41. - doi: 10.4103/1947-2714.106198.
82. Buhimschi, I.A. Protein misfolding, congophilia, oligomerization, and defective amyloid processing in preeclampsia / I.A. Buhimschi, U.A. Nayeri, G. Zhao [et al.] // *Science Translational Medicine*. - 2014. - Vol. 6. - № 245. - doi: 10.1126/scitranslmed.3008808.
83. Shen, L. ASPRE trial: risk factors for development of preterm pre-eclampsia despite aspirin prophylaxis / L. Shen, R.J. Martinez-Portilla, D.L. Rolnik [et al.] // *Ultrasound in obstetrics & gynecology*. - 2021. Vol. 58, № 4. P. 546–552. - doi: 10.1002/UOG.23668.
84. Fleminger, J. Factors influencing perinatal outcomes in women with preterm preeclampsia: A secondary analysis of the PHOENIX trial / J. Fleminger, K. Duhig, P/T/ Seed [et al.] // *Pregnancy hypertension*. - 2021. - Vol. 26. - P. 91–93. - doi: 10.1016/J.PREGHY.2021.10.002.
85. Lim, S. Biomarkers and the Prediction of Adverse Outcomes in Preeclampsia: A Systematic Review and Meta-analysis / S. Lim, W. Li, J. Kemper [et al.] // *Obstetrics and gynecology*. - 2021. - Vol. 137. - № 1. - P. 72–81. - doi: 10.1097/AOG.0000000000004149.
86. Kifle, M.M. The prognostic utility of soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) and placental growth factor (PlGF) biomarkers for predicting preeclampsia: a secondary analysis of data from the INSPIRE trial / M.M. Kifle, P. Dahal, M. Vatish [et al.] // *BMC pregnancy and childbirth*. - Vol. 22. - № 1. - doi: 10.1186/S12884-022-04817-6.
87. Duhig, K.E. Placental growth factor testing to assess women with suspected pre-eclampsia: a multicentre, pragmatic, stepped-wedge cluster-randomised controlled trial / K.E. Duhig, J. Myers, P.T. Seed // *Lancet*. - 2019. - Vol. 393. - № 10183. - P. 1807–1818. - doi: 10.1016/S0140-6736(18)33212-4.
88. Tataru-Copos, A.F. Efficiency of sFlt-1/PlGF Ratio in Preeclampsia Diagnosis / A.F. Tataru-Copos, M.I. Popescu, R. Murvai [et al.] // *Medicina (Kaunas)*. - 2022. - Vol. 58. - № 9. - doi: 10.3390/MEDICINA58091196.
89. Hodel, M. sFlt-1/PlGF Ratio as a Predictive Marker in Women with Suspected Preeclampsia: An Economic Evaluation from a Swiss Perspective / M. Hodel, P.R. Blank, P. Marty [et al.] // *Dis Markers*. - 2019. - Vol. 2019. - doi: 10.1155/2019/4096847.

90. Schlembach, D. Economic assessment of the use of the sFlt-1/PlGF ratio test to predict preeclampsia in Germany / D. Schlembach, M. Hund, A. Schroer [et al.] // *BMC health services research*. - 2018. - Vol. 18. - № 1. - doi: 10.1186/S12913-018-3406-1.
91. Vatish, M. sFlt-1/PlGF ratio test for pre-eclampsia: an economic assessment for the UK / M. Vatish, T. Strunz-McKendry, M. Hund [et al.] // *Ultrasound in obstetrics & gynecology*. - 2016. - Vol. 48. - № 6. - P. 765–771. - doi: 10.1002/UOG.15997.
92. Leañós-Miranda, A. Soluble Endoglin As a Marker for Preeclampsia, Its Severity, and the Occurrence of Adverse Outcomes / A. Leañós-Miranda, C.S. Navarro-Romero, L.J. Sillas-Pardo [et al.] // *Hypertension*. - 2019. - Vol. 74. - № 4. - P. 991–997. - doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.13348.
93. Lubis, M.P. The Role of Placental Growth Factor, Soluble Endoglin, and Uterine Artery Diastolic Notch to Predict the Early Onset of Preeclampsia / M.P. Lubis, H. Hariman, S.N. Lumbanraja [et al.] // *Open access Macedonian journal of medical sciences*. - 2019. - Vol. 7. - № 7. - P. 1153–1159. - doi: 10.3889/OAMJMS.2019.154.
94. Zhang, L. The diagnosis values of serum STAT4 and sEng in preeclampsia / L. Zhang, X. Li, C. Zhou [et al.] // *Journal of clinical laboratory analysis*. - 2020. - Vol. 34. - № 2. - doi: 10.1002/JCLA.23073.
95. Molina Pérez, C.J. Soluble Endoglin and Uterine Artery Flow Doppler Ultrasonography as Markers of Progression to Preeclampsia in Women with Gestational Hypertension / C.J. Molina Pérez, A.G. Nolasco Leañós, R.I. Carrillo Juárez [et al.] // *Gynecologic and obstetric investigation*. - 2021. - Vol. 86. - № 5. - P. 445–453. - doi: 10.1159/000519371.
96. Sun, X. Doppler ultrasound and photoplethysmographic assessment for identifying pregnancy-induced hypertension / X. Sun, F. Su, X. Chen [et al.] // *Experimental and therapeutic medicine*. - 2020. - Vol. 19. - № 3. - doi: 10.3892/ETM.2019.8405.
97. Sak, S. Copper and ceruloplasmin levels are closely related to the severity of preeclampsia / S. Sak, M. Barut, H. Çelik [et al.] // *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine*. - 2020. - Vol. 33. - № 1. - P. 96–102. - doi: 10.1080/14767058.2018.1487934.

98. Binder, J. Should angiogenic markers be included in diagnostic criteria of superimposed pre-eclampsia in women with chronic hypertension? / J. Binder, E. Kalafat, P. Palmrich [et al.] // *Ultrasound in obstetrics & gynecology*. - 2022. - Vol. 59. - № 2. - P. 192–201. - doi: 10.1002/UOG.23711.
99. Wu, P. Preeclampsia and Future Cardiovascular Health: A Systematic Review and Meta-Analysis / P. Wu, R. Haththotuwa, C.S. Kwok [et al.] // *Circulation. Cardiovascular quality and outcomes*. - 2017. - Vol. 10. - № 2. - doi: 10.1161/CIRCOUTCOMES.116.003497.
100. Yan, S. Association of gestational hypertension and preeclampsia with offspring adiposity: A systematic review and meta-analysis / S. Yan, J. Lyu, Z. Liu [et al.] // *Front Endocrinol (Lausanne)*. - 2022. - Vol. 13. - doi: 10.3389/FENDO.2022.906781.
101. Bakouei, F. Efficacy of n-3 fatty acids supplementation on the prevention of pregnancy induced-hypertension or preeclampsia: A systematic review and meta-analysis / F. Bakouei, M.A. Delavar, S. Mashayekh-Amiri [et al.] // *Taiwanese journal of obstetrics & gynecology*. - 2020. - Vol. 59. - № 1. - P. 8–15. - doi: 10.1016/J.TJOG.2019.11.002.