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

На правах рукописи

ВОЛЬФ Юлия

КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ И ДИАГНОСТИКИ РАННЕЙ И ПОЗДНЕЙ ПРЕЭКЛАМПСИИ

14.01.01 – Акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

РАДЬКОВ Олег Валентинович

Тверь – 2018 год

ОГЛАВЛЕНИЕ

Стр.

ВВЕДЕНИЕ…… 4-13

ГЛАВА 1. РАННЯЯ И ПОЗДНЯЯ ПРЕЭКЛАМПСИЯ: ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ И ДИАГНОСТИКИ (обзор литературы)… 14-30

1.1. Ранняя и поздняя преэклампсия: два разных по происхождению заболевания ……..……...… 14-16

1.2. Молекулярно-генетические ассоциации в предрасположенности и диагностике ранней и поздней преэклампсии …….……..…. 16-27

1.2.1. Ассоциация полиморфных локусов генов *TLR*, *TNF-α, IL-10, NOS3* и *VDR* с риском ранней и поздней преэклампсии …… 17-24

1.2.2. Внеклеточные циркулирующие формы ДНК: патобиологические и прикладные аспекты при ранней и поздней преэклампсии ……. 24-27

1.3. Эндотелиальная регуляция тонуса сосудов при преэклампсии: патологическая физиология и биомаркеры эндотелиальной дисфункции…….. 27-31

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ…….. 32-41

2.1. Организация исследования и принципы формирования выборок.... 32-34

2.2. Генотипирование полиморфных локусов генов..……. 34-36

2.3. Определение концентрации общей и плодной внеклеточной ДНК в плазме крови беременных…… 36-37

2.4. Ультразвуковая допплерография микрососудов кожи ……. 37-38

2.5. Антенатальная оценка состояния плода ……. 38-39

2.6. Методы статистической обработка полученных данных…… 39-41

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ… 42-135

3.1. Клиническая характеристика наблюдений и анамнестические факторы риска ранней и поздней преэклампсии……..……. 42-57

3.2. Ассоциации полиморфизмов генов-кандидатов с

предрасположенностью к ранней и поздней преэклампсии…….. 57-77
3.2.1. Анализ ассоциации полиморфных локусов генов-кандидатов с предрасположенностью к ранней преэклампсии ……..….. 57-67
3.2.2. Анализ ассоциации полиморфных локусов генов-кандидатов с предрасположенностью к поздней преэклампсии.…….…… 68-77
3.3. Внеклеточные циркулирующие формы ДНК: прогноз и диагностика поздней и ранней преэклампсии…… 77-92
3.3.1. Внеклеточные циркулирующие формы ДНК как прогностические маркеры поздней и ранней преэклампсии ……..... 77-81
3.3.2. Внеклеточные циркулирующие формы ДНК как диагностические критерии поздней и ранней преэклампсии ……...… 81-92
3.4. Реактивность микрососудов кожи: прогноз и диагностика ранней и поздней преэклампсии…….……..……..... 92-106
3.4.1. Анализ реактивности микрососудов кожи для прогноза преэклампсии……... 92-94
3.4.2. Анализ реактивности микрососудов кожи: диагностические критерии ранней и поздней преэклампсии …… 95-101
3.4.3. Ассоциации полиморфизмов генов-кандидатов с показателями реактивности микрососудов кожи у беременных с преэклампсией……. 101-106
3.5. Модели индивидуального прогноза риска ранней и поздней преэклампсии…… 106-112
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ……..…….…….. 113-136
Выводы……... 137-138
Практические рекомендации…… 139-140
Список сокращений……..... 141-142
Список литературы…… 143-167
ПРИЛОЖЕНИЕ…….. 168

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

По данным Всемирной организации здравоохранения в мире 5-8 % беременных страдают от преэклампсии (ПЭ), что составляет около 4,2 миллионов женщин в год, причем этот показатель за неполные четверть века увеличился на 40 % [25]. ПЭ является причиной смерти до 60000 матерей ежегодно, а также характеризуется крайне неблагоприятными перинатальными исходами [1, 2, 3, 131, 173].

Современная концепция трехстадийного развития ПЭ и теория «больших синдромов» в акушерстве диктуют четкое выделение двух различных форм этого гипертензивного расстройства беременных: ранней (плацентарной) и поздней (материнской) ПЭ [44, 92, 163]. Данное положение представляется очень важным, т. к. с точки зрения патофизиологии мы сталкиваемся, по сути, с двумя разными заболеваниями [33, 49, 89, 90]. В настоящее время активно изучаются клинико-анамнестические и клинико-эпидемиологические аспекты ранней и поздней ПЭ [11, 18, 133, 201]. Однако патогенез этих осложнений беременности остается не вполне ясным [37, 47, 225], а значит в прогнозировании, диагностике и профилактике значимых успехов не достигнуто и требуется проведение новых исследований в этом направлении.

С процессом развития ПЭ связывают множество средовых факторов, таких как ожирение, возраст, существовавшая ранее артериальная гипертензия, сахарный диабет, курение и другие [34, 209, 240]. Однако подавляющее большинство беременностей, находясь под влиянием этих факторов, не осложняются ПЭ, а значит, генетическая предрасположенность играет важнейшую роль в развитии этого осложнения гестации [5, 187, 189, 218, 223]. В этой связи анализ ассоциаций генотипа с фенотипами ранней и поздней ПЭ является актуальным методом прогнозирования этих заболеваний.

Циркулирующие формы внеклеточной ДНК является перспективными прогностическими биомаркерами осложнений беременности, объективно отражающими патологические процессы в системе мать-плацента-плод до появления клинических симптомов заболеваний [72, 76, 140]. Так увеличение концентрации внеклеточной плодной ДНК (впДНК) в крови матери связывают с механизмами аномальной инвазии ворсин хориона, апонекротическими процессами в синцитиотрофобласте, воспалением и нарушением почечного клиренса впДНК, ассоциированных с ПЭ [14, 118, 202, 211]. Однако данные о роли внеклеточных форм ДНК при ранней и поздней ПЭ весьма противоречивы, а значит, актуальным является исследование уровней данных биомолекул для прогноза и диагностики этих осложнений беременности.

Эпителий сосудов матери - важнейшая цель триггеров, запускающих процесс ПЭ [15, 159, 191]. Вазоконстрикторы и вазодилятаторы создают условия гестационной адаптации сосудов, их резистентности и оптимального артериального давления [68]. В свою очередь аномальная продукция этих факторов в ответ на ишемию плаценты приводит к спазму сосудов, адгезии лейкоцитов к сосудистой стенке, оксидативному стрессу и васкулярному воспалению, лежащих в основе эндотелиальной дисфункции у беременных с ПЭ [29, 65, 231]. Регуляции тонуса сосудов у беременных ПЭ изучается активно, однако, остается неясным ее роль в развитии гестационной артериальной гипертензии с разным сроком манифестации, хотя разработка дифференцированных критериев прогноза и диагностики этих осложнений гестации на основании оценки сосудодвигательной функции эндотелия является актуальной проблемой.

Степень разработанности темы исследования

Несмотря на проводимые исследования по выявлению клинико-анамнестических факторов риска ранней и поздней ПЭ, значимость их маркерных свойств остается не вполне установленной. С каждым годом продолжает пополняться круг генов-кандидатов, влияющих на риск ПЭ, однако воспроизводимость

результатов исследования монолокусных ассоциаций в различных популяциях оказывается невозможной. В связи с этим остаются неизученными генетические механизмы наследования ПЭ в формировании предрасположенности к ранней и поздней ПЭ. Внеклеточные формы ДНК, а также сосудодвигательная функция эндотелия могут объективно отражать патологические процессы в системе мать-плацента-плод при ПЭ с разным сроком манифестации. Однако отсутствие единого подхода к анализу и интерпретации данных по уровням этих биомолекул и эндотелиальной регуляции сосудов затрудняет эффективное использование их в качестве прогностических и диагностических маркеров ранней и поздней ПЭ. Описаны способы оценки индивидуального риска ПЭ, однако модели, включающие клинико-генетические факторы с представленными полиморфизмами генов для персонифицированного анализа вероятности осложнения гестации ранней и поздней ПЭ, не исследовались.

Принимая во внимание все перечисленные дискуссионные вопросы относительно разработки критериев прогнозирования и диагностики ранней и поздней ПЭ, а также осложнений, ассоциированных с этими заболеваниями, при выполнении настоящей работы, были поставлены следующие цель и задачи.

Цель исследования:

Разработать новые прогностические и диагностические маркеры ранней и поздней преэклампсии на основании анализа клинико-генетических факторов, определяющих характер течения этих осложнений беременности.

Задачи исследования:

1. Выявить характерные клинико-анамнестические признаки и факторы риска ранней и поздней преэклампсии.

2. Провести анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфных локусов генов *VDR, TLR 4, TNF-α, IL-10* и *NOS3* для выявления их ассоциации с предрасположенностью к ранней и поздней преэклампсии.
3. Установить зависимость между концентрацией внеклеточных форм ДНК и клиническими формами преэклампсии с разными сроками манифестации заболевания.
4. В формате фенотипического и гено-фенотипического анализа оценить характер нарушений вазомоторной функции эндотелия у беременных с ранней и поздней преэклампсией.
5. На основании данных клинико-анамнестического, молекулярно-генетического анализа, параметров вазомоторной функции эндотелия выделить и оценить прогностические и диагностические маркеры ранней, поздней преэклампсии.
6. Разработать с помощью многофакторного анализа данных персонифицированные модели оценки риска ранней и поздней преэклампсии.

Научная новизна исследования

Впервые на выбранной популяции проведен анализ частот аллелей и генотипов полиморфных локусов: BsmI (rs1544410) и TaqI (rs731236) гена *VDR*, rs1799983 и rs2070744 гена *NOS3*, rs1800629 гена *TNF-α*, rs1800896 гена *IL-10* и rs4986790 гена *TLR 4* относительно их ассоциации с ранней и поздней преэклампсией, а также клиническими особенностями течения, связанными с этими заболеваниями.

Получены новые сведения о связи концентрации внеклеточной общей и внеклеточной плодной ДНК с преэклампсией разных сроков манифестации, а также особенностями клиники этого осложнения беременности.

Впервые на основании данных об уровнях внеклеточных форм ДНК представлены прогностические и диагностические критерии ранней, поздней преэклампсии, задержки роста плода у этих пациенток, а так же степени тяжести изу-

чаемого гипертензивного расстройства, что позволило разработать «Способ оценки тяжести преэклампсии» (Патент №2478966 Российской Федерации).

Впервые на модели микрососудов кожи показано, что с ранней преэклампсией связаны наиболее выраженные проявления эндотелиальной дисфункции; нарастание степени сосудодвигательных расстройств ассоциируется с тяжелым течением преэклампсии и задержкой роста плода, а показатели эндотелий-зависимой вазодилятации являются значимыми маркерами этих осложнений беременности.

С позиций гено-фенотипического анализа сформулированы новые представления о генетических факторах, модифицирующих выраженность сосудодвигательных расстройств у беременных с ранней и поздней преэклампсией.

Разработаны новые модели оценки индивидуального риска ранней и поздней преэклампсии.

Теоретическая и практическая значимость работы

Изучение частоты распределения аллелей и генотипов полиморфных сайтов изученных генов-кандидатов преэклампсии позволяет понять механизмы наследования этих заболеваний в анализируемой популяции, а так же использовать генетические маркеры в качестве критериев оценки индивидуального прогноза риска развития этого осложнения беременности в зависимости от срока его возникновения.

Понятие об уровнях внеклеточных форм ДНК у пациенток с ранней и поздней преэклампсией позволяет раскрыть элементы патогенеза этих заболеваний, а также использовать изучаемые биомолекулы в качестве маркеров гестационных гипертензивных расстройств, их степени тяжести и осложнений.

Оценки реактивности микрососудов кожи у беременных с преэклампсией разных сроков манифестации расширяет представления о патобиологии этих осложнений гестации, также является скрининговым методом, позволяющим опти-

мизировать экспертизу прогноза и диагностики ранней, поздней преэклампсии и задержки роста плода у этих пациенток.

Предложенная модель прогноза позволяет оценить индивидуальный уровень риска ранней и поздней преэклампсии для проведения превентивных мероприятий при высоком риске этих осложнений беременности.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа представляет собой клиническое аналитическое исследование дизайн, которого опирается на проспективный, описание серии случаев и случай-контроль исследовательские методы научного поиска. В диссертации разработана гипотеза и проведено ее подтверждение с использованием инструментов аналитического обзора литературы, клинического наблюдения, молекулярно-генетического анализа, функционального исследования реактивности микрососудов кожи, статистической обработки баз данных с представлением полученных результатов, формулировки выводов и практических рекомендаций.

Для достижения поставленной цели сформированы выборки из двух групп беременных (основной группы и контрольной группа). Критерии включения в основную группу: клинические признаки, утвержденные Национальными и международными рекомендациями [2, 25], определяющие заболевание как ранняя ПЭ - 112 беременных и поздняя ПЭ - 143 пациентки. Контрольная группа включала 120 беременных из диспансерных групп здоровых или практически здоровых с нормальным течением гестации.

Для исследования случай-контроль в оценке ассоциации полиморфных локусов генов с риском ПЭ проводилось генотипирование по 7 однонуклеотидным полиморфизмам пяти генов-кандидатов ранней и поздней ПЭ: rs1799983 и rs2070744 гена *NOS3*, BsmI (rs1544410) и TaqI (rs731236) гена *VDR*, rs4986790 гена *TLR4*, rs1800629 гена *TNF-α* и rs1800896 гена *IL-10*.

Проведен количественный анализ концентрации в плазме матери по кинетике накопления продуктов амплификации локусов 5p15.33 (ген теломеразной об-

ратной транскриптазы, *TERT*) для уровня внеклеточной общей ДНК и Yp11.3 (ген детерминирующего пол региона Y-хромосомы, *SRY*) для уровня внеклеточной плодной ДНК. Исследование проведено в 15-18 недель и в 26-36 недель гестации. Молекулярно-генетические исследования выполнены с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

Анализ сосудодвигательной функции эндотелия выполнен методом ультразвуковой допплерография микрососудов кожи (МК), проведенным в 18-22 недели беременности («измерение 1») и в 28-36 недель гестации («измерение 2»). Для оценки тонуса МК и их реактивности использовалась проба с постокклюзионной реактивной гиперемией с расчетом коэффициент прироста скорости кровотока в МК и времени постокклюзионной реактивной гиперемии.

Антенатальная оценка состояния плода включала в себя ультразвуковую фето- и плацентометрию, оценку кровотока в сосудах фетоплацентарного комплекса с помощью допплерометрии, а также регистрацию кардиотахограмм.

Положения, выносимые на защиту

1. Значимые независимые клинико-анамнестические предикторы преэклампсии определяют срок манифестации заболевания.
2. Молекулярные варианты локусов BsmI (rs1544410) гена *VDR*, rs4986790 гена *TLR4* и rs2070744 гена *NOS3* ассоциированы с ранней преэклампсией, полиморфизм rs1799983 гена *NOS3* влияет на риск развития поздней преэклампсии, а сайт rs1800896 гена *IL10* связаны с предрасположенностью к обеим формам гипертензивных расстройств. Генетические факторы, определяющие тяжесть течения заболевания и формирование задержки роста плода, зависят от срока начала преэклампсии.
3. Внеклеточная плодная ДНК – значимый биомаркер прогноза ранней преэклампсии. Концентрация внеклеточных циркулирующих форм ДНК находится в обратной зависимости с гестационным сроком начала преэклампсии, а риск

развития задержки роста плода и тяжесть течения заболевания прямо ассоциированы с уровнем этих биомолекул в плазме крови матери.

4. Нарушения эндотелий-зависимой вазодилятации в микрососудах кожи у беременных с ранней преэклампсией возникают в латентный период, значимо прогрессируют по мере манифестации обеих форм заболевания, становясь максимально выраженными при раннем развитии этого осложнения гестации. Полиморфизмы: rs1800629 гена *TNF-α*, rs1800896 гена *IL10* и BsmI (rs1544410) гена *VDR* ассоциируются с нарушением сосудодвигательной функции эндотелия в микрососудах кожи в манере, зависящей от срока начала преэклампсии.
5. Персонифицированный подход к прогнозированию ранней и поздней преэклампсии является эффективным методом анализа индивидуального риска гипертензивных расстройств у беременных.

Внедрение результатов работы в практику

Полученные результаты исследования внедрены в клиническую практику амбулаторного и стационарного звена системы родовспоможения г. Твери и Тверской области. Основные положения диссертации включены в учебные программы дисциплины «Акушерство и гинекология» Федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 31.05.01 Лечебное дело и 31.05.02 Педиатрия (уровень специалитета), а так же используются для преподавания профильной дисциплины на кафедре акушерства и гинекологии с курсом акушерства и гинекологии ФДПО, интернатуры и ординатуры ФГБОУ ВО Тверского государственного медицинского университета Минздрава России.

Степень достоверности полученных результатов

Достоверность полученных результатов достигнута за счет достаточного объема сформированных выборок, соответствующих представленным разделам

диссертационного исследования и адекватного выбора статистического инструментария для аналитических действий в сформированных группах обследованных беременных.

Диссертационная работа соответствует утвержденному паспорту специальности 14.01.01 – «Акушерство и гинекология» относительно следующих областей исследования: 1. Физиологические и осложненные беременность, роды и послеродовой период у женщины; 4. Разработка и усовершенствование методов диагностики и профилактики осложненного течения беременности и родов, гинекологических заболеваний. Оптимизация диспансеризации беременных и гинекологических больных.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автором лично выполнен весь объем функциональных методов исследования, касающихся оценки реактивности микрососудов кожи, принято участие в лечебно-диагностических мероприятиях у пациенток с ранней и поздней преэклампсией и сборе биологических образцов для молекулярно-генетических анализов.

Автором лично разработана аналитическая анкета для формирования базы данных при оценке анамнестических факторов риска ранней и поздней преэклампсии, характеристики акушерских и перинатальных исходов в выделенных группах пациенток, проведен анализ медицинской документации, статистическая обработка и обобщение полученных результатов. Диссертант лично участвовал в подготовке научных публикаций по теме проведенного исследования.

Апробация результатов работы

Материалы диссертации представлены в докладах на X Юбилейном Всероссийском научном форуме «Мать и Дитя» (Москва, 2009); Российском национальном конгрессе кардиологов (Москва, 2009); IV Национальном конгрессе терапевтов (Москва, 2009); Российской конференции «Артериальная гипертония –

спорные и нерешенные вопросы» (Ярославль, 2010); XVIII Всероссийском научно-образовательном форуме (Москва, 2017); Международном конгрессе «Большие акушерские и неонатальные синдромы – патофизиология и клиническая практика» (Санкт-Петербург, 2017); III Международной научной конференции «Постгеномные технологии в медицине: от теории к практике» (Воронеж, 2017).

Апробация диссертации состоялась 26.04.2018 г. на научной конференции сотрудников кафедры акушерства и гинекологии с курсом акушерства и гинекологии ФДПО, интернатуры и ординатуры, кафедры госпитальной терапии и профессиональных болезней ФГБОУ ВО «Тверского государственного медицинского университета» Минздрава России, а также ГБУЗ ТО «Областного клинического перинатального центра им. Е. М. Бакуниной».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 16 работ, из них 6 статей в журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций, рекомендованный ВАК Минобрнауки России, получен патент РФ на изобретение.

Объем и структура диссертации

Текст диссертации изложен на 168 страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы с результатами собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы из 35 отечественных и 205 зарубежных источников, приложения. Данные диссертации иллюстрированы 48 таблицами и 25 рисунком.

ГЛАВА 1. РАННЯЯ И ПОЗДНЯЯ ПРЕЭКЛАМПСИЯ: ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ И ДИАГНОСТИКИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Ранняя и поздняя преэклампсия: два разных по происхождению заболевания

Преэклампсия (ПЭ) – осложнение беременности, характеризующееся наличием артериальной гипертензии (АГ) и полиорганными нарушениями, оказывающее крайне неблагоприятное влияние на состояние матери и плода. ПЭ возникает в 5–8 % беременностей и является ведущей причиной материнской и перинатальной заболеваемости и смертности [1, 3, 25, 30, 131].

Согласно национальным и международным рекомендациям гипертензивные расстройства во время беременности подразделяются на хроническую АГ, гестационную АГ, а также ПЭ (возникшую после 20 недель беременности или наслоившуюся на предшествующую АГ) и эклампсию. В настоящее время разработана классификация ПЭ в зависимости от срока беременности на момент постановки диагноза или на момент родоразрешения: ранняя ПЭ <34 недель беременности и поздняя ПЭ ≥34 недель гестации [2, 10, 11, 26, 210].

Ранняя ПЭ встречается от 5 до 20 % всех случаев ПЭ. Последствия для матери и плода обусловлены повреждением плаценты (плацентарная форма). Это наиболее тяжелый клинический вариант течения заболевания, часто сопровождающегося недостаточным ростом плода. Развитие ранней ПЭ связано с расстройством иммунной системы, нарушением плацентации, выраженными проявлениями эндотелиальной дисфункции и недостаточной инвазией трофобласта [22, 33, 191, 192, 225].

Поздняя ПЭ встречается более чем в 80 % всех случаев ПЭ. Данный вид заболевания связан с конституциональными факторами матери (материнская форма): метаболическими расстройствами (инсулинорезистентность, высокий индекс

массы тела), возрастом беременной старше 35 лет, заболеваниями почек и сердечнососудистой системы в анамнезе [16, 24, 90]. Данный вид ПЭ редко сопровождается недостаточным ростом плода и нарушением кровотока в маточных артериях. Поздняя ПЭ в анамнезе является значительным фактором риска раннего начала ПЭ в последующую беременность, тогда как обратная зависимость по риску между этими формами отсутствует [161, 202, 215].

Важно отметить, что фактор наследственности играет роль для риска ранней ПЭ, а также повторного ее эпизода, но не прослеживается для поздней формы [21, 201].

В подтверждение плацентарного генеза развития ранней ПЭ показано, что нарушение кровотока в пуповинных и маточных артериях предшествует началу ранней ПЭ гораздо чаще, чем поздней ПЭ [29, 44, 89]. В этой связи допплерометрический анализ кровотока в маточной артерии позволяет прогнозировать начало ранней ПЭ и недостаточный рост плода при этом осложнении беременности со значительно большей ценностью, чем позднее начало ПЭ [163].

Кроме того уровень факторов ангиогенеза значимо ниже, а провоспалительных модуляторов значимо выше в латентном периоде, предшествующем раннему началу ПЭ при сравнении с поздней ПЭ, что в свою очередь демонстрирует значительную прогностическую ценность этих веществ относительно именно для ранней формы заболевания [17, 23, 47, 95].

Развитие ранней ПЭ сопровождается значительным снижением перфузионной фракции плаценты по сравнению с поздней ПЭ, а по данным макроскопического исследования последов демонстрирует большее количество инфарктов, меньший размер плаценты и преобладание очагов недостаточного развития по сравнению с поздней ПЭ [49, 180, 191].

Ранняя и поздняя ПЭ представляют 2 разных гемодинамических статуса и степени почечных нарушений, предшествующих заболеванию и сопровождающих его течение. Общее периферическое сопротивление сосудов, сердечный выброс значимо ниже при более высоких показателях артериального давления (АД), а

уровень суточной протеинурии, креатинина и мочевой кислоты значимо выше при ранней форме заболевания [44, 90, 96].

Раннее начало ПЭ практически всегда связано с преждевременной индукцией родов на фоне высокой частоты недостаточного роста плода, поэтому перинатальные исходы в отличие от поздней формы катастрофически отличаются по массе тела детей, тяжести состояния новорожденных и распространенности перинатальной заболеваемости и смертности [18, 47, 92, 133].

Таким образом, весьма очевидно, что ранняя и поздняя ПЭ являются проявлением различных по своему происхождению и патогенезу заболеваниями. В этой связи со значительной долей вероятности можно полагать, гено-фенотипический анализ позволит разработать прогностические критерии ранней и поздней ПЭ, а так же оптимизировать доклиническую диагностику для улучшения акушерских и перинатальных исходов при этих формах гипертензивных расстройств у беременных.

1.2. Молекулярно-генетические ассоциации в предрасположенности и диагностике ранней и поздней преэклампсии

Исследования семейного анамнеза у пациенток с ПЭ показали, что данная форма специфичной для беременности формы гипертензии, имеет высокий коэффициент наследуемости (до 50 %) [5, 8, 27, 55, 161].

Пациентки, чьи родственники второй степени родства страдали ПЭ, имеют риск развития этого осложнения беременности в 2 раза больший, чем женщины без семейного анамнеза по ПЭ, а у родственников первой степени родства этот риск увеличивается в 5 раз [128, 200]. Повторное развитие ПЭ отмечается у 13,1 % женщин с этим осложнением беременности в анамнезе и лишь у 1,7 % без такового. [39, 168].

1.2.1. Ассоциация полиморфных локусов генов *TLR, TNF-α, IL-10, NOS3* и *VDR* с риском ранней и поздней преэклампсии

Полиморфизм гена *TLR4*

Толл-подобный рецептор 4 (Toll-like receptor, TLR4) – мембранный белок, относящийся к классу клеточных рецепторов с одним трансмембранным фрагментом, которые распознают структуры микроорганизмов и активируют клеточный иммунный ответ [220]. Чрезмерная активация TLR и выработка неконтролируемого количества провоспалительных цитокинов (ЦК) IL - 6, 8, 18, фактора некроза опухолей альфа, хемокинов, синтазы оксида азота, что способствует развитию системной воспалительной реакции, повреждению тканей и формированию осложнений основного заболевания [12, 127, 204].

Ген толл-подобного рецептора 4 (*TLR4*) расположен на хромосоме 9q32-33. Полиморфный маркер rs4986790 гена *TLR4* представляет собой однонуклеотидную замену A→G в положении +896 в экзоне 3, приводящую к аминокислотной замене аспарагиновой кислоты на глицин в положении 299 во внеклеточном домене рецептора. Посредством данного домена происходит прямое взаимодействие рецептора с лигандами [12, 67].

Функциональный полиморфизм генов толл-рецепторов, реализует свое действие на начальных этапах воспаления, характере протекания защитных реакций и предрасположенности к ряду заболеваний [128]. Так по данным B. B. van Rijn и соавт. [165] частота гомозиготного генотипа по минорному аллелю локуса rs4986790 гена *TLR4* у беременных с ранней ПЭ значимо выше, что ассоциировано с увеличением риска этого осложнения беременности в 2,3 раза, а также повышенным 4,1 раза риском HELLP синдрома. Кроме того, у пациенток с ранней ПЭ носительство генотипа риска сайта rs4986790 гена *TLR4* связано с увеличением уровня провоспалительного IL-6 в 6,9 раза при сравнении с нормальной гестацией [191]. Вместе с тем, мутантные гомозиготные генотипы молекулярных вариантов генов *TLR2* (A753G) и *TLR4* (A299G и T399I) не ассоциируется с умеренной степенью и поздней ПЭ, но являются строгими предикторами тяжелой степени

заболевания и раннего его начала [223]. Однако в ряде исследования, проводивших ассоциативный анализ полиморфных локусов гена *TLR4* (A299G и T399I) относительно риска ПЭ, показано, что указанные генетические маркеры не влияют на риск этого осложнения беременности [142, 207, 222]. Можно согласиться с мнением авторов, указывающих, что распределение частот молекулярных вариантов гена *TLR4* напрямую связано с популяционным составом выборки, а значит и разным влиянием этого генетического маркера на риск осложнений беременности [67, 222].

У беременных с ПЭ значительно увеличена экспрессия плацентарных и моноцитарных TLR4, приводящие к модифицированию процессов клеточной адгезии, ангиогенеза, а также воспаления [181, 212]. Увеличивается уровень провоспалительных IL-6 и фактора некроза опухолей альфа (TNF-α), но снижается концентрация противовоспалительных IL-10 и IL-4, опосредованная этими рецепторами [43, 207]. Авторы полагают, что мутантные аллели сайта rs4986790 гена *TLR4*, кодируют аминокислотную последовательность белковой части TLR4 с измененными свойствами, что в свою очередь влияет на связь этих рецепторов с лигандами, включаясь в патогенез ПЭ.

Весьма интересным оказалось исследование, где в группе пациенток с ПЭ, получавших витамина D, при сравнении с группой плацебо значимо снижалась экспрессия TLR4 на поверхности моноцитов и уровень провоспалительных цитокинов [233, 238].

Полиморфизм гена *TNF-α*

Ген фактора некроза опухолей - альфа (Tumor necrosis factor – alpha, *TNF-α*) определен в хромосомном положении 6p21.3. Полиморфный маркер rs1800629 гена *TNF-α* является наиболее важным в клинико-эпидемиологических исследованиях и представляет собой однонуклеотидный полиморфизм промоторной области гена в позиции -308 с заменой гуанина на аденин [50, 84].

В ряде популяций полиморфный локус rs1800629 гена *TNF-α* ассоциирован с риском ПЭ т. к. в исследовании случай-контроль у беременных с генотипом AA риск этого осложнения гестации увеличивался до четырехкратного [55, 58, 59,

135, 187, 226]. Вероятно это связано с тем, что мутантный аллель А полиморфизма rs1800629 гена *TNF-α* увеличивает транскрипцию в промоторной области гена и концентрацию TNF-α [134, 156, 228]. Уровень этого провоспалительного ЦК увеличен в плазме крови и плацентарной ткани у пациенток с ПЭ и в свою очередь значимо коррелирует с проявлениями эндотелиальной дисфункции, выраженностью протеинурии и низкой массой при рождении у новорожденных при этом осложнении беременности [56, 63, 132, 184, 210].

Кроме того, минорный аллель А локуса rs1800629 гена *TNF-α* ассоциирован с увеличением уровня креатинина и фибронектина, а также снижением клубочковой фильтрации в случае ПЭ при сравнении по этим показателям с GG гомозиготами [221]. Молекулы TNF-α так же влияют на системные проявления гестационной гипертензии, а снижение его концентрации улучшает характеристики гемодинамики [134]. Следует отметить, что в работе C. Xie и соавт. показана значимая ассоциация мутантного аллеля А локуса rs1800629 гена *TNF-α* с уровнем TNF-α, а также значимо большую его концентрацию у беременных ПЭ. Однако влияния на риск ПЭ по указанному полиморфизму авторы не обнаружили [38]. Вместе с тем, есть сведения, что полиморфизм rs1800629 гена *TNF-α* не всегда связан с характером клинической картины и тяжестью ПЭ [227].

Несмотря на изученную роль провоспалительного TNF-α в инициировании и прогрессировании ПЭ, ассоциацию локуса rs1800629 гена *TNF-α* с гестационным повышением АД ряд авторов в исследованиях формата случай-контроль опровергают [39, 41, 45, 84, 85, 210].

К такому же заключению пришли и авторы мета-аналитического исследования, охватывающего 16 исследовательских программ относительно ассоциации локуса rs1800629 гена *TNF-α* и ПЭ [69]. В работе A. Molvarec и соавт. не обнаружено различий генотипов полиморфизма rs1800629 гена *TNF-α* между нормотензивными беременными и пациентками с ПЭ, однако им удалось выявить связь между частотой недостаточного роста плода и носительством минорного аллеля А этого локуса в группе ПЭ [52].

Полиморфизм гена *IL-10*

Ген интерлейкина - 10 (Interleukin - 10, IL-10) локализован в хромосоме 1, в области q31-q32 состоит из пяти экзонов и четырех интронов. Полиморфным вариантом гена IL-10 является локус rs1800896, находящийся в области промотора и влияющий на транскрипцию мРНК и экспрессию IL-10 [85]. IL-10 обладает свойствами ингибировать синтез провоспалительных ЦК и дисфункцию эндотелия сосудов, подавлять экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости II класса, пролиферацию Т-клеток [84, 93, 97, 145, 230].

Учитывая противовоспалительные свойства IL-10, его уровень в плазме крови и уровень экспрессии мРНК в плаценте у пациенток с ПЭ снижается, что в свою очередь ассоциировано с носительством мутантного гомозиготного генотипа АА локуса rs1800896 гена *IL-10* [179, 197]. Таким образом, полиморфный локус rs1800896 гена *IL-10* ассоциирован с ПЭ. Так у носителей генотипа АА этого молекулярного варианта гена *IL-10* риск этого осложнения беременности до 3,38 раза выше, чем у гомозигот по G аллелю [59, 179, 185, 227].

Вместе с тем, у беременных с ПЭ частота генотипа GG полиморфного локуса rs1800896 гена *IL-10* ниже, чем нормотензивных женщин [85]. В этой связи аллель дикого типа полиморфизмов гена *IL-10* обладает защитными свойствами относительно ПЭ [143, 197]. Однако, по мнению E. Kamali-Sarvestani с соавт., напротив, именно аллель G полиморфизма rs1800896 гена *IL-10* увеличивает риск ПЭ, т. к. в его присутствии уровень IL-10 снижается [60].

Необходимо отметить, результаты мета-аналитического обзора, охватывающего 11 исследований указывают на отсутствие ассоциации локуса rs1800896 гена *IL-10* с ПЭ [154]. Кроме того, на значительных выборках в исследовании случай-контроль так же не остановлено различий по полиморфизму rs1800896 гена *IL-10* между группами пациенток с ПЭ и здоровыми беременными [41, 113].

Не обнаружено ассоциации этого молекулярного варианта гена *IL-10* с ПЭ, а так же недостаточным ростом плода, гибелью плода до начала родов [144]. При ассоциативном анализе трех локусов гена *IL-10*: rs1800896, rs1800871 и rs1800872 относительно риска ПЭ в качестве генетических маркеров этого осложнения бе-

ременности установлены только последние два варианта гена *IL-10* [146, 185, 213]. По мнению W. Yang с соавт., значимость ассоциации полиморфизма rs1800896 гена *L-10* во многом определяется популяционным составом выборки, что необходимо учитывать как при мета-аналитических обзорах по этой теме, так и при проведении исследований случай-контроль [112].

Полиморфизм гена *NOS3*

Ген эндотелиальной синтазы оксида азота (nitric oxide synthase, *NOS3*) картирован на хромосоме 7 (область 7q35-q36). В экзонах и интронах этого гена обнаружен ряд полиморфных участков, из которых SNP полиморфизм в положении 894 в экзоне - (rs1799983) и полиморфный маркер, расположенный в области промотора в положении -786 - (rs2070744) [109, 126, 168]. Синтаза оксида азота - энзим, ответственный за синтез оксида (NO), который участвует в регуляции АД, распределении кровотока в органах, ингибировании адгезии и агрегации тромбоцитов и подавлении некоторых функций лейкоцитов [46, 171, 176, 203, 205].

Полиморфный локус rs1799983 гена *NOS3* ассоциируется с нарушением эндотелий-зависимой вазодилятации, снижением концентрации NO, редукцией маточно-плацентарного кровотока, выраженностью протеинурии и антиоксидантной защиты у беременных [99, 101, 136, 186, 214]. Молекулярный вариант rs2070744 гена *NOS3* связан со значительным угнетением активности кодируемого фермента, повышением АД и снижением уровня мРНК синтазы NO в плаценте [116].

Однако роль обоих полиморфизмов с точки зрения ассоциации с ПЭ остается противоречивой. Так в одном из мета-анализов подтверждена связь обоих локусов (rs1799983 и rs2070744) с ПЭ [61]. В двух других мета-аналитических исследованиях ассоциация с ПЭ установлена только для какого-то одного молекулярного варианта гена *NOS3*: rs1799983 [104] или rs2070744 [217], а связь другого полиморфизма с ПЭ взаимно отрицается.

В ряде популяций показано, что гомозиготность ТТ локуса rs1799983 гена *NOS3* ассоциирована с риском ПЭ, а генотип СС является протективным в отношении этого осложнения беременности [53, 98, 105, 106, 124]. Присутствие в генотипе хотя бы одного аллеля Т этого полиморфизма rs1799983 гена *NOS3* явля-

ется строгим предиктором преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты, осложняющей ПЭ [130]. Однако, несмотря на показанное снижение уровня NO у пациенток с ПЭ гомозигот ТТ локуса rs1799983 гена *NOS3* по сравнению с носителями генотипов с аллелями G и группой нормотензивных беременных, значимого различия по молекулярным вариантам локуса rs1799983 гена *NOS3* между группой с ПЭ и контрольной не установлено [54, 57, 188].

По данным P. N. Alpoim и соавт. частота мутантных аллелей Т локуса rs1799983 гена *NOS3* значимо выше среди пациенток с поздней ПЭ при сравнении с группой нормотензивных беременных и группой ранней ПЭ. Кроме того частота гаплотипов с минорными аллелями (Т - С) локусов rs1799983 и rs2070744 гена *NOS3* выше именно в группе с поздней ПЭ, чем ранней формой этого осложнения беременности [183].

В ряде клинико-экспериментальных и мета-аналитическом исследовании отрицается ассоциация отдельных полиморфизмов rs1799983 и rs2070744 гена *NOS3* с ПЭ, однако указано, что только комбинации рисковых аллелей (гаплотип С-Т) этих полиморфных маркеров связаны с гестационным повышением АД, более низкой концентрацией NO и повышением уровня продуктов перекисного окисления липидов [42, 102, 111, 172, 203].

Мутантный аллель С полиморфизма rs2070744гена *NOS3* связан с проявлениями дисфункции эндотелия и выраженностью ПЭ в некоторых популяциях, т.к. этот генетический маркер ассоциирован со снижением активности синтазы NO [53, 218, 219]. Кроме того, сайт rs2070744гена *NOS3* значимо увеличивает риск HELLP синдрома и эклампсии, тогда как локус rs1799983 этого гена такими свойствами не обладает [57]. Однако некоторые исследователи ассоциации полиморфного локуса rs2070744 гена *NOS3* с ПЭ не обнаружили, хотя показали, что генотип ТТ этого сайта значимо коррелирует с уровнем АД у гипертензивных пациенток [34, 105, 124, 188, 189]. Кроме того, показано, что полиморфизмы rs1799983 и rs2070744 гена *NOS3* не ассоциируются с клиническими особенностями течения ПЭ (выраженностью гипертензии и протеинурии), но значимо определяют характер плацентарных нарушений у гипертензивных пациенток [95, 103, 107, 110].

Полиморфизм гена *VDR*

Ген рецептора витамина D (vitamin D receptor, *VDR*) расположен на коротком плече 12 хромосомы (область 12 q12-14) и содержит 11 экзонов. Одними из наиболее функционально значимых локусов гена *VDR* являются 2 полиморфизма в позиции соответствующих точкам узнавания эндонуклеаз: BsmI (rs1544410) и TaqI (rs731236) [35].

Витамин D оказывает превентивное действие в отношении артериальной гипертензии путем влияния на уровень ренина и ангиотензина II, пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов, улучшает эндотелий-зависимую вазодилятацию [36, 94]. В этой связи установлена обратная корреляция между уровнем витамина D и показателями систолического / диастолического АД [35, 235].

Активная форма витамина D 1,25(OH)2D регулирует транскрипцию и функцию генов, ассоциированных с инвазией трофобласта, плацентацией и ангиогенезом [216]. Витамин D подавляет секрецию провоспалительных ЦК и факторов агрегации тромбоцитов у пациенток с ПЭ, а низкий уровень метаболитов этого витамина увеличивает с риск ПЭ и рождение детей с низкой массой тела [157, 166, 167, 237]. Вместе с тем, уровень экспрессии VDR в плаценте в случае ПЭ снижается [117, 206]. Учитывая доказанную связь гиповитаминоза D и риска ПЭ, было предложено использовать этот витамин для профилактики этого осложнения беременности [234, 238]. Однако в рекомендациях ВОЗ этому методу был присвоен низкий уровень доказательности [25]. Вероятно такая ситуация связана со значительным генетическим полиморфизмом структур, реализующим эффекты витамина D в тканях при различных осложнениях беременности [64, 216].

Так в ряде работ показано, что у носителей генотипов BB и Bb полиморфного маркера BsmI (rs1544410) гена *VDR* значения систолического и диастолического АД, а так же их рост АД был выше по сравнению с индивидуумами с bb генотипом [19, 35, 235]. Кроме того, эти же авторы не нашли значимых различий частот генотипов локуса BsmI (rs1544410) гена *VDR* и уровня витамина D между обследованными с нормальным и повышенным АД, что позволило им заключить о зависимости чувствительности рецепторов витамина D к лиганду, обусловлен-

ную генетическим разнообразием гена *VDR*. Так мутация Т на С в локусе FokI (rs2228570) гена *VDR* приводит к синтезу протеина с меньшей массой, но с большей биологической активностью, что в свою очередь ассоциировано со снижением риска гипертензии [235].

На основании результатов анализа частот молекулярных вариантов гена *VDR* в локусах BsmI (rs1544410), FokI (rs2228570), а так же TaqI (rs731236) между группами пациенток с ПЭ, гестационной гипертензией и беременных нормальным уровнем АД значимых различий не обнаружено [236]. Носительство аллеля G полиморфизма FokI (rs2228570) гена *VDR* ассоциируется с риском ПЭ в китайской популяции, тогда как полиморфные маркеры Cdx2 (rs11568820) и BsmI (rs1544410) гена *VDR* не увеличивают вероятность развития этого осложнения беременности [125]. Аналогичный результат относительно ассоциации локуса Cdx2 (rs11568820) гена *VDR* с ПЭ получили и другие авторы [51].

Таким образом, по причине явной противоречивости данных относительно распределения частот молекулярных вариантов тестируемых полиморфизмов генов, относительно их ассоциации с риском ранней и поздней ПЭ, имеющей, по всей видимости, очевидную основу в гетерогенности популяций, необходимо продолжить исследовательскую работу в этом направлении применительно к конкретным выборкам беременных.

1.2.2. Внеклеточные циркулирующие формы ДНК: патобиологические и прикладные аспекты при ранней и поздней преэклампсии

Ишемия плацентарной ткани и оксидативный стресс сопровождаются поступлением в материнский кровоток провоспалительных ЦК, продуктов перекисного окисления липидов, микрофрагментов синцитиотрофобласта, ДНК и РНК плодного происхождения, что запускает системную воспалительную реакцию, лежащую в основе ПЭ [211]. Концентрация внеклеточных форм ДНК в плазме крови матери (внеклеточной плодной ДНК (впДНК) и внеклеточной общей ДНК (воДНК)) может увеличиваться до появления клиники ПЭ. Это явление связано с

процессами гипоксии / реоксигенации в пределах межворсинчатого пространства, приводящей к оксидативному стрессу ткани, некрозу и увеличению плацентарного апоптоза – это т. н. первый пик увеличения уровня впДНК в материнской крови [151, 229]. В этой связи для доклинической диагностики и прогнозирования ПЭ увеличение уровня впДНК и во ДНК в плазме крови матери может быть использовано уже с I триместра беременности [9, 28, 177]. Так показатели впДНК, взятой в 12-18 недель беременности, ассоциированы с восьмикратным увеличением риска ПЭ [140]. По данным F. Salvianti и соавт. чувствительность воДНК и впДНК в качестве маркера доклинической диагностики ПЭ составляет 87,5 % и 100,0 % при 70,0 % и 50,0 % специфичности теста, что позволяет определять ПЭ за 2-18 и 8-17 недель до ее начала соответственно [196].

В ряде мета-аналитических исследований отмечено, что впДНК является чувствительным биомаркером преимущественно для ранней и тяжелой ПЭ. Однако прогностические возможности этого метода напрямую зависят от срока беременности, когда произведен анализ. Так прогностическая ценность для ранней и тяжелой ПЭ составляет только 18,0 % при анализе в 11-13 недель, но увеличивается до 68,8 % в 17-28 недель беременности. С другой стороны уровень прогноза по концентрации впДНК для «любой ПЭ» в 11-14 недель является незначимым, но 15-28 недель увеличивается до 37 % [72, 82, 119].

В работе S. Y. Kim и соавт. предложена модель прогнозирования ПЭ, включающая кроме воДНК и впДНК еще ассоциированный с беременностью протеин-А плазмы (PAPP-A). Данный метод имеет прогностическую ценность 67,0 % при 10,0 % ложноположительных результатах [91].

Однако стоит заметить, что в ряде работ значения внеклеточных форм ДНК для прогноза осложнений беременности не подтверждается. Так в большом когортном исследовании, включавшего беременных низкого перинтального риска, при анализе впДНК в начале II триместра гестации не установлено ассоциации между уровнем внеклеточного плодного материала и ПЭ, недостаточным ростом плода и преждевременными родами [74]. Аналогичные данные представлены и в другой работе (анализ проведен в I триместре беременности), однако по данным

этих авторов уровень впДНК значимо коррелирует с пульсационным индексом в маточной артерии и весом беременных на момент поступления в стационар [164]. Кроме того, не получено значимых различий по уровню воДНК между беременными с ПЭ и контрольной группой, что делает невозможным использование этого биомаркера для прогноза ПЭ [77].

Учитывая специфичность источников циркулирующих форм ДНК, эти молекулы предложены в качестве нового биомаркера для пренатальной диагностики недостаточного роста плода, причем не только у пациенток с ПЭ [75]. Так концентрация впДНК ассоциирована с риском этого осложнения беременности и ПЭ, в свою очередь коррелируя с нарушениями кровотока в маточной артерии и артериях пуповины [14, 83]. Однако необходимо заметить, что концентрация впДНК коррелирует со степенью тяжести плацентарных нарушений преимущественно у пациенток с ранней ПЭ, где аномальная инвазия ворсин хориона и плацентация являются ведущими пусковыми механизмами патогенеза этого осложнения беременности [224].

Уровень впДНК может определяться путем анализа локусов *SRY* и *DYS14*, связанных с Y-хромосомой, в этом случае анализируются образцы только при беременности плодом мужского пола [14, 153]. Однако предложены альтернативные подходы с использованием независимых от пола эмбриональных эпигенетических маркеров. Так маркеры *DSCR3* и *RASSF1A* используются для детекции впДНК, а *HYP2* для определения воДНК, кроме того предложен анализ гиперметилированных форм ДНК плодного происхождения [82, 91, 211].

Развитие ПЭ связано со вторым пиком повышения крови впДНК в плазме крови матери и по разным данным происходит в 3-40 раз, что в свою очередь может зависеть от нарушения почечного клиренса фетального биомаркера в условиях ПЭ [118, 229]. В реализации патогенеза ПЭ впДНК связана с уровнем активина А, ингибирующего рост сосудистого эндотелия при инвазии трофобласта, уровнем маркеров оксидативного стресса и аномального васкулогенеза [199].

Уровень впДНК ассоциирован с выраженностью симптомов ПЭ, сроком возникновения и степенью тяжести [73]. Так в ряду средняя степень тяжести ПЭ –

тяжелая ПЭ – HELLP-синдром уровень внеклеточного плодного материала возрастает, достигая максимума при последнем [235]. Учитывая эти обстоятельства, авторы предложили использовать впДНК в качестве биомаркера тяжелой ПЭ и HELLP-синдрома. Необходимо отметить, что, источником высокого уровня воДНК у пациенток с ПЭ (в отличие от впДНК) является преимущественно печеночная ткань, цитолиз которой отмечается при этом осложнении беременности, что наиболее выражено именно при HELLP-синдроме [76].

Стоит заметить, что, по мнению ряда авторов, механизм, с помощью которого внеклеточные формы ДНК ассоциируются с ПЭ, неясен. Так введение образцов ДНК, вызывающих воспаление в эксперименте, не приводило к развитию ПЭ [140]. Кроме того, в ряде случаев уровень впДНК не ассоциирован с проявлениями системного воспалительного ответа. Однако такое явление, по мнению B. Koneč и соавт. [151] может быть связано с активностью дезоксирибонуклеаз, разрушающих внеклеточные формы ДНК, предотвращая развитие и прогрессирование гипертензии, специфичной для беременности.

Таким образом, проанализированные литературные данные указывают на отсутствие маркерных тестов по внеклеточным формам ДНК относительно их ассоциации с различными формами ПЭ и клиническими особенностями течения этих осложнений беременности, а также противоречивость сведений по этой проблеме, что в свою очередь является основанием для проведения настоящего раздела работы.

1.3. Эндотелиальная регуляция тонуса сосудов при преэклампсии: патологическая физиология и биомаркеры эндотелиальной дисфункции

Адаптация к физиологической беременности происходит на фоне прироста общего объема циркулирующей крови на 50% со снижением периферического сопротивления сосудов, на 30-50% увеличения ударного объема сердца и пятидесятикратном росте кровотока в матке. Все эти процессы происходят при прогресси-

рующей эндотелий-зависимой (ЭЗВД) и эндотелий-независимой вазодилятации (ЭНЗД) [108, 195, 232].

Согласно современной теории развития, ПЭ проходит 2 последовательные стадии патогенеза заболевания: плацентарную (стадия 1) и клиническую (стадия 2), но для всех этих стадий ключевым звеном является состояние эндотелиальной дисфункции (ЭД) [13, 15, 159]. ЭД у беременных в условиях ПЭ имеет тотальных характер и заключается в прогрессирующем увеличении периферического сопротивления резистивных сосудов, сосудов маточно-плацентарной области при активации вазопрессоров и ослаблении вазодилататорных влияний, а также увеличении провоспалительного состояния и протромботических свойств эндотелия [20, 37, 68, 114].

Важно отметить, что патогенез ЭД и реактивности сосудов при ПЭ отличается от такового при других заболеваниях, а их выраженность увеличивается по мере нарастания симптомов этого осложнения беременности [4, 7, 132, 231]. У пациенток, перенесших раннюю ПЭ, нарушения ЭЗВД остаются и после родов на период от 1 года и более [40, 139]. Нарушения функции эндотелия является основой для развития (микро) ангиопатий и независимым фактором риска сердечнососудистых заболеваний в будущем [15, 86].

Одним из важнейших пусковых механизмов ЭД является редукция маточно-плацентарного кровотока, исследованная в эксперименте и клинике [88, 182]. Примечательно, что нарушение ЭЗВД более выражено на фоне редукции кровотока в маточных артериях с двух сторон, чем при одностороннем поражении этих сосудов [32].

Согласно этой модели, нарушение перфузии плаценты ассоциировано с высвобождением различных факторов альтерации эндотелия. Среди этих факторов выделяют растворимые молекула клеточной адгезии 1 типа (sICAM-1), сосудистые молекула межклеточной адгезии 1 типа (sVCAM-1), растворимый селектин Е (sE-selectin), фактор фон Виллебранда (vWF), активатор ингибитора плазминогена 1 типа (PA-1), провоспалительные ЦК (TNF-α, IL-6, IL-8), пентаксин-3 (PTX-3), тромбомодулин [80, 96, 115, 159]. Перечисленные повреждающие факторы кроме

прямой альтерации эндотелия и нарушения межклеточной кооперации эндотелиоцитов способствуют увеличению чувствительности сосудистой стенки к вазопрессорным эффектам ангиотензина II [152]. Кроме того, эти факторы являются, по мнению ряда авторов чувствительными биомаркерами ПЭ в латентную фазу этого осложнения беременности, а так же ассоциируются с недостаточным ростом плода у гипертензивных пациенток [5, 20, 114, 194].

На этапах формирования ЭД у беременных с ПЭ уровень антиангиогенной растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 (sFlt-1) в 3,5 раза повышается и ассоциируется с недостаточным ростом плода, а ангиогенных факторов – сосудистого и плацентарного факторов роста (VEGF, PlGF) в 1,3 и 18 раз снижается соответственно [66, 173, 198, 208].

В прямом повреждении эндотелия участвуют также активные формы кислорода – важнейшие инициаторы оксидативного стресса, уровень которых отрицательно влияет на показатели ЭЗВД у беременных с ПЭ, увеличивая также чувствительность сосудов к вазоконстрикторному влиянию ангиотензина II [205]. Установлена значимая ассоциация между маркерами оксидативного стресса, антиоксидантной защиты и уровнем ЭЗВД [175].

Нарушения сосудодвигательной функции эндотелия сопровождается снижением уровня в плазме крови стойких метаболитов NO при уменьшении активности синтазы этого вазодилятатора, тогда как активность антагонистов NO (ангиотензин-превращающего фермента и эндотелина 1) увеличивается [132, 178]. Однако в ряде исследований отрицается роль NO в нарушении сосудодвигательной функции эндотелия и реактивности сосудов [182].

В настоящее время значительное внимание при изучении проблем ЭД у беременных с ПЭ уделяют свойствам антител к рецепторам ангиотензина II (АТ1-АА). Указанные рецепторы локализуются в венах и артериях ворсин плаценты могут и в активированном состоянии нарушают кооперацию эндотелиальных клеток. Таким образом, АТ1-АА вызывают повреждение клеток эндотелия и приводят с ЭД при ПЭ и гипоперфузии плацентарной ткани [48, 62].

Ключевым моментом формирования ЭД при ПЭ является нарушение функции межклеточного канала эндотелия – коннексина 43 (Cx43) путем его фосфорилирования, что в свою очередь ингибирует поток ионизированного кальция между клетками и нарушает межклеточную кооперацию в ответ на стимулы оксида азота. В этой связи одной из основных точек приложения перечисленных выше повреждающих факторов и индукторов ЭД является именно Cx43 [80, 195]. В последнее время провидятся работы по таргентной терапии ДЭ. Так предлагаются средства для предотвращения нарушения вазорелаксации вызываемой NO, ингибирование рецепторов эндотелина типа А и влияющие на функцию Cx43 [68]. Матриксные металлопротезы являются важными регуляторами сосудистого ремоделирования на этапах плацентации. Так нарушение синтеза этих факторов в плаценте ведет к аномальному ремоделированию спиральных артерий и гипоперфузии плаценты, ЭД и как следствие – развитие ПЭ [31, 79].

Значительное количество работ посвящено функциональным методам исследования функции эндотелия с целью обоснования прогностических и диагностических критериев ПЭ [7, 86, 123, 169, 190, 239]. Исследования поток-зависимой вазодилятации на модели плечевой артерии наиболее обширные и, как правило, затрагивают 3 аналитических периода: 10-29 недель беременности (латентный период ПЭ), при манифестации заболевания и от 2 недель до 11 лет после родов [121, 137]. Так снижение реактивности плечевой артерии как в I, так и во II триместре беременности до появления симптомов ПЭ обладает высокой положительной ценностью для прогноза этого осложнения гестации [71, 114, 122]. По мнению A. H. Brandão и соавт. ишемическая проба обладает высокой прогностической ценностью в одинаковой мере, как для ранней, так и для поздней ПЭ [192]. Однако есть данные, что результаты исследования поток-зависимой вазодилятации во II триместре беременности не могут корректно прогнозировать вероятность развития ПЭ [70].

ПЭ характеризуется прогрессивным снижением показателей ЭЗВД в плечевой артерии или даже парадоксальным спазмом при проведении ишемической пробы, а количество гипертензивных испытуемых с такой реакцией в 8 раз боль-

ше, чем при нормальной беременности [65, 123]. Кроме того, поток-зависимая вазодилятация оказывается более выраженной у пациенток с ПЭ, чем у беременных с гестационной гипертензией [120]. Однако есть мнение, что показатели ЭЗВД у пациенток с ПЭ не отличаются от таковых при нормальной гестации, хотя коррелируют со степенью метаболических расстройств при этом осложнении беременности [139].

Важно отметить, что показатели ЭЗВД в крупных сосудах идентичны таковым для микроциркуляторного русла различной топографии [138, 158, 174]. Однако при исследовании свойства микроциркуляции в динамике беременности с применением фармакологических проб так же получены разноречивые данные. Так, для нормальной гестации характерно только адаптивное увеличение ЭЗВД [108]. В случае ПЭ возрастает ЭЗВД и ЭНВД или только дилатация сосудов, опосредованная эндотелием, причем в большей степени, чем у нормотензивных женщин. Авторы объясняют эту закономерность компенсаторным увеличением чувствительности эндотелия к NO в условиях гестационного повышения АД [78, 170].

Таким образом, несмотря на весьма обширную исследовательскую базу по ЭД, ряд направлений остается неизученным. Так отсутствуют сведения о характере нарушения функции эндотелия по результатам анализа кровотока в сосудах кожи применительно к формам ПЭ с разным сроком манифестации, а стало быть, остаются неразработанными вопросы прогнозирования и доклинической диагностики этих осложнений беременности на основании данных модели кожной микроциркуляции.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Организация исследования и принципы формирования выборок

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России (ректор – профессор М. Н. Калинкин) на кафедре акушерства и гинекологии с курсом акушерства и гинекологии ФДПО, интернатуры и ординатуры.

Генетические исследования выполнены в молекулярно-диагностической лаборатории ФГБОУ ВО «Тверского государственного медицинского университета» Минздрава России (руководитель – профессор М. Н. Калинкин).

Пациентки включались в исследование после получения добровольного информированного согласия. Все исследования одобрены Этическим комитетом ФГБОУ ВО «Тверского государственного медицинского университета» Минздрава России и проводились с учетом нормативных документов, регламентирующих правила биомедицинских исследований с участием людей.

Типы исследования: проспективное когортное исследование и исследование случай-контроль.

Исследуемая популяция: пациентки из популяции русских, постоянно проживающих на территории Тверской области, наблюдавшиеся в ГБУЗ ТО «ОКПЦ им. Е. М. Бакуниной» (главный врач – к.м.н. Л. Ю. Гребенщикова), ГБУЗ ТО «Родильный дом №2» (главный врач – Т. Г. Васина), акушерском отделении ГБУЗ ТО «Областной клинической больницы» г. Твери (главный врач – доцент С. Е. Козлов), женских консультациях родильных домов г. Твери за период с 2013 по 2017 г.г.

В таблице 1 представлены данные относительно общего количества родов и родов у пациенток с ПЭ, проведенных в стационарах II и III уровня Тверской области за период с 2015 по 2017 годы.

Таблица 1 – Количество родов общее и у пациенток с ПЭ, проведенных в стационарах II и III уровня Тверской области в 2015-2017 г.г.

Годы	Общее количество на II уровне	Из них с ПЭ	Общее количество на III уровне	Из них с ПЭ
2015	10048	151 (1,51 %)	2912	122 (4,19 %)
2016	9626	134 (1,39 %)	3268	131 (4,01 %)
2017	8711	121 (1,38 %)	2751	116 (4,21 %)

Метод формирования выборки: сплошной по мере обращаемости.

Сформированы выборки из двух групп беременных (основной группы и контрольной группа). В основную группу вошли 255 пациенток, у которых на основании клинических признаков диагностирована ПЭ (рубрика Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ 10) - О14 «Вызванная беременностью гипертензия со значительной протеинурией»).

Критерии включения в группу пациенток с ПЭ согласно утвержденному клиническому протоколу [2]:

- Согласие на проведение исследования.
- Наличие АГ (после 20 недели беременности): систолическое АД ≥140 мм рт. ст. и/или диастолическое АД ≥90 мм рт. ст., определенное как среднее в результате, как минимум, 2-х измерений, проведенных на одной руке через 15 мин. с интервалом более 4 часов у пациенток с нормальным АД в анамнезе.
- Клинически значимая протеинурия: наличие белка в моче ≥0,3 г/л в суточной пробе (24 часа) либо в двух пробах, взятых с интервалом 6 часов.

Критерии исключения: отказ от проведения исследования или продолжения проведения исследования, многоплодная беременность, уровень АД ≥130/85 мм р.ст. в I триместре гестации, сахарный диабет (все формы, включая гестационный сахарный диабет), гипо- и гипертиреоз (все формы).

Основная группа разделена на 2 подгруппы. Первую подгруппу с ПЭ составили 143 пациентки с поздней ПЭ (у этих беременных отмечено начало ПЭ в 34 недели гестации и позже). Гестационный срок в группе 34-38 недель.

Вторую подгруппу составили 112 пациенток с ранней ПЭ (начало ПЭ до 34 недели гестации). Срок гестации в группе 25-33 недели.

Тяжелая форма ПЭ (рубрика МКБ 10 – О14.1 «Тяжелая преэклампсия») при поздней манифестации этого осложнения беременности отмечена у 53 (37,1 %) пациенток и у 48 (42,9 %) с ранним началом заболевания. ПЭ средней степени тяжести (по МКБ 10 – О14.0 «Преэклампсия средней тяжести») диагностировалась у 90 (62,9 %) и 64 (57,1 %) беременных основных групп соответственно.

В отдельных частях работы выделяются подгруппы пациенток с задержкой роста плода (рубрика МКБ 10 - О36.5 «Недостаточный рост плода, требующий предоставления медицинской помощи матери» и Р05 «Замедленный рост и недостаточность питания плода»). Критерий включения: масса новорожденного ниже десятого процентиля для данного срока беременности и / или определенная антенатально по данным фетометрии предполагаемая масса плода ниже пятого процентиля.

Для анализа прогностических критериев ПЭ сформирована группа из 27 беременных. В нее вошли 18 женщин с ПЭ в анамнезе и рецидивом при настоящей гестации, а также 9 пациенток без отягощенного анамнеза по ПЭ (исключены из группы контроля) у которых во II и III триместре развилась ПЭ. Ранняя ПЭ диагностирована у 8 беременных, а поздняя ПЭ у 19 женщин.

Контрольная группа представлена 120 беременными из диспансерных групп здоровых или практически здоровых, чья гестация закончилась родами в 37 недель 1 день - 41 неделя беременности с рождением детей с нормальной массой тела без признаков асфиксии. Роды в группе были самопроизвольными или проводилось плановое кесарево сечение.

2.2. Генотипирование полиморфных локусов генов

Всего для генотипирования представлено 354 образца ДНК крови. Исследовано 7 однонуклеотидных полиморфизмов (Single nucleotide polymorphism, SNP) пяти генов-кандидатов ПЭ (табл. 1).

Таблица 2 - Изученные полиморфизмы генов-кандидатов преэклампсии

Ген	Локализация гена	Полиморфный локус
NOS3 (Nitric oxide synthase 3, MIM 163729)	7q36	G894T (rs1799983)
NOS3 (Nitric oxide synthase 3, MIM 163729)	7q36	-786T/C (rs2070744)
VDR (vitamin D receptor, MIM 601769)	12 q12-14	BsmI (rs1544410)
VDR (vitamin D receptor, MIM 601769)	12 q12-14	TaqI (rs731236)
TLR4 (Toll like receptor 4, MIM 603030)	9q32-33	Asp299Gly (rs4986790)
TNF-α (Tumor necrosis factor – alpha, MIM 191160)	6p21.3	-308G/A (rs1800629)
IL-10 (Interleukin - 10, MIM 124092)	1q31-q32	-1082G/A (rs1800896)

Выделение тотальной геномной ДНК пациенток из 100 мкл цельной венозной крови, стабилизированной этилендиаминтетрауксусной кислотой, проводили сорбентным методом с использованием набора «Diatom DNA Prep 100» (ООО «Лаборатория «Изоген», РФ) в соответствии с протоколом изготовителя.

Однонуклеотидные полиморфизмы типировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени с использованием набора праймеров и аллель-специфических гибридизационных зондов, а также универсальной реакционной смеси («Applied Biosystems», США).

Приготовление реакционных смесей осуществляли в соответствии с инструкциями предприятия-изготовителя. В качестве детектирующего амплификатора

использовали систему регистрации ПЦР ДНК «ABI Prism» модели 7500 («Applied Biosystems», США).

2.3. Определение концентрации общей и плодной внеклеточной ДНК в плазме крови беременных

Для исследования представлено 173 образца крови беременных, вынашивавших плод мужского пола при одноплодной гестации. В качестве отрицательного контроля обследовано 20 беременных с плодами женского пола.

Забор крови для расчета прогностической ценности метода относительно риска ПЭ, основанного на уровне внеклеточных форм ДНК выполнен в 15-18 недель беременности. Диагностические критерии по уровням воДНК и впДНК относительно ранней, поздней ПЭ, степени тяжести заболеваний и недостаточного роста плода рассчитаны на основании результатов анализов образцов крови, полученной при поступлении в стационар пациенток с ПЭ или в 26-36 недель гестации для группы контроля.

Выделение внеклеточной ДНК проводили из 1000 мкл плазмы крови методом сорбции на магнитных частицах с использованием набора «РеалБест экстракция 1000» (ЗАО «Вектор-Бест», РФ).

Элюцию осуществляли в объеме 40 мкл. Для определения концентрации ДНК использовали тест-системы “Quantifiler” и “Quantifiler Y” («Applied Biosystems», США) по методике, представленной производителем.

С помощью данных тест-систем оценивали кинетику накопления продуктов амплификации локусов 5p15.33 (ген теломеразной обратной транскриптазы *TERT*, MIM 187270) для определения концентрации общей ДНК и Yp11.3 (ген детерминирующего пол региона Y-хромосомы *SRY*, MIM 480000) для определения уровня плодной ДНК в плазме крови матери соответственно.

Амплификацию проводили с помощью системы регистрации ПЦР ДНК «ABI Prism» модели 7500 («Applied Biosystems», США). Для повышения чувстви-

тельности метода в каждую реакцию вносили по 4 мкл элюата, что по содержанию ДНК соответствовало 100 мкл плазмы крови.

2.4. Ультразвуковая допплерография микрососудов кожи

Для оценки скоростных показателей кровотока в микрососудах кожи (МК) использовали постоянноволновую высокочастотную ультразвуковую допплерографию с помощью прибора «Минимакс-Допплер-К» (ООО «СП-Минимакс», Санкт-Петербург, Россия).

Аппарат имеет следующие характеристики: частота двухэлементного ультразвукового датчика 25 МГц; диаметр рабочей части датчика, находящейся в непосредственном контакте с тканью - 0,65мм; регистрируемые линейная (V) и объемная (Q) скорости кровотока обрабатываются программой Minimax1.8 и рассматриваются как интегральные гемодинамические характеристики.

Для выяснения прогностических возможностей параметров реактивности микрососудов кожи регистрация допплерограмм проведена в 18-22 недели беременности («измерение 1»). Диагностические критерии по данным сосудодвигательной функции эндотелия относительно ранней, поздней ПЭ и недостаточного роста плода рассчитаны на основании результатов, полученных при поступлении в стационар пациенток с ПЭ или в 28-36 недель гестации для группы контроля («измерение 2»).

Регистрация допплерограмм выполнена в комнате с температурой воздуха 18-22°С после 10-15 минут отдыха в положении беременной сидя. Исследование проводится в области ногтевого валика среднего пальца кисти. Угол установки датчика к исследуемой поверхности составлял 60º, что соответствует наилучшему акустическому и визуальному допплеровскому сигналу.

Анализ кривой скорости кровотока включает количественную оценку. В качестве количественной характеристики допплерограммы использована линейная скорость кровотока, а именно, максимальная систолическая скорость кровотока по кривой максимальной скорости (Vs), измеренная в см/с.

В зависимости от целей и задач исследования с помощью прибора «Минимакс-Допплер-К» можно оценивать объемную скорость, другие параметры линейной скорости кровотока.

Для оценки тонуса МК и их реактивности использовалась проба с постокклюзионной реактивной гиперемией (ПРГ), в основу которой положена методика исследования функции эндотелия [4].

Сначала регистрируется фоновая линейная скорость кровотока в МК (Vs). Затем на плечо беременной накладывалась манжетка манометра, в которой нагнеталось давление до момента исчезновения спектра кровотока на мониторе аппарата (компрессия плечевой артерии). Компрессия плечевой артерии продолжалась 3 минуты [87]. Запись допплерограммы и регистрация Vs после декомпрессии выполнялась через 30 секунд, 1, 2, 3, 4 и 5 минут.

Количественно ПРГ отражают следующие показатели:

- Коэффициент прироста скорости кровотока в МК (V%accel), рассчитанный по формуле: V%accel = Vmax – Vinit / Vinit · 100%, где: Vinit – исходный (фоновый) кровоток (исходная Vs), Vmax – максимальный кровоток (максимальная Vs).
- Время постокклюзионной реактивной гиперемии – это время от начала декомпрессии до возврата линейной скорости кровотока (Vs) в МК к фоновым показателям.

2.5. Антенатальная оценка состояния плода

- Ультразвуковое исследование фетоплацентарного комплекса включало фето- и плацентометрию, вычисление объема околоплодной жидкости, а также оценку кровотока в сосудах фетоплацентарного комплекса с помощью допплерометрии. Исследования проведены с применением ультразвукового сканера «Toshiba Aplio» (Toshiba Medical Systems Corporation, Япония).

- Регистрация кардиотахограмм осуществлена с помощью фетального монитора Sonicaid® Team IP (Huntleigh Healthcare Ltd, Великобритания). Оценка состояния плода выполнена по W. Fischer и показателю состояния плода [3].

Таблица 3 - Общий объем проведенных исследований

Вид исследования	Количество
Клинико-анамнестическое исследование пациенток и их новорожденных	375
Генотипирование	354
Определение концентрации внеклеточных форм ДНК	173
Ультразвуковая допплерография МК	140

2.6. Методы статистической обработка полученных данных

При анализе количественных данных проверку на нормальность распределения фактических данных проводили с помощью *W*-критерия Шапиро-Вилка. Результаты представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей (Me, Q_1-Q_3), среднего и стандартного отклонений (M±SD).

При проведении сравнений независимых выборок в случае нормального распределения и равных дисперсий в группах применяли *t*-критерий Стьюдента, при отклонении распределения от нормального применяли непараметрический *U*-критерий Манна-Уитни (с расчетом критерия *Z*).

При анализе качественных данных для определения взаимосвязи между качественными переменными проводили анализ таблиц сопряженности с использованием критерия согласия χ^2 (при объеме выборки более 50 и частотах более 5) или (при невыполнении этих требований) точный критерий Фишера. При размерностях таблиц больше чем 2x2, при достоверных различиях эмпирических форм распределения изучаемых признаков при попарных сравнениях применяли точный критерий Фишера с поправкой Бонферрони.

Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в исследовании принимался <0,05.

Тесты на соблюдение равновесия Харди–Вайнберга и выявление ассоциаций в исследованиях «случай-контроль» выполнялись по критерию χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса на непрерывность или точному критерию Фишера.

Об ассоциации разных генотипов с ПЭ судили по величине отношения шансов (odds ratio (OR)). OR=(A/B) / (C/D), где A – число беременных с данным генотипом в группе «случай» (наличие ПЭ), а C – то же в группе «контроль» (без ПЭ), B – число беременных, не имеющих данного генотипа, при наличии ПЭ, а D – среди индивидуумов без ПЭ.

Для анализа различий частот генотипов и аллелей между тестируемыми выборками использованы следующие модели расчета: общая, мультипликативная, доминантная и рецессивная, а так же тест Кохрана - Армитажа для линейных трендов (Armitage's trend test).

Определение статистической значимости независимых предикторов ПЭ и расчет прогностических моделей выполнено с помощью бинарной пошаговой логистической регрессии. Рассчитывались: вероятность возникновения события (Exp (B)) с 95 % доверительным интервалом (95 % CI), статистика Wald, стандартизованные коэффициенты (B), их стандартные ошибки (S.E.), уровень значимости (p) для каждого из анализируемых факторов.

Для анализа прогностической ценности выбранных критериев использовался анализ кривой ROC (receiver operating characteristic, рабочая характеристика приёмника) по методу Хенли и МакНила. Рассчитывалась:

- Площадь под ROC кривой (Area under the ROC curve (AUC)) с оценкой значимости результата (критерий Z);
- Чувствительность;
- Специфичность;
- Отношение правдоподобия положительного результата (likelihood ratio of a positive test, +LR) (чувствительность / (1 — специфичность));

- Отношение правдоподобия отрицательного результата теста (likelihood ratio of a negative test, -LR) (1 — чувствительность / специфичность).

Качество модели по интервальным значениям AUC расценивалось следующим образом: 0,9-1,0 – отличное, 0,8-0,9 – очень хорошее, 0,7-0,8 – хорошее, 0,6-0,7 – среднее и 0,5-0,6 – неудовлетворительное.

Формирование базы данных и все расчеты производились с использованием пакетов программ IBM SPSS Statistics (version 22, лицензия от 21.02.2108 г.) и MedCalc (version 17.7.7, MedCalc Software).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Клиническая характеристика наблюдений и анамнестические факторы риска ранней и поздней преэклампсии

Согласно цели исследования, сформированы выборки из двух групп беременных (основная и контрольная). В основную группу вошли 255 пациенток, у которых на основании клинических признаков диагностирована ПЭ (основная группа разделена на 2 подгруппы). Первую подгруппу с ПЭ составили 143 пациентки с поздней ПЭ (начало ПЭ в 34 недели гестации и позже). Вторую подгруппу составили 112 пациенток с ранней ПЭ (начало ПЭ до 34 недели гестации). Группу контрольную составили 120 женщин.

Средний возраст пациенток группы с поздней ПЭ составил 29,4 года (20-42 года), в группе с ранней ПЭ - 25,9 лет (19-36 лет), а в контроле - 25,7 (18-37 лет) соответственно. Значимых различий относительно среднего возраста обследованных беременных не установлено. Различия анализируемых групп установлены при изучении их возрастного состава (табл. 4).

Таблица 4 - Возрастные классы беременных основных и контрольной группы, n (%)

Возрастные классы	Поздняя ПЭ, (n=143)	Ранняя ПЭ, (n=112)	Контроль, (n=120)
«<20»	2 (1,4 %)#	7 (6,25 %)	4 (3,3%)
«20-25»	32 (22,4 %)*	43 (38,3 %)#	45 (37,5%)
«26-30»	34 (23,7 %)	26 (23,2 %)	46 (38,3%)
«31-35»	47 (32,9 %)*#	25 (22,3 %)	20 (16,6%)
«36-40»	21 (14,6 %)*#	8 (7,1 %)	5 (4,1%)
«>40»	7 (4,9 %)*	3 (2,7 %)	0

Примечание: Различия значимы между: * - группой с поздней ПЭ и контрольной; # - группой с ранней и поздней ПЭ (по критерию χ^2, точному критерию Фишера)

Пациенток с ранней ПЭ в возрасте до 20 лет было значимо больше, чем в группе с поздней ПЭ (χ^2=4,34, p<0,05). С другой стороны в группе с поздней ПЭ количество пациенток возрастном классе «20-25 лет» значимо меньше, чем в группе у беременных с ранней ПЭ и контрольной группой (χ^2=8,58, p<0,01 и χ^2=7,20, p<0,01).

Вместе с тем, в группе пациенток с поздней ПЭ при сравнении с группой контроля и группой с ранним началом ПЭ отмечается значимое накопление возрастных классов «31-35» (χ^2=11,19, p<0,01 и χ^2=4,75, p<0,05) и «36-40» (χ^2=9,77, p<0,01 и χ^2=4,27, p<0,01) соответственно.

При анализе наследственности установлено, что у пациенток в группе поздней ПЭ родственники первой степени родства страдали различными формами АГ чаще, чем в контроле (χ^2=4,49, p<0,05) (табл. 5). Тогда как семейный анамнез по АГ у беременных с ранней ПЭ значимо не отличался от такового в контрольной группе.

У пациенток, с обеими формами ПЭ при сравнении с группой контроля значимо чаще отмечались хронические экстрагенитальные заболевания. Среди нозологических единиц выделены: хронический пиелонефрит (χ^2=7,31, p<0,01 и χ^2=6,26, p<0,05), язвенные поражения гастродуоденальной области (χ^2=7,04, p<0,01 и χ^2=4,05, p<0,05), хронический бронхит (χ^2=6,68, p<0,01 и χ^2=5,20, p<0,05) соответственно.

Тогда как только для группы с поздней ПЭ в соматическом анамнезе оказалось характерным преобладание частота варикозной болезни и миопии над таковыми в контрольной группе (χ^2=5,37, p<0,05 и χ^2=4,33, p<0,05 соответственно). Примечательно, что значимых различий по частоте курения у обследованных пациенток не обнаружено.

Таблица 5 - Наследственность и соматический анамнез у беременных основных и контрольной группы, n (%)

Данные анамнеза	Поздняя ПЭ, (n=143)	Ранняя ПЭ, (n=112)	Контроль, (n=120)
АГ у родственников первой степени родства	23 (16,1 %)*	12 (10,7 %)	9 (7,5 %)
СД у родственников первой степени родства	3 (2,1 %)	3 (2,6 %)	1 (0,8 %)
Хронический гастрит	12 (8,4 %)	9 (8,0 %)	6 (5,0 %)
Хронический холецистит	6 (4,2 %)	5 (4,4 %)	2 (1,7 %)
Хронический тонзиллит	8 (5,6 %)	7 (6,2 %)	5 (4,2 %)
Хронический пиелонефрит	20 (13,4 %)*	15 (13,4 %)#	5 (4,2 %)
Хронический бронхит	13 (9,1 %)*	9 (8,0 %)#	2 (1,7 %)
Язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки	11 (7,7 %)	6 (5,4 %)#	1 (0,8 %)
Миопия	29 (20,3 %)*	18 (16,1 %)	13 (10,8 %)
Варикозная болезнь	21 (14,6 %)*	12 (10,7 %)	7 (5,8 %)
Курение	14 (9,8 %)	10 (8,9 %)	9 (7,5 %)

Примечание: Различия значимы между: * - группой с поздней ПЭ и контрольной; # - группой с ранней ПЭ и контрольной; (по критерию χ^2 или точному критерию Фишера), СД – сахарный диабет

Удельный вес в структуре гинекологических заболеваний у беременных с поздней ПЭ относительно ряда нозологических единиц оказался значимо большим, чем у женщин с физиологическим течением беременности (табл. 6). Это коснулось воспалительных заболеваний придатков матки (χ^2=4,98, p<0,05), мимы матки (χ^2=7,29, p<0,01), а также различных форм бесплодия (χ^2=4,21, p<0,05).

Кроме того, различные формы миомы матки в анамнезе у пациенток с поздней ПЭ встречались значимо чаще, чем в группе с ранним началом этого ос-

ложнения беременности (χ^2=3,85, p<0,05). В группе же беременных с ранней ПЭ только частота синдрома поликистозных яичников (СПКЯ) оказалась значимо большей, чем у беременных с нормальным течением гестации (χ^2=4,13, p<0,05).

Таблица 6 - Особенности гинекологического анамнеза у беременных основных и контрольной группы, n (%)

Заболевания	Поздняя ПЭ, (n=143)	Ранняя ПЭ, (n=112)	Контроль, (n=120)
Воспалительные заболевания придатков матки	27 (18,9 %)*	12 (10,7 %)	11 (9,2 %)
Невосплит. объемные образования придатков матки	15 (10,5 %)	13 (11,6 %)	9 (7,5 %)
Заболевания шейки матки	20 (13,4 %)	16 (14,3 %)	13 (10,8 %)
Хронический эндометрит	3 (2,1 %)	3 (2,6 %)	1 (0,8 %)
Миома матки (все формы)	18 (12,5 %)* #	6 (5,4 %)	4 (3,3 %)
Эндометриоз (все формы)	6 (4,1 %)	4 (3,6 %)	2 (1,6 %)
Внематочная беременность	7 (4,8 %)	4 (3,6 %)	2 (1,6 %)
СПКЯ (все формы)	15 (10,5 %)	14 (12,5 %)**	6 (5,0 %)
Беременность в результате ЭКО	3 (2,1 %)	3 (3,6 %)	2 (1,6 %)
Бесплодие (все формы)	12 (8,4 %)*	6 (5,4 %)	3 (2,5 %)

Примечание: Различия значимы между: * - группой с поздней ПЭ и контрольной; ** - группой с ранней ПЭ и контрольной; # - группой с ранней и поздней ПЭ (по критерию χ^2 или точному критерию Фишера), ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

Среди пациенток с поздней ПЭ отмечена частота первородящих пациенток неблагоприятного фертильного возраста (старше 30 лет) значимо большая при сравнении с группой контроля (χ^2=4,32, p<0,05) (табл. 7).

Репродуктивные потери в виде выкидышей (самопроизвольных абортов) преобладали в обеих группах пациенток с ПЭ при сравнении с аналогичным показателем в контрольной группе (χ^2=4,06, p<0,05, и χ^2=3,85, p<0,05 соответственно).

Таблица 7 - Паритет родов и исходы предыдущих беременностей в основных и контрольной группе, n (%)

Данные анамнеза	Поздняя ПЭ, (n=143)	Ранняя ПЭ, (n=112)	Контроль, (n=120)
Первородящие (всего)	83 (58,1 %)	74 (66,1 %)	70 (58,4 %)
Старые первородящие	42 (29,4 %)*	23 (20,5 %)	22 (18,3 %)
Повторнородящие	60 (41,9 %)	38 (33,9 %)	50 (41,6 %)
Выкидыши	19 (13,3 %)*	15 (13,4 %)#	7 (5,8 %)
Медицинские аборты	47 (32,9 %)*	38 (33,9 %)#	23 (19,1 %)
Послеоперационный рубец на матке	19 (13,3 %)	14 (12,5 %)	10 (8,3 %)
ПЭ в анамнезе	14 (9,8 %)*	10 (8,9 %)#	0
Перинатальные потери	8 (5,6 %)*	4 (3,6 %)	1 (0,8 %)

Примечание: Различия значимы между: * - группой с поздней ПЭ и контрольной; # - группой с ранней ПЭ и контрольной (по критерию χ^2 или точному критерию Фишера)

Аналогичная картина отмечена при анализе частоты медицинских абортов в группах, так для обеих групп гипертензивных пациенток оказалось характерным значимое увеличение этого показатели над таковым у беременных с физиологической гестацией (χ^2=6,27, p<0,05, и χ^2=6,51, p<0,05 соответственно). ПЭ в анамнезе была характерна исключительно для пациенток основных групп, а частота пери-

натальных потерь в предыдущих беременностях была значимо выше у беременных с поздней формой ПЭ (χ^2=4,47, p<0,05).

Для беременных с поздней ПЭ оказалась характерна высокая частота избыточной массы тела и клинически выраженного ожирения (табл. 8). Так ожирение I и II степени (индекс массы тела (ИМТ) 30,0-34,0 и 35,0-39,9 кг/м^2 соответственно) значимо чаще встречалось в этой группе беременных, чем в контрольной (χ^2=7,73, p<0,01, и χ^2=9,73, p<0,01). Кроме того, I степень ожирения диагностировалась значимо чаще среди пациенток с поздней ПЭ, чем с ранним началом этого осложнения беременности (χ^2=4,58, p<0,05).

Таблица 8 - Показатели индекса массы тела у беременных основных и контрольной группы при постановке на учет по беременности, n (%)

ИМТ, кг/м^2	Поздняя ПЭ, (n=143)	Ранняя ПЭ, (n=112)	Контроль, (n=120)
18,5-24,9	56 (39,2 %)*	66 (58, 9 %)	79 (65,8 %)
25,0-29,9	39 (27,3 %)	24 (21,4 %)	26 (21,7 %)
30,0-34,0	36 (25,2 %)*	16 (14,3 %)#	14 (11,7 %)
35,0-39,9	14 (9,8 %)*	6 (5,3 %)**	1 (0,8 %)
≥40	4 (2,8 %)	0	0

Примечание: Различия значимы между: * - группой с поздней ПЭ и контрольной; ** - группой с ранней ПЭ и контрольной; # - группой с ранней и поздней ПЭ (по критерию χ^2 или точному критерию Фишера)

С другой стороны женщин с нормальным ИМТ и развитием поздней ПЭ оказалось значимо меньше, чем в группе беременных без АГ (χ^2=18,58, p<0,01). Среди пациенток с ранней ПЭ обследованных с избыточной массой тела и ожирением также было больше, чем в контроле, однако значимость различий установлена только по ожирению II степени (χ^2=4,05, p<0,05).

Таблица 9 - Осложнения беременности у женщин основных и контрольной группы, n (%)

Осложнения	Поздняя ПЭ, (n=143)	Ранняя ПЭ, (n=112)	Контроль, (n=120)
Угроза прерывания (все сроки гестации)	55 (38,5 %)*	42 (37,5 %)**	30 (25,0 %)
Рвота беременных	15 (10,5 %)	14 (12,5 %)	9 (7,5 %)
Инфекция почек при беременности	26 (18,2 %)*	15 (13,4 %)	8 (6,7 %)
Анемия	46 (32,2 %)*	34 (30,4 %)	25 (20,8 %)
Плацентарные нарушения (все степени)	93 (65,0 %)*	85 (75,9 %)**	15 (12,5 %)
Маловодие	28 (19,6 %)*	26 (23,2 %)**	0
Многоводие	12 (8,3 %)	6 (5,4 %)	4 (3,3 %)
Внутриутробная гипоксия плода	98 (68,5 %)*	88 (78,6 %)**	5 (4,2 %)
Синдром задержки роста плода	57 (39,9 %)*	45 (40,2 %)**	2 (1,6 %)
ПОНРП	12 (8,3 %)*	10 (8,9 %)**	0
HELLP (ELLP) – синдром (все классы)	7 (4,9 %)*	13 (11,6 %)** #	0

Примечание: Различия значимы между: * - группой с поздней ПЭ и контрольной; ** - группой с ранней ПЭ и контрольной; # - группой с ранней и поздней ПЭ (по критерию χ^2 или точному критерию Фишера)

Акушерские осложнения большинства, рассмотренных рубрик, значимо чаще отмечались в основных группах при сравнении с контролем (табл. 9).

Так признаки угрозы прерывания, характерные для всех гестационных сроков беременности, преобладали у группах пациенток, как с поздней, так и ранней ПЭ (χ^2=5,40, p<0,05, и χ^2=4,22, p<0,05 соответственно). Инфекция почек при беременности и анемия также чаще отмечены во время беременности у пациенток с АГ, чем в контроле, однако значимые различия установлены только для группы с поздним началом ПЭ (χ^2=7,68, p<0,01, и χ^2=4,25, p<0,05 соответственно).

Признаки нарушения в системе мать-плацента-плод и страдания плода явились строгой отличительной чертой беременных с ПЭ. В этой связи плацентарные нарушения (данные допплерометрии сосудов системы мать-плацента-плод) сопутствовали течению ПЭ значимо чаще, чем в контрольной группе: χ^2=74,40, p<0,01 – для группы с поздней ПЭ, и χ^2=94,92, p<0,01 – для раннего начала заболевания.

Аналогичная тенденция прослежена для частоты маловодия для поздней и ранней ПЭ при сравнении с контролем (χ^2=26,29, p<0,01, и χ^2=31,37, p<0,01) , внутриутробной гипоксии плода (данные кардиотахографии) (χ^2=112,28, p<0,01 и χ^2=133,53 p<0,01) и синдрома задержки роста плода (данные ультразвуковой фетометрии) (χ^2=54,69, p<0,01, и χ^2=53,18, p<0,01).

Кроме того, острая форма плацентарных нарушений - преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты (ПОНРП) отмечена исключительно у пациенток основных групп (χ^2=10,55, p<0,01, и χ^2=11,19, p<0,01).

Клинико-лабораторные признаки HELLP (ELLP) –синдрома, как одной из форм тяжелого течения ПЭ (соответственно отмечены только в основных группах), значимо чаще выявлялись у пациенток с ранним началом этой формы гипертензивного расстройства у беременных при сравнении с поздним началом ПЭ (χ^2=3,91, p<0,05).

Показатели клинического систолического АД в группах с поздней и ранней ПЭ превосходили значимо таковые в контроле (Z=2,03, p=0,042; Z=1,98, p=0,045 соответственно) (табл. 10), а также аналогичный показатель по диастолическому АД (Z=2,02, p=0,042; Z=2,05, p=0,038 соответственно).

Таблица 10- Клиническая характеристика беременных основных и контрольной группы при поступлении и исход родов, (n (%), M±SD, Me (Q1; Q3))

Признак	Поздняя ПЭ, (n=143)	Ранняя ПЭ, (n=112)	Контроль, (n=120)
Систолическое АД / диастолическое АД, мм рт.ст.	145,3 (141,8; 148,2) / 92,7 (90,5; 97,6)*	147,1 (142,5; 151,7) / 92,8 (91,9; 98,4)**	116,7 (108,5; 128,8) / 78,7 (83,9; 68,2)
Суточная протеинурия, г/сутки	2,86 (1,92; 3,88)*	3,84 (2,57; 4,60)**	0,05 (0,04; 0,18)
Срок родоразрешения, недель	37,1±2,2*	31,0±2,1**#	39,8±1,4
Преждевременные роды	98 (68,5 %)*#	112 (100 %)**	-
Срочные роды	45 (31,5 %)*#	-	120 (100 %)**
Кесарево сечение	109 (76,2 %)*#	108 (96,4 %)**	15 (12,5 %)
Естественные роды	34 (23,8 %)*#	4 (3,6 %)**	105 (87,5 %)

Примечание: Различия значимы между: * - группой с поздней ПЭ и контрольной; ** - группой с ранней ПЭ и контрольной; # - группой с ранней и поздней ПЭ (по критерию χ^2,критерию Манна-Уитни и критерию Стьюдента)

Аналогичная картина для уровня суточной протеинурии отмечена при сравнении значений для пациенток с поздней и ранней ПЭ и группы пациенток с нормальным АД (Z=2,00, p=0,044 и Z=2,02, p=0,046 соответственно).

Пациентки с ранним началом ПЭ родоразрешены значимо раньше, чем беременные с поздней ПЭ и в группе контроля (t=2,07, p=0,044 и t=2,28, p=0,023 соответственно).

В свою очередь срок беременности на момент родов в группе с поздней ПЭ был значимо меньше такового в контрольной группе (t=2,08, p=0,043). В этой связи соотношение преждевременных родов к срочным при сравнении двух группа с

гипертензией имело значимое различие (χ^2=42,79, p<0,01). В свою очередь, аналогичное сравнение между группой контроля и группами с поздней и ранней ПЭ так же выявило значимое различие (χ^2=131,08, p<0,01 и χ^2=232,00, p<0,01 соответственно).

Количество пациенток в группе с ранним началом ПЭ, родоразрешенных абдоминальным путем было подавляющим, что в свою очередь обеспечило значимое различие по соотношению кесарево сечение - естественные роды между этой группой и группами беременных с поздней ПЭ и контрольной (χ^2=20,22, p<0,01 и χ^2=163, 82, p<0,01 соответственно).

При сравнении по показателю кесарево сечение - естественные рода группы с поздней ПЭ и беременных с нормальным АД обнаружены значимые различия (χ^2=106,32, p<0,01), причем так же счет значительного количества абдоминальных родоразрешений у гипертензивных пациенток.

Гибель плода до начала родов была характерна исключительно для групп пациенток с ПЭ, однако, без статистической значимости различий с группой контроля (табл. 11).

Около двух третей новорожденных у матерей с поздней ПЭ и все дети в группе пациенток с ранней ПЭ родились недоношенными, что соответственно оказалось значимо большим при сравнении по этому показателю с контрольной группой (χ^2=118,73, p<0,01 – для поздней ПЭ, χ^2=232,00, p<0,01 – для ранней ПЭ).

Вместе с тем, недоношенных новорожденных в группе с ранней ПЭ соответственно было значимо больше, чем в группе поздней ПЭ (χ^2=49,93, p<0,01). При оценке перинатальных показателей выяснено, что вес при рождении доношенных новорожденных контрольной группы преобладал над таковым у матерей с поздней ПЭ (Z=2,03, p=0,043). Тогда как вес при рождении недоношенных детей от матерей группы ранней ПЭ был меньше, чем в группе с поздним началом ПЭ (Z=2,32, p=0,020).

Таблица 11 - Состояние новорожденных при рождении в основных и контрольной группе, n (%), Me (Q1; Q3)

Признаки	Поздняя ПЭ, (n=143)	Ранняя ПЭ, (n=112)	Контроль, (n=120)
Живорожденные	141 (98,6 %)	109 (97,3%)	120 (100 %)
Гибель плода до начала родов	4 (1,4 %)	3 (2,7%)	0
Доношенные новорожденные	51 (35,7 %)* #	0	120 (100 %)**
Недоношенные новорожденные	92 (64,3 %)* #	112 (100 %)**	0
Средний вес доношенных новорожденных, г	2878,1 (2490,3; 3134,7)*	-	3378,5 (3124,3; 3828,2)
Средний вес недоношен-ных новорожденных, г	1853,2 (1587,3; 2070,4) #	1010,9 (682,4; 1287, 3)	-
Асфиксия (все степени)	83 (58,0 %)* #	102 (91,9 %)**	0
Переведены в отделение детской реанимации	80 (55,9 %)* #	89 (79,5 %)**	0

Примечание: Различия значимы между: * - группой с поздней ПЭ и контрольной; ** - группой с ранней ПЭ и контрольной; # - группой с ранней и поздней ПЭ (по критерию χ^2, точному критерию Фишера и *U*-критерию Манна-Уитни)

Новорожденные матерей с поздней ПЭ и, особенно с ранним началом этого осложнения беременности получили низкие оценки по шкале В. Апгар, что в свою очередь связано с высокой частотой асфиксии при рождении у этих детей (χ^2=101,76, p<0,01 – для пары «контроль – поздняя ПЭ» и χ^2=195,03, p<0,01 – для пары «контроль – ранняя ПЭ»). Вместе с тем, рожденных в асфиксии детей в

группе с ранней ПЭ было значимо больше, чем в группе с поздней ПЭ (χ^2=34,40, p<0,01). Учитывая тяжесть состояния при рождении, большинство новорожденных в группе с ранней и поздней ПЭ требовали интенсивного наблюдения и лечения в условиях отделения детской реанимации (χ2=154,70, p<0,01 и χ2=96,03, p<0,01 при сравнении с контролем соответственно). Однако такому переводу подлежало больше новорожденных из группы с ранней ПЭ, чем с поздней (χ^2=15,54, p<0,01).

Количество всех осложнений неонатального периода из числа проанализированных в основных группах значимо выше (табл. 12), чем в контрольной.

Таблица 12 - Перинатальные состояния и исходы у новорожденных в основных и контрольной группе, n (%)

Осложнения	Поздняя ПЭ, (n=143)	Ранняя ПЭ, (n=112)	Контроль, (n=120)
Перинатальная патология всего	129 (90,2 %)*	112 (100 %)**	17 (14,2 %)
Перинатальные поражение ЦНС (все формы)	93 (65,0 %)* #	105 (93,7 %)**	9 (7,5 %)
Перинатальные инфекции (всего)	85 (59,4 %)* #	89 (79,5 %)**	3 (2,5 %)
в т.ч. врожденная пневмония	35 (24,4 %)*	43 (38,4 %)**	0
РДСН	48 (33,6 %)* #	88 (79,5 %)**	0
Гипотрофия (все степени)	38 (26,6 %)* #	43 (38,4 %)**	0
Гибель в неонатальном периоде	3 (2,1 %)	5 (4,5 %)**	0

Примечание: Различия значимы между: * - группой с поздней ПЭ и контрольной; ** - группой с ранней ПЭ и контрольной; # - группой с ранней и поздней ПЭ (по критерию χ^2 или точному критерию Фишера)

Так у новорожденных матерей с ранней и поздней ПЭ значимо чаще диагностировались: перинатальные поражение ЦНС ($\chi2$=164,62, p<0,01 и $\chi2$=85,02, p<0,01), перинатальные инфекции всех форм ($\chi2$=143,40, p<0,01 и $\chi2$=95,01, p<0,01), врожденная пневмония ($\chi2$=50,53, p<0,01 и $\chi2$=63,15, p<0,01), респираторный дистресс-синдром новорожденных (РДСН) ($\chi2$=49,27, p<0,01 и $\chi2$=151,90, p<0,01) и гипотрофия при рождении ($\chi2$=37,27, p<0,01 и $\chi2$=56,55, p<0,01) соответственно.

Гибель в неонатальном периоде была характерна только для групп гипертензивных пациенток, однако значимые различия установлены лишь для пары «ранняя ПЭ - контроль» ($\chi2$=5,47, p<0,05). Из трех анализируемых групп наименее благоприятные показатели течения неонатального периода демонстрировали новорожденные от матерей с ранней формой ПЭ. В этой связи значимость различий по большинству рубрик было установлено между ранним и поздним началом ПЭ, а именно: перинатальные поражение ЦНС ($\chi2$=29,83, p<0,01), перинатальные инфекции всех форм ($\chi2$=11,61, p<0,01), РДСН ($\chi2$=51,27, p<0,01) и гипотрофия ($\chi2$=4,04, p<0,05) соответственно

Таблица 13 – Независимые клинико-анамнестические предикторы ранней преэклампсии по данным бинарной логистической регрессии

Фактор риска	Беременные с фактором риска n (%)	Exp (B) (95% CI)	p
Хронический пиелонефрит	15 (13,4 %)	3,55 (1,24-10,13)	0,038
СПКЯ	14 (12,5 %)	2,71 (1,01-7,33)	0,047
ПЭ в анамнезе	10 (8,9 %)	12,96 (1,64-102,12)	<0,0001

Примечание: 95% CI – 95% доверительный интервал

В таблице 13 представлены результаты расчета независимых клинико-анамнестических факторов риска (предикторов) развития ранней формы ПЭ. Так хронические пиелонефрит увеличивает риск этого осложнения беременности, согласно значению Exp (B), в 3,55. Осложнения в гинекологическом анамнезе (СПКЯ) в 2,71 раз, а наличие перенесенной в предыдущую гестацию ПЭ в 12,96 раза соответственно.

Таблица 14 - Независимые клинико-анамнестические предикторы поздней преэклампсии по данным бинарной логистической регрессии

Фактор риска	Беременные с фактором риска, n (%)	Exp (B) (95% CI)	p
Возраст >35 лет	28 (19,6 %)	5,60 (2,8-15,01)	0,019
АГ у родственников первой степени родства	23 (16,1 %)	2,36 (1,04-5,32)	0,042
ПЭ в анамнезе	14 (9,8 %)	13,49 (1,81-107,2)	<0,0001
ИМТ ≥30 кг/м^2	54 (37,7 %)	4,24 (2,24-8,03)	0,034

Примечание: 95% CI – 95% доверительный интервал

Возраст на момент наступления настоящей беременности более 35 лет и наследственность, отягощенная по АГ, являются независимыми факторами риска поздней ПЭ, увеличивая ее риск в 5,6 и 2,36 раз соответственно (табл. 14).

Осложнение предыдущей беременности специфичной для гестации формой АГ связано с увеличением риска поздней ПЭ при настоящей беременности в 13,49 раз, а клинически выраженное ожирение на момент наступления беременности (ИМТ ≥30 кг/м2) в 4,24 раза.

Таким образом, раннее развитие ПЭ в отличие от поздней манифестации этого осложнения беременности ассоциируется с молодым возрастом пациенток.

Тогда как поздняя ПЭ возникает чаще после 31 года, что показано на отличии по возрастным классам «31-35» и старше и группой контроля. Фоновой соматической ассоциацией для поздней ПЭ явились: наследственность по АГ, варикозная болезнь и миопия, для ранней ПЭ – язвенные поражения гастродуоденальной области, а для обеих форм ПЭ: хронические воспалительные заболевания бронхолегочной и мочевыделительной системы.

В качестве фоновых факторов для развития поздней ПЭ определены: миома матки, воспалительные заболевания придатков матки и бесплодие в браке, для ранней ПЭ таковым стала связь с СПКЯ в анамнезе. Репродуктивные потери в предыдущих беременностях, а также ПЭ сопутствовали развитию обоих форм ПЭ в настоящей гестации. Фактором ассоциированным с ПЭ является избыточная масса тела и ожирение ввиду того, что градации ИМТ, соответствующие ожирению, наиболее часто встречались именно среди этих пациенток. Развитию ПЭ предшествовало и сопутствовало большинство других осложнений беременности.

Кроме того, клиническое течение ПЭ для обеих групп гипертензивных пациенток в значительной степени ассоциировано с различными формами проявлений плацентарных нарушений, что в свою очередь может быть как причиной, так и следствием прогрессирования гестационного повышения АД в ПЭ. Показания к досрочному родоразрешению и выбор кесарева сечения как метода обусловило наличие обоих форм ПЭ, однако необходимость досрочно завершить беременность оперативным путем появлялась значительно чаще при раннем начале заболевания. Это в свою очередь обусловило значимо большее количество преждевременных родов и малый вес при рождении среди новорожденных у пациенток с ранней ПЭ, чем при позднем начале заболевания.

Вместе с тем, гестационный срок на момент родов в сочетании с тяжестью течения ПЭ обусловили крайне неблагоприятные показатели состояния новорожденных в раннем неонатальном периоде. Причем ранний манифест ПЭ сочетался с рождением всех детей с теми или иными формами перинатальных нарушений на

фоне несколько более «благополучного» состояния новорожденных у матерей с поздней ПЭ.

Важно отметить, что независимыми предикторами ранней ПЭ явились СПКЯ и хронический пиелонефрит. Поздней ПЭ – возраст >35 лет, АГ у родственников первой степени родства, ИМТ ≥30 кг/м^2. Наличие в анамнезе ПЭ – строгий независимый предиктор обеих форм рассматриваемых гипертензивных расстройств, специфичных для беременности.

3.2. Ассоциации полиморфизмов генов-кандидатов с предрасположенностью к ранней и поздней преэклампсии

Преэклампсия (ПЭ) является мультифакториальным заболеванием с высоким компонентом наследуемости, так женщины, рожденные от матерей, страдавших ПЭ, имеют повышенный риск этого заболевания во время собственной гестации. В этой связи поиск ассоциации генетических маркеров с ПЭ и последующая оценка индивидуального генетического риска являются важным компонентом разработки подхода к прогнозированию и профилактике этого осложнения беременности в зависимости от наследственной предрасположенности конкретной пациентки. Однако генетический профиль пациенток с ПЭ оказывается очень изменчивым в связи с выраженной гетерогенностью патогенеза и симптоматики этого осложнения беременности, а стало быть, остается еще малоизученным.

3.2.1. Анализ ассоциации полиморфных локусов генов-кандидатов с предрасположенностью к ранней преэклампсии

Для генетического анализа в группу беременных с ранней ПЭ включено110 пациенток («случай»). Контрольную группу составили 108 беременных («контроль»).

Распределение генотипов полиморфных локусов TaqI (rs731236) и BsmI (rs1544410) гена *VDR* по данным анализа ассоциаций этих маркеров с ранней ПЭ не отличалось от ожидаемого при равновесии Харди-Вайнберга. Для полиморфизма BsmI (rs1544410) гена *VDR* в группе с ранней ПЭ - $\chi2=1,95$ ($p=0,16$) и $\chi2=0,03$ ($p=0,85$) в контрольной группе. По молекулярному варианту TaqI (rs731236) гена *VDR* для «контроля» - $\chi2=2,00$, ($p=0,16$) и для «случая» - $\chi2=1,41$, ($p=0,23$) соответственно.

Таблица 15 - Результаты анализа ассоциации генотипов и аллелей локусов BsmI (rs1544410) и TaqI (rs731236) гена *VDR* с ранней ПЭ

Генотипы и аллели	Контроль (n=108)	Ранняя ПЭ (n=110)	Критерий $\chi2$ (p)	OR (95 % CI)
Локус BsmI (rs1544410) гена *VDR*				
Генотип BB	14 (13,0 %)	20 (18,1 %)	5,28 (0,07)	1,49 (0,71–3,13)
Генотип Bb	51 (47,2 %)	62 (56,4 %)		1,44 (0,85–2,46)
Генотип bb	43 (39,8 %)	28 (25,5 %)		0,52 (0,29–0,92)
Аллель B	0,366	0,464	4,30 (0,04)	1,50 (1,02–2,20)
Аллель b	0,634	0,536		0,67 (0,45–0,98)
Локус TaqI (rs731236) гена *VDR*				
Генотип TT	32 (29,6%)	36 (32,8%)	0,26 (0,88)	1,16 (0,65–2,05)
Генотип Tt	60 (55,5%)	59 (53,6%)		0,93 (0,54–1,58)
Генотип tt	16 (14,8%)	15 (13,6%)		0,91 (0,42–1,94)
Аллель T	0,574	0,595	0,21 (0,65)	1,09 (0,75–1,60)
Аллель t	0,426	0,405		0,92 (0,63–1,34)

Примечание: OR – отношение шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал

У пациенток с ранней ПЭ значимо повышена частота встречаемости B аллеля в сайте BsmI (rs1544410) гена *VDR*, что даёт возможность рассматривать его

в качестве прогностического маркёра ассоциированного с риском развития этого осложнения беременности (увеличение риска в 1,5 раза) (табл. 15).

Обращает внимание тот факт, что у беременных контрольной группы чаще обнаруживалось носительство мутантного аллеля b полиморфного локуса BsmI (rs1544410) гена *VDR* (OR=0,67), чем у пациенток с гипертензией. Можно предположить, что присутствие в генотипе данного аллеля защищает от развития ранней ПЭ.

При анализе частот встречаемости полиморфного варианта TaqI (rs731236) гена *VDR* у пациенток с ранней ПЭ и в группе контроля не выявлено различий, как в отношении распределения аллелей, так и генотипов.

Таблица 16 - Результаты расчета доминантной модели наследования при анализе ассоциации генотипов локуса BsmI (rs1544410) гена *VDR* с ранней ПЭ

Генотипы	Контроль (n=108)	Ранняя ПЭ (n=110)	Критерий χ2 (p)	OR (95 % CI)
Генотип BB+Bb	65 (60,2 %)	82 (74,5 %)	5,12 (0,02)	1,94 (1,09–3,45)
Генотип bb	43 (39,8 %)	28 (25,5 %)		0,52 (0,29–0,92)

Примечание: OR – отношение шансов; 95 % CI – 95 % доверительный интервал

Расчет доминантной модели наследования для полиморфного локуса BsmI (rs1544410) гена *VDR* (генотипы BB+Bb против генотипа bb) показал, что присутствие B аллеля дикого типа как в гомозиготном, так и в гетерозиготном варианте генотипа ассоциируется с увеличение риска ранней ПЭ в 1,94 раза (табл. 16).

С другой стороны защитные свойства демонстрирует гомозиготный генотип bb локуса BsmI (rs1544410) гена *VDR*, ассоциируясь со снижением риска ПЭ с ранним началом (OR=0,52).

Распределение генотипов полиморфного локуса rs4986790 гена *TLR4* не отличалось от ожидаемого при равновесии Харди-Вайнберга. Для «контролей» $\chi2=0,16$, $p=0,69$, для «случаев» $\chi2=0,31$, $p=0,58$.

Полиморфный локус rs4986790 гена *TLR4* ассоциирован с риском развития ранней ПЭ (табл. 17) по причине значимости различий частот генотипов и аллелей между группами контроля и группой пациенток с гипертензией.

Таблица 17 - Результаты анализа ассоциации генотипов и аллелей локуса rs4986790 гена *TLR4* с ранней ПЭ

Генотипы и аллели	Контроль (n=108)	Ранняя ПЭ (n=110)	Критерий $\chi2$ (p)	OR (95 % CI)
Генотип AA	84 (77,8 %)	69 (62,7 %)	6,42 (0,04)	0,48 (0,26–0,87)
Генотип AG	22 (20,4 %)	35 (31,8 %)		1,93 (1,04–3,60)
Генотип GG	2 (1,8 %)	6 (5,5 %)		3,06 (0,60–15,50)
Аллель A	0,880	0,786	6,80 (0,009)	0,50 (0,30–0,85)
Аллель G	0,120	0,214		1,99 (1,18–3,34)

Примечание: OR – отношение шансов; 95 % CI – 95 % доверительный интервал

Частота минорного аллеля G и гетерозиготного генотипа AG локуса rs4986790 гена *TLR4* среди пациенток с ранним началом ПЭ была значимо выше, чем в контрольной группе. В этой связи у носителей мутантного аллеля и гетерозиготного генотипа AG риск ранней ПЭ увеличен в 1,99 и 1,93 раза соответственно.

В группе контроля отмечено значимое накопление частоты гомозиготного генотипа по аллелю дикого типа (AA), а также общей частоты аллеля A по сравнению с группой ранней ПЭ, что в свою очередь ассоциировано с понижением риска этого осложнения беременности у носителей этих молекулярных вариантов локуса rs4986790 гена *TLR4* (OR=0,48 и OR=0,50 соответственно).

Таблица 18 - Результаты расчета доминантной модели наследования при анализе ассоциации генотипов локуса rs4986790 гена *TLR4* с ранней ПЭ

Генотипы	Контроль (n=108)	Ранняя ПЭ (n=110)	Критерий χ2 (p)	OR (95 % CI)
Генотип AA	84 (77,8 %)	69 (62,7 %)	5,90 (0,02)	0,48 (0,26–0,87)
Генотип AG+GG	24 (22,2 %)	41 (37,3 %)		2,08 (1,15–3,77)

Примечание: OR – отношение шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал

Присутствие генотипов с минорным аллелем риска G полиморфизма rs4986790 гена *TLR4* (AG+GG) по данным расчета доминантной модели наследования могут являться маркерами увеличенного в 2,08 раза риска развития ранней ПЭ в связи со значимо большей частотой суммы этих полиморфизмов среди гипертензивных пациенток (табл. 18).

В свою очередь гомозиготный генотип AA является протективным в отношении развития ранней ПЭ (OR=0,48).

Частоты генотипов полиморфного локуса rs1800896 гена *IL-10* распределились согласно ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга: в контрольной группе $\chi2=1,28$, $p=0,26$, в группе беременных с ранней ПЭ $\chi2=1,16$, $p=0,28$.

При изучении частоты встречаемости генотипов локуса rs1800896 гена *IL-10* у пациенток с ранней ПЭ и в контрольной группе были получены следующие результаты (табл. 19).

В группе пациенток с осложненным течением беременности значимо повышена частота встречаемости аллеля A и гетерозиготного GA генотипа, что позволило выделить их как маркеры ассоциированные с риском развития ранней ПЭ, так присутствие их в генотипе увеличивает риск заболевания 1,54 и 1,90 раз соответственно.

Таблица 19 - Результаты анализа ассоциации генотипов и аллелей локуса rs1800896 гена *IL-10* с ранней ПЭ

Генотипы и аллели	Контроль (n=108)	Ранняя ПЭ (n=110)	Критерий χ2 (p)	OR (95 % CI)
Генотип GG	58 (53,7 %)	40 (36,4 %)	6,83 (0,03)	0,49 (0,29–0,85)
Генотип GA	39 (36,1 %)	57 (51,8 %)		1,90 (1,11–3,27)
Генотип AA	11 (10,2 %)	13 (11,8 %)		1,18 (0,50–2,77)
Аллель G	0,718	0,623	4,43 (0,04)	0,65 (0,43–0,97)
Аллель A	0,282	0,377		1,54 (1,03–2,30)

Примечание: OR – отношение шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал

Результаты статистического анализа продемонстрировали, что информативными маркёрами наследования защитных механизмов против ранней ПЭ является носительство аллеля G и гомозиготного генотипа GG. Данное положение основано на том, что в группе контроля указанные молекулярные варианты полиморфного сайта rs1800896гена *IL-10* обнаруживалось значимо чаще, чем у пациенток с ранней ПЭ (OR=0,49 и OR=0,65 соответственно).

Таблица 20 - Результаты расчета доминантной модели наследования при анализе ассоциации генотипов локуса rs1800896 гена *IL-10* с ранней ПЭ

Генотипы	Контроль (n=108)	Ранняя ПЭ (n=110)	Критерий χ2 (p)	OR (95 % CI)
Генотип GG	58 (53,7 %)	40 (36,4 %)	6,62 (0,01)	0,49 (0,29–0,85)
Генотип GA+AA	50 (46,3 %)	70 (63,6 %)		2,03 (1,18–3,49)

Примечание: OR – отношение шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал

Расчет доминантной модели наследования (генотип GG против генотипов GA+AA локуса rs1800896гена *IL-10*) показал ассоциацию генотипов с мутантным аллелем А с ранней ПЭ, т.к. риск данного осложнения беременности значимо увеличивается у носителей этих генотипов в 2,03 раза (табл. 20).

Распределение генотипов полиморфного локуса rs1800629 гена *TNF-α* соответствовало закону равновесия Харди-Вайнберга. Показатели соответствия составили для группы контроля: $\chi2=1,70$, $p=0,19$, в группе пациенток с ранней ПЭ - $\chi2=3,00$, $p=0,06$.

Таблица 21 - Результаты анализа ассоциации генотипов и аллелей локуса rs1800629 гена *TNF-α* с ранней ПЭ

Генотипы и аллели	Контроль (n=108)	Ранняя ПЭ (n=110)	Критерий χ2 (p)	OR (95 % CI)
Генотип GG	85 (78,7 %)	81 (73,6 %)	0,94 (0,62)	0,76 (0,40–1,41)
Генотип AG	20 (18,5 %)	24 (21,8 %)		1,23 (0,63–2,38)
Генотип AA	3 (2,8 %)	5 (4,5 %)		1,67 (0,39–7,15)
Аллель G	0,880	0,845	1,07 (0,3)	0,75 (0,43–1,30)
Аллель A	0,120	0,155		1,34 (0,77–2,31)

Примечание: OR – отношение шансов; 95 % CI – 95 % доверительный интервал

Частота генотипов и аллелей локуса rs1800629 гена *TNF-α* значимо не различалась между группой контроля и группой с ранней ПЭ, поэтому можно полагать, что указанный молекулярный вариант гена *TNF-α* не влияет на риск развития этого осложнения беременности (табл. 21).

Распределение частот генотипов полиморфных локусов rs2070744 и rs1799983 гена *NOS3* не отличались от ожидаемого при равновесии Харди-Вайнберга. По локусу rs2070744 гена *NOS3* для группы «контролей» $\chi2=2,96$, $p=0,09$, а для группы «случаев» $\chi2=2,48$, $p=0,12$, для полиморфизма rs1799983 гена *NOS3* $\chi2=2,46$, $p=0,11$ и $\chi2=3,63$, $p=0,06$ соответственно.

Таблица 22 - Результаты анализа ассоциации генотипов и аллелей локусов rs2070744 и rs1799983 гена *NOS3* с ранней ПЭ

Генотипы и аллели	Контроль (n=108)	Ранняя ПЭ (n=110)	Критерий χ2 (p)	OR (95 % CI)
Локус rs2070744 гена *NOS3*				
Генотип TT	38 (35,2 %)	27 (24,5 %)	4,43 (0,035)	0,39 (0,16-0,94)
Генотип TC	59 (54,6 %)	63 (57,3 %)		1,50 (0,81-2,76)
Генотип CC	11 (10,2 %)	20 (18,2 %)		2,55 (1,05-6,20)
Аллель T	0,625	0,532	3,88 (0,048)	0,68 (0,46-0,99)
Аллель C	0,375	0,468		1,46 (1,01-2,15)
Локус rs1799983 гена *NOS3*				
Генотип GG	92 (85,2 %)	86 (78,2 %)	1,91 (0,38)	0,62 (0,31–1,25)
Генотип GT	14 (13,0 %)	20 (18,2 %)		1,49 (0,71–3,13)
Генотип TT	2 (1,8 %)	4 (3,6 %)		2,00 (0,36–11,15)
Аллель G	0,917	0,873	2,23 (0,14)	0,62 (0,33–1,16)
Аллель T	0,083	0,127		1,60 (0,86–3,00)

Примечание: OR – отношение шансов; 95 % CI – 95 % доверительный интервал

Полиморфизм rs2070744 гена *NOS3* ассоциирован с риском ранней ПЭ по причине значимости различий частот гомозиготных генотипов (табл. 22). Так, значимое накопление в выборке пациенток с ранней ПЭ гомозигот по мутантному аллелю C, а также общей частоты указанного аллеля сайта rs2070744 гена *NOS3* при сравнении с аналогичными показателями в группе контроля указывает на повышение риска этого осложнения беременности в 2,55 и 1,46 раза соответственно. С другой стороны в группе контроля гомозиготы TT и носители аллеля T локуса rs2070744 гена *NOS3* обнаруживалось значимо чаще, чем у пациенток с ранней ПЭ (OR=0,39 и OR=0,68). В этой связи со значительной степенью вероятности можно утверждать, что носительство аллеля T и генотипа TT полиморфизма

rs2070744 гена *NOS3* является защитным генетическим механизмом в отношении развития ранней ПЭ.

Значимого различия по частоте генотипов и аллелей локуса rs1799983 гена *NOS3* между анализируемыми группами не обнаружено. Таким образом, этот молекулярный вариант гена *NOS3* не ассоциируется с риском ранней ПЭ.

Для группы с ранней ПЭ выделены 4 дилокусные комбинации локусов, модифицирующие риск развития этого осложнения беременности (табл. 23).

Таблица 23 - Результаты анализа ассоциации комбинаций генотипов с ранней ПЭ

Комбинации генотипов	OR (95 % CI)	p
BsmI (rs1544410) *VDR* (BB) + rs2070744 *NOS3* (CC)	2,56 (1,88-3,89)	0,032
rs2070744 *NOS3* (CC) + rs1800896 *IL-10* (AA)	1,67 (1,10-2,47)	0,048
rs4986790 *TLR4* (GG) + rs1800896 *IL-10* (AA)	2,28 (1,58-4,01)	0,027
rs1800629 *TNF-α* (GA+AA) + rs4986790 *TLR4* (GG)	3,44 (2,27-5,92)	0,001

Примечание: OR – отношение шансов; 95 % CI – 95 % доверительный интервал

Так у ВВ гомозигот сайта BsmI (rs1544410) *VDR* присутствие в генотипе гомозиготного варианта rs2070744 *NOS3* по аллелю С значимо увеличивает риск ранней ПЭ и кроме того ухудшает прогноз развития этого заболевания при сравнении с ассоциативной ценностью, рассчитанной для одного этого генотипа (OR=2,56 против OR=1,49 соответственно). Значимая пара генотипов «rs2070744 *NOS3* (CC) + rs1800896 *IL-10* (AA)» характеризует индивидуума большим риском развития ранней ПЭ при сравнении с монолокусной моделью для генотипа АА полиморфизма rs1800896 гена *IL-10*, но меньшей для генотипа СС rs2070744 гена *NOS3* (OR=1,67 против OR=1,18 и OR=2,55 соответственно). Комбинация генотипов GG локуса rs4986790 гена *TLR4* и АА полиморфизма rs1800896 гена *IL-10* мо-

дифицирует риск ранней ПЭ, ассоциированный с этими молекулярными вариантами генов в монолокусном расчете риска. В сторону увеличения при сравнении с указанным полиморфизмом гена *IL-10* и в сторону уменьшения относительно анализируемого генотипа локуса гена *TLR4* (OR=2,28 против OR=1,18 и OR=3,06 соответственно). В паре генотипов «rs1800629 *TNF-α* (GA+AA) + rs4986790 *TLR4* (GG)» присутствие минорного аллеля А сайта rs1800629 гена *TNF-α* проявляет свойство ассоциироваться с риском ранней ПЭ (увеличен в 3,44 раза), чего не установлено при расчете монолокусной модели для этого молекулярного варианта гена *TNF-α*. Кроме того, данная дилокусная комбинация увеличивает риск ранней ПЭ при сравнении по этому показателю, рассчитанному для гомозигот GG локуса rs4986790 гена *TLR4* (OR=3,44 против OR=3,06).

Таблица 24 - Ассоциация полиморфных маркеров генов-кандидатов и со степенью тяжести ранней ПЭ

Генетические маркеры	Умеренная ПЭ (n=63)	Тяжелая ПЭ (n=47)	OR (95% CI)
rs2070744 *NOS3* (TC+CC)	43 (68,2 %)	40 (85,1 %)	2,65 (1,01-6,95)
rs1800896 *IL-10* (GA+AA)	35 (55,5 %)	35 (74,4 %)	2,33 (1,02-5,31)
rs4986790 *TLR4* (AG+GG)	16 (25,4 %)	25 (53,2 %)	3,33 (1,49-7,47)
BsmI (rs1544410) *VDR* (BB) +rs2070744 *NOS3* (CC)	17 (27,0 %)	23 (48,9 %)	2,59 (1,16-5,75)

Примечание: OR – отношение шансов; 95 % CI – 95 % доверительный интервал

Проведен анализ ассоциаций генотипов локусов генов со степенью тяжести ранней ПЭ (тяжелая ПЭ отмечена у 47 (42,7%) пациенток) (табл. 24).

Выявлены четыре генетических маркеров, увеличивающих риск тяжелой ПЭ в случае ее развития ранее 34 недель гестации.

Риск тяжелого течения ранней ПЭ оказался повышенным в присутствии генотипов с мутантным аллелем С полиморфизма rs2070744 гена *NOS3*, у носителей

минорных аллелей А в генотипах полиморфного локуса rs1800896 гена *IL-10*, у гомозигот G и гетерозигот сайта rs4986790 гена *TLR4*, а также в группе носителей молекулярных вариантов из пары «BsmI (rs1544410) *VDR* (BB) + rs2070744 *NOS3* (CC)».

Перечисленные генетические маркеры увеличивали риск тяжелого течения в случае развития ранней формы ПЭ в 2,65, 2,33, 3,33 и в 2,59 раз соответственно.

Задержка роста плода в анализируемой выборке отмечена у 44 пациенток (40,0%). Определены три варианта генетических маркеров ассоциированных с этим осложнением беременности у пациенток с ранней ПЭ (табл. 25).

Таблица 25 - Ассоциация полиморфизмов генов-кандидатов с задержкой роста плода при ранней ПЭ

Генетические маркеры	Признак есть (n=44)	Признака нет (n=66)	OR (95% CI)
BsmI (rs1544410) *VDR* (BB+Bb)	38 (86,4 %)	44 (66,7 %)	3,16 (1,16-8,62)
rs1800629 *TNF-α* (GA+AA)	17 (38,6 %)	12 (18,2 %)	2,83 (1,18-6,77)
rs2070744 *NOS3* (TC+CC)	38 (86,4 %)	45 (68,3 %)	2,95 (1,08-8,07)

Примечание: OR – отношение шансов; 95 % CI – 95% доверительный интервал

Среди пациенток с ранней ПЭ и присоединившейся задержкой роста плода было значимо больше носителей генотипов BB и Bb локуса BsmI (rs1544410) гена *VDR*, чем среди гипертензивных беременных без такового осложнения гестации.

В этой связи можно полагать, что указанный генетический маркер увеличивает риск развития задержки роста плода у беременных с ранней ПЭ (в 3,16 для анализируемых выборок). Генотипы GA+AA локуса rs1800629 гена *TNF-α* и TC+CC сайта rs2070744 гена *NOS3* так же ассоциируются развитием задержки роста плода у пациенток с ранней ПЭ, увеличивая риск этого осложнения беременности в 2,83 и 2,95 раз соответственно.

3.2.2. Анализ ассоциации полиморфных локусов генов-кандидатов с предрасположенностью к поздней преэклампсии

Для генотипирования в группу беременных с поздней ПЭ включено136 пациенток («случай»). Образцы ДНК из крови в группе контроля группе получены от 108 беременных («контроль»).

Таблица 26 - Результаты анализа ассоциации генотипов и аллелей локусов BsmI (rs1544410) и TaqI (rs731236) гена *VDR* с поздней ПЭ

Генотипы и аллели	Контроль (n=108)	Поздняя ПЭ (n=136)	Критерий χ2 (p)	OR (95 % CI)
Локус BsmI (rs1544410) гена *VDR*				
Генотип BB	14 (13,0 %)	19 (14,0 %)	2,16 (0,34)	1,09 (0,52–2,29)
Генотип Bb	51 (47,2 %)	75 (55,1 %)		1,37 (0,83–2,28)
Генотип bb	43 (39,8 %)	42 (30,9 %)		0,68 (0,40–1,15)
Аллель B	0,366	0,415	1,25 (0,26)	1,23 (0,85–1,78)
Аллель b	0,634	0,585		0,81 (0,56–1,17)
Локус TaqI (rs731236) гена *VDR*				
Генотип TT	32 (29,6 %)	36 (26,5 %)	0,29 (0,58)	0,81 (0,36-1,95)
Генотип Tt	60 (55,5 %)	78 (57,4 %)		1,15 (0,64-1,57)
Генотип tt	16 (14,8 %)	22 (16,1 %)		1,22 (0,54-2,72)
Аллель T	0,574	0,551	0,08 (0,77)	0,90 (0,44-1,81)
Аллель t	0,426	0,449		1,17 (0,66-2,05)

Примечание: OR – отношение шансов; 95 % CI – 95 % доверительный интервал

При анализе распределения генотипов полиморфных локусов гена рецептора витамина D (TaqI (rs731236) и BsmI (rs1544410)) установлено, что оно не отли-

чалось от ожидаемого при равновесии Харди-Вайнберга. Так по полиморфизму TaqI (rs731236) гена *VDR* для «контроля» - $\chi2=3,05$, ($p=0,08$) и для «случая» - $\chi2=3,50$, ($p=0,06$) соответственно. Для локуса BsmI (rs1544410) гена *VDR* в группе с поздней ПЭ - $\chi2=0,03$ ($p=0,85$) и $\chi2=2,49$ ($p=0,11$) в контрольной группе.

Статистически значимого различия частот генотипов и аллелей полиморфизмов BsmI (rs1544410) гена *VDR* и TaqI (rs731236) гена *VDR* между группой беременных с поздней ПЭ и контрольной группой не отмечено (табл. 26).

Распределение частот генотипов полиморфизма rs4986790 гена *TLR4* соответствовало распределению по закону Харди-Вайнберга (для группы контроля - $\chi2=0,10$, $p=0,74$, для группы беременных с поздней ПЭ - $\chi2=0,05$, $p=0,82$). Результаты ассоциативного анализа полиморфного локуса rs4986790 гена TLR4 с поздней ПЭ, представлены в таблице 27.

Таблица 27 - Результаты анализа ассоциации генотипов и аллелей локуса rs4986790 гена *TLR4* с поздней ПЭ

Генотипы и аллели	Контроль (n=108)	Поздняя ПЭ (n=136)	Критерий $\chi2$ (p)	OR (95 % CI)
Генотип AA	84 (77,8 %)	91 (66,9 %)	1,02 (0,31)	0,43 (0,08-2,29)
Генотип AG	22 (20,4 %)	40 (29,4 %)		1,73 (0,97-3,08)
Генотип GG	2 (1,8 %)	5 (3,7 %)		2,30 (0,43-12,21)
Аллель A	0,880	0,816	3,69 (0,054)	0,68 (0,36-1,01)
Аллель G	0,120	0,184		1,64 (0,98-2,74)

Примечание: OR – отношение шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал

Полиморфный локус rs4986790 гена *TLR4* оказывается неассоциированным с поздней ПЭ по причине отсутствия статистически значимого различия частот генотипов и аллелей полиморфизмов этого молекулярного варианта гена *TLR4* между группами «случаев» и «контролей».

Распределение частот генотипов полиморфного варианта rs1800896 гена *IL-10* соответствовало ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга (для группы контроля - $\chi2=1,28$, $p=0,26$, для группы беременных с поздней ПЭ - $\chi2=0,09$, $p=0,76$). Полиморфный локус rs1800896 гена *IL-10* ассоциирован с поздней ПЭ, т.к. различия частот генотипов и аллелей между группами оказалось статистически значимым (табл. 28). Нарастание количества минорных аллелей А связано с увеличением риска поздней ПЭ, так носительство гетерозиготного AG генотипа увеличивает в 1,72 раза вероятность возникновения этого осложнения гестации, а гомозиготный генотип АА в 2,3 раза.

Таблица 28 - Результаты анализа ассоциации генотипов и аллелей локуса rs1800896 гена *IL-10* с поздней ПЭ

Генотипы и аллели	Контроль (n=108)	Поздняя ПЭ (n=136)	Критерий $\chi2$ (p)	OR (95 % CI)
Генотип GG	58 (53,7 %)	48 (35,3 %)	8,36 (0,02)	0,43 (0,19-0,98)
Генотип GA	39 (36,1 %)	67 (49,3 %)		1,72 (1,02-2,88)
Генотип AA	11 (10,2 %)	21 (15,4 %)		2,30 (1,01-5,25)
Аллель G	0,718	0,599	7,43 (0,006)	0,59 (0,40-0,86)
Аллель A	0,282	0,401		1,70 (1,16-2,49)

Примечание: OR – отношение шансов; 95 % CI – 95 % доверительный интервал

Аллель А повышает риск развития рассматриваемого заболевания в 1,7 раза. Мажорный аллель G и гомозиготный генотип GG молекулярного варианта rs1800896гена *IL-10* обладает защитным эффектом с точки зрения ассоциации с поздней ПЭ (OR=0,59 и 0,43 соответственно).

Таблица 29 - Результаты расчета доминантной модели наследования при анализе ассоциации генотипов локуса rs1800896 гена *IL-10* с поздней ПЭ

Генотипы	Контроль (n=108)	Поздняя ПЭ (n=136)	Критерий χ2 (p)	OR (95 % CI)
Генотип GG	58 (53,7 %)	48 (35,3 %)	8,3 (0,004)	0,43 (0,19-0,98)
Генотип GA+AA	50 (46,3 %)	88 (64,7 %)		2,13 (1,27-3,56)

Примечание: OR – отношение шансов; 95 % CI – 95 % доверительный интервал

Расчет доминантной модели наследования для полиморфизма rs1800896 гена *IL-10* (генотип GG против генотипов GA+AA) указывает, что вероятность поздней ПЭ увеличивается в присутствии минорных аллелей в генотипе в 2,13 раза (табл. 29), а их отсутствие снижает риск этого осложнения беременности (OR=0,47).

Таблица 30 - Результаты анализа ассоциации генотипов и аллелей локусов rs1800629 гена *TNF-α* с поздней ПЭ

Генотипы и аллели	Контроль (n=108)	Поздняя ПЭ (n=136)	Критерий χ2 (p)	OR (95 % CI)
Генотип GG	85 (78,7 %)	97 (71,3 %)	1,97 (0,37)	0,67 (0,37–1,22)
Генотип GA	20 (18,5 %)	32 (23,5 %)		1,35 (0,72–2,53)
Генотип AA	3 (2,8 %)	7 (5,1 %)		1,90 (0,48–7,53)
Аллель G	0,880	0,831	2,27 (0,13)	0,67 (0,40–1,13)
Аллель A	0,120	0,169		1,49 (0,89–2,50)

Примечание: OR – отношение шансов; 95 % CI – 95 % доверительный интервал

Распределение генотипов полиморфного локуса rs1800629 гена *TNF-α* не отличалось от ожидаемого при равновесии Харди-Вайнберга. Показатели соответствия для группы контроля: $\chi2=1,70$, $p=0,19$, для группы беременных с поздней ПЭ - $\chi2=3,60$, $p=0,06$.

На основании результатов анализа ассоциации генотипов и аллелей локуса rs1800629 гена *TNF-α* с поздней ПЭ установлено (табл. 30), что указанный полиморфный маркер не влияет на риск этого осложнения беременности.

Таблица 31 - Результаты анализа ассоциации генотипов и аллелей локусов rs2070744 и rs1799983 гена *NOS3* с поздней ПЭ

Генотипы и аллели	Контроль (n=108)	Поздняя ПЭ (n=136)	Критерий χ2 (p)	OR (95% CI)
Локус rs2070744 гена *NOS3*				
Генотип TT	38 (35,2 %)	44 (32,4 %)	1,14 (0,56)	0,88 (0,52–1,50)
Генотип TC	59 (54,6 %)	72 (52,9 %)		0,93 (0,56–1,55)
Генотип CC	11 (10,2 %)	20 (14,7 %)		1,52 (0,69–3,33)
Аллель T	0,625	0,588	0,68 (0,41)	0,86 (0,59–1,24)
Аллель C	0,375	0,412		1,17 (0,81–1,68)
Локус rs1799983 гена *NOS3*				
Генотип GG	92 (85,2 %)	100 (73,5 %)	5,0 (0,08)	0,48 (0,25–0,93)
Генотип GT	14 (13,0 %)	30 (22,1 %)		1,90 (0,95–3,80)
Генотип TT	2 (1,8 %)	6 (4,4 %)		2,45 (0,48–12,37)
Аллель G	0,917	0,846	5,64 (0,02)	0,50 (0,28-0,89)
Аллель T	0,083	0,154		2,01 (1,12-3,60)

Примечание: OR – отношение шансов; 95 % CI – 95 % доверительный интервал

Распределение частот генотипов молекулярных вариантов гена эндотелиальной синтетазы оксида азота (rs2070744 и rs1799983) соответствовало закону Харди-Вайнберга. Так для полиморфного локуса rs1799983 и rs2070744 гена *NOS3* в контрольной группе $\chi2=2,96$, $p=0,09$ и $\chi2=2,48$, $p=0,12$, а в группе гипертензивных пациенток $\chi2=1,17$, $p=0,28$ и $\chi2=3,28$, $p=0,07$ соответственно.

Частоты генотипов и аллелей полиморфного локуса rs2070744гена *NOS3* значимо не различаются между группами. Таким образом, этот полиморфный вариант гена *NOS3* в анализируемых выборках беременных не ассоциируется с поздней ПЭ (табл. 31).

Полиморфизм rs1799983 гена *NOS3* напротив связан с риском развития поздней ПЭ. Так при расчете общей модели наследования установлено, что аллель G является протективным в отношении этого осложнения беременности (OR=0,54), а носительство аллеля T связано с повышением риска развития ПЭ в 2,01 раза.

При расчете доминантной модели наследования молекулярного варианта rs1799983 гена *NOS3* (генотип GG против генотипов GT+TT) установлено (табл. 32), что носительство гомозиготного генотипа по мажорному аллелю G является защитным в отношении развития поздней ПЭ (OR=0,48).

Таблица 32 - Результаты расчета доминантной модели наследования при анализе ассоциации генотипов локуса rs1799983гена *NOS3* с поздней ПЭ

Генотипы	Контроль (n=108)	Поздняя ПЭ (n=136)	Критерий χ2 (p)	OR (9 5% CI)
Генотип GG	92 (85,2 %)	100 (73,5 %)	4,88 (0,03)	0,48 (0,25-0,93)
Генотип GT+TT	16 (14,8 %)	36 (26,5 %)		2,07 (1,08-3,98)

Примечание: OR – отношение шансов; 95 % CI – 95 % доверительный интервал

В свою очередь носительство генотипов, включающих минорный аллель T, ассоциировано с увеличенным риском развития поздней ПЭ в 2,07 раза.

Проведен анализа сопряжения генотипов полиморфных локусов генов-кандидатов относительно их ассоциации с риском поздней ПЭ, а также проанализирован характер модификации риска этого осложнения беременности относительно монолокусной модели.

Установлены 3 пары дилокусных комбинаций молекулярных вариантов генов, ассоциированных с риском поздней ПЭ (табл. 33).

Таблица 33 - Результаты анализа ассоциации комбинаций генотипов с поздней ПЭ

Комбинации генотипов	OR (95 % CI)	p
rs1799983 *NOS3* (GT+TT) + rs1800896 *IL-10* (AA)	2,64 (1,24–6,03)	0,026
rs1799983 *NOS3* (GG) + rs1800896 *IL-10* (GG)	0,54 (0,33-0,79)	0,022
rs1800629 *TNF-α* (GA+AA) + rs1800896 *IL-10* (AA)	2,33 (1,21-4,63)	0,034

Примечание: OR – отношение шансов; 95 % CI – 95 % доверительный интервал

Присутствие в генотипе молекулярных вариантов генов с аллелем Т локуса rs1799983 гена *NOS3* и молекулярного варианта АА сайта rs1800896 гена *IL-10* значимо увеличивает риск поздней ПЭ в 2,64 раза, что оказалось менее благоприятным в отношении прогноза этого осложнения беременности при сравнении с показателем монолокусной ассоциации для гомозигот АА полиморфизма rs1800896 гена *IL-10* (OR=1,70).

Вместе с тем, гомозиготность по аллелям дикого типа локусов rs1799983 гена *NOS3* и rs1800896 гена *IL-10* значимо защищает от развития поздней ПЭ в манере более выраженной, чем один в генотипе аллель G сайта rs1800896 гена *IL-10* (OR=0,54 против OR=0,59).

Генотипы с минорными аллелями А полиморфизма rs1800629 гена *TNF-α* в комбинации с гомозиготным генотипом АА полиморфизма rs1800896 гена *IL-10* значимо увеличивают риск поздней ПЭ (в 2,33 раза).

Стоит заметить, что ассоциация с поздней ПЭ для мутантных аллелей локуса rs1800629 гена *TNF-α* реализовалась только в составе рассмотренной дилокусной комбинации в отличие от показателей расчета монолокусной модели. Кроме

того, данная пара молекулярных вариантов генов ассоциирована с поздней ПЭ в большей степени, чем генотип АА полиморфизма rs1800896 гена *IL-10* (OR=2,33 против OR=1,70).

Таблица 34 - Ассоциация полиморфных маркеров генов-кандидатов со степенью тяжести поздней ПЭ

Генетические маркеры	Умеренная ПЭ (n=88)	Тяжелая ПЭ (n=48)	OR (95% CI)
rs1800896 *IL-10* (AA)	9 (10,2 %)	12 (25,0 %)	2,91 (1,13-7,56)
rs1800629 *TNF-α* (GA+AA) + rs1800896 *IL-10* (AA)	7 (7,9 %)	10 (20,8 %)	3,04 (1,07-8,61)
rs1799983 *NOS3* (GT+TT)	23 (26,1 %)	23 (47,9 %)	2,60 (1,24-5,44)

Примечание: OR – отношение шансов; 95 % CI – 95 % доверительный интервал

Выделены три генетических маркера тяжелого течения ПЭ, после 34 недели беременности. Пациенток в анализируемой выборке с тяжелой поздней ПЭ - 48 (35,3%) из 136 женщин общей выборки (табл. 34).

Таковыми оказались гомозиготный генотип АА локуса rs1800896 гена *IL-10*, дилокусная комбинация генотипов локуса rs1800629 гена *TNF-α* с мутантным аллелем А в сочетании с генотипом АА локуса rs1800896 гена *IL-10* и сумма генотипов с минорным аллелем Т полиморфизма rs1799983 гена *NOS3*.

Эти маркеры увеличивались риск тяжелой поздней ПЭ в 2,91, 3,04 и в 2,60 раз соответственно.

Таблица 35 - Ассоциация полиморфизмов генов-кандидатов с задержкой роста плода при поздней ПЭ

Генетические маркеры	Признак есть (n=54)	Признака нет (n=82)	OR (95 % CI)
BsmI (rs1544410) *VDR* (Bb)	43 (79,6 %)	51 (62,2 %)	2,37 (1,06-5,28)
rs1799983 *NOS3* (GT+TT)	20 (37,0 %)	16 (19,5 %)	2,42 (1,11-5,27)
rs1800629 *TNF-α* (GA+AA)	23 (42,6 %)	16 (19,5 %)	3,06 (1,42-6,59)

Примечание: OR – отношение шансов; 95% CI – 95 % доверительный интервал

Исследована ассоциация генетических маркеров с задержкой роста плода у беременных с поздней ПЭ (задержка роста плода диагностирована у 54 (39,7%) пациенток), результаты представлены в таблице 35.

Установлены три значимых прогностических критериев этого осложнения беременности. Так носительство генотипа Bb полиморфизма BsmI (rs1544410) гена *VDR*, гетерозиготность и гомозиготность TT молекулярного варианта rs1799983 гена *NOS3*, а также GA и AA сайта rs1800629 гена *TNF-α* связаны с увеличением риска задержки роста плода у беременных с поздней ПЭ в 2,37, 2,42 и в 3,06 раз соответственно.

Таким образом, риск ранней ПЭ увеличивается в присутствии генотипа BB и у гетерозигот полиморфного локуса BsmI (rs1544410) гена *VDR*, у носителей гетерозиготного генотипа AG и гомозигот по минорному аллелю G сайта rs4986790 гена *TLR4*, а так же у гомозигот CC молекулярного варианта rs2070744 гена *NOS3*. Защитным от ранней формы ПЭ являются гомозиготный генотип bb полиморфизма BsmI (rs1544410) гена *VDR*, генотип AA локуса rs4986790 гена *TLR4* и генотип TT сайта rs2070744 гена *NOS3*. Наследование риска развития поздней ПЭ ассоциируется с носительством генотипов GT+TT сайта rs1799983 гена *NOS3*, а про-

тективным эффектом в отношении этого осложнения беременности является генотип GG этого полиморфного локуса гена *NOS3*. Ассоциированными с увеличением риска обоих форм ПЭ являются генотипы GA и AA полиморфизма rs1800896 гена *IL-10*, тогда как гомозиготность по дикому аллелю G сайта rs1800896 гена *IL-10* является протективной относительно этих осложнений беременности. Выявлены генетические маркеры из перечня протестированных молекулярных вариантов генов-кандидатов, ассоциированные с риском тяжелого течения обоих вариантов ПЭ, а также с риском задержки роста плода у пациенток с этими формами гипертензивных расстройств. Стоит отметить, что генетические факторы риска и степень их влияния на вероятность развития тяжелой ПЭ и задержки роста плода зависели от формы ПЭ.

3.3. Внеклеточные циркулирующие формы ДНК: прогноз и диагностика поздней и ранней преэклампсии

Циркулирующие воДНК и впДНК в плазме крови являются новым биомаркером для пренатальной диагностики. Однако неясно, может ли уровень этих биомолекул ассоциироваться с риском форм ПЭ с разным сроком манифестации при этих осложнениях беременности, а также быть дополнительным диагностическим критерием этих заболеваний и задержки роста плода.

3.3.1. Внеклеточные циркулирующие формы ДНК как прогностические маркеры поздней и ранней преэклампсии

Приведены сведения об уровнях воДНК и впДНК (в 15-18 недель гестации) в суммарных ретроспективно сформированных выборках беременных, у которых при дальнейшем наблюдении отмечена клиника ПЭ (всего 24 пациентки). Из них

8 женщин с ранней ПЭ и 16 с поздней формой заболевания. В контрольной группе 30 беременных с физиологическим течением гестации.

Детекция воДНК оказалась положительной у 16 (53,3%) обследованных в контроле. У пациенток с последующей ранней и поздней ПЭ этот показатель был выше 6 (75,0%) и 11 (68,7%), но без статистической значимости результатов относительно контроля: точный критерий Фишера 0,426, $p>0,05$ и $\chi^2=1,02$, $p>0,05$ соответственно. На рисунке 1 представлены данные сравнения концентрации воДНК в группах поздней ПЭ и контрольной. Значения Me и (Q1; Q3) уровня воДНК для групп контрольной и с латентным периодом поздней ПЭ составили 13,20 (0,00; 18,76) нг/мл, 15,50 (0,00; 20,53) нг/мл соответственно. Показатели значимо не различались ($Z=0,95$, $p=0,341$).

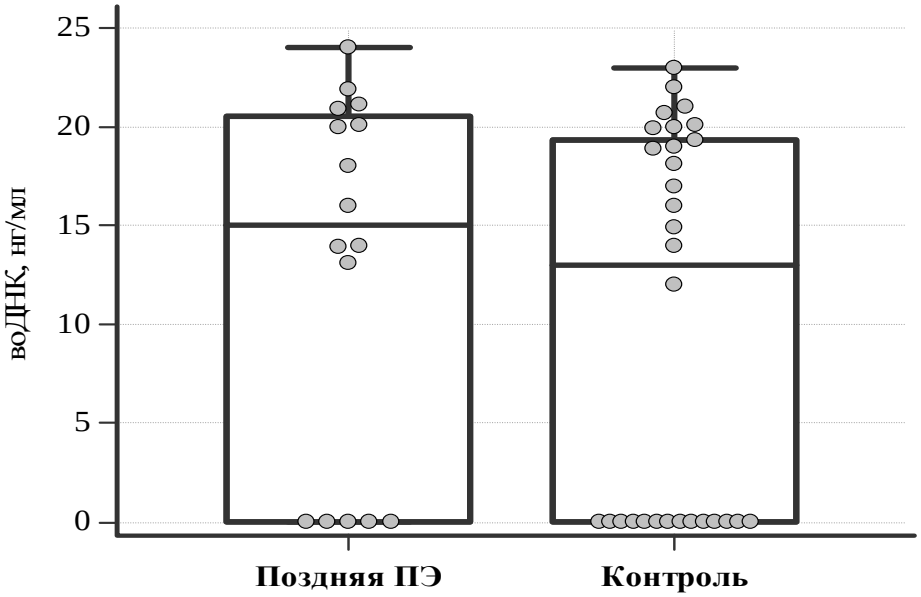

Рисунок. 1. Уровень воДНК в контрольной группе и группе поздней ПЭ,
Me (Q1; Q3) (критерий Манна-Уитни)

Концентрация воДНК в плазме крови для контрольной группы и группы ранней ПЭ составила 13,20 (0,00; 18,76) нг/мл, и 18,76 (0,00; 19,30) нг/мл соответственно (рис. 2). Значимых различий между группами не установлено ($Z=1,27$, $p=0,202$).

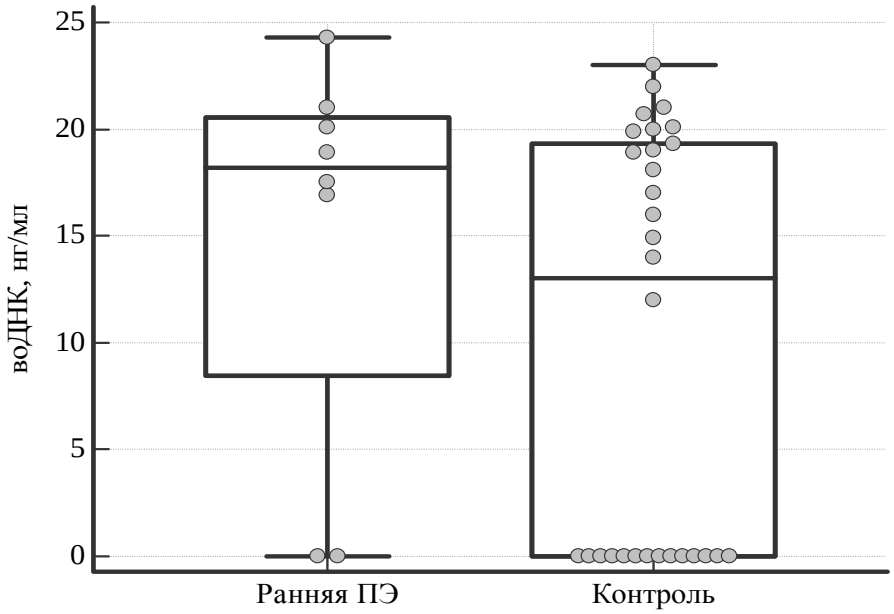

Рисунок. 2. Уровень воДНК в контрольной группе и группе ранней ПЭ, Me (Q1; Q3) (критерий Манна-Уитни)

Положительная детекция циркулирующей впДНК отмечена у 17 (56,6 %) беременных в контрольной группе, что меньше, чем в группе пациенток с латентным периодом ранней ПЭ (7 (87,5 %), точный критерий Фишера 0,215, $p>0,05$) и поздней ПЭ (13 (81,2 %), $\chi^2=2,78$, $p>0,05$), хотя различия были незначимы.

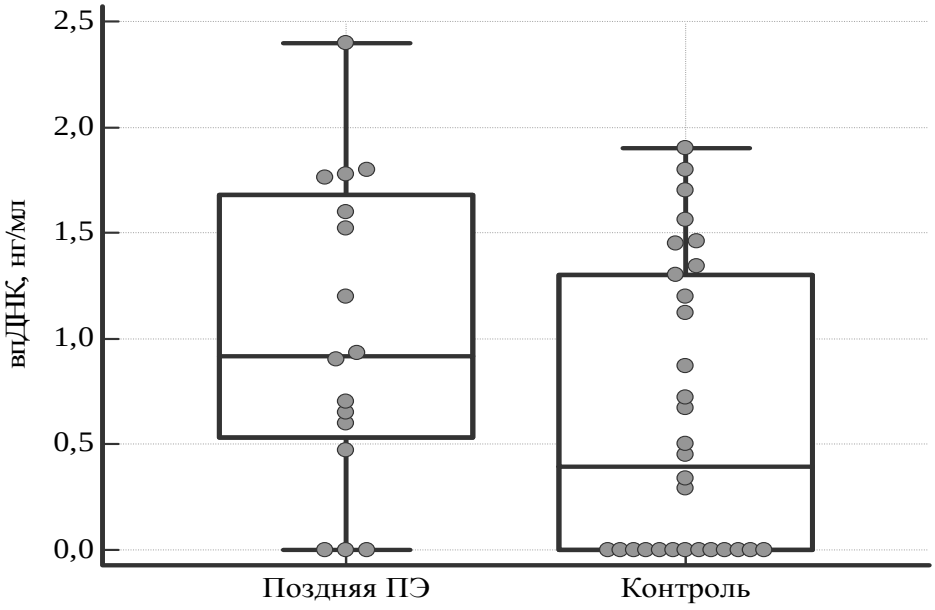

Рисунок. 3. Уровень впДНК в контрольной группе и группе поздней ПЭ, Me (Q1; Q3) (критерий Манна-Уитни)

На рисунке 3 представлены данные сравнительного анализа концентрации впДНК в группе с последующим развитием поздней ПЭ и контрольной. Показатели для основной группы составили 0,91 (0,55; 1,68) нг/мл, для контрольной группы 0,39 (0,00; 1,320) нг/мл и значимо не различались (Z=1,79, p=0,072).

Уровень циркулирующей впДНК в плазме крови у беременных в латентном периоде ранней ПЭ составил 1,55 (1,05; 1,95) нг/мл и был значимо выше, чем в контрольной группе беременных - 0,39 (0,00; 1,32) нг/мл (Z=2,54, p=0,011) (рис. 4). По уровням обоих форм ДНК различий между группами ранней и поздней ПЭ не было (Z=1,01, p=0,80 и Z=1,34, p=0,07 соответственно).

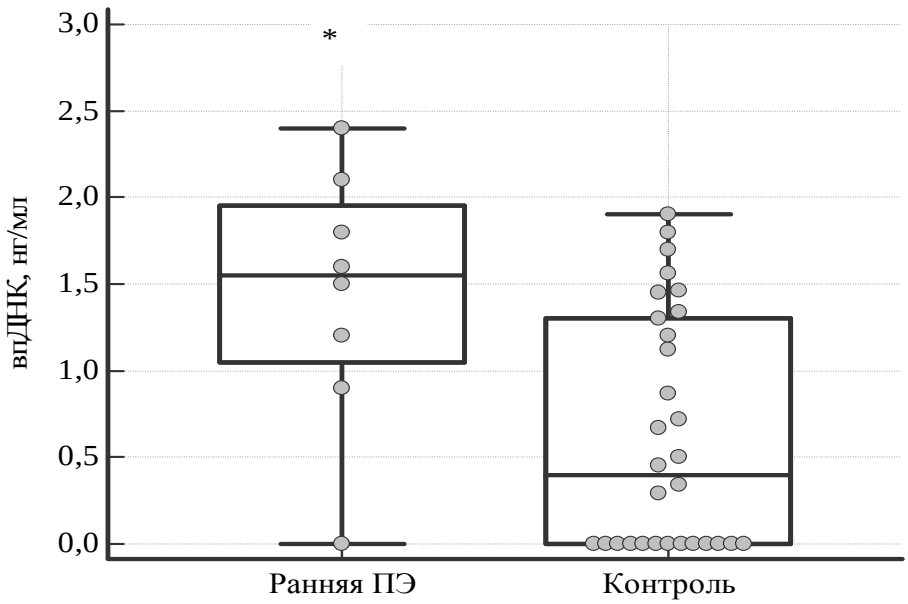

Рисунок. 4. Уровень впДНК в контрольной группе и группе ранней ПЭ, Me (Q1; Q3). Примечание:* - различия значимы между группами (критерий Манна-Уитни)

Учитывая значимость различий по уровню впДНК между группой латентного периода ранней ПЭ и контрольной, рассчитаны прогностические критерии для этого биомаркера относительно ранней ПЭ. Порогом для прогноза ранней ПЭ является уровень впДНК >0,87 нг/мл. Площадь под ROC-кривой (area under the ROC curve (AUC)) составила 0,785 (рис. 5). Критерий значим (Z=2,90, p=0,028).

Чувствительность метода составила 87,50 % с 95 % доверительным интервалом (95 % CI) (47,3-99,7 %) и специфичность - 66,67 % 95 % CI (47,2-82,7 %). Отношение правдоподобия положительного результата - 2,62 95 % CI (1,5-4,6), отношение правдоподобия отрицательного результата - 0,19 95 % CI (0,03-1,2).

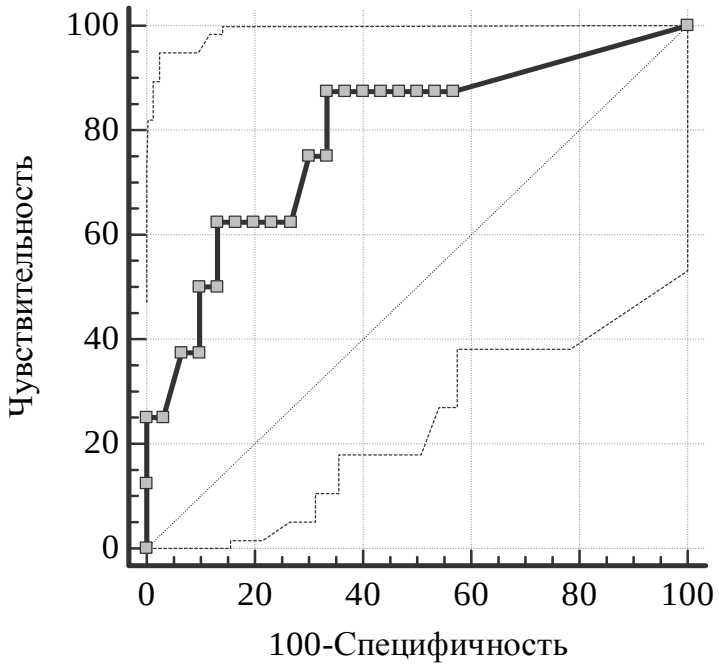

Рисунок. 5. ROC-кривая по результатам расчета прогностической ценности уровня впДНК для ранней ПЭ

3.3.2. Внеклеточные циркулирующие формы ДНК как диагностические критерии поздней и ранней преэклампсии

Сформированы 3 выборки, включающие группу с ранней ПЭ (47 пациенток) и группу с поздней формой этого осложнения беременности (72 пациентки). Контрольную группу составили из 30 женщин с физиологическим течением гестации.

Детекция воДНК оказалась положительной у 23 (76,7 %) обследованных в контроле. У пациенток с ранней и поздней ПЭ этот показатель был выше 43 (91,5 %) и 64 (88,9 %). Статистической значимости результатов по этим показателям при сравнении с контролем для групп с ранней и поздней ПЭ не установлено: χ^2=2,18, p>0,05 и χ^2=2,52, p>0,05 соответственно.

Представлены данные сравнительного анализа концентрации воДНК в группе поздней ПЭ и контрольной группе (рис. 6). Уровень воДНК для контрольной группы составил 17,20 (0,00; 20,01) нг/мл, что оказалось значимо меньше, чем в группе с поздней ПЭ - 18,65 (15,70; 21,75) нг/мл (Z=1,97, p=0,047).

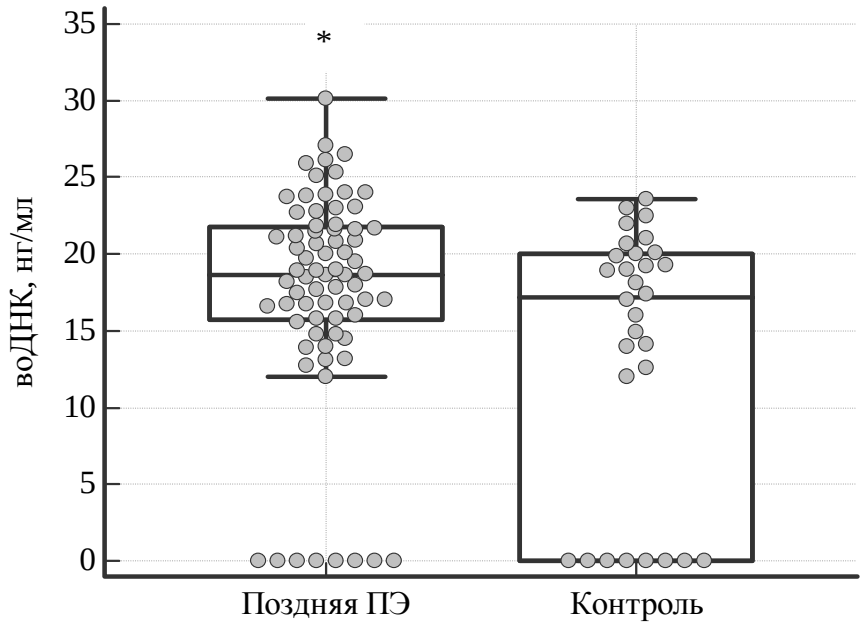

Рисунок. 6. Уровень воДНК в контрольной группе и группе с поздней ПЭ, Me (Q1; Q3). Примечание: * - различия значимы между группами (критерий Манна-Уитни)

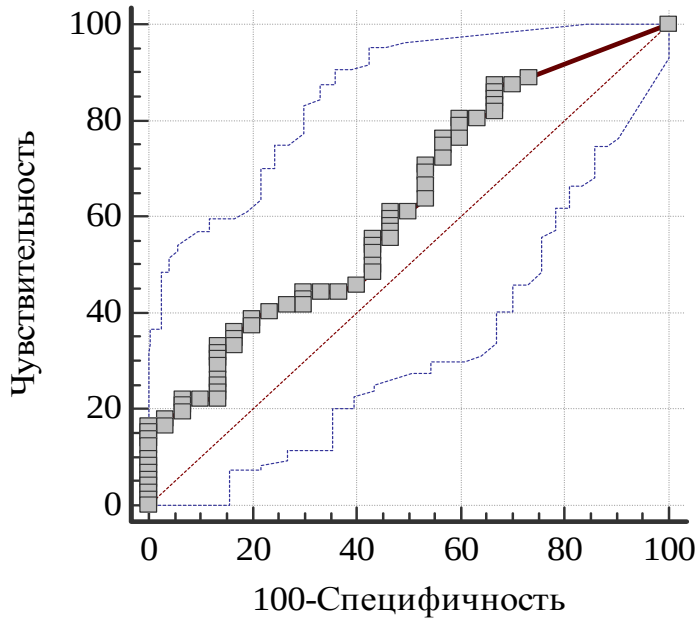

Рисунок. 7. ROC-кривая по результатам расчета диагностического критерия уровня воДНК для поздней ПЭ

Рассчитаны критерии диагностики поздней ПЭ по уровню воДНК. Диагностическим порогом для поздней ПЭ является уровень воДНК >18,1 нг/мл. AUC составила 0,625 (рис. 7). Критерий значим (Z=2,07, p=0,037). Чувствительность метода - 87,60 % 95 % CI (77,6-94,1%) и специфичность - 33,43 % 95 % CI (17,3-52,8 %). Отношение правдоподобия положительного - 1,32 95 % CI (1,01-1,70) и отрицательного результата - 0,38 95 % CI (0,20-0,80).

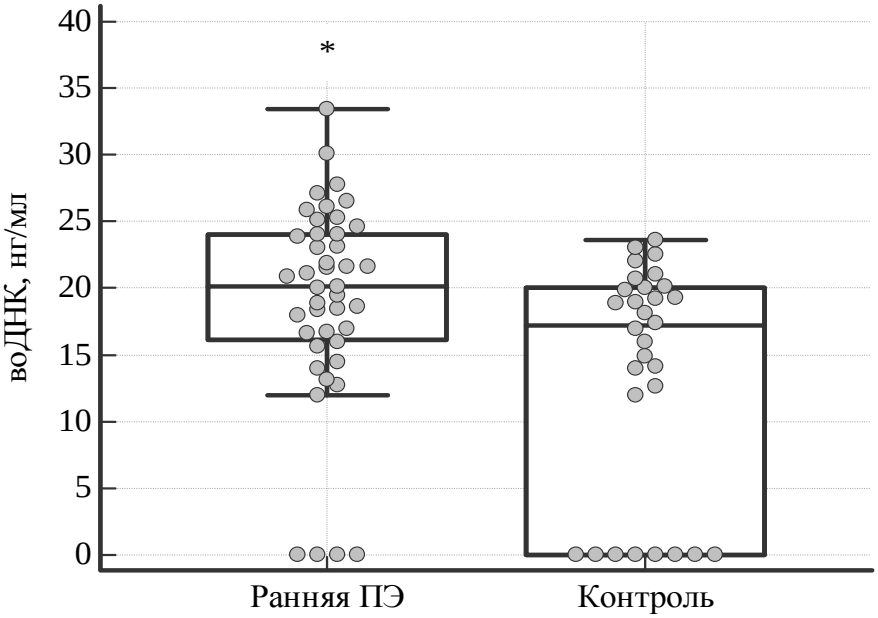

Рисунок. 8. Уровень воДНК в контрольной группе и группе с ранней ПЭ, Me (Q1; Q3). Примечание: * - различия значимы между группами (критерий Манна-Уитни)

На рисунке 8 суммированы данные сравнительного анализа уровня воДНК в группе с ранней ПЭ и контрольной. Концентрация воДНК у пациенток с ранней формой ПЭ составила 20,10 (16,15; 24,06) нг/мл и была значимо выше, чем в контрольной группе - 17,20 (0,00; 20,01) нг/мл, (Z=2,75, p=0,0059). Диагностическим порогом для ранней ПЭ является уровень воДНК >21,1 нг/мл. AUC - 0,690, (Z=3,11, p=0,0019) (рис. 9). Чувствительность метода - 46,51 % 95 % CI (31,2-62,3 %), специфичность - 86,67 % 95 % CI (69,3-96,2 %). Отношение правдоподобия положительного результата - 3,49 95 % CI (1,30-9,20), отношение правдоподобия отрицательного результата - 0,62 95 % CI (0,50-0,82). Значимых различий по уровню воДНК между группами с обеими формами ПЭ нет (Z=1,41, p=0,062).

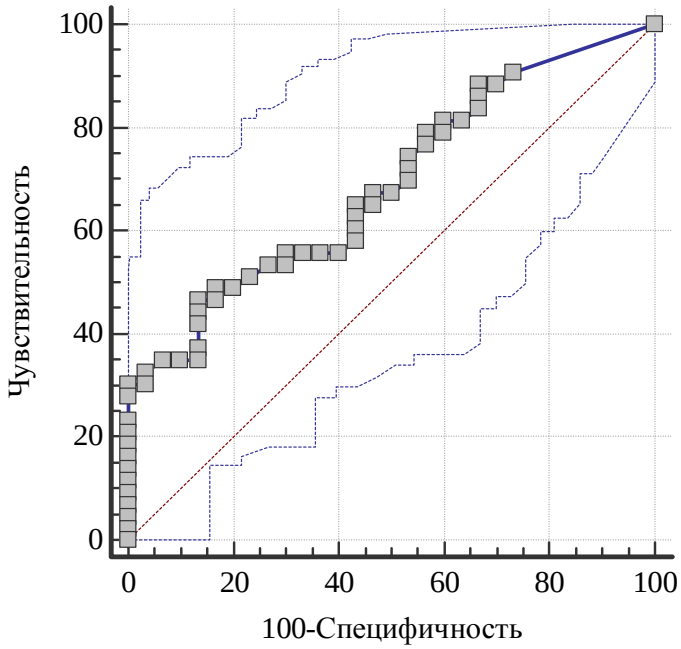

Рисунок. 9. ROC-кривая по результатам расчета диагностического критерия уровня воДНК для ранней ПЭ

Детекция впДНК была положительной у 22 (73,3 %) беременных в контрольной группе, в группе с ранней и поздней ПЭ таковых было больше: 44 (93,6 %) (χ^2=4,60, p<0,05) и 64 (88,9 %) (χ^2=2,78, p>0,05) соответственно.

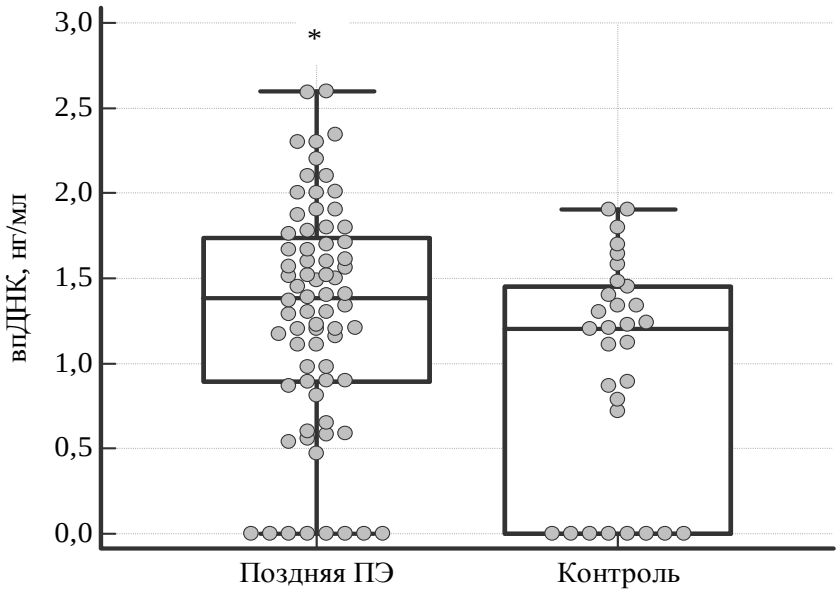

Рисунок. 10. Уровень впДНК в контрольной группе и группе с поздней ПЭ, Me (Q1; Q3). Примечание: * - различия значимы между группами (критерий Манна-Уитни)

Представлены данные сравнительного анализа уровня впДНК в группе с поздней ПЭ и контрольной (рис. 10). Так Me и (Q1; Q3) для этих биомолекул у пациенток с поздней ПЭ составили 1,38 (0,89; 1,73) нг/мл и были значимо выше, чем в группе контроля -1,20 (0,00; 1,45) нг/мл, (Z=2,00, p=0,044).

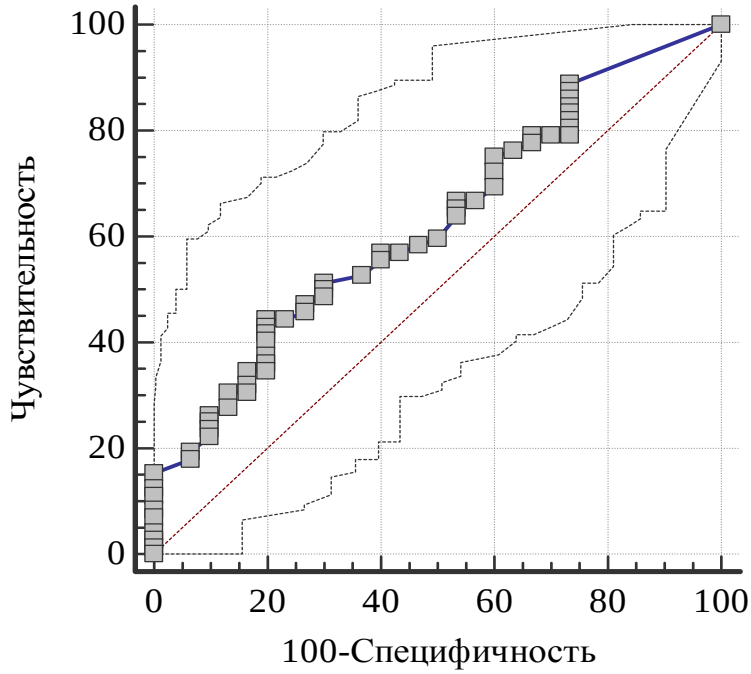

Рисунок. 11. ROC-кривая по результатам расчета диагностического критерия уровня впДНК для поздней ПЭ

Пороговым значением для диагностики поздней ПЭ является концентрация впДНК >1,48 нг/мл. Показатель AUC – 0,626 (рис. 11). Критерий явился значимым (Z=2,16, p=0,030). Чувствительность метода составила 44,45 % 95 % CI (32,7-56,6 %), а специфичность - 80,00 % 95 % CI (61,4-92,3 %). Отношение правдоподобия положительного результата - 2,22 95 % CI (1,0-4,8), отношение правдоподобия отрицательного результата - 0,69 95 % CI (0,5-0,9).

Суммированы данные сравнительного анализа уровня впДНК в группе с ранней ПЭ и контрольной (рис. 12). Концентрация впДНК у пациенток с ранней ПЭ составила 1,45 (1,01; 1,60) нг/мл, что было значимо выше, чем в контрольной группе - 1,20 (0,00; 1,45) нг/мл (Z=2,65, p=0,008).

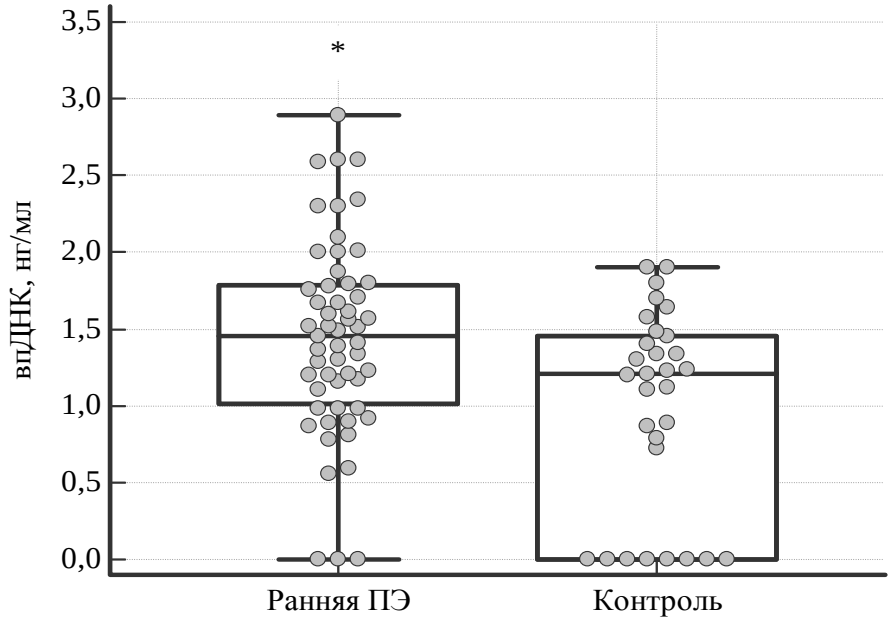

Рисунок. 12. Уровень впДНК в контрольной группе и группе с ранней ПЭ, Me (Q1; Q3). Примечание: * - различия значимы между группами (критерий Манна-Уитни)

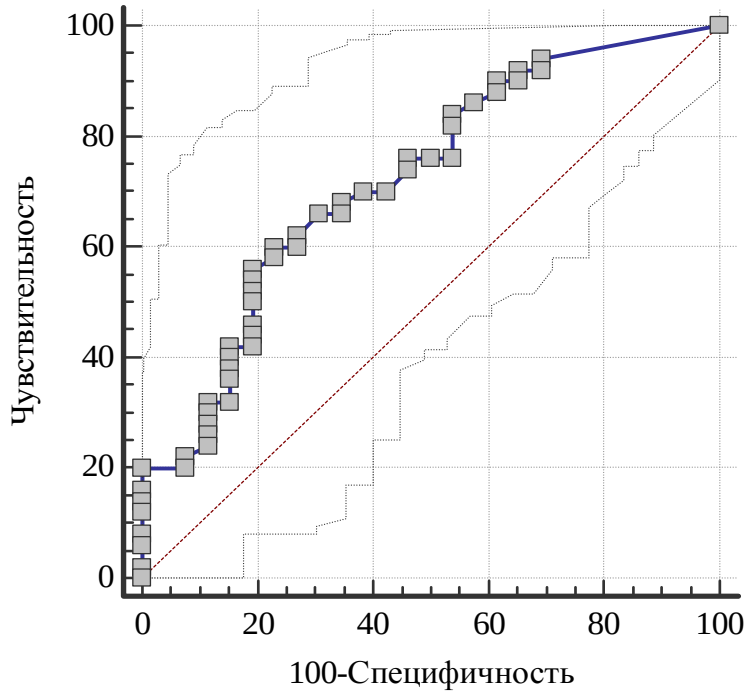

Рисунок. 13. ROC-кривая по результатам расчета диагностического критерия уровня впДНК для ранней ПЭ

Для диагностики ранней ПЭ пороговым значением является уровень впДНК >1,40 нг/мл. Показатель AUC при этом составил 0,722 (рис. 13). Критерий стати-

стически значим (Z=3,60, p=0,0003). Чувствительность составила 60,00 % 95 % CI (45,2-73,6 %), а специфичность - 76,92 % 95 % CI (56,4-91,0 %). Отношение правдоподобия положительного результата - 2,60 95 % CI (1,2-5,4), отношение правдоподобия отрицательного результата - 0,52 95 % CI (0,3-0,8).

Уровень впДНК у пациенток с ранней ПЭ был значимо выше, чем с поздней формой заболевания (Z=2,14, p=0,042).

Таблица 36 - Внеклеточные ДНК и показатели кровотока в маточных и пуповинных артериях в зависимости от задержки роста плода при поздней ПЭ,
Me (Q1; Q3)

Показатель	Задержка роста плода «+» (n=29)	Задержка роста плода «-» (n=43)	Контроль (n=30)
воДНК, нг/мл	19,50 (18,07; 22,54)*#	18,02 (14,90; 19,95)**	17,20 (0,00; 20,01)
впДНК, нг/мл	1,41 (0,93; 1,87)*	1,26 (0,34; 1,52)	1,20 (0,00; 1,45)
RI и S/D маточной артерии	0,66 (0,56; 0,74)* # 3,08 (2,56; 3,57)*	0,56 (0,52; 0,61)** 2,87 (2,23; 3,24)	0,50 (0,38; 0,59) 2,10 (1,89; 2,68)
RI и S/D артерии пуповины	0,75 (0,68; 0,82)* # 3,75 (3,12; 3,92)*	0,70 (0,61; 0,78) 3,33 (3,04; 3,56)	0,67 (0,59; 0,71) 3,10 (2,77; 3,27)

Примечание: Различия значимы между: * - группой ПЭ задержка роста плода «+» и контролем; ** - группой ПЭ задержка роста плода «-» и контролем # - группами ПЭ «+» и «-» задержка роста плода (критерий Манна-Уитни)

По уровню воДНК при сравнении групп с поздней ПЭ в сочетании с задержкой роста плода, а также без этого осложнения и контрольной получены значимые различия (Z=1,95, p=0,049 и Z=2,69, p=0,0034 соответственно) (табл. 36). Тогда как концентрация впДНК была значимо выше только у пациенток с поздней ПЭ и задержкой роста плода при сравнении с аналогичным показателем в контрольной группе (Z=2,02, p=0,043).

Порогом для диагностики задержки роста у беременных с поздней ПЭ явился уровень воДНК >20,7 нг/мл. AUC - 0,646 (Z=2,01, p=0,044). Чувствительность - 44,83 % 95 % CI (26,4-64,3 %), специфичность - 82,76 % 95 % CI (64,2-94,2 %). Отношение правдоподобия положительного - 2,60 95 % CI (1,10-6,40) и отрицательного результата - 0,67 95 % CI (0,50-1,00).

Концентрация впДНК >1,38 нг/мл - пороговая для диагностики задержки роста плода у пациенток с поздней ПЭ. AUC - 0,697, (Z=2,30, p=0,032). Чувствительность - 71,00 % 95 % CI (52,1-80,9 %), специфичность составила 78,13 % 95 % CI (54,6-89,3 %). Отношение правдоподобия положительного результата – 2,45 95 % CI (1,20-4,96), отношение правдоподобия отрицательного результата - 0,51 95 % CI (0,30-0,72).

У пациенток с поздней ПЭ и задержкой роста плода значения RI и S/D для обоих лоцированных сосудов были значимо выше, чем в контроле (Z=2,34-1,98, p=0,013-0,047), а RI обоих сосудах выше, чем в группе ПЭ без задержки роста плода (Z=2,12 и 1,94, p=0,023 и 0,048). При отсутствии задержки роста плода в группе поздней ПЭ лишь показатель RI маточной артерии был значимо выше, чем в контроле (Z=2,00, p=0,044). По данным корреляционного анализа пар «ДНК-кровоток» установлена положительная значимая связь для одной пары: «воДНК - RI в маточной артерии» (r_s=0,56, p=0,042).

Концентрация всех форм внеклеточной ДНК была значимо выше у пациенток с ранней ПЭ (табл. 37). Так для воДНК и групп с наличием и отсутствием задержки роста плода Z=2,34, p=0,019 и Z=2,10, p=0,035 соответственно. По уровню впДНК без задержки роста плода Z=2,29 при p=0,022. Наибольшая концентрация впДНК отмечена в группе ранней ПЭ, осложнившейся задержкой роста плода, где ее значения превышали таковые как при сравнении с контролем, так и группой «ранняя ПЭ без задержки роста плода» - Z=3,20, p=0,0008 и Z=2,04, p=0,045 соответственно.

Таблица 37 - Внеклеточные ДНК и показатели кровотока в маточных и пуповинных артериях в зависимости от задержки роста плода при ранней ПЭ, Me (Q1; Q3)

Показатель	Задержка роста плода «+» (n=19)	Задержка роста плода «-» (n=28)	Контроль (n=30)
воДНК, нг/мл	23,36 (20,30; 25,19)*	20,00 (16,32; 22,00)**	17,20 (0,00; 20,01)
впДНК, нг/мл	1,78 (1,41; 2,49)* #	1,35 (1,11; 1,56)**	1,20 (0,00; 1,45)
RI и S/D маточной артерии	0,71 (0,64; 0,84)* # 3,27 (2,86; 3,69)*	0,68 (0,59; 0,67)** 3,12 (2,58; 3,56)**	0,50 (0,38; 0,59) 2,10 (1,89; 2,68)
RI и S/D артерии пуповины	0,79 (0,72; 0,89)* 3,98 (3,77; 4,12)* #	0,74 (0,70; 0,81)** 3,53 (3,44; 3,68)**	0,67 (0,59; 0,71) 3,10 (2,77; 3,27)

Примечание: Различия значимы между: * - группой ПЭ задержка роста плода «+» и контролем; ** - группой ПЭ задержка роста плода «-» и контролем # - группами ПЭ «+» и «-» задержка роста плода (критерий Манна-Уитни)

Уровень воДНК >21,0 нг/мл - пороговый для диагностики задержки роста плода у беременных с ранней ПЭ. AUC - 0,721, (Z=3,63, p=0,001). Чувствительность - 51,28 % 95 % CI (34,8-67,6 %), специфичность - 86,2 % 95 % CI (68,3-96,1 %). Отношение правдоподобия положительного результата - 3,72 95% CI (1,4-9,7), отношение правдоподобия отрицательного результата - 0,57 95% CI (0,4-0,8).

Концентрация впДНК >1,45 нг/мл является пороговой для диагностики задержки роста плода у пациенток с ранней ПЭ. AUC - 0,807, (Z=5,30, p<0,0001). Чувствительность - 75,00 % 95 % CI (57,8-87,9%), специфичность - 80,77 % 95 % CI (60,6-93,4 %). Отношение правдоподобия положительного результата – 3,90 95 % CI (1,70-8,80), отношение правдоподобия отрицательного результата - 0,31 95 % CI (0,20-0,60).

Все результаты допплерометрической оценки кровотока в маточной и пуповинной артерии при ранней ПЭ значимо выше, чем в группе контроля независимо от задержки роста плода (Z=3,27-2,04, p=0,0018-0,036). Кроме того, по RI маточной артерии и S/D артерии пуповины у пациенток с ранней ПЭ и задержкой роста

плода отмечены показатели значимо хуже, чем в группе ранней ПЭ без такового (Z=2,32 и 2,01, p=0,021 и 0,046).

Выделено 2 пары значений, указывающих на значимую связь показателей кровотока в системе мать-плацента-плод и уровня внеклеточных ДНК при ранней ПЭ, осложнившейся задержкой роста плода: «впДНК - RI в маточной артерии» (r_s=0,72, p=0,001) и «воДНК - RI в маточной артерии» (r_s=0,57, p=0,022).

Таблица 38 - Внеклеточные ДНК в зависимости от степени тяжести ПЭ, Me (Q1; Q3)

Показатель	Ранняя ПЭ		Поздняя ПЭ		Контроль (n=30)
	Средняя (n=27)	Тяжелая (n=20)	Средняя (n=46)	Тяжелая (n=26)	
воДНК, нг/мл	19,44 (16,07; 21,78) ** ‡	23,88 (20,56; 26,01) *##	18,00 (12,90; 19,34)	20,77 (17,01; 22,78) #	17,20 (0,00; 20,01)
впДНК, нг/мл	1,30 (1,01; 1,69) ** ‡	1,93 (1,54; 2,78) *##	1,25 (0,32; 1,41)	1,63 (1,14; 1,82) #	1,20 (0,00; 1,45)

Примечание: Различия значимы между: * - ранней тяжелой ПЭ и контролем; ** - ранней средней ПЭ и контролем # - поздней тяжелой ПЭ и контролем; ‡ - поздней средней и ранней средней ПЭ; ## - поздней средней и ранней тяжелой ПЭ (критерий Манна-Уитни)

Пациентки с ранней формой ПЭ характеризовались значимо большей концентрацией внеклеточных форм ДНК при сравнении с контрольной группой вне зависимости от степени тяжести заболевания (табл. 38). Для впДНК: Z=3,36-2,21, p=0,0001-0,028 и для воДНК: Z=2,14-2,09, p=0,039-0,041 соответственно. Кроме того, аналогичная тенденция отмечена для пар признаков «ранняя тяжелая ПЭ – средняя поздняя ПЭ» и «средняя ранняя ПЭ – средняя поздняя ПЭ» (Z=2,36, p=0,021 и Z=2,09, p=0,039 соответственно). Тяжесть течения ПЭ обеспечила зна-

чимость различий по обеим формам внеклеточной ДНК между пациентками с поздней ПЭ и контролем (Z=2,02-2,29 и p=0,049-0,031 соответственно).

Представлены сводные данные характеристик пороговых значений уровней внеклеточных форм ДНК для диагностики тяжелой ПЭ в зависимости от срока начала заболевания (табл. 39). Все AUC значимы (Z=2,02-5,30, p=0,0001-0,046).

Таблица 39 - Характеристики диагностических моделей тяжелой ранней и поздней ПЭ в зависимости от пороговых значений внеклеточных форм ДНК

Показатели	Ранняя тяжелая ПЭ	Поздняя тяжелая ПЭ
Порог воДНК, нг/мл	>22,1	>21,0
AUC	0,840	0,704
Чувствительность, %	64,34 95 % CI (41,4-80,1)	45,23 95 % CI (31,0-67,5)
Специфичность, %	84,32 95 % CI (63,7-94,5)	80,34 95 %CI (59,7-89,9)
LR+	3,82 95 % CI (1,4-9,9)	2,76 95 % CI (1,20-6,78)
LR-	0,54 95 % CI (0,3-0,7)	0,61 95 % CI (0,46-0,94)
Порог впДНК, нг/мл	>1,61	>1,50
AUC	0,854	0,688
Чувствительность, %	73,12 95 % CI (54,2-90,2)	47,06 95 % CI (37,8-57,4)
Специфичность, %	84,63 95 % CI (67,2-97,1)	79,45 95 % CI (58,2-90,1)
LR+	4,07 95 % CI (1,93-9,24)	2,46 95 % CI (1,18-5,11)
LR-	0,27 95 % CI (0,15-0,48)	0,59 95 % CI (0,44-0,78)

Примечание: LR+ - отношение правдоподобия положительного результата; LR- - отношение правдоподобия отрицательного результата; 95%CI – 95% доверительный интервал; AUC - площадь под кривой

Таким образом, впДНК является чувствительным прогностическим маркером ранней ПЭ. Уровень концентрации всех форм внеклеточной ДНК значимо повышается, сопровождая как раннюю, так и позднюю формы ПЭ, а диагностические критерии, основанные на данных воДНК и впДНК, демонстрируют весьма значительные возможности этого метода. Вместе с тем, ранняя форма ПЭ ассо-

циирована со значимо большей концентрацией впДНК, чем поздняя ПЭ. Кроме того, уровень этого биомаркера в более выраженной манере связан с задержкой роста плода и тяжелого течения заболевания именно у беременных с ранней ПЭ. Подтверждение этому в значимо большей концентрации впДНК у пациенток с задержкой роста плода и ранней ПЭ, а также более выраженной ассоциации уровня этих биомолекул в плазме крови пациенток с ранней формой ПЭ и показателями кровотока в системе мать-плацента-плод.

3.4. Реактивность микрососудов кожи: прогноз и диагностика ранней и поздней преэклампсии

Системное нарушение вазорегулирующих свойств сосудистого эндотелия лежит в основе генеза ПЭ. Однако тесты прогнозирования и диагностики ранней и поздней ПЭ на основе реактивности сосудов кожи, а также геноfенотипический анализ этого феномена в условия разных форм ПЭ отсутствуют.

3.4.1. Анализ реактивности микрососудов кожи для прогноза преэклампсии

Приведены сведения о показателях линейной скорости кровотока в условиях проведения пробы с постокклюзионной реактивной гиперемией (ПРГ) (в 18-22 недели гестации) в суммарных ретроспективно сформированных выборках беременных, у которых при дальнейшем наблюдении отмечена клиника ПЭ (всего 27 пациенток). Из них 8 женщин с ранней ПЭ и 19 с поздней формой заболевания. В контрольной группе 35 беременных с физиологическим течением гестации.

Фоновые показатели линейной скорости кровотока (Vs), а также Vs при проведении пробы с ПРГ были ниже для обеих групп беременных в латентном периоде ПЭ, чем в контроле, но без статистической значимости результатов. Кроме того, продолжительности реактивной гиперемии у пациенток группы контроля так же значимо не отличалось от такового в основных группах (табл. 40).

Таблица 40 - Скорость кровотока в МК и время ПРГ при выполнении пробы с реактивной гиперемией в 18-22 недели гестации, Me (Q1; Q3)

Показатели	Ранняя ПЭ (n=8)	Поздняя ПЭ (n=19)	Контроль (n=35)
Фон, см/сек	17,7 (15,3; 21,1)	17,3 (14,9; 20,5)	18,8 (15,6; 22,0)
30 сек, см/сек	20,1 (18,1; 21,6)	18,9 (16,8; 21,2)	20,2 (17,4; 22,9)
1 мин, см/сек	19,4 (17,8; 21,0)	18,4 (17,9; 20,4)	20,1 (18,8; 21,7)
2 мин, см/сек	17,8 (14,6; 20,1)	17,1 (15,6; 19,6)	18,6 (16,4; 20,8)
3 мин, см/сек	17,1 (14,3; 19,5)	16,9 (15,2; 18,0)	17,8 (15,3; 19,5)
4 мин, см/сек	17,4 (14,9; 19,1)	17,5 (15,1; 19,3)	17,6 (15,2; 19,0)
5 мин, см/сек	17,5 (14,1; 20,8)	17,8 (15,0; 19,1)	17,9 (15,2; 21,6)
Время ПРГ, мин	2,0 (1,2; 2,5)	1,9 (1,4; 2,4)	2,1 (1,4; 2,9)

Примечание: по критерию Манна-Уитни

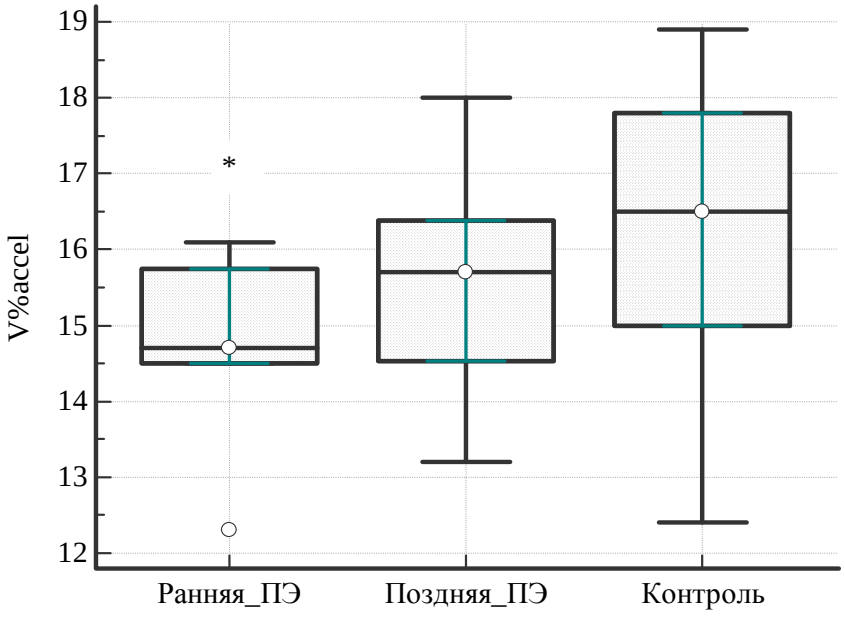

Рисунок 14. Коэффициент V%accel в 18-22 недели гестации, Me (Q1; Q3).
Примечание: * - различия значимы между группой контроля и ранней ПЭ (критерий Манна-Уитни)

Однако при анализе коэффициентов прироста скорости кровотока в МК (V%accel) у пациенток группы ранней ПЭ отмечено статистически значимое снижение показателя, характеризующего ЭЗВД при сравнении с данными из группы контроля - 14,70 (14,50; 15,75) % против 16,50 (15,02; 17,80) % соответственно (Z=2,13, p=0,033) (рис. 14). Значения V%accel в группе латентного периода поздней ПЭ были ниже, чем в группе беременных с физиологической гестацией, однако без статистически значимых различий - 15,70 (14,52; 16,37) % против 16,50 (15,02; 17,80) % соответственно (Z=1,78, p=0,074).

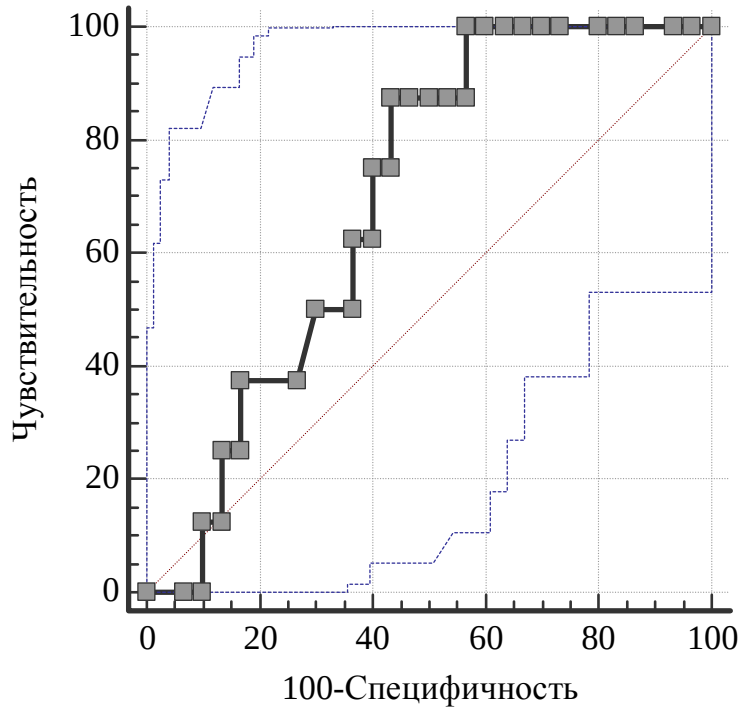

Рисунок. 15. ROC-кривая по результатам расчета критерия прогноза ранней ПЭ по уровню V%accel

Рассчитан критерий прогноза ранней ПЭ на основании показателя V%accel. Порогом для прогнозирования ранней ПЭ является уровень V%accel ≤15,1 %. AUC составила 0,702 (рис. 15). Критерий значим (Z=2,25, p=0,024). Чувствительность метода составила 88,60 % 95 % CI (47,7-99,5 %) и специфичность - 57,67 % 95 % CI (37,4-74,5 %). Отношение правдоподобия положительного - 2,02 95 % CI (1,2-3,3) и отрицательного результата - 0,22 95 % CI (0,03-1,1).

3.4.2. Анализ реактивности микрососудов кожи: диагностические критерии ранней и поздней преэклампсии

Сформированы 3 выборки для проведения «измерения 2», включающие группу с клиникой ранней ПЭ (42 пациенток) и группу с поздней формой этого осложнения беременности (63 пациентки). Контрольную группу составили из 30 женщин с физиологическим течением гестации.

Таблица 41 - Скорость кровотока в МК и время ПРГ при выполнении пробы с реактивной гиперемией в группах с ранней, поздней ПЭ и контрольной,
Me (Q1; Q3)

Показатели	Ранняя ПЭ (n=42)	Поздняя ПЭ (n=63)	Контроль (n=35)
Фон, см/сек	17,2 (14,0; 19,6)#	18,3 (15,1; 20,9)	20,1 (17,4; 22,8)
30 сек, см/сек	18,3 (16,3; 20,1)#+	20,1 (18,7; 21,7)‡	24,1 (22,5; 25,6)*
1 мин, см/сек	18,4 (16,9; 19,6)#	19,2 (18,0; 20,4)‡	22,8 (21,5; 24,1)*
2 мин, см/сек	17,1 (15,6; 19,4)#	17,3 (16,2; 20,0)	22,1 (19,8; 24,3)*
3 мин, см/сек	16,7 (15,6; 19,0)#	17,6 (16,5; 20,5)	20,8 (18,7; 22,9)*
4 мин, см/сек	17,1 (14,8; 19,4)#	18,5 (15,9; 20,6)	20,2 (18,4; 22,0)*
5 мин, см/сек	16,4 (14,0; 18,8)#	18,8 (16,6; 19,0)	19,9 (16,5; 22,7)
Время ПРГ, мин	1,9 (1,6; 2,2)#	2,1 (1,3; 2,7)‡	4,0 (3,1; 4,8)*

Примечание: Различия значимы между: * - «измерением 1» и «2»; # - группой ранней ПЭ и контролем; ‡ - группой поздней ПЭ и контролем; + - ранней и поздней ПЭ (критерий Манна-Уитни)

В 28-36 недель гестации большинство скоростных показателей кровотока в МК, а также времени реактивной гиперемии при проведении пробы с ПРГ у беременных контрольной группы значимо увеличились при сравнении с данными «измерения 1» (Z=2,01-2,09, p=0,037-0,040) (табл. 41).

Напротив, развитие ПЭ характеризовалась незначимым приростом показателей кровотока в МК, а также времени ПРГ при сравнении с данными, полученными в латентный период заболевания, и эта тенденция не зависела от срока его манифестации. Однако скоростные показатели кровотока и время ПРГ на фоне клиники ранней ПЭ по всем позициям значимо отличались от таковых в контрольной группе, а также по уровню Vs на 30 сек при сравнении с группой с поздним началом ПЭ (Z=2,06-2,36 p=0,018-0,039). Тогда как при поздней ПЭ только показатели Vs на 30 сек и 1 мин и время ПРГ значимо ниже, чем у нормотензивных пациенток (Z=2,00-2,09, p=0,037-0,045).

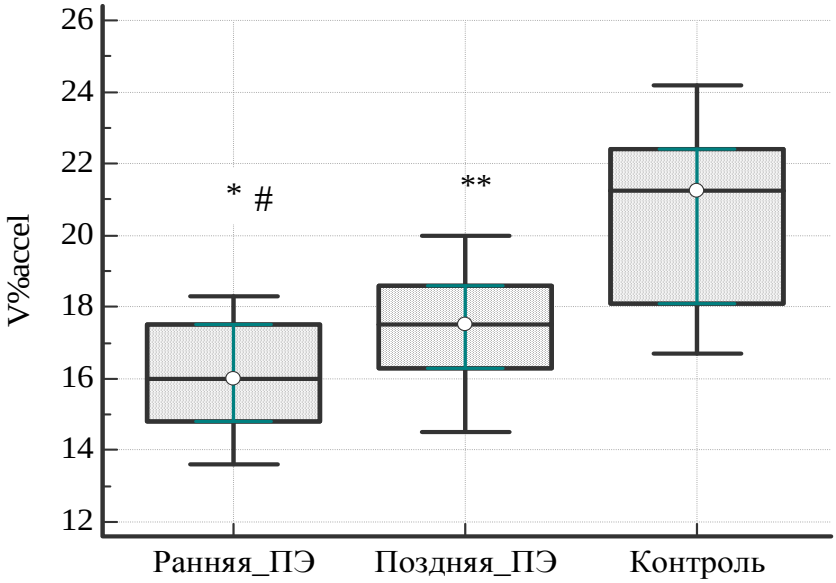

Рисунок 16. Коэффициент V%accel при «измерении 2», Me (Q1; Q3). Примечание: Различия значимы между: * - группой контроля и ранней ПЭ; ** - группой контроля и поздней ПЭ; # - ранней и поздней ПЭ (критерий Манна-Уитни)

На рисунке 16 представлены результаты оценки ЭЗВД в группах. Коэффициент V%accel был значимо ниже в группах с ранней и поздней ПЭ при сравнении с контрольной (Z=2,51, p=0,012 и Z=2,19, p=0,028 соответственно). Кроме того, значения V%accel у беременных с ранней ПЭ отставали по этому признаку от данных в группе с поздним началом заболевания (Z=2,01, p=0,040).

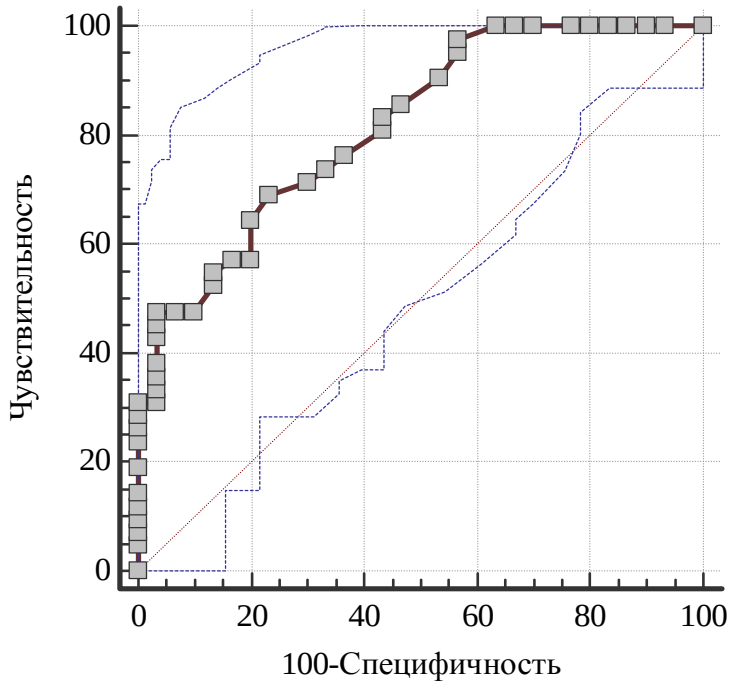

Рисунок 17. ROC-кривая по результатам расчета диагностического критерия ранней ПЭ по уровню V%accel

Диагностическим порогом ранней ПЭ является уровень V%accel ≤17,5%. AUC - 0,817 (рис. 17). Критерий значим - Z=6,51, p<0,0001. Чувствительность метода составила 69,05 % 95 % CI (52,9-82,4 %) и специфичность - 76,67 % 95 % CI (57,7-90,1 %). Отношение правдоподобия положительного результата - 2,96 95 % CI (1,5-5,8), отношение правдоподобия отрицательного результата - 0,40 95 % CI (0,2-0,7).

Значение V%accel ≤18,0 % - пороговое для диагноза поздней ПЭ. AUC - 0,667, (Z=2,70, p=0,006) (рис. 18). Чувствительность метода - 69,8 % 95 % CI (57,0-80,8 %), специфичность - 56,6 % 95%CI (37,4-74,5 %). Отношение правдоподобия положительного результата - 1,61 95 % CI (1,00-2,50), отношение правдоподобия отрицательного результата - 0,53 95 % CI (0,30-0,90).

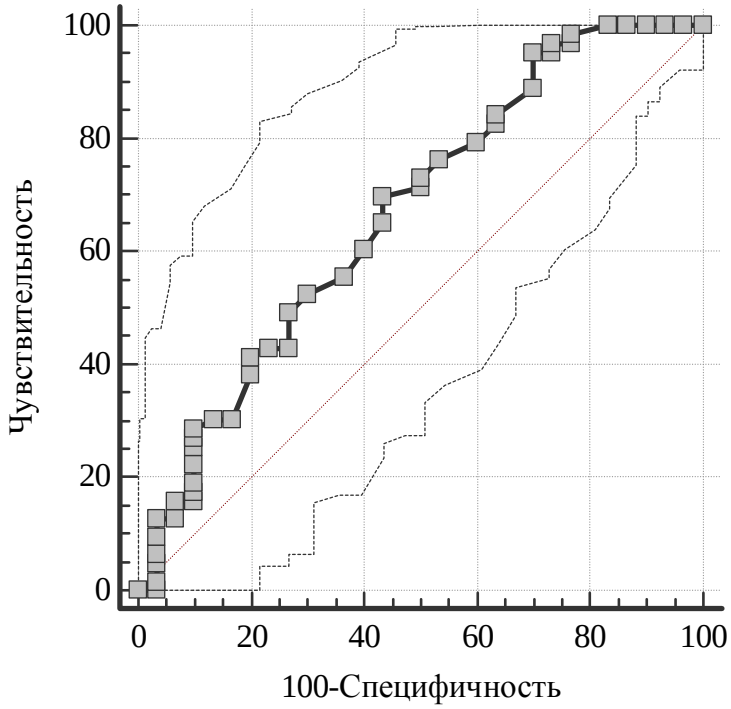

Рисунок 18. ROC-кривая по результатам расчета диагностического критерия поздней ПЭ по уровню V%accel

Таблица 42 - Реактивность МК в зависимости от задержки роста плода при поздней ПЭ, Me (Q1; Q3)

Показатель	Задержка роста плода «+» (n=25)	Задержка роста плода «-» (n=38)	Контроль (n=35)
V%accel, %	16,7 (14,8; 18,2)*	18,6 (16,8; 19,2)	21,6 (19,5; 23,7)
Время ПРГ, мин	1,9 (1,5; 2,2)*	2,9 (2,0; 3,3)	4,0 (3,1; 4,8)

Примечание: Различия значимы между: * - группой ПЭ «+» задержка роста плода и контролем (критерий Манна-Уитни)

Коэффициент V%accel и время ПРГ оказались ниже в группе пациенток с поздней ПЭ, чем в контрольной, однако значимое снижение этих показателей ассоциировано только с задержкой роста плода (Z=2,02, p=0,046 и Z=2,01, p=0,044 соответственно) (табл. 42).

Порогом для диагностики задержки роста у беременных с поздней ПЭ явился уровень V%accel ≤18,1 %. AUC - 0,811. Чувствительность - 89,2 % 95 % CI

(71,8-97,7 %), специфичность - 60,0 % 95 % CI (40,6-77,3 %). Отношение правдоподобия положительного результата - 2,23 95 % CI (1,4-3,5), отношение правдоподобия отрицательного результата - 0,18 95 % CI (0,06-0,5).

Таблица 43 - Реактивность МК в зависимости от задержки роста плода при ранней ПЭ, Me (Q1; Q3)

Показатель	Задержка роста плода «+» (n=17)	Задержка роста плода «-» (n=25)	Контроль (n=35)
V%accel, %	14,3 (11,3; 16,7)* #	17,3 (14,0; 19,1)**	21,6 (19,5; 23,7)
Время ПРГ, мин	1,8 (1,2; 2,0)* #	2,2 (1,8; 2,4)**	4,0 (3,1; 4,8)

Примечание: Различия значимы между: * - группой ПЭ «+»Задержка роста плода и контролем; ** - группой ПЭ «-» задержка роста плода и контролем # - группами ПЭ «+» и «-» задержка роста плода (критерий Манна-Уитни)

Все показатели характеризующие реактивность МК в обеих группах пациенток с ранней ПЭ были значимо ниже по сравнению с показателями контроля (Z=3,11-2,16, p=0,0011-0,039) (табл. 43). Однако отмечена четкая ассоциация наиболее выраженного нарушения ЭЗВД и развития задержки роста плода у беременных с ранней ПЭ ввиду того, что V%accel и время гиперемии были значимо ниже у этих пациенток, чем в группе без задержки роста плода (Z=2,32, p=0,021 и Z=2,11, p=0,036 соответственно).

Уровень V%accel ≤17,5 % пороговой для диагностики задержки роста плода при ранней ПЭ. AUC - 0,901, (Z=9,40, p<0,0001). Чувствительность – 95,2 % 95 % CI (76,2-99,9 %), специфичность - 76,6 % 95 % CI (57,7-90,1 %). Отношение правдоподобия положительного результата – 4,08 95 % CI (2,1-7,9), отношение правдоподобия отрицательного результата - 0,06 95 % CI (0,01-0,40).

Таблица 44 - Реактивность МК в зависимости от степени тяжести ПЭ, Me (Q1; Q3)

Показатель	Ранняя ПЭ		Поздняя ПЭ		Контроль (n=35)
	Средняя (n=24)	Тяжелая (n=18)	Средняя (n=39)	Тяжелая (n=24)	
V%accel, %	18,2 (15,1; 19,9) **	13,7 (11,0; 15,8) * ##	19,7 (17,6; 20,9)	15,4 (14,0; 16,9) #	21,6 (19,5; 23,7)
Время ПРГ, мин	2,3 (1,7; 2,5) **	1,6 (1,0; 1,7) * ##	2,9 (2,5; 3,7)	1,7 (1,4; 2,0) #	4,0 (3,1; 4,8)

Примечание: Различия значимы между: * - ранней тяжелой ПЭ и контролем; ** - ранней средней ПЭ и контролем; # - поздней тяжелой ПЭ и контролем; ## - поздней средней и ранней тяжелой ПЭ (критерий Манна-Уитни)

Показатели реактивности МК в группах пациенток с ранней тяжелой и средней ПЭ были значимо ниже по сравнению с показателями контроля (Z=3,24-2,14, p=0,0001-0,044) (табл. 44). Кроме того, в группе тяжелой ранней ПЭ отмечены самые выраженные нарушения ЭЗВД, что в свою очередь выявило значимость различий этой группы по признакам «V%accel» и «время ПРГ» с показателями поздней и ранней средней ПЭ (Z=2,12-2,42, p=0,034-0,023 и Z=2,02-2,11, p=0,046-0,034 соответственно). ЭЗВД в обеих группах поздней ПЭ также характеризовалась нарушением, но значимость различий по обоим признакам с контрольной группой установлена только при тяжелом течении заболевания (Z=2,48-2,14, p=0,019-0,038).

Показатель V%accel ≤17,2 % - пороговый для диагностики тяжелой ранней ПЭ. AUC - 0,918, (Z=9,67, p<0,0001). Чувствительность – 94,37 % 95 % CI (74,1-96,5 %), специфичность - 78,34 % 95 % CI (59,9-93,6 %). Отношение правдоподобия положительного результата – 3,78 95 % CI (2,0-7,1), отношение правдоподобия отрицательного результата - 0,12 95 % CI (0,08-0,51). Порог для диагностики

тяжелой поздней ПЭ - уровень V%accel ≤17,7 %. AUC - 0,834. Чувствительность - 87,0 % 95 % CI (69,1-90,9 %), специфичность - 65,1 % 95 % CI (48,8-84,1 %). Отношение правдоподобия положительного результата - 2,41 95 % CI (1,7-4,0), отношение правдоподобия отрицательного результата - 0,14 95 % CI (0,04-0,62).

3.4.3. Ассоциации полиморфизмов генов-кандидатов с показателями реактивности микрососудов кожи у беременных с преэклампсией

Представлены результаты гено-фенотипического анализа реактивности МК (на рисунках Me) относительно генотипов сайта rs1800629 гена *TNF-α*.

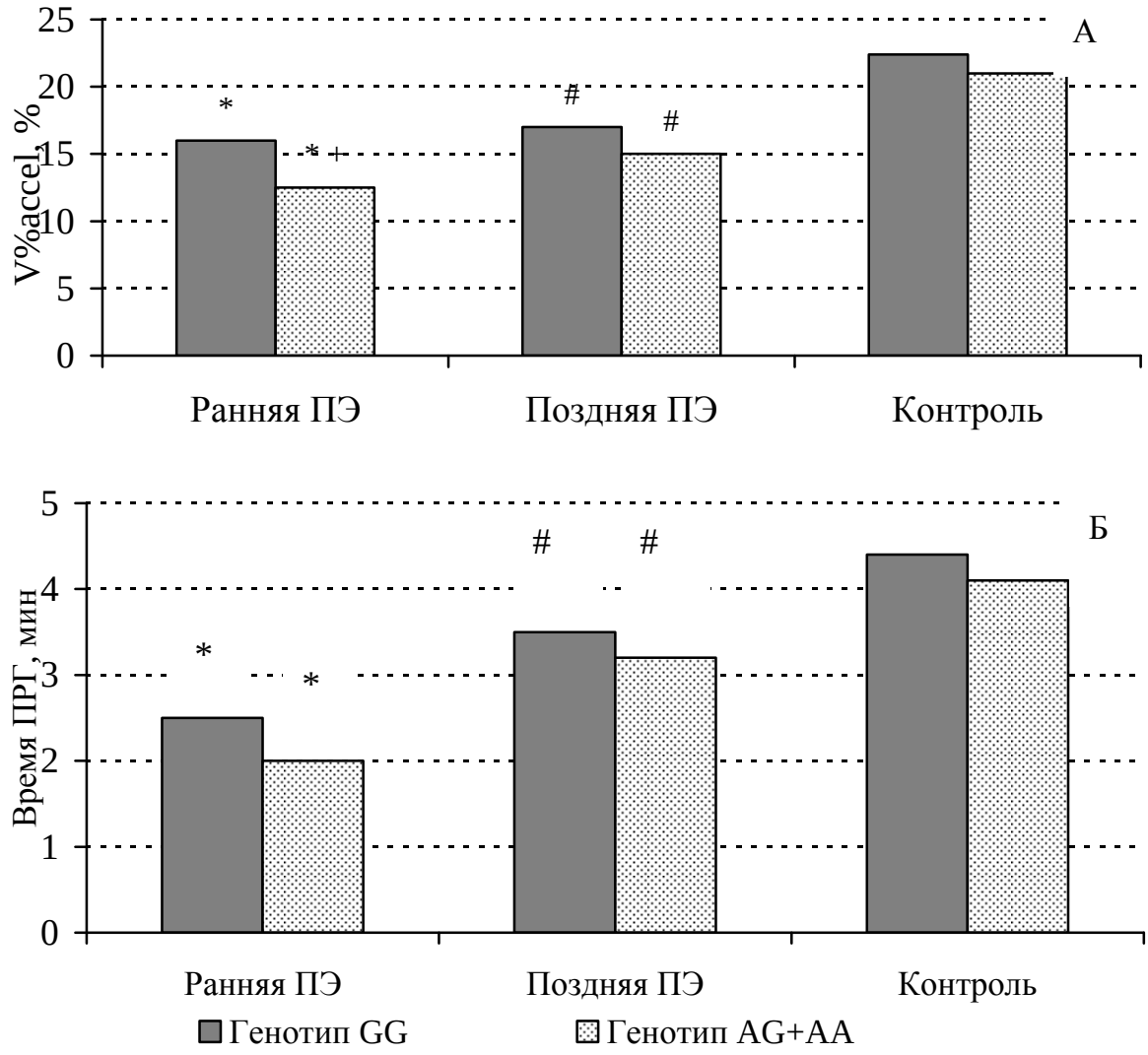

Рисунок 19. Данные пробы с ПРГ в подгруппах генотипов сайта rs1800629 гена *TNF-α*. Примечание: Различия значимы между: *-ранняя ПЭ и контроль; #-поздняя ПЭ и контроль; $^{+}$- генотипами GG и AG+AA (критерий Манна-Уитни)

Значения ЭЗВД у пациенток с ранней ПЭ ассоциируются с этими молекулярными вариантами гена *TNF-α*. Так для носителей генотипов AA+AG характерен более низкий уровень V%accel - 12,8 (12,8; 14,3) %, чем для гомозигот по аллелю G полиморфного маркера rs1800629 гена *TNF-α* - 17,8 (14,6; 19,3) %, (Z=2,04, p=0,043) (рис. 19, А).

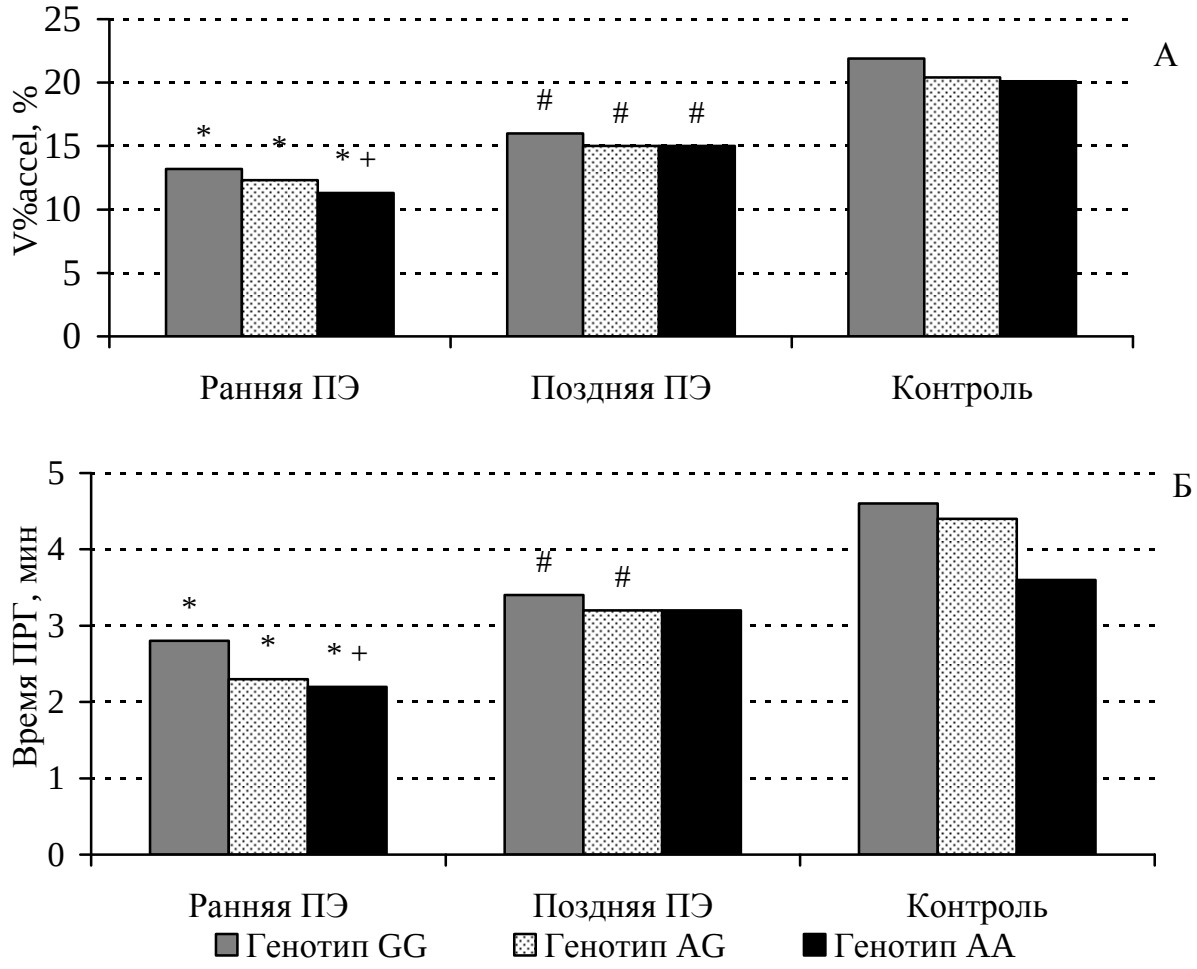

Рисунок 20. Данные пробы с ПРГ в подгруппах генотипов сайта rs1800896 гена *IL-10*. Примечание: Различия значимы между: * - ранняя ПЭ и контролем; # - поздняя ПЭ и контролем; $^{+}$ - генотипами GG и AA (критерий Манна-Уитни)

Уровень V%accel у беременных в группе ранней ПЭ с гомозиготным генотипом AA локуса rs1800896 гена *IL-10* значимо ниже - 12,3 (11,6; 14,9) %, чем у носителей генотипа GG - 16,9 (14,8; 17,8) %, (Z=2,04, p=0,045) (рис. 20, А). Кроме того, для гомозигот AA с ранней ПЭ характерно меньшее время ПРГ - 2,7 (2,2; 2,9)

мин по сравнению с генотипом GG полиморфизма rs1800896 гена *IL-10* - 2,1 (1,7; 2,4) мин, (Z=2,02, p=0,046) (рис. 20, Б). Важно заметить, что время ПРГ у носителей гомозиготного генотипа по аллелю А сайта rs1800896 гена *IL-10* в группе с поздней ПЭ было ниже такового в контроле, но в отличие от суммарной выборки значимо не отличалось (Z=1,17, p=0,113).

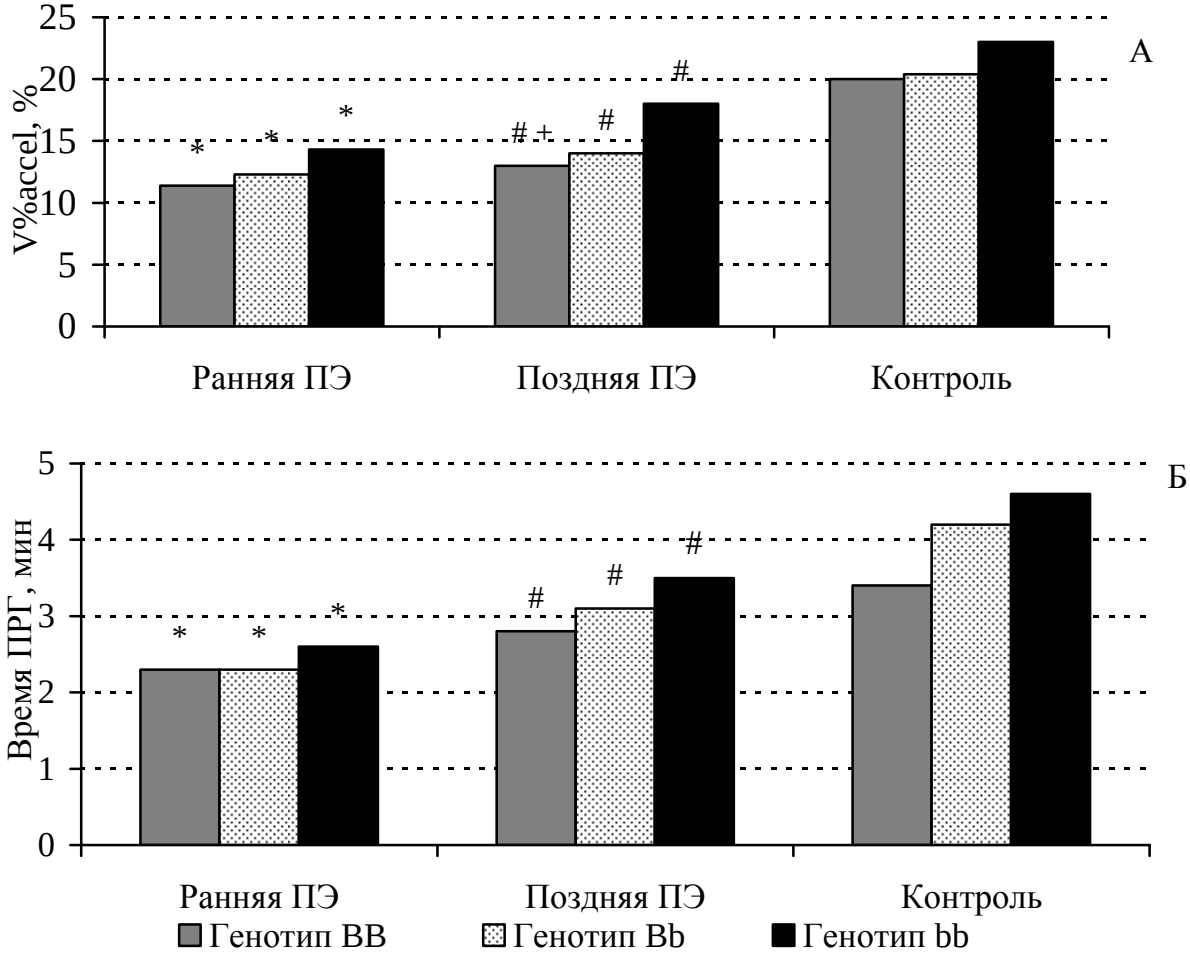

Рисунок 21. Данные пробы с ПРГ в подгруппах генотипов сайта BsmI (rs1544410) гена *VDR*. Примечание: Различия значимы между: *-ранняя ПЭ и контроль; #-поздняя ПЭ и контроль; $^{+}$-генотипами bb и BB (критерий Манна-Уитни)

Показатель V%accel, характеризующий ЭЗВД, значимо зависит от генотипов полиморфного маркера BsmI (rs1544410) гена *VDR* у беременных с поздней ПЭ (рис. 21, А). Так гомозиготы BB этого сайта гена *VDR* характеризуются значимо

меньшими значениями V%accel по сравнению с носителями гомозиготного генотипа bb (15,1 (13,1; 15,9) % против 18,1 (15,8; 20,6) % (Z=2,09, p=0,043)).

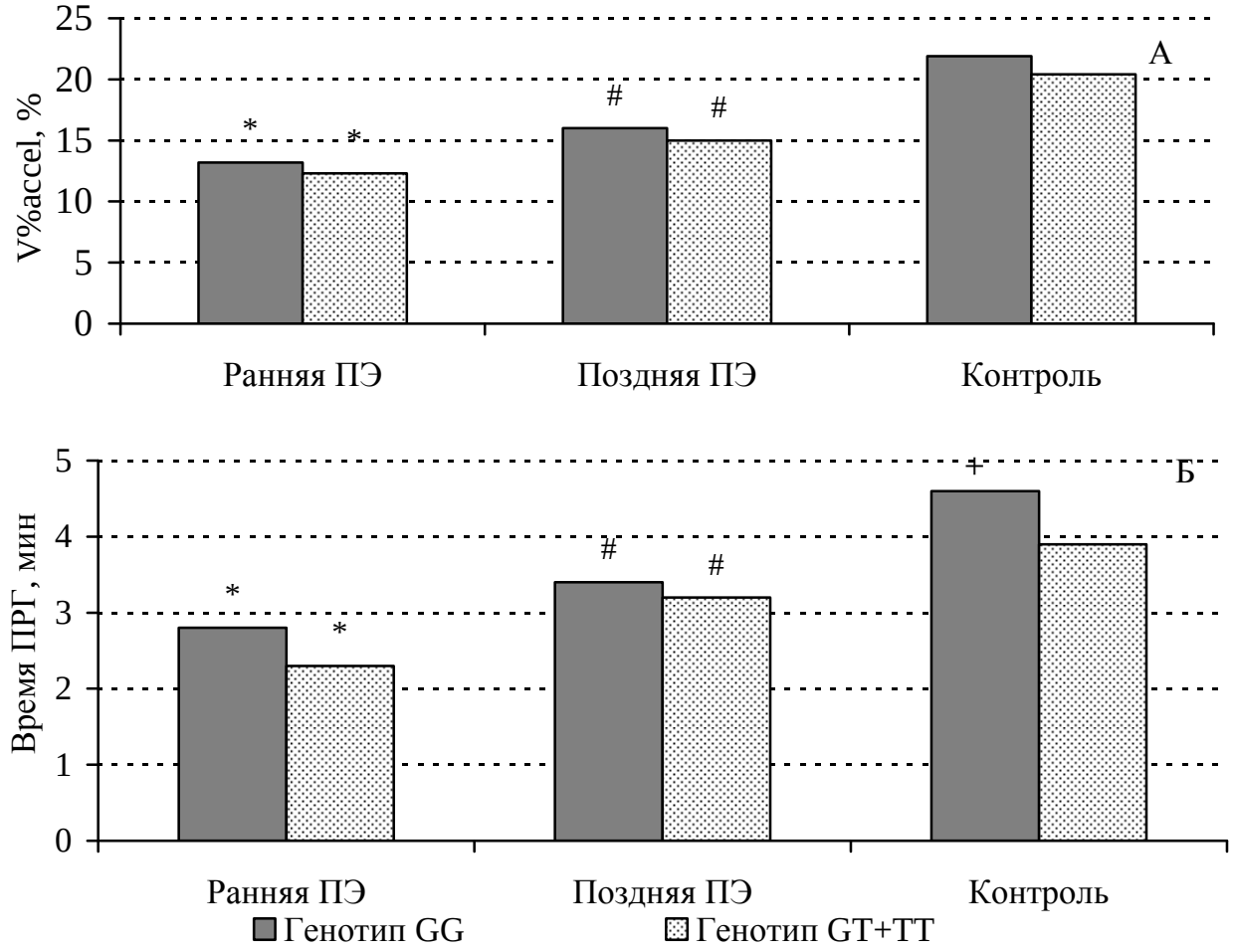

Рисунок 22. Данные пробы с ПРГ в подгруппах генотипов сайта rs1799983 гена *NOS3*. Примечание: Различия значимы между: * - ранняя ПЭ и контроль; # - поздняя ПЭ и контроль; $^{+}$ - генотипами GG и GT+TT (критерий Манна-Уитни)

В контрольной группе отмечена значимая ассоциация временного критерия ПРГ с локусом rs1799983 гена *NOS3*. Так для носителей генотипа GG характерен более высокий уровень это показателя - 4,3 (4,0; 4,6) мин по сравнению с беременными, обладающими генотипами с аллелем T - 3,8 (2,9; 4,3) мин, (Z=2,11, p=0,038) (рис. 22 Б).

Для беременных контрольной группы гомозигот CC полиморфизма rs2070744 гена *NOS3* характерен более низкий коэффициента V%accel - 19,8 (18,6; 21,1) %,

чем для носителей генотипа ТТ этого молекулярного варианта гена *NOS3* - 23,2 (21,5; 25,7) %, (Z=2,01, p=0,044) (рис. 23 А).

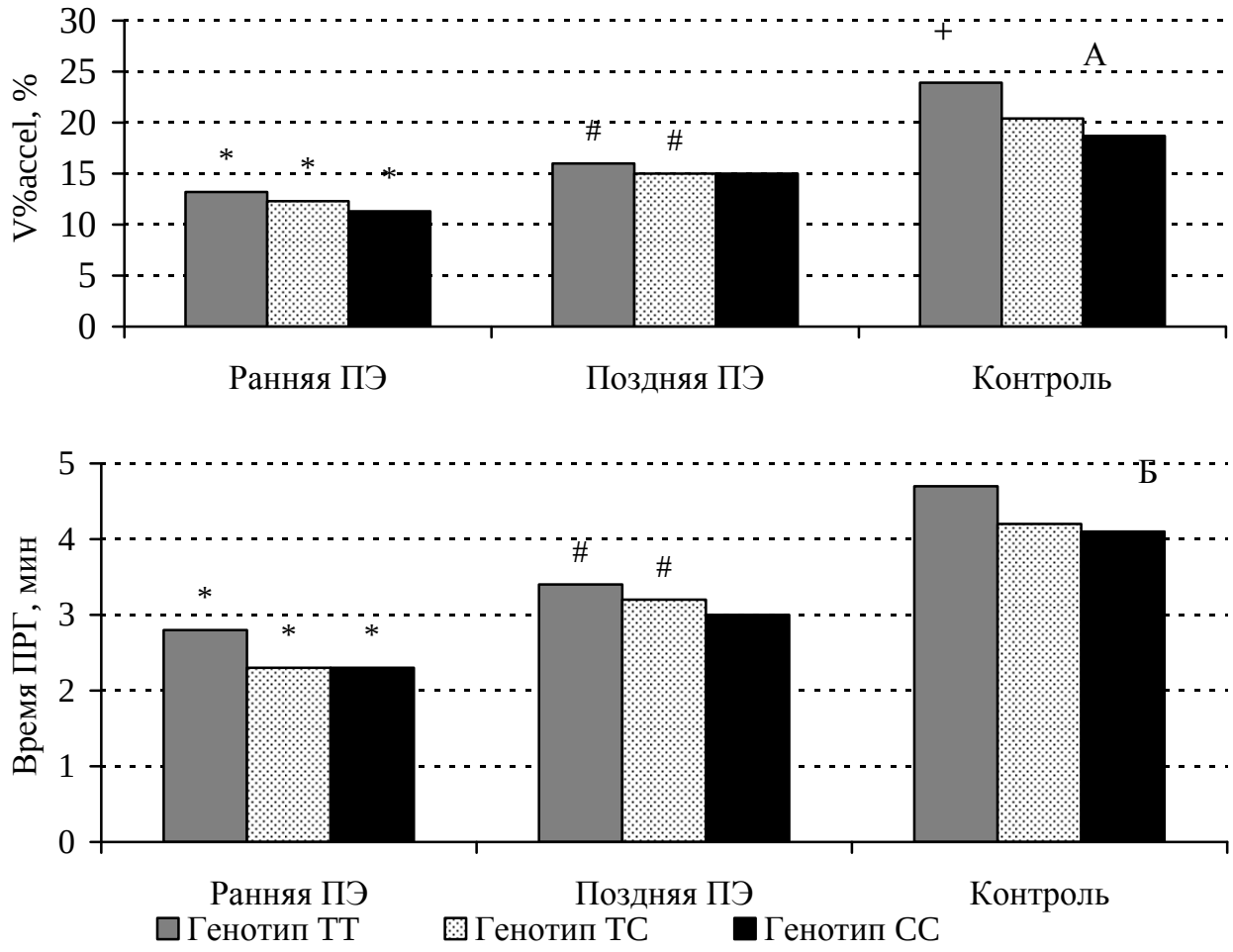

Рисунок 23. Данные пробы с ПРГ в подгруппах генотипов сайта rs2070744 гена *NOS3*. Примечание: Различия значимы между: * - ранняя ПЭ и контроль; # - поздняя ПЭ и контроль; $^{+}$ - генотипами ТТ и СС (критерий Манна-Уитни)

С этим обстоятельством связано отсутствие значимости различий по уровню V%accel среди носителей гомозиготного генотипа минорного аллеля сайта rs2070744 гена *NOS3* между беременными группы контроля и пациентками с поздней ПЭ (Z=1,56, p=0,088), чего не наблюдается при анализе суммарных выборок этих индивидуумов.

Таким образом, функция эндотелия у пациенток ПЭ нарушается в латентную фазу заболевания, однако основываясь на показателях статистической значимости результатов пробы с ПРГ, это заключение касается в большей степени ранней формы этого осложнения беременности. Учитывая значимую ассоциацию коэффициента V%accel и ранней ПЭ, значения этого параметра явились тестом с весьма хорошими возможностями относительно прогноза этого заболевания. Манифестация ПЭ характеризуется прогрессирующим нарушением ЭЗВД, что в большей степени отмечается при раннем начале этого осложнения беременности. Кроме того, задержка роста плода и тяжелая форма заболевания у пациенток с ранней ПЭ ассоциированы с наиболее низкими показателями реактивности МК при сравнении с другими категориями анализируемых групп пациенток с ПЭ.

Показано, что полиморфные маркеры rs1800629 гена *TNF-α* и rs1800896 гена *IL-10* модифицируют показатели ЭЗВД у беременных с ранней ПЭ, а локус BsmI (rs1544410) гена *VDR* с поздним началом заболевания. Полиморфизмы rs2070744 и rs1799983гена *NOS3* ассоциированы со значениями реактивности МК, меняя фенотип ЭЗВД в сторону худших значений под влиянием молекулярных вариантов этих локусов, установленных как рисковые для ранней и поздней ПЭ.

3.5. Модели индивидуального прогноза риска ранней и поздней преэклампсии

Клинико-анамнестические данные пациенток групп ранней и поздней ПЭ в совокупности с исследованием влияния полиморфизмов изученных генов легли в основу построения моделей оценки индивидуального риска этих осложнений гестации. Для этого был применен метод пошаговой бинарной логистической регрессии, используемый для описания отношения между независимыми переменными и бинарным ответом, которым является «наличие» или «отсутствие» ранней и поздней ПЭ соответственно.

Для группы ранней и поздней ПЭ рассчитаны и оценены 2 модели, которые определяют риск этих форм специфичных для беременности гипертензивных расстройств в I триместре гестации.

Общая исходная матрица сравнения группы беременных с ранней ПЭ и контрольной группы включала в себя значения переменных из перечня клинико-анамнестических и молекулярно-генетических признаков, описывающих представленные выборки. Эти признаки тестировались относительно значимости предикторов методом пошагового включения (forward stepwise) в модель уравнения бинарной логистической регрессии.

Таблица 45 - Значения параметров статистической модели для расчета индивидуального риска ранней ПЭ

Генотипы локуса rs1800896 гена *IL-10* *(x IL-10)*	Генотипы локуса rs4986790 гена *TLR4* (*x TLR4*)	ПЭ в анамнезе (*x* аПЭ)	Хронический пиелонефрит (*x* ХП)
Генотип GG (1)	Генотип AA (1)	Есть (1) Нет (2)	Есть (1) Нет (2)
Генотип GA+AA (2)	Генотип AG+GG (2)		

В таблице 45 представлены значения параметров статистической модели для ранней ПЭ, включающей четыре значимые предиктора этого осложнения беременности в качестве переменных.

Важно отметить, что переменные в модели, относящиеся к генотипам локусов генов, являются обычными ковариатами, поэтому имеют кодировку из двух вариантов. Так генотипы GG локуса rs1800896 гена *IL-10* и генотипы AA сайта rs4986790 гена *TLR4*, определенные как ассоциированные с пониженным риском ранней ПЭ имеют значения «1».

Гетерозиготные генотипы обоих полиморфных маркеров (GA и AG) и гомозиготы по аллелям риска rs1800896 гена *IL-10* (AA) и rs4986790 гена *TLR4* (GG), связанные с повышенным риском ранней ПЭ – «2» соответственно.

ПЭ в анамнезе и хронический пиелонефрит (есть) имеет значение «1», в случае отсутствия таковой (нет) – «2».

Таблица 46 - Переменные уравнения логистической регрессии для расчета индивидуального риска ранней ПЭ

Факторы	B	S.E.	Wald	p	Exp (B)
Константа (B0)	-0,232	0,279	0,689	0,406	0,793
IL-10 (B1)	0,537	0,118	6,637	0,036	1,907
TLR4 (B2)	0,389	0,086	10,460	0,027	1,933
аПЭ (B3)	2,413	1,177	4,198	0,0001	12,961
ХП (B4)	1,297	0,492	5,002	0,019	3,554

Примечание: S.E. – стандартная ошибка

Переменные уравнения логистической регрессии модели ранней ПЭ приведены в таблице 46. Значения коэффициентов B модели показывают вклад каждого из них в конечный фенотип. С другой стороны показатели Exp (B) отражают степень влияния каждой переменной на вероятность того или иного бинарного ответа.

Итоговое уравнение для расчета индивидуального риска ранней ПЭ выглядит следующим образом:

$$p\ (EP) = 1/1+e^{Z},$$

где p (EP) – это значение вероятности наступления события (наступления ранней ПЭ); e – основание натуральных логарифмов (число Эйлера = 2,718); а показатель z рассчитывается так:

z = B1 * x IL-10 + B2 * x TLR4 + B3 * x аПЭ + B4 * x ХП + Константа B0.

Введение фактических данных пациентки в уравнение z = 0,537 * x IL-10 + 0,389 * x TLR4 + 2,413 * x аПЭ + 1,297 * x ХП -0,232 и последующее вычисление p (EP) позволяет оценить степень индивидуального риска ранней ПЭ.

Тестируя модель при проспективном анализе, установлено, что значение р (ЕР) >0,472 характеризует беременную, как имеющую высокий риск ранней ПЭ, а уровень р (ЕР) <0,472, как низкий риск этого осложнения гестации.

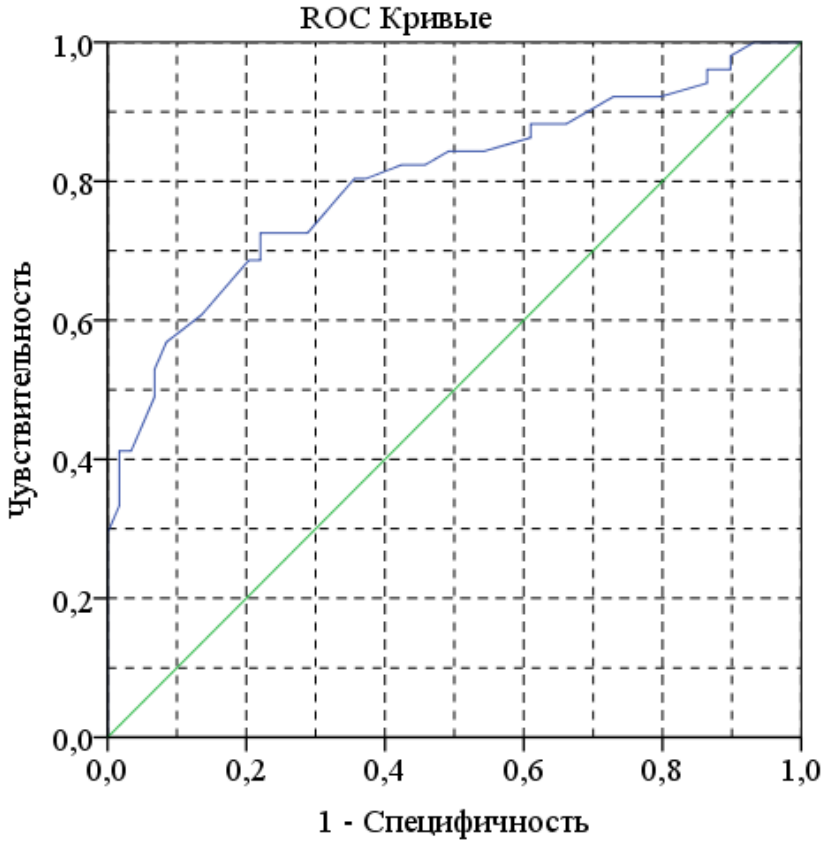

Рисунок. 24. ROC-кривая по результатам оценки качества модели индивидуального прогноза ранней ПЭ

Для оценки качества прогностической модели ранней ПЭ рассчитан параметр AUC (рис. 24), составивший 0,801, асимптотический 95 % CI (0,715-0,886), SE=0,044, p=0,000. Чувствительность модели - 88,20 % 95 % CI (49,7-98,6 %) и специфичность - 66,10 % 95 % CI (39,4-78,5 %). Отношение правдоподобия положительного - 2,11 95% CI (1,31-3,47) и отрицательного результата - 0,21 95 % CI (0,04-0,78).

Таким образом, качество модели для расчета индивидуального риска ранней ПЭ по данным анамнеза и генотипирования полиморфных локусов генов является «очень хорошим».

Методом пошагового включения при тестировании значимых предикторов сформировалась группа из пяти признаков, включенных в конечную модель расчета индивидуального риска поздней ПЭ (табл. 47).

Таблица 47 - Значения параметров статистической модели для расчета индивидуального риска поздней ПЭ

Генотипы локуса rs1800896 гена *IL-10 (*x IL-10*)*	Генотипы локуса rs1799983 гена *NOS3* (x NOS3)	Возраст >35 лет (x возраст)	ИМТ ≥30 кг/м^2 (x ИМТ)
Генотип GG (1)	Генотип GG (1)	Есть (1) Нет (2)	Есть (1) Нет (2)
Генотип GA (2)	Генотип GT+TT (2)		
Генотип AA (3)			

В модель включена переменная из генотипов локуса rs1800896 гена *IL-10*, ассоциированного с риском поздней ПЭ. Данная переменная является категориальной, поэтому представленная тремя значениями.

В свою очередь переменная генотипов полиморфного маркера rs1799983 гена *NOS3* является обычной ковариатой и представлена двумя значениями по причине объединения двух генотипов с рисковыми аллелями под одним значением.

Гомозиготные генотипы GG сайтов rs1800896 гена *IL-10* и rs1799983 гена *NOS3* – протективные в отношении поздней ПЭ имеют значение «1».

Гетерозиготный генотип и гомозиготный по минорному аллелю T (GT+TT) локуса rs1799983 гена *NOS3* и гетерозиготы сайта rs1800896 гена *IL-10*, определенные как рисковые для возникновения поздней ПЭ - «2».

В свою очередь гомозиготный генотип АА последнего полиморфизма имеет значение «3». Возраст старше 35 лет, ИМТ более 30 кг/м^2 в их присутствии (есть) имеют значение «1», а в отсутствии (нет) – «2».

Коэффициенты переменных уравнения бинарной логистической регрессии модели расчета индивидуального риска поздней ПЭ (В) приведены в таблице 48.

Таблица 48 - Переменные уравнения логистической регрессии для расчета индивидуального риска поздней ПЭ

Факторы	B	S.E.	Wald	p	Exp (B)
Константа (B0)	0,361	0,277	1,681	0,303	1,713
IL-10 (B1)	1,207	0,373	8,435	0,036	2,302
NOS3 (B2)	0,923	0,524	4,922	0,020	2,015
Возраст (B3)	1,429	0,105	6,238	0,013	5,604
ИМТ (B4)	1,332	0,426	6,721	0,031	4,241

Примечание: S.E. – стандартная ошибка

Итоговое уравнение для расчета индивидуального риска поздней ПЭ выглядит следующим образом:

$$p\ (LP) = 1/1+e^{Z},$$

где p (LP) – это значение вероятности наступления события (наступления поздней ПЭ); e – основание натуральных логарифмов (число Эйлера = 2,718); значение z рассчитывается по формуле: z = B1 * x IL-10 + B2 * x NOS3 + B3 * x Возраст + B4 * x ИМТ + Константа B0.

Введение фактических данных пациентки в уравнение z = 1,207 * x IL-10 + 0,923 * x NOS3 + 1,429 * x Возраст + 1,332 * x ИМТ + 0,361 и последующее вычисление p (LP) позволяет оценить степень индивидуального риска поздней ПЭ.

Значение p (LP) >0,470 по данным проспективного эмпирического анализа принято как указывающее на высокий риск поздней ПЭ, а <0,470 на низкий риск этого заболевания.

Оценено качество прогностической модели поздней ПЭ (рис. 25). Значение AUC составило 0,723, асимптотический 95 % CI (0,624-0,821), SE=0,050, p=0,000. Чувствительность модели - 80,4 % 95 % CI (41,2-90,1%) и специфичность - 67,8 % 95 % CI (32,1-73,0 %). Отношение правдоподобия положительного - 1,98 95 % CI (1,12-3,03) и отрицательного результата - 0,29 95 % CI (0,11-0,82).

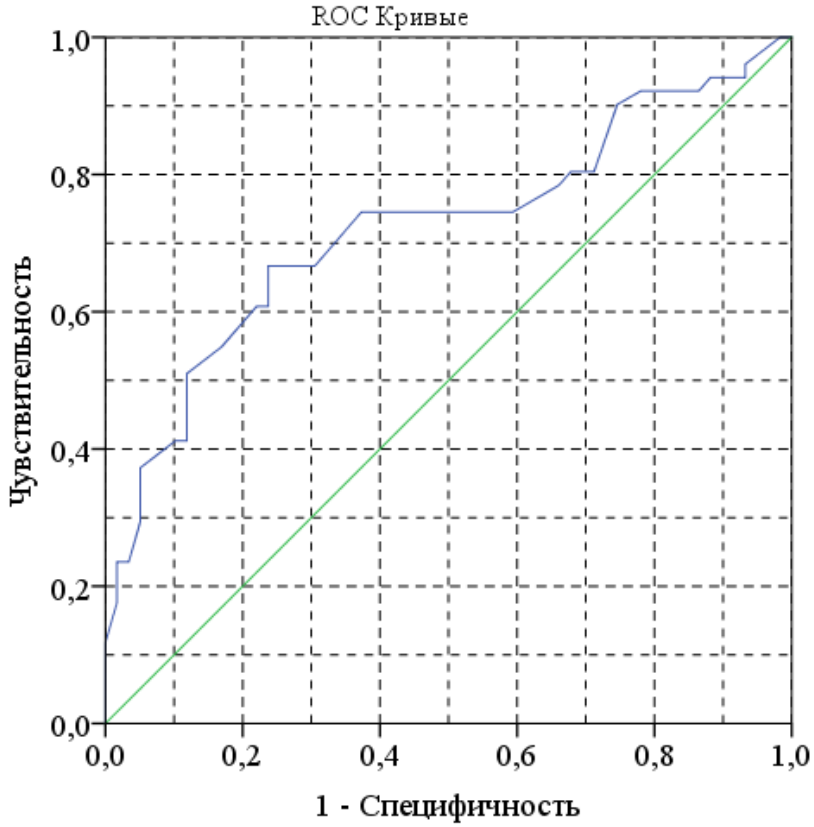

Рисунок. 25. ROC-кривая по результатам оценки качества модели индивидуального прогноза поздней ПЭ

Таким образом, качество модели для расчета индивидуального риска поздней ПЭ с учетом анамнестических и генетических факторов относится к рубрике «хорошего» качества.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на определенные успехи в биологической и медицинской науке и практике, до сих пор не удается добиться значимого улучшения акушерских и перинатальных результатов у пациенток с различными формами ПЭ. Этиологические факторы этого осложнения гестации остаются неизвестными, патогенез по многим направлениям малоизученным, а единственным методом эффективного лечения, к сожалению, является родоразрешение [16, 30, 131, 204].

В этой связи, согласно сформулированной цели и задачам исследовательской работы сформированы 3 выборки (группы) беременных. В основные 2 группы вошли 255 пациенток, у которых на основании клинических признаков из перечня, утвержденного нормативными документами и клиническими рекомендациями [2, 3, 25], диагностирована ПЭ. Первую подгруппу с ПЭ составили 143 пациентки с поздней ПЭ (манифест ПЭ в 34 недели гестации и позже). Вторую подгруппу составили 112 пациенток с ранней ПЭ (начало ПЭ ранее 34 недели гестации). Формирование групп произошло на основании представленных критериев включения и исключения. Контрольную группу составили 120 женщин.

Современная стратегия формирования групп риска по акушерской и перинатальной патологии основывается на анализе анамнестических (исторических) факторов выделенных групп обследуемых. В этой связи относительно возрастного фактора показано, что у пациенток с ранней ПЭ в возрасте до 20 лет было значимо больше, чем в группе с поздней ПЭ. С другой стороны в группе с поздней ПЭ количество пациенток возрастном классе «20-25 лет» значимо меньше, чем в других группах. Ассоциация ранней ПЭ с молодым возрастом пациенток, вероятно, связана с характерной для большинства популяций связью ПЭ и выделенной возрастной категорией беременных [163, 193].

С другой стороны, в группе пациенток с поздней ПЭ отмечается значимое накопление возрастных классов «31-35» и «36-40». Полученные результаты согласуются с данными [11, 81], но прямо отличаются от результатов других авто-

ров [90]. В работе же A. Khalil и соавт. аналогично показана тенденция увеличения риска ПЭ в ряду возрастных классов «39-40 лет» и «≥40 лет», однако исследователи отнесли эту зависимость в равной степени, как к ранней, так и поздней ПЭ [160]. По нашим же данным возраст старше 35 лет является независимым фактором риска именно поздней ПЭ. Учитывая высокий коэффициент наследуемости АГ, установлено, что риск поздней ПЭ увеличен более чем в 2 раза среди пациенток этой формы заболевания. Однако стоит полагать, что общность патогенеза гипертонической болезни прослеживается только с поздней ПЭ (показано в работе D. Wright и соавт. [81]), тогда как ранняя форма этого осложнения гестации данной тенденции не придерживается.

Большинство рубрик воспалительных соматических заболеваний в анамнезе были отнесены к факторам риска обеих форм ПЭ, а воспалительных заболеваний придатков матки только поздней ПЭ, что в свою очередь может быть маркером иммунологических нарушений предшествующих последующей беременности. Такого же мнения придерживается ряд авторов, которые утверждают, что расстройства иммунного ответа является независимым фактором риска сердечнососудистых заболеваний [165, 194]. Так хронический пиелонефрит в анамнезе встречается значимо у беременных с ранней и поздней ПЭ, однако независимым предиктором является только для ранней формы заболевания. Вместе с тем, относительно роли заболеваний почек и риска ПЭ существует противоречивое мнение. Так с одной стороны поддерживается идея об ассоциации почечных хронических заболеваний и ПЭ (риск повышен более чем в 4 раза) [129, 150], с другой стороны такая зависимость не прослежена [149].

Миома матки встречается более чем в четыре раза чаще среди пациенток с поздней ПЭ и, можно полагать, является важным фоновым заболеванием для этой формы АГ у беременных, что в свою очередь может быть связано с возрастным составом этой выборки пациенток. Однако S. Vannuccini и соавт. указывают, что миоматозная трансформация эндометрия равно могут включаться в патогенез ПЭ за счет воспалительного и дисгормонального компонента собственного развития

заболевания [141]. Вероятно, по этой причине риск ранней ПЭ более чем в 2 раза независимо увеличивается при наличии СПКЯ в анамнезе у этих пациенток.

Медицинские аборты в анамнезе с одинаковой манерой значимо чаще отмечаются у пациенток с ранней и поздней ПЭ (более чем в 2 раза). В этой связи интересным является, что абортом увеличивает вероятность ПЭ в 2 раза при последующих беременностях с тем же партнером, однако риск этого заболевания оказывается одинаковым у женщин с абортом в анамнезе и без такового при последующей беременности с другим партнером [129, 215]. Репродуктивные потери в виде выкидышей ассоциированы с более чем двукратным риском увеличения только поздней ПЭ (более чем в 2 раз), что в свою очередь может быть результатом общего отягощения гинекологического анамнеза и возрастного состава этой группы женщин.

ПЭ в анамнезе была характерна исключительно для пациенток основных групп, что в свою очередь увеличивает риск этого осложнения беременности при настоящей в 12-13 раз и не зависит от срока манифестации заболевания, являясь независимым предиктором обеих форм ПЭ. Практически все популяционные исследования подтверждают этот тезис [163], но A. Harutyunyan и соавт. уточняют, что риск ПЭ в последующей беременности в 5 раз выше, если интервал между осложненными гипертензивным расстройством гестациями ≥5 годам [129]. Кроме того, пациентки, перенесшие ПЭ, в 2-7 раз чаще страдают различными заболеваниями сердечнососудистой системы, по сравнению с женщинами, не имевшими в анамнезе этого осложнения беременности [165].

Для беременных с поздней ПЭ характерна высокая частота избыточной массы тела и клинически выраженного ожирения (ИМТ ≥30 кг/м^2), что в свою очередь увеличивало риск этой формы заболевания более чем в 4 раза. Полученные данные согласуются с мнением большинства других исследователей [81, 88, 160, 162, 240]. По мнению H. Valensise и соавт. такая тенденция может быть связана с увеличением ОЦК, ассоциированным с ожирением, в прегравидарном периоде, что реализуется в позднюю ПЭ при последующей беременности [90]. Од-

нако можно отметить, что есть сведения, отрицающие связь между ИМТ и риском развития как ранней, так и поздней ПЭ [37, 192].

Клиника угрожающего прерывания беременности сопутствовала течению гестации всех гипертензивных пациенток, что в свою очередь, вероятно, явилось действием суммы неблагоприятных фоновых факторов в этих группах женщин. Инфекция почек при беременности, по всей видимости, сыграла важную роль в реализации именно позднего начала ПЭ, т.к. именно в этой группе пациенток частота этого осложнения гестации была наибольшей.

В ряде работ описано, что у беременных с заболеваниями почек имеет место дисфункция эндотелия, которая развивается в ответ на системный характер воспаления характерный для данного очага поражения [150]. Кроме того, инфекция почек сопровождается снижением клубочковой фильтрации и гиперкоагуляцией, что, в конечном счете, реализуется в нарушение сосудодвигательной функции эндотелия сосудов, характерную для ПЭ [4, 15, 160].

Недостаточность второй волны инвазии трофобласта в стенки сосудов матки, как причина плацентарной недостаточности, инициирует развитие ПЭ и формирования недостаточного роста плода [22, 24, 152]. В этой связи патологические характеристики допплерограмм и ультразвуковой фето-плацентометрии, как диагностическая основа плацентарных нарушений значимо чаще отмечались именно у гипертензивных пациенток. Кроме того, острая форма плацентарных нарушений - ПОНРП отмечена исключительно у пациенток основных групп, что, по мнению ряда исследователей, является строгим маркером ПЭ [33, 201].

Формирование HELLP (ELLP) –синдрома, как и «чистой» формы ПЭ характеризуется тем же тотальным антиангиогенным статусом и катастрофическими полиорганными нарушениями, что объединяет патогенезы этих расстройств гестации [128, 209]. Однако, патобиология HELLP (ELLP) –синдрома имеет более схожую картину с ранним началом ПЭ по целому ряду пунктов, а также, по мнению ряда исследователей, чаще утяжеляет именно это форму гипертензивного расстройства гестации [24, 44, 131]. Аналогичные результаты получены в настоя-

щей работе, где HELLP (ELLP) –синдром чаще выявлялись у пациенток с ранним началом этой формы ПЭ при сравнении с поздним началом заболевания.

Анализируя исходы беременности, выявлено, что у всех пациенток с ранней ПЭ и у 68,5% с поздним началом заболевания, гестация завершилась индуцированными преждевременными родами. Причем оперативное родоразрешение в структуре родов составило 96,4 % и 76,2 % соответственно. По данным большинства исследователей риск преждевременных родов у пациенток с ПЭ в 4-8 раз, а оперативного в 4-10 раз выше такового при отсутствии гипертензии, специфичной для беременности [5, 18, 20, 133].

У матерей с ранней ПЭ соответственно чаще рождались недоношенные дети, не только при сравнении с контролем, но и группой с поздним началом этого осложнения беременности. Причем дети группы ранней ПЭ чаще рождались в состоянии асфиксии (низкие оценки по шкале В. Апгар), с низкой массой тела при рождении (до экстремальной степени снижения) и нуждались в интенсивной терапии в отделение реанимации новорожденных. Вполне ожидаемо, что в большинстве исследований, проведенных другими авторами, наши данные получили подтверждение [11, 127, 180].

Неблагоприятное влияние ПЭ на внутриутробное состояние плода и течение неонатального периода не подвергается сомнению [34, 73, 152]. Так перинатальные потери в анализируемых группах встречались только у гипертензивных пациенток, а различные формы перинатальной патологии наблюдались 90,2 % новорожденных от матерей с поздней ПЭ и у всех (100 %) дети в группе с ранним началом заболевания. Однако из двух анализируемых групп пациенток с ПЭ наименее благоприятные показатели течения неонатального периода демонстрировали новорожденные от матерей с именно ранней формой заболевания. В этой связи значимость различий по большинству рубрик было установлено между ранним и поздним началом ПЭ, а именно: перинатальные поражение ЦНС, перинатальные инфекции всех форм, РДСН и гипотрофия. Полученные результаты свидетельствуют о том, что группу повышенного риска по перинатальной патологии составляют беременные с ПЭ при катастрофически неблагоприятных исходах гестации

у пациенток с ранним началом заболевания, что подтверждается и другими исследователями [18, 49]

Таким образом, развитие ПЭ (обеих форм) независимо ассоциировано с индивидуальным анамнезом по АГ, специфичной для гестации. Дополнительным независимыми предикторами ранней ПЭ являются СПКЯ и хронический пиелонефрит, тогда как вероятность поздней формы заболевания увеличивают больше факторов – это возраст старше 35 лет, семейный анамнез по АГ и ИМТ ≥30 кг/м^2. Акушерские и перинатальные показатели у пациенток с ПЭ крайне неблагоприятные, причем ранняя форма заболевания ассоциируется с наиболее удручающими (по всей видимости, самыми неблагоприятными в акушерстве и перинатологии) исходами беременностей для матери, плода и новорожденного.

Физиологическая беременность ассоциирована с контролируемым воспалительным процессом, который обостряется в условиях ПЭ в ответ на избыточную плацентарную стимуляцию [127, 200]. В этой связи актуальным относительно ассоциации с ПЭ является изучение генетических маркеров, связанных с системой иммунитета. Установлено, что имеются различия по распределению частот генотипов и аллелей сайта rs4986790 гена *TLR4* между группами контроля и ранней ПЭ, что указывает на ассоциацию полиморфизма и изучаемой формы гестационной гипертензии. Так носительство мутантного аллеля G, гетерозиготного генотипа AG и суммы генотипов AG+GG (доминантная модель) увеличивает риск ранней ПЭ в 1,99, 1,93 и 2,08 раза. Кроме того, присутствие в генотипе минорного аллеля локуса rs4986790 гена *TLR4* ассоциировано с риском тяжелой формы ранней ПЭ (OR=3,33).

К аналогичному заключению пришли группа исследователей, указавших, что вероятность ранней ПЭ увеличена в 2,9 раза, а HELLP-синдрома в 4,1 раза [165, 223]. Однако в двух других работах ассоциации сайта rs4986790 гена *TLR4* с любыми формами ПЭ не установлено [142, 222]. Большинство исследователей указывает на центральную роль нарушения иммунной системы матери в инициации ранней и тяжелой ПЭ. В этой связи мутантный аллель G этого полиморфизма

гена *TLR4* способен формировать провоспалительный фенотип путем синтеза более активного протеина рецептора, а также связан с увеличением в плазме крови IL-6, фибриногена и С-реактивного белка [12, 67, 181]. Кроме того, показано, что маркер G локуса rs4986790 гена *TLR4* ассоциирован с увеличением иммунного ответа на элементы клеточной стенки бактерий и как результат - увеличение клеточной экспрессии TLR4, что позволило некоторым автором выдвинуть гипотезу об инфекционной природе ранней и тяжелой ПЭ [43, 165].

По нашим данным гомозиготный генотип AA, а также аллель дикого типа A локуса rs4986790 гена *TLR4* ассоциируются с понижением риска этого осложнения беременности (OR=0,48 и OR=0,50), что в свою очередь может быть связано с синтезом протеина TLR 4, обладающего более низкой функциональной активностью. Молекулярные варианты локуса rs4986790 гена *TLR4* не ассоциированы с риском ПЭ с поздней манифестацией заболевания. F. Xie и соавт. в своей работе так же утверждают, что риск поздней ПЭ не ассоциируется с молекулярными вариантами сайта rs4986790 гена *TLR4*, тогда как для ранней формы заболевания такая зависимость прослежена [223].

Локус rs1800896 гена *IL10* ассоциирован с предрасположенностью к ранней ПЭ, т.к. аллель A и гетерозиготный GA генотип увеличивают риск заболевания 1,54 и 1,90 раз соответственно, а также вероятность тяжелой формы ранней ПЭ в 2,33 раза. В этой связи частота этих маркеров у гипертензивных пациенток оказалась значимо выше, чем в контроле. Кроме того, в доминантной модели наследования генотипы с мутантным аллелем A ассоциированы с увеличением риска ранней ПЭ в 2,03 раза.

Нарастание количества минорных аллелей A сайта rs1800896 гена *IL10* связано с увеличением риска и поздней ПЭ, так носительство генотипа AG увеличивает его в 1,72 раза, вероятность возникновения этого осложнения гестации у гомозигот AA выше в 2,3 раза, а тяжелой формы этого заболевания 2,91 раза. В свою очередь из расчета доминантной модели следует, что вероятность поздней ПЭ увеличивается в присутствии минорных аллелей локуса rs1800896 гена *IL10* в 2,13 раза. Аналогичные результаты зафиксированы и в ряде других работ, в том

числе и мета-аналитических исследований, авторы указывают, что гомозиготный генотип АА сайта rs1800896 гена *IL10* увеличивает в 3,38 раз риск ПЭ [60, 85, 143, 154]. Кроме того, показано, что у носителей этого молекулярного варианта локуса rs1800896 гена *IL-10* концентрация противовоспалительного IL-10 снижена в плазме и уровень экспрессии мРНК в плаценте.

Можно полагать, что в наследовании риска ранней ПЭ, связанного с сайтом rs1800896 гена *IL10* прослеживаются эпистатические взаимодействия. Так, дилокусные комбинации «rs2070744 *NOS3* (CC) + rs1800896 *IL10* (AA)» и «rs4986790 *TLR4* (GG) + rs1800896 гена *IL10* (AA)» характеризуют индивидуума большим риском развития ранней ПЭ при сравнении с монолокусной для генотипа АА полиморфизма rs1800896 гена *IL10* (OR=1,67 и 2,28 против OR=1,18).

Значительное количество исследований не поддерживают мнение об ассоциации полиморфизма rs1800896 гена *IL-10* с ПЭ, а указывают на связь другого маркера (сайт rs1800872 гена *IL-10*) с риском этого осложнения беременности [112, 113, 144, 146, 185, 213]. Однако стоит заметить, что в данных работах анализировались преимущественно азиатские популяции индивидуумов.

По нашим данным носительство аллеля G и дикого гомозиготного генотипа GG полиморфизма rs1800896 гена *IL-10* является информативным маркёром наследования пониженного риска ранней ПЭ (OR=0,49 и OR=0,65). В этой части результаты согласуются с мнением исследовательской группы C. W. Pissetti и соавт. [197]. В свою очередь мажорный аллель G и генотип GG молекулярного варианта rs1800896гена *IL10* обладает защитным эффектом с точки зрения ассоциации с поздней ПЭ (OR=0,59 и 0,43).

В присутствии генотипов с аллелем G полиморфизма rs1800896 гена *IL-10* создаются условия для экспрессии этого гена, создающие протективный фон относительно ПЭ. Так под влиянием IL-10 снижается продукция провоспалительного TNF-α, ингибируются эффекты ангиотензина II, уменьшаются проявления ЭД и отмечается гипотензивный эффект [93, 97, 145].

При анализе монолокусных моделей установлено, что полиморфный маркер rs1800629 гена *TNF-α* не ассоциируется ни с ранней ни с поздней ПЭ. Аналогич-

ные данные относительно связи это сайта гена *TNF-α* получили и ряд других исследователей [38, 45, 69, 85, 227, 210]. Однако при расчетах дилокусных комбинаций показано, в паре генотипов «rs1800629 *TNF-α* (GA+AA) + rs4986790 *TLR4* (GG)» присутствие мутантного аллеля А полиморфизма rs1800629 гена *TNF-α* проявляет свойство влиять на риск ранней ПЭ, увеличивая его в 3,44 раза. Кроме того, данный полиморфный маркер увеличивает риск ранней ПЭ при сравнении по этому показателю, рассчитанному для генотипа GG локуса rs4986790 гена *TLR4* (OR=3,44 против OR=3,06) в однолокусной модели.

Аналогичные свойства, возможно связанные с эпистазом, минорный аллель А сайта rs1800629 гена *TNF-α* проявляет в комбинации с генотипом АА полиморфизма rs1800896 гена *IL10*, увеличивая риск поздней ПЭ в 2,33 раза. Вместе с тем, данная дилокусная комбинация оказывает большее влияние на вероятность поздней ПЭ (в 2,33 раза), чем гомозиготный генотип АА сайта rs1800896 гена *IL10* (в 1,70 раза).

Нужно отметить, что в ряде работ показано, что полиморфный локус rs1800629 гена *TNF-α* ассоциирован с ПЭ т. к. в исследовании случай-контроль генотип АА увеличивает риск этого осложнения с OR=4,1 [55, 58, 184, 226]. Фенотипически мутантный аллель А сайта rs1800629гена *TNF-α* увеличивает секрецию маркеров ЭД таких как TNF-α, растворимой молекулы сосудистой клеточной адгезии – 1 (sVCAM-1) и фибронектина [56, 135, 221].

Нами показано, что комбинация генотипов «rs1800629 *TNF-α* (GA+AA) + rs1800896 *IL10* (АА)» увеличивают риск тяжелой поздней ПЭ в 3,04, что в свою очередь указывает на значимое участие воспалительного компонента в патогенезе этой формы гипертензии. Однако есть данные, что полиморфизм rs1800629 гена *TNF-α* не связан с особенностями клиники и тяжестью ПЭ [227].

Гомозиготность по аллелю А и геторизиготность GA локуса rs1800629 гена *TNF-α* являются генетическими факторами, предрасполагающими к развитию задержки роста плода у пациенток как с ранней, так и поздней ПЭ (OR=2,83 и 3,06 соответственно). Исследовательская группа A. Molvarec и соавт. так же установила ассоциацию сайта rs1800629 гена *TNF-α* с задержкой роста плода у пациенток с

ПЭ, однако авторы отвергают связь этого полиморфизма с самим гипертензивным расстройством гестации [52].

В выборке пациенток с ранней ПЭ отмечено значимое накопление гомозигот по мутантному аллелю С rs2070744 гена *NOS3*, а также общей частоты указанного аллеля сайта. Данная закономерность позволила сделать заключение об ассоциации этого молекулярного варианта гена *NOS3* с этой формой заболевания, т.к. указанные полиморфные маркеры увеличивали предрасположенность к ранней ПЭ в 2,55 и 1,46 раза соответственно. В этой части наши данные согласуются с мнением других авторов [61, 105, 106, 183].

В свою очередь другой анализируемый сайт, входящий в состав структуры, кодирующей NOS3 (сайт rs1799983 гена *NOS3*) ассоциирован с поздней ПЭ, т.к. носительство аллеля Т, а так же генотипов GT+TT (доминантная модель) этого полиморфного маркера связано с повышением риска развития этого заболевания в 2,01 и 2,07 раза соответственно. Аналогичные результаты получены на других выборках относительно риска ПЭ и HELLP-синдрома, а также представлены в мета-аналитических исследованиях [53, 57, 102, 107]. В экспериментальных исследованиях рядом авторов наглядно показано, что представленные молекулярные варианты гена *NOS3* могут быть связаны со снижением его промоторной активности и меньшей генерацией NO, ассоциированной с измененным фенотипом фермента [54, 99, 183, 203].

Влияния на риск ранней ПЭ локуса rs1799983 гена *NOS3* и сайта rs2070744 гена *NOS3* на вероятность поздней ПЭ мы не обнаружили, что в свою очередь отмечено и в работах других исследователей [104, 124, 172, 188,]. Однако даже при отсутствии ассоциации этих полиморфизмов с ПЭ, показано, что генотипы риска сайта rs2070744 гена *NOS3* коррелируют с низкой генерацией NO, повышением систолического АД [54, 217], а локуса rs1799983 гена *NOS3*, в том числе и с избытком триглециридов в крови матери [172].

Нами показано, что гомозиготность ТТ и носительство аллеля Т локуса rs2070744 гена *NOS3* являются протективными от ранней ПЭ (OR=0,39 и OR=0,68), а аллель G полиморфизма rs1799983гена *NOS3* защищает от развития

поздней ПЭ (OR=0,54). В отношении протекции от ПЭ локуса rs2070744 гена *NOS3* высказались и ряд других исследователей [104, 111, 124, 218], а относительно этих свойств сайта rs1799983гена *NOS3* высказались [53, 217].

Важно отметить, что патогенные свойства относительно гестационного повышения АД сайты rs2070744 гена *NOS3* и rs1799983 гена *NOS3* могут реализовать в составе дилокусных комбинаций с другими генетическими маркерами риска ранней ПЭ, причем в сторону увеличения риска относительно монолокусных моделей (по нашим данным в сочетании с сайтами BsmI (rs1544410) гена *VDR* и rs1800896 гена *IL10*). В этой связи L. Muniz и соавт. также высказываются об эпистатическом механизме реализации риска ПЭ относительно этих генетических маркеров гена *NOS3* [111].

Установлено, что мутантный аллель С полиморфизма rs2070744 гена *NOS3* ассоциирован с тяжелой формой ранней ПЭ, а сумма генотипов с минорным аллелем Т локуса rs1799983 гена *NOS3* влияет на риск тяжелой формой поздней ПЭ (риск повышен в 2,65 и 2,60 раз соответственно). С нашими данными согласуются результаты исследования D. P. Leonardo и соавт. [57] относительно сайта rs1799983 гена *NOS3*, тогда как группа Z. Rahimi и соавт. [172] такой закономерности для локуса rs2070744 гена *NOS3* не обнаружила.

Генотипы TC+CC сайта rs2070744 гена *NOS3* ассоциируются развитием задержки роста плода у пациенток с ранней ПЭ, а генотипы GT+TT молекулярного варианта rs1799983 гена *NOS3* с аналогичным осложнением гестации у беременных с поздней ПЭ увеличивая риск этого состояния плода в 2,83 и 2,42 раза соответственно. Можно полагать, что данная ситуация возникает в ответ на снижение экспрессии и промоторной активности гена *NOS3*, процессах воспаления, нарушения адекватного ремоделирования сосудов в фето-плацетарной системе в присутствии молекулярных вариантов риска ПЭ этого гена, что описано в ряде работ [155, 168, 203].

Показано, что пациенток с ранней ПЭ повышена частота встречаемости В аллеля в сайте BsmI (rs1544410) гена *VDR*, что даёт возможность рассматривать его в качестве прогностического маркёра ассоциированного с риском развития

этого заболевания (риск выше 1,5 раза). Кроме того, по доминантной модели наследования для полиморфного локуса BsmI (rs1544410) гена *VDR* присутствие B аллеля дикого типа как в гомозиготном, так и в гетерозиготном варианте генотипа увеличивает риска ранней ПЭ в 1,94 раза. Аналогичным образом в польской популяции сайт BsmI (rs1544410) гена *VDR* в составе гаплотипов риска связан с осложненным течением беременности [64]. Однако в трех других популяциях исследователи не отмечают связи локусов BsmI (rs1544410) и Cdx2 (rs11568820) гена *VDR* с ПЭ. По их данным вероятность возникновения этого осложнения беременности ассоциируется с другим полиморфизмом гена *VDR* - FokI (rs2228570) [125, 235, 236].

Вместе с тем, метаболизм витамина D – важнейший элемент регуляции до 200 генов связанных с многими процессами гестационной адаптации, а его нарушение, связанное, в том числе с генетическим полиморфизмом *VDR*, ассоциируется с инициацией ПЭ, причем по мнению ряда исследователей именно с тяжелой формой заболевания [167, 237].

По нашим данным у беременных с нормальным АД чаще обнаруживалось носительство аллеля b и гомозиготного генотипа bb (в доминантной моделе) локуса BsmI (rs1544410) гена *VDR*, чем у пациенток с гипертензией. В этой связи можно предположить, что присутствие в генотипе данных молекулярных вариантов гена *VDR* защищает от развития ранней ПЭ (OR=0,67 и 0,52 соответственно). В этой связи имеются сведения, что при отсутствии дефицита витамина D на фоне генотипа bb локуса BsmI (rs1544410) гена *VDR* риск ПЭ значительно снижается, регистрируются более низкие показатели систолического и диастолического АД [35, 157, 234, 238].

Статистически значимого различия частот генотипов и аллелей сайтов BsmI (rs1544410) гена *VDR* для поздней ПЭ и TaqI (rs731236) гена *VDR* для обеих форм этого гипертензивного расстройства между группой беременных и контрольной группой не отмечено, что указывает на отсутствие ассоциации этих генетических факторов с указанными формами ПЭ.

При анализе дилокусных комбинаций генотипов показано, что у ВВ гомозигот полиморфизма BsmI (rs1544410) гена *VDR* присутствие в генотипе гомозиготного варианта rs2070744 гена *NOS3* по аллелю С является неблагоприятным прогностическим фактором ранней ПЭ, а так же ухудшает прогноз развития этого заболевания при сравнении с монолокусной моделью (OR=2,56 против OR=1,49). Кроме того, риск тяжелого течения ранней ПЭ оказался повышенным в 2,59 раза по результатам анализ комбинации молекулярных вариантов риска этого заболевания - пара «BsmI (rs1544410) *VDR* (BB) + rs2070744 *NOS3* (CC)». Можно полагать, что подобная закономерность, вероятно, связана с показанной способностью полиморфизма гена *VDR* ассоциироваться с процессами ЭД в части воспалительного повреждения эпителия сосудов, перекисным окислением липидов и снижения ЭЗВД, т.е. механизмами в которые так же включен ген *NOS3* [36, 94].

Пациентки с ранней и с задержкой роста плода значимо чаще были обладателями генотипов BB и Bb локуса BsmI (rs1544410) гена *VDR*, а с поздней Bb сайта BsmI (rs1544410) гена *VDR*, чем гипертензивные беременных без такового осложнения гестации. В этой связи можно полагать, что указанный генетический маркер ассоциирован с задержкой роста плода у беременных как с ранней, так и поздней ПЭ (риск увеличен в 3,16 и 2,37 раз соответственно). В этой связи в ряде работ показано, что указанный молекулярный вариант гена *VDR* приводит к пониженной экспрессии протеина VDR в плаценте, что в свою очередь нарушает процессы инвазии трофобласта, имплантацию, ангиогенез и приводит к развитию задержки роста плода у пациенток с ПЭ [117, 166, 206, 216].

Таким образом, молекулярные варианты протестированных полиморфных локусов генов в различной манере, зависящей от срока манифестации заболевания, ассоциируются с предрасположенностью к ПЭ. Мы полагаем, что генетическое разнообразие фактора наследственности относительно ранней и поздней ПЭ, а также особенностей их клиники указывает на различие патогенеза этих осложнений гестации и требует персонифицированного подхода к мероприятиям по прогнозированию, диагностике и профилактике анализируемых заболеваний у беременных.

В ходе проведения ассоциативного анализа концентрации внеклеточных форм ДНК с клиническими формами ПЭ важным, оказалось, соблюсти протокол относительно срока гестации, когда проводился забор крови для анализа. Нами выбрано окно в конце I и начале II триместра беременности (15-18 недель гестации). Данные сроки представляются оптимальными с точки зрения стратегии последующих расчетов прогностических критериев ПЭ и согласуются с понятиями о биологических процессах, происходящих в системе мать-плацента-плод [9, 76, 177].

Дело в том, что по данным ряда исследователей получение образцов ДНК в 11-13 недель беременности обладает только 18 % прогностической возможностью методики или вообще таковую не демонстрируют, тогда как в сроке 17-28 (30) недель гестации ценность теста увеличивается до 68,8 % [82, 91, 196]. Согласно мнению E. Contro и соавт. соблюдение данных сроков особенно важно для расчета критериев прогноза ранней формы ПЭ [82]. Согласно этим представлениям по нашим данным детекция воДНК оказалась положительной у 53,3% беременных в контроле (15-18 недель) и увеличилась до 76,7 % при анализе в 26-36 недель. Для беременных с латентным периодом ранней и поздней ПЭ аналогичные показатели увеличились с 75,0 % и 68,7 % до 91,5 % и 88,9 % при манифестации заболевания соответственно.

Относительно впДНК так же отмечено увеличение количества положительных результатов по мере прогрессирования беременности. В 15-18 недель для контроля - 56,6 %, латентный период ранней 87,5 % и 81,2 % поздней ПЭ с тенденцией к увеличению в следующей серии анализов до 73,3 %, 93,6 % и 88,9 % соответственно.

Согласно результатом исследования в 15-18 недель беременности концентрация воДНК в трех анализируемых группах статистически значимо не различалась. Мы полагаем, что это явление связано с отсутствием включения материнского источника внеклеточной формы ДНК в этом сроке гестации. Аналогичные данные показаны и в работах других авторов [73, 77, 164]. Однако Kim S.Y et al. указывают, что такие различия между латентной фазой ПЭ и контролем по уров-

ню воДНК имеются [91], но стоит заметить, что эти авторы использовали маркер *HYP2* (вероятно более чувствительный и селективный) для детекции этой формы внеклеточного генетического материала, тогда как в нашей работе использован маркер *TERT*.

Значимых различий по концентрации впДНК между контрольной группой и пациентками с латентным периодом поздней ПЭ мы так же не обнаружили. В этой части наши данные согласуются с мнением L. C. Poon и соавт. [164]. Однако в ряде других работ такие различия установлены [196, 224]. Возможно, среди прочих причин это может быть связано с тем, что исследователи применили маркеры впДНК - *DSCR3* и *RASSF1A*, тогда как в нашей работе использовался критерий, ассоциированный с полом плода *SRY*.

Уровень циркулирующей впДНК в плазме крови у беременных в латентном периоде ранней ПЭ был значимо выше, чем в контрольной группе беременных. Относительно этих данных имеется согласованность с результатами других исследователей [151, 211]. В литературе это явление описано как первый пик увеличения уровня фетального внеклеточного материала в материнской крови и происходит до появления клиники ПЭ по причине гипоксии / реоксигенации в межворсинчатом пространстве, оксидативного стресса, некроза и плацентарного апоптоза [153, 199, 229]. Однако по данным W. Stein и соавт. данное заключение может быть правомерным только для пациенток высокого риска по ПЭ и последующим развитием этого заболевания, тогда у беременных с исходно низким риском по ПЭ и клиникой этой формы гестационной гипертензии данный маркер прогностически незначим [74].

По нашим данным пороговым значением для прогноза ранней ПЭ является уровень впДНК >0,87 нг/мл (чувствительность 87,5 %, специфичность 66,7 %) при AUC=0,785, что указывает на хорошее качество модели. Ряд авторов так же придерживаются мнения, впДНК может быть эффективным критерием прогноза ПЭ и приводят весьма высокие показатели теста (AUC до 0,832, чувствительность до 100 % и восьмикратное увеличение риска ПЭ) [82, 91, 140, 153]. Однако есть мнение, что впДНК может быть предиктором только тяжелой формы ПЭ [72] или во-

обще таковым не является [164], хотя нужно отметить, что в последней работе исследователи проводили забор материала ДНК в 11-13 недель беременности.

По уровню воДНК пациентки с ранней и поздней ПЭ значимо отличались от группы беременных с нормальным АД в сторону больших значений. В ряде работ показано, что, источником высокого уровня воДНК у пациенток с ПЭ является преимущественно печеночная ткань, цитолиз которой отмечается при этом осложнении беременности [196, 229]. Кроме того, этот генетический маркер в большей концентрации отмечается при HELLP-синдроме, чем при тяжелом течении ПЭ [224]. По данным R. J. Levine и соавт. ПЭ сопровождается увеличением уровня воДНК в 3,5 раза, а HELLP-синдром - в 10 раз по сравнению с нормальной гестацией [229]. Вместе с тем, по нашим данным, уровень воДНК не зависел от срока манифестации этой формы гестационного повышения АД, а так же демонстрировал средние показатели диагностической ценности модели для поздней и ранней ПЭ (AUC равны 0,625 и 0,690 соответственно).

Увеличение концентрации циркулирующей формы ДНК плодного происхождения значимо ассоциировалось с развитием ПЭ. Однако уровень впДНК преобладал именно у пациенток с ранним началом заболевания по сравнению с таковым, установленным для группы поздней ПЭ. В этой части наши данные согласуются с результатами A. Martin и соавт. [72]. Ряд исследователей описывают т.н. второй пик повышения крови впДНК в плазме крови матери при появлении симптомов ПЭ. Предполагается, что кроме процессов деструкции, апоптоза и аномального васкулогенеза за него могут отвечать нарушение почечного клиренса плодового биомаркера, снижение активности ДНКаз, а также невыясненные пока механизмы защиты впДНК от разрушения в условиях ПЭ [151, 199, 202]. Важно отметить, что диагностическая модель для поздней ПЭ с использованием впДНК в качестве маркера показала практически идентичные характеристики при сравнении с воДНК, относящие к рубрике «средние» (AUC=0,626). В свою очередь для диагностики ранней ПЭ на основании впДНК данные модели выглядели более предпочтительными и оценивались как хорошие (AUC=0,722).

Ассоциации с задержкой роста плода по уровню внеклеточных форм ДНК у беременных с поздней ПЭ не выявлено, хотя показатели RI в артерии маточной и пуповинной были значимо выше в группе поздней ПЭ и этим плодовым синдромом. Однако ранняя манифестация заболевания показала значимую зависимость между задержкой роста плода и уровнем впДНК, что, можно полагать, отражает общность патогенеза этих осложнений беременности. Кроме того, уровень этого генетического материала плодного происхождения коррелировал с выраженностью нарушения кровотока в маточной артерии. Есть сведения, указывающие, что впДНК не может быть предиктором задержки роста плода [164]. Однако все авторы единодушны во мнении, что уровень этого биомаркера отрицательно влияет на показатели кровотока в различных отделах сосудистой системы мать-плацента-плод, причем в гораздо большей степени в случае присоединения к ПЭ задержки роста плода. [14, 75, 83].

Нами показано, что диагностические возможности относительно задержки роста плода по данным концентрации внеклеточных форм ДНК зависели от срока начала ПЭ. Так по уровню воДНК при поздней ПЭ показатель AUC составил 0,646, что явилось средним показателем модели. Концентрация воДНК и впДНК при ранней ПЭ показали значения AUC=0,721 и 0,807, что в свою очередь характеризовало эти модели как хорошую и очень хорошую соответственно. Маркерные свойства впДНК относительно задержки роста плода показаны и другими авторами, которые в свою очередь ассоциирует эти биомолекулы с выраженностью гипоксического повреждения плода [83, 199, 202].

В подтверждение тезиса о преимущественном формировании фенотипа ранней ПЭ уровнем внеклеточных форм ДНК, показано, что наибольшая концентрация как воДНК, так и впДНК отмечена у пациенток с тяжелым течением этого заболевания. Можно отметить, что данные одной исследовательской группы подтверждают мнение о воДНК как маркере тяжелого течения ПЭ [224], тогда как другие исследователи таковым считают циркулирующий плодный генетический материал [72]. В дополнение к вышесказанному можно отметить, что значимость различий установлена по уровню воДНК для пар «ранняя тяжелая ПЭ – средняя

поздняя ПЭ» и «средняя ранняя ПЭ – средняя поздняя ПЭ», чего не отмечалось при анализе суммарных выборок. Кроме того, обе диагностические модели тяжелой ранней ПЭ по уровню воДНК и впДНК нами отнесены к рубрике «очень хорошие». Аналогичная модель для поздней ПЭ по воДНК классифицирована как хорошая, а для впДНК только средняя.

Таким образом, можно полагать, что внеклеточные формы ДНК являются важными факторами патологических процессов, ассоциированными в большей степени с ранним началом ПЭ. Учитывая высокую специфичность впДНК и воДНК к механизмам развития гестационного повышения АД, особенностям клиники ПЭ и недостаточному росту плода, циркулирующие компоненты генетического материала могут быть надежными прогностическими и диагностическими биомаркерами этих состояний.

По данным «измерения 1» в 18-22 недели гестации Vs в покое (фон), равно как скоростные и временные показатели кровотока МК по результатам проведения пробы с ПРГ имели тенденцию к снижению для групп беременных в латентном периоде ранней и поздней ПЭ, но без статистической значимости результатов. Однако результаты «измерения 2» (28-36 недель гестации) четко указали характер адаптивных изменений кожного кровотока к прогрессирующей нормальной беременности и отсутствие таковых на фоне клиники ПЭ, причем раннее начало заболевания сопровождалось наихудшими показателями.

Есть мнение, что увеличение скорости кровотока в МК отражает механизмы снижения общего периферического сопротивления сосудов и связано с возрастанием активности сосудорасширяющих стимулов на фоне депрессии системных вазоконстрикторов [7, 103, 158].

Нами показано, что реактивность кожного кровотока снижается в предгипертензионном периоде, однако степень такого снижения зависит срока манифестации ПЭ. В этой связи редукция показателей V%accel в статистически значимой манере характеризовала только беременных в латентном периоде ранней ПЭ. Важно отметить, что некоторые авторы не находят значимого ухудшения ЭЗВД в латентном периоде ПЭ [70, 71], однако данные работы проведены в I триместре

гестации, что в свою очередь может не верифицировать минимальные расстройства адаптации кровотока. Кроме того, J. Blaauw и соавт. напротив показали увеличение ЭЗВД в предгипертензионном периоде, что объяснили компенсаторным повышением чувствительности сосудов к NO [40], однако выборка в этой работе состояла из женщин, перенесших ПЭ ранее, тогда как в нашей работе эта группа была смешенной.

Расчет прогностической модели ранней ПЭ позволил отнести ее к рангу «хорошая», т.к. AUC составила 0,701 (чувствительность метода 88,6 % и специфичность 57,6 %). В этой связи нужно подчеркнуть адекватность выбора окна для получения маркерных свойств ЭЗВД с целью прогноза ПЭ. Аналогичную тактику выбрали ряд исследовательских групп (анализ в 20-32 недели для разных исследователей) [122, 137, 192]. Тогда как другие авторы провели тестирование ЭЗВД относительно риска ранней и поздней ПЭ в 11-16 недель и показали отсутствие маркерных свойств метода [70, 71]. В свою очередь, на модели плечевой артерии в 24-28 недель беременности продемонстрированы хорошие прогностические возможности метода оценки ЭЗВД. Для ранней ПЭ чувствительность 75,0 %, специфичность 73,3%, для поздней ПЭ - 83,3 % и 73,2 % соответственно [192]. Улучшение прогностических параметров для ПЭ на модели плотности микроциркуляторного русла кожи с увеличением срока беременности показано так же в другой работе. Так в 20-24 недели AUC составила 0,70, а в 27-32 недели этот критерий увеличился до 0,82 [169].

Развитие ПЭ по данным «измерение 2» сопровождается прогрессирующим снижением скоростных, временных характеристик кровотока и показателей ЭЗВД в микроциркуляторном русле кожи, а выраженность ЭД ассоциировалась со сроком возникновения этого осложнения беременности. Показано, что по параметру V%accel беременные с ранней ПЭ отставали от маркеров ЭЗВД группы с поздним началом заболевания. Полученные данные согласуются с результатами других исследователей [86, 120, 137]. Кроме того, при проведении пробы с ПРГ отмечается двукратное и трехкратное снижение реактивности МК, связанное с альтерацией эндотелия сосудов, а нарушение ЭЗВД значимо отрицательно коррелирует с са-

мим фактом ПЭ, показателями систолического и диастолического АД у гипертензивных пациенток [65, 138].

Важно так же, что нарушение сосудодвигательной функции эндотелия сосудов сохраняется до трех лет после перенесенной ранее ПЭ и является строгим предиктором заболеваний сердечнососудистой системы [86, 114, 239]. Однако, как показали F. Khan и соавт. свойства ЭНЗД в микроциркуляторном русле кожи напротив, демонстрируют увеличение показателей при ПЭ, что авторы объясняют повышенной чувствительностью МК к NO в условиях редукции кровотока [78].

Согласно полученным данным коэффициент V%accel может быть использован в качестве диагностического критерия для ПЭ с разным сроком манифестации, а также степени тяжести заболевания. Однако степень нарушения ЭЗВД в зависимости от тяжести ПЭ и диагностические возможности теста зависели от срока возникновения этого осложнения беременности. Так пороговое значение маркера ЭЗВД при ранней ПЭ ≤17,5% обладало AUC равной 0,817 и соответственно «очень хорошим» качеством модели, тогда как уровень V%accel ≤18,0 % представил AUC - 0,667, что в свою очередь соответствовало модели «средней».

Пациентки с тяжелой ранней ПЭ характеризовались наибольшей степенью ЭД на модели кожного кровотока среди всех обследованных женщин, а пороговом значении V%accel ≤17,2 % показали «отличное» качество модели (AUC=0,918). В свою очередь маркер ЭЗВД ≤17,7 % у беременных с поздней ПЭ показал «очень хорошее» (AUC=0,834) качество модели диагностики тяжелой формы заболевания. Выявленная закономерность, вероятно, подтверждает тезис о более выраженных проявлениях ЭД при ранней форме ПЭ и при нарастании тяжести заболевания, а также в свою очередь согласуется с мнением ряда исследователей [13, 15, 132, 192].

Расстройства ЭЗВД ассоциировались с нарушением роста плода у беременных ПЭ, а их степень зависела от формы этого заболевания. Так, наибольшим снижением реактивности МК характеризовались пациентки с ранней ПЭ и задержкой роста плода. Учитывая показанную общность патогенеза ПЭ и задержки роста плода, в ряде работ показано, что расстройства микроциркуляции могут

иметь однотипный характер для этих патологических состояний беременности, а нарушения кровотока в маточных артериях коррелировать с ЭЗВД [32, 231]. Вместе с тем, есть мнение, что степень нарушения ЭЗВД при задержке роста плода превосходит таковую при ПЭ [6], однако можно полагать, что анализ в данном исследовании не учитывал срок манифестации этой формы повышения АД, специфичного для беременности.

Весьма внушительные диагностические возможности относительно задержки роста плода у беременных с ПЭ демонстрирует коэффициент V%accel. Так модель для ранней ПЭ при пороге показателя ЭЗВД ≤17,5 % (AUC=0,901) показало «отличное» качество, при поздней (V%accel ≤18,1 %, AUC=0,811) «очень хорошее». В этой части качество представленных моделей превосходит модели сходной направленности, описанные другими авторами [6, 70, 114].

В разделе касающимся генофенотипов относительно ЭЗВД у беременных с ПЭ, находит подтверждение положение о том, что показатели сосудодвигательной функции эндотелия при данной форме гестационной АГ могут наследоваться [123]. Так значения ЭЗВД у пациенток с ранней ПЭ ассоциируются генотипами сайта rs1800629 гена *TNF-α*. Важно отметить, что связь с заболеванием установлена только в формате гено-фенотипического анализа. Для носителей генотипов с мутантным аллелем А характерен более низкий уровень V%accel, чем для гомозигот GG локуса rs1800629 гена *TNF-α*. В этой связи мы полагаем, что эта закономерность может быть связана с процессами избыточной активации нейтрофилов, гиперпродукции TNF-α и прямой альтерации эндотелия сосудов, зависящих от повышенной экспрессии гена *TNF-α* в присутствии генотипов AG+AA анализируемого полиморфизма [56, 93, 210].

Относительный и временной показатели ЭЗВД у беременных в группе ранней ПЭ с гомозиготным генотипом АА локуса rs1800896 гена *IL10* значимо ниже, чем у носителей генотипа GG. В этой связи имеются данные, что концентрация противовоспалительного IL-10 в тканях снижена именно у гомозигот АА сайта rs1800896 гена *IL10* [156, 179]. Указанное обстоятельство приводит к тому, что уровень защитных IL-10 снижается, уменьшая защиту сосудов от повреждающего

действия ангиотензина II, активированных продуктов оксидативного стресса, а так же не в полной мере восстанавливается активность синтазы NO, подавленной индукторами ЭД [97, 145, 230].

Показатель V%accel у беременных группы поздней ПЭ ассоциирован с генотипами полиморфного маркера BsmI (rs1544410) гена *VDR*. Так гомозиготы BB этого сайта гена *VDR* характеризуются значимо меньшими значениями V%accel по сравнению с носителями гомозиготного генотипа bb. Можно предположить, что данный полиморфный маркер гена *VDR*, согласно имеющимся сведениям, влияет на уровень компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, процессы воспаления и ангиогенеза в своем рисковом молекулярном варианте, а значит, связан с процессами индукции и прогрессирования нарушений сосудодвигательной функции эндотелия сосудов [19, 35, 117, 236].

В контрольной группе отмечена значимая ассоциация изученных полиморфизмов гена *NOS3* с показателями ЭЗВД. Так по временному критерию ПРГ носители генотипа GG локуса rs1799983 гена *NOS3* характеризуются более высокими показателями по сравнению с беременными, обладающими генотипами GT+TT. Тогда как для беременных контрольной группы гомозигот CC полиморфизма rs2070744 гена *NOS3* характерен более низкий коэффициента V%accel, чем для носителей генотипа TT этого локуса гена *NOS3*. Аналогичную закономерность для сосудов плаценты и шейки матки установили и другие исследователи, что, по их мнению, связано с увеличением экспрессии гена *NOS3* [95, 100, 147, 148]. Учитывая связь полиморфизмов *NOS3* с показателями ЭЗВД, можно предположить об адаптивном влиянии NO на регуляцию кровотока МК в III триместре неосложненной беременности.

Таким образом, показатели ЭЗВД отражают разнообразие патогенеза форм ПЭ, зависящих от срока манифестации. Маркерные прогностические и диагностические параметры сосудодвигательной функции эндотелия МК демонстрируют высокие показатели, ассоциированные с ранней и поздней ПЭ, а гено-фенотипы ЭЗВД при осложненном и нормальном течении беременности открывают механизмы наследования эндотелиальной вазорегулирующей функции.

При разработке моделей прогноза индивидуального риска обеих форм ПЭ получены значимые наборы предикторов. Для ранней ПЭ таковых оказалось 4 (генотипы локусов rs1800896 гена *IL-10* и rs4986790 гена *TLR4*, ПЭ в анамнезе и хронический пиелонефрит), для поздней ПЭ также выделено 4 значимых предиктора (генотипы сайтов rs1800896 гена *IL-10* и rs1799983 гена *NOS3*, возраст >35 лет, ИМТ ≥30 кг/м2).

Однако Кан Н. Е. и соавт. показали, что для ранней единственно значимым предиктором является хроническая артериальная гипертензия, а для поздней – возраст женщины старше 36 лет [9]. Вместе с тем, согласно другим данным ПЭ в предыдущей беременности является строгим предиктором этого заболевания в настоящей (риск выше в 3-6 раз), аналогично избыточная масса тела и ожирение ассоциированы с повышенным риском ПЭ с поздним началом [44, 81, 160]. Важно отметить, что, по мнению ряда исследователей именно модели оценки риска заболеваний у беременных, включающие анамнестические данные являются самыми эффективными и, используясь с I триместра, могут предсказать до 95% случаев ранней ПЭ при 10 % ложноположительных результатах [92, 190, 194].

Полученные модели для индивидуального прогноза ранней ПЭ показали «очень хорошее» качество модели (AUC=0,801) и «хорошее» для оценки степени риска поздней ПЭ (AUC=0,723). Эффективность математических моделей, включающих молекулярно-генетические и анамнестические предикторы ПЭ, была продемонстрирована в ряде работе, где установлен совместный вклад полиморфизма генов, циркулирующих форм ДНК и некоторых данных анамнеза в формирование риска этого гипертензивного расстройства у беременных [17]. Однако есть данные, что не все модели, включающие клинико-анамнестические и генетические маркеры могут быть значимыми в качестве прогностических как для ранней, так и для поздней ПЭ [29].

Нужно отметить, что в процессе моделирования каждая из моделей включила в себя различный набор предикторов или же вклады предикторов в модель были различными, что в свою очередь может отражать особенности патогенетических факторов формирующих раннюю и позднюю ПЭ. В настоящее время ком-

плексная оценка риска мультифакторных заболеваний является одним из наиболее перспективных и приоритетных направлений медицины и биологии т.к. использование новых методов оценки риска с учетом как генетических, так и клинических характеристик открывает новые возможности для объективизации результатов исследований гипертензивных расстройств у беременных [15, 173, 190].

Учитывая высокие показатели качества полученных моделей, можно полагать, что адекватную индивидуальную оценку риска ранней и поздней ПЭ, как мульфакторных заболеваний, можно рассчитать на основании комплексного статистического анализа оценки клинико-анамнестических и молекулярно-генетических данных.

Таким образом, по результатам исследования выявлены клинико-генетических признаки, характеризующие пациенток с ПЭ разных сроков манифестации, разработаны и оценены новые прогностические и диагностические маркеры этих осложнений беременности.

Перспективным направлением, продолжающим исследовательскую часть работы, может стать анализ уровней впДНК относительно ассоциации этих биомолекул с ранней и поздней ПЭ при помощи полнезависимых методов верификации; тестирование данных по этим биомолекулам в системах персонифицированной оценки риска гипертензивных расстройств у беременных.

Важным представляется перспектива по анализу и апробированию в рамках мультицентровых когортных исследований систем индивидуальной оценки риска ранней и поздней ПЭ. Данное проспективное исследование может позволить обосновать значимость такого подхода к прогнозированию ПЭ с разным сроком манифестации и внедрить его в систему обязательного скрининга осложнений гестации.

ВЫВОДЫ

1. Клинико-анамнестические независимые предикторы ассоциированы с ПЭ в зависимости от срока манифестации заболевания, и для ранней формы таковыми является: синдром поликистозных яичников, хронический пиелонефрит, для поздней ПЭ: возраст старше 35 лет, артериальная гипертензия у родственников первой степени родства, ИМТ ≥30 кг/м^2, а риск обеих форм этого осложнения беременности увеличивается при ПЭ в анамнезе.
2. Предрасполагающими генетическими факторами к развитию ранней ПЭ являются генотипы: BB+Bb локуса BsmI (rs1544410) гена *VDR*, AG+GG сайта rs4986790 гена *TLR4*, CC полиморфизма rs2070744 гена *NOS3*; поздней ПЭ - генотипы GT+TT сайта rs 1799983 гена *NOS3*, а риск обеих форм заболевания ассоциирован с генотипами GA и AA локуса rs1800896 гена *IL-10*.
3. Тяжелое течение ПЭ определяется молекулярными вариантами генов: rs2070744 *NOS3* (TC+CC), rs1800896 *IL-10* (GA+AA), rs4986790 *TLR4* (AG+GG), BsmI (rs1544410) *VDR* (BB) + rs2070744 *NOS3* (CC) при ранней форме заболевания и rs1800896 *IL-10* (AA), rs1800629 *TNF-α* (GA+AA) + rs1800896 *IL-10* (AA), rs1799983 *NOS3* (GT+TT) при для поздней ПЭ. Задержка роста плода при ранней ПЭ ассоциирована с rs2070744 *NOS3* (TC+CC), BsmI (rs1544410) *VDR* (BB+Bb), при поздней с rs1799983 *NOS3* (GT+TT), BsmI (rs1544410) *VDR* (Bb), а присутствие в генотипе вариантов rs1800629 *TNF-α* (GA+AA) является фактором риска задержки роста плода при обеих формах ПЭ.
4. Концентрация впДНК в плазме крови матери является значимым прогностическим маркером ранней ПЭ (AUC=0,785), а так же демонстрирует высокое качество диагностических моделей этого осложнения беременности, тяжелого течения заболевания, задержки роста плода у пациенток с ранним началом ПЭ (AUC=0,722-0,854). Высокие по качеству модели на основании уровня цирку-

лирующей воДНК получены для диагностики задержки роста плода и тяжелого течения заболевания при раннем начале ПЭ (AUC=0,721-0,840), а так же тяжелой поздней ПЭ (AUC=0,704).

5. Сосудодвигательная функция эндотелия нарушается в доклиническую стадию ранней ПЭ, а ее уровень является значимым маркером прогноза этого осложнения гестации (AUC=0,702). Манифестация ПЭ характеризуется значимым снижением вазорелаксирующих свойств МК, наиболее выраженным при раннем начале ПЭ, а уровень эндотелий-зависимой вазодилятации определяет диагностическую модель высокого качества для тяжелой степени заболевания (AUC=0,834-0,918) и задержки роста плода (AUC= 0,811-0,901) у пациенток с обеими формами ПЭ.
6. Проявления эндотелиальной дисфункции в МК при ранней ПЭ наиболее выражено у носителей генотипов AA+AG полиморфизма rs1800629 гена *TNF-α* и генотипа AA локуса rs1800896 гена *IL-10*, а генотип BB сайта BsmI (rs1544410) гена *VDR* ассоциирован с наиболее низкими показателями эндотелий-зависимой вазодилятации у беременных с поздней ПЭ.
7. Разработаны модели оценки индивидуального риска ранней ПЭ, включающей результаты генотипирования по локусам rs1800896 гена *IL-10* и rs4986790 гена *TLR4*, сведения о ПЭ в анамнезе, хронический пиелонефрит, имеющей высокое качество (AUC=0,801) и поздней ПЭ с предикторами: генотипы сайтов rs1800896 гена *IL-10* и rs1799983 гена *NOS3*, возраст старше 35 лет, ИМТ ≥30 кг/м^2, с высоким качеством (AUC=0,723) модели.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для дифференцированного формирования групп риск по развитию ранней и поздней ПЭ при постановке на учет по беременности необходимо придерживаться установленных клинико-анамнестических рисковых факторов этих осложнений гестации с учетом их прогностического веса относительно каждого заболевания. Так в группу риска ранней ПЭ необходимо относить беременных с хроническим пиелонефритом и СПКЯ. В группу риска поздней ПЭ женщин старше 35 лет, с анамнезом по АГ у родственников первой степени родства и клинически выраженным ожирением. А общими факторами риска для ранней и поздней ПЭ необходимо считать ПЭ в анамнезе.
2. В клиническую практику с целью выделения групп высокого риска развития ранней и поздней ПЭ, а также осложнений этих заболеваний для разработки эффективных индивидуальных профилактических мероприятий целесообразно внедрение метода генетического тестирования при постановке на учет по беременности. Типирование полиморфных локусов rs1799983 и rs2070744 гена *NOS3*, BsmI (rs1544410) и TaqI (rs731236) гена *VDR*, rs4986790 гена *TLR4*, rs1800629 гена *TNF-α*, rs1800896 гена *IL-10* позволяет выявить лиц с предрасположенностью к развитию ПЭ, а также неблагоприятным акушерским и перинатальным исходам при этих осложнениях беременности.
3. В перечень скрининговых исследований для расчета объективных прогностических критериев ранней ПЭ рекомендуется включать: анализ уровня впДНК в плазме крови матери (в 15-18 недель гестации) и оценку эндотелий-зависимой вазодилятации в МК (в 18-22 недели беременности). Пороговыми значениями для эффективного прогнозирования ранней ПЭ считать концентрацию впДНК >0,87 нг/мл и уровень V%accel ≤15,1 %.
4. Пациенткам с клинико-лабораторными признаками ПЭ рекомендован количественный анализ внеклеточных форм ДНК в плазме крови. При достижении

пороговых значений воДНК >21,0 нг/мл и впДНК >1,45 нг/мл у беременных с ранней ПЭ фиксируются дополнительные критерии задержки роста плода, а при воДНК >22,1 нг/мл и впДНК >1,61 нг/мл диагностические признаки тяжелой формы заболевания.

5. На этапе диагностического поиска при формировании развернутого диагноза у беременных с гипертензивными расстройствами рекомендуется анализировать эндотелий-зависимую вазодилятацию в МК. При снижении коэффициента V%accel ≤17,7 % и ≤18,1 % в случае поздней формы ПЭ диагностируются задержка роста плода и тяжелая степень заболевания. В свою очередь уровень V%accel ≤17,5 % и ≤17,2 % являются диагностическими маркерами этих патологических состояний, отягощающих течение ранней ПЭ. Полученная дополнительная диагностическая информация, основанная на специфических маркерах, отражающих тяжесть расстройств в фето-плацентарной области и МК, позволяет оптимизировать традиционный алгоритм ведения этих пациенток в части выбора метода и срока родоразрешения.
6. Для оценки индивидуального риска ПЭ предложены модели прогноза:
   - Для ранней ПЭ - модель, включающая данные генотипирования по локусам rs1800896 гена *IL-10,* rs4986790 гена *TLR4,* сведения о перенесенной ПЭ и хроническом пиелонефрите. Расчет производится по формуле:
     p (EP) = 1/1+e^{Z}, где z = 0,537*x IL-10 + 0,389*x TLR4 + 2,413*x аПЭ + 1,297*x ХП -0,232 (p (EP) >0,472 указывает на высокий риск болезни).
   - Для поздней ПЭ - модель, включающая сведения о генотипах сайтов rs1800896 гена *IL-10,* rs1799983 гена *NOS3,* возрасте >35 лет, ИМТ≥30 кг/м2. Расчет производится по формуле:
     p (LP) = 1/1+e^{Z}, где z = 1,207*x IL-10 + 0,923*x NOS3 + 1,429*x Возраст + 1,332*x ИМТ + 0,361 (p (LP) >0,470 указывает на высокий риск заболевания).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ	артериальная гипертензия
АД	артериальное давление
воДНК	внеклеточная общая дезоксирибонуклеиновая кислота
впДНК	внеклеточная плодная дезоксирибонуклеиновая кислота
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ИМТ	индекс массы тела
МК	микрососуды кожи
ОЦК	объем циркулирующей крови
ПОНРП	преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты
ПРГ	постокклюзионная реактивная гиперемия
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПЭ	преэклампсия
РДСН	респираторный дистресс-синдром новорожденных
СПКЯ	синдром поликистозных яичников
ЭД	эндотелиальная дисфункция
ЭЗВД	эндотелий-зависимая вазодилятация
ЭНВД	эндотелий-независимая вазодилятация
AUC	area under the ROC curve (площадь под кривой ROC)
CI	confidence interval (доверительный интервал)
IL	интерлейкин
IL-10	ген интерлейкина - 10
LR+	отношение правдоподобия положительного результата
LR-	отношение правдоподобия отрицательного результата
NO	оксид азота
NOS3	ген эндотелиальной синтазы оксида азота
OR	odds ratio (отношение шансов)

PI	индекс пульсации
RI	индекс резистентности
ROC	receiver operating characteristic (рабочая характеристика приёмника)
S/D	систоло-диастолическое отношение
SNP	single nucleotide polymorphism (однонуклеотидный полиморфизм)
TLR4	ген толл-подобного рецептора 4
TNF-α	ген фактора некроза опухолей - альфа
TNF-α	фактор некроза опухоли - альфа
VDR	ген рецептора витамина D
Vs	максимальная систолическая скорость кровотока
V макс	максимальная (пиковая) скорость кровотока
V%accel	коэффициент прироста скорости кровотока

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Методическое письмо Минздрава России от 14.12.2016 г. № 15-4/10/2-7955 «Результаты конфиденциального аудита материнской смертности в Российской Федерации в 2016 году» (Приложение: Результаты конфиденциального аудита материнской смертности в Российской Федерации в 2016 году (методическое письмо) / О. С. Филиппов, Е. В. Гусева, И. С. Сидорова, Н. А. Никитина. – М., 2016. - 61 с.).
2. Письмо Минздрава России от 07.06.2016 г. № 15-4/10/2-3483 «О направлении клинических рекомендаций (протокола лечения) «Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия» (Приложение: Гипертензия во время беременности, родов и послеродового периода. Преэклампсия. Эклампсия. Клинические рекомендации (Протокол лечения) / Г. Т. Сухих [и др.]. – М., 2016. – 73 с.).
3. Акушерство: национальное руководство / под ред. Г. М. Савельевой, Г. Т. Сухих, В. Н. Серова, В. Е. Радзинского. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР - Медиа, 2015. – 1088 с.
4. Васина, Л. В. Эндотелиальная дисфункция и ее основные маркеры / Л. В. Васина, Н. Н. Петрищев, Т. Д. Власов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 61, № 1. – С. 4-15.
5. Ворожищева, А. Ю. Генетические факторы развития преэклампсии в популяциях различного этнического происхождения: автореф. дис…. канд. мед.наук: 03.02.07 / Ворожищева Анна Юрьевна. – Томск, 2014. – 24 с.
6. Воскресенская, Н. Л. Оценка центральной гемодинамики и периферического кровотока в третьем триместре беременности в прогнозе исходов беременности для матери и плода: автореф. дис…. канд. мед. наук: 14.01.01 / Воскресенская Наталия Леонидовна. – Ярославль, 2016. – 24 с.

7. Выявление риска развития гестоза (преэклампсии) и оценка эффективности его профилактики с помощью неинвазивного метода исследования функции эндотелия / Е. В. Мозговая [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2015. – Т. 64, № 3. – С. 58–68.
8. Генетические факторы развития преэклампсии / И. Н. Фетисова [и др.] // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2015. - Т. 20, № 3. – С. 13-16.
9. Грачева, М. И. Роль внеклеточной фетальной ДНК в ранней диагностике осложнений беременности / М. И. Грачева, Н. Е. Кан, А. М. Красный // Акушерство и гинекология. - 2016. - №10. – С. 5-10.
10. Диагностика и лечение сердечно-сосудистых заболеваний при беременности. Российские рекомендации // Российский кардиологический журнал. – 2013. – Т. 102, № 4, Прил. 1. – С. 1-40.
11. Клинико-анамнестические факторы риска развития преэклампсии у беременных / Н. Е. Кан [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2016. - № 6. – С. 39-44.
12. Крохалева, Ю. А. Генетический полиморфизм toll-рецепторов у больных ишемическим инсультом в Забайкальском крае / Ю. А. Крохалева, Н. Н. Страмбовская, А. Е. Алферова // Забайкальский медицинский вестник. - 2014. - № 4. - С. 62-67.
13. Куликов, С. А. Состояние эндотелий-зависимых сосудистых реакций у беременных с гестозом: автореф. дис. … канд. мед. наук: 14.01.01 / Куликов Сергей Александрович. – Иваново, 2011. – 26 с.
14. Логутова, Л. С. Циркуляция внеклеточной плодной дезоксирибонуклеиновой кислоты в плазме матери и формирование клинико-патогенетических особенностей артериальной гипертонии у беременных / Л. С. Логутова, О. В. Радьков, М. Н. Калинкин, В. В. Заварин // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2012. – Т. 12, № 2. – С. 18–21.
15. Макаров, И. О. Значение эндотелиоза в развитии гестоза / И. О. Макаров, Т. В. Шеманаева, С. Р. Гасанова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2010. – Т. 10, № 2. – С. 16-19.

16. Макаров, О. В. Преэклампсия и хроническая артериальная гипертензия. Клинические аспекты / О. В. Макаров, О. Н. Ткачева, Е. В. Волкова. – М.: ГЭОТАР - Медиа, 2010. - 136 с.
17. Маркеры преэклампсии в I и III триместрах беременности / Т. Ю. Иванец [и др.] // Проблемы репродукции. – 2012. – Т. 18, № 3. – С. 83–87.
18. Материнские и перинатальные исходы при ранней и поздней преэклампсии / Г.В. Хлестова [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2017. - № 6. - С. 41-47.
19. Милотова, Н. М. Значение полиморфизма гена *VDR*, кодирующего рецепторы витамина D, в патогенезе и особенностях течения артериальной гипертензии: автореф. дис. … канд. мед. наук: 14.00.25, 14.00.05 / Милотова Наталья Михайловна. – М., 2009. – 24 с.
20. Моисеева, И. В. Исследование вазомоторной функции эндотелия у женщин с преэклампсией различной степени тяжести / И. В. Моисеева // Аспирантский вестник Поволжья. – 2015. - № 5-6. – С. 28-32.
21. Молекулярные биомаркеры прогнозирования и диагностики преэклампсии / О. В. Радьков [и др.] // Acta Biomedica Scientifica. - 2018. - Т.3, №2. - С.20-24.
22. Патогенетические аспекты преэклампсии // Д. А. Борис [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2015. – № 12. – С. 11-15.
23. Полиморфизм гена толл-подобного рецептора 4 и риск артериальной гипертензии у беременных: исследование случай - контроль / О. В. Радьков [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2017. – Т. 65, № 11, Часть 3. - С. 43-45.
24. Полиморфизмы генов цитокинов и восприимчивость к ранней и поздней преэклампсии / О. В. Радьков [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 6.; URL: https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27222 (дата обращения: 11.12.2017).
25. Рекомендации ВОЗ по профилактике и лечению преэклампсии и эклампсии. – Женева.: Всемирная организация здравоохранения, 2014. - 48 с.
26. Рекомендации по лечению артериальной гипертонии. ESH/ESC 2013 // Российский кардиологический журнал. – 2014. - № 1. – С. 7-94.

27. Роль факторов наследственной предрасположенности в развитии преэклампсии: обзор данных метаанализов / Е. А. Трифонова [и др.] // Молекулярная медицина. – 2016. - №1. – С. 8-14.
28. Свободная эмбриональная ДНК в прогнозировании исхода беременности при акушерской патологии / Н. К. Парсаданян [и др.] // Акушерство и гинекология – 2014. - № 6. – С. 10-13.
29. Сидорова, И. С. Особенности патогенеза эндотелиоза при преэклампсии / И. С. Сидорова, Н. А. Никитина // Акушерство и гинекология. – 2015. – № 1. – С. 72–78.
30. Сидорова, И. С. Преэклампсия в центре внимания врача-практика / И. С. Сидорова, Н. А. Никитина // Акушерство и гинекология – 2014. - № 6. - С. 4-9.
31. Синтез матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов периферическими фагоцитами у беременных с гипертензивными расстройствами / И. А. Панова [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. - 2015. - Т. 64, № 3. – С. 26–32.
32. Функция эндотелия и маточно-плодово-плацентарный кровоток у беременных с артериальной гипертонией / Р. И. Стрюк [и др.] // Кардиология. - 2010. - Т. 50, № 4. – С. 18-22.
33. Ходжаева, З. С. Ранняя и поздняя преэклампсия: парадигмы патобиологии и клиническая практика / З. С. Ходжаева, А. М. Холин, Е. М. Вихляева // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 10. – С. 4–11.
34. Чулков, В. С. Клинико-анамнестические и молекулярно-генетические факторы при различных формах артериальной гипертензии и их связь с течением и исходами беременности / В. С. Чулков, Н. К. Вереина, С. П. Синицын, В. Ф. Долгушина // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2013. – Т. 68, № 11. – С. 22-25.
35. Ших, Е. В. Роль полиморфизма гена *VDR*, кодирующего рецептор витамина D, в патогенезе артериальной гипертонии / Е. В. Ших, Н. М. Милотова // Биомедицина. – 2009. - № 1. - С. 55-67.

36. 25-Hydroxyvitamin D deficiency is associated with inflammation-linked vascular endothelial dysfunction in middle-aged and older adults / K. L. Jablonski [et al.] // Hypertension. – 2011. - Vol. 57, № 1. – P. 63-69.
37. A common profile of disordered angiogenic factor production and the exacerbation of inflammation in early preeclampsia, late preeclampsia, and intrauterine growth restriction / S. Kwiatkowski [et al.] // PLoS One. – 2016. - Vol. 11, № 10. – e 0165060.
38. A meta-analysis of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, and interleukin-10 in preeclampsia / C. Xie [et al.] // Cytokine. – 2011. - Vol. 56, № 3. – P. 550-559.
39. A tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphism and pregnancy complications: results of a prospective cohort study in 1652 pregnant women / F. Stonek [et al.] // Reprod Sci. – 2007. - Vol. 14, № 5. – P. 425-429.
40. Abnormal endothelium-dependent microvascular reactivity in recently preeclamptic women / J. Blaauw [et al.] // Obstet Gynecol. – 2005. - Vol. 105, № 3. – P. 626-632.
41. Absence of an association of tumor necrosis factor (TNF)-alpha G308A, interleukin-6 (IL-6) G174C and interleukin-10 (IL-10) G1082A polymorphism in women with preeclampsia / F. Stonek [et al.] // J Reprod Immunol. – 2008. - Vol. 77, № 1. – P. 85-90.
42. Aggarwal, P. K. Endothelial nitric oxide synthase, angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen gene polymorphisms in hypertensive disorders of pregnancy / P. K. Aggarwal, V. Jain, V. Jha // Hypertens Res. – 2010. - Vol. 33, № 5. – P. 473-477.
43. Al-Ofi, E. A. Ligands of toll-like receptors 2/4 differentially alter markers of inflammation, adhesion and angiogenesis by monocytes from women with preeclampsia in co-culture with endothelial cells / E. A. Al-Ofi, D. O. Anumba // J Reprod Immunol. - 2017. - Vol. 121. – P. 26-33.
44. An analysis of the differences between early and late preeclampsia with severe hypertension / X. L. Li [et al.] // Pregnancy Hypertens. – 2016. - Vol. 6, № 1. – P. 47-52.

45. Analysis of C-850T and G-308A polymorphisms of the tumor necrosis factor-alpha gene in Maya-Mestizo women with preeclampsia / T. Canto-Cetina [et al.] // Hypertens Pregnancy. – 2007. - Vol. 26, № 3. – P. 283-291.
46. Analysis of nitric oxide metabolism as a placental or maternal factor underlying the etiology of pre-eclampsia / H. Nishizawa [et al.] // Gynecol Obstet Invest – 2009. - Vol. 68, № 4. – P. 239-247.
47. Angiogenic biomarkers for prediction of early preeclampsia onset in high-risk women / T. A. Moore Simas [et al.] // J Matern Fetal Neonatal Med. – 2014. - Vol. 27, № 10. – P. 1038-1048.
48. Angiotensin type 1 receptor autoantibody from preeclamptic patients induces human fetoplacental vasoconstriction / S. Zhang [et al.] // J Cell Physiol. – 2013. - Vol. 228, № 1. – P. 142-148.
49. Are early and late preeclampsia distinct subclasses of the disease--what does the placenta reveal? / J. L. van der Merwe [et al.] // Hypertens Pregnancy. – 2010. - Vol. 29, № 4. – P. 457-467.
50. Association between allelic variants in cytokine genes and preeclampsia / C. L. Haggerty [et al.] // Am J Obstet Gynecol. - 2005. - Vol. 193, № 1. - P. 209-215.
51. Association between polymorphisms of *VDR CDX2* and preeclampsia / M. Liu [et al.] // Acta Academiae Medicinae Qingdao Universitatis. – 2016. - № 2. – P. 112-115.
52. Association between tumor necrosis factor (TNF)-alpha G-308A gene polymorphism and preeclampsia complicated by severe fetal growth restriction / A. Molvarec [et al.] // Clin Chim Acta. – 2008. - Vol. 392, № 1-2. – P. 52-57.
53. Association of common eNOS/NOS3 polymorphisms with preeclampsia in Tunisian Arabs / M. Ben Ali Gannoun [et al.] // Gene. – 2015. - Vol. 569, № 2. – P. 303-307.
54. Association of endothelial nitric oxide synthase gene G894T polymorphism and serum nitricoxide levels in patients with preeclampsia and gestational hypertension / M. N. Sakar [et al.] // J Matern Fetal Neonatal Med. – 2015. - Vol. 28, № 16. - P. 1907-1911.

55. Association of gene polymorphisms of FV, FII, MTHFR, SERPINE1, CTLA4, IL10, and TNFalpha with pre-eclampsia in Chinese women / L. Zhou [et al.] // Inflamm Res. – 2016. - Vol. 65, № 9. – P. 717-724.
56. Association of maternal serum CRP, IL-6, TNF-alpha, homocysteine, folic acid and vitamin B12 levels with the severity of preeclampsia and fetal birth weight / M. A. Guven [et al.] // Hypertens Pregnancy. – 2009. - Vol. 28, № 2. - P. 190-200.
57. Association of nitric oxide synthase and matrix metalloprotease single nucleotide polymorphisms with preeclampsia and its complications / D. P. Leonardo [et al.] // PLoS ONE. - 2015. - Vol. 10, № 8. – e 0136693.
58. Association of single nucleotide polymorphisms in the human tumor necrosis factor-α and interleukin 1-β genes in patients with pre-eclampsia / F. Mohajertehran [et al.] // Iran J Allergy Asthma Immunol. – 2012. - Vol. 11, № 3. – P. 224-229.
59. Association of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 gene polymorphisms in Iranian patients with pre-eclampsia / M. Mirahmadian [et al.] // Am. J. Reprod. Immunol. – 2008. - Vol. 60, № 2. – P. 179-185.
60. Association study of IL-10 and IFN-gamma gene polymorphisms in Iranian women with preeclampsia / E. Kamali-Sarvestani [et al.] // J. Reprod. Immunol. – 2006. - Vol. 72, № 1-2. – P. 118-126.
61. Associations between nitric oxide synthase 3 gene polymorphisms and preeclampsia risk: a meta-analysis / F. Zeng [et al.] // Sci Rep. – 2016. - № 6. – P. 23407.
62. Autoantibodies isolated from preeclamptic patients induce endothelial dysfunction via interaction with the angiotensin II AT1 receptor / X. Yang [et al.] // Cardiovasc Toxicol. – 2014. - Vol. 14, № 1. – P. 21-29.
63. Autoantibody-mediated angiotensin receptor activation contributes to preeclampsia through tumor necrosis factor-α signaling / R. A. Irani [et al.] // Hypertension. – 2010. - Vol. 55. – P. 1246-1253.
64. Baczyńska-Strzecha, M. Influence of Apa1 (rs7975232), Taq1 (rs731236) and Bsm1 (rs154410) polymorphisms of vitamin D receptor on preterm birth risk in

the Polish population / M. Baczyńska-Strzecha, J. Kalinka // Ginekologia Polska – 2016. - Vol. 87, № 11. – P. 763–768.

65. Beinder, E. Skin flux during reactive hyperemia and local hyperthermia in patients with preeclampsia / E. Beinder, D. Schlembach // Obstet. Gynecol. – 2001. - Vol. 98, № 2. – P. 313-318.

66. Biomarkers of endothelial dysfunction in preeclampsia and neonatal morbidity: a case-control study / S. Masoura [et al.] // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. – 2014. - Vol. 175. – P. 119-123.

67. Bitner, A. Association between maternal and fetal TLR4 (896A>G, 1196C>T) gene polymorphisms and the risk of pre-term birth in the Polish population / A. Bitner, W. Sobala, J. Kalinka // Am J Reprod Immunol. – 2013. - Vol. 69, № 3. – P. 272-280.

68. Boeldt, D. S. Vascular adaptation in pregnancy and endothelial dysfunction in preeclampsia / D. S. Boeldt, I. M. Bird // J Endocrinol. - 2017. - Vol. 232, № 1. – P. 27-44.

69. Bombell, S. Tumour necrosis factor (-308A) polymorphism in pre-eclampsia: meta-analysis of 16 case-control studies / S. Bombell, W. McGuire // Aust N Z J Obstet Gynaecol. – 2008. - Vol. 48, № 6. – P. 547-551.

70. Brachial artery flow mediated dilation and pulsatility index change as independent predictors for hypertensive disorders in the second trimester of pregnancy / P. C. Praciano De Sousa [et al.] // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. – 2016. - Vol. 200. – P. 94-97.

71. Brachial Artery Flow Mediated Dilation in the First Trimester to Predict the Occurrence of Hypertensive Disorders during Pregnancy / J. A. Alves [et al.] // Fetal Diagn Ther. – 2015. - Vol. 37, № 4. – P. 316-320.

72. Can the quantity of cell-free fetal DNA predict preeclampsia: a systematic review / A. Martin [et al.] // Prenat Diagn. – 2014. - Vol. 34, № 7. – P. 685-691.

73. Cell free fetal DNA in the plasma of pregnant women with preeclampsia / M. M. Seval [et al.] // Clin Exp Obstet Gynecol. – 2015. - Vol. 42, № 6. – P. 7877-7891.

74. Cell-free fetal DNA and adverse outcome in low risk pregnancies / W. Stein [et al.] // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. – 2013. - Vol. 166, № 1. – P. 10-13.

75. Cell-free fetal DNA concentration in plasma of patients with abnormal uterine artery Doppler waveform and intrauterine growth restriction--a pilot study / E. Caramelli [et al.] // Prenat Diagn. – 2003. - Vol. 23, № 5. – P. 367-371.

76. Cell-free nucleic acids as potential markers for preeclampsia / S. Hahn [et al.] // Placenta. – 2011. – Vol. 32. – P. 17-20.

77. Cell-free total and fetal DNA in first trimester maternal serum and subsequent development of preeclampsia / R. M. Silver [et al.] // Am J Perinatol. – 2017. - Vol. 34, № 2. – P. 191-198.

78. Changes in endothelial function precede the clinical disease in women in whom preeclampsia develops / F. Khan [et al.] // Hypertension. – 2005. - Vol. 46. – P. 1123-1128.

79. Chen, J. Matrix metalloproteinases in normal pregnancy and preeclampsia / J. Chen, R. A. Khalil // Prog Mol Biol Transl Sci. – 2017. - Vol. 148. – P. 87-165.

80. Chen, X. Maternal biomarkers of endothelial dysfunction and preterm delivery / X. Chen, T. O. Scholl // PLoS One. – 2014. - Vol. 9, № 1. - e85716.

81. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal characteristics and medical history / D. Wright [et al.] // Am J Obstet Gynecol. – 2015. - Vol. 213, № 1. – P. 62-72.

82. Contro, E. Cell-free fetal DNA for the prediction of pre-eclampsia at the first and second trimesters: a systematic review and meta-analysis. / E. Contro, D. Bernabini, A. Farina //Mol Diagn Ther. – 2017. - Vol. 21, № 2. – P. 125-135.

83. Correlation of fetal DNA levels in maternal plasma with Doppler status in pathological pregnancies / M. Smid [et al.] // Prenat Diagn. – 2006. - Vol. 26, № 9. – P. 785-790.

84. Cytokine gene polymorphisms in preeclampsia and eclampsia / T. H. de Lima [et al.] // Hypertens Res. - 2009. - Vol. 32, № 7. - P. 565-569.

85. Cytokine genotyping in preeclampsia / S. Daher [et al.] // Am J Reprod Immunol. – 2006. - Vol. 55, № 2. – P. 130-135.

86. Decreased flow-mediated dilation is present 1 year after a pre-eclamptic pregnancy / R. R. Hamad [et al.] // J Hypertens. - 2007. - Vol. 25, № 11. - P. 2301-2307.

87. Dependence of human forearm skin postocclusive reactive hyperemia on occlusion time / G. B. Tee [et al.] // J Pharmacol Toxicol Methods. – 2004. - Vol. 50, № 1. – P. 73-78.

88. Development and validation of a risk factor scoring system for first-trimester prediction of preeclampsia / K. R. Goetzinger [et al.] // Am J Perinatol. – 2014. - Vol. 31, № 12. – P. 1049-1056.

89. Different profiles of circulating angiogenic factors and adipocytokines between early- and late-onset pre-eclampsia / H. Masuyama [et al.] // BJOG. – 2010. - Vol. 117, № 3. – P. 314-320.

90. Early and late preeclampsia: Two different maternal hemodynamic states in the latent phase of the disease / H. Valensise [et al.] // Hypertension. – 2008. - Vol. 52. – P. 873-880.

91. Early prediction of hypertensive disorders of pregnancy using cell-free fetal DNA, cell-free total DNA, and biochemical markers / S. Y. Kim [et al.] // Fetal Diagn Ther. – 2016. - Vol. 40, № 4. – P. 255-262.

92. Early-onset preeclampsia: is it a better classification for maternal and perinatal outcomes? / Z. S. Reis [et al.] // Rev Bras Ginecol Obstet. – 2010. - Vol. 32, № 12. - P. 584-590.

93. Effect of hypoxia and exogenous IL-10 on the pro-inflammatory cytokine TNF-alpha and the anti-angiogenic molecule soluble Flt-1 in placental villous explants / C. Royle [et al.] // Cytokine. – 2009. - Vol. 47, № 1. – P. 56-60.

94. Effect of vitamin D deficiency and replacement on endothelial function in asymptomatic subjects / O. Tarcin [et al.] // J Clin Endocrinol Metab. – 2009. - Vol. 94, № 10. – P. 4023-4030.

95. Effects of eNOS polymorphisms on nitric oxide formation in healthy pregnancy and in pre-eclampsia / V. C. Sandrim [et al.] // Mol Hum Reprod. - 2010. - Vol. 16, № 7. – P. 506-510.

96. Elevated maternal levels of the long pentraxin 3 (PTX3) in preeclampsia and intrauterine growth restriction / I. Cetin [et al.] // Am J Obstet Gynecol. – 2006. - Vol. 194, № 5. – P. 1347-1353.

97. Endogenous interleukin-10 inhibits angiotensin II-induced vascular dysfunction / S. P. Didion [et al.] // Hypertension. – 2009. - Vol. 54, № 3. – P. 619-624.

98. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) (Glu298Asp) and urotensin II (UTS2 S89N) gene polymorphisms in preeclampsia: prediction and correlation with severity in Egyptian females / W. S. El-Sherbiny [et al.] // Hypertens Pregnancy. – 2013. - Vol. 32, № 3. - P. 292-303.

99. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene Glu298Asp polymorphism and expression in North Indian preeclamptic women / D. Sharma [et al.] // Pregnancy Hypertens. – 2014. – Vol. 4, № 1. – P. 65-69.

100. Endothelial nitric oxide synthase G894T gene polymorphism and response to skin reactive hyperemia / A.H. Rasool [et al.] // Microvasc. Res. – 2009. - Vol.78, №2. – P.230-234.

101. Endothelial nitric oxide synthase gene influences the risk of pre-eclampsia, the recurrence of negative pregnancy events, and the maternal-fetal flow / C. Fatini [et al.] // J Hypertens. – 2006. - Vol. 24, № 9. – P. 1823-1829.

102. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (Glu298Asp) and development of pre-eclampsia: a case-control study and a meta-analysis / Ch. K. H. Yu [et al.] // Pregnancy and Childbirth. – 2006. - Vol. 6. – P. 7-14.

103. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and maternal vascular adaptation to pregnancy / M. D. Savvidou [et al.] // Hypertension. - 2001. - Vol. 38. - P. 1289-1293.

104. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms (G894T, 4b/a and T-786C) and preeclampsia: meta-analysis of 18 case-control studies / H. Chen [et al.] // DNA Cell Biol. – 2012. - Vol. 31, № 6. – P. 1136-1145.

105. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of preeclampsia / H. P. Qi [et al.] // Am J Perinatol. – 2013. - Vol. 30, № 10. – P. 795-804.

106. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in preeclampsia with or without eclampsia in a Turkish population / E. Ozturk [et al.] // J Obstet Gynaecol Res. – 2011. - Vol. 37, № 12. – P. 1778-1783.
107. Endothelial NO synthase genotype and risk of preeclampsia a multicenter case-control study / N. C. Serrano [et al.] // Hypertension. – 2004. - Vol. 44. –P. 702-707.
108. Enhancement of endothelial function by pregnancy / J. E. Ramsay [et al.] // Diabetes Care. – 2003. - Vol. 26. – P. 475–479.
109. eNOS haplotypes affect the responsiveness to antihypertensive therapy in preeclampsia but not in gestational hypertension / V. C. Sandrim [et al.] // Pharmacogenomics. - 2010. - Vol. 10, № 1. – P. 40-45.
110. eNOS haplotypes associated with gestational hypertension or preeclampsia / V. C. Sandrim [et al.] // Pharmacogenomics. - 2008. - Vol. 9, № 10. - P. 1467-1473.
111. eNOS tag SNP haplotypes in hypertensive disorders of pregnancy / L. Muniz [et al.] // DNA Cell Biol. – 2012. - Vol. 31, № 12. – P. 1665-1670.
112. Evaluation of association of maternal IL-10 polymorphisms with risk of preeclampsia by A meta-analysis / W. Yang [et al.] // J Cell Mol Med. – 2014. - Vol. 18, № 12. – P. 2466-2477.
113. Evaluation of Interleukin-10 (G-1082A) Promoter Polymorphism in Preeclampsia / S. Sowmya [et al.] // J Reprod Infertil. – 2013. - Vol. 14, № 2. – P. 62-66.
114. Evidence of endothelial dysfunction in preeclampsia and risk of adverse pregnancy outcome / R.W. Powers [et al.] // Reprod. Sci. - 2008. - Vol. 15, № 4. – P. 374–381.
115. Evidence of impaired microvascular function in pre-eclampsia: a non-invasive study / N. Anim-Nyame [et al.] // Clin Sci. - 2003. - Vol. 104. - P. 405-412.
116. Expression of endothelial NO synthase, inducible NO synthase, and estrogen receptors alpha and beta in placental tissue of normal, preeclamptic, and intrauterine growth-restricted pregnancies / B. Schiessl [et al.] // J Histochem Cytochem. – 2005. - Vol. 53. – P. 1441–1449.

117. Expressions of vitamin D metabolic components VDBP, CYP2R1, CYP27B1, CYP24A1, and VDR in placentas from normal and preeclamptic pregnancies / M. Rong [et al.] // Am J Physiol Endocrinol Metab. – 2012. – Vol. 303, № 7. – P. 928–935.
118. Fetal DNA clearance from maternal plasma is impaired in preeclampsia / T.-W. Lau [et al.] // Clin. Chem. – 2002. - Vol. 48, № 12. – P. 2141–2146.
119. First-trimester maternal plasma cell-free fetal DNA and preeclampsia / S. Sifakis [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2009. – Vol. 201, № 5. - P. 1-7.
120. Flow-mediated dilatation assessment in women with preeclampsia compared to women with gestational hypertension / A. E. Quinton [et al.] // Hypertens Pregnancy. – 2012. - Vol. 31, № 4. – P. 377-386.
121. Flow-mediated dilatation in the differential diagnosis of preeclampsia syndrome / E. V. Filho [et al.] // Arq. Bras. Cardiol. - 2010. - Vol. 94, № 2. - P. 182-186.
122. Flow-mediated dilation in brachial artery in the second half of pregnancy and prediction of pre-eclampsia / B. Takase [et al.] // J Hum Hypertens. – 2003. - Vol. 17, № 10. – P. 697-704.
123. Flow-mediated dilation of brachial artery and endothelial dysfunction in pregnant women with preeclampsia: a case control study / O. P. Oliveira [et al.] // Minerva Ginecol. – 2015. - Vol. 67, № 4. – P. 307-313.
124. Genetic variants of endothelial nitric synthase in gestational hypertension and preeclampsia / M. Perlik [et al.] // Ginekol Pol. – 2012. - Vol. 83, № 9. - P. 652-659.
125. Genetic variations in the vitamin-D receptor (VDR) gene in preeclampsia patients in the Chinese Han population / Y. Zhan [et al.] // Hypertension Research – 2015. - Vol. 38. – P. 513-517.
126. Glu298Asp eNOS gene polymorphism causes attenuation in nonexercising muscle vasodilatation / R. G. Dias [et al.] // Physiol. Genomics. – 2009. - Vol. 37, № 2. – P. 99-107.

127. Gomolak, J. R. A role for innate immunity in the development of hypertension / J. R. Gomolak, S. P. Didion // Med Hypotheses. – 2014. - Vol. 83, № 6. – P. 640-643.
128. Haram, K. B. Genetic Aspects of Preeclampsia and the HELLP Syndrome / K. Haram, J. H. Mortensen, B. Nagy // Journal of Pregnancy. – 2014. - Vol. 2014. – 910751.
129. Harutyunyan, A. Interbirth interval and history of previous preeclampsia: a case-control study among multiparous women / A. Harutyunyan, H. Armenian, V. Petrosyan // BMC Pregnancy Childbirth. – 2013. - Vol. 13. – P. 244-251.
130. Hillermann, R. The Glu298Asp variant of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with an increased risk for abruptio placentae in pre-eclampsia / R. Hillermann, K. Carelse, G. S. Gebhardt // J Hum Genetics. – 2005. - Vol. 50. – P. 415–419.
131. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy // Obst Gynecol. – 2013. - Vol. 122. – P. 1122–1131.
132. Hypertensive disorders in pregnancy: screening by biophysical and biochemical markers at 11-13weeks / L.C. Poon [et al.] // Ultrasound Obstet Gynecol. - 2010. – Vol.35, №6. – P.662-670.
133. Iacobelli, S. Comparison of risk factors and perinatal outcomes in early onset and late onset preeclampsia: A cohort based study in Reunion Island / S. Iacobelli, F. Bonsante, P. Y. Robillard // J Reprod Immunol. – 2017. – Vol. 123. –P. 12-16.
134. IL-6, TNFalpha and TGFbeta promote nonapoptotic trophoblast deportation and subsequently causes endothelial cell activation / L. M. Chen [et al.] // Placenta. – 2010. – Vol. 31, № 1. – P. 75-80.
135. Impact of genetic variation of tumor necrosis factor-alpha on gestational hypertension / Y. P. Chen [et al.] // Chin Med J (Engl). – 2006. - Vol. 119, № 9. – P. 719-724.

136. Impact of maternal endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms on blood pressure, protein excretion and fetal outcome in pregnancy / B. Hocher [et al.] // J. Hum. Hypertens. – 2008. - Vol. 22, № 9. – P. 641-647.
137. Impaired flow-mediated dilation before, during, and after preeclampsia: a systematic review and meta-analysis / T. L. Weissgerber [et al.] // Hypertension. – 2016. – Vol. 67, № 2. – P. 415-423.
138. Impaired neurovascular reactivity in the microvasculature of pregnant women with preeclampsia / K. F. Agra [et al.] // Microcirculation. – 2017. - Accepted author manuscript. doi:10.1111/micc.12383.
139. Impaired vascular dilatation in women with a history of pre-eclampsia / K.H. Lampinen [et al.] // J. Hypertens. – 2006. - Vol. 24, № 4. – P. 751-756.
140. Increased fetal DNA in the maternal circulation in early pregnancy is associated with an increased risk of preeclampsia / A. M. Cotter [et al.] // Am J Obstet Gynecol. – 2004. - Vol. 191, № 2. – P. 515-520.
141. Infertility and reproductive disorders: impact of hormonal and inflammatory mechanisms on pregnancy outcome / S. Vannuccini [et al.] // Hum Reprod Update. – 2016. - Vol. 22, № 1. – P. 104-115.
142. Inflammatory mediators gene polymorphisms in preeclampsia / C. S. Franchim [et al.] // Hypertens Pregnancy. – 2011. - Vol. 30, № 3. – P. 338-346.
143. Interleukin 10 -2849AA genotype protects against pre-eclampsia / C. J. de Groot [et al.] // Genes. Immun. – 2004. - Vol. 5, № 4. – P. 313-314.
144. Interleukin-10 -1082 G/A promoter polymorphism and pregnancy complications: results of a prospective cohort study in 1,616 pregnant women / F. Stonek [et al.] // Acta Obstet Gynecol Scand. – 2008. - Vol. 87, № 4. – P. 430-433.
145. Interleukin-10 reduces inflammation, endothelial dysfunction, and blood pressure in hypertensive pregnant rats / J. H. Tinsley [et al.] // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. - 2010. - Vol. 298, № 3. – P. 713-719.
146. Investigations into the association between polymorphisms in the interleukin-10 gene and risk of early-onset preeclampsia / Q.Y. Liu [et al.] // Genet Mol Res. 2015. - Vol. 14, № 4. – P. 19323-19328.

147. Kellogg, D. L. Jr. Endothelial nitric oxide synthase control mechanisms in the cutaneous vasculature of humans in vivo / D. L. Kellogg Jr., J. L. Zhao, Y. Wu // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2008. - Vol. 295. – P. 123–129.
148. Kellogg, D. L. Jr. Roles of nitric oxide synthase isoforms in cutaneous vasodilation induced by local warming of the skin and whole body heat stress in humans / D. L. Kellogg Jr., J. L. Zhao, Y. Wu // J Appl Physiol. – 2009. - Vol. 107, № 5. – P. 1438-1444.
149. Kidney disease and maternal and fetal outcomes in pregnancy / J. Kendrick [et al.] // Am J Kidney Dis. – 2015. - Vol. 66, № 1. – P. 55-59.
150. Kidney disease is an independent risk factor for adverse fetal and maternal outcomes in pregnancy / M. J. Fischer [et al.] // Am J Kidney Dis. – 2004. – Vol. 43, № 3. – P. 415-423.
151. Konečná, B. Role of fetal DNA in preeclampsia (review) / B. Konečná, B. Vlková, P. Celec // Int J Mol Med. – 2015. – Vol. 35, № 2. – P. 299-304.
152. Lamarca, B. Endothelial dysfunction. An important mediator in the pathophysiology of hypertension during pre-eclampsia / B. Lamarca // Minerva Ginecol. – 2012. - Vol. 64, № 4. – P. 309-320.
153. Large scale analysis of circulatory fetal DNA concentrations in pregnancies which subsequently develop preeclampsia using two Y chromosome specific real-time PCR assays / X. Y. Zhong [et al.] // J Turkish-German Gynecol Assoc - 2007. - Vol. 8, №2. - P.135-139.
154. Lee, Y. H. Meta-analysis of associations between interleukin-10 polymorphisms and susceptibility to pre-eclampsia / Y. H. Lee, J. H. Kim, G. G. Song // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. – 2014. - Vol. 182. – P. 202-207.
155. Lenasi, H. The effect of nitric oxide synthase and cyclooxygenase inhibition on cutaneous microvascular reactivity / H. Lenasi, M. Strucl // Eur. J. Appl. Physiol. – 2008. - Vol. 103, № 6. – P. 719-726.
156. Leptin, IL-10 and inflammatory markers (TNF-alpha, IL-6 and IL-8) in pre-eclamptic, normotensive pregnant and healthy non-pregnant women / A. Sharma [et al.] // Am. J. Reprod. Immunol. – 2007. - Vol. 58, № 1. – P. 21-30.

157. Lower serum vitamin D metabolite levels in relation to circulating cytokines / chemokines and metabolic hormones in pregnant women with hypertensive disorders / R. Adela [et al.] // Front Immunol. – 2017 – Vol. 8. – P. 273-287.
158. Luksha, L. The mechanism of EDHF-mediated responses in subcutaneous small arteries from healthy pregnant women / L. Luksha, H. Nisell, K. Kublickiene // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. – 2004. – Vol. 286. – P. 1102-1109.
159. Markers of endothelial activation in preeclampsia / M. Prochazka [et al.] // Clin Lab. – 2015. - Vol. 61, № 1-2. – P. 39-46.
160. Maternal age and adverse pregnancy outcome: a cohort study / A. Khalil [et al.] // Ultrasound Obstet Gynecol. – 2013. - Vol. 42, № 6. – P. 634-643.
161. Maternal and fetal genetic factors account for most of familial aggregation of preeclampsia: a population-based Swedish cohort study / S. Cnattingius [et al.] // American Journal of Medical Genetics. - 2004. - Vol. 130, № 4. - P. 365–371.
162. Maternal body mass index, height, and risks of preeclampsia / S. Sohlberg [et al.] // Am J Hypertens. – 2012. - Vol. 25, № 1. – P. 120-125.
163. Maternal history and uterine artery Doppler in the assessment of risk for development of early- and late-onset preeclampsia and intrauterine growth restriction / E. Llurba [et al.] // Obstet Gynecol Int. - 2009. - Vol. 2009. - P. 1-6.
164. Maternal plasma cell-free fetal and maternal DNA at 11-13 weeks' gestation: relation to fetal and maternal characteristics and pregnancy outcomes / L. C. Poon [et al.] // Fetal Diagn Ther. – 2013. - Vol. 33, № 4. – P. 215-23.
165. Maternal TLR4 and NOD2 gene variants, pro inflammatory phenotype and susceptibility to early onset preeclampsia and HELLP syndrome / B. B. van Rijn [et al.] // PLoS One. – 2008. - Vol. 3, № 4. – e 1865.
166. Maternal vitamin D and fetal growth in early-onset severe preeclampsia / C. J. Robinson [et al.] // Am J Obstet Gynecol. – 2011. - Vol. 204, № 6. – P. 556-560.
167. Maternal vitamin D status and the risk of mild and severe preeclampsia / L. M. Bodnar [et al.] // Epidemiology. – 2014. – Vol. 25, № 2. – P. 207-214.

168. Medica, I. Genetic polymorphisms in vasoactive genes and preeclampsia: a meta-analysis / I. Medica, A. Kastrin, B. Peterlin // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. – 2007. - Vol. 131, № 2. – P. 115-126.
169. Microvascular remodelling in preeclampsia: quantifying capillary rarefaction accurately and independently predicts preeclampsia / T. F. Antonios [et al.] // Am J Hypertens. – 2013. – Vol. 26, № 9. – P. 1162-1169.
170. Microvascular vasodilator response to acetylcholine is increased in women with pre-eclampsia / K. R. Davis [et al.] // BJOG. - 2001. - Vol. 108, № 6. - P. 610-614.
171. Modulation of nitric oxide formation by endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes / I. F. Metzger [et al.] // Free Radic Biol Med. – 2007. - Vol. 43, № 6. – P. 987-992.
172. MTHFR C677T and eNOS G894T variants in preeclamptic women: Contribution to lipid peroxidation and oxidative stress / Z. Rahimi [et al.] // Clin Biochem. – 2013. – Vol. 46, № 1-2. – P. 143-147.
173. Multicenter prospective clinical study to evaluate the prediction of short-term outcome in pregnant women with suspected preeclampsia (PROGNOSIS): study protocol / M. Hund [et al.] // BMC Pregnancy Childbirth. – 2014. - Vol. 14. – P. 324-334.
174. Noninvasive assessment of endothelial function in the skin microcirculation / H. Debbabi [et al.] // Am J Hypertens. – 2010. - Vol. 23. – P. 541-546.
175. Oxidative stress and preeclampsia: A review / P. Guerby [et al.] // Gynecol Obstet Fertil. – 2015. - Vol. 43, № 11. – P. 751-756.
176. Pacanowski, M. A. Genetic and pharmacogenetic associations between NOS3 polymorphisms, blood pressure, and cardiovascular events in hypertension / M. A. Pacanowski, I. Zineh, Rh. M. Cooper-DeHoff // Am J Hypertens. – 2009. – Vol. 22, № 7. – P. 748–753.
177. Park, H. J. Combined screening for early detection of pre-eclampsia / H. J. Park, S. S. Shim, D. H. Cha // Int. J. Mol. Sci. – 2015. - Vol. 16. – P. 17952-17974.

178. Peripheral microcirculation during pregnancy and in women with pregnancy induced hypertension / P. Ohlmann [et al.] // Clin Hemorheol Microcirc – 2001. - Vol. 24, № 3. – P. 183-191.
179. Placental deficiency of interleukin-10 (IL-10) in preeclampsia and its relationship to an IL10 promoter polymorphism / A. Makris [et al.] // Placenta. – 2006. - Vol. 27, № 4-5. – P.445-451
180. Placental perfusion in normal pregnancy and early and late preeclampsia: a magnetic resonance imaging study / S. Sohlberg [et al.] // Placenta. – 2014. - Vol. 35, № 3. – P. 202-206.
181. Placental Toll-like receptor 3 and Toll-like receptor 7/8 activation contributes to preeclampsia in humans and mice / P. Chatterjee [et al.] // PLoS One. – 2012. - Vol. 7, № 7. – e 41884.
182. Plasma-mediated vascular dysfunction in the reduced uterine perfusion pressure model of preeclampsia: a microvascular characterization / S. K. Walsh [et al.] // Hypertension. – 2009. - Vol. 54, № 2. – P. 345-351.
183. Polymorphisms in endothelial nitric oxide synthase gene in early and late severe preeclampsia / P. N. Alpoim [et al.] // Nitric Oxide. – 2014. – Vol. 42. – P. 19-23.
184. Polymorphisms in inflammatory genes are associated with term small for gestational age and preeclampsia / Q. E. Harmon [et al.] // Am J Reprod Immunol. – 2014. - Vol. 71, № 5. – P. 472-484.
185. Polymorphisms in interleukin-6 and interleukin-10 may be associated with risk of preeclampsia / D. M. Fan [et al.] // Genet Mol Res. – 2017. - Vol. 16, № 1. – gmr 16018588.
186. Polymorphisms in the endothelial nitric oxide synthase gene may be protective against preeclampsia in a Chinese population / L. K. Chen [et al.] // Reprod Sci. – 2007. - Vol. 14, № 2. – P.175-181.
187. Polymorphisms in the tumor necrosis factor-alpha gene in Turkish women with pre-eclampsia and eclampsia / A. Pazarbaşi [et al.] // Acta Med Okayama. – 2007. - Vol. 61, № 3. – P. 153-160.

188. Polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene in preeclampsia: a candidate-gene association study / N. Zdoukopoulos [et al.] // BMC Pregnancy Childbirth. – 2011. - Vol. 11. – P. 89-94.
189. Polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene in preeclampsia in a Han Chinese population / Y. Chen [et al.] // Gynecol Obstet Invest. – 2014. - Vol. 77, № 3. – P. 150-155.
190. Poon, L. C. First-trimester maternal factors and biomarker screening for preeclampsia / L. C. Poon, K. H. Nicolaides // Prenat Diagn. – 2014. - Vol. 34, № 7. – P. 618-627.
191. Postpartum circulating markers of inflammation and the systemic acute-phase response after early-onset preeclampsia / B. B. van Rijn [et al.] // Hypertension. -2016. - Vol. 67. – P. 404-414.
192. Prediction of early and late preeclampsia by flow-mediated dilation of the brachial artery / A. H. Brandão [et al.] // Radiol Bras. – 2014. - Vol. 47, № 4. – P. 206-209.
193. Prediction of preeclampsia utilizing the first trimester screening examination / A. A. Baschat [et al.] // Am J Obstet Gynecol. – 2014. - Vol. 211. № 5. – P. 514-521.
194. Predictive value of angiogenic factors, clinical risk factors and uterine artery Doppler for pre-eclampsia and fetal growth restriction in second and third trimester pregnancies in an Ecuadorian population / C. Kienast [et al.] // J Matern Fetal Neonatal Med. – 2016. - Vol. 29, № 4. – P. 537-543.
195. Pregnancy programming and preeclampsia: identifying a human endothelial model to study pregnancy-adapted endothelial function and endothelial adaptive failure in preeclamptic subjects / D. S. Boeldt [et al.] // Adv Exp Med Biol. – 2014. - Vol. 814. – P. 27-47.
196. Prospective evaluation of RASSF1A cell-free DNA as a biomarker of preeclampsia / F. Salvianti [et al.] // Placenta. – 2015. - Vol. 36, № 9. – P. 996-1001.

197. Protective role of the G allele of the polymorphism in the Interleukin 10 gene (-1082G/A) against the development of preeclampsia / C. W. Pissetti [et al.] // Rev Bras Ginecol Obstet. – 2014. - Vol. 36, № 10. – P. 456-460.
198. PTX3 as a potential endothelial dysfunction biomarker for severity of preeclampsia and IUGR / V. Cozzi [et al.] // Placenta. – 2012. - Vol. 33, № 12. – P. 1039-1044.
199. Radkov, O.V. Effects of polymorphisms of NOS3 and GNB3 genes on skin microvascular reactivity in normal pregnancy / O.V. Radkov, Volf Ju.V. // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2013. – Vol.155, Is. 1. – P.81-84.
200. Recurrence of pre-eclampsia across generations: exploring fetal and maternal genetic components in a population based cohort / R. Skjærven [et al.] // British Medical Journal. – 2005. - Vol. 331, № 7521. - P. 877–879.
201. Recurrence risk of a delivery before 34 weeks of pregnancy due to an early onset hypertensive disorder: a systematic review / J. Langenveld [et al.] // Am J Perinatol. – 2010. - Vol. 27, № 7. – P. 565-571.
202. Risk assessment of hypertensive disorders in pregnancy with maternal characteristics in early gestation: A single-center cohort study / H. Muto [et al.] // Taiwan J Obstet Gynecol. – 2016. – Vol.55, №3. – P.341-345.
203. Role of inflammatory cytokines and eNOS gene polymorphism in pathophysiology of pre-eclampsia / A. Singh [et al.] // Am J Reprod Immunol. – 2010. - Vol. 63, № 3. – P. 244-251.
204. Role of innate immunity in preeclampsia: a systematic review / A. P. Bouças [et al.] // Reprod Sci. – 2017. – Vol. 24, № 10. – P. 1362-1370.
205. Role of nitric oxide and reactive oxygen species in the pathogenesis of preeclampsia / K. Matsubara [et al.] // J Obstet Gynaecol Res. – 2010. - Vol. 36, № 2. – P. 239-247.
206. Role of the placental vitamin D receptor in modulating feto-placental growth in fetal growth restriction and preeclampsia - affected pregnancies / P. Murthi [et al.] // Front. Physiol. - 2016. – Vol. 7. – P.43-53.

207. Role of toll-like receptor 3 gene polymorphisms in preeclampsia / A. Chen [et al.] // Cell Physiol Biochem. – 2015. – Vol. 37. – P. 1927-1933.
208. Serum screening in first trimester to predict pre-eclampsia, small for gestational age and preterm delivery: systematic review and meta-analysis / Y. Zhong [et al.] // BMC Pregnancy Childbirth. - 2015. - Vol. 15. – P. 191-201.
209. Severe preeclampsia versus HELLP syndrome: maternal and perinatal outcomes at <34 and ≥34 weeks' gestation / T. Kınay [et al.] // Balkan Med J. – 2015. - Vol. 32, № 4. – P. 359-363.
210. Severe preeclampsia: association of genes polymorphisms and maternal cytokines production in Brazilian population / M. B. Pinheiro [et al.] // Cytokine. – 2015. - Vol. 71, № 2. – P. 232-237.
211. Sifakis, S. Cell-free fetal DNA and pregnancy-related complications (Review) / S. Sifakis, Z. Koukou, D. A. Spandidos // Mol Med Rep. – 2015. - Vol. 11, № 4. – P. 2367-2372.
212. Significance of toll-like receptor 4 signaling in peripheral blood monocytes of pre-eclamptic patients / W. Chen [et al.] // Hypertens Pregnancy. – 2015. - Vol. 34, № 4. – P. 486-494.
213. Song, L. Association between Interleukin-10 gene polymorphisms and risk of early-onset preeclampsia / L. Song, M. Zhong // Int J Clin Exp Pathol. – 2015. - Vol. 8, № 9. – P. 11659-11664.
214. Synergistic effect of renin-angiotensin system and nitric oxide synthase genes polymorphisms in pre-eclampsia / C. Benedetto [et al.] // Acta Obstet Gynecol Scand. – 2007. - Vol. 86, № 6. – P. 678-682.
215. The impact of small for gestational age births in early and late preeclamptic pregnancies for preeclampsia recurrence: a cohort study of successive pregnancies in Sweden / S. Cnattingius [et al.] // Paediatr Perinat Epidemiol. – 2016. - Vol. 30, № 6. – P. 563-570.
216. The pleiotropic effects of vitamin D in gynaecological and obstetric diseases: an overview on a hot topic / F. Colonese [et al.] // Bio Med Research International – 2015. - Vol. 2015. - e986281.

217. The polymorphism for endothelial nitric oxide synthase gene, the level of nitric oxide and the risk for pre-eclampsia: a meta-analysis / B. Dai [et al.] // Gene. – 2013. - Vol. 519, № 1. – P. 187-193.
218. The significance of -786T>C polymorphism of endothelial NO synthase (eNOS) gene in severe preeclampsia / A. Seremak-Mrozikiewicz [et al.] // J Matern Fetal Neonatal Med. – 2011. - Vol. 24, № 3. – P. 432-436.
219. The T-786C and Glu298Asp polymorphisms of the endothelial nitric oxide gene affect the forearm blood flow responses of Caucasian hypertensive patients / G. P. Rossi [et al.] // J Am Coll Cardiol. – 2003. - Vol. 41, № 6. – P. 938-945.
220. TLR-4 expression and pro-inflammatory cytokine production by peripheral blood monocytes from preeclamptic women / M. Romao [et al.] // Pregnancy Hypertens. – 2012. - Vol. 2, № 3. – P. 276-283.
221. TNFα G308A gene polymorphism has an impact on renal function, microvascular permeability, organ involvement and severity of preeclampsia / P. Zubor [et al.] // Gynecol Obstet Invest. – 2014. - Vol. 78, № 3. – P. 150-161.
222. Toll-like receptor 4 gene polymorphisms and preeclampsia: lack of association in a Caucasian population / A. Molvarec [et al.] // Hypertens Res. - 2008. - Vol. 31, № 5. – P. 859-864.
223. Toll-like receptor gene polymorphisms and preeclampsia risk: a case-control study and data synthesis / F. Xie [et al.] // Hypertens Pregnancy. – 2010. - Vol. 29, № 4. – P. 390-398.
224. Total and Fetal Circulating Cell-Free DNA, Angiogenic and Antiangiogenic Factors in Preeclampsia and HELLP Syndrome / R. Muñoz-Hernández [et al.] // Am J Hypertens. – 2017. - Vol. 30, № 7. – P. 673-682.
225. Tranquilli, A. L. Early and late-onset pre-eclampsia / A. L. Tranquilli // Pregnancy Hypertens. – 2014. - Vol. 4, № 3. – P. 241-248.
226. Tumor necrosis factor-α and interleukin-1-β polymorphisms in pre-eclampsia / A. Z. Tavakkol [et al.] // Iran J Immunol. – 2016. - Vol. 13, № 4. – P. 309-316.

227. Tumor necrosis factor-α, interleukin-6 and interleukin-10 polymorphisms in preeclampsi / P. Vural [et al.] // J Obstet Gynaecol Res. – 2010. - Vol. 36, № 1. – P. 64–71.
228. Tumour necrosis factor-a gene haplotype is associated with pre-eclampsia / T. Saarela [et al.] // Mol Hum Reprod. – 2005. - Vol. 11, № 6. - P. 437–440.
229. Two-stage elevation of cell-free fetal DNA in maternal sera before onset of preeclampsia / R. J. Levine [et al.] // Am J Obstet Gynecol. – 2004. – Vol. 190, № 3. - P. 707-713.
230. Vascular interleukin-10 protects against LPS-induced vasomotor dysfunction / C. A. Gunnett [et al.] // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2005. - Vol. 289, № 2. – P. 624-630.
231. Vascular mechanical properties and endothelial function in pre-eclampsia with special reference to bilateral uterine artery notch / J. Brodszki [et al.] // Acta Obstet Gynecol Scand. – 2008. - Vol. 87, № 2. – P. 154-162.
232. Vasodilator factors in the systemic and local adaptations to pregnancy / G. Valdes [et al.] // Reprod. Biol. Endocrinol. – 2009. – Vol. 7. – P. 79-85.
233. Vitamin D 3 alters Toll-like receptor 4 signaling in monocytes of pregnant women at risk for preeclampsia / L. Qian [et al.] // Int J Clin Exp Med. – 2015. - Vol. 8, № 10. – P. 18041-18049.
234. Vitamin D and pre-eclampsia: original data, systematic review and meta-analysis / E. Hyppönen [et al.] // Ann Nutr Metab. – 2013. - Vol. 63, № 4. – P. 331-340.
235. Vitamin D receptor genetic polymorphism is significantly associated with decreased risk of hypertension in a Chinese Han population / J. Jia [et al.] // Clin Hypertens (Greenwich). – 2014. – Vol. 16. – P. 634–639.
236. Vitamin D receptor polymorphisms in hypertensive disorders of pregnancy / V. B. Rezende [et al.] // Mol Biol Rep. – 2012. - Vol. 39, № 12. – P. 10903-10906.
237. Vitamin D status in early pregnancy and risk of preeclampsia / M. Achkar [et al.] // Am J Obstet Gynecol. – 2015. - Vol. 212, № 4. – P. 511-518.

238. Vitamin D supplementation during pregnancy: Updated meta-analysis on maternal outcomes / C. Palacios [et al.] // J Steroid Biochem Mol Biol. – 2016. – Vol. 164. – P. 148-155.
239. Weissgerber, T. L. Flow-mediated dilation: can new approaches provide greater mechanistic insight into vascular dysfunction in preeclampsia and other diseases? / T. L. Weissgerber // Curr Hypertens Rep. – 2014. - Vol. 16, № 11. – P. 487-494.
240. Zhang, J. Z. Risk factors of recurrent preeclampsia and its relation to maternal and offspring outcome / J. Z. Zhang, J. He // Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. – 2015. - Vol. 44, № 3. – P. 258-263.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Патент №2478966 Российская Федерация, МПК *G01N 33/50*. Способ оценки тяжести преэклампсии / Радьков О.В., Заварин В.В., Логутова Л.С., Вольф Ю.В., Дадабаев В.К.; заявитель и патентообладатель Радьков О.В. – № 2012103655/15; заявл. 24.01.12; опубл. 10.04.13, Бюл. № 10.