

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Кириянова Марина Андреевна

**Протеомный профиль плаценты и крови женщин с физиологическим
течением беременности и преэклампсией, его клиническое значение**

3.1.4. Акушерство и гинекология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Никитина Наталья Александровна

Москва – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ПРЕЭКЛАМПСИЯ В СОВРЕМЕННОМ АКУШЕРСТВЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	15
1.1. Эпидемиология и отдаленные прогнозы для матери и плода.....	15
1.2. Определение, классификация, факторы риска развития преэклампсии.....	16
1.3. Современные концепции развития преэклампсии.....	21
1.4. Современные методы диагностики и прогнозирования преэклампсии...	25
1.5. Глобальный протеомный анализ плазмы крови и плаценты при преэклампсии.....	29
ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОК. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	38
2.1. Дизайн исследования. Критерии включения и исключения из исследования.....	38
2.2. Общеклинические методы исследования.....	40
2.2.1. Сбор анамнеза и объективный осмотр.....	40
2.2.2. Лабораторные и инструментальные методы.....	41
2.3. Специальные методы исследования.....	42
2.3.1. Сравнительная оценка протеомного профиля плазмы крови у женщин с физиологической беременностью и с преэклампсией.....	42
2.3.2. Сравнительный анализ протеомного профиля плаценты у женщин с физиологической беременностью и преэклампсией.....	43
2.4. Статистические методы.....	44
ГЛАВА 3. РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ, ОСОБЕННОСТЕЙ РАЗВИТИЯ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ПРЕЭКЛАМПСИИ.....	47
3.1. Характеристика соматического и акушерско-гинекологического анамнеза пациенток.....	47

3.2. Особенности течения беременности и родов, перинатальные исходы и состояние новорожденных у пациенток анализируемых групп.....	62
3.3. Прогностическая модель развития ранней и поздней преэклампсии.....	84
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	88
4.1. Общая клинико-anamнестическая характеристика пациенток, включенных в проспективное исследование.....	88
4.2. Изучение протеомного профиля плазмы крови.....	98
4.3. Изучение протеомного профиля плаценты.....	124
ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	150
5.1. Современные особенности развития преэклампсии по данным ретроспективного анализа.....	150
5.2. Глобальный анализ протеома плазмы крови беременных с преэклампсией.....	156
5.3. Результаты анализа протеома плаценты.....	173
ВЫВОДЫ.....	188
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	190
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	193
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	195
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	198

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Проблема преэклампсии (ПЭ) в современном акушерстве по-прежнему не теряет своей актуальности: ежегодно во всем мире она является причиной смерти 70 000 женщин и 500 000 младенцев [1].

ПЭ – специфическое осложнение второй половины беременности, для него характерно полисистемное поражение организма матери с генерализованным повреждением сосудов микроциркуляции [2]. Согласно фактам доказательной медицины, ПЭ манифестирует после 20-22 недели беременности, однако предпосылки к ее возникновению формируются гораздо раньше и обусловлены многими соматическими заболеваниями, связанными с нарушением работы сердечно-сосудистой, эндокринной, мочевыделительной и гепатобилиарной систем, липидного обмена, гемостаза, иммунной системы (артериальная гипертензия, хронические заболевания печени и почек, ожирение, сахарный диабет, атеросклероз, гиперлипидемия и другие) [3]. Фатальные осложнения преэклампсии и эклампсии имеют полиорганный, мультисистемный характер с высокой частотой поражений почек (острая почечная недостаточность), печени (HELLP-синдром, острая печеночная недостаточность), головного мозга (эклампсия, острые нарушения мозгового кровообращения), системы гемостаза (ДВС-синдром, массивные акушерские кровотечения), а также могут быть причинами летального исхода [4].

Этиологический фактор ПЭ по-прежнему остается неизвестным. Общепринята концепция патологической плацентации, заключающаяся в поверхностной инвазии цитотрофобласта, приводящей к неполноценному ремоделированию маточно-плацентарных артерий, недостаточному кровоснабжению (ишемии, гипоксии) плаценты с последующей ее дисфункцией [3,5]. Выброс из плаценты в кровоток матери большого числа повреждающих факторов приводит к развитию материнского ответа: генерализованная

эндотелиальная дисфункция с нарушением регуляции сосудистого тонуса, дисбаланс между различными агонистами и антагонистами (тромбогенные и антитромбогенные, ангиогенные и антиангиогенные, воспалительные и провоспалительные, вазоконстрикторы и вазодилататоры и т.д.), активация реакций иммунного ответа и системы гемостаза, окислительный стресс и чрезмерный провоспалительный ответ (SIRS). Весь комплекс патофизиологических изменений в конечном итоге обуславливает особенности клинической картины [1,6,7]. Описанная 2-стадийная модель развития ПЭ включает таким образом плацентарную (доклиническую) стадию и материнскую (когда появляются уже клинические симптомы ПЭ). Кроме того, в настоящее время ПЭ классифицируют на раннюю и позднюю с клинической манифестацией до и после 34 недель беременности соответственно. Ранняя ПЭ ассоциирована с признаками плацентарной мальперфузии и высокой частотой ЗРП, поздняя - с дисфункцией материнской сердечно-сосудистой системы и вторичным повреждением плаценты.

Однако плацентарная ишемия на фоне поверхностной инвазии цитотрофобласта является общим механизмом развития помимо ПЭ и других акушерских синдромов, таких как задержка роста плода (ЗРП), самопроизвольный выкидыш, преждевременные роды, преждевременная отслойка плаценты, поэтому данное состояние может рассматриваться как фактор риска развития ПЭ, причем именно ее раннего фенотипа, который составляет всего 5-20 % от всех случаев ПЭ [6,7,8]. Остается серьезной проблема изучения патогенеза поздней ПЭ (более 80 % всех случаев), не связанной с недостаточностью инвазии цитотрофобласта и ЗРП. Кроме того, известные в настоящее время биомаркеры более эффективны в отношении прогноза ПЭ с ранним, чем с поздним дебютом.

Последние публикации постулируют, что аномальная плацентация на ранних сроках беременности (ранняя ПЭ) и неспособность плаценты поддерживать адекватное кровоснабжение на более поздних сроках (поздняя ПЭ) имеют общее конечное патогенетическое звено – «стресс» синцитиотрофобласта, при котором

имеют место нарушение функций митохондрий и стресс эндоплазматического ретикулума, активация апоптоза, аутофагии, некроз клеток, а также повышенный выброс в кровоток матери внеклеточных везикул (экзосом, микровезикул и апоптотических телец), способных специфически влиять на клетки-мишени [9].

Учитывая многообразие факторов риска, гетерогенность клинических проявлений и молекулярных патогенетических механизмов, а также современные требования персонализированной медицины для глубокого изучения патофизиологии ПЭ необходимы инновационные высоко производительные технологии с одновременной оценкой всего возможного спектра изменений при ПЭ как в самой плаценте, так и на системном уровне.

Крайне перспективной альтернативой классическим исследованиям, основанным на уже имеющихся гипотезах заболеваний или осложнений, являются омиксные технологии, включающие геномику, транскриптомику, протеомику, метаболомику и др. Перспективным, активно развивающимся широкомасштабным методом исследования молекулярных механизмов развития ПЭ является протеомика, позволяющая идентифицировать и количественно оценивать совокупность всех белков, экспрессируемых в различных биологических жидкостях и тканях (протеом).

Сравнительный анализ аномально экспрессируемых в плаценте и плазме крови белков у беременных с ПЭ и здоровых может предоставить важную информацию для глубокого и всестороннего изучения патофизиологии плацентарных нарушений, выявления молекулярных механизмов развития и прогрессирования ПЭ, а также для идентификации диагностических и прогностических биомаркеров ПЭ.

Степень разработанности темы исследования

Вопросы, связанные с преэклампсией (ПЭ), патологией плаценты и иммунологическими аспектами беременности, закономерно находятся в фокусе внимания исследователей и находят отражение в обширной научной литературе

(Falco et al., Turanov et al.). В частности, активно изучаются гистопатологические особенности плаценты при ПЭ, возможности доплерометрии маточных артерий, а также роль ангиогенных факторов в прогнозировании осложнений беременности (Nourollahpour Shiadeh et al.). Иммунологические механизмы в развитии ПЭ также привлекают пристальное внимание; в этой области исследуется роль естественных киллеров (NK-клеток) и KIR-рецепторов, при этом важный вклад в понимание фундаментальных основ иммунологии внесли труды таких ученых, как И.И. Мечников и Пауль Эрлих.

Несмотря на значительный объем накопленных знаний, ряд аспектов, рассмотренных в рамках настоящей работы, представляются недостаточно разработанными или практически не освещенными в существующей литературе. Это касается, в частности, специфической роли протеомного анализа материнской крови для выявления ранних предикторов ПЭ с учетом многокомпонентного взаимодействия системы комплемента, каскада коагуляции, активации тромбоцитов и нарушений метаболизма липидов. Также малоизученным остается вклад эндоплазматического ретикулума и процессов NETоза в патогенез ПЭ, что обуславливает новизну и актуальность проведенного исследования.

Следует отметить, что в рамках данной диссертационной работы предпринята попытка комплексного анализа протеомных изменений в плазме крови беременных с ПЭ с применением современных методов протеомики высокого разрешения. Данный подход позволил идентифицировать новые биомаркеры, потенциально пригодные для ранней диагностики и прогнозирования течения ПЭ, а также разработать более точное представление о патофизиологических механизмах, лежащих в основе этого осложнения. Вклад диссертации в науку заключается в выявлении взаимосвязанных протеомных изменений, отражающих дисбаланс в системе комплемента, коагуляции, иммунных реакциях и метаболических процессах, что вносит вклад в более глубокое понимание патогенеза ПЭ и открывает перспективы для разработки новых стратегий профилактики и терапии. В частности, результаты работы

позволяют обосновать необходимость дальнейших исследований по оценке возможностей таргетной коррекции дисфункции комплемента и коагуляции с использованием современных терапевтических подходов.

Цель и задачи исследования

Цель исследования – оптимизировать прогнозирование и раннюю диагностику ПЭ на основании анализа протеома плазмы крови с использованием масс-спектрометрии сверхвысокого разрешения и проведением кластерного анализа дифференциально отличающихся при ПЭ белков.

Задачи исследования:

1. Изучить современные особенности развития и прогрессирования ПЭ на основании ретроспективного сравнительного анализа анамнестических и клинических данных, исходов беременности и родов у пациенток с ранним и поздним фенотипом ПЭ.
2. Проанализировать протеомный профиль плазмы крови у здоровых беременных и беременных с ПЭ, выделить белки, дифференциально экспрессируемые при ПЭ.
3. На основании кластерного анализа значимо измененных при ПЭ белков плазмы крови выявить весь спектр молекулярных механизмов развития и прогрессирования ПЭ, в том числе при раннем и позднем фенотипе.
4. Исследовать протеом плаценты у женщин с ПЭ и у здоровых беременных с последующим кластерным анализом значимо измененных белков.
5. Разработать алгоритм прогнозирования и ранней диагностики ПЭ с использованием выявленных протеомных предикторов.

Научная новизна

Впервые проведен параллельный анализ протеомного профиля ткани плаценты и плазмы крови у одних и тех же здоровых беременных и пациенток с

ПЭ с использованием жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения.

Глубокое профилирование белков плазмы крови и плаценты позволило выделить весь спектр дифференциально экспрессируемых при ПЭ белков с последующим биоинформационным анализом. Выявлено, что ранняя и поздняя ПЭ наиболее значимо отличаются протеомными паттернами ткани плаценты, различия протеома материнской плазмы крови при данных фенотипах менее выражены.

С помощью иерархического кластерного анализа значимо измененных при ПЭ белков произведено их разделение на функциональные группы в зависимости от выполняемых функций и биологической роли в клеточных процессах. Выявлены и изучены биологические процессы, потенциально значимые для понимания патофизиологии ранней и поздней ПЭ.

С использованием биоинформационного анализа результатов изучения протеомного профиля плазмы крови определены универсальные маркеры с наилучшими характеристиками в отношении прогнозирования и ранней диагностики как ранней, так и поздней ПЭ – Fibronectin и Programmed cell death protein 6 (чувствительность 92,5%, специфичность – 95%). В сроки беременности до 34 недель модель с наилучшими качествами в отношении прогнозирования ранней ПЭ включает определение Fibronectin, и Pregnancy-specific beta-1-glycoprotein 6 (чувствительность и специфичность 95%).

Теоретическая и практическая значимость работы

Глобальный анализ протеома плазмы крови и плаценты показал значимые изменения большого числа белков у пациенток с ПЭ, что характеризует крайне широкий спектр патофизиологических изменений при данном осложнении беременности.

С учетом изученных современных клинических особенностей развития ПЭ и результатов биоинформационного анализа протеома плаценты и плазмы крови

разработаны комплексные прогностические и диагностические модели развития ПЭ с высокими показателями чувствительности и специфичности.

На основе разработанных моделей предложен практический алгоритм, позволяющий выделить беременных группы высокого риска развития ПЭ (в том числе раннего фенотипа) с учетом протеомных предикторов. Прогнозирование последующего развития ПЭ с момента выявления какого-либо одного из ее симптомов обосновывает необходимость тщательного динамического наблюдения за состоянием матери и плода, позволяет своевременно диагностировать начавшуюся ПЭ, вовремя начать или скорректировать профилактические и терапевтические мероприятия, что соответственно может снизить частоту тяжелых осложнений у матери и неблагоприятных перинатальных и неонатальных исходов.

Методология и методы исследования

Исследование проведено на базе ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С. С. Юдина Департамента здравоохранения города Москвы» (филиал родильный дом) и Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук» (ГНЦ ИБХ РАН) в три этапа.

Для ретроспективного анализа современных клинических особенностей развития и прогрессирования ПЭ отобраны истории беременности и родов, амбулаторные карты 200 пациенток, родоразрешенных в ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С. С. Юдина Департамента здравоохранения города Москвы» (филиал родильный дом) в 2020-2022 гг. Контрольную группу представляют 100 пациенток с неотягощенным соматическим анамнезом, а также физиологическим течением беременности и родов; в основную группу вошли 100 пациенток с диагнозом «Преэклампсия», определены сроки клинической манифестации, особенности течения каждого триместра беременности, оценены

основные клинические симптомы ПЭ, сроки и методы родоразрешения, перинатальные и неонатальные исходы.

На втором этапе выполнено проспективное исследование по типу одномоментного контролируемого когортного исследования; помимо полного клиничко-лабораторного обследования, с помощью жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения проанализирован протеом плазмы крови у 80 беременных: 40 здоровых пациенток с физиологическим течением беременности (контрольная группа) и 40 беременных с ПЭ (основная группа).

На третьем этапе проведен хромато-масс-спектрометрический анализ протеома плаценты у 40 женщин предыдущего этапа: в основную группу вошли 20 женщин с ПЭ, в контрольную – отобрано 20 пациенток с физиологическим течением беременности в близкие к пациенткам основной группы сроки родоразрешения (в сроки 36-39 недель - в основной группе недель, в 37-39 недель - в контрольной).

Положения, выносимые на защиту

1. Наиболее высокая частота осложнений беременности и неблагоприятных материнских и перинатальных исходов имеет место при развитии тяжелой ПЭ с ранним дебютом у беременных с отягощенным соматическим анамнезом. Прогностические модели ПЭ на основании оценки наиболее значимых клиничко-анамнестических факторов риска обладают довольно низкой чувствительностью и специфичностью, однако выявление признаков нарушения маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока и ЗРП во второй половине беременности позволяет расширить группу риска развития ПЭ для дообследования.

2. Протеомный профиль материнской плазмы при ПЭ значительно отличается от протеома плазмы пациенток с неосложненным течением беременности и характеризуется дифференциальной экспрессией белков, вовлеченных в крайне широкий спектр биологических процессов. Белки Fibronectin и Programmed cell

death protein 6 являются наилучшими универсальными маркерами развития как ранней, так и поздней ПЭ, что обосновывает целесообразность их сочетанного определения для прогнозирования вероятности ее дальнейшего развития с чувствительностью 92,5% и специфичностью 95%.

3. Изменения протеома плаценты при ПЭ свидетельствуют о функционировании трофобласта в условиях выраженной гипоксии и энергетического дефицита клеток на фоне митохондриальной дисфункции, стресса эндоплазматического ретикулума, активации деструктивных процессов (апоптоз, ферроптоз, аутофагия, некроз), воспаления, иммунной дисрегуляции. Белки Lactate dehydrogenase A, C4b-binding protein alpha, Cysteine-tRNA ligase, Transmembrane emp24 domain-containing protein 2, Ferritin light chain, Collagen alpha-1 (VI), E3 ubiquitin-protein ligase могут рассматриваться в качестве маркеров стресса трофобласта и дисфункции плаценты у пациенток с ПЭ.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2 и 4 паспорта акушерства и гинекологии.

Степень достоверности и апробация результатов

Разработанная методология и научное обоснование каждого из этапов работы, математически рассчитанный объем когорты обследованных пациенток, репрезентативность выборки на всех этапах исследования, а также применение современных методов изучения протеома биологических жидкостей и тканей подтверждают высокую степень достоверности полученных в диссертации результатов. Полученные результаты проанализированы с помощью новейших достижений биоинформационного анализа, включая доступные онлайн ресурсы, с соблюдением требований, предъявляемых к статистической обработке данных

научных исследований. Результаты работы опубликованы в рецензируемых научных изданиях, доложены на научно-практических конференциях и форумах, в том числе международных.

Результаты диссертационной работы доложены на VI Всероссийской научно-практической конференции «Неотложные состояния в акушерстве» (Москва, 11-12 апреля 2022 г.), XXIX Всероссийском Конгрессе с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы» (Москва, 29–31 марта, 2023 г.), I Сеченовском международном форуме материнства и детства (Москва, 15-16 февраля 2024 г.), II Сеченовском международном форуме материнства и детства (Москва, 6-7 февраля 2025 г.).

По результатам проведенного исследования разработаны практические рекомендации, включены в учебный материал для клинических ординаторов и аспирантов в виде лекций и практических семинаров.

Личный вклад автора

Автор принимал участие в выборе темы научно-квалификационной работы (НКР), выполнил поиск актуальной информации, соответствующей содержанию темы НКР, анализ и систематизацию найденных литературных данных. Для ретроспективного этапа исследования соискатель подготовил выборку документации пациенток, осуществил обработку и систематизацию клиничко-anamnestических и лабораторно-инструментальных данных в электронном виде, провел статистический анализ всех полученных сведений. При проведении проспективного этапа были отобраны женщины для основной и контрольной групп, соответственно критериям включения и исключения. Диссертант лично принимал участие в ведении и родоразрешении большей части пациенток, проводил забор биологического материала, его подготовку и транспортировку в лабораторию для следующего этапа изучения. Полученные результаты проспективного исследования были статистически обработаны, проанализированы

и интерпретированы автором, с последующей формулировкой выводов и разработкой практических рекомендаций.

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 7 работ, в том числе 3 научные статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 1 иная публикация по результатам исследования. 3 публикации в сборниках материалов всероссийских научных конференций.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 221 странице печатного текста, иллюстрирована 57 таблицами, 46 рисунками, включает 1 схему-алгоритм. Структура диссертации представлена введением, литературным обзором современного состояния изучаемой проблемы, главами, посвященными сравнительному ретроспективному и проспективному анализу групп пациенток, включенных в исследование, результатам собственных исследований с их последующим подробным обсуждением, содержит также заключение, выводы и практические рекомендации. Представлено 224 литературных источника, 210 из которых - зарубежные. Диссертация имеет список сокращений и условных обозначений.

ГЛАВА 1. ПРЕЭКЛАМПСИЯ В СОВРЕМЕННОМ АКУШЕРСТВЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Эпидемиология и отдаленные прогнозы для матери и плода

Гипертензивные расстройства во время беременности, включая ПЭ и эклампсию, многие годы занимают одно из 5 лидирующих мест в структуре материнских потерь [1,10,11]. Особенно высок показатель материнской смертности в развивающихся странах по сравнению со странами с высоким уровнем дохода, тем не менее, в Европе от 10% до 15% материнских смертей напрямую связаны с ПЭ и эклампсией [12]. В странах Латинской Америки и Карибском бассейне ПЭ являются причиной почти 26% материнской смертности, тогда как в Африке и Азии данная цифра составляет 9% [11]. В Соединенных Штатах частота ПЭ увеличилась на 25%, при этом в 6,7 раз увеличился риск развития тяжелой ПЭ [11].

Частота встречаемости ПЭ в мире составляет от 2 до 8% беременностей [10,11].

Более 300 миллионов женщин по данным мировой статистики имеют отдаленные последствия после перенесенной во время беременности ПЭ – высок риск развития ишемической болезни сердца, инсульта, ХАГ, цереброваскулярных заболеваний, смертности от сердечно-сосудистых заболеваний и инсульта, метаболических нарушений и терминальной стадии хронической болезни почек [12,13,14].

В последние годы отмечается тенденция к увеличению частоты тяжелых форм ПЭ. Несмотря на все предпринимаемые меры по прогнозированию, профилактике, диагностике и лечению, умеренная ПЭ прогрессирует в тяжелую (в некоторых случаях – молниеносно) с развитием жизнеугрожающего состояния как для матери, так и для плода (экстремально высокое АД с риском возникновения геморрагического инсульта и отслойки сетчатки, полиорганная недостаточность, HELLP-синдром, преждевременная отслойка плаценты, массивные акушерские

кровотечения, отек легких, эклампсия). При этом клиническая картина часто не имеет четкой корреляции с истинной тяжестью ПЭ, которая является определяющей в выборе тактики ведения и своевременного родоразрешения.

Дети женщин, которые перенесли ПЭ во время беременности, родах или послеродовом периоде, имеют повышенный риск перинатальной смерти, нарушения развития нервной системы, в более позднем возрасте сердечно-сосудистых и метаболических заболеваний [13,15].

1.2. Определение, классификация, факторы риска развития преэклампсии

Современные дефиниции ПЭ имеют следующую формулировку: ПЭ – специфическое осложнение беременности, родов и послеродового периода, характеризующееся повышением после 20-й недели беременности САД ≥ 140 мм рт. ст. и/или ДАД ≥ 90 мм рт. ст. независимо от уровня АД в анамнезе в сочетании с протеинурией (потеря белка $\geq 0,3$ г/сутки или $>0,3$ г/л в двух порциях мочи, взятых интервалом в 6 часов) или хотя бы одним параметром, свидетельствующим о присоединении полиорганной недостаточности (нарушение функции печени, HELLP-синдром, нарушение функции почек, церебральные или зрительные расстройства, тромбоцитопения, боли в верхнем латеральном квадранте, эпигастрии, отек легких, анасарка, синдром ЗРП, антенатальная гибель плода) [16].

ПЭ классифицируется на умеренную и тяжелую. Критерии тяжелой ПЭ четко регламентированы и включают повышение систолическое артериальное давление (САД) >160 мм рт. ст. и/или диастолическое кровяное давление (ДАД) >110 мм рт. ст. в сочетании с протеинурией >5 г в сутки или >3 г/л в двух порциях мочи, взятых с интервалом в 6 час, или хотя бы одним другим параметром, который свидетельствует о присоединении полиорганной недостаточности. В остальных случаях диагностируется умеренная ПЭ (САД ≥ 140 , но менее 160 мм рт. ст. и/или ДАД ≥ 90 , но менее 110 мм рт. ст.; протеинурия $\geq 0,3$ г/сутки или $>0,3$ г/л в двух порциях мочи, взятых интервалом в 6 часов)

В рекомендациях ISSHP (Международное общество по изучению артериальной гипертензии у беременных) указано, что ПЭ может быть диагностирована после 20 недель беременности при возникшей впервые артериальной гипертензии (САД ≥ 140 мм рт. ст. и/или ДАД ≥ 90 мм рт. ст.; среднее значение двух измерений) у пациентки, ранее с нормотензией плюс еще один симптом или признак, связанный с преэклампсией. Они могут включать протеинурию (белок/креатинин ≥ 30 мг/ммоль в разовом образце мочи или ≥ 300 мг/ммоль в день), острое повреждение почек (креатинин ≥ 90 мкмоль/л), поражение печени (повышение активности трансаминаз, например, АЛТ или АСТ > 40 МЕ/л), неврологические симптомы (эклампсия, изменение психического статуса, слепота, инсульт, клонус, сильные головные боли, стойкие зрительные скотомы), гематологические нарушения (тромбоцитопения ниже 150×10^9 /л), диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови, гемолиз), кардиореспираторные осложнения (отек легких, ишемия или инфаркт миокарда, сатурация кислорода $< 90\%$, $\geq 50\%$ вдыхаемого кислорода в течение более 1 часа, интубация, кроме кесарева сечения) или маточно-плацентарная дисфункция (ЗРП, ангиогенный дисбаланс, отслойка плаценты). Этот набор диагностических критериев, опубликованный в 2014 г. и пересмотренный в 2018 и 2021 гг., представляет собой значительное изменение по сравнению с предыдущими рекомендациями, опубликованными в 2001 году, которые требовали наличия протеинурии и впервые возникшей гипертензии у пациенток с предшествующей артериальной гипертензией. Использование рекомендаций ISSHP увеличивает число диагнозов ПЭ по сравнению с рекомендациями, опубликованными до 2014 года, улучшая выявление женщин и новорожденных с риском неблагоприятных исходов, хотя у большинства недавно выявленных женщин заболевание наблюдается лишь в легкой форме и низкий риск неблагоприятных исходов. ACOG и NICE обновили рекомендации по диагностике преэклампсии в 2020 (ACOG) и 2023 (NICE) году, соответствующие рекомендациям ISSHP [13,17].

ПЭ классифицируют также на раннюю и позднюю в зависимости от срока

клинической манифестации. Ранняя ПЭ (5-20% случаев), именуемая еще «плацентарной ПЭ», развивается до 34-й недели беременности, чаще сопряжена с тяжелыми симптомами у матери и более высокой частотой ЗРП, сопровождается преждевременным родоразрешением, более серьезными перинатальными потерями, а также значительной частотой плацентарных, функциональных и гистопатологических аномалий развития. В то же время поздняя ПЭ (80-95% случаев), называемая «материнской преэклампсией», развивается после 34 недель беременности, как правило, взаимосвязана с различными соматическими заболеваниями матери (сердечно-сосудистые заболевания, ожирение, сахарный диабет, аутоиммунные заболевания и др.), и в большинстве случаев проявляется менее выраженной симптоматикой со стороны матери и плода, незначительными гистопатологическими изменениями плаценты. Тем не менее, поздний фенотип ПЭ по-прежнему представляет значительный риск для матери и плода, как в краткосрочной, так и в долгосрочной перспективе [18,19,20].

Согласно данным АСОГ (Американский колледж акушерства и гинекологии) факторы риска ПЭ подразделяются на факторы высокого и умеренного риска (таблица 1) [11]:

Таблица 1 – Факторы риска развития ПЭ (по АСОГ)

Факторы высокого риска	Факторы умеренного риска
предыдущая беременность с ПЭ	первая беременность
многоплодная беременность	возраст матери 35 лет и старше
заболевания почек	индекс массы тела (ИМТ) > 30 кг/м ²
аутоиммунные заболевания	семейный анамнез преэклампсии
сахарный диабет 1 или 2 типа	социально-демографические характеристики
хроническая артериальная гипертензия	факторы личного анамнеза

ISSHP (Международное общество по изучению артериальной гипертензии у беременных) также выделяет факторы умеренного и высокого риска развития ПЭ (таблица 2) [14]:

Таблица 2 – Факторы риска развития ПЭ (по ISSHP)

	Факторы высокого риска	Факторы умеренного риска
Предшествующие беременности	Предыдущая беременность с ПЭ	Предшествующая отслойка плаценты
		Предшествующее мертворождение
		Предшествующее ограничение роста плода
Демографические особенности	ИМТ до беременности > 30 кг/м ²	Возраст матери >40 лет
Соматический статус	Хроническая артериальная гипертензия (ХАГ)	
	Прегестационный сахарный диабет	
	Хроническая болезнь почек (включая женщин с пересаженной почкой)	
	Системная красная волчанка (СКВ)/синдром антифосфолипидных антител (АФС)	
Настоящая беременность	Вспомогательные репродуктивные технологии (ВР)	Первая беременность
		Многоплодная беременность

При регистрации хотя бы одного фактора «высокого риска» или ≥ 2 факторов «умеренного риска», пациентка относится в группу высокого риска развития ПЭ [14]. NICE (National Institute for Health and Clinical Excellence) также делит факторы риска ПЭ на две группы – высокого и умеренного риска (таблица 3) [21]:

Таблица 3 – Факторы риска развития ПЭ (по NICE)

Факторы высокого риска	Факторы умеренного риска
гипертоническая болезнь в предыдущей беременности	первая беременность
хроническая болезнь почек	возраст матери 40 лет и старше
хроническая артериальная гипертензия	интервал между беременностями более 10 лет
сахарный диабет 1 или 2 типа	индекс массы тела (ИМТ) > 35 кг/м ² и более при первом посещении
аутоиммунное заболевание (такое как системная красная волчанка или антифосфолипидный синдром)	семейный анамнез по ПЭ
	многоплодная беременность

Международная федерация акушеров-гинекологов (FIGO) соотносит ряд материнских факторов, таких как: возраст беременной, паритет, ПЭ во время предыдущей беременности, малый и большой интервалы между беременностями (менее 12 месяцев, более 72 месяцев), ВРТ, ПЭ в семейном анамнезе, ИМТ ≥ 30 кг/м², раса, этническая принадлежность, а также сопутствующие заболевания, связанные с повышенным риском развития ПЭ [22].

Существует большое количество исследований, подтверждающих увеличение риска в 3–4 раза у дочерей, и также у сестер женщин с ПЭ, что особенно характерно для ранней ПЭ (отношение рисков (ОР) 2,15, 95% ДИ 1,69–2,73), чем для поздней преэклампсии (ОР 1,49, 95% ДИ 1,4–1,58) [13,22].

Полногеномные ассоциативные исследования (GWAS) выявили большое разнообразие генов-кандидатов материнской предрасположенности к данному осложнению беременности [22]. Самый известный биомаркер ПЭ – sFlt-1, который представляет собой растворимый антиангиогенный белок, связывающий проангиогенные белки PLGF и VEGF, что нарушает связывание этих белков с рецепторами и приводит к снижению их протективных эффектов на эндотелиоциты [23,24,25]. Такие гены, как NPPA, FES, FURIN, ACTN4, PREX1 кодируют белки, которые участвуют в регуляции проницаемости эндотелия и трансмиграции лейкоцитов [23,26,27].

Функционирование плаценты определяется активностью многих генов (в частности ген PGR участвует в процессах инвазии цитотрофобласта, ген ACTN4 регулирует пролиферацию и дифференцировку его клеток и др.). Выявлена четкая ассоциация протеинурии при ПЭ с мутацией в некоторых генах (PLCE1, TNS2, ACTN4 и TRPC6), играющих важную роль в поддержании здоровья подоцитов и фильтрационного барьера клубочков почек. [23,28,29]

Хотя обнаруженные гены безусловно имеют прямое отношение к главному симптомокомплексу ПЭ, тем не менее их нельзя назвать однозначными маркерами, учитывая их дополнительные плейотропные эффекты на кардиометаболическую, эндотелиальную и плацентарную функцию. В настоящее время продолжается

поиск специфических генов, отвечающих за развитие ПЭ [23].

1.3. Современные концепции развития преэклампсии

В настоящее время предложено большое количество разнообразных концепций возникновения и развития ПЭ (маточно-плацентарная ишемия, генетическая предрасположенность, материнская сердечно-сосудистая дезадаптация с вторичной плацентарной дисфункцией, нарушение иммунной толерантности матери к полуаллогенному плоду и плаценте и другие) [6,30].

Классической общепринятой концепцией по-прежнему является недостаточность инвазии цитотрофобласта с последующим отсутствием адекватного ремоделирования спиральных маточных артерий, которые сохраняют узкий диаметр за счет наличия мышечного слоя в стенке сосуда [6]. Считается, что сохранение миоцитов в стенке артерий делает их восприимчивыми к воздействию вазоконстрикторов. Кроме того, спиральные артерии с нарушением физиологической гестационной трансформации в большей мере подвержены развитию атероза (процесс, подобный атеросклеротическим поражениям, наблюдаемым в коронарных артериях), который также сужает просвет сосуда, еще больше ухудшает плацентарную перфузию и приводит к маточно-плацентарной ишемии.

Роль плацентарной ишемии в патогенезе ПЭ в настоящее время хорошо известна. Действительно, наиболее часто реализуемой животной моделью синдрома является хроническое снижение маточно-плацентарной перфузии у беременных крыс, вызванное наложением зажима на отдел аорты, расположенный ниже почечных артерий и выше отхождения маточных артерий на 14-й день беременности, что приводит к снижению плацентарного кровотока примерно на 40%, повышению АД на 20-25 мм рт. ст., повышению сосудистого сопротивления, снижению сердечного выброса и скорости клубочковой фильтрации, частому появлению протеинурии [6]. Эта модель резюмировала следующее: при ПЭ имеет

место увеличение циркулирующих концентраций sFlt-1 и эндоглина, а также значимое повышение уровней некоторых провоспалительных цитокинов (TNF- α и IL-6). Похожая модель ПЭ, разработанная на приматах: у беременных бабуинов путем селективной перевязки одной маточной артерии, происходит развитие гипертензии, протеинурии, а также повышенной продукции sFlt-1 [7]. Важным наблюдением было то, что введение коротких интерферирующих РНК, которые подавляют три изоформы мРНК sFlt-1, привело к торможению сверхэкспрессии sFlt-1 и снижало гипертензию и протеинурию [6]. Эти исследования предполагают, что растворимый фактор, ответственный за гипертензию, по крайней мере частично, это sFlt-1 [6].

По данным систематического обзора, проведенного Staff et al, поражение плаценты, ассоциированное с материнской сосудистой мальперфузией (инфаркт плаценты, нарушение физиологической трансформации спиральных артерий, острый атероз), в 4-7 раз чаще наблюдается у пациенток с ПЭ, чем у здоровых беременных [19,31]. Гистопатологические поражения плаценты, указывающие на ишемию, на фоне материнской сосудистой мальперфузией являются частыми и постоянными находками при ПЭ и эклампсии [31]. Отсутствие физиологической трансформации спиральных артерий и атероз являются типичными признаками ПЭ [19,32]. В связи с чем, при доплерометрии определяется повышение пульсационного индекса в маточной артерии у пациенток с ПЭ, причем уже за несколько недель до клинической манифестации [33,34,35]. Соотношение PlGF/sFlt-1, как суррогатного маркера материнской сосудистой мальперфузии, также повышается до появления симптомов ПЭ, при этом блокада мРНК sFlt-1 снижает гипертензию и протеинурию [36,37,38]. Частота описанных плацентарных поражений, ассоциированных с материнской сосудистой мальперфузией, значимо выше при ранней ПЭ, чем при поздней, что позволяет предположить разные молекулярные механизмы их развития [39,40,41].

Классическая концепция развития ПЭ описывает поверхностную плацентацию в качестве признака, характерного для ранней ПЭ с манифестацией

клинических симптомов до 34 недель беременности, в то время как поздняя ПЭ тесно сопряжена с сердечно-сосудистой дисфункцией матери, которая в свою очередь также приводит к плацентарным нарушениям. Имеются данные, неоднократно подтверждающие этот аспект в многочисленных исследованиях и научной литературе, в том числе экспертный обзор Джулии Мазини, где автор указывает на то, что ранняя ПЭ характеризуется низким сердечным выбросом, высоким сосудистым сопротивлением и гиповолемией, поздняя же преэклампсия связана с высоким сердечным выбросом, нормальным или низким сосудистым сопротивлением и перегрузкой внутрисосудистой жидкостью [28]. Вследствие этих выраженных гемодинамических изменений сердце во время беременности претерпевает глубокую перестройку. Имеются данные о прогрессирующем увеличении массы левого желудочка, наиболее заметном в третьем триместре (на 34% выше значений до беременности) [39]. Размер полости левого желудочка увеличивается пропорционально толщине стенки левого желудочка, что приводит к эксцентрической гипертрофии миокарда, которая отражает увеличение преднагрузки (из-за относительной перегрузки объемом крови матери) [41]. Как итог, несоответствие между материнской перфузией и фето-плацентарными потребностями приводит к стрессу синцитиотрофобласта и развитию ПЭ.

В качестве еще одной концепции развития ПЭ рассматривается нарушение иммунной толерантности матери к полуаллогенному плоду и плаценте. В пользу данной концепции свидетельствуют такие факты, как более частое развитие ПЭ у первобеременных, при смене полового партнера, при беременности, наступившей в результате донорства яйцеклеток, когда плацента и плод являются полностью аллогенными для матери [42].

Плацента и плод экспрессируют как отцовские, так и материнские антигены, при этом синцитиотрофобласт находится в прямом контакте с материнской кровью и децидуальной оболочкой, вследствие чего материнская иммунная система подвергается воздействию плодовых/отцовских антигенов [6]. Иммунная толерантность является необходимым условием для физиологического течения

беременности, а нарушение толерантности приводит к иммунному повреждению плаценты с развитием плаценто-ассоциированных осложнений (включая преэклампсию), либо к появлению признаков иммунного отторжения плода и плаценты [43,44]. Патоморфологические изменений плаценты при этом включают виллит, массивное перивиллезное отложение фибрина, хронический хориоамнионит, и хронический децидуит базальной пластинки плаценты. Массивное перивиллезное отложение фибрина наблюдалось у 20% пациенток с ПЭ [45,46,47].

Из наиболее актуальных концепций также рассматривается роль генетической несовместимости матери и плода. Сторонники концепции полагают, что самые ранние стадии развития плода и плаценты во многом зависят от правильного характера взаимодействиями между иммуноглобулин-подобными рецепторами клеток-киллеров (KIR) децидуальной оболочки матки, и молекулами HLA-C, которые находятся на поверхности клеток инвазивного вневорсинчатого трофобласта, в момент прямого контакта с материнскими иммунными клетками [48,49,50]. Также известно, что вневорсинчатый трофобласт не экспрессирует классические молекулы главного комплекса гистосовместимости, вместо этого на его поверхности обнаружены неклассические HLA-C, HLA-G и HLA-E [51]. Как показано, натуральные киллеры децидуальной оболочки матери экспрессируют KIR-рецепторы для HLA-C [52]. Взаимодействие между HLA-C и KIR - важное звено полноценной инвазии цитотрофобласта и адекватной гестационной перестройки спиральных артерий матки.

Молекулярный механизм, вовлеченный в этот процесс, включает хемокины (CXCL-10 и CXCL8, или IL-8), которые могут привлекать трофобласты, экспрессирующие свои рецепторы (CXCR3 и CXCR1), металлопротеиназы и факторы роста, включая ангиогенные факторы (PlGF, VEGF и т. д.) [49]. Физиологическое течение беременности чаще имеет место при материнском генотипе KIR-BB в сочетании с плодовым генотипом HLA-C1, тогда как преэклампсия встречается чаще при сочетании генотипа матери KIR-AA с

фетальным HLA-C2 (HLA-C2 против HLA-C1 у матерей KIR-AA: 45% против 20%; OR 2,38; 95% CI 1,45-3,90). Стафф с соавт. сообщили, что фетальный HLA-C2 в сочетании с материнским KIR-BB был связан с плацентарными поражениями острого атерозом. У пациенток с преэклампсией и острым атерозом эта специфическая генетическая комбинация наблюдалась в 60% случаев [53]. Механизмы, посредством которых нарушение иммунной толерантности матери и плода приводит к ПЭ, по-видимому, включают дефектную плацентацию с развитием маточно-плацентарной ишемии/гипоксии.

1.4. Современные методы диагностики и прогнозирования преэклампсии

Профилактика неблагоприятных материнских и перинатальных исходов при ПЭ, а также ее тяжелых осложнений основана на качественной ранней диагностике ПЭ и своевременном родоразрешении.

Современные методы диагностики включают целый спектр исследований, включающий в себя кроме стандартного комплекса ряд дополнительных исследований.

При диагностике ПЭ, в первую очередь требуется мониторинг АД (в том числе СМАД), а также динамическое наблюдение за состоянием мочевыделительной системы (величина протеинурии, уровень креатинина, соотношения альбумин/креатинин, СКФ), появлением симптомов церебральной, почечной, печеночной, легочной дисфункции/недостаточности, оценка системы гемостаза (количество тромбоцитов, уровень фибриногена, протромбиновое (тромбопластиновое) время, МНО, протромбиновый индекс и др). При появлении признаков гемолиза показано исследование морфологии эритроцитов (на наличие шизоцитов, сфероцитов). Мониторинг функций печени включает биохимический анализ крови (АЛТ, АСТ, глюкоза, мочевины, мочевины, мочевины, креатинин, альбумин, общий белок, общий билирубин, свободный (неконъюгированный) билирубин). Повышение концентрации билирубина, печеночных трансаминаз,

креатинина, снижении уровня мочевой кислоты являются признаками нарушения работы печени.

Мониторинг за состоянием плода осуществляется с помощью данных УЗИ (фетометрия, оценка состояния плаценты, о/вод), доплерометрии (маточно-плацентарный кровоток, плодово-плацентарный кровоток, кровоток в средней мозговой артерии плода), кардиотокографии плода.

При возникновении очаговой неврологической симптоматики, гемипареза у матери возможно применение КТ/МРТ головного мозга.

Что касается предикции ПЭ, существует ряд прогностических маркеров для выявления групп риска с высокой вероятностью манифестации ПЭ: растворимый эндоглин (sEng), растворимая FMS-подобная тирозинкиназа-1 (sFlt-1), соотношение sFlt-1/PlGF, плацентарный фактор роста (PlGF), сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), плацентарный белок 13 (PP13), ассоциированный с беременностью протеин А плазмы (PAPP-A) [3,54].

PlGF и VEGF представляют собой мощные ангиогенные факторы роста, экспрессируемые в децидуальных клетках и инвазивном цитотрофобласте, с максимальной концентрацией на ранних сроках гестации [3,54]. sFlt-1 по сути является их антагонистом: конкурентно связываясь со своим рецептором-мишенью Flt-1, препятствует влиянию ангиогенных факторов роста, блокируя их ангиогенный эффект. Сам по себе низкий уровень PlGF имеет чувствительность 76%, специфичность 69% и отрицательную прогностическую ценность (NPV) 53% для прогнозирования ПЭ на любом сроке гестации [55]. Его прогностическая ценность возрастет при сочетанной оценке с sFlt-1, который увеличивается, в то время как уровень PlGF снижается [55,56].

В проспективном исследовании, включающем 5601 беременных женщин, проведенном Herraiz et al., выявлено, что использование порогового значения отношения sFlt-1/PlGF > 95 -го перцентиля на 24–28 неделе беременности выявило 100% женщин с высоким риском ПЭ, у которых впоследствии развилась ранняя форма этого осложнения беременности [57,58,59].

PP13, также известный как галектин 13, является одним из 56 известных плацентарных белков [60]. Он важен для имплантации эмбриона, иммунной толерантности матери и плода, развития плаценты и ремоделирования сосудов [61,62]. Данный плацентарный белок продуцируется с раннего срока гестации, и его концентрация нарастает по мере прогрессирования беременности [63,64,65]. При этом наблюдается прямая корреляционная связь между низким уровнем PP13, обнаруживаемым уже в I триместре, и дальнейшем возникновением ПЭ, что указывает на возможную прогностическую функцию PP13 для скрининга преэклампсии у бессимптомных женщин [66,67].

Однако PAPPA не является специфическим для ПЭ белком, снижение его концентрации в I триместре прогнозирует риск развития ЗРП и рождение маловесного ребенка с чувствительностью 57%, специфичностью 83% [68].

Растворимый эндоглин (sEng) является собой еще одним антиангиогенным фактором, который имеет тенденцию к повышению при ПЭ за несколько недель до появления ее клинических симптомов, действующий наряду с sFlt-1 [69]. Эндоглин экспрессируется как на эндотелиальных клетках, так и на поверхности синцитиотрофобласта, индуцируется сигнальным путем TGF- β , активно участвует в процессах ангиогенеза и регуляции сосудистого тонуса [70]. Растворимый эндоглин препятствует связыванию TGF- β 1 с его рецепторами, что приводит к вазоконстрикции, возникновению гипертензии и повреждению сосудистой стенки с последующим увеличением ее проницаемости [71]. Повышенное содержание sEng выявляется уже в конце I триместра у пациенток с последующим развитием ПЭ, его концентрация в крови коррелирует со степенью тяжести ПЭ (чувствительность 73,7% и специфичность 76,0%) [69].

Последние два десятилетия во всех отраслях, в том числе в медицине, в нашей стране активно развиваются биоинформационные технологии. Важным направлением стала разработка программы пренатальной диагностики «Astraia» («Astraia software gmbH», Германия). Модель «Astraia» используется при проведении I пренатального скрининга для выявления беременных группы риска

рождения ребенка с хромосомными аномалиями, а также для расчета индивидуального риска преждевременных родов, задержки роста плода (ЗРП) и преэклампсии (ПЭ). Расчет индивидуального риска развития ПЭ производится на основе оценки материнских факторов риска, среднего артериального давления (системный гемодинамический маркер ПЭ), пульсационного индекса в маточной артерии (ПИ, локальный гемодинамический маркер ПЭ), уровней ассоциированного с беременностью протеина-А плазмы (РАРР-белок), а также sFLT-1, PLGF или их соотношения.

Как показано в исследованиях, значимо повышенные значения sFlt-1/PlGF имеют высокое отрицательное прогностическое значение (99,3%; 95% доверительный интервал 97,9–99,9) в отношении исключения развития ПЭ в течение ближайших 7 дней. Однако, определение данного соотношения имеет низкую положительную прогностическую ценность (36,7% с 95% доверительным интервалом 28,4–45,7) для предикции ПЭ в течение ближайшего месяца (с чувствительностью 66,2% (95% ДИ 54,0–77,0) и специфичностью 83,1% (95% ДИ 79,4–86,3) [72]. В связи с чем, при появлении какого-либо одного из симптомов ПЭ (отеки, артериальная гипертензия, протеинурия) требуются более точные диагностические инструменты.

Методы диагностики и прогнозирования прогрессивно совершенствуются, но, не смотря на предложенные многочисленные алгоритмы диагностики и предиктивные модели, высоко чувствительный и специфичный биомаркер до сих пор не найден. Кроме того, клинические симптомы не всегда соответствуют истинной степени тяжести ПЭ, что зачастую приводит к тяжелым осложнениям и неблагоприятным исходам, вплоть до материнских и перинатальных потерь.

Обобщая все вышесказанное, в решении проблемы ПЭ остается много нерешенных задач, требующих глобальных исследований с оценкой всего спектра патологических нарушений на молекулярном и клеточном уровне. Возможности современных научных подходов расширяют горизонты для изучения этиопатогенетических механизмов различных заболеваний и осложнений

беременности, в том числе ПЭ. Такую возможность дают современные омиксные технологии, которые позволяют изучить структуру генома (геномика) и пути реализации генетической информации (транскриптомика, протеомика, метаболомика), а в перспективе - выявить новые диагностические и прогностические маркеры предикции, а также таргетные терапевтические мишени.

1.5. Глобальный протеомный анализ плазмы крови и плаценты при преэклампсии

Протеомика представляет собой одно из наиболее быстро развивающихся областей постгеномных исследований молекулярной биологии, направленных на высокопроизводительный количественно-качественный анализ белков, выделяемых в отдельно исследуемой клетке, ткани или целом организме в определенную единицу времени. Кроме того, протеомика также затрагивает посттрансляционные модификации экспрессируемых белков [73,74,75]. В качестве биоматериала для исследования подходят различные биологические образцы: как отдельные составляющие крови (плазма или сыворотка), так и цельная кровь, а также слюна, спинномозговая жидкость, цервикальная слизь, моча, амниотическая жидкость, фрагменты тканей человека и т.д.).

Структурный состав протеома напрямую зависит от физиологического/патологического состояния клетки, из которой он выделен, следовательно, протеом крайне вариабелен. В то же время значение имеет и сам тип клетки, из которой выделяются белки [74]. Белковые молекулы также проходят посттрансляционную модификацию (гликозилирование, ацетилирование, фосфорилирование, метилирование), изменяя свою структуру, но в то же время они могут подвергаться и химическим повреждениям [73,75]. Самые значимые белки, рассматриваемые в качестве потенциальных биомаркеров и представляющие наиболее важное клиническое значение, в основном имеют низкую концентрации и «теряются» на фоне мажорных, более часто встречающихся, белков в биообразце.

С помощью технологии фракционирования, истощения и обогащения пептидов с распределением ранее гидролизованных белков в полиакриламидном геле согласно их молекулярной массе, суммарному заряду молекулы, параметрам гидрофобности, способности связываться с определёнными антителами происходит определение принадлежности малочисленных клинически значимых белков. Данные методы определения, именуемые как: жидкостная хроматография высокого давления и высокого разрешения, масс-спектрометрия, микросеквенирование белков, иммунохимическое тестирование с использованием моноклональных антител [73].

Изначально использовалась двуступенчатая идентификация белковых молекул, включающая использование двухмерного геля-электрофореза (2D-PAGE) для распределения молекул, с последующей идентификацией белка с помощью масс-спектрометрии MALDI-TOF. Таким образом, в одном биообразце было возможно одновременно определить порядка 10000 белков [74,76]. Позже применение методики 2D-PAGE заменили на более эффективную - жидкостную хроматографию в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения, что значительно сократило время проведения анализа (1-2 часа) и увеличило количество исследуемых образцов (до 16 образцов, содержащих тысячи белков в каждом) одномоментно. В то же время применяются экспериментальные методики в качестве более эффективной перспективной альтернативы дополнительного изучения свойств составляющих протеома (метилование, фосфорилирование или ацетилирование выделенных белков).

Учитывая большой прорыв в современном использовании количественной протеомики, ее применение стало неопределимым в полномасштабного анализе клеточных систем. Суть многих биологических процессов стала более ясна благодаря описанию особенностей функционирования биологических систем на уровне изменения белкового состава, особенно применение протеомики перспективно для диагностики раковых заболеваний, путем поиска белковых биомаркеров, а также изучается возможность определения степени

злокачественности опухоли [77]. Кроме того, при разработке лекарственных препаратов и новых вакцин протеомика также имеет важное значение [78,79].

Наибольшая ценность протеомики в диагностике, лечении и прогнозировании заключается в идентификации аномально экспрессируемых при различных патологиях белков, сравнительного анализа белкового компонента сложных биологических образцов. Последние 20 лет данная методика нашла свое применение в изучении белков, связанных с этиопатогенезом и прогнозированием, а также для идентификации прогностических и диагностических биомаркеров ПЭ [76]. Для биообразца подходит любая ткань или жидкость организма (плазма или сыворотка крови, моча, спинномозговая жидкость, плацента, околоплодные воды и децидуальная ткань).

Масштабный анализ свойств протеомного профиля биологических образцов беременных, используемый с на разных сроках беременности (преимущественно на ранних), играет ключевую роль в повышении эффективности скрининга ПЭ и дает возможность более подробно разобрать патофизиологические механизмы ее развития, обнаружить причинно-следственную связь разнообразных клинических проявлений, подобрать и обосновать индивидуальный подход к пациентке, чтобы улучшить исход как для матери, так и для новорожденного.

Учитывая тот факт, что этиология ПЭ до сих пор точно не установлена, достигнут мировой консенсус в отношении роли патологической плацентации [80,81,82]. Нарушение инвазии клеток трофобласта и адекватного ремоделирования маточно-плацентарных артерий, сниженное кровоснабжение плаценты, следовательно, ее дисфункция – лежат в основе патофизиологических изменений, предшествующих клинической манифестации ПЭ, в особенности ее ранней и тяжелой форм. Постоянное патологическое взаимодействие между тканями матери и плода является причиной возникновения разнообразных факторов как плацентарного, так и материнского происхождения.

Принимая во внимание механизм развития ПЭ, плацентарная ткань представляет наибольший интерес, как источник потенциальных биомаркеров, но

доступ к ткани или клеткам плаценты во время беременности сложен как с практической, так и с этической точки зрения.

В большинстве первых опубликованных о протеоме исследованиях, датированных 2007 годом, описан забор первичной ткани плаценты (в редких случаях - первичной культуры цитотрофобласта) исключительно после родоразрешения (естественным, либо оперативным путем), как правило, при преэклампсии родоразрешение беременных происходило на 2–4 недели раньше, чем у пациенток с физиологическим ее течением.

Учитывая всю информацию, полученную из изученных нами источников, в основном описано порядка 1200 дифференциально экспрессируемых белков в плаценте. Но только 154 белка описаны, как минимум, в двух публикациях, 46 белков - в трех, и, наконец, только 15 белков определены как потенциально связанные с преэклампсией в 4 и более публикациях за последние 5 лет. Такая вариабельность данных скорее всего связана с применением разных методик сбора и обработки образцов, протеомных подходов, возрастными, генотипическими и фенотипическими различиями пациентов, принимающих участие в исследованиях. (таблица 4).

Данные метаанализа, опубликованного в 2020 г в журнале «Placenta», представили 42 потенциальных белка-биомаркерами преэклампсии [83]. Мета-анализ, опубликованный в 2019 г в журнале «PLoS One», выявил лишь 9 белков, дифференциально экспрессируемых при ПЭ, потенциально связанных в патофизиологии преэклампсии [84].

Таблица 4 – Результаты изучения протеомного профиля плацентарных белков при преэклампсии и у здоровых беременных

Белок	Гиперэкспрессия при ПЭ по сравнению с контрольными образцами	Снижение экспрессии при ПЭ по сравнению с контрольными образцами
CLIC3 (Chloride intracellular channel protein 3)	[85]	
PLG (Plasminogen)	[86]	[85]

Продолжение таблицы 4

HBZ (Hemoglobin subunit zeta)	[85,87]	
FGB (Fibrinogen beta chain)		[86,87]
FGG (Fibrinogen gamma chain)		[85,86,87]
ALB (Albumin)		[85,86]
CAT (Catalase)	[86,87,88]	[85]
CYP11A1 (Cholesterol side-chain cleavage enzyme, mitochondrial)	[85]	[86]
ANXA6 (Annexin A6)	[86]	
ANXA4 (Annexin A4)	[89]	[86]
HSPA5 (Endoplasmic reticulum chaperone BiP)	[86]	[88]
FLT1 (Vascular endothelial growth factor receptor 1)	[85,86,89]	
ATIC (Bifunctional purine biosynthesis protein ATIC)	[85,88]	
PRDX2 (Peroxiredoxin-2)	[86,87,88]	
PAPPA2 (Pappalysin-2)	[85,89]	

Последние 20 лет взгляд мирового медико-научного сообщества направлен на количественный протеомный анализ образцов крови (плазмы или сыворотки) в качестве инструмента обнаружения биомаркеров различных заболеваний. Ведь кровь является крайне легко и быстро доступным биоматериалом, который содержит огромный комплекс белковых молекул, синтезирующихся почти во всех тканях, в том числе в децидуальной и плацентарной [90]. Но кроме явных преимуществ также есть и существенные недостатки: высокая динамическая вариабельность протеома сыворотки/плазмы и большое количество основных, так называемых, «мажорных» белков (альбумин, антитела, аполипопротеины, белки комплемента и др.), составляющих до 99% всех белков крови, затрудняющих определение и оценку малочисленных («минорных») белков [91]. В связи с этим, применяются специальные методики обогащения «минорных белков», специфически секретируемые плацентой.

В опубликованных статьях по результатам исследований в целом описано порядка тысячи дифференциально экспрессируемых статистически значимых

патологических белков крови. Однако в общей сложности, изменения только 185 белков указываются как значимые как минимум в двух работах, 97 белков - в трех, и только 60 белков были охарактеризованы в качестве потенциально связанных с ПЭ в четырех или более исследованиях [76]. К примеру, была выявлена избыточная экспрессия эндоглина, растворимая форма которого (sEndoglin) рассматривалась, как один из первых биомаркеров, связанных с преэклампсией. И наоборот, учитывая данные результаты исследований, уровни плацентарного фактора роста PIGF в плазме крови снижаются, так как он блокируется белком sFlt1.

Количественные значения множества белков имеют крайне варибельный диапазон, и только около 28 из них имели общие тенденции в разных исследованиях (таблица 5), что дает возможность расширить наши знания о молекулярных механизмах развития ПЭ.

Таблица 5 – Дифференциально экспрессирующиеся белки протеома плазмы/сыворотки при ПЭ по сравнению со здоровыми беременными

Белок	Гиперэкспрессия при ПЭ по сравнению с контрольными образцами	Снижение экспрессии при ПЭ по сравнению с контрольными образцами
F9 (Coagulation factor IX)		[92]
CFB (Complement factor B)		[92,93,94]
SERPINA1 (Alpha-1-antitrypsin)	[93]	
A ₂ M (Alpha-2-macroglobulin)		[95]
APOE (Apolipoprotein E)		[95]
CRP (C-reactive protein)	[95]	[96]
C1QB (Complement C1q subcomponent subunit B)	[95]	[94]
FN1 (Fibronectin)	[92,97]	
AMBP (Protein AMBP)	[95]	
TTR (Transthyretin)		[97]
TF (Serotransferrin)	[93]	
APOB (Apolipoprotein B-100)		[97]

Продолжение таблицы 5

HRG (Histidine-rich glycoprotein)		[94]
SERPING1 (Plasma protease C1 inhibitor)		[92]
ITGA2B (Integrin alpha-IIb)	[92,98]	
SERPINF2 (Alpha-2-antiplasmin)	[99]	[92,95]
MMP7 (Matrilysin)	[92,98]	
C4B (Complement C4-B)		[97,98]
CLU (Clusterin)	[95,97]	[95]
PSG1 (Pregnancy-specific B-1 glycoprotein 1)		[95]
ENG (Endoglin)	[96,100]	
GPX3 (Glutathione peroxidase 3)	[101]	[95]
SERPINF1 (Pigment epithelium-derived factor)	[94,97]	[95]
PGF (Placenta growth factor)		[92,98]
ITIH4 (Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4)	[95]	[94]
FCN2 (Ficolin-2)		[92,96]
ECM1 (Extracellular matrix protein 1)	[102]	[95]

В общем, исследования протеома крови является глобальным аналитическим инструментом персонафицированной тактики ведения, дающей возможность прогнозирования, обеспечения своевременной диагностики, наблюдения за динамикой развития патологического процесса, чтобы вовремя решить вопрос о необходимости родоразрешения.

В мире существует небольшое количество публикаций, посвященных исследованию протеомного профиля мочи при преэклампсии. Моча также может содержать белки плазмы крови, проходящие через клубочковый фильтр почек, как правило, чаще при нарушении почечной фильтрационной способности. При физиологическом состоянии около 30% белков мочи – это циркулирующие в крови

пептиды и белки с низкой молекулярной массой, секретируемые с мочой; 70% - белки почечного происхождения и мочевыводящих путей [103].

Протеом мочи достаточно прост в сравнении с протеомом крови, что также имеет как преимуществ, так и недостатки. Одним из классических симптомов преэклампсии приходится протеинурия, которая может достигать до 300 мг/сут и более из-за повреждения почечного клубочкового аппарата (гломерулярно-капиллярный эндотелиоз).

В последнем систематическом обзоре выявлено 16 статистически значимо отличающихся при ПЭ белков мочи, по результатам метаанализа – всего 4 белка [76,83]. Изменения, которые были выявлены в большинстве исследований, касаются высоких уровней белков SERPINA1 (Alpha-1-antitrypsin), альбумин и трансферрин (Serotransferrin).

Еще меньше статье по результатам протеомного анализа других образцов и тканей (спинномозговая жидкость [104], околоплодные воды [105] и децидуальная ткань [106]). Протеомный профиль спинномозговой жидкости крайне перспективен для обнаружения и идентификации потенциальных биомаркеров неврологических нарушений, сопровождающих наиболее тяжелые формы ПЭ. Касается амниотической жидкости, представляющей собой связующую среду между плодом и материнскими тканями, ее протеом - это функциональная характеристика фето-плацентарного комплекса, а также децидуальная оболочка, играющая значимую роль в течении беременности, образования уникального микроокружения плода, в особенности - иммунного). Все вышеперечисленные ткани также обладают потенциальными биомаркерами преэклампсии, такими как плазминоген, ингибитор активатора плазминогена, аннексин V, фибриноген, трансферрин и др.

При этом существенную сложность представляет истолкование накопленных массивов данных, установление связей между этими процессами и клинической картиной, изучение корреляций между различным протеомным профилем всех используемых тканей для возможности описания общей картины физиологии или патологии на уровне организма.

Ввиду комплексного поражения множества органов и систем при преэклампсии, использование единичного биомаркера вряд ли обеспечит достаточную точность в прогнозировании и раннем выявлении данного патологического состояния. В дополнение к этому, современный отбор биомаркеров опирается на классическую научную парадигму, базирующуюся на гипотезах и уже описанных патофизиологических изменениях при ПЭ. Следовательно, протеомные технологии выступают перспективной альтернативой традиционным методам, ограниченным рамками существующих гипотез. Данный подход позволяет масштабно анализировать изменения экспрессии множества белков в различных тканях и биосредах. Такой объективный подход не ограничен текущими представлениями о ПЭ и позволяет расширить знания о её этиопатогенезе на молекулярном уровне. Обнаружение новых биомаркеров с помощью этого метода открывает путь к созданию высокоточных диагностических систем и индивидуальных программ лечения и профилактики.

Учитывая этиологическую многогранность преэклампсии, вариативность её клинических форм и факторов риска, а также сложность прогнозирования быстро прогрессирующего течения и неблагоприятных исходов, ключевым методом исследования молекулярного патогенеза заболевания становится полномасштабный анализ протеома плазмы крови и плацентарной ткани

ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОК. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн исследования. Критерии включения и исключения из исследования

Исследование проводилось в период с 2021-2023 гг. на базе кафедры акушерства и гинекологии №1 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница им. С. С. Юдина Департамента здравоохранения города Москвы» (филиал родильный дом), Государственного научного центра ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, группа масс-спектрометрии.

Дизайн исследования состоял из трех этапов:

I этап - ретроспективный анализ клинико-anamнестических факторов, особенностей течения беременности и родов, перинатальных и неонатальных исходов у 200 пациенток: 100 относительно здоровых женщин с неосложненным течением беременности и родов, которые составили контрольную группу; 100 женщин с ПЭ, вошедшие в основную группу.

II этап – сравнительное глобальное исследование протеомного профиля плазмы крови у здоровых пациенток с неосложненным течением беременности (n=40, контрольная группа) и женщин с диагностированной ПЭ (n=40, основная группа), из них 20 – с ранней ПЭ, 20 – с поздней ПЭ.

III этап – сравнительное глобальное исследование протеомного профиля плаценты. Для этого этапа отобрано 20 пациенток контрольной группы и 20 пациенток основной группы, включенных во II этап исследования, которые были родоразрешены в сопоставимые сроки беременности.

Критерии включения пациенток в основную группу проспективного этапа:

1. Наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании;

2. Репродуктивный возраст женщины (18-49 лет).

2. Диагностированная ПЭ различной степени тяжести.

Критерии невключения пациенток в основную группу:

1. Возраст пациенток младше 18 и старше 50.

2. Отсутствие беременности.

3. Выявление инфекций и воспалительных процессов любой локализации.

Критерии включения пациенток в контрольную группу:

1. Наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании;

2. Репродуктивный возраст женщины (18-49 лет).

3. Отсутствие экстрагенитальных и гинекологических заболеваний.

4. Неосложненный репродуктивный анамнез.

5. Физиологическое течение беременности и родов

Критерии невключения пациенток в контрольную группу:

1. Возраст пациенток младше 18 и старше 50.

2. Выявление инфекций и воспалительных процессов любой локализации.

3. Осложненное течение настоящей беременности (ПЭ, ЗРП, внутриутробная инфекция, преждевременные роды и др.).

Критерии исключения пациентов из исследования:

1. Отказ пациентки или невозможность ее дальнейшего участия в исследовании;

2. Выявление пороков развития, хромосомных и генетических аномалий у плода.

Диагноз «Преэклампсия» устанавливался согласно клиническим рекомендациям, утвержденным МЗ РФ «Преэклампсия. Эклампсия. Отеки, протеинурия и гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде», 2024 год [<http://minzdravrm.ru/wp->

content/uploads/2024/09/Preeklampsiya_Eklampsiya_Oteki-ptoteinuriya_i_gipertenx_rasstroistva_vo_vremya_berem_v_rodakh_i_poslerodovom_periode.pdf].

2.2. Общеклинические методы исследования

Всем женщинам, включенным в исследование, проведено полное клинко-лабораторное и инструментальное обследование согласно Приказу Минздрава России от 20.10.2020 N1130н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология».

2.2.1. Сбор анамнеза и объективный осмотр

– Сбор жалоб и общесоматического анамнеза (перенесенные заболевания, онкопатология, травмы и оперативные вмешательства, гемотрансфузии, аллергоанамнез, семейный анамнез, врожденные пороки развития, прием лекарственных препаратов);

– Сбор акушерско-гинекологического анамнеза (возраст наступления менархе, гинекологические заболевания, оперативные вмешательства на органах малого таза, врожденные аномалии органов малого таза, наличие беременностей в анамнезе: их течение и исход, наличие преэклампсии, ЗРП, плацентарной недостаточности (ПН) в предыдущих беременностях, течение настоящей беременности по триместрам, результаты скрининговых исследований, расчет риска преэклампсии, ЗРП, сроки манифестации симптомов преэклампсии: цифры АД, диагностика протеинурии и другие клинические признаки);

– Объективный статус пациенток оценивался в соответствии с общепринятым протоколом по системам, включая дыхательную, сердечно-сосудистую, пищеварительную, мочевыделительную и нервную;

– Специальные методы акушерского исследования (измерение окружности живота и высоты стояния дна матки, наружная и внутренняя

пельвиометрия, пальпация живота/беременной матки по Леопольду Левицкому, аускультация сердца плода, осмотр наружных половых органов, осмотр шейки матки при помощи гинекологических зеркал, вагинальное исследование во время беременности и в родах и т.д.);

– Оценка состояния новорожденного по шкале Апгар на 1 и 5 минуте рождения, измерение массо-ростовых показателей.

– Для ретроспективной группы проведена работа с архивной документацией (история родов, история развития новорожденного, обменная карта).

2.2.2. Лабораторные и инструментальные методы

– Клинический анализ крови (гемоглобин, гематокрит, количество эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов и др.);

– Биохимический анализ крови (АЛТ, АСТ, глюкоза, общий белок, общий билирубин, мочеви́на, креатинин, ЩФ, ЛДГ);

– Общий анализ мочи с оценкой протеинурии;

– Протеинурия в суточной моче;

– Проба Реберга, расчет скорости клубочковой фильтрации/клиренса креатинина;

– Коагулограмма (АЧТВ, протромбиновое время, МНО, фибриноген, D-димер);

– Ультразвуковое исследование с доплерометрией кровотока в сосудах фето-плацентарного комплекса;

– Кардиотокография с 33 недели беременности (проводилась оценка параметров частоты сердечных сокращений плода, базального ритма, вариабельность базального ритма, наличие и количество акцелераций и децелераций с последующей балльной оценкой состояния плода).

2.3. Специальные методы исследования

2.3.1. Сравнительная оценка протеомного профиля плазмы крови у женщин с физиологической беременностью и с преэклампсией

Образцы венозной крови (в объеме 3–4 мл) для протеомного анализа собирали в вакуумные пробирки с ЭДТА у беременных во время госпитализации в родильный дом до начала терапии. Полученную кровь центрифугировали в течение 10–12 минут (скорость вращения составила 3000 об/мин), далее плазму помещали в 2 пробирки типа Эппендорф с соответствующей маркировкой и замораживали при -20°C , следующим этапом пробы транспортировали в лабораторию масс-спектрометрии ФГБУН ИБХ им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН для следующего этапа анализа.

Хромато-масс-спектрометрический анализ

Для хроматографического анализа образцы вводили в лабораторную предколонку (50 x 0,1 мм), заполненную сорбентом Inertsil ODS3 3 μm (GL Sciences), при скорости потока 4 мкл/мин в растворе (2% ацетонитрила, 98% H_2O , 0,1% ТФУ). Разделение пептидов осуществлялось при комнатной температуре на кварцевой колонке (300 x 0,1 мм) с эмиттером, изготовленной с помощью P2000 Laser Puller (Sutter, США) и упакованной сорбентом Reprosil PUR C18AQ 1.9 (Dr. Maisch). Исследование проводили методом ОФ-ВЭЖХ на системе Ultimate 3000 Nano LC, сопряженной с масс-спектрометром Q Exactive Plus Orbitrap (Thermo Fisher Scientific) через наноэлектроспрейный источник. Градиентное элюирование пептидов выполнялось в системе растворителей А (0,1% муравьиная кислота в воде) и Б (80% ацетонитрила, 0,1% муравьиная кислота в воде) при скорости 500 нл/мин по схеме: 3–35% Б (105 мин), 35–55% Б (18 мин), 55–99% Б (0,1 мин), изократика 99% Б (10 мин) и возвращение к 3% Б (0,1 мин). По завершении каждого анализа проводилось десятиминутное уравнивание колонки при содержании 3% раствора Б. Масс-спектрометрический анализ проводили в режиме DDA

(TopN=10). Параметры MS1-сканирования включали разрешение 70 000 в диапазоне m/z 200–1600 при максимальном времени инъекции ионов 35 мс и целевом значении AGC 3×10^6 . Для MS2-сканирования использовали разрешение 17 500, фрагментацию HCD (энергия 30%), время инъекции до 80 мс и уровень AGC 1×10^5 .

С целью исследования минорных белков плазмы проводилось их предварительное обогащение с помощью коммерческого набора Proteominer small capacity kit (Bio-Rad Laboratories, США). Все манипуляции по выделению фракций осуществлялись в строгом соответствии с протоколом производителя.

2.3.2. Сравнительный анализ протеомного профиля плаценты у женщин с физиологической беременностью и преэклампсией

Забор ткани плаценты проводился в первые минуты после родоразрешения и рождения последа. Из каждой плаценты брали несколько биообразцов: кусочки ткани размером около 10x10 мм вырезали скальпелем из разных участков (с обязательным включением центральных и периферических участков). Полученные гистологические образцы отмывали в 0,9% растворе натрия хлорида, высушивали стерильными марлевыми салфетками и помещали в 2 пробирки типа Эппендорф. Пробирки маркировали и замораживали при температуре -20°C . Далее образцы транспортировались в лабораторию масс-спектрометрии ФГБУН ИБХ им. М.М. Шемакина и Ю.А. Овчинникова РАН.

Хромато-масс-спектрометрический анализ

Все образцы проходили обработку жидким азотом с последующей гомогенизацией (измельчением). Подготовленные образцы вводили в лабораторную предколонку (50 x 0,1 мм), заполненную сорбентом Inertsil ODS3 3 mm (GL Sciences). Загрузку осуществляли в растворе (2% ацетонитрила, 98% H_2O , 0,1% ТФУ) при скорости 4 мкл/мин. Хроматографическое разделение проводили при комнатной температуре на кварцевой колонке (300 x 0,1 мм), изготовленной с помощью P2000 Laser Puller (Sutter, США) и упакованной сорбентом Reprosil PUR

C18AQ 1.9 (Dr. Maisch). Анализ методом обращенно-фазной хроматографии выполняли на системе Ultimate 3000 Nano LC, сопряженной с масс-спектрометром Q Exactive Plus Orbitrap через наноэлектроспрейный интерфейс (все оборудование — Thermo Fisher Scientific). Хроматографическое разделение пептидных фракций осуществлялось с использованием системы элюентов А и Б. Подвижная фаза А состояла из 99,9% воды и 0,1% муравьиной кислоты; в состав подвижной фазы Б входили 80% ацетонитрила, 19,9% воды и 0,1% муравьиной кислоты. Элюирование пептидных фракций с колонки осуществлялось линейным градиентом: 3–35% Б за 105 мин; 35–55% Б за 18 мин, 55–99% Б за 0,1 мин, 99% Б – в течение 10 мин, 99–3% Б за 0,1 мин при скорости потока 500 нл/мин. По завершении каждого аналитического цикла осуществлялось десятиминутное уравнивание колонки при 3%-й концентрации подвижной фазы Б. Масс-спектрометрический анализ проводили в режиме DDA (TopN=10) со следующими настройками прибора: MS1 сканирование: разрешение 70000, диапазон сканирования: 200–1600 m/z, максимальное время инъекции ионов – 35 мсек, уровень AGC – 3×10^6 , MS2 сканирование: разрешение 17500, HCD фрагментация с энергией 30%, максимальное время инъекции ионов – 80 мсек, уровень AGC – 1×10^5 .

2.4. Статистические методы

Статистическая обработка полученных данных выполнялась с использованием программных пакетов SPSS (версия 10.0.7) и Statistica (версия 10.0, StatSoft Inc., США). Соответствие количественных данных нормальному распределению оценивали при помощи критерия Шапиро-Уилка. При подтверждении нормальности распределения количественные данные представляли в виде среднего арифметического (M) со стандартным отклонением (SD) и указанием границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае распределения, отличного от нормального, количественные данные представляли в виде медианы (Me) и межквартильного интервала — Me (Q1; Q3). Описание

качественных признаков проводилось с использованием абсолютных (n) и относительных (%) частот.

Межгрупповые различия при нормальном распределении числовых признаков определяли методом ANOVA с последующим попарным сравнением групп по t-критерию Стьюдента для независимых выборок с поправкой Бонферрони. В случаях отклонения от нормального распределения использовали непараметрический анализ Краскела-Уоллиса и попарный U-критерий Манна-Уитни с аналогичной поправкой. Статистически значимыми считались результаты при уровне менее 0,05.

На основании анализа таблиц сопряженности (с использованием χ^2 Пирсона для многопольных таблиц или точного критерия Фишера для четырехпольных таблиц) проводился расчет отношения шансов (ОШ) возникновения ПЭ при воздействии различных факторов риска. При оценке 95% доверительного интервала (ДИ) значение, равное единице, интерпретировалось как отсутствие статистически значимого влияния фактора на развитие патологии.

Обработку и интерпретацию полученных хромато-масс-спектрометрических данных осуществляли при помощи специализированного программного обеспечения MaxQuant версии 2.0.3.1 (MQ) и Perseus версии 2.0.3.1.

Сопоставление полученных тандемных масс-спектров с базой данных аминокислотных последовательностей человека осуществлялось с использованием ресурса Swiss-Prot (www.uniprot.org). Статистическую значимость межгрупповых различий в уровне экспрессии идентифицированных белков оценивали с помощью парного t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми признавались результаты, для которых уровень ложноположительных идентификаций (FDR), скорректированный по методу Бенджамини-Хохберга, составлял менее 0,05. Дифференциальную экспрессию белков между основной группой (с преэклампсией) и контрольной выборкой констатировали при достижении уровня статистической значимости $p < 0,05$ (t-тест). Для распределения белков по функциональным категориям на основании их участия в молекулярных функциях

и биологических процессах проводился иерархический кластерный анализ с применением онлайн-ресурса DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>). Пороговое значение статистической значимости при проверке гипотез в рамках данного исследования было установлено на уровне 0,05.

Для определения комбинации наиболее важных показателей, способных прогнозировать развитие ПЭ с наибольшей вероятностью, был использован бинарный логистический регрессионный анализ. Методом перебора возможных комбинаций показателей белков были отобраны модели с максимальной чувствительностью и специфичностью, которые определялись кросс-проверкой на каждом этапе. Для каждой пациентки рассчитывалась вероятность развития ПЭ с помощью полученных коэффициентов выбранных моделей. Бинарная модель логистической регрессии в отношении предикции ПЭ представлена ниже:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), z = \text{Const} + k_1 \times \text{Protein1} + k_2 \times \text{Protein2};$$

где Protein1, Protein2 – уровни экспрессии белков,

k_1, k_2 – рассчитанные коэффициенты,

P – вероятность развития ПЭ (при $P=0-0,5$ – вероятность развития ПЭ низкая, при $p=0,5-1,0$ – вероятность развития ПЭ высокая).

Для подтверждения предиктивной способности моделей был проведен ROC-анализ.

Результаты масс-спектрометрического анализа протеома были депонированы в консорциум ProteomeXchange через репозиторий PRIDE. Доступ к массивам данных осуществляется по идентификаторам PXD009325 и 10.6019/PXD036175.

ГЛАВА 3. РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ, ОСОБЕННОСТЕЙ РАЗВИТИЯ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ПРЕЭКЛАМПСИИ

3.1. Характеристика соматического и акушерско-гинекологического анамнеза пациенток

Ретроспективный этап исследования включал полный анализ клинико-анамнестических факторов, особенностей течения беременности, материнские и перинатальные исходы, а также особенности течения неонатального периода рожденных детей на основании изучения медицинской документации 200 женщин, которые были разделены на 3 группы: в I группу включены относительно здоровые женщины с неосложненным течением беременности и родов (контрольная группа, n=100), во II группу вошли беременные с ранней ПЭ (II основная группа, n=35), в III – беременные с поздней ПЭ (III основная группа, n=65).

Всем беременным проведено полное обследование согласно «Порядку оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» (приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 20 октября 2020 г. N 1130н).

Возраст беременных женщин, вошедших в ретроспективный анализ, варьировал в интервале от 18 до 49 лет, средний возраст пациенток в I группе составил $28,63 \pm 5,88$ лет, во II группе – $33,2 \pm 6,39$ года и в III группе – $30,29 \pm 5,42$ лет. По результатам сравнительного анализа возраст женщин II группы был значимо выше по сравнению с группами I ($p < 0,001$) и III ($p = 0,02$). Данные о распределении наблюдаемых пациенток по возрасту представлены на рисунке 1.

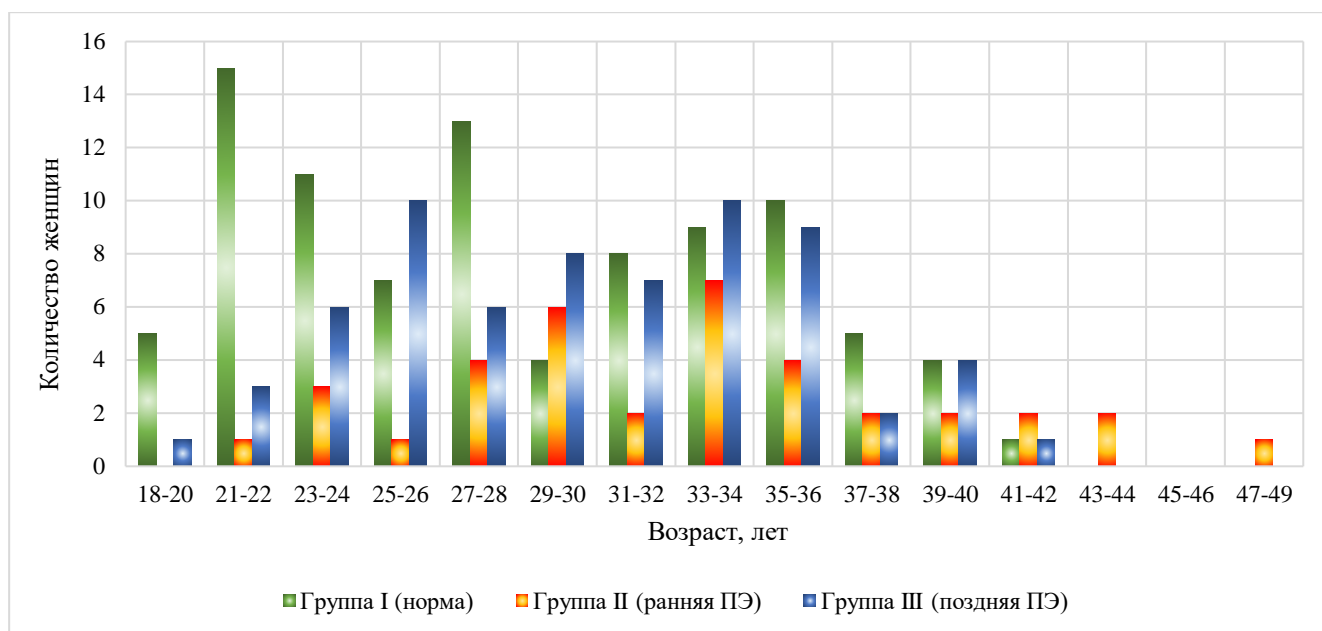


Рисунок 1 – Распределение пациенток анализируемых групп по возрасту

Далее были проанализированы антропометрические показатели (рост, вес до беременности, ИМТ до беременности) женщин в исследуемых группах (таблица 6). ИМТ во II (ранняя ПЭ) и III (поздняя ПЭ) группах был значимо выше в сравнении с группой I (норма), ($p < 0,001$ и $0,002$ соответственно): средний вес составлял 71 (57; 89) кг в группе II и 66 (55; 78) кг в группе III.

Таблица 6 – Антропометрические данные беременных анализируемых групп ретроспективного этапа исследования

	Группа I (n=100) Me (Q ₁ ; Q ₃)	Группа II (n=35) Me (Q ₁ ; Q ₃)	Группа III (n=65) Me (Q ₁ ; Q ₃)	p*
Рост, см	165 (161; 168)	165 (163; 170)	165 (160; 170)	$p_{I-II} = 0,232$ $p_{I-III} = 0,821$ $p_{II-III} = 0,409$
Вес, кг	59 (54; 67)	71 (57; 89)	66 (55; 78)	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} = 0,003$ $p_{II-III} = 0,058$
Индекс массы тела, кг/м ²	22,02 (20,08; 24,99)	26,40 (21,13; 31,17)	24,01 (20,55; 27,67)	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} = 0,002$ $p_{II-III} = 0,075$
Примечание: p_{I-II} - значимость различий между I и II группами; p_{I-III} - значимость различий между I и III группами, p_{II-III} - значимость различий между II и III группами				

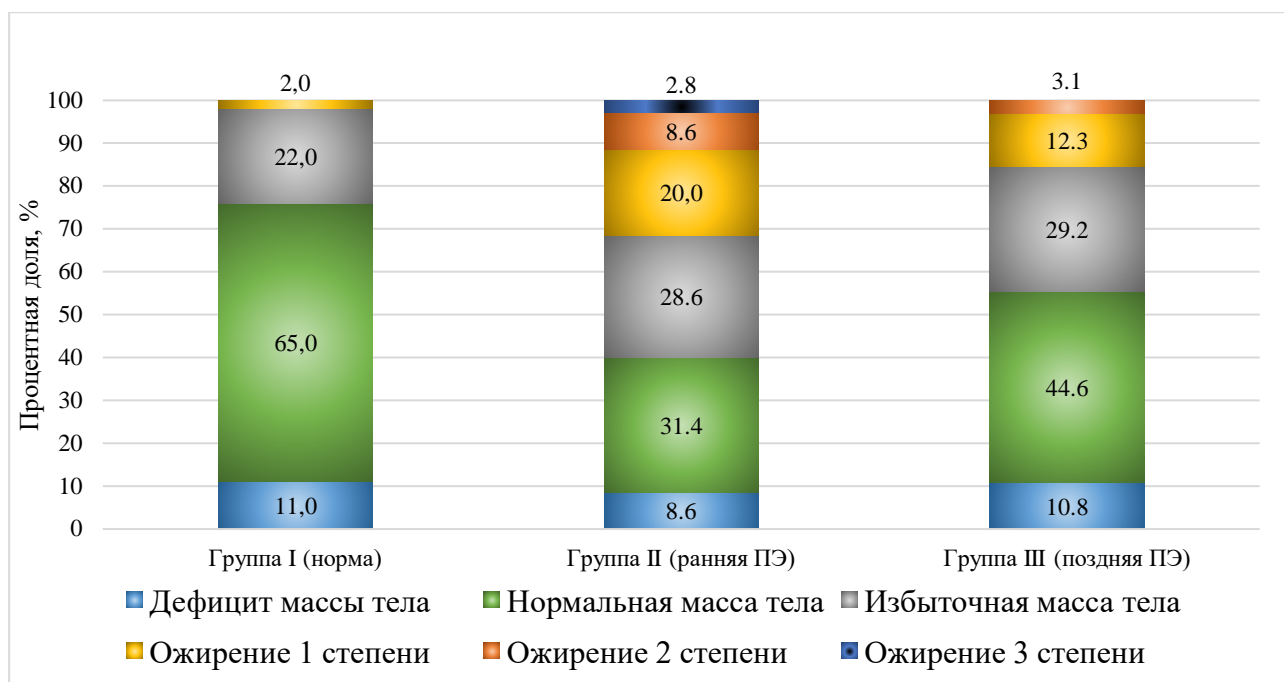


Рисунок 2 – Соотношение пациенток в зависимости от индекса массы тела в анализируемых группах ретроспективного этапа

Таблица 7 – Распределение беременных женщин, составляющих группу ретроспективного анализа, в зависимости от ИМТ

	Группа I (n=100), абс(%)	Группа II (n=35), абс(%)	Группа III (n=65), абс(%)	p*
Дефицит массы тела	11 (11,0)	3 (8,6)	7 (10,8)	$p_{I-II} = 0,741$ $p_{I-III} = 0,841$ $p_{II-III} = 0,865$
Нормальная масса тела	65 (65,0)	11 (31,4)	29 (44,6)	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} = 0,009$ $p_{II-III} = 0,162$
Избыточная масса тела	22 (22,0)	10 (28,6)	19 (29,2)	$p_{I-II} = 0,407$ $p_{I-III} = 0,317$ $p_{II-III} = 0,947$
Ожирение	2 (2,0)	11 (31,4)	10 (15,4)	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} = 0,001$ $p_{II-III} = 0,046$

Примечание: p_{I-II} - значимость различий между I и II группами; p_{I-III} - значимость различий между I и III группами, p_{II-III} - значимость различий между II и III группами

В группе I (норма) 65/100 (65%) беременных имели нормальную массу тела до беременности по сравнению с группами II (ранняя ПЭ) – 11/35 (31,4%) и III (поздняя ПЭ) – 29/65 (44,6%), $p < 0,001$. При этом ожирение значимо чаще

наблюдалось в группе II – 11/3 (31,4%) , а также группе III – 10/65 (15,4%) по сравнению с группой I – 2/100 (2%), $p < 0,005$ (таблица 2). Данные о величине ИМТ у женщин анализируемых групп наглядно представлены на рисунках 2, 3.

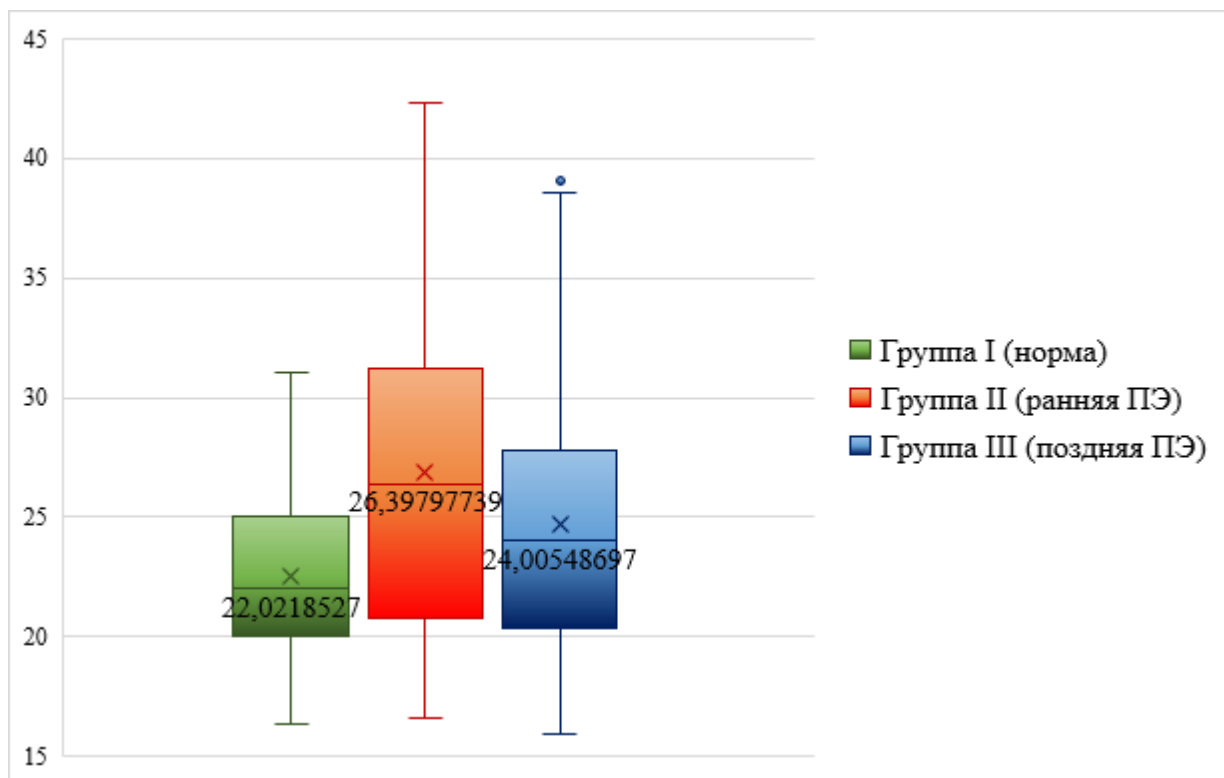


Рисунок 3 – Индекс массы тела ($\text{кг}/\text{м}^2$) пациенток анализируемых групп ретроспективного этапа

Среди экстрагенитальных заболеваний у пациенток основных групп значимо чаще по сравнению с контрольной группой отмечены заболевания сердечно-сосудистой системы (ССС), среди них - хроническая артериальная гипертензия (ХАГ), которая регистрировалась у 9/35 (25,7%) в группе II и у 7/65 (10,8%) – в группе III. Варикозная болезнь вен нижних конечностей значимо чаще встречалась во II группе – 7/35 (20%) по сравнению с I ($p = 0,021$) и III группами ($p = 0,004$), заболевания свертывающей системы крови, представленные наследственной тромбофилией значимо чаще отмечены во II – 2/35 (5,7%) и III – 5/65 (7,7%) группах по сравнению с группой I – 0/100 (0%), заболевания мочевыделительной системы: в группе II – 13/35 (37,1%) и III – 11/65 (16,9%) в сравнении с группой I - 0/100 (0%),

заболевания пищеварительной системы значимо чаще имели место в группе III – 12/65 (18,5%) по сравнению с группой II ($p = 0,046$) и группой I ($p = 0,003$).

В то же время, отмечено развитие ПЭ у практически здоровых женщин без тяжелых экстрагенитальных заболеваний – у 2 (5,7%) во II группе и у 12 (18,5%) в III группе. Все данные представлены в таблице 8 и на рисунке 4.

Таблица 8 – Экстрагенитальные заболевания у пациенток ретроспективного этапа исследования

Экстрагенитальные заболевания	Группа I (n=100), абс(%)	Группа II (n=35), абс(%)	Группа III (n=65), абс(%)	p*
Детские инфекции (краснуха, ветряная оспа)	53 (53,0)	12 (34,4)	35 (53,8)	$p_{I-II} = 0,057$ $p_{I-III} = 0,897$ $p_{II-III} = 0,046$
Болезни органов зрения (миопия)	9 (9,0)	3 (8,6)	16 (24,6)	$p_{I-II} = 0,944$ $p_{I-III} < 0,001$ $p_{II-III} = 0,051$
ЛОР-заболевания (хронический ринит, хронический тонзиллит, хронический фарингит)	0 (0,0)	4 (11,4)	11 (16,9)	$p_{I-II} = 0,772$ $p_{I-III} = 0,503$ $p_{II-III} = 0,390$
Болезни дыхательной системы (хронический бронхит, пневмония в анамнезе)	0 (0,0)	7 (20,0)	5 (7,7)	$p_{I-II} = 0,012$ $p_{I-III} = 0,453$ $p_{II-III} = 0,057$
Заболевания эндокринной системы (гипотиреоз, тиреотоксикоз, СД)	0 (0,0)	3 (8,6)	5 (7,7)	$p_{I-II} = 0,317$ $p_{I-III} = 0,271$ $p_{II-III} = 0,912$
Болезни нервной системы (ЧМТ в анамнезе, психические расстройства)	0 (0,0)	2 (5,7)	4 (6,2)	$p_{I-II} = 0,194$ $p_{I-III} = 0,194$ $p_{II-III} = 0,920$
Заболевания сердечно-сосудистой системы (врожденный порок развития сердца, кардиомиопатия)	0 (0,0)	3 (8,6)	2 (3,1)	$p_{I-II} = 0,162$ $p_{I-III} = 0,968$ $p_{II-III} = 0,162$
Заболевания сердечно-сосудистой системы (хроническая артериальная гипертензия)	0 (0,0)	9 (25,7)	7 (10,8)	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} < 0,001$ $p_{II-III} = 0,044$
Заболевания пищеварительной системы (хронический гастрит, хронический холецистит, хронический панкреатит)	5 (5,0)	2 (5,7)	12 (18,5)	$p_{I-II} = 0,875$ $p_{I-III} = 0,0031$ $p_{II-III} = 0,0464$

Продолжение таблицы 8

Заболевания мочевыводящих путей (хронический пиелонефрит, хронический цистит, МКБ)	0 (0,0)	13 (37,1)	11 (16,9)	p I-II < 0,001 p I-III = 0,021 p II-III = 0,019
Варикозная болезнь вен нижних конечностей	6 (6,0)	7 (20,0)	2 (3,1)	p I-II = 0,021 p I-III = 0,317 p II-III = 0,004
Заболевания свертывающей системы крови (наследственная тромбофилия)	0 (0,0)	2 (5,7)	5 (7,7)	p I-II = 0,032 p I-III = 0,003 p II-III = 0,689
Абсолютно здоровые	91 (91,0)	2 (5,7)	12 (18,5)	p I-II < 0,001 p I-III < 0,001 p II-III = 0,042
Примечание: p I – II - значимость различий между I и II группами; p I – III - значимость различий между I и III группами, p II – III - значимость различий между II и III группами				



Рисунок 4 – Экстрагенитальных заболевания у пациенток анализируемых групп ретроспективного этапа

Более подробно были рассмотрены заболевания мочевыделительной (таблица 9, рисунок 5) и сердечно-сосудистой систем (таблица 10, рисунок 6).

Таблица 9 – Заболевания мочевыделительной системы у пациенток ретроспективного этапа исследования

Заболевания мочевыделительной системы	Группа I (n=100), абс(%)	Группа II (n=35), абс(%)	Группа III (n=65), абс(%)	p*
Хронический пиелонефрит	0 (0,0)	7 (20,0)	6 (9,2)	p I-II = 0,016 p I-III = 0,453 p II-III = 0,072
Хронический цистит	0 (0,0)	4 (11,4)	3 (4,6)	p I-II < 0,001 p I-III = 0,009 p II-III = 0,194
Мочекаменная болезнь	0 (0,0)	2 (5,7)	2 (3,1)	p I-II = 0,032 p I-III = 0,057 p II-III = 0,441

Примечание: **p I – II** - значимость различий между I и II группами; **p I – III** - значимость различий между I и III группами, **p II – III** - значимость различий между II и III группами

Заболевания мочевыделительной системы регистрировались только в основных группах: хронический пиелонефрит у 7 из 35 беременных (20%) в группе с ранней ПЭ и у 6 из 65 (9,2%) - в группе с поздней ПЭ, однако различия не являлись статистически значимыми ($p > 0,05$).

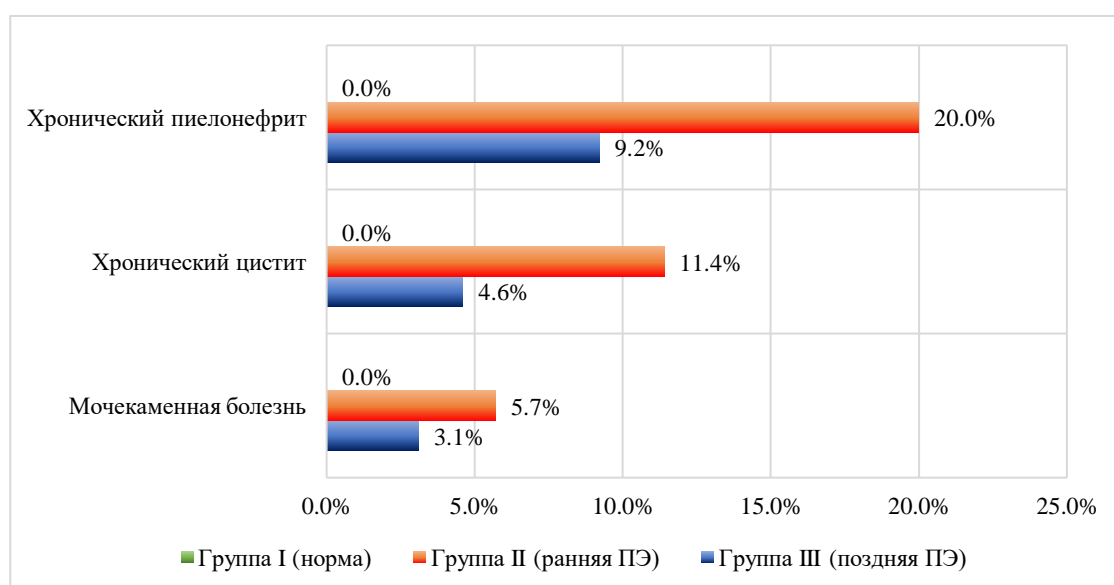


Рисунок 5 – Структура заболеваний мочевыделительной системы (ретроспективный анализ)

Хронический цистит выявлен в группах с ПЭ (II+III) – у 4/35 (11,4%) и 3/65 (4,6%) по сравнению с I группой (0%) – $p=0,007$, но при сравнении группы с ранней ПЭ (группа II) и поздней ПЭ (группа III) разница также оказалась статистически не значимой ($p=0,230$). При сравнении ретроспективных групп по частоте мочекаменной болезни статически значимых различий не обнаружено (см. Таблица 9).

Среди заболеваний сердечно-сосудистой системы значимо чаще выявлена ХАГ в группах II ($p<0,001$) и III ($p<0,001$) по сравнению с группой I, варикозная болезнь вен нижних конечностей - в группе II ($p<0,05$), а также наследственная тромбофилия в группе II ($p=0,032$) и III ($p=0,003$). Остальные рассмотренные заболевания не имели статистически значимой разницы ($p>0,05$), все данные представлены в таблице 10 и на рисунке 6.

Таблица 10 – Заболевания сердечно-сосудистой и свертывающей систем у пациенток ретроспективного этапа исследования

Заболевания сердечно-сосудистой и свертывающей систем	Группа I (n=100), абс(%)	Группа II (n=35), абс(%)	Группа III (n=65), абс(%)	p*
Врожденный порок развития сердца (пролапс митрального клапана)	0 (0,0)	3 (8,6)	1 (1,5)	$p_{I-II} = 0,162$ $p_{I-III} = 0,532$ $p_{II-III} = 0,072$
Кардиомиопатия	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,5)	$p_{I-III} = 0,211$ $p_{II-III} = 0,453$
Хроническая артериальная гипертензия	0 (0,0)	9 (25,7)	7 (10,8)	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} < 0,001$ $p_{II-III} = 0,044$
Варикозная болезнь вен нижних конечностей	6 (6,0)	7 (20,0)	2 (3,1)	$p_{I-II} = 0,021$ $p_{I-III} = 0,317$ $p_{II-III} = 0,004$
Наследственная тромбофилия	0 (0,0)	2 (5,7)	5 (7,7)	$p_{I-II} = 0,032$ $p_{I-III} = 0,003$ $p_{II-III} = 0,689$
Примечание: p I – II - значимость различий между I и II группами; p I – III - значимость различий между I и III группами, p II – III - значимость различий между II и III группами				

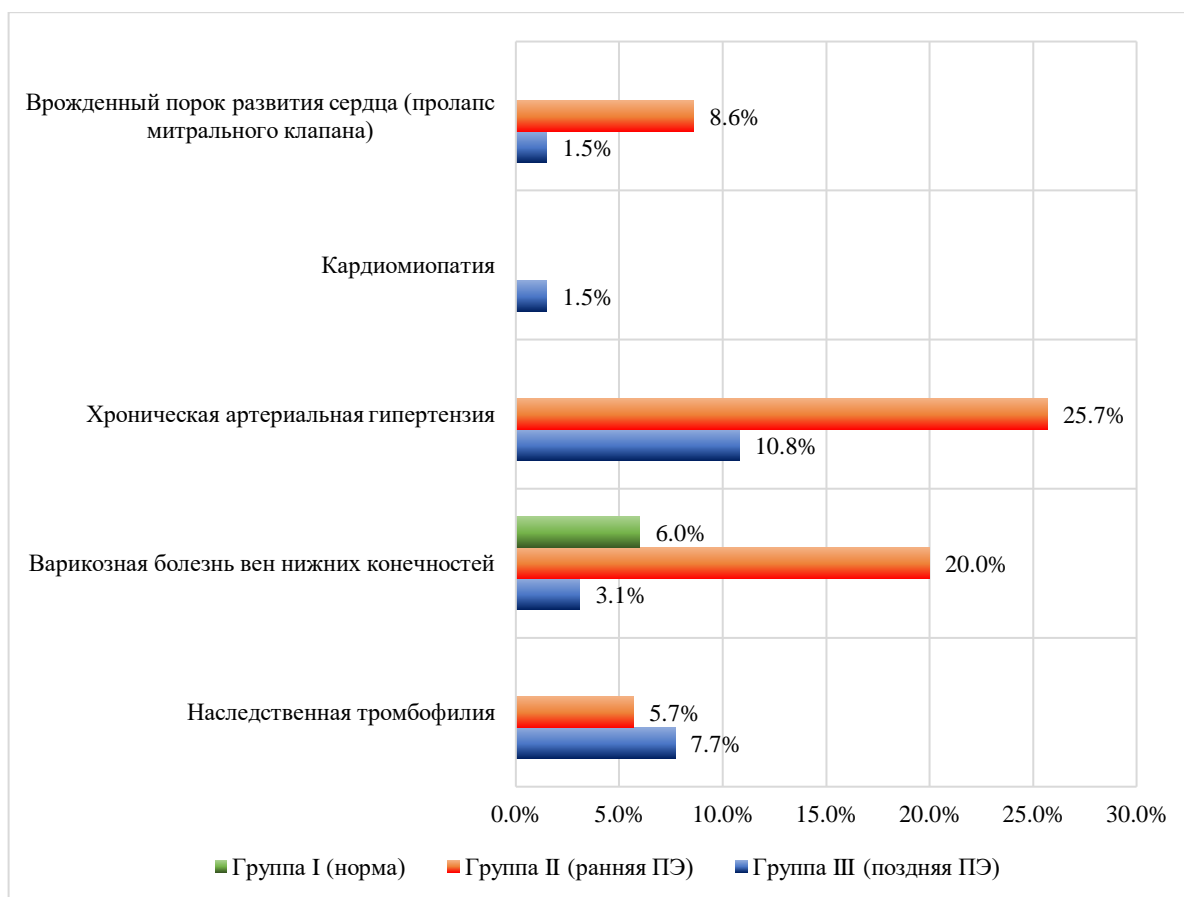


Рисунок 6 – Структура заболеваний сердечно-сосудистой и свертывающей систем (ретроспективный анализ)

Следующим этапом нами проанализирован акушерско-гинекологический анамнез всех беременных. При рассмотрении возраста наступления менархе, характера и продолжительности менструального цикла в группах значимых различий не выявлено ($p > 0,05$), данные показатели находились в пределах общепопуляционной нормы. Перечень гинекологических заболеваний, выявленных в анализируемых группах женщин, а также результаты анализа отражены в таблице 11 и на рисунке 7. В результате изучения гинекологических заболеваний отмечена значимая частота встречаемости беременности, наступившей в результате ВРТ (ЭКО), и, соответственно, бесплодия в анамнезе в группах с ранней и поздней ПЭ в отличии от нормы ($p < 0,05$).

Таблица 11 – Гинекологические заболевания пациенток ретроспективного этапа исследования

Гинекологические заболевания	Группа I (n=100), абс(%)	Группа II (n=35), абс(%)	Группа III (n=65), абс(%)	p*
Половые инфекции	1 (1,0)	1 (2,8)	2 (3,1)	p I-II = 0,424 p I-III = 0,368 p II-III = 0,976
Дисплазия шейки матки	0 (0,0)	1 (2,8)	3 (4,6)	p I-II = 0,089 p I-III = 0,028 p II-III = 0,660
Полип цервикального канала/эндометрия	3 (3,0)	1 (2,8)	2 (3,1)	p I-II = 0,976 p I-III = 0,960 p II-III = 0,976
Гиперплазия эндометрия	1 (1,0)	1 (2,8)	1 (1,5)	p I-II = 0,424 p I-III = 0,757 p II-III = 0,617
Миома матки	0 (0,0)	3 (8,6)	4 (6,2)	p I-II = 0,271 p I-III = 0,516 p II-III = 0,582
Генитальный эндометриоз (внутренний/наружный)	1 (1,0)	1 (2,8)	5 (7,7)	p I-II = 0,424 p I-III = 0,021 p II-III = 0,317
Хронический сальпингоофорит	0 (0,0)	5 (14,3)	4 (6,2)	p I-II = 0,005 p I-III = 0,156 p II-III = 0,162
Синдром поликистозных яичников	0 (0,0)	1 (2,8)	1 (1,5)	p I-II = 0,089 p I-III = 0,211 p II-III = 0,617
Бесплодие	0 (0,0)	4 (11,4)	3 (4,6)	p I-II < 0,001 p I-III = 0,009 p II-III = 0,194
Беременность, наступившая в результате ВРТ (ЭКО)	0 (0,0)	2 (5,7)	6 (9,2)	p I-II = 0,024 p I-III = 0,002 p II-III = 0,503
Примечание: p I – II - значимость различий между I и II группами; p I – III - значимость различий между I и III группами, p II – III - значимость различий между II и III группами				

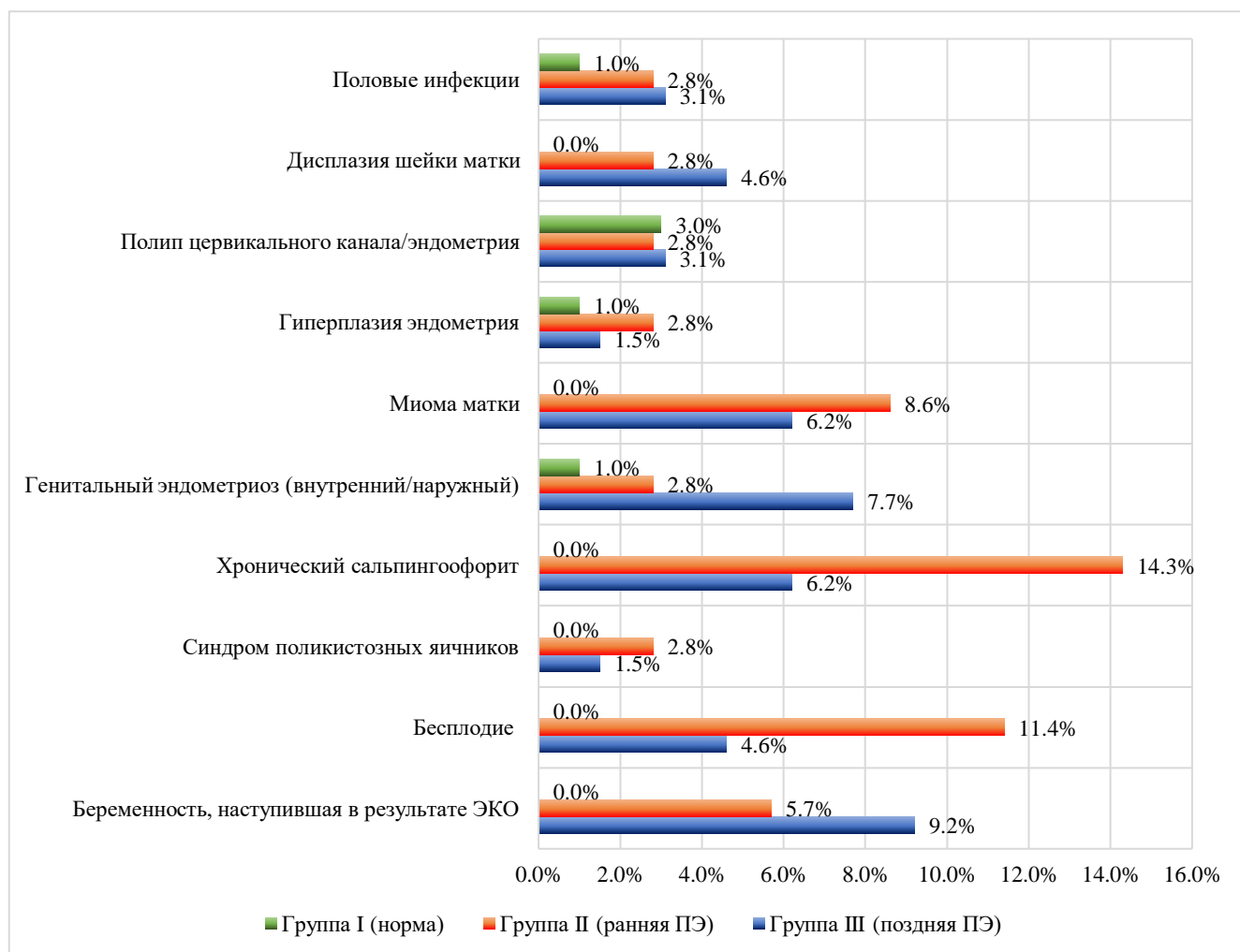


Рисунок 7 – Частота встречаемости заболеваний женской репродуктивной системы, включая наступление беременности в результате ЭКО (ретроспективный анализ)

При изучении gravidности выявлено: в I группе (норма) – первобеременными были 30 женщин из 100 (30%), во II группе (ранняя ПЭ) – 8 из 35 (22,9%), в III группе (поздняя ПЭ) – 34 из 65 пациенток (52,3%), значимые различия были выявлены в группе III по сравнению с I ($p=0,009$) и II ($p=0,004$) группами. При рассмотрении паритета: первородящими были 38/100 (38%) женщин в группе I, в группе II - 12/35 (34, 3%), в группе III - 40/65 (61,5%). Как и в случае с gravidностью, данный критерий сравнения также имел значимое различие в III группе по сравнению с I ($p=0,005$) и II ($p=0,009$) группами: таблица 12, рисунок 8, 9.

Таблица 12 – Паритет беременностей и родов у женщин анализируемых групп ретроспективного этапа

		Группа I (n=100), абс(%)	Группа II (n=35), абс(%)	Группа III (n=65), абс(%)	p*
Наличие беременностей в анамнезе (гравидность)	0	30 (30,0)	8 (22,9)	34 (52,3)	$p_{I-II} = 0,447$ $p_{I-III} = \mathbf{0,009}$ $p_{II-III} = \mathbf{0,004}$
	1	41 (41,0)	10 (28,6)	15 (23,1)	$p_{I-II} = 0,435$ $p_{I-III} = \mathbf{0,006}$ $p_{II-III} = \mathbf{0,004}$
	2	24 (24,0)	7 (20,0)	10 (15,4)	
	3	5 (5,0)	4 (11,4)	5 (7,7)	
	4	0 (0,0)	2 (5,7)	1 (1,5)	
	5	0 (0,0)	1 (2,8)	0 (0,0)	
	6	0 (0,0)	2 (5,7)	0 (0,0)	
	7	0 (0,0)	1 (2,8)	0 (0,0)	
Наличие родов в анамнезе (паритет)	0	38 (38,0)	12 (34,3)	40 (61,5)	$p_{I-II} = 0,689$ $p_{I-III} = \mathbf{0,005}$ $p_{II-III} = \mathbf{0,009}$
	1	44 (44,0)	13 (37,1)	15 (23,1)	$p_{I-II} = 0,690$ $p_{I-III} = \mathbf{0,004}$ $p_{II-III} = \mathbf{0,007}$
	2	16 (16,0)	5 (14,3)	8 (12,3)	
	3	2 (2,0)	3 (8,6)	1 (1,5)	
	4	0 (0,0)	1 (2,8)	1 (1,5)	
	5	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
	6	0 (0,0)	1 (2,8)	0 (0,0)	

Примечание: p_{I-II} - значимость различий между I и II группами; p_{I-III} - значимость различий между I и III группами, p_{II-III} - значимость различий между II и III группами

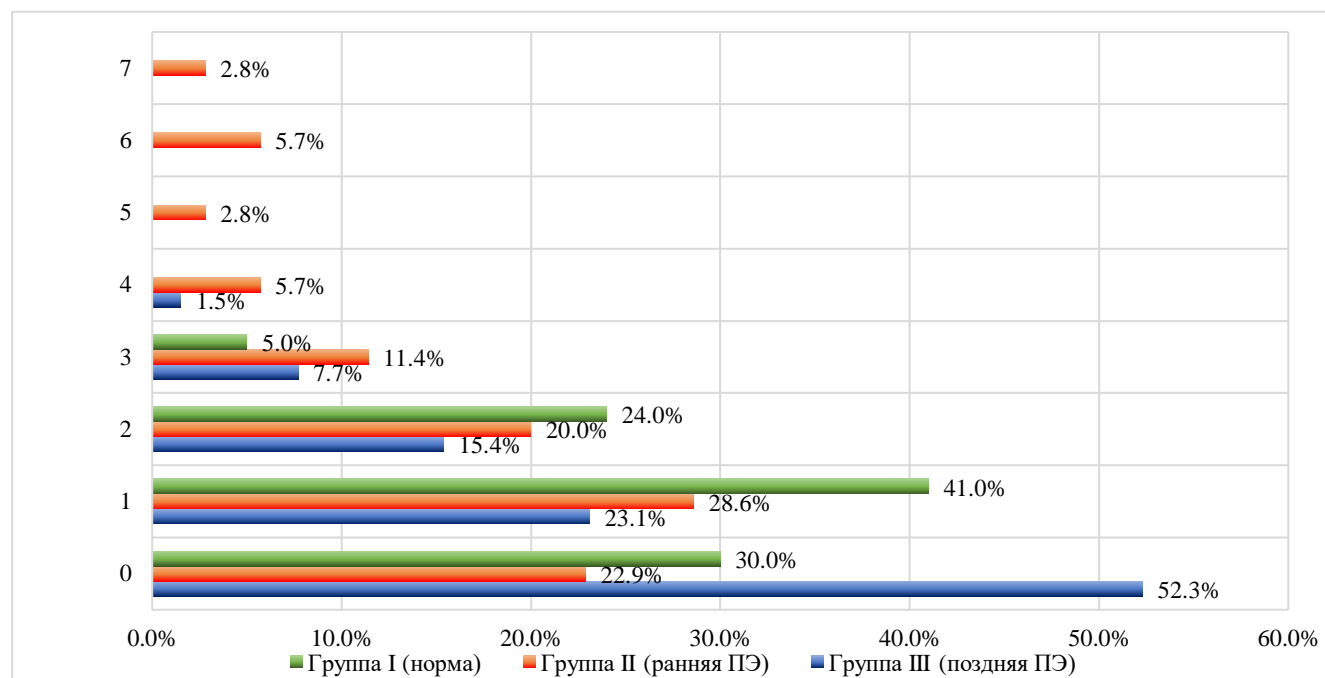


Рисунок 8 – Гравидность пациенток ретроспективного этапа исследование

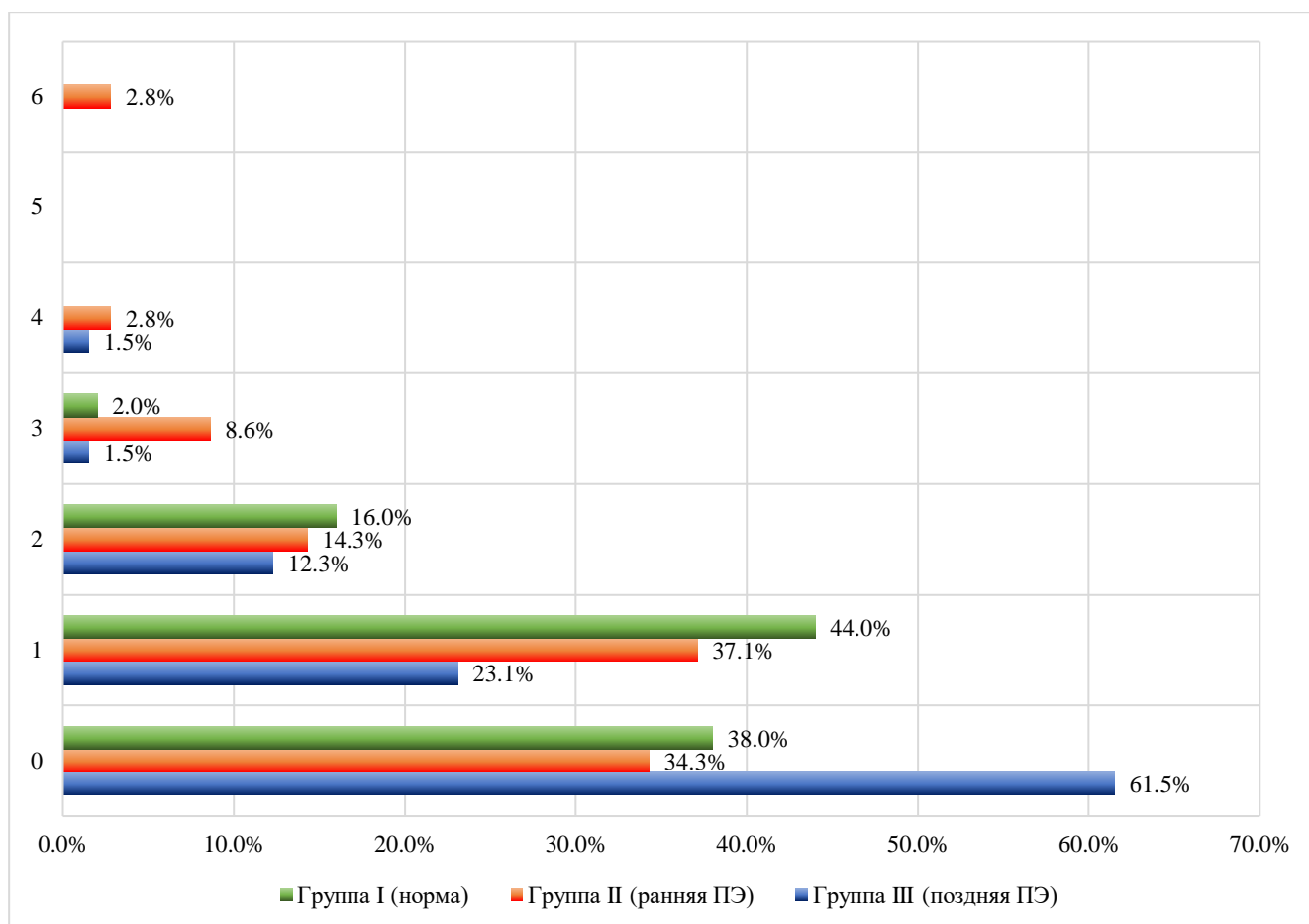


Рисунок 9 – Паритет пациенток, включенных в ретроспективное исследование

Следующим этапом поведен анализ исходов предыдущих беременностей (таблица 13, рисунок 10). Значимые различия выявлены в отношении оперативного ($p < 0,05$) и досрочного ($p < 0,001$) родоразрешения в группах с ранней и поздней ПЭ (группа II и группа III) по сравнению с контрольной (группа I). Между группами II (ранняя ПЭ) и III (поздняя ПЭ) статистически значимых различий по данным анамнестическим показателям не обнаружено ($p = 0,920$). Медицинский аборт значительно чаще встречался во II группе по сравнению с I ($p < 0,001$) и III ($p = 0,016$) группами.

Таблица 13 – Репродуктивный анамнез повторнобеременных женщин ретроспективного этапа исследования

	Группа I (n=70), абс(%)	Группа II (n=27), абс(%)	Группа III (n=31), абс(%)	p*
Преждевременные роды	2 (2,9)	1 (3,7)	2 (6,5)	$p_{I-II} = 0,857$ $p_{I-III} = 0,317$ $p_{II-III} = 0,569$
Своевременные роды	60 (85,7)	15 (55,6)	17 (54,8)	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} = 0,001$ $p_{II-III} = 0,936$
Оперативные роды (кесарево сечение)	1 (1,4)	3 (11,1)	8 (25,8)	$p_{I-II} = 0,028$ $p_{I-III} < 0,001$ $p_{II-III} = 0,920$
Аntenатальная гибель плода	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (6,5)	$p_{I-III} = 0,159$ $p_{II-III} = 0,271$
Внематочная беременность	2 (2,9)	1 (3,7)	0 (0,0)	$p_{I-II} = 0,834$ $p_{I-III} = 0,350$ $p_{II-III} = 0,271$
Самопроизвольный выкидыш	0 (0,0)	7 (25,9)	5 (16,1)	$p_{I-II} = 0,036$ $p_{I-III} = 0,390$ $p_{II-III} = 0,317$
Неразвивающаяся беременность	0 (0,0)	3 (11,1)	2 (6,5)	$p_{I-II} = 0,503$ $p_{I-III} = 0,934$ $p_{II-III} = 0,555$
Хирургический аборт	6 (8,6)	10 (37,0)	7 (22,6)	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} = 0,072$ $p_{II-III} = 0,016$
Примечание: p I – II - значимость различий между I и II группами; p I – III - значимость различий между I и III группами, p II – III - значимость различий между II и III группами				

Предшествующая беременность была осложнена ПЭ у 8 из 27 (29,6%) женщин II группы и у 4 из 31 (12,9%) в III группе по сравнению с контрольной ($p < 0,05$), ЗРП в анамнезе отмечена у 6/27 (22,2%) женщин группы II и у 3/31 (9,7%) группы III по сравнению с нормой ($p < 0,05$).

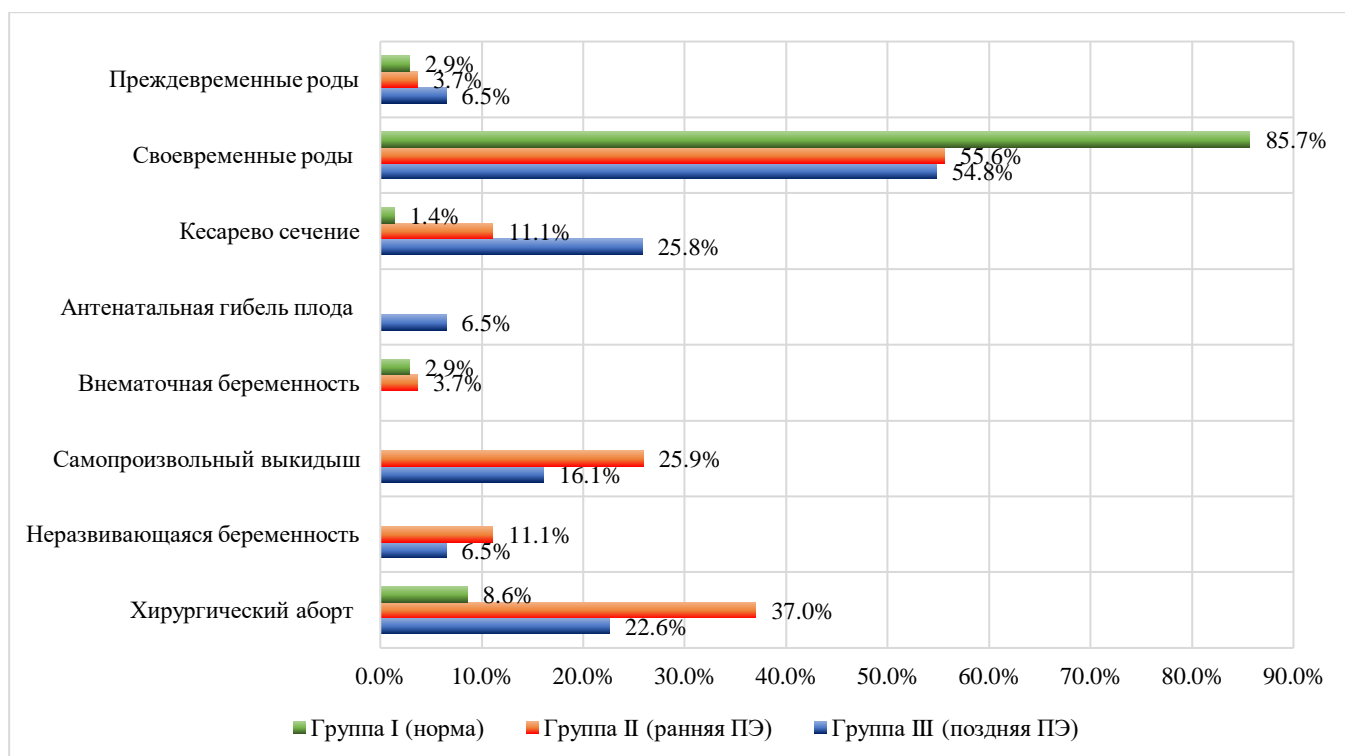


Рисунок 10 – Исходы предыдущих беременностей пациенток, включенных в ретроспективное исследование

Таблица 14 – Осложнения во время предыдущей беременности (ретроспективный анализ)

Осложнения в предыдущих беременностях	Группа I (n=70), абс (%)	Группа II (n=27), абс (%)	Группа III (n=31), абс (%)	p*
ПЭ в анамнезе	0 (0,0)	8 (29,6)	4 (12,9)	p I-II < 0,001 p I-III = 0,003 p II-III = 0,072
ЗРП в анамнезе	0 (0,0)	6 (22,2)	3 (9,7)	p I-II = 0,004 p I-III = 0,009 p II-III = 0,090
Примечание: p I – II - значимость различий между I и II группами; p I – III - значимость различий между I и III группами, p II – III - значимость различий между II и III группами				

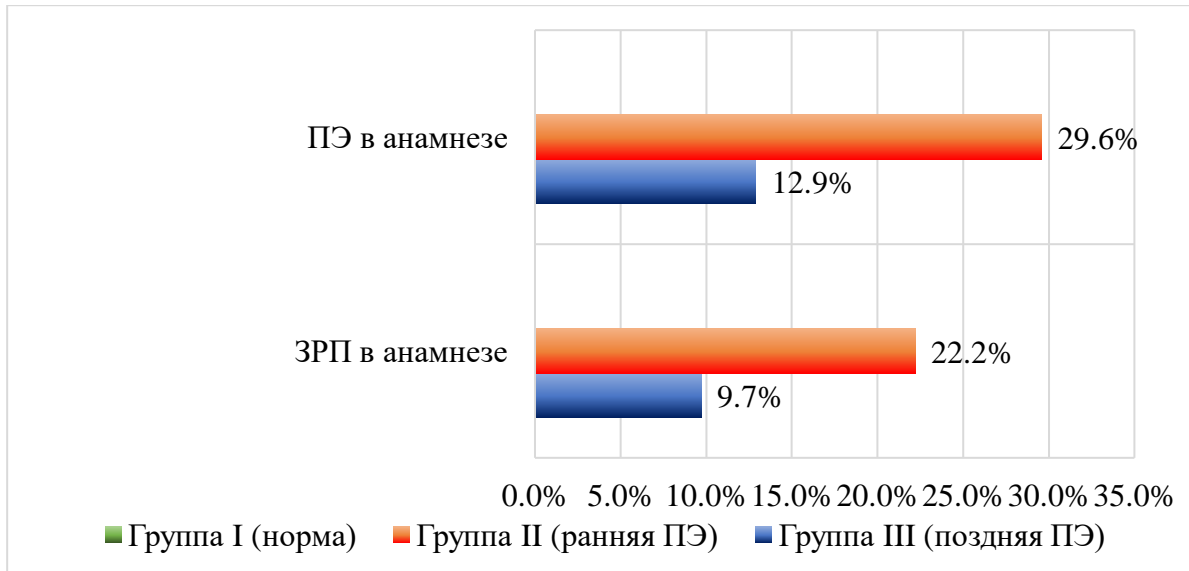


Рисунок 11 – Течение предшествующих беременностей у пациенток анализируемых групп ретроспективного этапа исследования

При сравнении групп II и III по наличию ПЭ и ЗРП во время предыдущей беременности статистически значимых различий не выявлено ($p > 0,05$). Данные представлены в таблице 14, рисунке 11.

3.2. Особенности течения беременности и родов, перинатальные исходы и состояние новорожденных у пациенток анализируемых групп

В I триместре зарегистрированы эпизоды повышения АД ($p_{I-II} = 0,001$ и $p_{I-III} = 0,036$) на фоне сопутствующей ХАГ во II группе у 4/35 (11,4%) женщин, в III группе – у 3/65 (4,6%), угроза прерывания беременности выявлена значительно чаще в III группе – 13/65 (20%) по сравнению с группой I – 6/100 (6%), $p_{I-III} = 0,005$, однако со II группой (4/35; 11,4%) значимых различий не обнаружено: $p_{II-III} = 0,230$. Анемия также чаще выявлена в группе III – 2/65 (3,1%) по сравнению с группой I – 12/100 (12%), $p_{I-III} = 0,036$, но без значимой разницы с группой II – $p = 0,952$. При анализе частоты встречаемости гестационного сахарного диабета (ГСД) статистически значимой разницы между исследуемыми группами выявлено не было ($p > 0,05$). Все данные представлены в таблице 15 и на рисунке 12.

Таблица 15 – Осложнения I триместра текущей беременности пациенток, входящих в группы ретроспективного анализа

I триместр	Группа I (n=100), абс(%)	Группа II (n=35), абс(%)	Группа III (n=65), абс(%)	p*
Рвота беременных	22 (22,0)	13 (37,1)	18 (27,7)	p I-II = 0,089 p I-III = 0,368 p II-III = 0,267
Угроза прерывания беременности	6 (6,0)	4 (11,4)	13 (20,0)	p I-II = 0,317 p I-III = 0,005 p II-III = 0,230
Анемия	12 (12,0)	1 (2,8)	2 (3,1)	p I-II = 0,134 p I-III = 0,036 p II-III = 0,952
Вторичный гипотиреоз	0 (0,0)	1 (2,8)	2 (3,1)	p I-II = 0,078 p I-III = 0,061 p II-III = 0,953
Гестационный сахарный диабет	0 (0,0)	1 (2,8)	3 (4,6)	p I-II = 0,078 p I-III = 0,036 p II-III = 0,660
Гестационный пиелонефрит	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,5)	p I-III = 0,211 p II-III = 0,453
Эпизоды повышения АД	0 (0,0)	4 (11,4)	3 (4,6)	p I-II = 0,001 p I-III = 0,036 p II-III = 0,184
Генитальный герпес	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,5)	p I-III = 0,211 p II-III = 0,453
Цистит	0 (0,0)	1 (2,8)	0 (0,0)	p I-II = 0,078 p II-III = 0,131
Бессимптомная бактериурия	0 (0,0)	1 (2,8)	3 (4,6)	p I-II = 0,078 p I-III = 0,072 p II-III = 0,660
Примечание: p I – II - значимость различий между I и II группами; p I – III - значимость различий между I и III группами, p II – III - значимость различий между II и III группами				

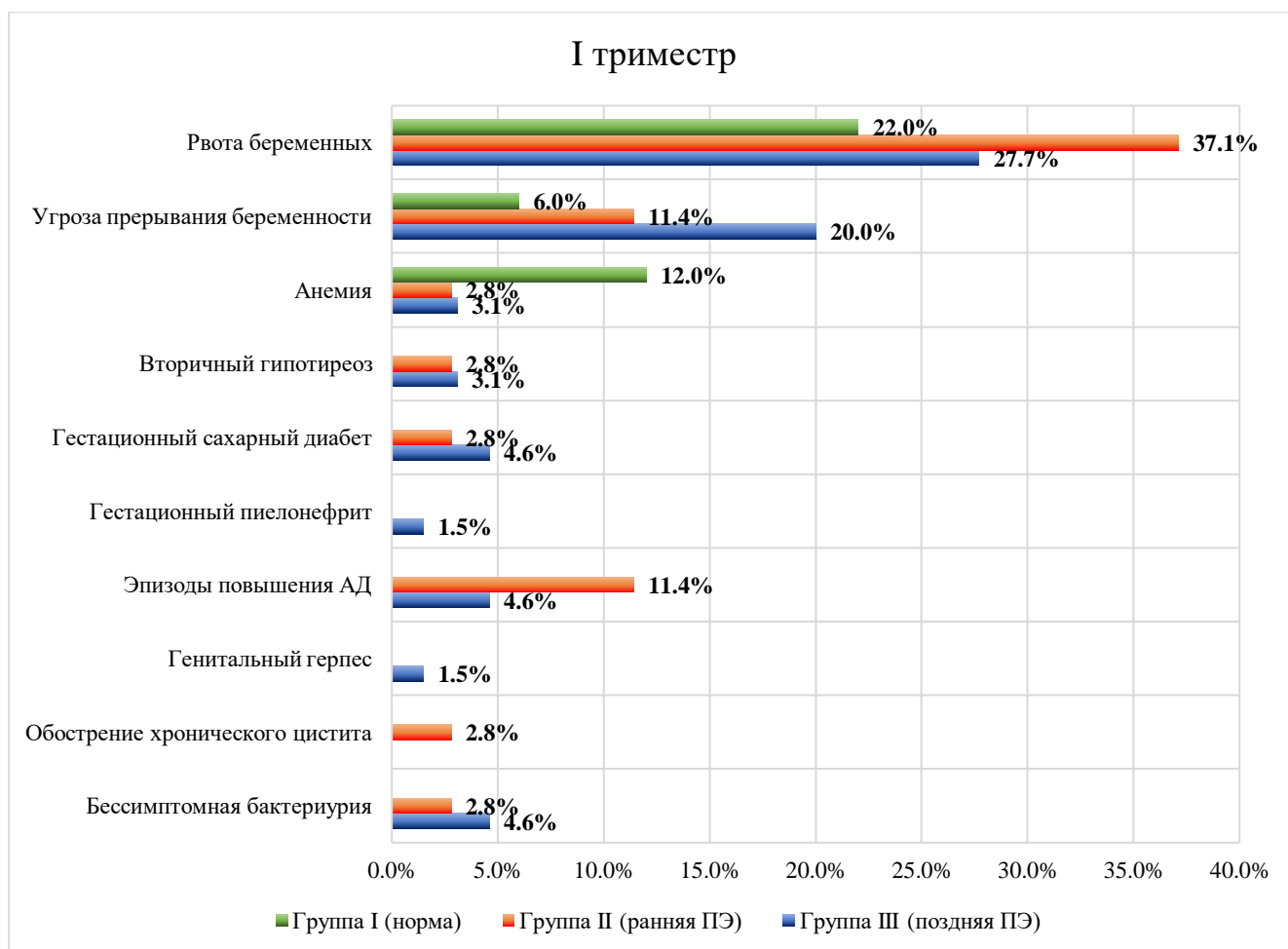


Рисунок 12 – Частота осложнений в I триместре настоящей беременности пациенток, входящих в группы ретроспективного анализа

По результатам I пренатального скрининга высокий риск развития ПЭ и ЗРП в группе I выявлен лишь у одной пациентки (1/100, 1%), в группе II высокий риск ПЭ определен у 13/35 (37,1%), ЗРП – у 11/35 (31,4%) женщин, в группе III – у 17/65 (26,2%) и 15/65 (23,1%) соответственно (таблица 16).

Таблица 16 – Результаты I скрининга в группах ретроспективного исследования

Результаты I скрининга	Группа I (n=100), абс(%)	Группа II (n=35), абс(%)	Группа III (n=65), абс(%)	p*
Риск ЗРП высокий	1 (1,0)	11 (31,4)	15 (23,1)	p I-II = 0,012 p I-III < 0,001 p II-III = 0,054
Риск ПЭ высокий	1 (1,0)	13 (37,1)	17 (26,2)	p I-II = 0,001 p I-III < 0,001 p II-III = 0,056

Во II триместре статистические значимые различия между группой I (норма) и группами II+III (ранняя и поздняя ПЭ) обнаружены в отношении гестационного диабета ($p_{I-II} < 0,001$ и $p_{I-III} < 0,001$): в I группе ГСД диагностирован не был, во II группе – в 4/35 (11,4%) и в III – в 7/65 (10,8%) случаев.

Во II группе по сравнению с группами I и III значимо чаще регистрировалось нарушение маточно-плацентарного кровотока (НМПК) и ЗРП: в группе II обнаружено НМПК в 6/35 (17,1%) случаев и ЗРП в 4/35 (11,4%) случаев, в группе III НМПК 1А степени выявлено у 2/65 (3,1%) и ЗРП - у 1/65 (1,5%), в группе I ни одно из данных осложнений не обнаружено. Кроме того, выявлено 8/35 (22,9%) случаев протеинурии и 13/35 (%) эпизодов повышения артериального давления в группе II по сравнению с группой I и группой III ($p < 0,001$). Диагностирована впервые выявленная артериальная гипертензия в группе II – у 3/35 (%) и в группе III – у 2/65 (3,1%) пациенток, у 1/65 (3,1%) женщины III группы повышение АД имело место на фоне уже имеющейся артериальной гипертензии. Во II группе: у 2/35 (5,7%) пациенток имели место эпизоды повышения АД на фоне уже имеющейся артериальной гипертензии, и у 8/35 (22,9%) диагностирована ПЭ (из них 3/35 случая (8,6%) на фоне ХАГ). Данные представлены в таблице 17, на рисунке 13.

Таблица 17 – Осложнения II триместра беременности пациенток, входящих в группы ретроспективного анализа

II триместр	Группа I (n=100), абс(%)	Группа II (n=35), абс(%)	Группа III (n=65), абс(%)	p*
Рвота беременных	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (3,1)	$p_{I-III} = 0,159$ $p_{II-III} = 0,271$
Угроза прерывания беременности	3 (3,0)	2 (5,7)	7 (10,8)	$p_{I-II} = 0,424$ $p_{I-III} = 0,046$ $p_{II-III} = 0,407$
Анемия	17 (17,0)	5 (14,3)	14 (21,5)	$p_{I-II} = 0,667$ $p_{I-III} = 0,418$ $p_{II-III} = 0,317$
Вторичный гипотиреоз	1 (1,0)	4 (11,4)	4 (6,2)	$p_{I-II} = 0,012$ $p_{I-III} = 0,057$ $p_{II-III} = 0,373$

Продолжение таблицы 17

II триместр	Группа I (n=100), абс(%)	Группа II (n=35), абс(%)	Группа III (n=65), абс(%)	p*
Гестационный сахарный диабет	0 (0,0)	4 (11,4)	7 (10,8)	p I-II < 0,001 p I-III < 0,001 p II-III = 0,865
Гестационный пиелонефрит	0 (0,0)	1 (2,8)	0 (0,0)	p I-II = 0,078 p II-III = 0,131
Эпизоды повышения АД	0 (0,0)	13 (37,1)	3 (4,6)	p I-II < 0,001 p I-III = 0,036 p II-III < 0,001
Протеинурия, выявленная впервые	0 (0,0)	8 (22,9)	0 (0,0)	p I-II < 0,001 p II-III < 0,001
Вагинит	3 (3,0)	2 (5,7)	3 (4,6)	p I-II = 0,971 p I-III = 0,558 p II-III = 0,764
Истмико-цервикальная недостаточность	0 (0,0)	1 (2,8)	1 (1,5)	p I-II = 0,317 p I-III = 0,772 p II-III = 0,581
Обострение хронического пиелонефрита	0 (0,0)	1 (2,8)	1 (1,5)	p I-II = 0,134 p I-III = 0,211 p II-III = 0,581
Бессимптомная бактериурия	1 (1,0)	2 (5,7)	2 (3,1)	p I-II = 0,095 p I-III = 0,368 p II-III = 0,453
Отеки беременных	0 (0,0)	1 (2,8)	0 (0,0)	p I-II = 0,078 p II-III = 0,131
НМПК IA степени	0 (0,0)	4 (11,4)	2 (3,1)	p I-II < 0,001 p I-III = 0,159 p II-III = 0,084
НМПК IB степени	0 (0,0)	1 (2,8)	0 (0,0)	p I-II = 0,078 p II-III = 0,131
НМПК II степени	0 (0,0)	1 (2,8)	0 (0,0)	p I-II = 0,078 p II-III = 0,131
НМПК всего	0 (0,0)	6 (17,1)	2 (3,1)	p I-II < 0,001 p I-III = 0,230 p II-III = 0,005
Задержка роста плода	0 (0,0)	4 (11,4)	1 (1,5)	p I-II = 0,001 p I-III = 0,211 p II-III = 0,028
Примечание: p I – II - значимость различий между I и II группами; p I – III - значимость различий между I и III группами, p II – III - значимость различий между II и III группами				



Рисунок 13 – Частота осложнений во II триместре настоящей беременности у пациенток анализируемых групп ретроспективного этапа

Клиническая манифестация ПЭ в III триместре в группе II (ранняя ПЭ) зарегистрирована у 6/35 (17,1%) на фоне ХАГ и у 21/35 (60%) в «чистой» форме. В группе III (поздняя ПЭ) к ХАГ (7/65 (10,8%) женщин) и гестационной артериальной гипертензии (2/65 (3,1%) женщин) присоединилась протеинурия, вследствие чего был установлен диагноз «Преэклампсия». У 56/65 (86,2%) повышение АД и протеинурия были выявлены одновременно.

В группах с ранней и поздней ПЭ (II и III) по сравнению с нормой (группа I) значительно чаще встречались вторичный гипотиреоз: II группа – у 4/35 (11,4%), III – у 6/65 (9,2%) по сравнению с I группой – у 1/100 (1%; $p_{I-II} = 0,012$ и $p_{I-III} = 0,007$);

гестационный сахарный диабет: II группа – у 7/35 (20%), III – у 9/65 (13,8%) по сравнению с I группой (0%) ($p_{I-II} < 0,001$ и $p_{I-III} < 0,001$) и отеки беременных: II группа – у 28/35 (80%), III – у 52/65 (80%) и I – у 6/100 (6%; $p_{I-II} < 0,001$ и $p_{I-III} < 0,001$). Нарушение гемодинамики в сосудах фето-плацентарного комплекса по данным доплерометрии значимо чаще регистрировалось в группе II (16/35; 45,7%) по сравнению с группой III (12/65; 18,5%), а также ЗРП: во II группе – у 14/35 (40%), в III – у 9/65 (13,8%). Кроме того, во II группе у 3/35 (8,6%) пациенток произошла антенатальная смерть плода. В группе II и III выявлено по одному эпизоду приступа эклампсии. У 1 пациентки II группы развился HELLP-синдром. Все данные представлены в таблице 18 и на рисунке 14.

Таблица 18 – Осложнения III триместра беременности пациенток, входящих в группы ретроспективного анализа

III триместр	Группа I (n=100), абс(%)	Группа II (n=35), абс(%)	Группа III (n=65), абс(%)	p*
Угроза прерывания беременности	2 (2,0)	2 (5,7)	3 (4,6)	$p_{I-II} = 0,194$ $p_{I-III} = 0,317$ $p_{II-III} = 0,803$
Анемия	19 (19,0)	5 (14,3)	7 (10,8)	$p_{I-II} = 0,516$ $p_{I-III} = 0,194$ $p_{II-III} = 0,617$
Вторичный гипотиреоз	1 (1,0)	4 (11,4)	6 (9,2)	$p_{I-II} = 0,012$ $p_{I-III} = 0,007$ $p_{II-III} = 0,741$
Гестационный сахарный диабет	0 (0,0)	7 (20,0)	9 (13,8)	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} < 0,001$ $p_{II-III} = 0,390$
Гестационный пиелонефрит	0 (0,0)	1 (2,8)	3 (4,6)	$p_{I-II} = 0,089$ $p_{I-III} = 0,021$ $p_{II-III} = 0,590$
Эпизоды повышения АД	0 (0,0)	19 (54,3)	59 (90,8)	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} < 0,001$ $p_{II-III} < 0,001$
Протеинурия, выявленная впервые	0 (0,0)	27 (77,1)	65 (100,0)	$p_{I-II} < 0,001$ $p_{I-III} < 0,001$ $p_{II-III} < 0,001$
Эклампсия	0 (0,0)	1 (2,8)	1 (1,5)	$p_{I-II} = 0,089$ $p_{I-III} = 0,211$ $p_{II-III} = 0,617$
HELLP-синдром	0 (0,0)	1 (2,8)	0 (0,0)	$p_{I-II} = 0,078$ $p_{II-III} = 0,131$

Продолжение таблицы 18

III триместр	Группа I (n=100), абс(%)	Группа II (n=35), абс(%)	Группа III (n=65), абс(%)	p*
Вагинит	5 (5,0)	0 (0,0)	2 (3,1)	p I-II = 0,194 p I-III = 0,503 p II-III = 0,271
Истмико- цервикальная недостаточность	1 (1,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	p I-II = 0,617 p I-III = 0,317
Бессимптомная бактериурия	0 (0,0)	2 (5,7)	1 (1,5)	p I-II = 0,036 p I-III = 0,212 p II-III = 0,194
Отеки беременных	6 (6,0)	28 (80,0)	52 (80,0)	p I-II < 0,001 p I-III < 0,001 p II-III = 1,000
НМПК IA степени	0 (0,0)	13 (37,1)	11 (16,9)	p I-II < 0,001 p I-III = 0,002 p II-III = 0,503
НМПК II степени	0 (0,0)	3 (8,6)	1 (1,5)	p I-II = 0,002 p I-III = 0,211 p II-III = 0,072
НМПК всего	0 (0,0)	16 (45,7)	12 (18,5)	p I-II < 0,001 p I-III < 0,001 p II-III = 0,002
Низкая плацентация	1 (1,0)	1 (2,8)	3 (4,6)	p I-II = 0,407 p I-III = 0,134 p II-III = 0,660
Преждевременная отслойка плаценты	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,5)	p I-III = 0,211 p II-III = 0,453
Задержка роста плода	0 (0,0)	14 (40,0)	9 (13,8)	p I-II < 0,001 p I-III = 0,271 p II-III = 0,001
Аntenатальная смерть плода	0 (0,0)	3 (8,6)	0 (0,0)	p I-II = 0,002 p II-III = 0,003
Примечание: p I – II – значимость различий между I и II группами; p I – III – значимость различий между I и III группами, p II – III – значимость различий между II и III группами				

Клиническая манифестация ПЭ в группе II (ранняя ПЭ) произошла в среднем в 30 (24; 32) недель по сравнению с группой III (поздняя ПЭ) – в 36 (35; 37) недель, $p_{II-III} < 0,001$. ЗРП выявлялась при ранней ПЭ (II группа) в среднем в 32 (26; 33) недели. Сроки клинической манифестации поздней ПЭ составляли в среднем 36 (35; 37) недель, при этом чаще всего уже на фоне диагностированной ранее ЗРП (в среднем в 35 (34; 36) недель).

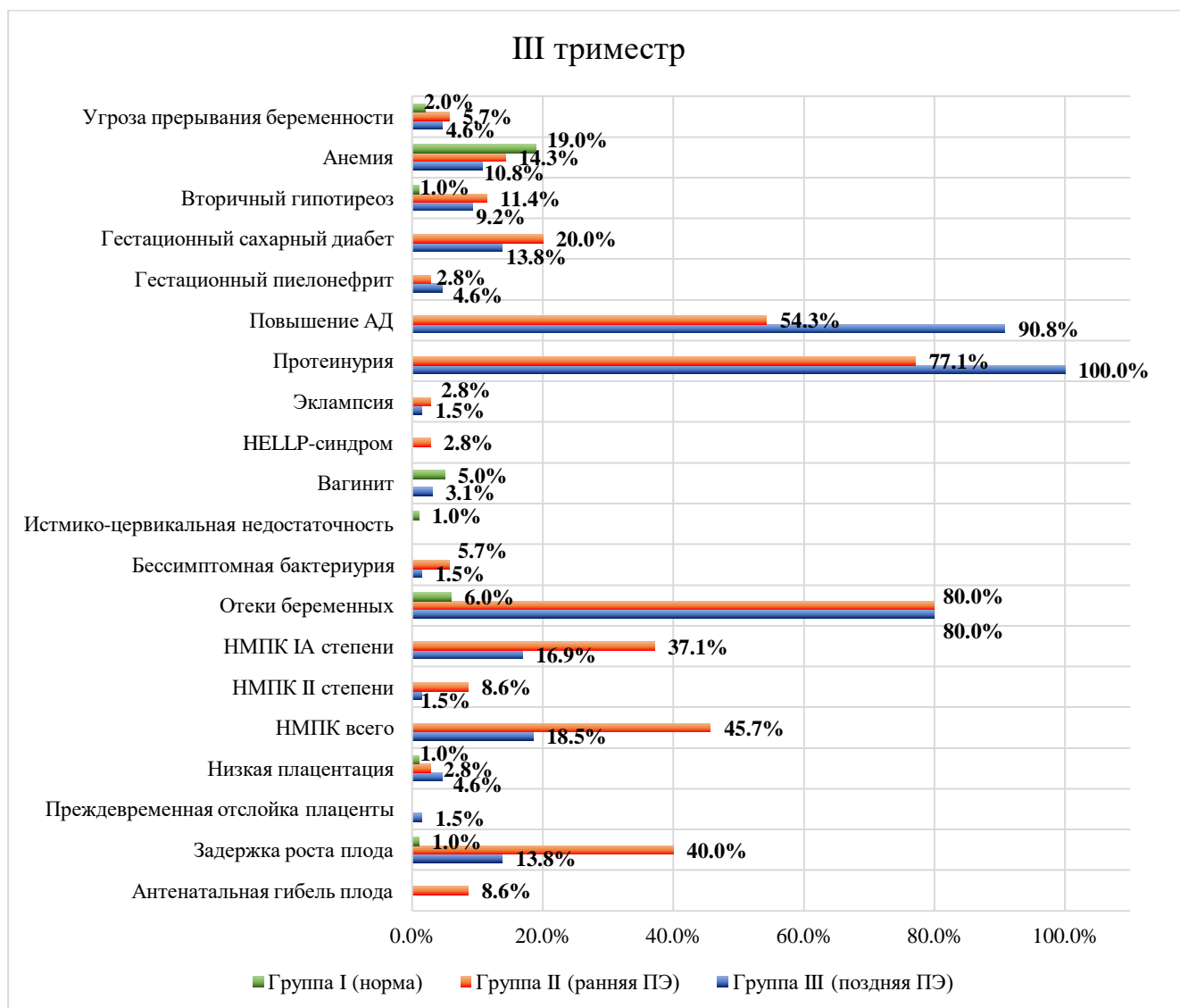


Рисунок 14 – Частота развития осложнений в III триместре беременности у пациенток анализируемых групп ретроспективного этапа

Необходимо отметить, что отдельные клинические симптомы у пациенток основных групп были зарегистрированы за несколько недель до постановки диагноза «ПЭ», а именно – у 2/3 - патологическая прибавка веса/отечный синдром, у 1/3 – эпизоды артериальной гипертензии, у 4% - «следовая» протеинурия. Кроме того незадолго до полноценной клинической манифестации ПЭ отмечалась активация внутрисосудистого свертывания крови (14%), постепенное снижение диуреза и СКФ (17%), отчетливое снижение тромбоцитов в динамике (12%), выявлялись признаки нарушения гемодинамики в сосудах фето-плацентарного

комплекса (у каждой второй пациентки при ранней ПЭ, у каждой пятой - при поздней) и ЗРП (у 40% при ранней ПЭ и 13,8% при поздней).

Сроки родоразрешения составили в среднем 37,4 (35,4; 39,2) недель в группе II и 39,3 (38,3; 40,1) недель в группе III. Длительность течения ПЭ при этом составила во II группе 7,4 (4,2; 10,7) недели и 2,4 (1,4; 3,7) недели в III группе (таблица 19, рисунки 15, 16, 17). При анализе клинических особенностей развития ПЭ выявлено, что умеренная ПЭ имела место у 6/35 (17,1%) в группе II и 62/65 (95,4%) в группе III. Число пациенток с тяжелой ПЭ значительно выше отмечалось во II группе (29/35; 82,9%) по сравнению с группой III (3/65; 4,6%), $p < 0,001$ (таблица 20, рисунки 18, 19).

Таблица 19 – Сроки манифестации и длительность течения ПЭ, сроки диагностики ЗРП и родоразрешения пациенток с ПЭ (ретроспективный анализ)

	Группа II (n=35) Me (Q ₁ ; Q ₃)	Группа III (n=65) Me (Q ₁ ; Q ₃)	p
Сроки манифестации ПЭ, нед	30 (24; 32)	36 (35; 37)	p II - III < 0,001
Длительность ПЭ, нед	7,4 (4,2; 10,7)	2,4 (1,4; 3,7)	p II - III < 0,001
Сроки диагностики ЗРП, нед	32 (26; 33)	35 (34; 36)	p II - III = 0,024
Сроки родоразрешения, нед	37,4 (35,4; 39,2)	39,3 (38,3; 40,1)	p II - III < 0,001

Примечание: **p II – III** - значимость различий между II и III группами; **нед** – недели гестации

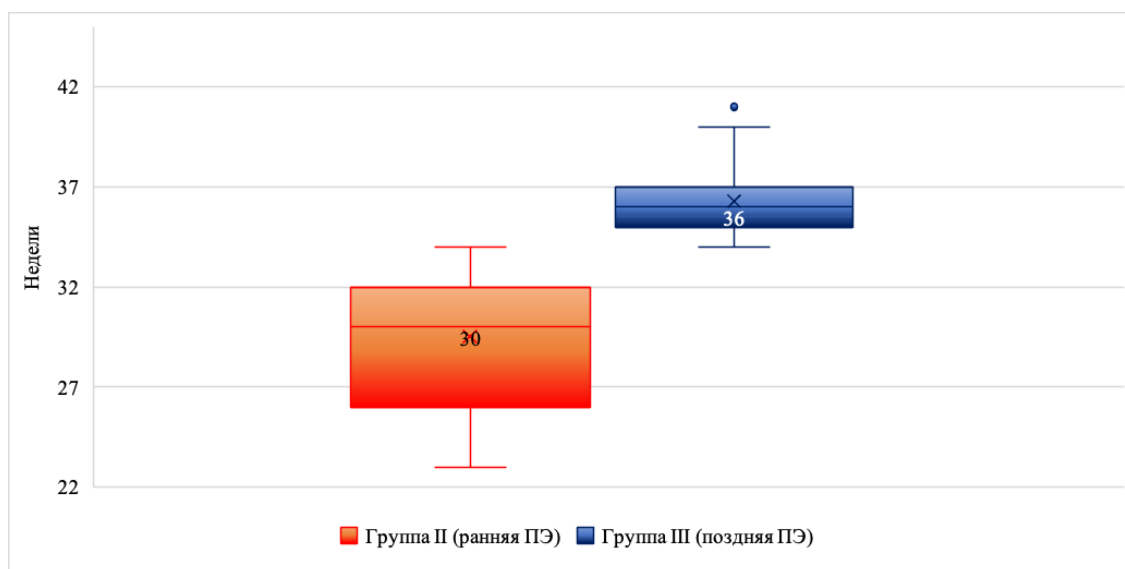


Рисунок 15 – Сроки дебюта ПЭ, ретроспективный анализ

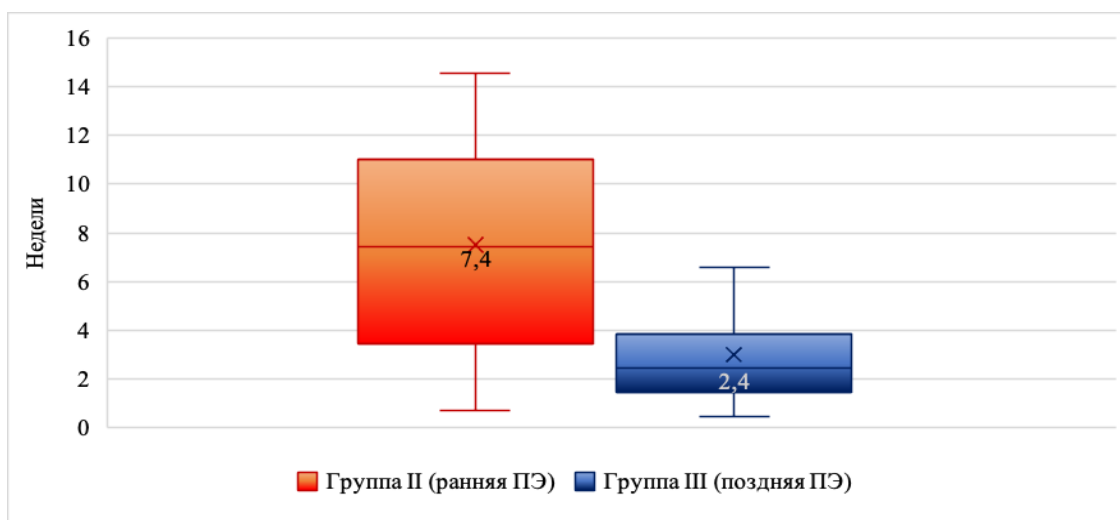


Рисунок 16 – Длительность ПЭ от момента установки диагноза до момента родоразрешения (ретроспективный анализ)

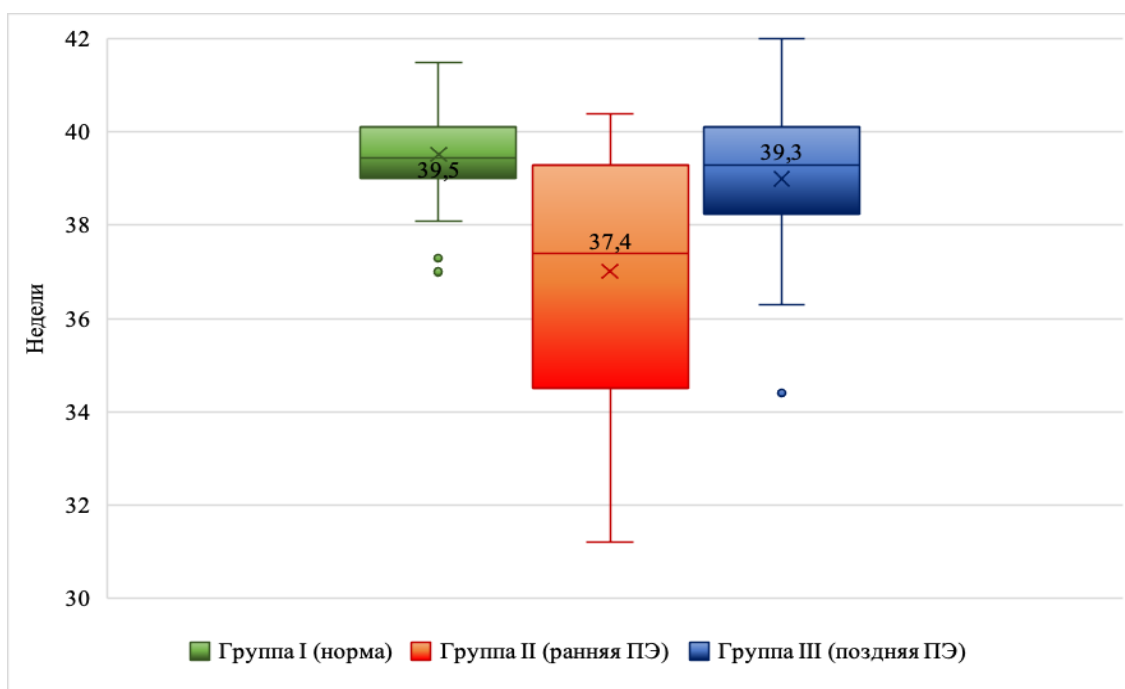


Рисунок 17 – Сроки родоразрешения, ретроспективное исследование

Таблица 20 – Распределение умеренной и тяжелой ПЭ в группах II и III (ретроспективный анализ)

	Группа II (n=35), абс(%)	Группа III (n=65), абс(%)	p
Умеренная ПЭ	6 (17,1)	62 (95,4)	<0,001
Тяжелая ПЭ	29 (82,9)	3 (4,6)	<0,001

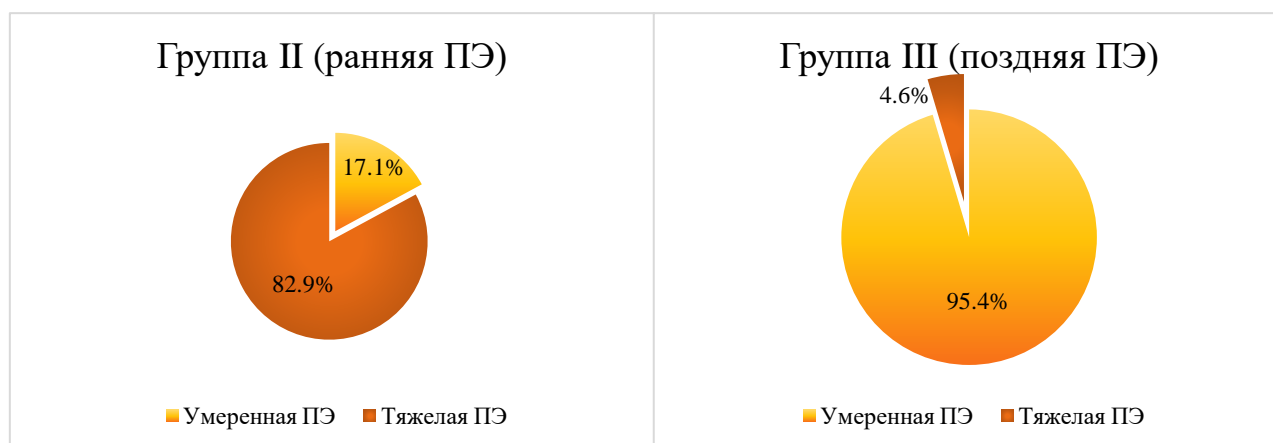


Рисунок 18 – Доля умеренной и тяжелой ПЭ в группе II

Рисунок 19 – Доля умеренной и тяжелой ПЭ в группе III

Таблица 21 – Выраженность клинических симптомов преэклампсии у пациенток ретроспективного этапа исследования

	Группа II (n=35)	Группа III (n=65)	Р
Показатели АД, Ме (Q₁; Q₃)			
САД, мм. Рт. ст.	165 (160; 185)	140 (140; 150)	< 0,001
ДАД, мм. Рт. ст.	110 (110; 115)	90 (90; 95)	< 0,001
Протеинурия, Ме (Q₁; Q₃)			
Протеинурия (г/л)	3,0 (3,0; 5,0)	1,0 (0,5; 1,0)	< 0,001
Скорость клубочковой фильтрации, Ме (Q₁; Q₃)			
СКФ, мл/мин/1,73м ² (75,0–115,0)	107,9 (86,0; 121,5)	115,0 (100,7; 122,2)	0,036
Креатинин, Ме (Q₁; Q₃)			
Креатинин, ммоль/л (95,0-175,0)	123,0 (102,0; 150,5)	109,5 (98,0; 126,0)	0,021
Отеки, абс (%)			
Отсутствуют	2 (5,7)	12 (18,5)	0,072
Локальные	5 (14,3)	34 (52,3)	< 0,001
Выраженные	15 (42,9)	5 (7,7)	< 0,001
Анасарка	6 (17,1)	1 (1,5)	0,003
Неврологическая симптоматика, абс (%)			
Всего	15 (42,9)	6 (9,2)	< 0,001
Головная боль	13 (37,1)	5 (7,7)	< 0,001
Нарушение зрения	6 (17,1)	1 (1,5)	< 0,001

Продолжение таблицы 21

Диурез, абс (%)			
Сохранен (1000-2000 мл/сут)	12 (34,3)	47 (72,3)	< 0,001
Снижен (1000-500 мл/сут)	17 (48,6)	16 (24,6)	0,007
Олигурия (<500 мл/сут)	6 (17,1)	2 (3,1)	0,005
Классическая триада, абс (%)			
Классическая триада	28 (80,0)	52 (80,0)	1,000
Примечание: p II – III - значимость различий между II и III группами; нед – недели гестации			

Сравнительный анализ клинических симптомов ПЭ и лабораторных показателей выявил более выраженные клинические и лабораторные изменения при ранней ПЭ (группа II): медиана АД составила 165/110 мм. рт. ст., степень протеинурии 3 г/л по сравнению с женщинами с поздним дебютом ПЭ, где АД представлено в средних значениях 140/90 мм. рт. ст. и количество белка в общем анализе мочи составляет в среднем 1 г/л ($p < 0,001$). Медианы показателя скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и уровня креатина в моче не выходят за пределы референтных значений, однако при этом обнаружены значимые различия в данных показателях между группами ранней и поздней ПЭ. Классическая триада ПЭ имела место в равной степени в обеих группах, однако выраженные отеки, сопровождаемые снижением диуреза, а также неврологическая симптоматика значительно чаще встречалась у женщин с ранним дебютом ПЭ по сравнению с пациентками с поздним началом данного осложнения беременности, $p < 0,05$. Все результаты анализа представлены в таблице 21.

Таблица 22 – Показатели клинического анализа крови пациенток, включенных в ретроспективный этап исследования

Показатель (нормативные значения)	Группа I (n=100) Me (Q ₁ ; Q ₃)	Группа II (n=35) Me (Q ₁ ; Q ₃)	Группа III (n=65) Me (Q ₁ ; Q ₃)	p*
Гемоглобин, Hb, г/л (117,0-155,0)	113,5 (105,0; 122,3)	101,0 (90,0; 116,5)	111,5 (100,3; 125,8)	p I – II = 0,001 p I – III = 0,913 p II – III = 0,002
Гематокрит, Ht, % (35,0-45,0)	34,4 (32,3; 37,1)	31,7 (29,8; 35,0)	33,8 (31,1; 37,6)	p I – II = 0,012 p I – III = 0,211 p II – III = 0,01
Количество эритроцитов, RBC, 10*12/л (3,80-5,10)	3,99 (3,75; 4,28)	3,8 (3,28; 4,17)	3,93 (3,64; 4,25)	p I – II = 0,452 p I – III = 0,385 p II – III = 0,169
Количество тромбоцитов, PLT, 10*9/л (150-400)	232 (193,3; 269,0)	197 (151,0; 231,0)	221,5 (166,5; 248,0)	p I – II = 0,003 p I – III = 0,083 p II – III = 0,120
Примечание: p I – II - значимость различий между I и II группами; p I – III - значимость различий между I и III группами, p II – III - значимость различий между II и III группами				

При сравнительном изучении показателей клинического анализа крови у пациенток анализируемых групп значимые различия выявлены в отношении снижения уровней гемоглобина и гематокрита в группе II (в среднем 101,0 г/л и 31,7% соответственно) по сравнению с группами I (113,5 г/л и 34,4%) и III (111,5 г/л и 33,8%), что свидетельствует о большей частоте встречаемости анемии у пациенток с ранней ПЭ (таблица 22).

При анализе биохимических показателей также выявлены более значимые различия у II группы (ранняя ПЭ) по сравнению с I (контроль) и III (поздняя ПЭ) группами в показателях АЛТ и ЛДГ, свидетельствующих о дисфункции печени. Кроме того, обнаружено, что уровень кальция в крови у женщин в группе II (медиана = 2,03 ммоль/л) значимо ниже, чем у пациенток в группе III (медиана = 2,21 ммоль/л) – p=0,023 и I (медиана = 2,21 ммоль/л) – p=0,001.

Таблица 23 – Показатели биохимического анализа крови пациенток, включенных в ретроспективную группу ПЭ

Показатель (нормативные значения)	Группа I (n=100) Me (Q ₁ ; Q ₃)	Группа II (n=35) Me (Q ₁ ; Q ₃)	Группа III (n=65) Me (Q ₁ ; Q ₃)	p
Общий белок, г/л (57,0-82,0)	64,2 (61,6; 65,4)	60,2 (55,5; 64,2)	60,5 (54,0; 63,0)	p I-II = 0,003 p I-III = 0,001 p II-III = 0,782
Глюкоза, ммоль/л (4,10-5,90)	4,2 (3,8; 4,7)	3,9 (3,7; 4,4)	4,1 (3,8; 4,6)	p I-II = 0,335 p I-III = 0,187 p II-III = 0,848
Мочевина, ммоль/л (3,20-8,20)	2,9 (2,5; 3,6)	3,8 (3,2; 4,6)	4,0 (3,0; 4,8)	p I-II = 0,154 p I-III = 0,133 p II-III = 0,748
Креатинин, мкмоль/л (44,2- 97,2)	51,0 (42,0; 60,5)	89 (79,0; 95,0)	59,2 (54,2; 66,3)	p I-II < 0,001 p I-III = 0,004 p II-III = 0,761
АЛТ, ед/л (7,0-40,0)	12,0 (9,4; 14,0)	42 (28,5; 56,0)	37,0 (15,8; 57,3)	p I-II < 0,001 p I-III = 0,004 p II-III < 0,001
АСТ, ед/л (0,0-34,0)	21,0 (19,0; 24,5)	34,0 (23,0; 38,0)	27,3 (21,8; 37,0)	p I-II < 0,001 p I-III = 0,003 p II-III = 0,857
Билирубин общий, ммоль/л (5,0-21,0)	8,4 (8,4; 8,4)	11,8 (7,7; 17,9)	8,9 (6,9; 15,3)	p I-II = 0,013 p I-III = 0,175 p II-III = 0,134
Щелочная фосфатаза, ед/л (70,0-290,0)	208,5 (145,8; 297,5)	210,5 (138,8; 265,5)	235,5 (147,5; 367,3)	p I-II = 0,784 p I-III = 0,228 p II-III = 0,181
ЛДГ, ед/л (120- 246,0)	220,5 (173,5; 245,0)	267 (243,0; 372,0)	232,0 (198,8; 270,3)	p I-II < 0,001 p I-III = 0,075 p II-III = 0,046
Na, ммоль/л (132,0-146,0)	137,3 (136,5; 138,1)	137,2 (136,4; 138,4)	137,2 (136,1; 138,0)	p I-II = 0,989 p I-III = 0,811 p II-III = 0,794
Ca, ммоль/л (2,08-2,65)	2,21 (2,10; 2,34)	2,03 (1,95; 2,18)	2,21 (2,06; 2,33)	p I-II = 0,001 p I-III = 0,542 p II-III = 0,023
Mg, ммоль/л (0,77-1,03)	0,87 (0,77; 1,01)	0,84 (0,77; 1,61)	0,87 (0,74; 1,22)	p I-II = 0,086 p I-III = 0,526 p II-III = 0,258
С-реактивный белок, мг/л (0,00-5,00)	2,49 (1,36; 5,25)	20,94 (8,21; 29,14)	33,65 (6,22; 78,55)	p I-II = 0,019 p I-III < 0,001 p II-III = 0,103
Примечание: p I – II - значимость различий между I и II группами; p I – III - значимость различий между I и III группами, p II – III - значимость различий между II и III группами				

Показатель С-реактивного белка (СРБ) был повышен в группах II (медиана = 20,94 мг/л) и III (медиана 33,65 мг/л) и имеет значимую разницу по сравнению с группой I (медиана = 2,49 мг/л). Медианы таких показателей как общий белок, креатинин и АСТ находились в пределах нормативных значений, но при этом была выявлена статистически значимая разница между группами с ПЭ (II и III) и контрольной I группой ($p < 0,05$): «таблица 23».

При сравнении показателей коагулограммы среди исследуемых ретроспективных групп значимых различий не найдено (таблица 24).

Таблица 24 – Показатели коагулограммы крови пациенток, включенных в ретроспективную группу ПЭ

Показатель (нормативные значения)	Группа I (n=100) Me (Q ₁ ; Q ₃)	Группа II (n=35) Me (Q ₁ ; Q ₃)	Группа III (n=65) Me (Q ₁ ; Q ₃)	p
АЧТВ, сек (25,4-36,9)	27,4 (26,1; 29,5)	28 (26,1; 29,5)	27,4 (26,2; 28,7)	$p_{I-II} = 0,278$ $p_{I-III} = 0,818$ $p_{II-III} = 0,313$
Протромбиновое время, сек (9,4-12,5)	10,8 (10,4; 11,1)	10,5 (10,1; 11,2)	10,5 (10,1; 10,9)	$p_{I-II} = 0,250$ $p_{I-III} = 0,080$ $p_{II-III} = 0,619$
Тромбиновое время, сек (10,3-16,6)	13,5 (13,2; 14,3)	14,1 (12,8; 15,8)	13,8 (12,9; 14,4)	$p_{I-II} = 0,839$ $p_{I-III} = 0,230$ $p_{II-III} = 0,144$
МНО (0,80-1,35)	0,99 (0,95; 1,01)	0,98 (0,93; 1,03)	0,96 (0,92; 1,00)	$p_{I-II} = 0,313$ $p_{I-III} = 0,051$ $p_{II-III} = 0,159$
Фибриноген, г/л (2,76-4,71)	5,25 (4,4; 6,0)	5,2 (4,9; 6,1)	5,3 (4,8; 5,9)	$p_{I-II} = 0,830$ $p_{I-III} = 0,915$ $p_{II-III} = 0,719$
D-димер, мкг/мл (0,00-630,00)	-	1881 (935,50; 7236,25)	1875 (1710; 3079)	$p_{II-III} = 0,204$
Примечание: p_{I-II} - значимость различий между I и II группами; p_{I-III} - значимость различий между I и III группами, p_{II-III} - значимость различий между II и III группами				

Анализ методов родоразрешения показал, что самопроизвольными и своевременными родами закончилась беременность у всех пациенток (100%) группы I (норма); в группе II (ранняя ПЭ) - своевременными у 24/35 (68,6%), из них самопроизвольными у 14/35 (40,0%); в группе III (поздняя ПЭ) - своевременными у 60/65 (92,3%), из них самопроизвольными у 28/65 (43,1%). Оперативное

родоразрешение путем вакуум-экстракции было выполнено только в III группе у 6/65 (9,2%) женщин. Кесарево сечение произведено у 21/35 (60%) пациенток II группы и у 30/65 (46,2%) III группы. Преждевременные роды произошли с 34 по 36,6 неделю у 7/35 (20,0%) женщин в группе ранней ПЭ и у 5/65 (7,7%) в группе с поздней ПЭ. 4/35 (11,4%) пациентки преждевременно родоразрешены в сроки с 28 по 33,9 неделю в группе с ранним дебютом ПЭ в виду нарастания тяжести состояния пациенток. Данные представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Методы и сроки родоразрешения пациенток ретроспективного этапа исследования

	Группа I (n=100), абс(%)	Группа II (n=35), абс(%)	Группа III (n=65), абс(%)	p
Метод родоразрешения				
Кесарево сечение	0 (0,0)	21 (60,0)	30 (46,2)	p I-II < 0,001 p I-III < 0,001 p II-III = 0,317
Вакуум-экстракция плода	0 (0,0)	0 (0,0)	6 (9,2)	p I-III = 0,004 p II-III = 0,057
Самопроизвольные роды	100 (100,0)	14 (40,0)	28 (43,1)	p I-II < 0,001 p I-III < 0,001 p II-III = 0,764
Сроки родоразрешения				
Своевременные роды	100 (100,0)	24 (68,6)	60 (92,3)	p I-II = 0,569 p I-III = 0,373 p II-III = 0,001
34-36,6 недель	0 (0,0)	7 (20,0)	5 (7,7)	p I-II < 0,001 p I-III = 0,372 p II-III = 0,089
28-33,9 недель	0 (0,0)	4 (11,4)	0 (0,0)	p I-II < 0,001 p II-III = 0,005
Примечание: p I – II - значимость различий между I и II группами; p I – III - значимость различий между I и III группами, p II – III - значимость различий между II и III группами				

Оперативное родоразрешение путем вакуум-экстракции плода выполнено у 6/65 (9,2 %) пациенток III группы в связи с острой гипоксией плода. Показанием к операции кесарева сечения во II группе (ранняя ПЭ) в большинстве случаев явилось нарастание тяжести ПЭ (5/35; 14,3%) и ухудшение течения соматического заболевания на фоне отягощенного акушерско-гинекологического анамнеза (4/35; 11,4%). В группе III (поздняя ПЭ) показаниями к кесареву сечению послужило в основном ухудшение состояния пациенток с отягощенным соматическим анамнезом (9/65; 13,8%), а также рубец на матке после двух и более операций кесарева сечения/миомэктомии. Основные показания к оперативному родоразрешению у пациенток анализируемых групп представлены на рисунках 20, 21.



Рисунок 20 – Показания для оперативного родоразрешения в группе II – ранняя ПЭ (ретроспективный анализ)



Рисунок 21 – Показания для оперативного родоразрешения в группе III – поздняя ПЭ (ретроспективный анализ)

По результатам сравнительного анализа послеродового периода: кровопотеря в родах и при оперативном родоразрешении не превышала физиологически допустимую норму, случаев ранних и поздних осложнений среди изученных групп выявлено не было. Средние сроки выписки родильниц с новорожденными значительно отличались между группой I (норма) – выписка на $3,3 \pm 0,7$ суток и группами II (ранняя ПЭ), III (поздняя ПЭ) – выписка на $5,0 \pm 1,5$ в каждой из групп ($p < 0,001$).

Следующим этапом были проанализированы неонатальные исходы. В группе II родилось две двойни ($n=37$). Значимые различия выявлены в таких показателях, как рост – между всеми группами ($p < 0,001$), вес и оценка по Апгар между I группой и группами с ранней и поздней ПЭ ($p < 0,001$). Все данные представлены в таблице 26.

Таблица 26 – Характеристика новорожденных в анализируемых группах (ретроспективное исследование)

Показатели	Группа I (n=100)	Группа II (n=37)	Группа III (n=65)	p
Живорожденный ребенок, абс (%)	100 (100,0)	34 (91,9)	65 (100,0)	p I-II < 0,001 p I-III = 1,000 p II-III = 0,007
Мертворожденный ребенок, абс (%)	0 (0,0)	3 (8,1)	0 (0,0)	p I-II < 0,001 p II-III = 0,016
Пол ребенка: мальчик, абс (%)	59 (59,0)	19 (51,4)	44 (67,7)	p I-II = 0,106 p I-III = 0,230 p II-III = 0,072
Пол ребенка: девочка, абс (%)	41 (41,0)	18 (48,6)	21 (32,3)	p I-II = 0,106 p I-III = 0,271 p II-III = 0,072
Рост при рождении (см), M ± SD	52±2	48±5	51±3	p I-II < 0,001 p I-III = 0,377 p II-III < 0,001
Вес при рождении (г), M ± SD	3441±383	2763±752	3357±701	p I-II < 0,001 p I-III = 0,326 p II-III < 0,001
Баллы по Апгар, 1 минута, M ± SD	8,0±0,2	7,5±0,5	7,5±1,1	p I-II < 0,001 p I-III < 0,001 p II-III = 0,941
Баллы по Апгар, 5 минута, M ± SD	9,0±0,2	8,3±0,8	8,4±1,1	p I-II < 0,001 p I-III < 0,001 p II-III = 0,669
Выписка домой (сутки), M ± SD	3,3±0,7	5,0±1,5	5,0±1,5	p I-II < 0,001 p I-III < 0,001 p II-III = 0,110
Перевод на второй этап выхаживания, абс(%)	0 (0,0)	14 (37,8)	13 (20,0)	p I-II < 0,001 p I-III < 0,001 p II-III = 0,046
Примечание: p I – II - значимость различий между I и II группами; p I – III - значимость различий между I и III группами, p II – III - значимость различий между II и III группами				

Неонатальных осложнений среди новорожденных группы I (норма) не было, поэтому последующий сравнительный анализ затронул исключительно группы с ПЭ. В группе II (ранняя ПЭ) количество маловесных к сроку гестации новорожденных было выявлено значимо больше – 13/37 (35,1%), чем в группе III (поздняя ПЭ) – 11/65 (16,9%), $p=0,028$, кроме того, в группе II значительно чаще диагностирована дыхательная недостаточность – 12 из 37 (32,4%) новорожденных по сравнению с III группой, где данное осложнение составило 11 из 65 (16,9%) новорожденных ($p=0,036$).

Таблица 27 – Неонатальные исходы в анализируемых группах ретроспективного этапа

Показатели		Группа II (n=37), абс(%)	Группа III (n=65), абс(%)	p
Маловесный ребенок к сроку гестации		13 (35,1)	11 (16,9)	$p_{II-III} = 0,028$
Транзиторное тахипное		4 (10,8)	2 (3,1)	$p_{II-III} = 0,110$
Апноэ		1 (2,7)	0 (0,0)	$p_{II-III} = 0,134$
Дыхательная недостаточность (средней степени тяжести)		12 (32,4)	11 (16,9)	$p_{II-III} = 0,036$
Неонатальная аспирация мекония		0 (0,0)	1 (1,5)	$p_{II-III} = 0,317$
РДС		8 (21,6)	6 (9,2)	$p_{II-III} = 0,046$
Внутриутробная гипоксия		2 (5,4)	2 (3,1)	$p_{II-III} = 0,453$
Асфиксия новорожденного	Средняя степень	1 (2,7)	4 (6,2)	$p_{II-III} = 0,497$
	Тяжелая степень	0 (0,0)	1 (1,5)	$p_{II-III} = 0,317$
ВУИ		2 (5,4)	2 (3,1)	$p_{II-III} = 0,453$
Синдром угнетения нервной системы		14 (37,8)	14 (21,5)	$p_{II-III} = 0,072$
Судорожный синдром		1 (2,7)	4 (6,2)	$p_{II-III} = 0,497$
Неонатальная гипербилирубинемия		2 (5,4)	1 (1,5)	$p_{II-III} = 0,238$
Некротизирующий энтероколит новорожденных		1 (2,7)	0 (0,0)	$p_{II-III} = 0,134$
Кровоизлияние в желудочки мозга (нетравматическое)		1 (2,7)	2 (3,1)	$p_{II-III} = 0,317$
Тромбоцитопения		0 (0,0)	1 (1,5)	$p_{II-III} = 0,317$
Примечание: группа II – ранняя ПЭ (n=37); группа III – поздняя ПЭ (n=65)				



Рисунок 22 – Неонатальные исходы в анализируемых группах ретроспективного этапа

Респираторный дистресс-синдром также регистрировался значительно чаще в группе II – у 8/37 (21,6%) детей в сравнении с III группой – у 6/65 (9,2%) детей, $p=0,046$. Частота таких осложнений, как транзиторное тахипное, апноэ, аспирация меконием, ВУИ, судорожный синдром, тромбоцитопения между группами значительно не отличалась ($p>0,05$) (таблица 27 и рисунок 22).

3.3. Прогностическая модель развития ранней и поздней преэклампсии

На основании подробного анализа клинико-анамнестических данных с помощью алгоритма логистической регрессии нами выявлены наиболее значимые для развития ПЭ предикторные переменные с последующей разработкой прогностических моделей.

В отношении развития ранней ПЭ расчет отношения шансов (ОШ) и относительного риска (ОР) представлены в таблице 28. Наиболее значимыми факторами высокого риска развития ранней ПЭ оказались следующие: хроническая артериальная гипертензия, хронический пиелонефрит, невынашивание беременности в анамнезе, бесплодие, плацентарные нарушения в анамнезе (ПЭ и ЗРП), высокий индивидуальный риск ПЭ и ЗРП по данным I пренатального скрининга, нарушения маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока во время данной беременности.

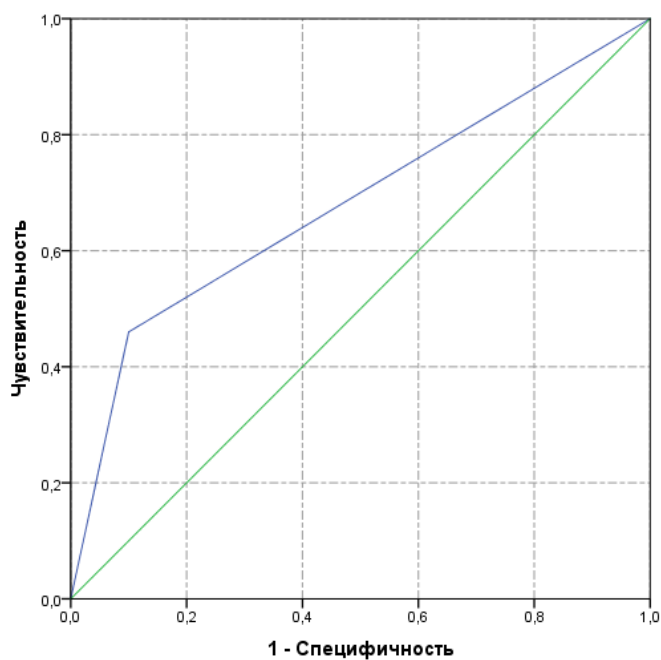
Таблица 28 – Факторы высокого риска развития ранней преэклампсии (ОШ - отношение шансов, ОР - относительный риск)

Фактор риска	ОШ	ОР	95% ДИ	p
ХАГ в анамнезе	34,6	4,76	3,80-5,96	<0,001
Хронический пиелонефрит	3,9	2,35	1,29-4,28	0,030
Самопроизвольные выкидыши в анамнезе	3,3	2,17	1,17-4,02	0,041
Бесплодие в анамнезе	12,9	4,20	1,31-13,33	<0,001
ПЭ в анамнезе	12,9	4,22	2,37-7,52	<0,001

Продолжение таблицы 28

ЗРП в анамнезе	9,4	4,17	0,91-3,82	0,005
Высокий риск ПЭ по данным I скрининга	16,5	3,58	2,20-5,75	0,021
Высокий риск ЗРП по данным I скрининга	12,8	3,21	1,87-5,44	0,027
НМПК, выявленное во II триместре	20,7	4,44	2,84-7,10	0,019
НМПК, выявленное в III триместре	27,2	5,25	3,32-8,33	0,016

С помощью метода множественной логистической регрессии была разработана прогностическая модель развития ранней ПЭ с последующим проведением ROC-анализа. ROC-кривая представлена на рисунке 23: площадь под ROC-кривой составила 0,68, что свидетельствует о среднем качестве прогностической модели (чувствительность – 66%, специфичность – 60%).



Чувствительность	1 - Специфичность
0,660	0,600

Площадь под кривой

Область	Стандартная ошибка ^a	Асимптотическая значимость ^b	Асимптотический 95% доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,680	0,038	<0,0001	0,605	0,755

a. В соответствии с непараметрическим предположением

b. Нулевая гипотеза: = действительная площадь = 0,5

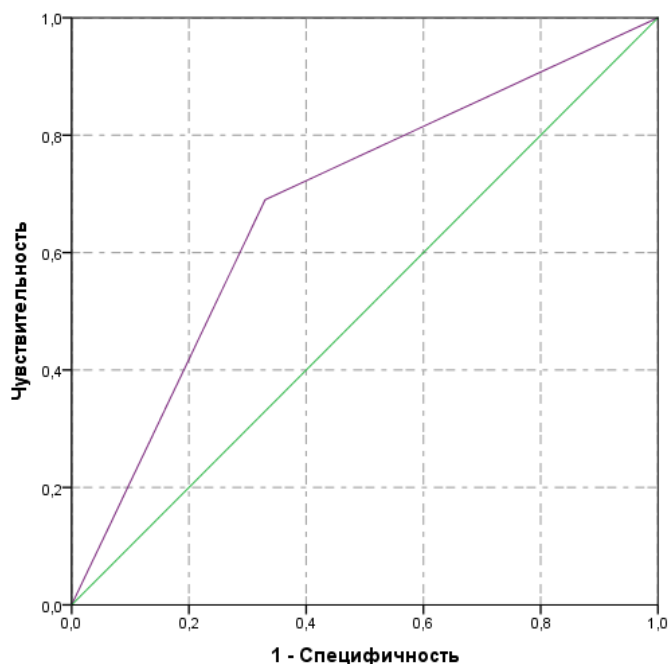
Рисунок 23 – ROC-кривая, характеризующая вероятность возникновения ранней ПЭ в зависимости от наиболее значимых факторов риска

В отношении развития поздней ПЭ статистически значимыми факторами риска оказались ПЭ и ЗРП в анамнезе, наследственная тромбофилия, беременность, наступившая в результате ЭКО, высокий индивидуальный риск возникновения ПЭ и ЗРП по данным I пренатального скрининга, а также нарушения маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока во время данной беременности (ОШ и ОР представлены в таблице 29).

Таблица 29 – Факторы высокого риска развития поздней преэклампсии (ОШ - отношение шансов, ОР - относительный риск)

Фактор риска	ОШ	ОР	95% ДИ	p*
Наследственная тромбофилия	8,3	2,67	1,72-4,12	0,027
Беременность, наступившая в результате ЭКО	10,2	2,70	1,84-3,94	0,020
ПЭ в анамнезе	6,6	2,64	1,55-4,48	0,040
ЗРП в анамнезе	4,8	2,63	1,34-5,21	0,035
Высокий риск ПЭ по данным I скрининга	35,1	2,89	2,32-3,89	0,012
Высокий риск ЗРП по данным I скрининга	29,7	2,79	2,16-3,36	0,007
НМПК, выявленное в III триместре	22,6	2,90	2,20-3,78	0,005

С учетом перечисленных факторов разработана прогностическая модель развития поздней ПЭ. ROC-кривая представлена на рисунке 24: площадь под кривой составила 0,520 (прогностическая модель среднего качества), чувствительность - 40%, специфичность – 53%.



Чувствительность	1 - Специфичность
0,400	0,530

Площадь под кривой

Область	Стандартная ошибка ^a	Асимптотическая значимость ^b	Асимптотический 95% доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,520	0,039	<0,0001	0,490	0,610

a. В соответствии с непараметрическим предположением

b. Нулевая гипотеза: = действительная площадь = 0,5

Рисунок 24 – ROC-кривая, характеризующая вероятность возникновения поздней ПЭ в зависимости от наиболее значимых факторов риска

В результате обе прогностические модели, включающие анамнестические и некоторые клинические данные, обладают довольно низкой чувствительностью и специфичностью для клинического применения, что требует поиска и разработки более эффективных предиктивных маркеров.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1. Общая клинико-анамнестическая характеристика пациенток, включенных в проспективное исследование

В данный этап исследования включено 80 пациенток: 40 соматически здоровых женщин с неосложненным течением беременности (контрольная группа) и 40 женщин с ПЭ (основная группа). У 20 пациенток основной группы имела место ранняя ПЭ, и у 20 – поздняя ПЭ.

Критериями невключения в исследования являлись инфекционные и воспалительные процессы любой локализации, выявленные пороки развития плода, хромосомные и генетические аномалии его развития. Всем женщинам основной и контрольной группы, помимо общеклинических, лабораторных и инструментальных методов обследования, проводился глобальный анализ протеома плазмы крови с использованием хромато-масс-спектрометрии сверхвысокого разрешения. Забор крови для оценки протеома плазмы у пациенток основной группы производился при поступлении в акушерский стационар до начала терапевтических мероприятий; у пациенток контрольной группы – в сроки 37-39 недель для сравнения с подгруппой с поздней ПЭ, в 30-32 недель – для сравнения с подгруппой с ранней ПЭ.

Основная и контрольная группы были сопоставимы по возрасту, социальному статусу, наличию вредных привычек (курение, употребление алкоголя, наркотических средств). Средний возраст в контрольной группе составил 28 (27; 31) лет, в основной – 30 (29; 35) лет ($p=0,075$). Число первобеременных, вошедших в основную группу, - 19 (47,5 %), в контрольную – 21 (52,5 %), $p=0,72$. ИМТ в основной группе был значимо выше и составил 31,6 (26,6;35,3) кг/м², в контрольной группе – 26,3 (23,7;27,8) кг/м².

Таблица 30 – Возраст, конституциональные особенности, паритет беременностей пациенток анализируемых групп

	Контрольная группа (n=40)	Основная группа (n=40)	p
Возраст (лет), Me (Q ₁ ; Q ₃)	28 (27;31)	30 (29;35)	0,075
ИМТ (кг/м ²), Me (Q ₁ ; Q ₃)	26,3 (23,7;27,8)	31,6 (26,6;35,3)	0,004
Первобеременные, абс(%)	21 (52,5)	19 (47,5)	0,717

Примечание: данные представлены в виде медианы с интерквартильным интервалом (тест Манна-Уитни).

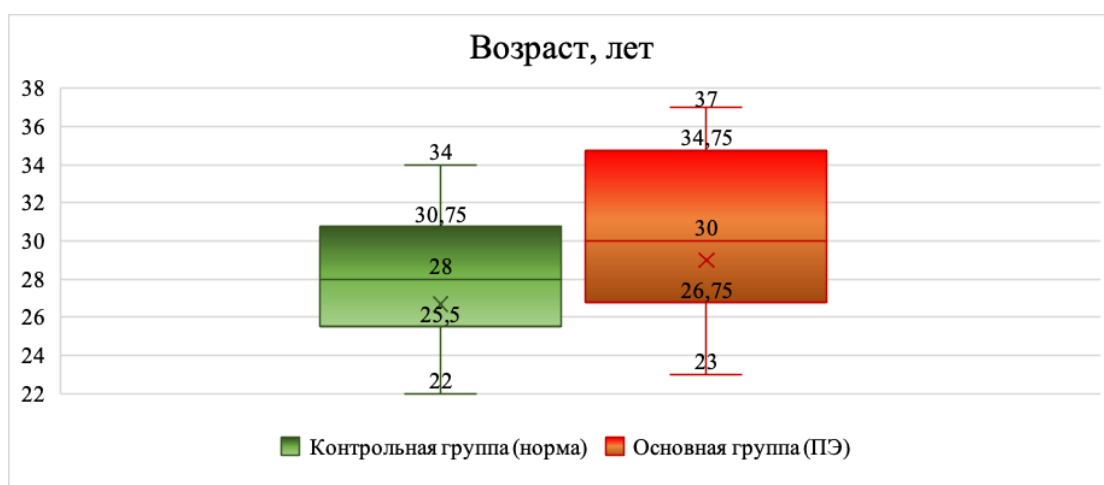


Рисунок 25 – Возраст пациенток проспективных групп

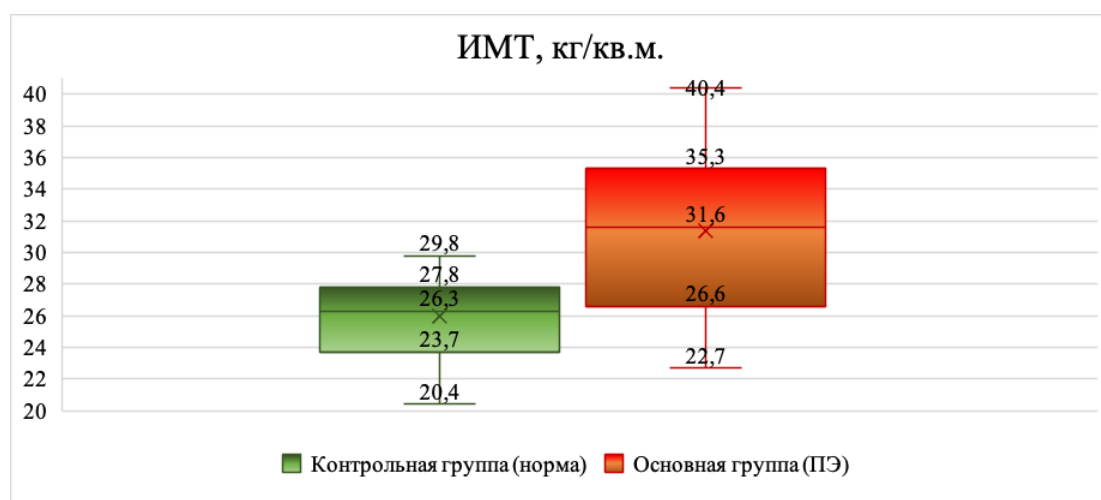


Рисунок 26 – ИМТ пациенток, включенных в проспективное исследование

Экстрагенитальные заболевания у пациенток анализируемых групп представлены в таблице 31. Наиболее часто в основной группе регистрировались

хроническая артериальная гипертензия (у 13 (32,5%) женщин) и ожирение (у 27 (67,5%) пациенток), ($p < 0,05$). При анализе гинекологических заболеваний значимых различий между основной и контрольной группой не выявлено (таблица 32).

Таблица 31 – Экстрагенитальные заболевания у пациенток проспективного этапа исследования

Сопутствующие диагнозы	Контрольная группа (n=40), абс(%)	Основная группа (n=40), абс(%)	p*
Детские инфекции (краснуха, ветряная оспа)	4 (27,5)	13 (32,5)	0,6926
Ожирение	0 (0,0)	27 (67,5)	0,0042
ЛОР-заболевания (хронический ринит, хронический тонзиллит, хронический фарингит)	8 (20,0)	11 (27,5)	0,7070
Болезни дыхательной системы (хронический бронхит, пневмония в анамнезе, бронхиальная астма)	5 (12,5)	2 (5,0)	0,7171
Заболевания эндокринной системы (гипотиреоз, тиреотоксикоз, СД)	0 (0,0)	2 (5,0)	0,7862
Болезни нервной системы (энцефалопатия, демиелинизирующие заболевания ЦНС, эпилепсия и др.)	0 (0,0)	8 (20,0)	0,44
Заболевания сердечно-сосудистой системы: - врожденные пороки сердца, кардиомиопатия - ХАГ	0 (0,0) 0 (0,0)	2 (5,0) 13 (32,5)	0,1500 <0,0001
Заболевания пищеварительной системы (хронический гастрит, хронический холецистит, хронический панкреатит, хр. гепатит)	5 (12,5)	5 (12,5)	1,0000
Болезни мочевыделительной системы (хронический пиелонефрит, хронический цистит, МКБ)	0 (0,0)	5 (12,5)	0,5988
Примечание: данные представлены в виде абсолютного числа и доли (%) пациенток, точный критерий Фишера, Z-критерий для долей с поправкой для конечных точек (0%).			

Таблица 32 – Гинекологические заболевания пациенток проспективного этапа исследования

	Контрольная группа (n=40), абс(%)	Основная группа (n=40), абс(%)	p*
Половые инфекции	0 (0,0)	2 (5,0)	0,7862
Полип цервикального канала/эндометрия, гиперплазия эндометрия	0 (0,0)	2 (5,0)	0,7862
Миома матки	2 (5,0)	2 (5,0)	1,0000
Генитальный эндометриоз	0 (0,0)	2 (5,0)	0,7862
Хронический сальпингоофорит	0 (0,0)	2 (5,0)	0,7862
Синдром поликистозных яичников	0 (0,0)	8 (20,0)	0,1447
Бесплодие	0 (0,0)	5 (12,5)	0,5988
Беременность, наступившая в результате ВРТ (ЭКО)	0 (0,0)	5 (12,5)	0,5988
Примечание: данные представлены в виде абсолютного числа и доли (%) пациенток, точный критерий Фишера, Z-критерий для долей с поправкой для конечных точек (0%).			

Количество повторнобеременных в контрольной группе составило 19 (47,5%) женщин и в основной – 21 (52,5%) беременных. Из них все беременные контрольной группы в анамнезе имели самопроизвольные своевременные роды, в основной группе - у 19 (47,5%) были своевременные и у 2 (5,0%) преждевременные роды, 5 (12,5%) из которых закончились путем операции кесарева сечения. Также у 5 (12,5%) пациенток основной группы в анамнезе имели место неразвивающиеся беременности, у 8 (20,0%) - самопроизвольные выкидыши. У 5 (12,5%) женщин отмечено развитие ПЭ во время предыдущих беременностей (таблица 33).

Таблица 33 – Исходы предшествующих беременностей у пациенток проспективного этапа исследования

	Контрольная группа (n=40), абс(%)	Основная группа (n=40), абс(%)	p*
Преждевременные роды	0 (0,0)	2 (5,0)	0,7862

Продолжение таблицы 33

Своевременные роды	19 (47,5)	19 (47,5)	1,0000
Оперативные роды (кесарево сечение)	0 (0,0)	5 (12,5)	0,5988
Внематочная беременность	0 (0,0)	2 (5,0)	0,7862
Самопроизвольный выкидыш	0 (0,0)	8 (20,0)	0,1447
Неразвивающаяся беременность	0 (0,0)	5 (12,5)	0,5988
ПЭ во время предыдущей беременности	0 (0,0)	5 (12,5)	0,5988
Примечание: данные представлены в виде абсолютного числа и доли (%) пациенток, точный критерий Фишера, Z-критерий для долей с поправкой для конечных точек (0%).			

Течение беременности по триместрам у пациенток анализируемых групп представлены в таблице 34. Неосложненное течение первого триместра отмечалось у 32/40 (80%) беременных контрольной группы, что значимо выше, чем в основной группе - у 23/40 (57,5%), ($p=0,05$).

При проведении пренатального скрининга в сроки гестации с 11 по 13,6 недель в группе контроля высокий риск развития ПЭ выявлен у 3 (7,5%) пациенток, в основной группе – у 24 (60%) беременных. При этом у 16 (40%) женщин с диагностированной ПЭ риск развития ПЭ во время I пренатального скрининга был оценен как «низкий» (таблица 34).

Неосложненное течение второго триместра беременности отмечалось у 27 (67,5%) пациенток контрольной и у 5 (12,5%) пациенток основной группы. В основной группе у 16 (40%) выявлено повышение АД и у 5 (12,5%) наличие протеинурии, что свидетельствует о манифестации ПЭ, у 24 (60%) женщин выявлено НМПК по данным доплерометрии.

Третий триместр у всех пациенток основной группы (40/100%) согласно критериям включения протекал на фоне ПЭ, у 29 (72,5%) выявлено ЗРП, у 27 (67,5%) - НМПК. У 5 (12,5%) пациенток основной группы произошла преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, у 2 (5%) произошла антенатальная гибель плода.

Таблица 34 – Особенности течения беременности у пациенток основной и контрольной группы

	Контрольная группа (n=40), абс(%)	Основная группа (n=40), абс(%)	p
I триместр			
Рвота беременных	5 (12,5)	0 (0,0)	0,2178
Анемия	0 (0,0)	5 (12,5)	0,2178
Угроза прерывания беременности	8 (20,0)	8 (20,0)	1,0000
Артериальная гипертензия	0 (0,0)	2 (5,0)	0,5988
Бессимптомная бактериурия, цистит, пиелонефрит	0 (0,0)	2 (5,0)	0,5988
Гипотиреоз	2 (5,0)	0 (0,0)	0,5988
Неосложненное течение I триместра	32 (80,0)	23 (57,5)	0,0455
Пренатальный скрининг («Astraia»): риск ПЭ высокий	3 (7,5)	24 (60,0)	0,0010
риск ПЭ низкий	37 (92,5)	16 (40,0)	0,0010
II триместр			
Анемия	0 (0,0)	8 (20,0)	0,1447
ОРВИ	8 (20,0)	5 (12,5)	0,3657
Артериальная гипертензия	0 (0,0)	16 (40,0)	0,1178
Протеинурия	0 (0,0)	5 (12,5)	0,2178
Бессимптомная бактериурия, цистит, пиелонефрит	2 (5,0)	5 (12,5)	0,4419
Угроза прерывания беременности	5 (12,5)	8 (20,0)	0,3657
НМПК IA ст.	0 (0,0)	21 (52,5)	0,0042
НМПК II ст	0 (0,0)	2 (5,0)	0,5988
НМПК всего	0 (0,0)	24 (60,0)	0,0038
ЗРП	0 (0,0)	5 (12,5)	0,5988
Неосложненное течение II триместра	27 (67,5)	5 (12,5)	0,0325
III триместр			
Анемия	2 (5,0)	8 (20,0)	0,3157
Внутрипеченочный холестаз	2 (5,0)	2 (5,0)	0,5988
Артериальная гипертензия	0 (0,0)	40 (100,0)	0,0018
Протеинурия	0 (0,0)	40 (100,0)	0,0018
Отеки	0 (0,0)	40 (100,0)	0,0018
ЗРП	0 (0,0)	29 (72,5)	0,0010
Маловодие	0 (0,0)	5 (12,5)	0,2178
Многоводие	0 (0,0)	2 (5,0)	0,5988
НМПК IA ст.	0 (0,0)	23 (57,5)	0,0044
НМПК II ст	0 (0,0)	2 (5,0)	0,5988
НМПК III ст	0 (0,0)	2 (5,0)	0,5988
НМПК всего	0 (0,0)	27 (67,5)	0,0018
ПОНРП	0 (0,0)	5 (12,5)	0,2178
Аntenатальная смерть плода	0 (0,0)	2 (5,0)	0,2178
Примечание: данные представлены в виде абсолютного числа и доли (%) пациенток, точный критерий Фишера, Z-критерий для долей с поправкой для конечных точек (0%).			

Сроки манифестации ранней ПЭ составили в среднем 28,0 (26;33) недель, поздней – 36,4 (34; 38) недели. Протеинурия в основной группе составила в среднем 3,0 (2,0;5,56) г/л, САД и ДАД - 160 (160;180) и 100 (100;120) мм. рт. ст.; в контрольной группе - 110 (110;120) и 70 (70;80) мм. рт. ст. соответственно. У всех 40 (100%) пациенток основной группы зарегистрированы отеки. Ранняя ПЭ у всех беременных протекала в тяжелой форме, степень тяжести поздней ПЭ у 15 из 20 (75 %) оценена как умеренная.

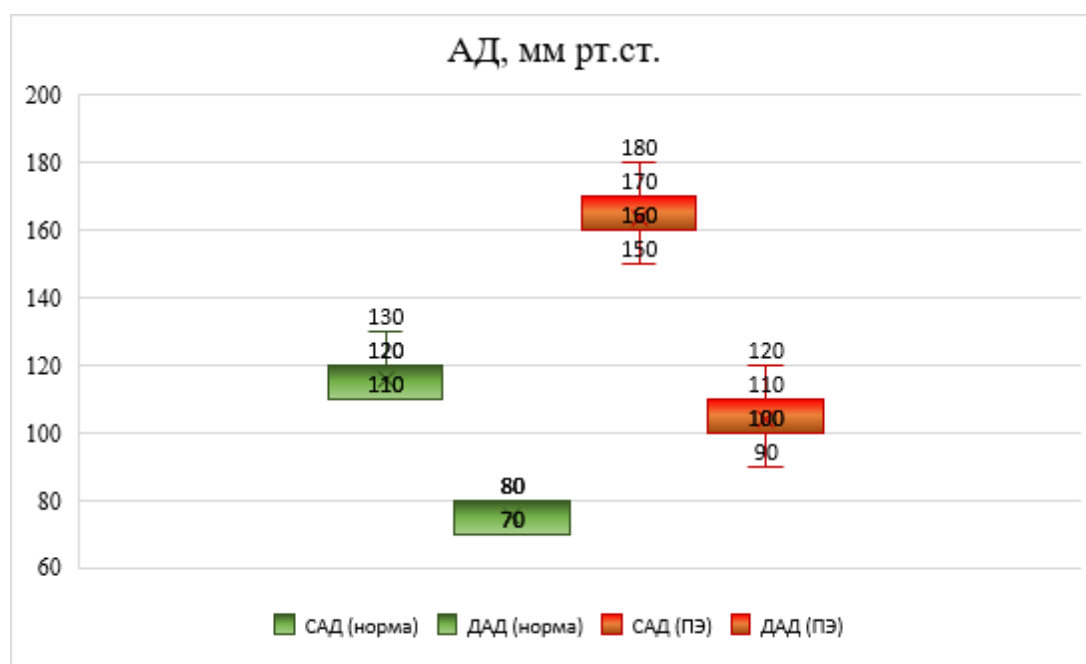


Рисунок 27 – Уровни артериального давления в основной и контрольной группах

При анализе лабораторных показателей в основной группе по сравнению с контрольной имели место сниженный уровень гемоглобина, гематокрита и количества эритроцитов ($p=0,002$), более высокий уровень креатинина ($p=0,013$) (хотя данный показатель находился в пределах референсных значений), С-реактивного белка ($p=0,038$), снижение показателя СКФ ($p=0,003$). Отмечено также снижение содержания кальция ($p=0,014$) и магния ($p=0,020$) в крови у беременных основной группы в сравнении с контрольной. При анализе коагулограммы выявлено значимое повышение уровня Д-димеров у беременных основной группы ($p<0,001$) (таблица 35).

Таблица 35 – Основные лабораторные показатели у пациенток анализируемых групп проспективного этапа исследования

	Контрольная группа (n=40) Me (Q ₁ ; Q ₃)	Основная группа (n=40) Me (Q ₁ ; Q ₃)	p
Клинический анализ крови			
Гемоглобин, г/л (120,0-140,0)	123 (117;129)	107 (97;119)	0,002
Гематокрит, % (34,7-47,0)	35,8 (34,9;39,1)	31,6 (27,5;36,4)	0,002
Количество эритроцитов, 10*12/л, (3,7-4,9)	4,26 (4,09;4,41)	3,81 (3,53;4,08)	0,002
Количество тромбоцитов, 10*9/л (180,0-320,0)	218,0 (181,0;269,0)	181,0 (155,0;248,0)	0,206
Биохимический анализ крови			
Общий белок крови, г/л (64,0-82,0)	70,4 (70,4;70,4)	56,3 (52,9;59,9)	0,064
Глюкоза, ммоль/л (3,5-6,1)	3,94 (3,88;4,01)	4,55 (4,25;5,45)	0,308
Креатинин, мкмоль/л (53,0-106,0)	61,0 (52,3;69,7)	79,9 (67;86)	0,013
Мочевина, ммоль/л (2,5-7,4)	2,8 (2,2; 6,1)	5,3 (4,7;6,7)	0,077
АСТ, МЕ/л (0,0-40,0)	20,3 (15,1;25,5)	25,0 (20,3;35,0)	0,333
АЛТ, МЕ/л (0,0-40,0)	14,5 (8,1;20,9)	22,0 (17,6;28,0)	0,205
ЛДГ, МЕ/л (0-248,0)	235,6 (225,6;245,6)	267 (211,3;321,3)	0,823
Билирубин общий, ммоль/л (3,0-20,5)	5,3 (4,2;6,4)	5,6 (3,2;5,9)	0,763
Щелочная фосфатаза, ед/л (30,0-112,0)	100,2 (95,3;105,2)	152,1 (106,6;238,1)	0,257
Кальций, ммоль/л (2,08-2,65)	2,24 (1,71;2,3)	1,87 (1,8;2,0)	0,014
Магний, ммоль/л (0,77-1,03)	1,5 (1,14;1,65)	1,1 (0,89;1,2)	0,020
Na, ммоль/л (135,0-145,0)	139,0 (138,0;140,0)	136,5 (135,0;137,9)	0,079
С-реактивный белок, мг/л (0,00- 5,00)	5 (3;10)	50 (33;76)	0,038
Коагулограмма			
АЧТВ, сек (23,0-35,0)	27,3 (26,7;27,9)	29 (27,4;32,2)	0,369
Фибриноген, г/л (2,00-4,00)	3,85 (3,6;4,1)	4,68 (4,2;5,0)	0,205
Д-димеры, мкг/мл (0,0-250,0)	470,7 (155,6; 768,93)	4168 (1721,5; 6140,4)	<0,001
Общий анализ мочи			
Протеинурия (г/л)	0,0	3,0 (2,5;5,56)	0,005
СКФ, мл/мин/1,73м ² (75,0– 115,0)	119,6 (112,1;149,7)	86,7 (73,0;113,8)	0,003
Примечание: данные представлены в виде медианы с интерквартильным интервалом (тест Манна-Уитни).			

Особенности родоразрешения пациенток основной и контрольной группы представлены в таблице 36.

В контрольной группе беременность закончилась самопроизвольными своевременными родами у всех 40 (100%) пациенток в среднем в сроки 39,5

(38;40,1) недель. В связи с тяжестью состояния и прогрессированием ПЭ преждевременно оперативным путем родоразрешены все пациентки (100%) с ранней ПЭ и 5 (25%) - с поздней ПЭ. Средние сроки родоразрешения - 32,5 (29,0;35,5) недели беременности в группе с ранней ПЭ и 38,6 (37; 39,2) недель – в группе с поздней ПЭ.

Таблица 36 – Сроки и методы родоразрешения в основной и контрольной группе

	Контрольная группа (n=40), абс(%)	Ранняя ПЭ (n=20), абс(%)	Поздняя ПЭ (n=20), абс(%)	p*
Преждевременные роды	0 (0)	20 (100,0)	5 (25,0)	<0,001
Своевременные роды	40 (100)	0 (0)	15 (75,0)	<0,001
Оперативные роды (кесарево сечение)	0 (0)	20 (100,0)	5 (25,0)	<0,001
Срок родоразрешения, нед	39,5 (39,5;40,1)	32,5 (29,0;35,5)	38,6 (37;39,2)	<0,001
Примечание: данные представлены в виде медианы с интерквартильным интервалом (тест Манна-Уитни). * - значимость различий между подгруппами с ранней и поздней ПЭ.				

Перинатальные исходы и течение неонатального периода представлены в таблице 37. Значимых различий в гендерной принадлежности новорожденных в анализируемых группах не выявлено. Вес рожденных детей в основной группе составил в среднем 3380,0 (2870,0;3640,0) кг, в подгруппе с ранней ПЭ - 2260,0 (1027,5;2710,0) кг, с поздней – 3150 (2790; 3560) кг. Оценка по Апгар была существенно ниже у детей от матерей с тяжелой ПЭ: из 35 живорожденных детей 29 (72,5%) имели оценку 6-7 баллов и менее ($p<0,001$) и только 6 (15,0%) – 8-9 баллов ($p<0,001$). В контрольной группе все дети родились в удовлетворительном состоянии.

Таблица 37 – Особенности неонатального периода у детей, рожденных пациентками проспективного этапа исследования

	Контрольная группа (n=40), абс(%)	Основная группа (n=40), абс(%)	p
Пол плода:			
	мужской	16 (40,0)	26 (65,0)
женский	24 (60,0)	14 (35,0)	0,14
Вес ребенка при рождении, кг	3380,0 (2870,0;3640,0)	2860,0 (2250;3271)	<0,001

Продолжение таблицы 37

Оценка по Апгар: 8-10 баллов	40 (100,0)	6 (15,0)	<0,001
6-7 баллов и менее	0 (0,0)	29 (72,5)	<0,001
Аntenатальная смерть плода	0 (0,0)	2 (5)	0,599
Недоношенность	0 (0,0)	25 (62,5%)	<0,001
РДС	0 (0,0)	25 (62,5%)	<0,001
Анемия/тромбоцитопения	0 (0,0)	3 (7,5,0)	0,203
Врожденная пневмония	0 (0,0)	16 (40,0)	<0,001
Церебральная депрессия плода	0 (0,0)	24 (60,0)	<0,001
Неонатальная желтуха	0 (0,0)	16 (40,0)	<0,001

Примечание: данные представлены в виде абсолютного числа и доли (%) пациенток, точный критерий Фишера, Z-критерий для долей с поправкой для конечных точек (0%). Данные представлены в виде медианы с интерквартильным интервалом (тест Манна-Уитни).



Рисунок 28 – Неонатальные исходы новорожденных (проспективное исследование)

Аntenатальная смерть плода произошла у 2 (5%) женщин с тяжелой ранней ПЭ, 25 (62,5%) детей основной группы родились недоношенными, у 25 (62,5%) новорожденных диагностирован респираторный дистресс-синдром, у 16 (40%) – врожденная пневмония, 24 (60%) детей с клиническими признаками церебральной

депрессии и у 16 (40%) новорожденных выявлена неонатальная желтуха. Данные представлены в таблице 37 и на рисунке 28.

4.2. Изучение протеомного профиля плазмы крови

Изучение протеомного профиля плазмы крови у пациенток основной и контрольной группы проведен с использованием хромато-масс-спектрометрии сверхвысокого разрешения. В каждом образце плазмы крови было идентифицировано порядка 1500 белков. Выявлены отличия протеома плазмы крови беременных с ПЭ от контрольной группы по 317 белкам; изменений только трети из данных белков имели статистическую значимость (всего 113 белков, 70 - с повышенной экспрессией, 43 – со сниженной). График Volcano plot, представленный на рисунке 29, иллюстрирует точечное распределение массива дифференциально измененных при ПЭ белков, полученных при масс-спектрометрии.

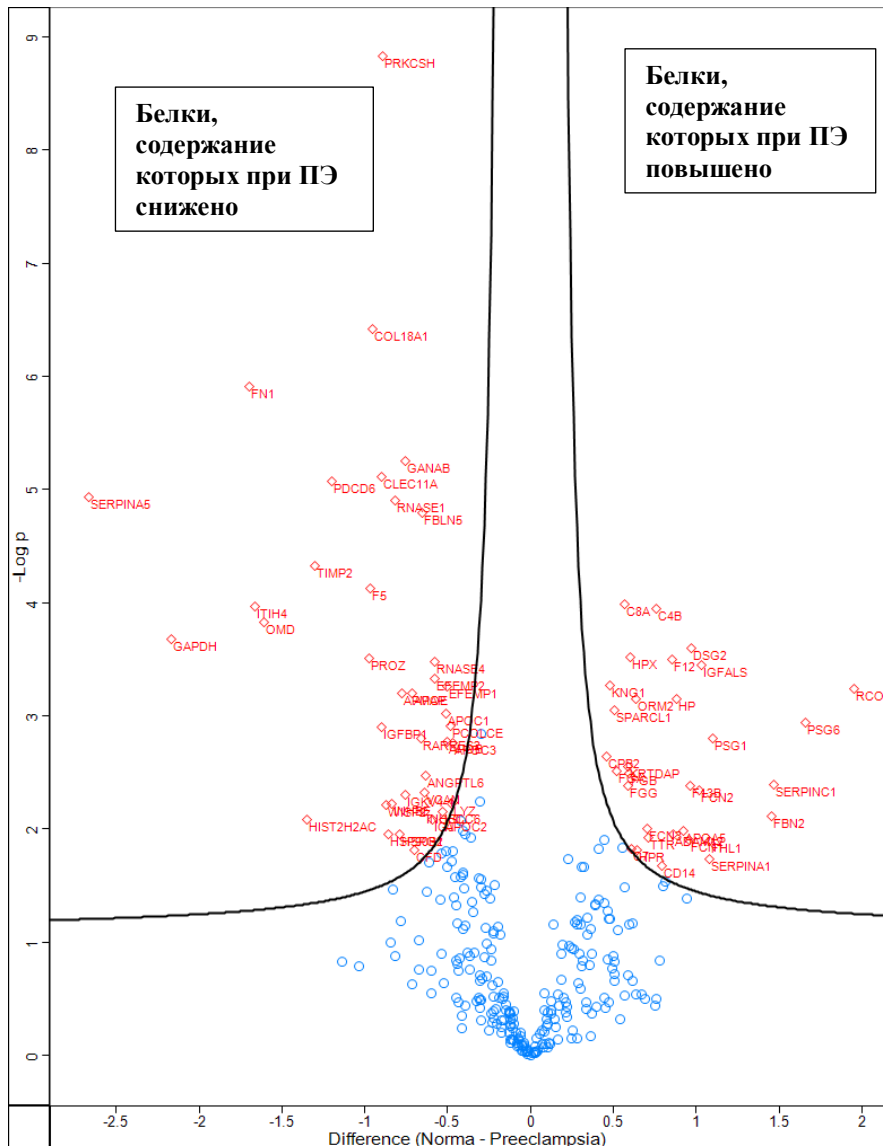


Рисунок 29 – График Volcano plot белков плазмы крови беременных с дифференциальной экспрессией при ПЭ: ось X - \log_2 разница между относительным содержанием белка в норме и при ПЭ, ось Y – отрицательный $\log(p\text{-value})$ - статистической значимости изменения содержания белка при ПЭ по сравнению с контролем (приведены наименования генов, кодирующих значимо измененные при ПЭ белки)

Спектр белков плазмы крови, статистически наиболее значимо отличающихся у беременных с ПЭ по сравнению с контрольной группой, представлен в таблице 38:

Таблица 38 – Белки плазмы крови, имеющие наиболее значимые различия у беременных с ПЭ по сравнению со здоровыми беременными

Ген (Uniprot)*	Название белка	FC* контроль/ПЭ	p value
MAN1A1	Mannosyl-oligosaccharide 1,2-alpha-mannosidase IA	0,78	0,0312
LRP1	Prolow-density lipoprotein receptor-related protein 1	0,66	0,0199
ITM2B	Integral membrane protein 2B	0,81	0,0062
HSPG2	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein	0,58	0,0196
PDCD6	Programmed cell death protein 6	0,44	5,8x10 ⁻⁶
EFEMP2	EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 2	0,67	0,0003
CLEC11A	C-type lectin domain family 11 member A	0,54	0,0001
GANAB	Neutral alpha-glucosidase AB	0,59	1,3x10 ⁻⁶
ANGPTL6	Angiopoietin-related protein 6	0,64	0,0017
CFD	Complement factor D	0,61	0,0229
TGFBI	Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3	0,72	0,0248
HSP90B1	Endoplasmic	0,55	0,0068
INHBC	Inhibin beta C chain	0,64	0,0034
PRKCSH	Glucosidase 2 subunit beta	0,54	1,7x10 ⁻¹⁰
TIMP2	Metalloproteinase inhibitor 2	0,41	0,0001
COL18A1	Collagen alpha-1(XVIII) chain	0,52	1,6x10 ⁻⁸
MMP2	72 kDa type IV collagenase;PEX	0,77	0,0376
RNASE1	Ribonuclease pancreatic	0,57	0,0001
INHBE	Inhibin beta E chain	0,56	0,0144
LUM	Lumican	0,78	0,0109
OMD	Osteomodulin	0,33	0,0006
WISP2	WNT1-inducible-signaling pathway protein 2	0,55	0,0087
SERPINA5	Plasma serine protease inhibitor	0,16	0,0015
APMAP	Adipocyte plasma membrane-associated protein	0,58	0,0005
LTBP1	Latent-transforming growth factor beta-binding protein 1	0,59	0,0334
RNASE4	Ribonuclease 4	0,67	0,0004
RARRES2	Retinoic acid receptor responder protein 2	0,63	0,0015
COLEC11	Collectin-11	0,73	0,0064

Продолжение таблицы 38

Ген (Uniprot)*	Название белка	ФС* контроль/ПЭ	p value
IGFBP1	Insulin-like growth factor-binding protein 1	0,54	0,002
FBLN5	Fibulin-5	0,64	0,0001
EFEMP1	EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1	0,71	0,0008
MASP1	Mannan-binding lectin serine protease 1	0,81	0,0375
F5	Coagulation factor V	0,51	0,0002
PCOLCE	Procollagen C-endopeptidase enhancer 1	0,71	0,0013
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	0,22	0,0037
C1R	Complement C1r subcomponent	0,79	0,0192
C1S	Complement C1s subcomponent	0,81	0,0027
FN1	Fibronectin	0,31	$0,3 \times 10^{-5}$
APOB	Apolipoprotein B-100	0,71	0,0035
ITIH4	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4	0,32	$2,1 \times 10^{-6}$
APOC2	Apolipoprotein C-II	0,7	0,0121
CLU	Clusterin	0,84	0,0446
APOC1	Apolipoprotein C-I	0,7	0,0008
APOC3	Apolipoprotein C-III	0,72	0,0033
APOE	Apolipoprotein E	0,61	0,0006
FGG	Fibrinogen gamma chain	1,5	0,0193
FGB	Fibrinogen beta chain	1,51	0,0117
FGA	Fibrinogen alpha chain	1,44	0,0099
C4B	Complement C4-B	1,69	0,0001
HPX	Hemopexin	1,52	0,0002
PLG	Plasminogen	1,2	0,0139
HP	Haptoglobin	1,84	0,0006
PSG1	Pregnancy-specific beta-1-glycoprotein 1	2,15	0,0022
F12	Coagulation factor XII	1,81	0,0009
KNG1	Kininogen-1	1,39	0,0007
PSG6	Pregnancy-specific beta-1-glycoprotein 6	3,16	0,0001
F13B	Coagulation factor XIII B chain	1,95	0,0273

Продолжение таблицы 38

Ген (Uniprot)*	Название белка	FC* контроль/ПЭ	p value
ADAM12	Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 12	1,82	0,0263
FCN1	Ficolin-1	1,94	0,0048
ORM2	Alpha-1-acid glycoprotein 2	1,55	0,0007
KNG1	Kininogen-1	1,39	0,0218
CAMP	Cathelicidin antimicrobial peptide	1,4	0,0335
SERPIND1	Heparin cofactor 2	1,3	0,0166
C7	Complement component C7	1,53	0,0069
CPB2	Carboxypeptidase B2	1,38	0,0035
MST1	Hepatocyte growth factor-like protein	1,39	0,0075
C6	Complement component C6	1,32	0,0301
SPARCL1	SPARC-like protein 1	1,42	0,0008
C8A	Complement component C8 alpha chain	1,49	0,0001
DSG2	Desmoglein-2	1,96	0,0001
SERPINC1	Antithrombin-III	2,37	0,05

*Примечание: обозначения генов белков приведены в соответствии с базой данных Uniprot (www.uniprot.org). FC (Fold change) - кратность изменения содержания белка между группами

С целью выявления белков, дифференциально представленных в плазме крови между группами пациентов, изучения их молекулярных функций, а также вовлеченность этих белков в различные биологические процессы, был проведен иерархический кластерный анализ с использованием онлайн ресурса DAVID, который является доступным инструментом функционального анализа массивов идентифицированных белков и генов. Для этого дифференцированно экспрессируемые при ПЭ белки плазмы крови с повышенной и сниженной экспрессией анализировались отдельно. Списки идентификаторов каждого белка введены и проанализированы программой DAVID с использованием баз данных Gene Ontology и KEGG (Kyoto Encyclopedia Genes and Genomes).

Нарушения биологических процессов при преэклампсии, связанные с повышенными уровнями белков протеома

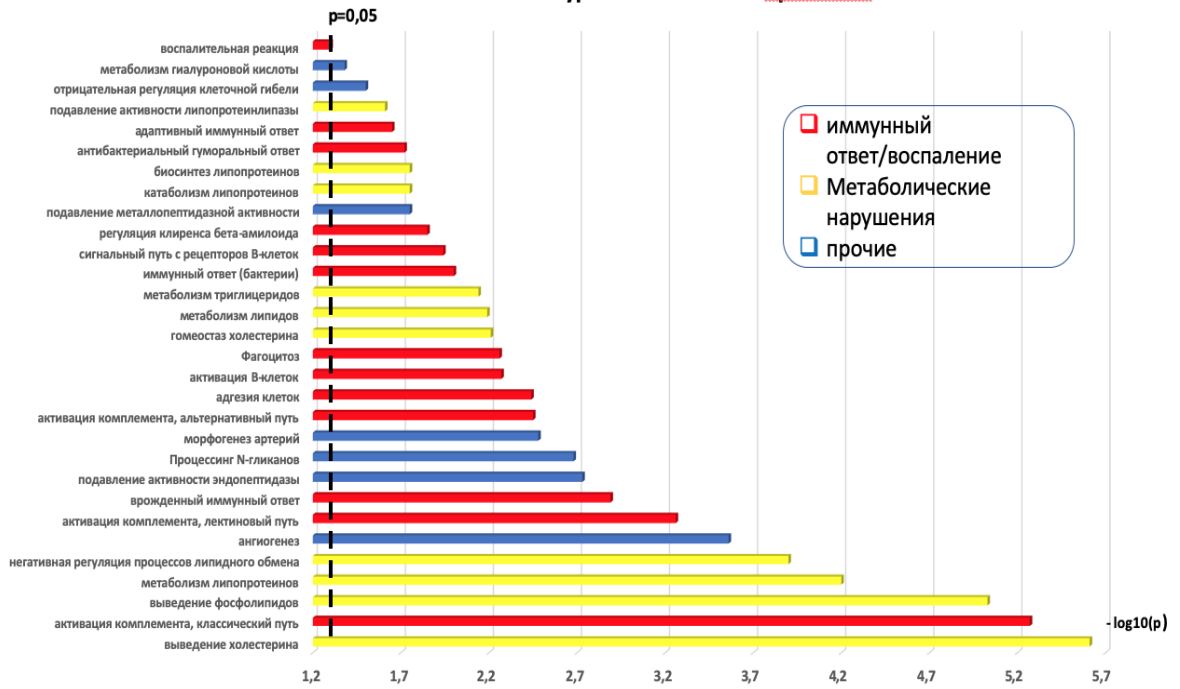


Рисунок 30 – Биологические процессы с участием белков протеома с повышенными при ПЭ уровнями

Нарушения биологических процессов при преэклампсии, связанные со сниженными уровнями белков протеома

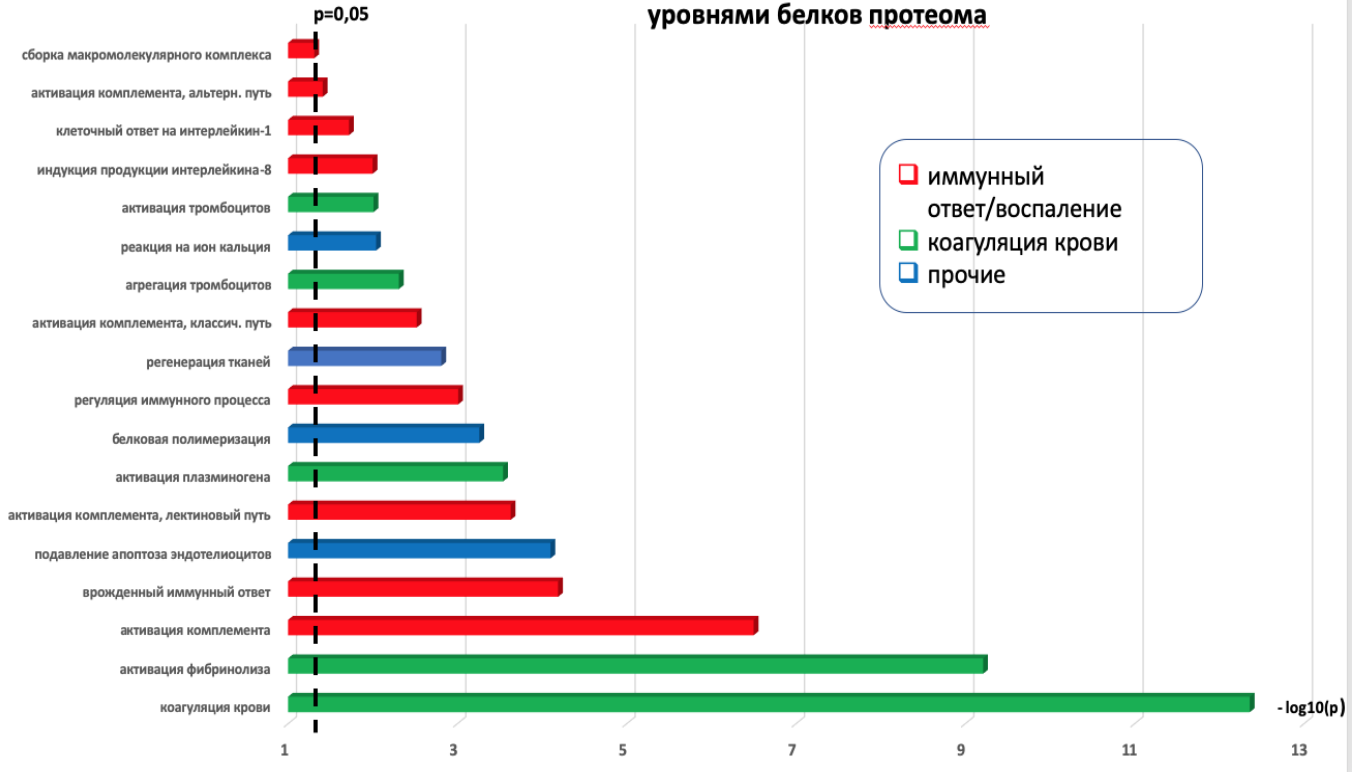


Рисунок 31 – Биологические процессы с участием сниженных при ПЭ белков протеома плазмы крови

Результаты кластерного анализа дифференциально отличающихся белков протеома плазмы крови показали вовлеченность чрезвычайно широкого спектра патофизиологических процессов в развитие ПЭ: выявлено более 60 биологических процессов и около 50 молекулярных функций. Наиболее значимые биологические процессы, вовлеченные в патогенез ПЭ представлены в виде диаграмм на рисунках 30 и 31.

Все белки протеома с дифференциальной экспрессией у пациенток с ПЭ объединены в функциональные кластеры в зависимости от их участия в тех или иных биологических процессах, наиболее значимые из них представлены в таблице 39.

Таблица 39 – Функциональные кластеры дифференциально отличающихся при ПЭ белков протеома плазмы крови

Биологический процесс*	Белки, вовлеченные в процесс при ПЭ#		p
	повышенные	сниженные	
«Complement and coagulation cascades»: комплемент и коагуляционный каскад	C1r, C1s, CFD, MASP1, F5, SERPINA5, Clusterin (n=7)	FGA, KNG1, SERPIND1, CPB2, C8A, C7, C6, C4B, PLG, F12, F13B, SERPINC1, FGB, FGG (n=14)	1,13x10 ⁻⁶ 4,98x10 ⁻²²
«Cholesterol metabolism» (жировой обмен, метаболизм холестерина)	APOB, LRP1, APOE, APOC1, APOC2, APOC3 (n=6)		1,89x10 ⁻⁶
Иммунный ответ (бактериальная инфекция)	C1r, C1s, CFD, MASP1 (n=4)	C4B, PLG, FGG, CAMP (n=4)	0,0072 0,0034
«Protein processing in endoplasmic reticulum»: преобразование белков в эндоплазматическом ретикулуме	GANAB, HSP90B1, MAN1A1, PRKCSH (n=4)		0,0034

Продолжение таблицы 39

Биологический процесс*	Белки, вовлеченные в процесс при ПЭ#		p
	повышенные	сниженные	
«Proteoglycans in cancer»: протеогликаны, вовлеченные в процессы пролиферации, адгезии, ангиогенеза и метастазирования	MMP2, Endorepellin, LUM, FN1 (n=4)		0,05
«TGF-beta signaling pathway»: биологические процессы, опосредованные TGF-β	LTBP1, INHBC, INHBE (n=3)		0,05
Иммунный ответ (вирусная инфекция)	C1r, C1s, CFD, MASP1 (n=4)	C6, C7, C8A, C4B, F13B, FGA, FGB, FGG (n=8)	0,007 5.67x10 ⁻⁶
«Systemic lupus erythematosus»: аутоимунные реакции по типу системной красной волчанки		C6, C7, C8A, C4B (n=4)	0,0089
«Neutrophil extracellular trap formation»: механизмы врожденной иммунной защиты		FGA, FGB, FGG, CAMP (n=4)	0,022
«Platelet activation»: активация тромбоцитов		FGA, FGB, FGG (n=3)	0,05
Примечание: * - названия биологических процессов приведены в соответствии с KEGG # - обозначения генов белков - в соответствии с базой Uniprot			

На следующем этапе проведен сравнительный анализ протеома плазмы крови беременных с ранней ПЭ и контрольной группой. Выявлена дифференциальная экспрессия 94 белков: уровни 38 из них снижены, 56 – повышены у пациенток с ранней ПЭ (таблица 40).

Таблица 40 – Дифференциально экспрессированные белки протеома плазмы крови у беременных с ранней ПЭ по сравнению со здоровыми беременными

Ген (Uniprot)*	Название белка	FC ранняя ПЭ/ контроль	p
FCN1	Ficolin-1	0,58	0,0050
ADAM12	Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 12	0,67	0,0267
PDCD6	Programmed cell death protein 6	1,99	0,3x10 ⁻⁴
FCN3	Ficolin-3	0,6	0,0039

Продолжение таблицы 40

Ген (Uniprot)*	Название белка	ФС ранняя ПЭ/ контроль	p
WISP2	WNT1-inducible-signaling pathway protein 2	1,78	0,0100
EFEMP2	EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 2	1,44	0,0005
C1R	Complement C1r subcomponent	1,24	0,0264
HP	Haptoglobin	0,58	0,0020
HPR	Haptoglobin-related protein	0,68	0,0271
F9	Coagulation factor IXa	0,84	0,0124
CFD	Complement factor D	1,56	0,0380
PLG	Plasminogen	0,83	0,0102
F12	Coagulation factor XIIa	0,58	0,0015
KNG1	Kininogen-1	0,69	0,0005
IGF2	Insulin-like growth factor II	1,41	0,0088
IGJ	Immunoglobulin J chain	1,35	0,0367
APOE	Apolipoprotein E	1,6	0,0012
APOC1	Apolipoprotein C-I	1,43	0,0008
APOC2	Apolipoprotein C-II	1,5	0,0041
APOC3	Apolipoprotein C-III	1,3	0,0139
FGA	Fibrinogen alpha chain	0,7	0,0183
FGB	Fibrinogen beta chain	0,67	0,0225
FGG	Fibrinogen gamma chain	0,68	0,0354
FN1	Fibronectin	3,36	0,41x10 ⁻⁵
HPX	Hemopexin	0,61	0,0002
APOB	Apolipoprotein B-100	1,4	0,0058
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	5,58	0,0014
SERPINA5	Plasma serine protease inhibitor	6,42	0,0031
F13B	Coagulation factor XIII B chain	0,56	0,0359
SERPIND1	Heparin cofactor 2	0,77	0,0367
IGKV4-1	Ig kappa chain V-IV region	1,55	0,0305
C8A	Complement component C8 alpha chain	0,64	0,0002
IGFBP1	Insulin-like growth factor-binding protein 1	1,71	0,0087
C1S	Complement C1s subcomponent	1,18	0,0029
C4B	Complement C4-B	0,62	0,0001
IGLC6; IGLC7	Ig lambda-6 chain C region; Ig lambda-7 chain C region	1,44	0,0182
C7	Complement component C7	0,61	0,0219
PSG1	Pregnancy-specific beta-1-glycoprotein 1	0,48	0,0009
F5	Coagulation factor V	1,9	0,0003
CDH1	Cadherin-1	1,25	0,0323
BMP1	Bone morphogenetic protein 1	0,69	0,0302
VCAN	Versican core protein	1,64	0,0183
C6	Complement component C6	0,74	0,0410
PRKCSH	Glucosidase 2 subunit beta	1,76	0,22x10 ⁻⁷

Продолжение таблицы 40

Ген (Uniprot)*	Название белка	FC ранняя ПЭ/ контроль	p
NID1	Nidogen-1	1,23	0,0329
HSP90B1	Endoplasmic	1,54	0,0126
TIMP2	Metalloproteinase inhibitor 2	2,21	0,26x10 ⁻⁴
ORM2	Alpha-1-acid glycoprotein 2	0,66	0,0031
PROZ	Vitamin K-dependent protein Z	1,92	0,0017
FBLN1	Fibulin-1	0,8	0,0492
MST1	Hepatocyte growth factor-like protein	0,71	0,0114
CDH5	Cadherin-5	0,78	0,0158
MAN1A1	Mannosyl-oligosaccharide 1,2-alpha-mannosidase IA	1,27	0,0429
RNASE4	Ribonuclease 4	1,42	0,0005
FBN2	Fibrillin-2	0,5	0,0102
IGFALS	Insulin-like growth factor-binding protein complex acid labile subunit	0,44	0,0251
COL18A1	Collagen alpha-1(XVIII) chain	1,84	0,16x10 ⁻⁶
AFM	Afamin	0,63	0,0093
CAMP	Cathelicidin antimicrobial peptide	0,69	0,0336
LUM	Lumican	1,28	0,0202
INHBC	Inhibin beta C chain	1,43	0,0127
INHBE	Inhibin beta E chain	1,73	0,0318
KRTDAP	Keratinocyte differentiation-associated protein	0,65	0,0038
LYZ	Lysozyme C	1,32	0,0267
GPLD1	Phosphatidylinositol-glycan-specific phospholipase D	0,78	0,0301
HSPG2	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein	1,78	0,0235
PSG6	Pregnancy-specific beta-1-glycoprotein 6	0,43	0,0001
HGFAC	Hepatocyte growth factor activator	0,76	0,0451
ITIH3	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3	1,39	0,0086
DPT	Dermatopontin	1,4	0,0355
LRP1	Pro-low-density lipoprotein receptor-related protein 1	1,53	0,0263
EFEMP1	EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1	1,36	0,0009
DSG2	Desmoglein-2	0,5	0,0001
SPARCL1	SPARC-like protein 1	0,7	0,0033
ITIH4	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4	2,51	0,0001
GANAB	Neutral alpha-glucosidase AB	1,68	0,0001
PCOLCE	Procollagen C-endopeptidase enhancer 1	1,38	0,0014
FCN2	Ficolin-2	0,45	0,0193
TGFBI	Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3	1,28	0,0521

Продолжение таблицы 40

Ген (Uniprot)*	Название белка	FC ранняя ПЭ/ контроль	p
HIST2H2AC; HIST2H2AA3;HIST1H2AJ; HIST1H2AH; H2AFJ; HIST1H2AC; HIST3H2A; HIST1H2AD; HIST1H2AG; HIST1H2AB	Histone H2A type 2-C; Histone H2A type 2-A; Histone H2A type 1-J; Histone H2A type 1-H; Histone H2A.J; Histone H2A type 1-C; Histone H2A type 3; Histone H2A type 1-D; Histone H2A type 1; Histone H2A type 1-B/E	3,54	0,0054
RCOR2	REST corepressor 2	0,36	0,0400
ANGPTL6	Angiopoietin-related protein 6	1,55	0,0055
CPB2	Carboxypeptidase B2	0,68	0,0005
RARRES2	Retinoic acid receptor responder protein 2	1,5	0,0022
OMD	Osteomodulin	3,18	0,0005
GDF15	Growth/differentiation factor 15	1,78	0,0359
COLEC11	Collectin-11	1,31	0,0206
APMAP	Adipocyte plasma membrane-associated protein	1,74	0,0004
CRTAC1	Cartilage acidic protein 1	1,3	0,0322
FBLN5	Fibulin-5	1,59	0,0001
FETUB	Fetuin-B	0,76	0,0187
NOTCH3	Neurogenic locus notch homolog protein 3	1,31	0,0070
CLEC11A	C-type lectin domain family 11 member A	1,98	0,0001
ITM2B	Integral membrane protein 2B	1,23	0,0111
*Примечание: обозначения генов белков приведены в соответствии с базой данных Uniprot. FC (Fold change) - кратность изменения содержания белка между группами			

Далее проведен кластерный анализ дифференциально представленных при ранней ПЭ белков с использованием онлайн ресурса DAVID и баз данных Gene Ontology и KEGG. Выявлено 47 биологических процессов и 29 молекулярных функций, в которые вовлечены выделенные белки. В таблице 41 представлены функциональные кластеры белков согласно KEGG, дифференцированно отличающихся у пациенток с ранней ПЭ. Рисунки 32 и 33 иллюстрируют сложную сеть межбелковых взаимодействий значимо измененных при ранней ПЭ белков протеома.

Таблица 41 – Функциональные кластеры дифференциально отличающихся белков протеома плазмы крови у пациенток с ранней ПЭ по сравнению со здоровыми беременными

Биологический процесс*	Белки, вовлеченные в процесс при ПЭ#		p
	повышенные	Сниженные	
Systemic lupus erythematosus	C1R, C1S, HIST2H2AA3; HIST1H2AJ; HIST1H2AH; H2AFJ; HIST1H2AC; HIST3H2A; HIST1H2AD; HIST1H2AG; HIST1H2AB	C6, C4B, C7, C8A	0,7x10 ⁻¹⁹ 0.0049
ATP-dependent chromatin remodeling	HIST2H2AA3; HIST1H2AJ; HIST1H2AH; H2AFJ; HIST1H2AC; HIST3H2A; HIST1H2AD; HIST1H2AG; HIST1H2AB		0,6 x10 ⁻¹⁷
Necroptosis	HIST2H2AA3; HIST1H2AJ; HIST1H2AH; H2AFJ; HIST1H2AC; HIST3H2A; HIST1H2AD; HIST1H2AG; HIST1H2AB		0,7x 10 ⁻¹⁵
Neutrophil extracellular trap formation	HIST2H2AA3; HIST1H2AJ; HIST1H2AH; H2AFJ; HIST1H2AC; HIST3H2A; HIST1H2AD; HIST1H2AG; HIST1H2AB	FGA, FGG, FGB, CAMP	0,1x10 ⁻¹³ 0.014
Cholesterol metabolism	APOB, LRP1, APOE, APOC1, APOC2, APOC3		0,5x10 ⁻⁵
Complement and coagulation cascades	C1R, CFD, F5, SERPINA5, C1S	FGA, SERPIND1, KNG1, CPB2, C7, C6, C4B, PLG, F12, F13B, FGG, FGB, F9, C8A	0,99x10 ⁻³ 0,17x10 ⁻²⁰
Protein processing in endoplasmic reticulum	GANAB, HSP90B1, MAN1A1, PRKCSH		0.05
Staphylococcus aureus infection		C4B, PLG, FGG, CAMP	0.0019
Regulation of actin cytoskeleton		C6, KNG1, C7, C8A	0.018
Platelet activation		FGA, FGG, FGB	0.038
Примечание: * - названия биологических процессов приведены в соответствии с KEGG # - названия генов согласно базе Uniprot			

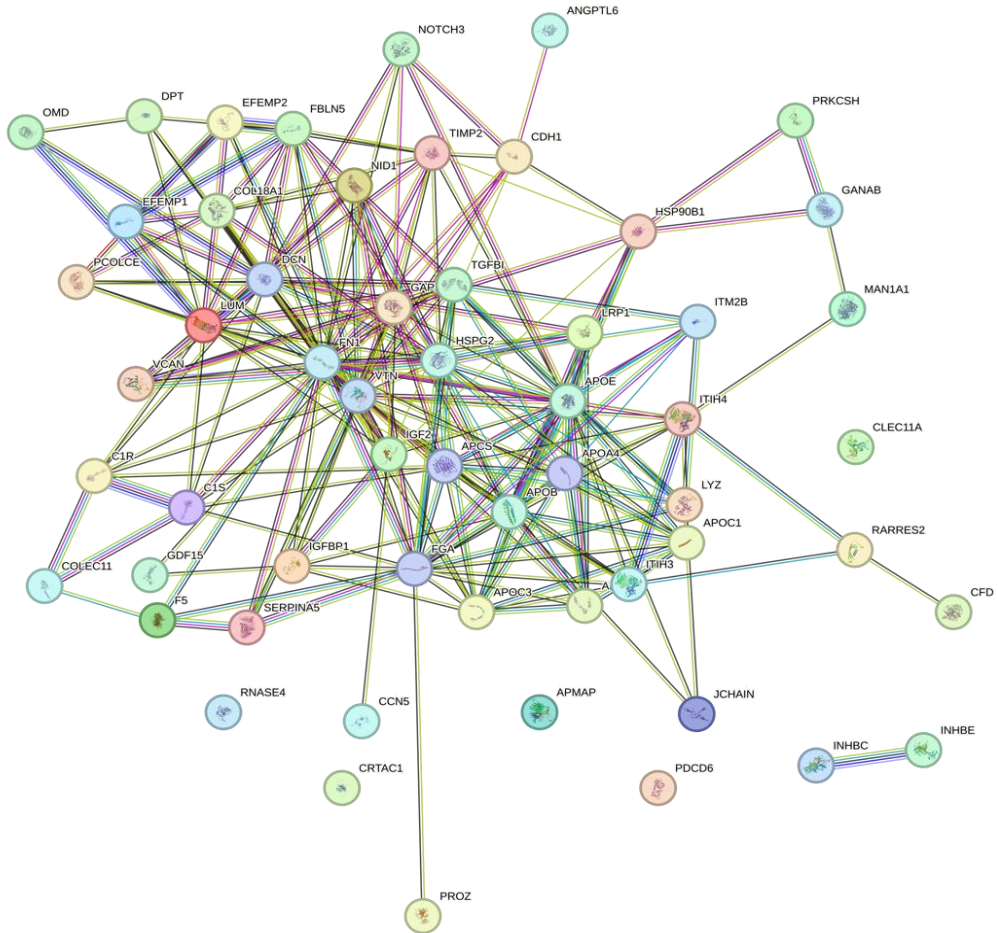


Рисунок 32 – Сеть белков с повышенными при ПЭ уровнями

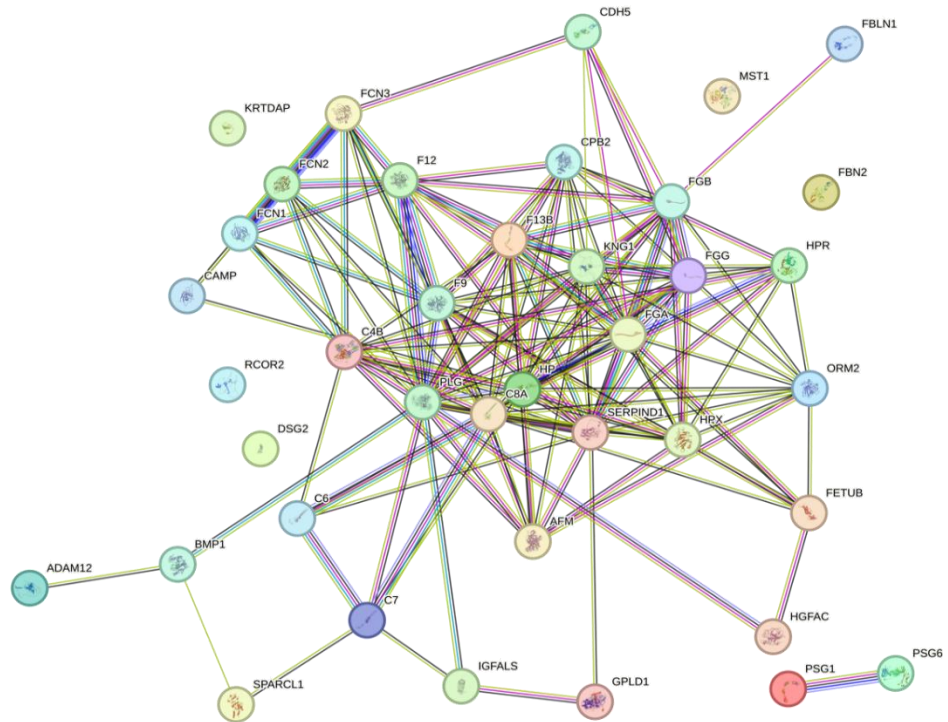


Рисунок 33 – Сеть белков со сниженными при ПЭ уровнями

Сравнительный анализ протеома плазмы крови у беременных с поздней ПЭ по сравнению со здоровыми беременными позволил выявить 68 белков с дифференциальной экспрессией: уровни подавляющего большинства белков (63) были повышены, только 5 белков - снижены по сравнению с контрольной группой (таблица 42).

Таблица 42 – Дифференциально экспрессированные белки протеома плазмы крови у беременных с поздней ПЭ по сравнению со здоровыми беременными

Ген (Uniprot)*	Название белка	ФС поздняя ПЭ/ контроль	p
CALU	Calumenin	1,73	0,0461
CD5L	CD5 antigen-like	1,76	0,0474
PDCD6	Programmed cell death protein 6	2,46	0,0006
EFEMP2	EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 2	1,70	0,0028
F2	Prothrombin	1,39	0,0026
HP	Haptoglobin	0,48	0,0483
IGF2	Insulin-like growth factor II	1,78	0,0111
IGJ	Immunoglobulin J chain	1,79	0,0266
APOE	Apolipoprotein E	2,09	0,0009
APOC3	Apolipoprotein C-III	1,52	0,0224
FN1	Fibronectin	3,26	0,0085
PROC	Vitamin K-dependent protein C	1,37	0,0266
LCAT	Phosphatidylcholine-sterol acyltransferase	1,35	0,0286
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	6,64	0,0273
SERPINA5	Plasma serine protease inhibitor	7,74	0,0006
ENO1	Alpha-enolase	0,59	0,0273
P4HB	Protein disulfide-isomerase	2,80	0,0345
ASGR2	Asialoglycoprotein receptor 2	1,80	0,0154
PSAP	Prosaposin; Saposin-A,-B;-C; -D	1,40	0,0038
RNASE1	Ribonuclease pancreatic	1,93	0,0011
MMP2	72 kDa type IV collagenase	1,59	0,0299

Продолжение таблицы 42

IGFBP1	Insulin-like growth factor-binding protein 1	2,07	0,009
C1S	Complement C1s subcomponent	1,42	0,0076
C4B	Complement C4-B	0,69	0,0136
CLU	Clusterin	1,38	0,0264
F5	Coagulation factor V	2,70	0,0002
CDH1	Cadherin-1;E-Cad/CTF1	1,70	0,0042
VCAN	Versican core protein	1,54	0,0142
PRKCSH	Glucosidase 2 subunit beta	2,19	0,6x10 ⁻⁷
HSP90B1	Endoplasmin	1,87	0,0334
TIMP2	Metalloproteinase inhibitor 2	2,84	0,0021
ORM2	Alpha-1-acid glycoprotein 2	0,59	0,0340
IGFBP4	Insulin-like growth factor-binding protein 4	1,60	0,0058
PROZ	Vitamin K-dependent protein Z	2,45	0,0004
SERPINA4	Kallistatin	1,41	0,0251
RNASE4	Ribonuclease 4	1,83	0,0016
COL18A1	Collagen alpha-1(XVIII) chain	2,22	0,0001
MASP1	Mannan-binding lectin serine protease 1	1,56	0,0053
INHBC	Inhibin beta C chain	2,09	0,0009
INHBE	Inhibin beta E chain	1,82	0,0243
LYZ	Lysozyme C	1,59	0,0259
RELN	Reelin	2,41	0,0089
PSG6	Pregnancy-specific beta-1-glycoprotein 6	0,50	0,0430
DSC2	Desmocollin-2	1,76	0,0006
NUCB1	Nucleobindin-1	1,72	0,0045
ITIH3	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3	1,43	0,0174
DPT	Dermatopontin	1,27	0,0287
EFEMP1	EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1	1,63	0,0071
MMRN1	Multimerin-1;Platelet glycoprotein Ia	2,29	0,0172
HABP2	Hyaluronan-binding protein 2	1,36	0,0293
ITIH4	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4	2,88	0,0043
GANAB	Neutral alpha-glucosidase AB	1,74	0,0003

Продолжение таблицы 42

LTBP1	Latent-transforming growth factor beta-binding protein 1	1,88	0,0128
PCOLCE	Procollagen C-endopeptidase enhancer 1	1,62	0,0065
TGFBI	Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3	1,79	0,0058
ADAMTS13	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 13	1,65	0,0424
ANGPTL6	Angiopoietin-related protein 6	1,96	0,0007
PRG4	Proteoglycan 4;Proteoglycan 4 C-terminal part	1,51	0,0124
RARRES2	Retinoic acid receptor responder protein 2	2,09	0,0014
OMD	Osteomodulin	2,29	0,0094
COLEC11	Collectin-11	1,58	0,0030
APMAP	Adipocyte plasma membrane-associated protein	1,60	0,0389
CRTAC1	Cartilage acidic protein 1	1,66	0,0259
FBLN5	Fibulin-5	1,72	0,0010
CLEC11A	C-type lectin domain family 11 member A	1,79	0,0043
ITM2B	Integral membrane protein 2B	1,29	0,0491
COLEC10	Collectin-10	1,47	0,0058
*Примечание: обозначения генов белков приведены в соответствии с базой данных Uniprot. FC (Fold change) - кратность изменения содержания белка между группами			

Кластерный анализ 68 дифференциально экспрессируемых при поздней ПЭ белков позволил выделить и проанализировать с помощью открытой энциклопедии KEGG наиболее важные и значимые функциональные кластеры (группы белков). Результаты анализа приведены таблице 43. Выделенные белки в общей сложности выполняют в организме матери 32 молекулярные функции и являются участниками 47 биологических процессов. На рисунках 34 и 35 показана сеть межбелковых взаимодействий значимо измененных при поздней ПЭ белков.

Таблица 43 – Функциональные кластеры дифференциально отличающихся при поздней ПЭ белков протеома плазмы крови

Биологический процесс*	Белки, вовлеченные в процесс при ПЭ#		p
	повышенные	Сниженные	
Complement and coagulation cascades	MASP1, PROC, F2, F5, SERPINA5, C1S, CLU		0,4x10 ⁻⁶
Cholesterol metabolism	LCAT, APOE, APOC3		0.013
Protein processing in endoplasmic reticulum	GANAB, HSP90B1, PRKCSH, FN1		0.019
Pathways in cancer	F2, HSP90B1, CDH1, MMP2, IGF2, FN1		0.032
TGF-beta signaling pathway	LTBP1, INHBC, INHBE		0.05
Glycolysis / Gluconeogenesis		ENO1	0.0225
Biosynthesis of amino acids		ENO1	0.025
RNA degradation		ENO1	0.026
HIF-1 signaling pathway		ENO1	0.036
Carbon metabolism		ENO1	0.039

Примечание:
 * - названия биологических процессов приведены в соответствии с KEGG
 # - обозначения генов - в соответствии с базой Uniprot

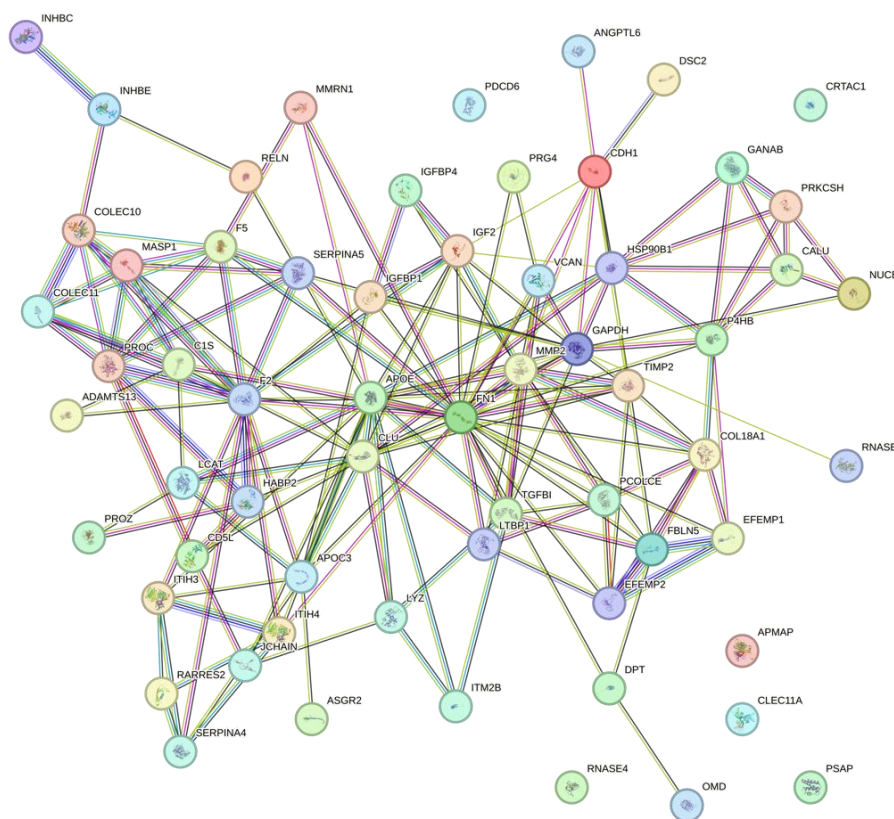


Рисунок 34 – Сеть межбелковых взаимодействий (белков с повышенными при ПЭ уровнями)

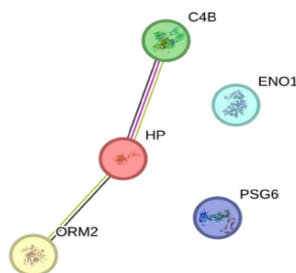


Рисунок 35 – Сеть межбелковых взаимодействий (белков со сниженными при ПЭ уровнями)

Обобщая данные, полученные при сравнении протеомного профиля плазмы крови у беременных с ранней и поздней ПЭ и пациенток контрольной группы, выделены белки, уровни которых наиболее значительно изменены при обоих клинических фенотипах данного осложнения беременности. Определение указанных белков плазмы может быть полезно в отношении прогнозирования и ранней диагностики как ранней, так и поздней ПЭ (таблица 44).

Таблица 44 – Наиболее значимые белки плазмы крови, дифференциально отличающиеся у беременных с ранней и поздней ПЭ по сравнению с контрольной группой

Ген (Uniprot)*	Название белка	Ранняя ПЭ ФС ранняя ПЭ/контроль (p)	Поздняя ПЭ ФС поздняя ПЭ/контроль (p)
FN1	Fibronectin	3,36 (p=0,41x10 ⁻⁵)	3,26 (p=0,0085)
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	5,58 (p=0,0014)	6,6 (p=0,027)
SERPINA5	Plasma serine protease inhibitor	6,42 (p=0,003)	7,74 (p=0,0006)
PRKCSH	Glucosidase 2 subunit beta	1,76 (p=0,22x10 ⁻⁷)	2,2 (p=0,6x10 ⁻⁷)
PDCD6	Programmed cell death protein 6	1,99 (p=0,3x10 ⁻⁴)	2,46 (p=0,0006)
F5	Coagulation factor V	1,9 (p=0,0003)	2,7 (p=0,0002)
GANAB	Neutral alpha-glucosidase AB	1,68 (p=0,0001)	1,74 (p=0,0003)
ITIH4	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4	2,51 (p=0,0001)	2,88 (p=0,004)
TIMP2	Metalloproteinase inhibitor 2	2,21 (p=0,26x10 ⁻⁴)	2,84 (p=0,0021)
PSG6	Pregnancy-specific beta-1-glycoprotein 6	0,48 (p=0,00009)	0,50 (p=0,043)

Продолжение таблицы 44

EFEMP2	EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 2	1,44 (p=0,0005)	1,7 (p=0,0028)
*Примечание: обозначения генов белков приведены в соответствии с базой данных Uniprot. FC (Fold change) - кратность изменения содержания белка между группами			

При проведении сравнительного анализа протеома плазмы у беременных с ранней и поздней ПЭ выделено 11 белков, уровни которых значимо отличались при обоих клинических вариантах развития ПЭ от контрольной группы (таблица 45).

Таблица 45 – Дифференциальная экспрессия белков плазмы крови у беременных с ранней и поздней преэклампсией

Ген (Uniprot)*	Название белка	FC ранняя ПЭ/ поздняя ПЭ	p
MASP2	Mannan-binding lectin serine protease 2	0,61	0,0002
MASP1	Mannan-binding lectin serine protease 1	0,66	0,0039
C3	Complement C3	1,83	0,0149
ANG	Angiogenin	0,59	0,0256
PROC	Vitamin K-dependent protein C	0,68	0,0014
LCAT	Phosphatidylcholine-sterol acyltransferase	0,80	0,0319
PSAP	Prosaposin	0,79	0,0113
PRKCSH	Glucosidase 2 subunit beta	0,80	0,0263
SERPINA4	Kallistatin	0,72	0,0502
FBN1	Fibrillin-1	0,70	0,0342
NUCB1	Nucleobindin-1	0,70	0,0277
*Примечание: обозначения генов белков приведены в соответствии с базой данных Uniprot.. FC (Fold change) - кратность изменения содержания белка между группами			

В дальнейшем с использованием метода логистической регрессии была проанализирована предиктивная способность выделенных 11 белков в отношении развития как ранней, так и поздней ПЭ, на основании чего разработаны бинарные математические модели прогнозирования развития ПЭ. Качество полученных моделей оценивали с расчетом уровня значимости для критерия χ^2 для каждой

модели и определения AUC (площади под ROC-кривой) с 95% ДИ (при проведении ROC-анализа).

Методом обратного выбора пошаговой регрессии разработаны и отобраны 3 модели наилучшего качества прогнозирования развития ПЭ во второй половине беременности. В каждую модель попарно были включены 4 белка, уровни которых имели наиболее выраженные изменения как при раннем, так и при позднем фенотипе ПЭ по сравнению со здоровыми беременными (FN1, PDCD6, PRKSH и ITIH4), в связи с чем перечисленные белки являются универсальными предикторами обоих подтипов ПЭ.

Максимальную прогностическую точность имеют первые две модели.

Модель развития ПЭ №1:

Бинарная модель логистической регрессии в отношении предикции ПЭ:

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

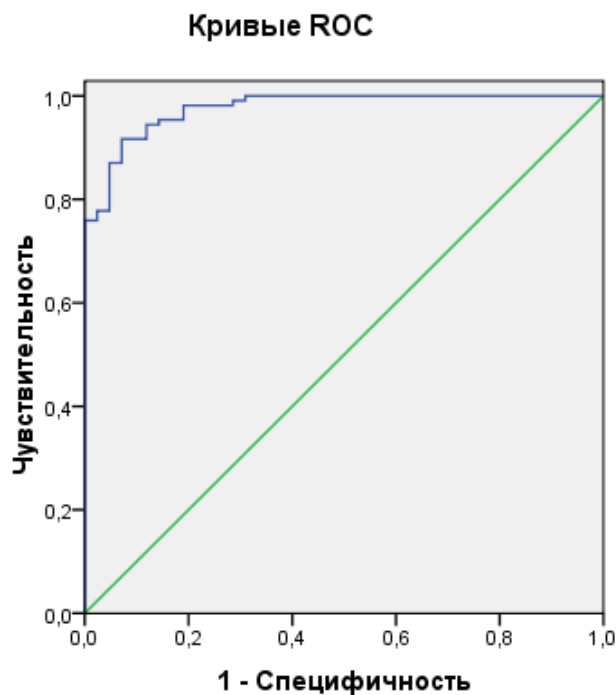
где $z = 639,9 - 15,9702X_1 - 8,97184X_2$;

– уровень экспрессии **PDCD6**

– уровень экспрессии **FN1**

Критерий χ^2 для модели: $\chi^2 = 41,394$, $p < 0,0001$, что свидетельствует о значимой связи патологических уровней FN1 и PDCD6 с развитием ПЭ.

Результаты ROC-анализа первой прогностической модели представлены на рисунке 36 и в таблице 46.



Площадь под ROC-кривой (AUC)	Стандартная ошибка	Асимптотическая значимость	Асимптотический 95% ДИ	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,975	0,013	<0,0001	0,949	1,000

Рисунок 36 – ROC-кривая модели прогнозирования ПЭ на основании определения уровней FN1 и PDCD6

Таблица 46 – Оценка прогностической способности модели развития ПЭ, включающей FN1 и PDCD6

Метод Вилсона для 95% ДИ	Предиктивные показатели	95% ДИ
Чувствительность, %	92,5	79,1 – 100
Специфичность, %	95	79,61-100
Положительное прогностическое значение, %	94,9	78-100
Отрицательное прогностическое значение, %	92,7	79,4-100
Прогностическая точность, %	93,8	88,65-100
ОШ (OR)	234,3 (11,12 – 3453,91)	
ОР (RR)	36,1 (2,1 – 93,45)	
ОШ – отношение шансов, ОР – относительный риск		

Чувствительность первой модели составила 92,5%, специфичность – 95%, площадь под ROC-кривой 0,975. Полученные параметры модели, включающей FN1

и PDCD6 в качестве предиктивных биомаркеров, свидетельствуют о высоком качестве полученной модели и ее клинической ценности.

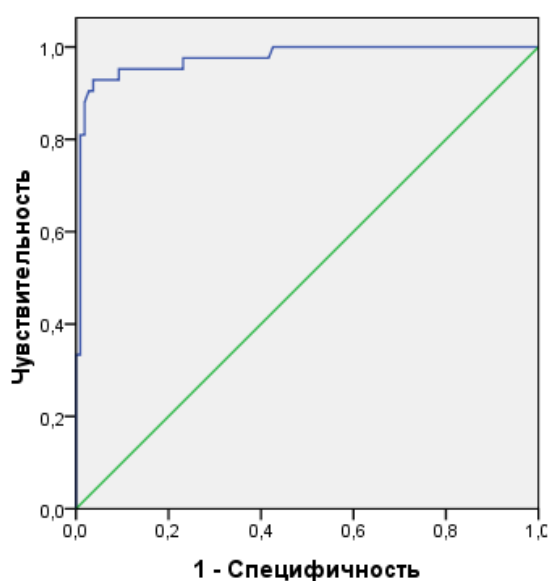
Модель развития ПЭ №2 ($\chi^2 = 41,517$, $p < 0,0001$):

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

Где $z = 847,5041 - 26,0809X1 - 6,70176X2$;

– уровень экспрессии **PRKSH**

– уровень экспрессии **FN1**



Площадь под кривой

Площадь под кривой (AUC)	Стандартная ошибка	Асимптотическая значимость	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,965	0,013	<0,0001	0,929	1,000

Рисунок 37 – ROC-кривая модели прогнозирования ПЭ на основании определения уровней FN1 и PRKSH

Таблица 47 – Оценка прогностической способности модели развития ПЭ, включающей FN1 и PRKSH

Метод Вилсона для 95% ДИ	Предиктивные показатели	95% ДИ
Чувствительность, %	90	77,1 – 99,8
Специфичность, %	92,5	79,6-99,8
Положительное прогностическое значение, %	92,3	79-99,7
Отрицательное прогностическое значение, %	90,2	78-99,8
Прогностическая точность, %	92,5	86,5-99,4
ОШ (OR)	111 (17 - 1300,1)	
ОР (RR)	9,5 (2 - 77,5)	
ОШ – отношение шансов, ОР – относительный риск		

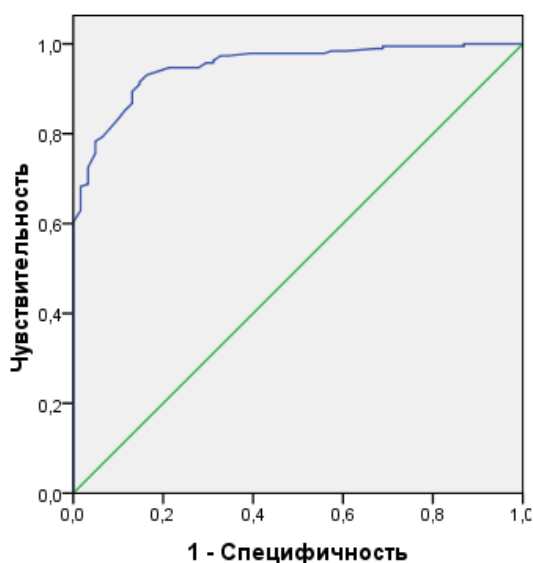
Чувствительность второй модели составила 90%, специфичность – 92,5%. Площадь под кривой (AUC) равна 0,965, что также свидетельствует о высоком качестве и прогностической способности разработанной модели.

Модель развития ПЭ №3 ($\chi^2 = 27,844$, $p < 0,0001$):

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

где $z = 110,9935 - 2,733268X_1 - 1,029887X_2$;

- уровень экспрессии **FN1**
- уровень экспрессии **ITIN4**



Площадь под кривой

Площадь под кривой (AUC)	Стандартная ошибка	Асимптотическая значимость	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,941	0,013	<0,0001	0,924	0,977

Рисунок 38 – ROC-кривая модели прогнозирования ПЭ на основании определения уровней FN1 и ITIH4

Оценка качества прогностической модели, включающей белки FN1 и ITIH4, представлена на рисунке 38 и в таблице 48.

Таблица 48 – Оценка прогностической способности модели развития ПЭ, включающей белки FN1 и ITIH4

Метод Вилсона для 95% ДИ	Предиктивные показатели	95% ДИ
Чувствительность, %	87,5	74 – 97,7
Специфичность, %	92,5	77,61-99
Положительное прогностическое значение, %	92,1	77-98,7
Отрицательное прогностическое значение, %	88,1	70,1-97,3
Прогностическая точность, %	90	81,5-99,1
ОШ (OR)	17,3 (9,1 - 997,1)	
ОР (RR)	7,7 (2,2 - 69)	
ОШ – отношение шансов, ОР – относительный риск		

Показатель чувствительности третьей модели 87,5%, специфичности – 92,5%. Площадь под кривой (AUC) 0,941 демонстрирует высокое качество модели.

Учитывая тот факт, что ранняя ПЭ имеет более тяжелое течение, более неблагоприятные материнские и перинатальные исходы, ее прогнозирование и своевременная диагностика имеет особенно важное значение. В связи с этим, с помощью регрессионного анализа нами были разработаны и отобраны 2 модели наилучшего качества, включающие белки **FN1 (Fibronectin)**, **TIMP2 (Metalloproteinase inhibitor 2)** и **PSG6 (Pregnancy-specific beta-1-glycoprotein 6)** позволяющие прогнозировать развитие ранней ПЭ с момента появления ее первых

клинических симптомов. Максимальную прогностическую точность показала первая модель:

Модель развития ранней ПЭ №1 ($\chi^2=36,667$ $p<0,0001$):

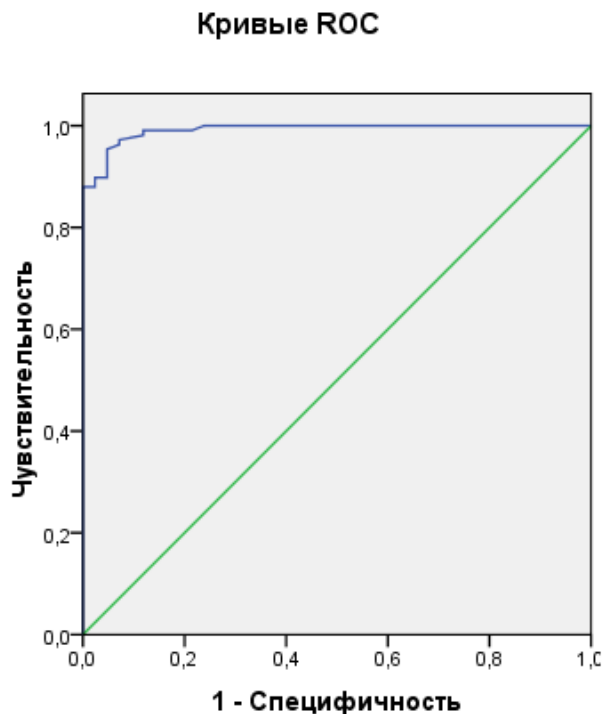
$$P = 1 / (1 + e^{-z})$$

где $z = 0,134 - 11,4654X1 + 12,2X2$;

– уровень экспрессии **FN1**

– уровень экспрессии **PSG6**

Оценка качества прогностической модели, включающей белки FN1 и ITIH4, представлена на рисунке 39 и в таблице 49.



Площадь под кривой

Площадь под кривой (AUC)	Стандартная ошибка	Асимптотическая значимость	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,98	<0,0001	<0,0001	0,961	1,0

Рисунок 39 – ROC-кривая модели прогнозирования ранней ПЭ на основании определения уровней FN1 и PSG6

Таблица 49 – Оценка прогностической способности модели развития ранней ПЭ, включающей белки FN1 и PSG6

Метод Вилсона для 95% ДИ	Предиктивные показатели	95% ДИ
Чувствительность, %	95	81 – 99,7
Специфичность, %	95	80,61-99
Положительное прогностическое значение, %	91	79,1-98,7
Отрицательное прогностическое значение, %	97	83,1-100
Прогностическая точность, %	95	81,5-99,7
ОШ (OR)	361 (296,1 - 2633)	
ОР (RR)	35,3 (23,2 – 121,9)	
ОШ – отношение шансов, ОР – относительный риск		

Показатель чувствительности модели 95%, специфичности – 95%. Площадь под кривой (AUC) 0,98 демонстрирует отличное качество модели.

Модель развития ранней ПЭ №2 ($\chi^2=27,956$, $p<0,0001$):

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

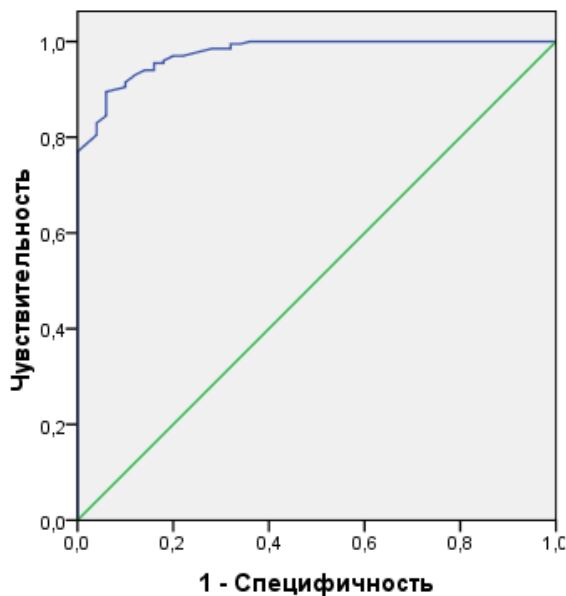
где $z = -31,94056 - 3,7099X_1 + 4,49 \times 10^9 X_2$;

– уровень экспрессии **TIMP2**

– уровень экспрессии **PSG6**

Оценка качества прогностической модели, включающей белки TIMP2 и PSG6, представлена на рисунке 40 и в таблице 50.

Кривые ROC



Площадь под кривой

Площадь под кривой (AUC)	Стандартная ошибка	Асимптотическая значимость	Асимптотический 95% Доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,976	0,008	<0,0001	0,959	0,992

Рисунок 40 – ROC-кривая модели прогнозирования развития ранней ПЭ на основании определения уровней TIMP2 и PSG6

Таблица 50 – Оценка прогностической способности модели развития ранней ПЭ, включающей белки TIMP2 и PSG6

Метод Вилсона для 95% ДИ	Предиктивные показатели	95% ДИ
Чувствительность, %	90	81 – 96,7
Специфичность, %	95	80,61-99
Положительное прогностическое значение, %	90	781-96,7
Отрицательное прогностическое значение, %	95	80,61-99
Прогностическая точность, %	93,3	79,5-98,2
ОШ (OR)	171 (54,1 – 2442,33)	
ОР (RR)	18 (6,2 – 92,04)	
ОШ – отношение шансов, ОР – относительный риск		

Показатель чувствительности второй модели 90%, специфичности – 95%. Площадь под кривой (AUC) 0,976 демонстрирует отличное качество модели.

4.3. Изучение протеомного профиля плаценты

С учетом современных данных, свидетельствующих о развитии «стресса» трофобласта и плацентарной дисфункции при ПЭ (независимо от ее клинического варианта - ранняя, поздняя), для глубокого и всестороннего изучения патофизиологии плацентарных нарушений нами проанализирован протеом плаценты у беременных с диагностированной ПЭ и с неосложненным течением беременности.

В исследование включено 40 пациенток предыдущего этапа исследования с уже проанализированным протеомом плазмы крови: в контрольную группу вошли 20 относительно здоровых женщин с неосложненным течением беременности и

родов, в основную - 20 пациенток с диагностированной ПЭ (из них 8 – с ранней ПЭ, 12 – с поздней), у которых ранее проводился анализ протеома плазмы крови: отобраны. Критерием выбора пациенток на данном этапе исследования являлись близкие сроки родоразрешения, поскольку протеом биологических жидкостей и тканей, включая плаценту, меняется по мере прогрессирования беременности. Образцы ткани плаценты забирали непосредственно после родоразрешения, в основной группе – в сроки 36-39 недель, в контрольной – в 37-39 недель.

Глобальный анализ протеома каждого образца плаценты показал гораздо более широкий спектр белков, чем в плазме крови, и позволил идентифицировать около $2,5 \times 10^3$ белков. Количество белков с дифференциальной экспрессией в плаценте между основной и контрольной группой также в 2 раза превышало те же показатели в плазме: у пациенток с ПЭ выявлены значимые различия по 275 плацентарным белкам по сравнению со здоровыми (151 белок с повышенной экспрессией, 124 – со сниженной) (таблица 51, 52).

Таблица 51 – Белки плаценты с повышенной экспрессией при ПЭ по сравнению со здоровыми беременными

Название белка	Ген (Uniprot)*	FC (контроль/ основная группа)	p value
Extended synaptotagmin-2	ESYT2	0,68	0,0080
Kinesin-like protein KIF2A	KIF2A	0,57	0,0011
PDZ and LIM domain protein 1	PDLIM1	0,70	0,0471
GTP-binding protein 1	GTPBP1	0,86	0,0063
26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 14	PSMD14	0,71	0,0285
Protein RER1	RER1	0,82	0,0345
Filamin-B	FLNB	0,51	0,0323
Erlin-1	ERLIN1	0,67	0,0012
Erlin-2	ERLIN2	0,70	0,0249
Vesicle-associated membrane protein-associated protein B/C	VAPB	0,64	0,0316

Продолжение таблицы 51

Persulfide dioxygenase ETHE1, mitochondrial	ETHE1	0,63	0,0304
Chloride intracellular channel protein 3	CLIC3	0,58	0,0182
L-lactate dehydrogenase A chain	LDHA	0,57	0,0005
Ceruloplasmin	CP	0,57	0,0322
HLA class I histocompatibility antigen, B-7 alpha chain	HLA-B	0,65	0,0412
Apolipoprotein C-II; Proapolipoprotein C-II	APOC2	0,73	0,0278
Alpha-fetoprotein	AFP	0,19	0,0231
C4b-binding protein alpha chain	C4BPA	0,38	0,0007
Glucosylceramidase	GBA1	0,66	0,0308
Fructose-bisphosphate aldolase A	ALDOA	0,70	0,0269
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	GAPDH	0,77	0,0445
Cytochrome b-245 heavy chain	CYBB	0,70	0,0455
Alpha-enolase	ENO1	0,71	0,0036
Protein disulfide-isomerase	P4HB	0,71	0,0028
Beta-hexosaminidase subunit beta	HEXB	0,34	0,0479
Complement factor H	CFH	0,65	0,0215
Integrin alpha-5	ITGA5	0,70	0,0240
Keratin, type I cytoskeletal 19	KRT19	0,58	0,0268
Clathrin light chain B	CLTB	0,72	0,0191
Fructose-bisphosphate aldolase C	ALDOC	0,53	0,0410
Calmodulin-3	CALM3	0,73	0,0296
Endoplasmic reticulum chaperone BiP	HSPA5	0,85	0,0016
Protein disulfide-isomerase A4	PDIA4	0,64	0,0049
Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha-1	P4HA1	0,34	0,0083
CD59 glycoprotein	CD59	0,62	0,0225
Farnesyl pyrophosphate synthase	FDPS	0,78	0,0452
Pyruvate kinase PKM	PKM	0,63	0,0167
Endoplasmin	HSP90B1	0,68	0,0167
Ezrin	EZR	0,67	0,0023

Продолжение таблицы 51

Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 2	ATP2A2	0,74	0,0091
Endoglin	ENG	0,21	0,0400
26S protease regulatory subunit 6A	PSMC3	0,84	0,0340
Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2	ITIH2	0,66	0,0225
5-nucleotidase	NT5E	0,81	0,0204
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B	PPIB	0,65	0,0040
Cofilin-1	CFL1	0,82	0,0258
Probable ATP-dependent RNA helicase DDX6	DDX6	0,78	0,0340
Valine--tRNA ligase	VAR51	0,72	0,0267
Endoplasmic reticulum resident protein 29	ERP29	0,68	0,0269
Protein disulfide-isomerase A3	PDIA3	0,81	0,0227
14-3-3 protein beta/alpha;14-3-3 protein beta/alpha, N-terminally processed	YWHAB	0,85	0,0476
Myosin-10	MYH10	0,78	0,0331
Basigin	BSG	0,54	0,0015
Nuclear pore complex protein Nup214	NUP214	0,63	0,0011
Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 2	MAP2K2	0,64	0,0387
Oxygen-dependent coproporphyrinogen-III oxidase, mitochondrial	CPOX	0,72	0,0352
Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase, mitochondrial	GPX4	0,71	0,0053
Signal transducer and activator of transcription 1-alpha/beta	STAT1	0,66	0,0129
Platelet-activating factor acetylhydrolase IB subunit alpha	PAFAH1B1	0,73	0,0445
Eukaryotic translation initiation factor 1A, X-chromosomal	EIF1AX	0,74	0,0198
Protein ERGIC-53	LMAN1	0,56	0,0047
Fatty acid synthase	FASN	0,68	0,0085
Cysteine--tRNA ligase, cytoplasmic	CARS1	0,58	0,0008

Продолжение таблицы 51

Galactokinase	GALK1	0,50	0,0043
Translocon-associated protein subunit delta	SSR4	0,60	0,0126
Rho GDP-dissociation inhibitor 1	ARHGDI1	0,79	0,0189
Serine/threonine-protein phosphatase 5	PPP5C	0,59	0,0288
Tyrosine--tRNA ligase, cytoplasmic	YARS1	0,79	0,0494
Eukaryotic translation initiation factor 5	EIF5	0,82	0,0226
Eukaryotic translation initiation factor 6	EIF6	0,72	0,0149
Triosephosphate isomerase	TPI1	0,80	0,0321
Ras-related protein Rab-2A	RAB2A	0,80	0,0175
Actin-related protein 3	ACTR3	0,87	0,0427
Protein transport protein Sec61 subunit alpha isoform 1	SEC61A1	0,63	0,0392
14-3-3 protein gamma	YWHAG	0,67	0,0263
40S ribosomal protein S26	RPS26	0,82	0,0115
14-3-3 protein zeta/delta	YWHAZ	0,89	0,0383
Nucleobindin-2;Nesfatin-1	NUCB2	0,71	0,0363
Transcription factor A, mitochondrial	TFAM	0,71	0,0488
Desmocollin-2	DSC2	0,47	0,0034
1,4-alpha-glucan-branching enzyme	GBE1	0,72	0,0147
Quinone oxidoreductase	CRYZ	0,66	0,0393
Nuclear pore complex protein Nup160	NUP160	0,62	0,0329
Aspartyl/asparaginyl beta-hydroxylase	ASPH	0,79	0,0245
EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1	EFEMP1	0,56	0,0287
Lysosome membrane protein 2	SCARB2	0,70	0,0142
Dynactin subunit 1	DCTN1	0,80	0,0335
LDLR chaperone MESD	MESD	0,54	0,0070
Latent-transforming growth factor beta-binding protein 1	LTBP1	0,41	0,0261
Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 4	CHD4	0,74	0,0125

Продолжение таблицы 51

Transmembrane emp24 domain-containing protein 2	TMED2	0,67	0,0008
Protein transport protein Sec23A	SEC23A	0,72	0,0479
Cdc42-interacting protein 4	TRIP10	0,82	0,0223
Prostasin	PRSS8	0,62	0,0111
Microtubule-associated protein 1S; MAP1S heavy chain; MAP1S light chain	MAP1S	0,73	0,0491
Transmembrane protein 205	TMEM205	0,67	0,0060
Protein unc-13 homolog D	UNC13D	0,73	0,0200
Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase-interacting protein	IKBIP	0,70	0,0022
Protein Hook homolog 3	HOOK3	0,67	0,0364
Abl interactor 1	ABI1	0,70	0,0017
Retinol dehydrogenase 13	RDH13	0,55	0,0188
Adaptin ear-binding coat-associated protein 1	NECAP1	0,60	0,0033
Nucleoporin Nup43	NUP43	0,78	0,0450
Nucleoporin Nup37	NUP37	0,67	0,0040
Phosphatidylinositol 5-phosphate 4-kinase type-2 gamma	PIP4K2C	0,72	0,0444
Scavenger receptor class B member 1	SCARB1	0,71	0,0180
Protein NDRG1	NDRG1	0,43	0,0281
Ubiquitin fusion degradation protein 1 homolog	UFD1	0,79	0,0305
Ras-related protein Rab-8B	RAB8B	0,56	0,0074
Myeloid-derived growth factor	MYDGF	0,71	0,0496
EF-hand domain-containing protein D2	EFHD2	0,68	0,0382
DDRGK domain-containing protein 1	DDRGK1	0,63	0,0126
Mannose-1-phosphate guanyltransferase alpha	GMPPA	0,78	0,0450
E3 ubiquitin-protein ligase RNF170	RNF170	0,63	0,0040
Protein PRRC1	PRRC1	0,69	0,0173
Lysophospholipid acyltransferase 7	MBOAT7	0,65	0,0332

Продолжение таблицы 51

Nectin-4;Processed poliovirus receptor-related protein 4	NECTIN4	0,50	0,0120
RUN and FYVE domain-containing protein 1	RUFY1	0,72	0,0472
Gamma-soluble NSF attachment protein	NAPG	0,74	0,0353
Growth/differentiation factor 15	GDF15	0,40	0,0133
Homeodomain-only protein	HOPX	0,57	0,0011
Tubulin alpha-1C chain	TUBA1C	0,51	0,0307
Extended synaptotagmin-1	ESYT1	0,74	0,0257
Leucine-rich repeat-containing protein 1	LRRC1	0,70	0,0340
EF-hand domain-containing protein D1	EFHD1	0,60	0,0195
Sideroflexin-3	SFXN3	0,64	0,0159
Chitinase domain-containing protein 1	CHID1	0,55	0,0242
AP-1 complex subunit mu-1	AP1M1	0,73	0,0382
EMILIN-2	EMILIN2	0,40	0,0357
Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2	EPS8L2	0,64	0,0063
Regulation of nuclear pre-mRNA domain-containing protein 1B	RPRD1B	0,69	0,0189
Sialic acid synthase	NANS	0,77	0,0129
Serine incorporator 1	SERINC1	0,79	0,0273
Obg-like ATPase 1	OLA1	0,85	0,0369
UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase 1	UGGT1	0,77	0,0058
EH domain-containing protein 3	EHD3	0,64	0,0432
Very-long-chain (3R)-3-hydroxyacyl-CoA dehydratase 3	HACD3	0,53	0,0355
DnaJ homolog subfamily B member 11	DNAJB11	0,72	0,0028
Testin	TES	0,78	0,0323
Switch-associated protein 70	SWAP70	0,75	0,0368
SUN domain-containing protein 2	SUN2	0,67	0,0143
B-cell receptor-associated protein 29	BCAP29	0,63	0,0274
V-type proton ATPase subunit H	ATP6V1H	0,71	0,0368

Продолжение таблицы 51

Protein kinase C and casein kinase substrate in neurons protein 2	PACSIN2	0,78	0,0172
LIM and calponin homology domains-containing protein 1	LIMCH1	0,47	0,0220
Serine/arginine repetitive matrix protein 2	SRRM2	0,70	0,0235
Structural maintenance of chromosomes protein 3	SMC3	0,80	0,0316
Endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment protein 3	ERGIC3	0,74	0,0058
Protein canopy homolog 2	CNPY2	0,53	0,0291
Transducin beta-like protein 2	TBL2	0,75	0,0401
Coatomer subunit gamma-1	COPG1	0,83	0,0109
*Примечание: обозначения генов белков приведены в соответствии с базой данных Uniprot. FC (Fold change) - кратность изменения содержания белка между группами			

Таблица 52 – Белки плаценты со сниженной экспрессией у беременных с ПЭ по сравнению со здоровыми беременными

Название белка	Ген (Uniprot)*	FC (контроль/ основная группа)	p value
SLC35A4 upstream open reading frame protein	LOR6Q1	1,50	0,0215
Syntaxin-binding protein 3	STXBP3	1,42	0,0261
von Willebrand factor A domain-containing protein 5A	VWA5A	1,55	0,0094
Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10	ADAM10	1,45	0,0126
Na(+)/H(+) exchange regulatory cofactor NHE-RF1	NHERF1	1,14	0,0408
Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D-like	HNRNPDL	1,69	0,0030
Cytoplasmic protein NCK2	NCK2	1,47	0,0292

Продолжение таблицы 52

Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit beta, mitochondrial	IDH3B	1,32	0,0168
S-adenosylhomocysteine hydrolase-like protein 1	AHCYL1	1,43	0,0089
SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein	SH3BGRL	1,47	0,0194
Citrate synthase, mitochondrial	CS	1,33	0,0212
Vesicle-trafficking protein SEC22b	SEC22B	1,33	0,0149
Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic	IDH1	1,31	0,0388
PRA1 family protein 3	ARL6IP5	1,56	0,0275
N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1	DDAH1	1,95	0,0394
Superoxide dismutase [Cu-Zn]	SOD1	1,74	0,0369
Coagulation factor XIII A chain	F13A1	1,36	0,0199
Aspartate aminotransferase, mitochondrial	GOT2	1,29	0,0160
Ig gamma-2 chain C region	IGHG2	1,94	0,0012
Complement C1q subcomponent subunit B	C1QB	1,71	0,0355
Hemopexin	HPX	1,54	0,0281
Ferritin light chain	FTL	4,46	0,0006
Ferritin heavy chain	FTH1	1,52	0,0497
Prosaposin	PSAP	1,54	0,0281
Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2	HNRNPC	1,25	0,0367
Laminin subunit beta-1	LAMB1	1,39	0,0112
Fumarate hydratase, mitochondrial	FH	1,30	0,0119

Продолжение таблицы 52

Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha, somatic form, mitochondrial	PDHA1	1,52	0,0071
Tropomyosin alpha-1 chain	TPM1	1,64	0,0395
Platelet-derived growth factor receptor beta	PDGFRB	1,35	0,0094
Ras-related protein R-Ras	RRAS	1,26	0,0193
Aromatase	CYP19A1	1,83	0,0367
Collagen alpha-1(VI) chain	COL6A1	1,45	0,0000
Collagen alpha-2(VI) chain	COL6A2	1,25	0,0081
Collagen alpha-3(VI) chain	COL6A3	1,47	0,0002
Electron transfer flavoprotein subunit alpha, mitochondrial	ETF A	1,22	0,0360
Estradiol 17-beta-dehydrogenase 1	HSD17B1	1,93	0,0071
Nidogen-1	NID1	1,40	0,0342
Small nuclear ribonucleoprotein-associated proteins B and B	SNRPB	2,13	0,0006
Aldose reductase	AKR1B1	1,41	0,0187
Fumarylacetoacetase	FAH	1,55	0,0013
Aspartate aminotransferase, cytoplasmic	GOT1	1,51	0,0091
Voltage-dependent anion-selective channel protein 1	VDAC1	1,21	0,0453
Biglycan	BGN	2,49	0,0011
Macrophage mannose receptor 1	MRC1	1,58	0,0273
Tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic	WARS1	1,32	0,0373
Laminin subunit alpha-2	LAMA2	1,59	0,0011
Elongation factor 1-beta	EEF1B2	1,45	0,0089
Protein S100-P	S100P	1,89	0,0050
Amine oxidase [flavin-containing] B	MAOB	1,81	0,0131
Transketolase	TKT	1,42	0,0012
Leiomodin-1	LMOD1	1,95	0,0034

Продолжение таблицы 52

Delta-1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase, mitochondrial	ALDH4A1	1,59	0,0203
ATP synthase subunit gamma, mitochondrial	ATP5F1C	1,39	0,0069
Electron transfer flavoprotein subunit beta	ETFB	1,22	0,0025
Trifunctional enzyme subunit alpha, mitochondrial	HADHA	1,47	0,0107
Caspase-3	CASP3	1,31	0,0405
Dihydrolipoyllysine-residue succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex, mitochondrial	DLST	1,47	0,0175
F-actin-capping protein subunit alpha-2	CAPZA2	1,22	0,0222
Ribose-5-phosphate isomerase	RPIA	1,23	0,0151
Annexin A11	ANXA11	1,22	0,0038
Signal transducer and activator of transcription 5B	STAT5B	1,25	0,0427
Tricarboxylate transport protein, mitochondrial	SLC25A1	1,31	0,0102
Trifunctional enzyme subunit beta, mitochondrial	HADHB	1,31	0,0279
Laminin subunit beta-2	LAMB2	1,29	0,0479
Integrin alpha-1	ITGA1	1,32	0,0435
6.8 kDa mitochondrial proteolipid	ATP5MJ	1,83	0,0298
Ubiquitin-conjugating enzyme E2 N	UBE2N	1,31	0,0072
Alpha-centractin	ACTR1A	1,17	0,0375
Ras-related protein R-Ras2	RRAS2	1,57	0,0075
40S ribosomal protein S15a	RPS15A	1,40	0,0303
Histone H4	H4C1-H4C6; H4C8; H4C9; H4C11-H4C16	1,21	0,0435
40S ribosomal protein S25	RPS25	1,50	0,0248

Продолжение таблицы 52

SUMO-conjugating enzyme UBC9	UBE2I	1,37	0,0382
Rho-related GTP-binding protein RhoG	RHOG	1,25	0,0494
Pregnancy-specific beta-1-glycoprotein 9	PSG9	2,47	0,0349
Transgelin	TAGLN	1,66	0,0166
Methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase [acylating], mitochondrial	ALDH6A1	1,86	0,0035
Mitochondrial 2-oxoglutarate/malate carrier protein	SLC25A11	1,35	0,0499
Fragile X mental retardation protein 1	FMR1	1,46	0,0322
Dermatopontin	DPT	1,62	0,0181
Protocadherin-1	PCDH1	1,46	0,0097
Transcription intermediary factor 1-beta	TRIM28	1,31	0,0152
Sarcolemmal membrane-associated protein	SLMAP	1,52	0,0122
Squamous cell carcinoma antigen recognized by T-cells 3	SART3	1,49	0,0038
Serine/threonine-protein phosphatase 2A activator	PTPA	1,60	0,0053
Ras suppressor protein 1	RSU1	1,43	0,0313
ELAV-like protein 1	ELAVL1	1,28	0,0028
Myosin light chain kinase, smooth muscle	MYLK	1,66	0,0054
DNA damage-binding protein 1	DDB1	1,42	0,0320
Cleavage and polyadenylation specificity factor subunit 6	CPSF6	1,25	0,0217
Membrane primary amine oxidase	AOC3	2,11	0,0258
Thioredoxin reductase 1, cytoplasmic	TXNRD1	1,45	0,0246
Putative heat shock protein HSP 90-beta 2	HSP90AB2P	1,68	0,0408
Heterochromatin protein 1-binding protein 3	HP1BP3	1,23	0,0084
E3 ubiquitin-protein ligase	HECTD3	1,80	0,0006
Histone-lysine N-methyltransferase setd3	SETD3	1,51	0,0431
Acyl-coenzyme A thioesterase 1; Acyl-coenzyme A thioesterase 2, mitochondrial	ACOT1	1,99	0,0089

Продолжение таблицы 52

Exocyst complex component 8	EXOC8	1,47	0,0019
LEM domain-containing protein 2	LEMD2	1,26	0,0277
Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit STT3B	STT3B	1,82	0,0067
Ubiquitin-like domain-containing CTD phosphatase 1	UBLCP1	1,47	0,0016
Nicastrin	NCSTN	1,61	0,0168
Engulfment and cell motility protein 1	ELMO1	1,39	0,0316
Protein kinase C delta-binding protein	CAVIN3	1,74	0,0006
Prohibitin-2	PHB2	1,32	0,0214
Coronin-1B	CORO1B	1,41	0,0106
Redox-regulatory protein FAM213A	PRXL2A	1,75	0,0249
Serrate RNA effector molecule homolog	SRRT	1,18	0,0259
Calcyclin-binding protein	CACYBP	1,16	0,0409
EH domain-containing protein 2	EHD2	1,23	0,0025
Serine/threonine-protein kinase 26	STK26	1,48	0,0204
Succinyl-CoA ligase [ADP-forming] beta	SUCLA2	1,31	0,0101
SUMO-activating enzyme subunit 1	SAE1	1,47	0,0235
SUMO-activating enzyme subunit 2	UBA2	1,25	0,0156
Protein NipSnap homolog 3A	NIPSNAP3A	1,65	0,0141
Leucyl-cystinyl aminopeptidase	LNPEP	1,87	0,0033
Sorting nexin-12	SNX12	1,31	0,0430
Cofilin-2	CFL2	1,60	0,0193
FERM, RhoGEF and pleckstrin domain-containing protein 1	FARP1	1,53	0,0209
FACT complex subunit SPT16	SUPT16H	1,37	0,0249
RNA-binding protein 8A	RBM8A	1,32	0,0078
Laminin subunit gamma-3	LAMC3	1,77	0,0123
Wiskott-Aldrich syndrome protein family member 2	WASF2	1,41	0,0273
*Примечание: обозначения генов белков приведены в соответствии с базой данных Uniprot. FC (Fold change) - кратность изменения содержания белка между группами			

Иерархический кластерный анализ 275 дифференциально экспрессируемых при ПЭ плацентарных белков, проведенный с помощью онлайн ресурса DAVID, позволил оценить общий функциональный потенциал выделенных белков. Показано, что данные белки выполняют 20 молекулярных функций в различных компартментах клеток и вовлечены в 28 биологических процессов в организме, которые в целом и определяют особенности течения ПЭ. Наиболее значимые из этих биологических процессов представлены на рисунках 41, 42.

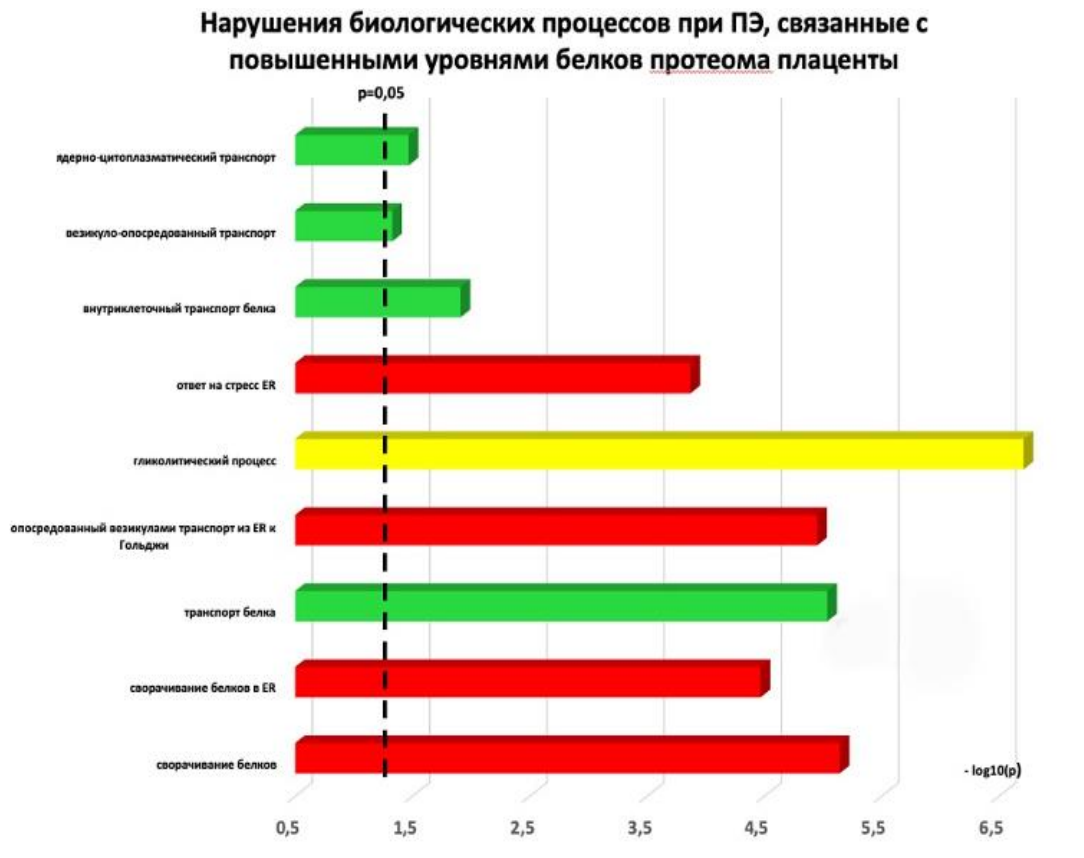


Рисунок 41 – Наиболее значимые биологические процессы, в которые вовлечены белки протеома плаценты с повышенной экспрессией при ПЭ

Биоинформационный анализ наиболее значимо отличающихся при ПЭ белков плаценты и изучение их молекулярных функций позволили выделить 7 белков, имеющих ключевую роль в патофизиологии ПЭ: 4 белка с повышенной экспрессией (LDHA, FC=0,57, $p=0,0005$, C4BPA, FC=0,38, $p=0,0007$, CARS1,

FC=0,58, p=0,0008 и TMED2, FC=0,67, p=0,0008) и 3 белка – со сниженной (FTL, FC=4,46, p=0,0006, COL6A1, FC=1,45, p<0,0001, HECTD3, FC=1,80, p=0,0006).



Рисунок 42 – Наиболее значимые биологические процессы, в которые вовлечены белки протеома плаценты со сниженной экспрессией при ПЭ

В общей сложности выделено 7 крупных функциональных кластера, в которые вошли дифференциально отличающиеся при ПЭ плацентарные белки с повышенной экспрессией и 13 кластеров белков - со сниженной экспрессией. Обобщенные результаты представлены в таблицах 53, 54.

Таблица 53 – Функциональные кластеры плацентарных белков с повышенной при ПЭ экспрессией

Биологический процесс	Наименования генов, кодирующих повышенные при ПЭ белки#	p
Protein processing in endoplasmic reticulum (преобразование белков в эндоплазматическом ретикулуме)	UGGT1, SEC61A1, SEC23A, HSPA5, LMAN1, DNAJB11, SSR4, ERP29, HSP90B1, PDIA4, PDIA3, P4HB	4.7×10^{-7}

Продолжение таблицы 53

Glycolysis / Gluconeogenesis (гликолиз/глюконеогенез)	ENO1, PKM, LDHA, GAPDH, ALDOC, ALDOA	3.9x10 ⁻⁴
HIF-1 signaling pathway (сигнальный путь HIF-1)	ENO1, MAP2K2, LDHA, GAPDH, ALDOC, CYBB, ALDOA	5.3x10 ⁻⁴
Biosynthesis of amino acids (биосинтез аминокислот)	ENO1, PKM, GAPDH, ALDOC, ALDOA	0.005
Carbon metabolism (углеродный обмен)	ENO1, PKM, GAPDH, ALDOC, ALDOA	0.023
Regulation of actin cytoskeleton (регуляция актинового цитоскелета)	MYH10, EZR, ITGA5, PIP4K2C, MAP2K2, CFL1, ACTR3	0.020
Human immunodeficiency virus 1 infection (инфекция, вызванная вирусом иммунодефицита человека 1)	MAP2K2, CFL1, HLA-B, CALM3, AP1M1, PDIA3	0.049
Примечание: # - обозначения генов приведены в соответствии с базой Uniprot		

Таблица 54 – Функциональные кластеры плацентарных белков со сниженной при ПЭ экспрессией

Биологический процесс	Наименования генов, кодирующих сниженные при ПЭ белки#	p
Systemic lupus erythematosus (системная красная волчанка)	H4C1; H4C2; H4C3; H4C4; H4C5; H4C6; H4C8; H4C9; H4C11; H4C12; H4C13; H4C14; H4C15; H4C16, C1QB	7.9x10 ⁻¹²
Viral carcinogenesis (вирусный канцерогенез)	H4C1; H4C2; H4C3; H4C4; H4C5; H4C6; H4C8; H4C9; H4C11; H4C12; H4C13; H4C14; H4C15; H4C16, STAT5B, DDB1, CASP3	1.4x10 ⁻¹¹
Neutrophil extracellular trap formation (образование нейтрофильных внеклеточных ловушек)	H4C1; H4C2; H4C3; H4C4; H4C5; H4C6; H4C8; H4C9; H4C11; H4C12; H4C13; H4C14; H4C15; H4C16, VDAC1	7.3x10 ⁻¹⁰
Biosynthesis of amino acids (биосинтез аминокислот)	TKT, CS, GOT2, IDH1, RPIA, IDH3B	4.8x10 ⁻⁴
Carbon metabolism (углеродный обмен)	TKT, CS, DLST, GOT2, IDH1, RPIA, IDH3B	4.9x10 ⁻⁴
2-Oxocarboxylic acid metabolism (метаболизм оксокарбоновой кислоты)	CS, GOT2, IDH1, IDH3B	5.7x10 ⁻⁴
Citrate cycle (TCA cycle) (цитратный цикл)	CS, DLST, IDH1, IDH3B	0.002
ECM-receptor interaction (взаимодействие ECM-рецептора)	LAMA2, LAMB1, COL6A2, LAMB2, COL6A1, ITGA1, LAMC3	1.1x10 ⁻⁴
Focal adhesion (фокальная адгезия)	LAMA2, LAMB1, COL6A2, LAMB2, COL6A1, PDGFRB, ITGA1, LAMC3	0.002

Продолжение таблицы 54

Human papillomavirus infection (папилломавирусная инфекция)	LAMA2, LAMB1, COL6A2, LAMB2, COL6A1, PDGFRB, ITGA1, LAMC3, CASP3, NHERF1	0.002
Small cell lung cancer (мелкоклеточный рак легкого)	LAMA2, LAMB1, LAMB2, LAMC3, CASP3	0.009
PI3K-Akt signaling pathway (сигнальный путь PI3K-Akt)	LAMA2, LAMB1, COL6A2, LAMB2, COL6A1, PDGFRB, ITGA1, LAMC3	0.035
Ubiquitin mediated proteolysis (убиквитин-опосредованный протеолиз)	UBA2, UBE2I, SAE1, UBE2N, DDB1	0.036
Примечание: # - обозначения генов приведены в соответствии с базой Uniprot		

Результаты функционального анализа дифференциально отличающихся при ПЭ белков протеома плаценты позволяют сделать следующие выводы.

1. Выделенные нами кластеры белков с повышенной экспрессией свидетельствуют об изменении многих внутриклеточных процессов при ПЭ, и в первую очередь – энергообмена; имеет место митохондриальная дисфункция и дисфункция эндоплазматического ретикулума, что сказывается и на других видах обмена.
2. Кластеры сниженных при ПЭ белков протеома плаценты также демонстрируют явное нарушение энергетического обеспечения клеток и клеточных процессов, связанных с развитием плода и плаценты (морфогенез, пролиферация, дифференцировка клеток, клеточная адгезия, инвазия и миграция и др.)

Анализ функциональных взаимодействий между дифференциально повышенными и сниженными при ПЭ плацентарными белками представлен в виде сети на рисунках 43, 44.

Сравнительный анализ протеомного профиля плаценты при ранней и поздней ПЭ также показал намного больший спектр изменений, чем в протеоме плазмы крови. Выявлена значимая дифференциальная экспрессия 140 плацентарных белков при данных клинических фенотипах ПЭ: при ранней ПЭ уровни 76 из них снижены, 64 – повышены (таблица 55).

Таблица 55 – Белки плаценты с дифференциальной экспрессией у пациенток с ранней ПЭ по сравнению с поздней

Ген (Uniprot)*	Название белка	FC* рПЭ/пПЭ3	p
IGKV2-40	Ig kappa chain V-II region Cum	0,75	0,041
SNAP23	Synaptosomal-associated protein 23	1,13	0,006
AGRN	Agtrin	0,58	0,012
TPP1	Tripeptidyl-peptidase 1	2,91	0,0007
ARPC5	Actin-related protein 2/3 complex subunit 5	0,79	0,047
NDUFS7	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 7, mitochondrial	1,42	0,048
LUC7L3	Luc7-like protein 3	0,55	0,009
TNFAIP8	Tumor necrosis factor alpha-induced protein 8	0,76	0,003
TXNDC12	Thioredoxin domain-containing protein 12	1,36	0,026
PLG	Plasminogen	0,59	0,027
CGA	Glycoprotein hormones alpha chain	4,21	0,003
IGHG1	Ig gamma-1 chain C region	0,72	0,046
IGHG3	Ig gamma-3 chain C region	0,53	0,038
GBA	Glucosylceramidase	1,35	0,041
ITGB3	Integrin beta-3	0,42	0,035
KRT18	Keratin, type I cytoskeletal 18	0,76	0,026
APOA4	Apolipoprotein A-IV	0,52	0,027
HSP90AA1	Heat shock protein HSP 90-alpha	1,13	0,025
HSP90AB1	Heat shock protein HSP 90-beta	1,27	0,037
CD14	Monocyte differentiation antigen CD14	1,53	0,0009
VIM	Vimentin	0,69	0,03
GSTP1	Glutathione S-transferase P	1,55	0,038
RBP1	Retinol-binding protein 1	0,47	0,011
TPM1	Tropomyosin alpha-1 chain	0,63	0,008
TPM1	Tropomyosin alpha-1 chain	0,50	0,027
ESD	S-formylglutathione hydrolase	0,87	0,023
HSPA5	78 kDa glucose-regulated protein	1,07	0,006
LAMP1	Lysosome-associated membrane glycoprotein 1	1,52	0,022
ACTN1	Alpha-actinin-1	0,75	0,007
LAMP2	Lysosome-associated membrane glycoprotein 2	1,44	0,01
AKR1B1	Aldose reductase	1,30	0,02

Продолжение таблицы 55

ANPEP	Aminopeptidase N	0,55	0,012
UCHL3	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L3	1,56	0,022
HSPA6, HSPA7	Heat shock 70 kDa protein 6;Putative heat shock 70 kDa protein 7	1,71	0,0498
GJA1	Gap junction alpha-1 protein	0,46	0,03
NCL	Nucleolin	1,22	0,0498
EIF2S2	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 2	1,30	0,005
RAB6A	Ras-related protein Rab-6A	0,82	0,048
RASA1	Ras GTPase-activating protein 1	1,23	0,03
FLNA	Filamin-A	0,69	0,018
MYL9	Myosin regulatory light polypeptide 9	0,60	0,016
MCM3	DNA replication licensing factor MCM3	1,93	0,038
PON1	Serum paraoxonase/arylesterase 1	1,69	0,0006
YWHAQ	14-3-3 protein theta	0,77	0,023
RPL10	60S ribosomal protein L10	1,32	0,014
PEBP1	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1/Hippocampal cholinergic neurostimulating peptide	1,23	0,013
SRI	Sorcin	1,59	0,039
FCGR2C/2A	Low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor II-c/II-a	0,70	0,0066
PRDX2	Peroxiredoxin-2	0,78	0,047
FBN2	Fibrillin-2	0,59	0,044
MYH9	Myosin-9	0,83	0,039
NUP214	Nuclear pore complex protein Nup214	0,86	0,006
MYH11	Myosin-11	0,60	0,018
COL18A1	Collagen alpha-1(XVIII) chain/Endostatin	0,68	0,019
GPD2	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase, mitochondrial	0,85	0,049
GYG1	Glycogenin-1	0,57	0,0016
LIMS1	LIM and senescent cell antigen-like-containing domain protein 1	0,59	0,004
PITPNB	Phosphatidylinositol transfer protein beta isoform	1,41	0,02
PCYT1A; PCYT1B	Choline-phosphate cytidyltransferase A/B	0,69	0,006
PSMB3	Proteasome subunit beta type-3	1,60	0,006
VASP	Vasodilator-stimulated phosphoprotein	0,62	0,047
RAB27A	Ras-related protein Rab-27A	0,37	0,031
NDUFA8	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 8	1,49	0,022
ARFIP2	Arfaptin-2	1,32	0,021
HSPA2	Heat shock-related 70 kDa protein 2	0,67	0,0054
RAD23B	UV excision repair protein RAD23 homolog B	1,12	0,032

Продолжение таблицы 55

ITGA1	Integrin alpha-1	0,70	0,0054
MP68	6.8 kDa mitochondrial proteolipid	1,40	0,009
CD81	CD81 antigen	0,64	0,032
ACTB	Actin, cytoplasmic 1	0,89	0,046
RAB10	Ras-related protein Rab-10	0,62	0,007
RAP1B	Ras-related protein Rap-1b	0,68	0,009
STXBP1	Syntaxin-binding protein 1	0,75	0,0024
COPZ1	Coatomer subunit zeta-1	1,43	0,00003
DCAF7	DDB1- and CUL4-associated factor 7	0,85	0,018
RPS15A	40S ribosomal protein S15a	1,21	0,044
YWHAE	14-3-3 protein epsilon	0,87	0,033
RPS11	40S ribosomal protein S11	1,29	0,0496
RAP1A	Ras-related protein Rap-1A	0,70	0,0005
RPS25	40S ribosomal protein S25	1,63	0,001
RPS28	40S ribosomal protein S28	1,53	0,016
RPL38	60S ribosomal protein L38	0,69	0,032
FKBP3	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP3	1,34	0,031
PSG9	Pregnancy-specific beta-1-glycoprotein 9	2,13	0,04
TAGLN	Transgelin	0,58	0,04
CAV1	Caveolin-1	0,83	0,012
HDHD1	Pseudouridine-5-phosphatase	2,08	0,003
NUP160	Nuclear pore complex protein Nup160	0,64	0,0005
MMRN1	Multimerin-1/Platelet glycoprotein Ia	0,61	0,026
TRIM28	Transcription intermediary factor 1-beta	1,32	0,0004
ILK	Integrin-linked protein kinase	0,65	0,04
PRPF4B	Serine/threonine-protein kinase PRP4 homolog	1,13	0,039
GALE	UDP-glucose 4-epimerase	1,68	0,005
EIF4H	Eukaryotic translation initiation factor 4H	1,41	0,035
ACOX1	Peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1	0,70	0,021
PON2	Serum paraoxonase/arylesterase 2	0,64	0,039
MAPRE1	Microtubule-associated protein RP/EB family member 1	1,11	0,037
CSRP2	Cysteine and glycine-rich protein 2	0,55	0,0018
ECM1	Extracellular matrix protein 1	0,62	0,008
DECR1	2,4-dienoyl-CoA reductase, mitochondrial	0,86	0,011
ATP6V1F	V-type proton ATPase subunit F	1,52	0,036
PDCD4	Programmed cell death protein 4	1,33	0,032
COLEC12	Collectin-12	1,27	0,039
TWF2	Twinfilin-2	1,13	0,017
VWA1	von Willebrand factor A domain-containing protein 1	0,50	0,03
TTC7B	Tetratricopeptide repeat protein 7B	0,73	0,035
HOOK3	Protein Hook homolog 3	0,82	0,046
CARKD	ATP-dependent (S)-NAD(P)H-hydrate dehydratase	1,54	0,005

Продолжение таблицы 55

UBA3	NEDD8-activating enzyme E1 catalytic subunit	1,43	0,041
HM13	Minor histocompatibility antigen H13	1,54	0,024
THEM6	Protein THEM6	1,56	0,041
DNAJA3	DnaJ homolog subfamily A member 3, mitochondrial	1,16	0,039
PGM2	Phosphoglucomutase-2	1,56	0,034
S100A13	Protein S100-A13	1,44	0,027
SIGMAR1	Sigma non-opioid intracellular receptor 1	0,75	0,048
LRRC1	Leucine-rich repeat-containing protein 1	1,39	0,0009
TMEM43	Transmembrane protein 43	0,65	0,018
NUPL1	Nucleoporin p58/p45	0,78	0,022
ACAT2	Acetyl-CoA acetyltransferase, cytosolic	0,86	0,022
CHMP4A	Charged multivesicular body protein 4a	0,39	0,012
COMMD5	COMM domain-containing protein 5	1,24	0,048
UBA5	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 5	0,73	0,001
COMMD4	COMM domain-containing protein 4	0,75	0,032
BOLA2	BolA-like protein 2	1,67	0,001
PDLIM7	PDZ and LIM domain protein 7	0,65	0,004
SACM1L	Phosphatidylinositide phosphatase SAC1	0,72	0,019
THUMPD1	THUMP domain-containing protein 1	1,52	0,024
CNIH4	Protein cornichon homolog 4	0,75	0,018
VAPA	Vesicle-associated membrane protein-associated protein A	0,70	0,026
RCC2	Protein RCC2	0,62	0,003
PTGFRN	Prostaglandin F2 receptor negative regulator	1,52	0,034
GMPR2	GMP reductase 2	0,80	0,045
SUN2	SUN domain-containing protein 2	0,78	0,002
ENOPH1	Enolase-phosphatase E1	1,67	0,039
DBNL	Drebrin-like protein	1,28	0,049
HSPB8	Heat shock protein beta-8	1,81	0,037
G3BP2	Ras GTPase-activating protein-binding protein 2	1,80	0,014
TMX2	Thioredoxin-related transmembrane protein 2	1,58	0,034
CAB39	Calcium-binding protein 39	0,71	0,029
BZW2	Basic leucine zipper and W2 domain-containing protein 2	1,52	0,047
*Примечание: обозначения генов белков приведены в соответствии с базой данных Uniprot. FC (Fold change) – кратность изменения содержания белка между группами. рЭ – ранняя ПЭ, пПЭ – поздняя ПЭ			

Функциональный кластерный анализ 140 дифференциально отличающихся при ранней и поздней ПЭ плацентарных белков позволил выделить 9 кластеров с повышенной экспрессией и 14 – со сниженной. Результаты представлены в таблицах 56, 57.

Таблица 56 – Функциональные кластеры плацентарных белков с повышенной экспрессией при ранней ПЭ по сравнению с поздней

Биологический процесс	Наименования генов, кодирующих белки#	P
Ribosome	RPS15A, RPS28, RPS11, RPS25, RPL10	$0,46 \times 10^{-3}$
Coronavirus disease - COVID-19	RPS15A, RPS28, RPS11, RPS25, RPL10	0.002
Phagosome	LAMP2, ATP6V1F, COLEC12, CD14, LAMP1	0.003
Antigen processing and presentation	HSPA5, HSP90AA1, HSPA6, HSPA7, HSP90AB1	0.0036
Protein processing in endoplasmic reticulum	HSPA5, HSP90AA1, HSPA6, HSPA7, RAD23B, HSP90AB1	0.0039
Galactose metabolism	AKR1B1, PGM2, GALE	0.0066
Lipid and atherosclerosis	HSPA5, HSP90AA1, CD14, HSPA6, HSPA7, HSP90AB1	0.009
Lysosome	LAMP2, TPP1, GBA, LAMP1	0.0138
Prion disease	HSPA5, NDUFA8, HSPA6, HSPA7, PSMB3, NDUFS7	0.021
Примечание: # - обозначения генов приведены в соответствии с базой Uniprot		

Таблица 57 – Функциональные кластеры плацентарных белков со сниженной экспрессией при ранней ПЭ по сравнению с поздней

Биологический процесс	Наименования генов, кодирующих белки#	P
Cytoskeleton in muscle cells	CSRP2, MYH11, ITGB3, TMEM43, ACTB, ITGA1, PDLIM7, AGRN, MYH9, FBN2, VIM, SUN2, MYL9	$0,8 \times 10^{-8}$
Focal adhesion	VASP, ITGB3, ACTB, ACTN1, ITGA1, RAP1A, RAP1B, MYL9, CAV1, ILK, FLNA	$0,26 \times 10^{-6}$
Tight junction	MYH11, VASP, ACTB, ACTN1, ARPC5, RAP1A, MYL9, MYH9	$0,62 \times 10^{-4}$
Regulation of actin cytoskeleton	MYH11, ITGB3, ACTB, ACTN1, ITGA1, ARPC5, MYL9, MYH9	$0,4 \times 10^{-3}$
Leukocyte transendothelial migration	VASP, ACTB, ACTN1, RAP1A, RAP1B, MYL9	$0,61 \times 10^{-3}$
Platelet activation	VASP, ITGB3, FCGR2C, FCGR2A, ACTB, RAP1A, RAP1B	$0,89 \times 10^{-3}$
Adherens junction	ACTB, ACTN1, RAP1A, RAP1B, MYL9	0.0022

Продолжение таблицы 57

Bacterial invasion of epithelial cells	ACTB, ARPC5, CAV1, ILK	0.0112
Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy	GJA1, ITGB3, ACTB, ITGA1	0.0146
Staphylococcus aureus infection	PLG, KRT18, FCGR2C, FCGR2A	0.0229
Motor proteins	MYH11, ACTB, MYL9, HOOK3, MYH9	0.0297
Pathogenic Escherichia coli infection	MYH11, FCGR2C, FCGR2A, ACTB, ARPC5, MYH9	0.0327
Phosphonate and phosphinate metabolism	PCYT1A, PCYT1B, UCHL5	0.0354
Rap1 signaling pathway	VASP, ITGB3, ACTB, RAP1A, RAP1B	0.0374
Примечание: # - обозначения генов приведены в соответствии с базой Uniprot.		

С использованием базы данных STRING получены сети функциональных межбелковых взаимодействий плацентарных белков, дифференциально повышенных и сниженных при ранней ПЭ по сравнению с поздней (рисунки 45, 46).

Обобщая полученные результаты анализа протеомного профиля плаценты при ПЭ можно сделать следующие выводы. Изменения протеома плаценты у пациенток с ПЭ гораздо более сложные и разнообразные, чем изменения протеома плазмы, и характеризуются дифференциальной экспрессией 275 плацентарных белков (151 повышенной, 124 – сниженной) по сравнению со здоровыми беременными. С использованием иерархической кластеризации выделено 7 кластеров дифференциально измененных при ПЭ белков с повышенной экспрессией и 13 кластеров белков со сниженной экспрессией.

Разделение белков с измененной экспрессией на функциональные группы позволило изучить весь спектр биологических процессов, вовлеченных в патофизиологию ПЭ. Это касается как внутриклеточных процессов (митохондриальная дисфункция, стресс эндоплазматического ретикулума, нарушение обмена белков, жиров и углеводов, а также рост клеток, дифференцировка, адгезия, апоптоз и др.), так и системных патологических реакций (таких как окислительный стресс, реакции ответа на гипоксию, воспаление, иммунная дисрегуляция).

Протеомный профиль плаценты в целом более сложный, чем протеом плазмы, с широким спектром изменений, значимо отличается у пациенток с ранней и поздней ПЭ.

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

5.1. Современные особенности развития преэклампсии по данным ретроспективного анализа

Несмотря на множество исследований, посвященных изучению этиопатогенеза ПЭ, точные молекулярные механизмы по-прежнему не изучены. Точкой конвергенции современных концепций развития ПЭ является повреждение плаценты – первичное при ранней ПЭ, вторичное при поздней ПЭ.

Поверхностная плацентация на фоне недостаточности II волны инвазии цитотрофобласта, отсутствие или неполноценное гестационное ремоделирование маточно-плацентарных артерий на I (плацентарном) этапе, последующее развитие клинических симптомов (материнский этап) – цепочка патогенеза ранней ПЭ, которая часто сопровождается неблагоприятными материнскими и перинатальными исходами. Поздняя ПЭ также сопряжена с повреждением плаценты, которое развивается вторично вследствие дисфункции сердечно-сосудистой системы матери, и в зависимости от компенсаторных возможностей материнского организма возможно успешное пролонгирование беременности до доношенного срока гестации. Материнские и перинатальные исходы при поздней ПЭ в подавляющем числе наблюдений благоприятные, однако возможно и тяжелое ее течение с рождением детей в тяжелом состоянии и развитием осложнений у матери.

Независимо от патогенетического варианта развития ПЭ, общим конечным звеном является плацентарная дисфункция (первичная при ранней ПЭ, вторичная при поздней ПЭ), морфологической основой которой считается «стресс» синцитиотрофобласта. В связи с чем, ткань плаценты по-прежнему представляет собой перспективный объект научного исследования в плане развития ПЭ.

Современные достижения в области системной биологии, в частности различных омиксных направлений, позволяют изучить весь комплекс

патофизиологических изменений как в плаценте, так и в биологических жидкостях при развитии ПЭ. Одним из таких инструментов является глубокое протеомное профилирование образцов плацентарной ткани и плазмы крови пациенток с ПЭ, которое может дать важную информацию для ранней диагностики, прогнозирования, мониторинга динамики развития патологических процессов, решения вопроса о необходимости родоразрешения.

Учитывая вышеизложенное, поставлена цель диссертационной работы - оптимизировать диагностику и прогнозирование ПЭ на основании анализа протеома плазмы крови и ткани плаценты с использованием масс-спектрометрии сверхвысокого разрешения и проведением кластерного анализа дифференциально отличающихся при ПЭ белков.

Исследование выполнено в несколько этапов:

- на ретроспективном этапе исследования проанализированы современные особенности развития ПЭ, материнские и перинатальные исходы на основании анализа историй родов, историй развития новорожденных, амбулаторные и обменные карты 200 пациенток (100 женщин с диагностированной ПЭ и 100 здоровых женщин с неосложненной беременностью);
- на проспективном этапе проведен глобальный анализ протеома плазмы крови 40 женщин с диагностированной ПЭ и 40 пациенток с неосложненным течением беременности методом масс-спектрометрии сверхвысокого разрешения;
- на заключительном этапе определен и проанализирован протеом плацентарной ткани 40 пациенток, у которых ранее проводился анализ протеома плазмы крови (20 здоровых женщины с физиологическим течением беременности и 20 пациенток с ПЭ).

Проведенный ретроспективный анализ выявил некоторые значимые особенности пациенток с ПЭ по сравнению с контрольной группой. Обнаружена разница в ИМТ, которая значимо выше в основной группе: данный показатель в среднем составил 26,40 (21,13; 31,17) года в группе женщин с ранним дебютом ПЭ, 24,01 (20,55; 27,67) года в группе женщин с поздним дебютом ПЭ в сравнении с

женщинами контрольной группы – 22,02 (20,08; 24,99) года. Систематический обзор и метаанализ, включающий в себя 86 исследований, подтверждает связь повышенного ИМТ матери до беременности с более высокой вероятностью неблагоприятных исходов для матери и плода/новорожденного, в том числе связанных с ПЭ. Систематический обзор He et al. обнаружил, что избыточный вес (OR = 1,71, 95% ДИ = 1,52–1,91) и ожирение (OR = 2,48, 95% ДИ = 2,05–2,69) были основными факторами риска преэклампсии [107,108,109]. Особенности соматического анамнеза у пациенток с ПЭ характеризуются наличием заболеваний сердечно-сосудистой системы (ХАГ) и системы гемостаза (наследственная тромбофилия). Согласно Pensée Wu риск развития ПЭ/эклампсии на фоне хронической артериальной гипертензии возрастает более, чем в 7 раз (ОШ 7,75, 95% ДИ 6,77 - 8,87) [110,111].

В обзоре Saskia Middeldorp et al. указано, что наследственная или приобретенная тромбофилия ассоциируется с такими осложнениями во время беременности, как привычный выкидыш и ПЭ [112]. Исследования показали, что генетическими факторами риска развития акушерских и перинатальных осложнений у беременных с ПЭ являются следующие: полиморфизм гена фактора V Leiden 1691 GA увеличивает риск в 7,61 раза (ДИ 95%: 2,95-19,6), полиморфизм гена протромбина 20210 GA – в 5,2 раза (ОШ 5,2; ДИ 95%: 1,6-16,7), комбинация из трех и более патологических полиморфизмов – в 4,78 раза (ОШ 4,78, ДИ 95%: 2,2-10,4). Обнаружение титра суммарных антител к β 2-гликопротеину-1 более 8 Ед/мл увеличивает риск развития акушерских и перинатальных осложнений при ПЭ в 2,69 раза (ДИ 95% 1,14–6,37). Регистрация комбинированных форм тромбофилии увеличивает риск осложнений при ПЭ в 2,61 раза (ОШ 2,61, ДИ 95%: 1,23–5,53). При повышении уровня гомоцистеина более чем 15 мкмоль/л риск развития акушерских осложнений увеличивается в 7,46 раза (ДИ 95%: 2,13–26,10) [113].

При изучении репродуктивного анамнеза обнаружено, что бесплодие и беременность, наступившая в результате ЭКО, значимо чаще встречается у

пациенток с ранним дебютом ПЭ. В систематическом обзоре Серенко К.А. и Бантьев М.Н указывают на то, что использование вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) повышает риск развития ПЭ в 6 раз (совокупный показатель 6,2%, ОР 1,8) [114].

Также в группе пациенток с ПЭ выявлено более частое развитие ПЭ и ЗРП во время предыдущей беременности, что подтверждается авторами зарубежных статей: Sylwia Sławek-Szmyt и соавт. указывают на то, что ПЭ и ЗРП напрямую связаны с риском материнских сердечно-сосудистых заболеваний, которые в свою очередь являются предпосылкой развития позднего фенотипа ПЭ [116].

Резюмируя все вышеописанные факторы риска, значимо чаще встречающиеся среди пациенток с ПЭ в нашем исследовании, можно сделать вывод о развитии ПЭ преимущественно у женщин с ХАГ, наследственной тромбофилией, бесплодием и ВРТ во время данной беременности, а также ПЭ и ЗРП во время предыдущих беременностей.

Однако из 100 беременных основной группы значимые факторы риска выявлены у 86 (86%) пациенток, особенности соматического и гинекологического анамнеза 14 (14%) беременных не отличались от контрольной группы (здоровые пациентки): 2/35 (5,7%) в группе с ранней ПЭ и 12/65 (18,5%) в группе с поздней ПЭ по сравнению с 91 (91%) абсолютно здоровыми в контрольной группе ($p < 0,001$). Данный факт свидетельствует об отсутствии универсальной прогностической модели ПЭ, основанной только на совокупных клиничко-анамнестических данных, и акцентирует внимание на необходимости использования новых современных подходов к предикции ПЭ [117].

Проанализировано течение беременности в группах пациенток с ранним и поздним дебютом ПЭ. По результатам I пренатального скрининга высокий риск развития ПЭ и ЗРП (1:100) был выявлен в контрольной группе лишь у одной пациентки (1/100, 1%), в группе с ранней манифестацией высокий риск ПЭ определен у 13/35 (37,1%) %, ЗРП – у 11/35 (31,4%) женщин, в группе с поздней манифестацией – у 17/65 (26,2%) и 15/65 (23,1%) соответственно, что

свидетельствует о необходимости дальнейших исследований в плане прогнозирования ПЭ и, возможно, более широкой стратификации риска (высокий, средний, низкий) [118].

В целом, особенности течения первого триместра в основной группе характеризуются более частой угрозой прерывания беременности, эпизодами повышения АД у 13 (37,1%) женщин с ранней ПЭ и у 3 (4,6%) с поздней ПЭ, кроме того уже в данном триместре манифестировал ГСД у 4 (11,4%) беременных с ранней ПЭ и у 7 (10,8%) с поздней ПЭ [119].

Во втором триместре прослеживалась тенденция к нарастанию частоты регистрации гемодинамических нарушений в сосудистой системе мать-плацента-плод и ЗРП: выявлены признаки нарушения маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока у 6/35 (17,1%), ЗРП у 4/35 (11,4%) в случае раннего дебюта ПЭ; у 2/65 (3,1%) и 1/65 (1,5%) соответственно при поздней ПЭ. Значимо чаще выявлялись вторичный гипотиреоз, ГСД [120].

Третий триместр протекал на фоне прогрессирования нарушений маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока вплоть до антенатальной гибели 3 (8,6%) плодов в группе женщин с ранней ПЭ. НМПК зарегистрированы у 16/35 (45,7%) беременных с ранней ПЭ, у 12/65 (18,5%) с поздней ПЭ; ЗРП – у 14/35 (40%) и 9/65 (13,8%) соответственно. Также значимо чаще в основной группе диагностирован вторичный гипотиреоз, ГСД, пиелонефрит [121,122].

Медиана манифестации ранней ПЭ составила 30 (24; 32) недель, поздней - 36 (35; 37) недель. Тяжелая ПЭ была выявлена у 29 из 35 (82,9%) беременных в группе с ранней манифестацией и у 3 из 65 (4,6%) беременных с поздней манифестацией данного осложнения беременности. Необходимо отметить, что как минимум за 2-3 недели до постановки диагноза «Преэклампсия» у беременных регистрировался только один из симптомов (артериальная гипертензия, протеинурия, отеки, органная дисфункция), что служило основанием постановки альтернативного диагноза («Отеки, вызванные беременностью», «Гестационная артериальная гипертензия» и др.) [123].

ПЭ с ранним дебютом в целом отличалась более тяжелым течением - выявлялись более высокие цифры АД, протеинурии, снижение диуреза, выраженные отеки, неврологическая симптоматика в виде головной боли и нарушения зрения (42,9% по сравнению с 2% беременных с поздним дебютом ПЭ). Нарастание тяжести ПЭ послужило причиной досрочного родоразрешения 24 (68,6%) пациенток, большинство из которых (60,0%) - в экстренном порядке путем операции кесарева сечения. 60 из 65 (92,3%) беременных с поздней ПЭ родоразрешены своевременно, только 5 (7,7%) в сроки до 37 недель; кесарево сечение выполнено у 46,2%, вакуум-экстракция плода – у 9,2%.

Учитывая более тяжелый характер течения ранней ПЭ, в данной группе имели место более неблагоприятные перинатальные исходы и неонатальные осложнения. Средний вес новорожденного в группе с ранним дебютом ПЭ составил в среднем 2763 ± 752 г, 14 (37,8%) детей переведены на второй этап выживания; 13 (35,1%) из них родились маловесными, у 12 (32,4%) детей зарегистрирована дыхательная недостаточность средней степени тяжести. В группе с поздним дебютом ПЭ средний вес новорожденных составил 3357 ± 701 г, 13 (20,0%) детей направлены на второй этап выживания, 11 (16,9%) детей родились маловесными, у 11 (16,9%) диагностирована дыхательная недостаточность средней степени тяжести [122].

Наиболее значимыми факторами риска в когорте женщин с ранней ПЭ оказались ХАГ (ОШ 34,6, 95% ДИ 3,80-5,96), хронический пиелонефрит (ОШ 3,9, 95% ДИ 1,29-4,28), самопроизвольные выкидыши в анамнезе (ОШ 3,3, 95% ДИ 1,17-4,02), бесплодие (ОШ 12,9, 95% ДИ 1,31-13,33), ПЭ в анамнезе (ОШ 12,9, 95% ДИ 2,37-7,52), ЗРП в анамнезе (ОШ 9,4, 95% ДИ 0,91-3,82), высокий риск ПЭ и ЗРП по данным I скрининга (ОШ 16,5, 95% ДИ 2,20-5,75 и ОШ 12,8, 95% ДИ 1,87-5,44 соответственно), нарушения фето-плацентарной гемодинамики, выявленные во II и/или III триместре данной беременности (ОШ 20,7, 95% ДИ 2,84-7,10 и ОШ 27,2, 95% ДИ 3,32-8,33 соответственно).

В когорте женщин с поздней ПЭ статистически значимыми факторами риска оказались ПЭ и ЗРП во время предыдущей беременности (ОШ 6,6, 95% ДИ 1,55-4,48 и ОШ 4,8, 95% ДИ 1,34-5,21 соответственно), наследственная тромбофилия (ОШ 8,3, 95% ДИ 1,72-4,12), беременность после ЭКО и ПЭ (ОШ 10,2, 95% ДИ 1,84-3,94), высокий риск ПЭ и ЗРП по данным I скрининга (ОШ 35,1, 95% ДИ 2,32-3,89 и ОШ 29,7, 95% ДИ 2,16-3,36 соответственно), а также нарушения фетоплацентарной гемодинамики, выявленные в III триместре данной беременности (ОШ 22,6, 95% ДИ 2,20-3,78) [123].

С учетом выявленных ретроспективно факторов высокого риска развития двух клинических фенотипов ПЭ были построены бинарные математические предиктивные модели с чувствительностью 66%, специфичностью 60% для ранней ПЭ, чувствительностью 40%, специфичностью 53% для поздней ПЭ. Относительно низкие показатели прогностической точности таких моделей, включающих только клиничко-анамнестические факторы, не удовлетворяют требованиям современной предиктивной, превентивной медицины, в связи с чем по-прежнему актуальны исследования, посвященные выявлению новых эффективных биомаркеров для ранней диагностики и прогноза вероятности развития ПЭ. Это особенно важно при появлении какого-либо одного из симптомов ПЭ (отеки, артериальная гипертензия, протеинурия, плацентарная и органная дисфункция).

5.2. Глобальный анализ протеома плазмы крови беременных с преэклампсией

Широкомасштабная оценка всех белков плазмы крови и ткани плаценты с помощью современных методов глобального анализа протеома позволяет получить полную информацию о количественном и качественном составе белков биологических жидкостей и тканей при различных патологических состояниях, в том числе при ПЭ.

Данное исследование позволило выявить специфические черты протеомного профиля материнской крови при ПЭ. Результаты работы указывают на значительные изменения в составе циркулирующих белков, что коррелирует с патофизиологическими процессами, лежащими в основе этого осложнения беременности.

Исследование белковых кластеров протеома продемонстрировало значимые нарушения иммунного гомеостаза при ПЭ. Данные изменения характеризуются активацией механизмов как врожденного, так и адаптивного иммунитета, а также запуском аутоиммунных реакций. Долгое время ПЭ интерпретировалась, как избыточный иммунный ответ материнского организма на гестацию, характеризующийся системной реакцией с доминированием провоспалительных агентов и преимущественным повреждением сосудистого эндотелия матери. В то же время актуальные научные данные указывают на глубокую интеграцию воспалительных реакций, системы комплемента и коагуляционного каскада, то есть, данные процессы находятся в состоянии тесного взаимодействия, при котором свертывающая система крови способна модулировать выраженность воспаления, и наоборот [122].

Результаты исследования плазменного протеома у пациенток с преэклампсией подтверждают, что наиболее выраженные трансформации затрагивают систему комплемента и механизмы свертывания крови (каскад коагуляции). В общую группу вошел 21 белок, участвующий в указанных биологических процессах. Из них 7 белков характеризовались повышенной экспрессией, тогда как у 14 наблюдалось снижение концентрации. Также у пациенток с ПЭ была отмечена явная активация функций тромбоцитарного звена гемостаза.

Нормальная беременность характеризуется умеренным повышением активности системы комплемента. Напротив, гиперстимуляция данного звена иммунитета выступает одним из этиологических факторов формирования

«больших акушерских синдромов» (включая ПЭ) и ассоциированных с ними осложнений.

Активация каскада комплемента по любому из трех механизмов — классическому, альтернативному или лектиновому — завершается на общем этапе: формировании мембраноатакующего комплекса C5b-9 (МАК) и последующей деструкции (лизисе) клеток. Исследование протеомного профиля плазмы у пациенток с ПЭ продемонстрировало существенный рост концентрации факторов комплемента C1r, C1s, CFD и MASP1 на фоне снижения уровней C4B, C6, C7 и C8A. Данная динамика подтверждает активацию всех трех регуляторных путей системы комплемента в патогенезе этого гестационного осложнения. Уровни остальных компонентов и регуляторов каскада комплемента при ПЭ также отличались от показателей группы контроля, но эти различия оказались статистически незначимыми [122].

Сериновые протеазы C1r и C1s инициируют классический путь комплемента после связывания субкомпонента C1q с иммунными комплексами. Рост их уровней свидетельствует об интенсификации данного пути. В то же время снижение концентрации промежуточного компонента C4B при преэклампсии (ПЭ), вероятно, обусловлено его истощением вследствие персистирующей активации системы. Аналогичный механизм — превалирование потребления факторов C6, C7 и C8A в ходе сборки мембраноатакующего комплекса (МАК) над их синтезом в печени — объясняет дефицит этих белков.

Повышение концентрации фактора комплемента D (CFD) свидетельствует об активации альтернативного пути при ПЭ. Специфической чертой данного механизма является «автоактивация», реализуемая через гидролиз дисульфидных связей в структуре белка C3. Инициация пути происходит при непосредственном контакте C3b с микроорганизмами, поврежденными клетками или инородными структурами. Последующее взаимодействие C3 с фактором В и его расщепление протеазой CFD приводит к образованию C3-конвертазы и сборке мембраноатакующего комплекса (МАК) [123].

Белок MASP1 является центральным компонентом лектинового каскада, активация которого запускается при связывании маннозосвязывающего лектина (MBL) или фиколинов с углеводными остатками на поверхности клеток. В результате активированные сериновые протеазы (MASP) катализируют расщепление факторов C4 и C2, что обеспечивает синтез C3-конвертазы и последующее образование мембраноатакующего комплекса (МАК).

Гиперстимуляция системы комплемента при ПЭ на фоне дефицита механизмов регуляторного контроля провоцирует истощение её компонентов и развитие «гипокомплементемии потребления». В подтверждение этого нами было зафиксировано снижение уровня карбоксипептидазы B2 (CPB2), ингибирующей классический путь активации. Наблюдаемый рост концентрации кластерина (Clu), в норме супрессирующего комплекс C5b-8, вероятно, является компенсаторным механизмом, который, однако, оказывается функционально недостаточным.

Данные выводы согласуются с результатами недавнего проспективного анализа, выполненного группой исследователей под руководством He с соавторами [124]. Авторы выявили, что дисрегуляция классического и альтернативного путей комплемента при ПЭ начинается уже в первом триместре и длится до конца беременности. Особого внимания заслуживает работа Karumanchi SA, подтвердившая связь между высоким уровнем плацентарного sFlt и запуском каскада комплемента. Данный механизм ведет к поражению ткани плаценты у пациенток с ПЭ [125].

Таким образом, ПЭ следует квалифицировать как гестационное осложнение, ассоциированное с системой комплемента. В контексте прецизионной медицины это диктует необходимость поиска методов направленной терапевтической коррекции выявленных нарушений. К числу перспективных подходов относятся использование моноклональных антител к факторам C5, C3, фактору D и MASP-2, применение селективных низкомолекулярных пептидов, а также ингибирование синтеза C5 в печени [126].

Результаты наших исследований свидетельствуют о сопряженной активации системы комплемента, коагуляционного каскада и тромбоцитарного звена гемостаза. У пациенток с ПЭ зафиксированы выраженные разнонаправленные сдвиги в содержании 12 белков свертывания. В частности, отмечен рост концентрации фактора V (F5) и ингибитора протеина C (SERPINA5) на фоне снижения уровней фибриногена (α , β , γ -цепей), кининогена-1, гепарин-кофактора II, плазминогена, факторов XII и XIII, а также антитромбина-III (SERPINC1).

Согласно современным научным представлениям, система комплемента и коагуляционный каскад находятся в состоянии тесной функциональной взаимосвязи. Это взаимодействие проявляется как в физиологических условиях, так и при патологиях, например, при воспалительных реакциях, сопряженных с тромбозом, или тромботических осложнениях на фоне дисфункции комплемента [120]. Обе системы имеют общее эволюционное происхождение и сходную структурную организацию в виде каскада сериновых протеаз и их регуляторных белков.

В частности, установлено, что в очаге коагуляции тромбин катализирует расщепление фактора комплемента C5. В результате образуются фрагменты C5aT (структурный и функциональный аналог C5a) и C5bT; последний инициирует дальнейшую активацию каскада, приводя к сборке комплекса C5bT-9, литическая активность которого выше, чем у классического C5b-9. В меньших количествах тромбин также способен генерировать стандартные формы C5a и C5b [128]. Обладая свойствами сильного анафилатоксина, компонент C5a стимулирует хемотаксис нейтрофилов и моноцитов в область тромбообразования. Кроме того, он индуцирует экспрессию тканевого фактора на моноцитах и клетках эндотелия, что выступает дополнительным триггером для активации свертывающей системы крови [129].

Плазменный ингибитор протеина C (SERPINA5) является важным звеном в развитии ПЭ, проявляя прокоагулянтные и провоспалительные свойства. Повышение его концентрации блокирует работу антикоагулянта —

активированного протеина С, нарушая его связывание с тромбин-тромбомодулиновым комплексом. Также SERPINA5 ограничивает действие тромбина и фактора Ха [<https://www.uniprot.org/uniprotkb/P05154/entry>].

Фактор V (F5) выступает критическим регулятором гемостаза, обеспечивая протромбиназную активность фактора Ха, необходимую для генерации тромбина. При преэклампсии сочетанная гиперэкспрессия F5 и SERPINA5 детерминирует гиперкоагуляционный статус крови, что является одним из патогенетических факторов возникновения ДВС-синдрома.

Что касается прочих компонентов коагуляционного каскада, уровни которых специфически меняются при ПЭ, нами было зафиксировано преимущественно уменьшение их содержания в плазме крови.

Так, фибриноген- α расщепляется тромбином до мономеров, которые совместно с фибриногеном- β и фибриногеном- γ (FGA, FGB, FGG) полимеризуются, формируя нерастворимый фибриновый каркас, один из основных компонентов тромбов. γ -цепь также содержит основной сайт связывания с рецептором тромбоцитов.

Процесс формирования фибринового остова, являющегося ключевым структурным элементом тромба, инициируется протеолизом фибриногена- α под воздействием тромбина. Образующиеся мономеры вступают в реакцию полимеризации с участием фибриногена- β и γ (FGA, FGB, FGG), создавая нерастворимую сеть. При этом γ -цепь выполняет важную роль в адгезии, так как содержит специфический участок связывания с рецепторным аппаратом тромбоцитов.

Кининоген-1 (KNG1) является предшественником брадикинина, а также высоко- и низкомолекулярных кининогенов. В частности, HMWK участвует в активации внутреннего пути гемостаза и калликреин-кининовой системы. При характерном для ПЭ повреждении эндотелия KNG1 взаимодействует с субэндотелиальными белками, инициируя коагуляцию. Снижение концентрации KNG1 лимитирует синтез брадикинина — мощного вазодилататора и диуретика.

Таким образом, дисфункция калликреин-кининового каскада выступает дополнительным патогенетическим фактором стойкой артериальной гипертензии при ПЭ.

Кофактор гепарина II (SERPIND1) представляет собой ингибитор тромбина (фактора IIa) и функционирует как кофактор гепарина и дерматансульфата, за что получил название «минорный антитромбин». Данный протеин гомологичен антитромбину III и принадлежит к суперсемейству серпинов (альфа-1-антитрипсинов). Установлено, что при физиологически протекающей беременности концентрация SERPIND1 в плазме возрастает, усиливая антитромбиновую активность крови и обеспечивая защиту женского организма от тромбоемболических осложнений [130]. Дефицит SERPIND1 способствует усиленному синтезу тромбина, вызывая гиперкоагуляцию и формирование тромбов в артериях [131].

Антитромбин III (АТ-III, SERPINC1) представляет собой гликопротеин, выполняющий функцию ингибитора ключевых ферментов гемостаза. Его основными мишенями являются сериновые протеазы внутреннего пути активации (факторы Ха, IXa, XIa, XIIa), тромбин (IIa), а также фактор VIIa внешнего пути. Дефицит АТ-III ассоциирован с высоким риском тяжелых тромбоемболий у матери и плода. Кроме того, низкий уровень данного белка может обуславливать резистентность к терапии гепарином и его низкомолекулярными производными [132]. Обнаруженное нами снижение уровня плазминогена (PLG) также усиливает риск тромбообразования. Поскольку плазминоген является предшественником плазмина и ключевым участником фибринолиза, его нехватка ограничивает способность организма эффективно разрушать образующиеся тромбы.

Причиной дефицита перечисленных компонентов системы свертывания при ПЭ может выступать:

- 1) повышенной потерей белков с мочой, что происходит на фоне нефротического синдрома и выраженной протеинурии;

2) сокращением выработки белков, вызванным нарушениями в работе печени;

3) ускоренным потреблением из-за постоянной активности системы свертывания крови, что сопоставимо с «гипокомплементемией потребления».

Протеом крови при ПЭ указывает на системную активацию тромбоцитов. Их скопление в местах поврежденного эндотелия ведет к образованию микротромбов и развитию микроангиопатии. Помимо участия в свертывании крови, тромбоциты активно поддерживают воспаление, стимулируют атерогенез и регулируют работу иммунной системы [133,134].

Применение низкомолекулярного гепарина и ацетилсалициловой кислоты с целью коррекции указанных патофизиологических механизмов развития ПЭ не продемонстрировало высокой эффективности. Основная причина низкой эффективности заключается в том, что эти средства не устраняют непосредственные причины (этиологию) патологического процесса [135,136].

Ключевым результатом работы стало обнаружение выраженных изменений в белковом кластере, указывающих на дисфункцию молекулярных процессов в эндоплазматическом ретикулуме (ER). В данной органелле осуществляются критические посттрансляционные модификации (гликозилирование, ацетилирование, образование дисульфидных мостиков), фолдинг белков при участии люменальных шаперонов и их последующая транспортировка в комплекс Гольджи. Персистенция дефектных протеинов в просвете ER провоцирует развитие ER-стресса и запуск адаптивных сигнальных путей. Тем не менее, при исчерпании компенсаторного ресурса защитные механизмы становятся несостоятельными, что инициирует гибель клетки по пути апоптоза [137].

Протеомный анализ плазмы крови при ПЭ продемонстрировал значимый рост концентрации HSP90B1 (эндоплазмина) — ключевого молекулярного шаперона, а также фермента MAN1A1, задействованного в посттрансляционной модификации белков и метаболизме гликанов в эндоплазматическом ретикулуме. Кроме того, отмечено повышение уровней обеих субъединиц глюкозидазы II —

каталитической (GANAB) и регуляторной (PRKCSH). Подобная динамика показателей, вероятно, отражает попытку компенсации функциональных нарушений в клетках.

У пациенток с ПЭ зафиксирована недостаточность процесса образования нейтрофильных ловушек (NET) и NETоза. Снижение концентрации белков данного кластера (FGA, FGB, FGG, CAMP) свидетельствует об угнетении этой специфической формы клеточной гибели, необходимой для эффективной защиты от чужеродных агентов [138]. Процесс NETоза сопровождается высвобождением нейтрофильных внеклеточных ловушек, предназначенных для иммобилизации и последующей элиминации бактериальных, вирусных и других патогенных агентов [138]. Установлено наличие тесного взаимодействия между системами комплемента и гемостаза, при этом в современных исследованиях NETоз позиционируется как важный дополнительный медиатор данной связи. Нейтрофилы и образуемые ими внеклеточные ловушки (NET) выступают связующим звеном в патофизиологическом каскаде «острое повреждение – воспаление – тромбоз». Кроме того, значительное внимание уделяется изучению участия NET в этиопатогенезе сахарного диабета, атеросклероза, системных васкулитов и аутоиммунных процессов [139].

Согласно современным эпидемиологическим исследованиям, перенесенная ПЭ ассоциирована с повышением риска сердечно-сосудистых осложнений в 2–4 раза. В долгосрочной перспективе это проявляется склонностью к развитию хронической артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, инсульта, а также венозных тромбозов [140,141]. Доказательств развития метаболических нарушений после ПЭ пока недостаточно. Однако результаты метаанализов подтверждают: риск возникновения сахарного диабета II типа возрастает в два раза в интервале от 1 до 10 лет после завершения беременности [142,143].

Протеомное профилирование плазмы крови у пациенток с ПЭ выявило существенные отклонения в кардиометаболическом статусе. Наиболее значимые нарушения затрагивают 23 биологических процесса, ассоциированных с липидным

обменом, включая метаболизм холестерина и липопротеинов, транспорт липидов, клиренс хиломикрон, а также биосинтез ЛПНП и ЛПОНП. В частности, идентифицированный кластер «метаболизм холестерина» характеризовался повышением уровней 6 белков: аполипротеин В-100, аполипротеин С-I, аполипротеин С-II, аполипротеин С-III, аполипротеин Е, белок 1, родственному рецептору липопротеинов очень низкой плотности [Apolipoprotein В-100, Apolipoprotein С-I, Apolipoprotein С-II Apolipoprotein С-III, Apolipoprotein Е, Prolow-density lipoprotein receptor-related protein 1].

Кроме серьезного дисбаланса в липидном обмене, при преэклампсии наблюдаются и другие системные нарушения. Патологический процесс затрагивает ангиогенез, вызывает гибель эндотелиальных клеток (апоптоз), активизирует цитолиз и протеолиз. Также происходят изменения в обмене протеогликанов, восстановлении тканей и работе сигнальных путей TGF- β и инсулиноподобного фактора роста.

Данные многочисленных исследований указывают на персистирующую дисрегуляцию иммунного ответа, коагуляции, воспаления и обмена веществ в протеоме крови женщин даже через год после перенесенной ПЭ [142]. Полученные сведения обосновывают целесообразность долгосрочного диспансерного наблюдения за состоянием здоровья данной группы пациенток.

Следовательно, протеом плазмы крови при преэклампсии (ПЭ) отличается выраженной вариативностью биологических сдвигов, определяющих специфику развития и клиническую картину данной патологии. В отличие от группы контроля, у пациенток с ПЭ наблюдаются существенные отклонения в системе гемостаза, метаболическом статусе, иммуновоспалительном ответе, а также в ряде цитофизиологических процессов.

Благодаря сравнительному анализу протеома крови у пациенток с ранней и поздней ПЭ по сравнению со здоровыми беременными были определены наиболее важные белки, патологические уровни которых типичны для обоих вариантов этого осложнения: повышенная экспрессия Fibronectin (FN1), Glyceraldehyde-3-phosphate

dehydrogenase (GAPDH), Plasma serine protease inhibitor (SERPINA5), Glucosidase 2 subunit beta (PRKCSH), Programmed cell death protein 6 (PDCD6), Coagulation factor V (F5), Neutral alpha-glucosidase AB (GANAB), Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 (ИТИН4), Metalloproteinase inhibitor 2 (TIMP2), и сниженная экспрессия Pregnancy-specific beta-1-glycoprotein 6 (PSG6).

С учетом результатов определения наиболее значимых дифференциально экспрессируемых при ПЭ белков протеома плазмы крови беременных разработаны три прогностические модели, в каждую из которых включено по два белка, являющихся универсальными биомаркерами как для раннего, так и для позднего фенотипа:

1) FN1 и PDCD6 (AUC=0,975, $p < 0,0001$, чувствительность 92,5%, специфичность – 95%);

2) FN и PRKCSH (AUC=0,965, $p < 0,0001$, чувствительность 90%, специфичность – 92,5%);

3) FN и ИТИН4 (AUC=0,941, $p < 0,0001$, чувствительность 87,5%, специфичность – 92,5%).

Все модели продемонстрировали высокую чувствительность, специфичность и прогностическую точность, соответственно имеют высокое качество и практическую ценность, однако наиболее высокие предиктивные характеристики в отношении вероятности развития ПЭ показала модель, включающая определение Fibronectin и Programmed cell death protein 6.

Важнейшим выделенным нами универсальным биомаркером развития ПЭ, включенным во все три модели, является **фибронектин (FN)** - гликопротеин внеклеточного матрикса, способный к связыванию с мембранными рецепторными белками (интегринами), а также другими белками внеклеточного матрикса (коллаген, фибрин, протеогликаны и др.). FN локализуется во внеклеточном матриксе и является медиатором ремоделирования тканей, а также воспалительного процесса. Ремоделирование микросреды, в свою очередь, лежит в

основе клеточных процессов, таких как адгезия, миграция и дифференцировка клеток, играет важную роль в заживлении ран [137,138].

Роль FN в развитии беременности и ее осложнений не совсем понятна. Повышенные уровни данного белка обнаруживаются при многих осложнениях гестационного процесса – невынашивании беременности, преждевременных родах, гестационном диабете и ожирении, в том числе и при ПЭ [146,147].

Согласно данным РНК-секвенирования, представленным в «Human Protein Atlas», из всех тканей в организме человека самая высокая экспрессия фибронектина определяется именно в плаценте [148]. Данный белок экспрессируется клетками инвазивного вневорсинчатого и эндovasкулярного трофобласта и, как полагают, регулирует процессы инвазии и миграции в стенку матки [149].

Дальнейшие исследования показали широкий спектр молекулярных механизмов развития ПЭ, ассоциированных с FN - сосудистое ремоделирование и ангиогенез, воспаление и модуляция иммунного ответа, окислительный стресс, эндотелиальная дисфункция, дисрегуляция факторов роста и реструктуризация внеклеточного матрикса [150]. По-видимому, повышение FN происходит в ответ на гипоксию внеклеточного матрикса, характерную для ПЭ. Недавнее экспериментальное исследование Tsai PY с соавт. (2024) показало, что при гипоксии экспрессия FN в клетках трофобласта повышается и подавляет процессы инвазии и миграции за счет ингибирования ZEB1/2, MMP 9 и сигнальных путей Akt и MAPK. Что интересно, данный эффект нивелировался введением аспирина [149].

Выявлена также прямая корреляция между высоким уровнем FN и повреждением эндотелия при ПЭ, при этом оба патогенетических механизма нивелируются после родоразрешения [151]. В эксперименте показано, что повышенные уровни FN вызывают апоптоз и аутофагию в эндотелиальных клетках вены пуповины человека (HUVEC), обработанных плазмой пациенток с ПЭ (путем

ингибирования каскада, связанного с рапамицином - mTOR); также авторами показано, что последующее подавление FN восстанавливает этот каскад.

Таким образом, высокий уровень FN в плазме может служить прогностическим биомаркером ПЭ, а также инструментом дифференциальной диагностики ПЭ с «гестационной артериальной гипертензией», «отеками, вызванными беременностью» и другими состояниями.

Programmed cell death protein 6 (PDCD6) - белок программируемой клеточной смерти, представляет собой Ca^{2+} связывающий белок, который участвует в регуляции многих клеточных процессов в различных клеточных компартментах: ядерный PDCD6 регулирует апоптоз и альтернативный сплайсинг; цитоплазматический - необходим для везикулярного транспорта из эндоплазматического ретикулума в аппарат Гольджи; мембранный - участвует в восстановлении мембран и формировании внеклеточных везикул, которые также содержат PDCD6 [152]. Показано, что аномальная экспрессия PDCD6 тесно связана со многими заболеваниями, особенно многими видами опухолей.

Первоначально PDCD6 был выделен как проапоптотический белок [153]. Дальнейшие исследования показали его выраженный антиангиогенный эффект, подавляющий миграцию и рост клеток в процессе ангиогенеза [154]. Авторами обнаружено, что гиперэкспрессия PDCD6 блокирует пролиферацию, инвазию и образование капилляроподобных структур, индуцированных фактором роста эндотелия сосудов (VEGF) *in vitro*; выявлено связывание PDCD6 с VEGFR-2 - ключевым белком сигнального пути PI3K/mTOR/P70S6K.

Опубликованы также данные о связи повышенной экспрессии PDCD6 с прогрессированием рака печени путем положительной регуляции пролиферации, миграции и инвазии клеток гепатоцеллюлярной карциномы, подавлением жизнеспособности и клеточного цикла в гепатоцитах, таким образом PDCD6 действует как опухолевый промотор [155].

В рамках рассматриваемой проблемы, определение повышенных уровней PDCD6 в плазме крови у беременных с ПЭ подтверждает выраженный

антиангиогенный дисбаланс, чрезмерную активацию процессов апоптоза в плаценте, а также отрицательно коррелирует с низкими уровнями VEGF на фоне эндотелиальной дисфункции, свойственной данному осложнению беременности.

Еще один универсальный маркер для ранней и поздней ПЭ - **PRKCSH** - бета-субъединица глюкозидазы II (GLU1I β), ключевой компонент системы контроля эндоплазматического ретикулума (ER), который осуществляет процессы гликозилирования и играет жизненно важную роль в распознавании и элиминации неправильно свернутых белков. Взаимодействие с другими белками и участие в клеточных процессах делают PRKCSH незаменимой в поддержания белкового гомеостаза [156].

Исследования биологической активности PRKCSH выявили ее потенциальную ключевую роль в инициации и прогрессировании рака - влияние на рост клеток, метастазирование и реакцию на факторы роста. PRKCSH вносит вклад в программу гибели клеток, включая аутофагию и апоптоз [157]. Показано, что умеренный стресс ER приводит к снижению уровня PRKCSH, что способствует аутофагии. Напротив, чрезмерный стресс ER индуцирует расщепление PRKCSH каспазами с образованием фрагмента, инициирующего апоптоз. Более того, PRKCSH способна модулировать противоопухолевый иммунитет, в связи с чем рассматривается в настоящее время в качестве мишени в иммунотерапии рака.

Наши собственные данные, также как и опубликованные в литературе, свидетельствуют о развитии выраженного стресса ER при ПЭ (особенно, при ее тяжелой форме). Стресс ER - адаптивный механизм, который помогает восстановить баланс в ER для выживания клеток. При этом активируется так называемый *unfolded protein response* (UPR) – ответ клеток на несвернутые белки, направленный на восстановление клеточных функций путем повышения способности сворачивания и снижения синтеза белков, деградации неправильно свернутых белков [158].

Повышенная экспрессия PRKCSH, выявленная нами у беременных с ПЭ, по-видимому, носит компенсаторный характер, обеспечивая повышенную

потребность в ней клеток в условиях длительного стресса ER для поддержки сохранения гомеостаза белков.

ITIH4 (Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4) - еще один важный белок, плазменные уровни которого значимо повышены у беременных с ПЭ: при раннем фенотипе - в среднем в 2,51 раза ($p=0,0001$), при позднем – в 2,88 раз ($p=0,0043$). Белок ITIH4 и его биологическая роль пока плохо изучены. Известно, что ITIH4 – это гликопротеин острой фазы воспаления, преимущественно синтезируемый в печени, действует как ингибитор нескольких протеаз, включая MASP-1 и MASP-2 лектинового пути системы комплемента и плазменного калликреина, в связи с чем данный белок функционально участвует как в реакциях врожденного иммунитета, так и в каскаде коагуляции [159]. Протеазы MASP-1 и MASP-2 индуцируют активацию лектинового пути комплемента с последующим широкомасштабным внутрисосудистым ответом. Для предотвращения аутоиммунного повреждения протеолитическая активность MASP-1 и MASP-2, как и других протеаз, строго регулируется, в том числе белком-ингибитором ITIH4 [160]. Показано, что ITIH4 расщепляется тромбином, а также калликреином и плазмином, низкие концентрации ITIH4 в плазме могут указывать на продолжающееся образование тромбина и потребление либо включение ITIH4 в фибриновый сгусток [160].

Исследования также показали, что ITIH4 играет фундаментальную роль в развитии воспаления, коагулопатии и полиорганного характера повреждений при сепсисе, в связи с чем в настоящее время рассматривается как биомаркер тяжести состояния при сепсисе [161].

Исследование Li L с соавт. показало роль ITIH4 в формировании материнского иммунного ответа, нарушении процессов инвазии трофобласта, миграции и пролиферации децидуальных моноцитов, что позволило авторам рассматривать данный белок в качестве биомаркера привычной потери беременности [162]. Интересно, что ITIH4 существует в двух изоформах, которые обладают противоположными эффектами и разнонаправленным изменением при

невынашивании беременности: резко снижена экспрессия высокомолекулярной фракции (до 120 кДа) с противовоспалительной активностью, и наоборот, обнаружены повышенные уровни низкомолекулярной фракции (36 кДа), которая индуцирует воспаление, нарушает процессы инвазии трофобласта.

Высокие уровни ITIN4 по нашим собственным данным, по-видимому, являются компенсаторной гиперэкспрессией на фоне активации системы комплемента и гемостаза, описанным при ПЭ.

Учитывая характер течения ранней ПЭ (как правило, в тяжелой форме, требующей досрочного родоразрешения, с развитием осложнений как у матери, так и у плода/новорожденного), ее прогнозирование и ранняя диагностика особенно важны в клинической практике. Биоинформационный анализ результатов изучения протеомного профиля плазмы крови беременных с последующим регрессионным анализом выявленных наиболее значимых в развитии ранней ПЭ белков, позволили разработать две предиктивные модели определения вероятности развития ранней ПЭ, в которые включены две пары белков:

- 1) **FN1 (Fibronectin) и PSG6 (Pregnancy-specific beta-1-glycoprotein 6)** (AUC=0,98, $p < 0,0001$, чувствительность и специфичность – 95%);
- 2) модель, включающая **FN1 (Fibronectin) и TIMP2 (Metalloproteinase inhibitor-2)** (AUC=0,976, $p < 0,0001$, чувствительность 90%, специфичность – 95%).

Учитывая высокие показатели чувствительности, специфичности и прогностической точности, обе модели продемонстрировали отличное качество, следовательно могут применяться в широкой клинической практике.

Помимо фибронектина, еще одним важным белком плазмы с выявленной нами дифференциальной экспрессией при ранней ПЭ является **PSG6** - специфичный для беременности гликопротеин, секретируемый плацентой. Биологическая роль семейства PSG, включающего 11 белков (PSG1-11), до сих пор полностью не изучена. Рядом исследований показано, что низкие уровни PSG в крови матери связаны с высоким риском невынашивания беременности, ЗРП и гипоксией плода [163].

Полученные в последние годы данные свидетельствуют об иммуномодулирующей функции белков PSG для предотвращения отторжения иммунной системой матери полуаллогенного плода и плаценты. Впервые иммунорегуляторные функции PSG были выявлены на основании наблюдения о подавлении ими пролиферативного ответа лимфоцитов периферической крови. Позднее было показано *in vitro*, что PSG регулирует функциональную активность Т-клеток путем индукции секреции противовоспалительных цитокинов моноцитами и макрофагами (в частности, интерлейкинов IL-10, IL-6 и трансформирующего фактора роста-бета-1 (TGF- β 1) [164]. Кроме того, выявлено опосредованное PSG переключение иммунной системы матери с Th1-реакции на преимущественно Th2-реакцию, а также супрессия пролиферации Th17-клеток, что необходимо для успешного развития беременности [165].

Также показано, что белки семейства PSG участвуют в ремоделировании материнской сосудистой сети, влияя на секрецию различными клетками проангиогенных факторов, участвующих в развитии плаценты, таких как трансформирующий фактор роста бета-1 (TGF- β 1) и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) [166].

Обобщая вышеуказанное, низкие уровни PSG6 в плазме крови беременных тесно ассоциированы с патофизиологией ранней ПЭ и могут служить косвенным биомаркером ее развития.

TIMP2 является эндогенным ингибитором матричной металлопротеиназы 2 (MMP2), контролируя ее активность в тканях. В настоящее время известно, что в физиологических условиях металлопротеиназы (MMPs) регулируют клеточную миграцию, инвазию и ангиогенез – ключевые звенья процессов имплантации и плацентации. В связи с чем, для физиологического развития беременности, и в частности правильного течения процессов инвазии цитотрофобласта, необходим контролируемый баланс между MMPs и их тканевыми ингибиторами (TIMP). Более поздние исследования показали, что помимо регуляции протеолитической активности MMP2, TIMP2 выполняет и «непротеолитические» функции: в

частности, влияет на активность цитокинов, ингибирует пролиферацию, миграцию и ангиогенез эндотелиоцитов капилляров путем связывания со специфическими рецепторами на поверхности клеток, а также блокирует тирозинкиназы VEGFR2 и FGFR1 [167]. Таким образом, TIMP2 может рассматриваться как антиангиогенный фактор.

Некоторые исследования показали роль дисрегуляции между MMPs и TIMP2 и TIMP1 в генезе «гестационных трофобластных нарушений», включая ПЭ [168]. Sabbatini AR с соавт. опубликовали данные о сильной ассоциации повышенных уровней TIMP-2 с развитием резистентной к терапии артериальной гипертензии [169].

Существуют также свидетельства роли повышенной экспрессии TIMP2 в развитии фиброза почек после перенесенной острой почечной недостаточности [170]. Авторы экспериментально подтвердили связь фактора HIF1 α с геном TIMP2 в условиях гипоксии в моделях ишемии-реперфузии почек, что подтверждает роль TIMP2 как «профиброзного» фактора.

Таким образом, высокие уровни TIMP2 оказались наиболее значимы в генезе именно ранней ПЭ, развивающейся на фоне недостаточности инвазии цитотрофобласта и плацентарной дисфункции, в связи с чем данный белок наряду с фибронектином может служить предиктивным биомаркером в сроки до 34 недель беременности.

5.3. Результаты анализа протеома плаценты

По мере роста и развития плода для поддержания его потребностей на каждом этапе внутриутробного развития происходит и постоянная трансформация плаценты как на молекулярном, на и на гистологическом уровне. Ближе к доношенному сроку беременности появляются и прогрессируют признаки физиологического «старения» плаценты. При осложненном течении гестационного

процесса (развитие ПЭ, ЗРП и др.) этот процесс регистрируется раньше и протекает быстрее [171,172].

S. Khorami Sarvestani с соавт. (2021 г) показано, что в плаценте экспрессируется около 12 тысяч генов, и паттерны экспрессии большинства из них значимо меняются на протяжении всей беременности [173]. Эти изменения соответственно отражаются на транскрипционных и посттранскрипционных механизмах, значимо меняя транскриптом, протеом и метаболом плаценты. В частности, изучение протеомного профиля плаценты, его изменений при развитии ПЭ, может дать дополнительную информацию о глубоких молекулярных механизмах ее развития.

Результаты нашего исследования свидетельствуют о значимых и довольно масштабных изменениях протеома плаценты в случае развития ПЭ по сравнению со «здоровыми» плацентами – статистически значимо по сравнению с контрольной группой отличаются уровни 275 белков из 2,5 тысяч, идентифицированных в каждом биообразце. Функциональный потенциал выделенных 275 белков изучен с помощью кластерного анализа с разделением белков на группы в зависимости от выполняемых функций, клеточной локации, участия в тех или иных биологических процессах с помощью открытых онлайн ресурсов и баз данных.

Получено 7 функциональных кластеров дифференциально измененных при ПЭ белков, уровни которых были значимо выше, чем в контрольной группе, и 13 кластеров белков, уровни которых были значимо ниже, чем в контрольной группе. Значимые кластеры, включающие повышенные при ПЭ белки (согласно энциклопедии KEGG) - Protein processing in endoplasmic reticulum (преобразование белков в эндоплазматическом ретикулуме), Glycolysis / Gluconeogenesis (гликолиз/глюконеогенез), HIF-1 signaling pathway (сигнальный путь HIF-1), Biosynthesis of amino acids (биосинтез аминокислот), Carbon metabolism (углеродный обмен), Regulation of actin cytoskeleton (регуляция актинового цитоскелета), Human immunodeficiency virus 1 infection (инфекция, вызванная вирусом иммунодефицита человека 1). Кластеры, включающие сниженные при ПЭ

белки (согласно KEGG) - Systemic lupus erythematosus (системная красная волчанка), Viral carcinogenesis (вирусный канцерогенез), Neutrophil extracellular trap formation (образование нейтрофильных внеклеточных ловушек), Biosynthesis of amino acids (биосинтез аминокислот), Carbon metabolism (углеродный обмен), 2-Oxocarboxylic acid metabolism (метаболизм оксокарбоновой кислоты), Citrate cycle (TCA cycle) (цитратный цикл), ECM-receptor interaction (взаимодействие ECM-рецептора), Focal adhesion (фокальная адгезия), Human papillomavirus infection (папилломавирусная инфекция), Small cell lung cancer (мелкоклеточный рак легкого), PI3K-Akt signaling pathway (сигнальный путь PI3K-Akt), Ubiquitin mediated proteolysis (убиквитин-опосредованный протеолиз)

Одним из важнейших в патофизиологии ПЭ считается сигнальный путь «HIF-1 signaling pathway». HIF-1 - фактор индуцируемый гипоксией-1 - является основным регулятором тканевого и клеточного ответа на гипоксию, модифицируя активность множества коактиваторов и генов, что в конечном итоге приводит к увеличению синтеза белков, обеспечивающих повышение доставки кислорода в ткани [174]. Об активации сигнального пути HIF-1 свидетельствуют обнаруженные нами повышенные уровни белков, вовлеченных в этот процесс - ENO1, MAP2K2, LDHA, GAPDH, ALDOC, CYBB, ALDOA. Те же белки участвуют и в другом, тесно связанным с «HIF-1 signaling pathway», процессе - активации гликолиза («Glycolysis / Gluconeogenesis»), который также является механизмом адаптации клеток к гипоксии [175].

Реакция плаценты на гипоксию проявляется изменением уровней и множества других белков, которые принимают участие в реакциях метаболизма оксокарбоновой кислоты (белки CS, GOT2, IDH1, IDH3B), цитратного цикла (белки CS, DLST, IDH1, IDH3B), биосинтезе и посттрансляционных преобразованиях белков (UGGT1, SEC61A1, SEC23A, HSPA5, LMAN1, DNAJB11, SSR4, ERP29, HSP90B1, PDIA4, PDIA3, P4HB; ENO1, PKM, GAPDH, ALDOC, ALDOA; ENO1, PKM, GAPDH, ALDOC, ALDOA). По сути, описанные изменения

являются адаптивными механизмами, характерными для реакции клеток трофобласта на гипоксический стресс.

Другим крупным функциональным кластером дифференциально экспрессируемых при ПЭ белков является «Protein processing in endoplasmic reticulum», состоящий из 12 белков (UGGT1, SEC61A1, SEC23A, HSPA5, LMAN1, DNAJB11, SSR4, ERP29, HSP90B1, PDIA4, PDIA3, P4HB) и имеющий важнейшее значение в патофизиологии ПЭ. Патологические уровни перечисленных белков свидетельствуют о развитии стресса эндоплазматического ретикулума (ER), основной механизм которого - накопление неправильно свернутых белков в просвете ER с активацией сигнального пути UPR (unfolded protein response) [176]. При декомпенсации защитных механизмов, активируемых UPR, происходит остановка клеточного цикла и апоптоз клеток. Дополнительным повреждающим фактором являются выявленные нами нарушения процесса «Ubiquitin mediated proteolysis» (убиквитин-опосредованный протеолиз) с резким снижением белков данного кластера. Неэффективность протеолитической деградации белков в клетке приводит к нарушению элиминации и еще большему накоплению «поломанных» белков в клетке, а далее – дисрегуляции клеточного цикла [177].

Полученные нами данные о развитии явной дисфункции ER при ПЭ подтверждаются патоморфологическими изменениями в плаценте. W. Yung, F. Colleoni с соавт. (2021 г) на фоне признаков мальперфузии плаценты описали гистологические маркеры стресса синцитиотрофобласта (ускоренное созревание ворсин, избыточное образование синцитиальных узелков, периворсинчатое отложение фибрина и др.) [178]. Типичные маркеры стресса ER при ПЭ обнаруживаются и при электронной микроскопии (участки фокального некроза, набухание и вакуолизация ER и митохондрий).

Не менее важным звеном патогенеза ПЭ является и митохондриальная дисфункция в плаценте, которая напрямую влияет на уровень АТФ в клетках, приводит к развитию окислительного стресса, активирует различные механизмы гибели клеток (апоптоз, аутофагия, некроз) [179]. Кроме того, митохондрии

являются ключевыми органеллами, в которых протекают реакции клеточного дыхания - «Citrate cycle» (цикла Кребса). Нами выявлено значимое снижение 4 белков, входящих в данный кластер (CS, DLST, IDH1, IDH3B), что ведет не только к дефициту макроэргов, но и к дефициту молекул-предшественников синтеза аминокислот, углеводов, жирных кислот и др. [179]. В целом полученные нами данные свидетельствуют о важной роли плаценты в модулировании метаболического профиля матери при ПЭ, что, по-видимому, носит адаптивный характер. Сходные выводы прозвучали и в работах других авторов [180,181,182,183,184,185].

Еще один крупный функциональный кластер, выделенный нами при ПЭ - «Neutrophil extracellular trap formation» (образование нейтрофильных внеклеточных ловушек), в который вошли 15 белков (H4C1; H4C2; H4C3; H4C4; H4C5; H4C6; H4C8; H4C9; H4C11; H4C12; H4C13; H4C14; H4C15; H4C16, VDAC1). Значимое снижение уровней белков данного кластера свидетельствует о нарушениях реакций врожденного иммунитета в плаценте, и, в частности, процесса NETosis, который связан с образованием нейтрофилами внеклеточных ловушек (Neutrophil extracellular traps) [186]. При этом во время дегрануляции нейтрофилов во внеклеточную среду выбрасываются богатые гистонами нити ДНК и гранулярные белки, что запускает программируемую клеточную гибель и приводит к инактивации чужеродных агентов. Применительно к патофизиологии ПЭ, по-видимому, это происходит на фоне длительного провоспалительного состояния и дополнительно повышает риск тромбообразования, поскольку все компоненты нейтрофильных ловушек обладают прокоагулянтными свойствами [187].

Описанные выше 14 белков-гистонов образуют еще два кластера - «Viral carcinogenesis» и «Systemic lupus erythematosus», имеющих значение при ПЭ. Помимо реакций врожденного иммунитета, эти белки участвуют в регуляции транскрипции и репарации ДНК, способствуют сохранению стабильности хромосом [188]. Другие белки этих кластеров - STAT5B (активатор транскрипции, участвует в процессах иммунной регуляции, а также в пролиферации и выживании

клеток), DDB1 (DNA damage-binding protein-1, необходим для репликации и репарации ДНК), CASP3 (каспаза, участвующая в апоптозе клеток, ингибитор продукции интерферона и провоспалительных цитокинов), C1q (фактор комплемента, участвующий в процессах инвазии и миграции цитотрофобласта, ремоделировании спиральных артерий матки [189,190,191,192,193,194]

Подводя итоги, снижение большой группы белков протеома плаценты при ПЭ, входящих в кластеры «Viral carcinogenesis» и «Systemic lupus erythematosus», свидетельствует о нарушении многих клеточных процессов (апоптоз, репарация ДНК, клеточный цикл и др.) на фоне недостаточной инвазии цитотрофобласта, иммунной дисрегуляции, преобладании провоспалительных реакций, в том числе комплемент-опосредованных.

Помимо вышеперечисленных белков, вовлеченных в разные патогенетические механизмы развития ПЭ, нами выявлено еще 4 функциональных кластера белков со сниженными уровнями, которые в норме обеспечивают сам процесс плацентации и развитие плода - «Small cell lung cancer», «ECM-receptor interaction», «Focal adhesion» и «PI3K-Akt signaling pathway». Перечисленные сигнальные пути включают в основном клеточные процессы, как адгезия, миграция, дифференцировка и пролиферация клеток, апоптоз [196]. Кроме того, «PI3K-Akt signaling pathway» - важнейший сигнальный путь регуляции основных клеточных функций, определяющих выживаемость клеток (транскрипция, трансляция, пролиферация, рост клеток) [197]. 4 белка-ламинины (LAMA2, LAMB1, LAMB2, LAMC3), входящих во все эти кластеры, как показано М. Roediger с соавт., непосредственно участвуют в морфогенезе органов и тканей плода (в том числе в нейрокортикогенезе) с самых ранних этапов его развития [198].

Биоинформационный анализ белков протеома плаценты с наиболее значимыми изменениями при ПЭ и изучение их молекулярных функций позволило выделить 8 белков, имеющих ключевую роль в патофизиологии как ранней, так и поздней ПЭ: 4 белка с повышенной экспрессией (LDHA, FC=0,57, p=0,0005,

C4BPA, FC=0,38, p=0,0007, CARS1, FC=0,58, p=0,0008 и TMED2, FC=0,67, p=0,0008, по сравнению с контролем) и 4 белка – со сниженной (FTL, FC=4,46, p=0,0006, COL6A1, FC=1,45, p<0,0001, HECTD3, FC=1,80, p=0,0006, по сравнению с контролем).

Выявленные нами метаболические нарушения в ткани плаценты при ПЭ, могут быть причиной и/или следствием дисрегуляции функций трофобласта. **LDHA (Lactate dehydrogenase A)** – ключевой фермент гликолиза в сигнальном пути «Glycolysis/Gluconeogenesis», отвечающий за превращение пирувата в лактат. Было показано, что LDHA является чувствительным индикатором плацентарной гипоксии, но конкретный механизм действия остается неясным. Недавние исследования подтвердили, что активированный сигнальный путь PI3K/mTOR/HIF-1 α повышает экспрессию ключевого гликолитического фермента LDHA: в условиях гипоксии в клетках накапливается HIF-1 α и активирует LDHA, который действует как нисходящий эффектор и опосредует воспалительную реакцию [199].

C4BPA (C4b-binding protein alpha) – один из первых идентифицированных белков-регуляторов, который функционирует как ингибитор системы комплемента: подавляя чрезмерную активацию системы комплемента, C4BPA предотвращает его атаку на собственные клетки хозяина (посредством связывания продуктов расщепления комплемента C4b и C3b, он блокирует сборку C3-конвертазы и C5-конвертазы соответственно). Как показали Н. G. Xie с соавт. (2024 г), C4BP подавляет активацию и опсонизацию комплемента, супрессирует системное воспаление, а также обладает антиагрегантными свойствами [200]. Высокие уровни C4BPA в ткани плаценты у беременных с ПЭ, по-видимому, носят компенсаторный характер на фоне описанной при данном осложнении беременности чрезмерной активации системы комплемента и тенденции к гиперкоагуляции.

CARS1 (Cysteine-tRNA ligase, cytoplasmic) – член семейства аминокислот-тРНК-синтетаз, которые катализируют ковалентное присоединение аминокислот к

их тРНК в процессе трансляции белка; в основном отвечает за катализ лигирования цистеина с тРНК-цис [201]. Многочисленные исследования показали, что измененная экспрессия аминоксил-тРНК-синтетаз вовлечена в генез многих заболеваний, включая нейродегенеративные заболевания и аутоиммунные расстройства [202]. Кроме того, CARS играет важную роль в эндогенной продукции гидроперсульфида цистеина и участвует в регуляции митохондриального биогенеза и биоэнергетики [203]. Значимое повышение уровней экспрессии CARS при ПЭ является маркером aberrантной окислительно-восстановительной сигнализации, окислительного стресса и выраженной митохондриальной дисфункции, а также иммунной дисрегуляции.

TMED2 (Transmembrane emp24 domain-containing protein 2) – относится к семейству рецепторов P24, в основном участвует в везикулярном транспорте белков между ER и аппаратом Гольджи. TMED2 часто рассматривается как онкоген, поскольку способствует пролиферации клеток и ингибирует апоптоз [204]. Исследования Feng L с соавт. показали важную роль TMED2 в развитии реакции воспаления через активацию сигнального пути TLR4/NF-κB, что приводит к экспрессии провоспалительных хемокинов [205]. В целом, aberrантные уровни TMED2 подтверждают провоспалительный характер нарушений при ПЭ и напряженность компенсаторных механизмов плаценты в обеспечении роста, развития и жизнеспособности плода.

FTL (Ferritin light chain) – легкая цепь является одной из двух субъединиц ферритина, который состоит из полимера FTL и тяжелых цепей ферритина и играет важную роль в поддержании гемостаза железа. Нами выявлено значимое снижение экспрессии легкой цепи ферритина в ткани плаценты при ПЭ, что согласуется с экспериментальными данными о развитии синдрома, подобного ПЭ, у беременных крыс с низкими уровнями FTL [206]. Авторы постулируют, что снижение FTL индуцирует гибель клеток, особенно ферроптоз, что приводит к дефектному ремоделированию спиральных маточных артерий.

С момента появления термина «ферроптоз» в 2012 году число исследований данной проблемы за последние несколько лет демонстрирует экспоненциальный рост. Ферроптоз - уникальный вид клеточной смерти (наряду с аутофагией, апоптозом и некрозом), обусловленный железозависимым перекисным окислением фосфолипидов, который регулируется несколькими клеточными метаболическими путями, включая окислительно-восстановительный гомеостаз, митохондриальную активность и метаболизм аминокислот, липидов и углеводов [207]. Обычно ферроптоз сопровождается избыточным накоплением свободного железа и реактивных форм кислорода, что приводит к перекисному окислению липидов и гибели клеток.

Как показано, ферроптозом обусловлены многочисленные повреждения органов и дегенеративные патологические процессы, включая репродуктивные нарушения и развитие осложнений беременности [208]. Однако точные патогенетические механизмы до конца не изучены. Тем не менее, патологические уровни FTL, выявленные нами при ПЭ, могут служить еще одним доказательством дисбаланса между окислительным повреждением и антиоксидантной защитой клеточных мембран в ткани плаценты, а также гибели клеток. Т. Liao с соавт. (2022 г) описали признаки ферроптоза в клетках трофобласта у пациенток с ПЭ при проведении электронной микроскопии (пикноз ядер, расширение и вакуолизация митохондрий и ER, повреждение и распад цитоплазматической мембраны в отсутствие типичных признаков аутофагии) [209].

COL6A1 (Collagen alpha-1 (VI)) является основным белком внеклеточного матрикса, который взаимодействует со многими другими его компонентами, образуя поддерживающую структуру для клеток. Опубликованные исследования показали, что COL6A1 способствует миграции и инвазии клеток при различных видах рака (легких, почек, предстательной железы, шейки матки, остеосаркома и др.) [210]. Однако конкретная роль и патогенетические механизмы COL6A1 в развитии ПЭ пока остаются неясными.

Результаты исследования Qi G с соавт. указывают на то, что недостаточная экспрессия COL6A1 ослабляет миграцию, инвазию и образование эндотелиальных трубок в экспериментальной культуре клеток HTR8/SVneo и первичного вневорсинчатого трофобласта через сигнальный путь apelin/APJ/АКТ/mTOR, тем самым способствуя развитию ранней ПЭ [211]. Система белков apelin/APJ играет решающую роль в регуляции ангиогенеза, в связи с чем тесно связана с патогенезом ПЭ. Этот сигнальный путь участвует в морфогенезе и функционировании плаценты, а именно в регуляции таких процессов как пролиферация клеток, апоптоз, ангиогенез и тонус сосудов, поддерживает эндокринную активность плаценты [212].

HECTD3 (E3 ubiquitin-protein ligase) - убиквитинлигазы E3 являются ключевыми ферментами убиквитирования - разновидности посттрансляционной модификации белков в виде комплекса последовательных реакций. Убиквитинирование играет ключевую роль в регуляции клеточных функций, таких как клеточный цикл, апоптоз, восстановление повреждений ДНК, транскрипция, эндоцитоз и сигнализация [213]. В последние годы функции HECTD3 уделяется значительное внимание. Сообщается, что HECTD3 модифицирует множество субстратных белков, регулируется различными факторами и играет важную роль не только в клеточных процессах, но и в развитии лекарственной устойчивости, и в иммунных реакция [214]. Дисфункция HECTD3 является важным фактором в патогенезе множества заболеваний человека (рак, нейродегенеративные заболевания, рассеянный склероз, бактериальные инфекции и др.). Недавнее исследование Rangrez AY с соавт. показало новый кардиопротекторный механизм с участием HECTD3, основанный на антигипертрофических и противовоспалительных эффектах данной убиквитинлигазы [215].

Низкие уровни HECTD3 в ткани плаценты при ПЭ, по-видимому, также поддерживают провоспалительный характер изменений, дисрегуляцию клеточного цикла и метаболические нарушения.

Таким образом, при ПЭ нами выявлены значимые изменения протеомного профиля плаценты, которые включают в себя широкий спектр как клеточных нарушений, так и нарушений на системном уровне. Патофизиологические механизмы ПЭ чрезвычайно многообразны – получены убедительные данные о развитии воспаления, окислительного стресса, стресса митохондрий и ER, реакций ответа клеток на гипоксию, нарушении всех видов клеточного обмена, иммунного ответа. Неблагоприятны могут быть для развивающегося плода и плаценты изменения массива белков, вовлеченных в процессы эмбриогенеза, гистогенеза и плацентогенеза. Белки LDHA, C4BPA, CARS1, TMED2, FTL, COL6A1, HECTD3 могут рассматриваться в качестве маркеров стресса и дисфункции трофобласта у пациенток с ПЭ.

Сравнительный анализ протеомного профиля плаценты при раннем и позднем фенотипе ПЭ показал отличающиеся патофизиологические особенности каждого из этих подтипов. Изменения в плаценте между данными двумя фенотипами ПЭ были выражены в большей степени, чем в плазме крови. Выявлена значимая дифференциальная экспрессия 140 плацентарных белков, уровни 76 из них при ранней ПЭ снижены, 64 – повышены.

Кластерный анализ 64 плацентарных белков с повышенными при ранней ПЭ уровнями позволил выделить 9 крупных кластеров: «Ribosome», «Coronavirus disease - COVID-19», «Phagosome», «Antigen processing and presentation», «Protein processing in endoplasmic reticulum», «Galactose metabolism», «Lipid and atherosclerosis», «Lysosome», «Prion disease». Соответственно патофизиология ранней ПЭ ассоциируется с целым спектром биологических процессов с участием данной группы белков: активация клеточных процессов (трансляция), напряжение процессов в эндоплазматическом ретикулуме с активацией ответа на несвернутый белок (unfolded protein response - UPR) и последующим апоптозом клеток, активация фагоцитоза (который помимо защиты от инфекционных агентов является центральным механизмом ремоделирования тканей и воспаления) и аутофагии (с участием лизосом), реакций иммунного ответа, а также вовлечение

процессов углеводного, жирового и белкового метаболизма. Обращает на себя внимание активация сигнального пути «Lipid and atherosclerosis» с повышением белков HSPA5, HSP90AA1, CD14, HSPA6, HSPA7, HSP90AB1, участвующих в развитии эндотелиального повреждения и дисфункции, экспрессии молекул адгезии и активации моноцитов, - патогенетических механизмов развития сердечно-сосудистых заболеваний [216].

Те же белки HSPA5, HSPA6, HSPA7, а также NDUFA8, PSMB3, NDUFS7 вошли в кластер «Prion disease», сигнальные пути которого вовлечены в развитие тяжелых нейродегенеративных заболеваний. Функциональное значение данного кластера белков при ПЭ трудно объяснить, однако прослеживаются некоторые общие патогенетические механизмы. Процессы, приводящие к гибели нейронов - окислительный стресс, активация комплемента, стресс эндоплазматического ретикулума, активация убиквитин-протеасомной и эндосомально-лизосомальной системы и др., также описаны при ПЭ [217]. По-видимому, известные церебральные нарушения при ПЭ от минимальной дисфункции до возникновения судорожного приступа также во многом обусловлены перечисленными механизмами.

Выделено также 14 кластеров белков, отличающихся сниженной экспрессией при ранней ПЭ по сравнению с поздней: «Cytoskeleton in muscle cells», «Focal adhesion», «Tight junction», «Regulation of actin cytoskeleton», «Leukocyte transendothelial migration», «Platelet activation», «Adherens junction», «Bacterial invasion of epithelial cells», «Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy», «Staphylococcus aureus infection», «Motor proteins», «Pathogenic Escherichia coli infection», «Phosphonate and phosphinate metabolism», «Rap1 signaling pathway».

Снижение уровней 11 белков кластера «Focal adhesion» и 13 белков кластера «Cytoskeleton in muscle cells» свидетельствует о важной роли изменения процессов клеточной адгезии при ПЭ, которые включают подвижность, пролиферацию и дифференцировку клеток, рост и восстановление клеток. Некоторые из этих белков участвуют в реорганизации актинового цитоскелета, необходимого для изменения

формы и подвижности клеток, другие - являются сигнальными молекулами (различные протеинкиназы и фосфатазы, их субстраты и др.) [218]. Как было показано, указанные взаимодействия являются неотъемлемой частью нормального выживания клеток и имеют первостепенное значение в развитии многих патологических процессов.

Развитие плаценты, а также тканей и органов эмбриона/плода зависит от скоординированного взаимодействия многих клеток. О нарушении межклеточных взаимодействий при ранней ПЭ свидетельствует снижение белков кластера «Adherens junction». Адгезивные соединения являются ключевыми субклеточными структурами, регулируемые молекулами клеточной адгезии (интегринами, кадгеринами, иммуноглобулинами, нектинами и селектинами), и, как показано, играют фундаментальную роль в морфогенезе тканей [219]. Сходными функциями обладают белки «Rap1 signaling pathway». Rap1 – фермент ГТФаза, которая также регулирует такие процессы, как адгезия клеток и образование межклеточных соединений, соответственно играет ключевую роль в контроле межклеточных взаимодействий. Недавние исследования показали, что снижение экспрессии Rap1 в ткани плаценты подавляет пролиферацию и миграцию клеток трофобласта путем ингибирования сигнального пути Rap1, и, таким образом, может быть связано с развитием ПЭ [220]. Патологические изменения белков указанных кластеров, несомненно, могут иметь далеко идущие последствия в отношении здоровья детей, рожденных от матерей с ПЭ.

Тесно связанным с вышеуказанными кластерами является «Tight junction» (плотные соединения). Плотные контакты плаценты необходимы для образования селективно проницаемого барьера для межклеточной диффузии веществ, клеток и разных субстратов через парацеллюлярное пространство и состоят из клаудинов, окклюдина и молекул адгезии, которые в процессе плацентации регулируют пролиферацию, миграцию и инвазию трофобласта, образование синцитиотрофобласта, эндотелиальную адгезию, ремоделирование желез и спиральных артерий матки [221]. При ранней ПЭ нами выявлена явная

дисрегуляция экспрессии плацентарных белков плотных соединений, что подчеркивает их роль в патологической плацентации и может указывать на повышение проницаемости плацентарного барьера.

«Leukocyte transendothelial migration» - трансэндотелиальная миграция лейкоцитов имеет решающее значение в реакциях врожденного иммунитета и развитии воспаления. При повреждении тканей либо инфекции происходит адгезия лейкоцитов к эндотелиальным клеткам сосудов, нарушая межклеточные соединения эндотелиоцитов, затем лейкоциты трансмигрируют в интерстиций [222]. Снижение белков данного кластера при ранней ПЭ может свидетельствовать о неадекватности реакций врожденного иммунитета, одновременно имеет место недостаточность белков, участвующих в реакциях ответа на инфекцию и вовлеченных в реакции воспаления (кластеры «Bacterial invasion of epithelial cells», «Staphylococcus aureus infection», «Pathogenic Escherichia coli infection»).

Более низкие уровни белков кластера «Platelet activation» при ранней ПЭ по сравнению с поздней, по-видимому, являются результатом длительного их потребления на фоне постоянной активации каскада коагуляции и/или тромбоцитопении, а также снижения их синтеза в печени.

Обращают на себя внимание патологические уровни белков кластера «Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy» - аритмогенной правожелудочковой кардиомиопатии, отличительными признаками которой являются прогрессирующая потеря миоцитов с замещением их фиброзно-жировой тканью преимущественно в желудочках сердца. Повреждение миокарда при этом может сопровождаться воспалением. Последние данные свидетельствуют о том, что пациенты с умеренной желудочковой дисфункцией в целом имеют хороший прогноз вынашивания беременности; однако у 25% пациенток развивалась ПЭ, у 39-60% женщин с высоким риском наблюдались желудочковые аритмии, сердечная недостаточность, инсульт, вплоть до летального исхода [223]. Несмотря на то, что ПЭ и кардиомиопатия - два отдельных патологических состояния, они имеют много общего в предрасполагающих факторах (многоплодная

беременность, старший возраст беременной, семейный анамнез, афро-азиатская этническая принадлежность, диабет, хроническая артериальная гипертензия, генетическая предрасположенность и др.) и механизмах патогенеза (высокие уровни антиангиогенных факторов, окислительный стресс и др.) [224]. В связи с недостаточной изученностью данной проблемы требуются дальнейшие исследования в отношении стратификации риска ПЭ, диагностики и долгосрочных прогнозов при выявлении у беременных кардиомиопатии.

Таким образом, сравнительное изучение протеома плаценты у пациенток с ранней и поздней ПЭ с проведением кластерного анализа дифференциально отличающихся белков позволяет сделать следующие выводы. Протеомный профиль плаценты при ранней ПЭ отличается высокой экспрессией 64 белков, вовлеченных в развитии эндотелиальной дисфункции, индукции молекул клеточной адгезии и активации моноцитарно-макрофагальной системы, активации деструктивных процессов (апоптоз, аутофагия) и иммунного ответа, а также свидетельствующих о чрезмерном напряжении процессов в ER. Низкие уровни 76 плацентарных белков отражают нарушения морфогенеза плаценты, формирования межклеточных взаимодействий; особенно неблагоприятна дисрегуляция экспрессии белков плотных соединений, что может указывать на повышение проницаемости плацентарного барьера при ранней ПЭ.

ВЫВОДЫ

1. ПЭ развивается не только у беременных с факторами риска, но и у здоровых женщин без факторов риска (14%). Прогностическая модель с оценкой клинико-анамнестических данных имеет чувствительность 66%, специфичность 60% для определения вероятности развития ранней ПЭ; чувствительность 40%, специфичность 53% - для определения вероятности поздней ПЭ.

2. Течение беременности до постановки диагноза «ПЭ» часто осложняется патологической прибавкой веса и отеками (у 62%), транзиторной артериальной гипертензией (у 33%), эпизодической протеинурией (у 4%), снижением СКФ (у 17%) и числа тромбоцитов (у 12%) в динамике, активацией внутрисосудистого свертывания крови (у 14%), признаками нарушения маточно-плацентарного/плодово-плацентарного кровотока (до 28%) и ЗРП (до 23%), что является основанием для дообследования с целью оценки вероятности развития ПЭ.

3. ПЭ с ранним дебютом и тяжелым течением развивается у пациенток более старшего возраста, с отягощенным соматическим (ожирение, ХАГ, инфекции разной локализации, бесплодие) и репродуктивным анамнезом (невынашивание, ПЭ и ЗРП во время предыдущей беременности), чаще приводит к таким осложнениям, как антенатальная смерть плода (8,6%), ЗРП (40%), HELLP-синдром (2,8%) с досрочным (31,4%) и оперативным (60%) родоразрешением и неблагоприятными неонатальными исходами (маловесные дети (35,1%), дыхательная недостаточность (32,4%), РДС (21,6%), перевод на II этап выхаживания (37,8%)).

4. При развитии ПЭ в плазме крови беременных значимо изменяется уровень 113 белков (70 из них - повышены, 43 – снижены), вовлеченных в более чем 60 биологических процессов и выполняющих 49 молекулярных функций, что свидетельствует о крайне широком спектре молекулярных механизмов развития ПЭ: реакции воспаления и иммунного ответа, функционирование каскада

комплемента и системы гемостаза, аутоиммунные реакции, метаболические процессы, а также многие клеточные и внутриклеточные процессы.

5. Уровни Fibronectin, Programmed cell death protein 6, Glucosidase 2 subunit beta, Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 имели наиболее значимые и выраженные изменения как при ранней, так и при поздней ПЭ, в связи с чем указанные белки включены в модели прогнозирования вероятности развития ПЭ в качестве универсальных биомаркеров в отношении обеих ее клинических фенотипов. Модели, включающие оценку Fibronectin, Metalloproteinase inhibitor 2 и Pregnancy-specific beta-1-glycoprotein 6 в материнской плазме в сроки до 34 недель беременности, позволяют с высокой точностью прогнозировать развитие тяжелой ранней ПЭ.

6. Протеом плаценты при ПЭ и при физиологическом течении беременности отличается дифференциальной экспрессией 275 белков (повышением 151 белка, снижением - 124 белков), кластерный анализ которых свидетельствует о вовлечении в патофизиологию ПЭ множества патогенетических механизмов (окислительный стресс, реакции, индуцированные гипоксией, стресс эндоплазматического ретикулума, митохондриальная дисфункция, воспаление, иммунная дисрегуляция, метаболические и клеточные нарушения).

7. Различия протеомного профиля плаценты при раннем и позднем фенотипе ПЭ более выражены (дифференциальная экспрессия 140 белков), чем протеома материнской плазмы (дифференциальная экспрессия 11 белков), что свидетельствует о сходных изменениях в организме матери на этапе клинических проявлений ПЭ и вовлечении плаценты в патофизиологию ПЭ при обоих ее клинических фенотипах.

8. Отличительной особенностью плацентарного протеома при ранней ПЭ является тесная корреляция между антиангиогенной и провоспалительной активностью с нарушениями межклеточных взаимодействий, в том числе определяющих селективную проницаемость плацентарного барьера.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании результатов проведенного комплексного исследования, посвященного изучению протеомных профилей плаценты и крови у беременных с нормальным течением беременности и при развитии преэклампсии (ПЭ), можно сформулировать следующие заключения, структурированные в соответствии с поставленными задачами диссертационной работы.

1. Ретроспективный сравнительный анализ анамнестических и клинических данных, исходов беременности и родов у пациенток с ранним и поздним фенотипом ПЭ позволил выделить ряд особенностей, характеризующих течение и прогрессирование заболевания в зависимости от времени манифестации. Были установлены статистически значимые различия в частоте встречаемости определенных факторов риска (например, наличие хронической артериальной гипертензии, ожирения, тромбофилии) у пациенток с ранней ПЭ. Анализ исходов беременности показал, что ранняя ПЭ ассоциирована с более высоким риском преждевременных родов, задержки внутриутробного развития плода и других неблагоприятных перинатальных исходов. У пациенток с поздней ПЭ были выявлены отличающиеся особенности клинической картины и исходов беременности, что указывает на возможные различия в патогенетических механизмах развития ранней и поздней форм заболевания. Полученные данные подтверждают необходимость дифференцированного подхода к ведению беременности у женщин с ПЭ в зависимости от сроков манифестации и степени тяжести.

2. Глобальный анализ протеома плазмы крови у здоровых беременных и беременных с ПЭ позволил идентифицировать значительное число дифференциально экспрессируемых белков. Были выявлены белки, уровни которых статистически значимо изменяются при развитии ПЭ, что свидетельствует о нарушении различных биологических процессов в организме матери при данном осложнении беременности. Среди наиболее значимых дифференциально экспрессируемых белков были обнаружены белки, участвующие в регуляции

ангиогенеза, иммунного ответа, свертывания крови, окислительного стресса и метаболизма липидов. Полученные данные согласуются с современными представлениями о патогенезе ПЭ и указывают на ключевую роль дисфункции эндотелия, нарушения баланса про- и антиангиогенных факторов, активации иммунной системы и окислительного стресса в развитии данного осложнения. Идентификация дифференциально экспрессируемых белков в плазме крови открывает перспективы для разработки новых методов ранней диагностики и прогнозирования ПЭ, а также для выявления потенциальных терапевтических мишеней.

3. На основании кластерного анализа значимо измененных при ПЭ белков плазмы крови был выявлен широкий спектр молекулярных механизмов, вовлеченных в развитие и прогрессирование данного осложнения беременности, в том числе при раннем и позднем фенотипе. Анализ кластеров выявил различные сигнальные пути и биологические процессы, дисрегуляция которых ассоциирована с ПЭ. Установлено, что при раннем фенотипе ПЭ преобладают нарушения, связанные с дисфункцией плаценты и нарушением ангиогенеза, в то время как при позднем фенотипе более выражены изменения, отражающие системное воспаление и эндотелиальную дисфункцию. Данные результаты подчеркивают наличие патогенетических различий между ранней и поздней ПЭ, что требует усовершенствования подходов к предикции, профилактике и лечению.

4. Глобальное исследование протеома плаценты у женщин с ПЭ и при неосложненном течении беременности с последующим кластерным анализом значимо измененных белков. Выявлены белки, экспрессия которых в плаценте существенно отличается при ПЭ, что указывает на нарушение функционирования этого органа при данном осложнении беременности. Кластерный анализ показал, что при ПЭ в плаценте нарушаются процессы клеточной адгезии, дифференцировки и апоптоза, а также изменяется экспрессия белков, участвующих в транспорте питательных веществ и регуляции иммунного ответа. Полученные данные позволяют получить более полное представление о молекулярных

механизмах плацентарной дисфункции при ПЭ и выявить потенциальные мишени для воздействия на плаценту с целью улучшения исходов беременности.

5. На основании выявленных протеомных предикторов разработан алгоритм прогнозирования и ранней диагностики ПЭ. В алгоритм включены уровни наиболее значимых дифференциально экспрессируемых белков в плазме крови, а также клинические и анамнестические данные пациенток. Проведенные исследования показали, что разработанный алгоритм обладает достаточной чувствительностью и специфичностью для прогнозирования развития ПЭ на ранних сроках гестации, что позволит своевременно начать профилактические мероприятия и улучшить исходы беременности. Дальнейшая валидация алгоритма в крупных клинических исследованиях позволит определить его место в клинической практике и оценить его эффективность в снижении частоты неблагоприятных исходов, связанных с ПЭ.

Таким образом, проведенное комплексное протеомное исследование плаценты и крови у беременных с ПЭ позволило получить новые данные о молекулярных механизмах развития данного осложнения беременности, выявить потенциальные биомаркеры для ранней диагностики и прогнозирования ПЭ, а также определить терапевтические мишени для разработки новых методов лечения. Результаты исследования вносят вклад в понимание патогенеза ПЭ и могут быть использованы для улучшения медицинской помощи беременным женщинам и снижения материнской и перинатальной заболеваемости и смертности, связанных с этим серьезным осложнением. Дальнейшие исследования в данной области представляются перспективными и необходимыми для совершенствования методов управления беременностью при ПЭ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Независимо от результатов I пренатального скрининга, при регистрации транзиторной артериальной гипертензии, отеков, эпизодической протеинурии, признаков нарушения маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока по данным доплерометрии в сроки после 20-22 недель беременности пациентки должны быть отнесены в группу высокого риска для дообследования и предикции вероятности развития ПЭ.

2. Для прогнозирования вероятности развития ПЭ может быть использована бинарная модель логистической регрессии с определением Fibronectin (FN1) и Programmed cell death protein 6 (PDCD6) в плазме крови беременной (чувствительность 92,5%, специфичность – 95%):

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

$$\text{где } z = 639,9 - 15,9702X_1 - 8,97184X_2$$

X_1 – уровень экспрессии **PDCD6**

X_2 – уровень экспрессии **FN1**

При $0 \leq P \leq 0,5$ вероятность развития ПЭ низкая, при $0,5 < P \leq 1,0$ вероятность развития ПЭ высокая.

3. Для прогнозирования вероятности развития ранней ПЭ в сроки до 34 недель беременности может быть использована бинарная модель логистической регрессии с определением Fibronectin (FN1) и Pregnancy-specific beta-1-glycoprotein 6 (PSG6) в плазме крови беременной (чувствительность 95%, специфичность – 95%):

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

$$\text{где } z = 0,134 - 11,4654X_1 + 12,2X_2$$

X_1 – уровень экспрессии **FN1**

X_2 – уровень экспрессии **PSG6**

При $0 \leq P \leq 0,5$ вероятность развития ранней ПЭ низкая, при $0,5 < P \leq 1,0$ вероятность развития ПЭ высокая.

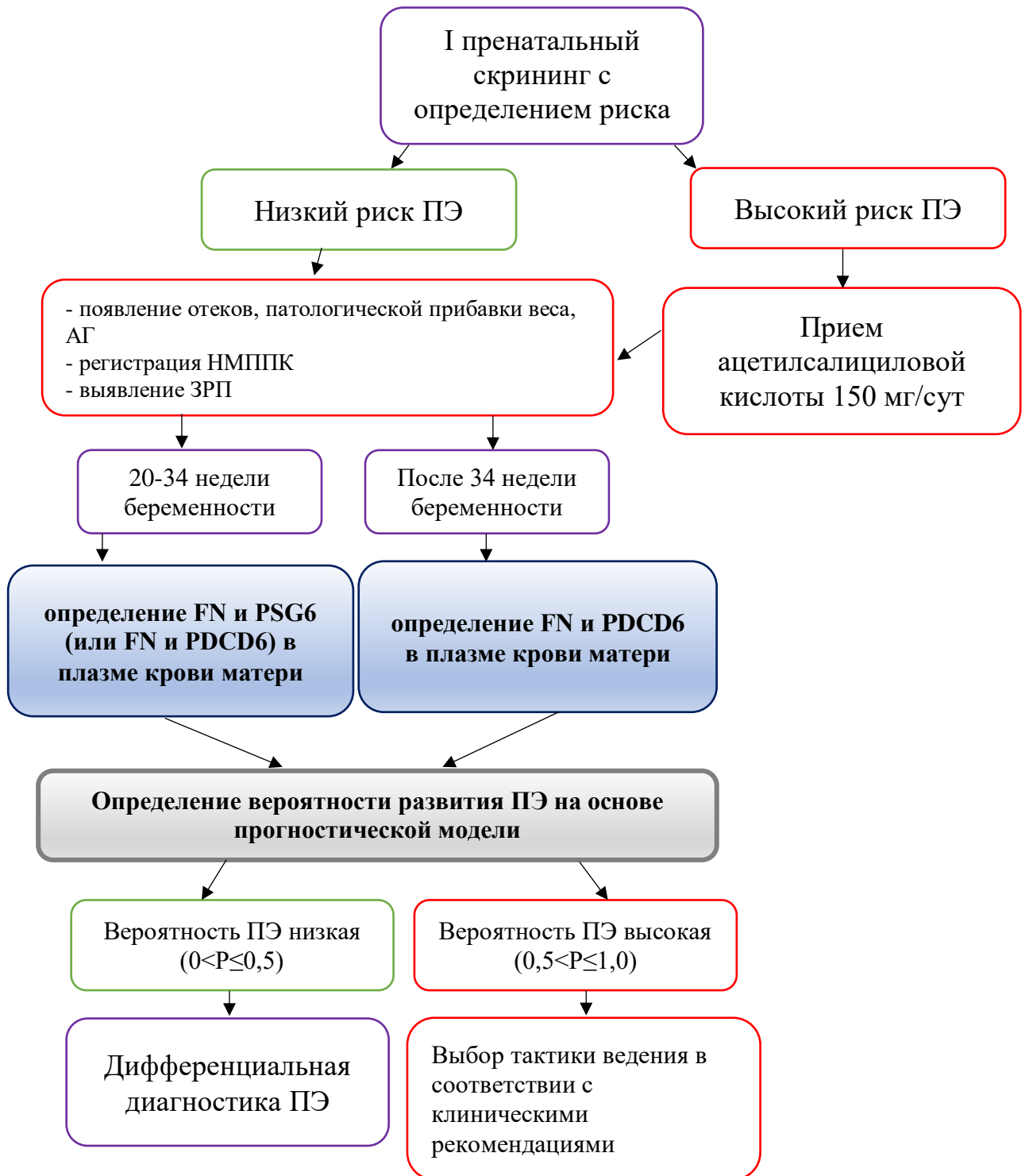


Схема 1 – Алгоритм ведения беременных группы риска развития ПЭ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД – артериальное давление

АГ – артериальная гипертензия

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

АФС – антифосфолипидный синдром

АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время

ВПР – врожденные пороки развития

ГАГ – гестационная артериальная гипертензия

ГБ – гипертоническая болезнь

ГСД – гестационный сахарный диабет

ДАД – диастолическое артериальное давление

ДИ – доверительный интервал

ЗРП – задержка роста плода

ИМТ – индекс массы тела

КС – кесарево сечение

КТГ – кардиотокография

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

НМПК – нарушение маточно-плацентарного кровотока

МАК – мембранатакующий комплекс

МНО – международное нормализованное отношение

ОШ – отношение шансов

ПОНРП – преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты

ПР – преждевременные роды

ПЭ – Преэклампсия

РДС – респираторный дистресс-синдром

САД – систолическое артериальное давление

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

СРБ – С-реактивный белок

- ССВО** – синдром системного воспалительного ответа
- ССС** – сердечно-сосудистая система
- ТМА** – тромботическая микроангиопатия
- ТТГ** – тиреотропный гормон
- УЗИ** – ультразвуковое исследование
- ХАГ** – хроническая артериальная гипертензия
- ЧСС** – частота сердечных сокращений
- ЭКО** – экстракорпоральное оплодотворение
- 2D-PAGE** – двумерный полиакриламидный гель-электрофорез
- ACOG** – Американский колледж акушерства и гинекологии
- CFD** – фактора комплемента D
- Clu** – кластерин
- CPB2** – карбоксипептидаза B2
- F5** – коагуляционный фактор V
- FIGO** – Международная федерация акушеров-гинекологов
- FN** – фибронектин
- GWAS** – Полногеномные ассоциативные исследования
- HIF** – фактор, индуцируемый гипоксией
- ISSHP** – Международное общество по изучению артериальной гипертензии у беременных
- KNG1** – кининоген-1
- LC-MS** – жидкостная хроматография — масс-спектрометрия
- MALDI-TOF** – матричная лазерная десорбция/ионизация
- MASP** – MBL-ассоциированные сериновые протеазы
- NICE** – Национальный институт здоровья и клинического совершенства
- PDCD6** – белок программируемой клеточной смерти
- PIGF** – плацентарный фактор роста
- PI (ПИ)** – пульсационный индекс
- PLG** – плазминоген

PP13 – плацентарный белок-13

PRKCSH – бета-субъединица глюкозидазы II (GLU11 β)

SERPINA5 – плазменный ингибитор протеина С

sFlt-1 FMS – подобная тирозинкиназа-1

SIRS – чрезмерный провоспалительный ответ

VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on pre-eclampsia: A pragmatic guide for first-trimester screening and prevention / L. C. Poon, A. Shennan, J. A. Hyett [et al.] // International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics. – 2019. – Vol. 145. – Suppl. 1. – P. 1–33.
2. Сидорова, И. С. Гестоз или преэклампсия? / И. С. Сидорова, Н. А. Никитина // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2013. – Т. 13. – № 4. – С. 67–73.
3. Preeclampsia and eclampsia: the conceptual evolution of a syndrome / O. Erez, R. Romero, E. Jung [et al.] // American journal of obstetrics and gynecology. – 2022. – Vol. 226. – № 2S. – P. S786–S803.
4. Сидорова, И. С. Решенные и нерешенные вопросы преэклампсии по результатам анализа материнской смертности за последние 10 лет / И. С. Сидорова, Н. А. Никитина, О. С. Филиппов // Акушерство и гинекология. – 2021. – № 4. – С. 64–74.
5. Мельников, А. П. Формирование плаценты человека и преэклампсия / А. П. Мельников, В. Д. Казанцева // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2021. – Т. 21. – № 5. – С. 22–29.
6. The etiology of preeclampsia / E. Jung, R. Romero, L. Yeo [et al.] // American journal of obstetrics and gynecology. – 2022. – Vol. 226. – № 2S. – P. S844–S866.
7. Clinical tools and biomarkers to predict preeclampsia / T. M. MacDonald, S. P. Walker, N. J Hannan [et al.] // EBioMedicine. – 2022. – Vol. 75. – P. 103780.
8. Melchiorre, K. The placenta and preeclampsia: villain or victim? / K. Melchiorre, V. Giorgione, B. Thilaganathan // American journal of obstetrics and gynecology. – 2022. – Vol. 226. – № 2S. – P. S954–S962.
9. Redman, C. W. G. Syncytiotrophoblast stress in preeclampsia: the convergence point for multiple pathways / C. W. G. Redman, A. C. Staff, J. M. Roberts // American journal of obstetrics and gynecology. – 2022. – Vol. 226. – № 2S. – P. S907–S927.

10. Всемирная организация здравоохранения. Информационные бюллетени: [Электронный ресурс] – URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/maternal-mortality/> – Текст: электронный.
11. Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin Summary, Number 222 // *Obstetrics and gynecology*. – 2020. – Vol. 135. – № 6. – P. 1492–1495.
12. Pregnancy, preeclampsia and maternal aging: From epidemiology to functional genomics / E. C. Miller, A. Wilczek, N. A. Bello [et al.] // *Ageing research reviews*. – 2022. – Vol. 73. – P. 101535.
13. Pre-eclampsia / E. Dimitriadis, D. L. Rolnik, W. Zhou [et al.] // *Nature reviews. Disease primers*. – 2023. – Vol. 9. – № 1. – P. 8.
14. The 2021 International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy classification, diagnosis & management recommendations for international practice / L. A. Magee, M. A. Brown, D. R. Hall [et al.] // *Pregnancy hypertension*. – 2022. – Vol. 27. – P. 148–169.
15. Pre-eclampsia and long-term health outcomes for mother and infant: an umbrella review / T. Pittara, A. Vyrides, D. Lamniso [et al.] // *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*. – 2021. – Vol. 128. – № 9. – P. 1421–1430.
16. Преэклампсия. Эклампсия. Отеки, протеинурия и гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Клинические рекомендации / Российское общество акушеров-гинекологов. – Министерство здравоохранения РФ. – 2024. – 79 с.
17. Hypertensive Disorders of Pregnancy: ISSHP Classification, Diagnosis, and Management Recommendations for International Practice / M. A. Brown, L. A. Magee, L. C. Kenny [et al.]. // *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*. – 2018. – Vol. 72. – № 1. – P. 24–43.
18. Classification of preeclampsia according to molecular clusters with the goal of achieving personalized prevention / N. G. Than, R. Romero, M. Posta [et al.] // *Journal of reproductive immunology*. – 2024. – Vol. 161. – P. 104172.

19. Failure of physiological transformation and spiral artery atherosclerosis: their roles in preeclampsia / A. C. Staff, H. E. Fjeldstad, I. K. Fosheim [et al.] // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2022. – Vol. 226. – № 2S. – P. S895–S906.
20. Rana, S. Imbalances in circulating angiogenic factors in the pathophysiology of preeclampsia and related disorders / S. Rana, S. D. Burke, S. A. Karumanchi // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2022. – Vol. 226. – № 2S. – P. S1019–S1034.
21. NICE Guideline (NG 133) Hypertension in pregnancy: diagnosis and management. Published June 2019 (Updating CG107 published 2010) [Электронный ресурс]. – URL: www.nice.org.uk/guidance/ng133 – Текст: электронный.
22. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on pre-eclampsia: A pragmatic guide for first-trimester screening and prevention / L. C. Poon, A. Shennan, J. A. Hyett [et al.] // *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*. – 2019. – Vol. 145. – Suppl. 1. – P. 1–33.
23. Genetic Risk Factors Associated With Preeclampsia and Hypertensive Disorders of Pregnancy / J. S. Tyrmi, T. Kaartokallio, A. I. Lokki [et al.] // *JAMA cardiology*. – 2023. – Vol. 8. – № 7. – P. 674–683.
24. Maharaj, A. S. Roles for VEGF in the adult / A. S. Maharaj, P. A. D'Amore // *Microvascular research*. – 2007. – Vol. 74. – № 2-3. – P. 100–113.
25. Autocrine VEGF maintains endothelial survival through regulation of metabolism and autophagy / C. K. Domigan, C. M. Warren, V. Antanesian [et al.] // *Journal of cell science*. – 2015. – Vol. 128. – № 12. – P. 2236–2248.
26. Identification of guanine nucleotide exchange factors that increase Cdc42 activity in primary human endothelial cells / N. R. Reinhard, S. Van Der Niet, A. Chertkova [et al.] // *Small GTPases*. – 2021. – Vol. 12. – № 3. – P. 226–240.
27. FURIN Expression in Vascular Endothelial Cells Is Modulated by a Coronary Artery Disease-Associated Genetic Variant and Influences Monocyte Transendothelial Migration / X. Yang, W. Yang, D. G. McVey [et al.] // *Journal of the American Heart Association*. – 2020. – Vol. 9. – № 4. – P. e014333.

28. Disrupted PGR-B and ESR1 signaling underlies defective decidualization linked to severe preeclampsia / T. Garrido-Gomez, N. Castillo-Marco, M. Clemente-Ciscar [et al.] // *eLife*. – 2021. – Vol. 10. – P. e70753.
29. Alpha-actinin-4 is essential for maintaining normal trophoblast proliferation and differentiation during early pregnancy / W. Peng, Y. Liu, H. Qi [et al.] // *Reproductive biology and endocrinology: RB&E*. – 2021. – Vol. 19. – № 1. – P. 48.
30. Preeclampsia has two phenotypes which require different treatment strategies / G. Masini, L. F. Foo, J. Tay [et al.] // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2022. – Vol. 226. – № 2S. – P. S1006–S1018.
31. Placental histopathology associated with pre-eclampsia: systematic review and meta-analysis / M. L. Falco, J. Sivanathan, A. Laoreti [et al.] // *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. – 2017. – Vol. 50. – № 3. – P. 295–301.
32. Human Immunodeficiency Virus and risk of pre-eclampsia and eclampsia in pregnant women: A meta-analysis on cohort studies / M. Nourollahpour Shiadeh, S. M. Riahi, S. Khani, [et al.] // *Pregnancy hypertension*. – 2019. – Vol. 17. – P. 269–275.
33. Prediction of preeclampsia by uterine artery Doppler at 20-24 weeks' gestation / D. M. Gallo, L. C. Poon, R. Akolekar [et al.] // *Fetal diagnosis and therapy*. – 2013. – Vol. 34. – № 4. – P. 241–247.
34. Longitudinal changes in uterine artery Doppler and blood pressure and risk of pre-eclampsia / A. Khalil, R. Garcia-Mandujano, N. Maiz [et al.] // *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. – 2014. – Vol. 43. – № 5. – P. 541–547.
35. Maternal plasma concentrations of angiogenic/anti-angiogenic factors are of prognostic value in patients presenting to the obstetrical triage area with the suspicion of preeclampsia / T. Chaiworapongsa, R. Romero, Z. A. Savasan [et al.] // *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians*. – 2011. – Vol. 24. – № 10. – P. 1187–1207.

36. Circulating angiogenic and antiangiogenic factors in women with eclampsia / E. Vaisbuch, J. E. Whitty, S. S. Hassan [et al.] // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2011. – Vol. 204. – № 2. – P. 152.e1–152.e9.
37. Plasma concentrations of angiogenic/anti-angiogenic factors have prognostic value in women presenting with suspected preeclampsia to the obstetrical triage area: a prospective study / T. Chaiworapongsa, R. Romero, S. J. Korzeniewski [et al.] // *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians*. – 2014. – Vol. 27. – № 2. – P. 132–144.
38. RNAi modulation of placental sFLT1 for the treatment of preeclampsia / A. A. Turanov, A. Lo, M. R. Hassler [et al.] // *Nature biotechnology*. – 2018. – Advance online publication. – P. 48–59.
39. Clinical characterization and outcomes of preeclampsia with normal angiogenic profile / S. Rana, W. T. Schnettler, C. Powe [et al.] // *Hypertension in pregnancy*. – 2013. – Vol. 32. – № 2. – P. 189–201.
40. Placental lesions associated with maternal underperfusion are more frequent in early-onset than in late-onset preeclampsia / G. Ogge, T. Chaiworapongsa, R. Romero [et al.] // *Journal of perinatal medicine*. – 2011. – Vol. 39. – № 6. – P. 641–652.
41. Placental histological patterns and uterine artery Doppler velocimetry in pregnancies complicated by early or late pre-eclampsia / R. Orabona, C. M. Donzelli, M. Falchetti [et al.] // *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. – 2016. – Vol. 47. – № 5. – P. 580–585.
42. Henriksson, P. Cardiovascular problems associated with IVF therapy / P. Henriksson // *Journal of internal medicine*. – 2021. – Vol. 289. – № 1. – P. 2–11.
43. Trained Memory of Human Uterine NK Cells Enhances Their Function in Subsequent Pregnancies / M. Gamliel, D. Goldman-Wohl, B. Isaacson [et al.] // *Immunity*. – 2018. – Vol. 48. – № 5. – P. 951–962.

44. Involvement of T lymphocytes in the placentae with villitis of unknown etiology from pregnancies complicated with preeclampsia / S. Benzon, S. Zekić, S. Tomaš [et al.] // *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians.* – 2016. – Vol. 29. – № 7. – P. 1055–1060.
45. Chronic inflammatory lesions of the placenta are associated with an up-regulation of amniotic fluid CXCR3: A marker of allograft rejection / E. Maymon, R. Romero, G. Bhatti [et al.] // *Journal of perinatal medicine.* – 2018. – Vol. 46. – № 2. – P. 123–137.
46. Chronic inflammation of the placenta: definition, classification, pathogenesis, and clinical significance / C. J. Kim, R. Romero, P. Chaemsaihong [et al.] // *American journal of obstetrics and gynecology.* – 2015. – Vol. 213. – № 4 Suppl. – P. S53–S69.
47. Perinatal outcome of placental massive perivillous fibrin deposition: a case-control study / L. Devisme, C. Chauvière, H. Franquet-Ansart [et al.] // *Prenatal diagnosis.* – 2017. – Vol. 37. – № 4. – P. 323–328.
48. Maternal KIR in combination with paternal HLA-C2 regulate human birth weight / S. E. Hiby, R. Apps, O. Chazara [et al.] // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950).* – 2014. – Vol. 192. – № 11. – P. 5069–5073.
49. A KIR B centromeric region present in Africans but not Europeans protects pregnant women from pre-eclampsia / A. Nakimuli, O. Chazara, S. E. Hiby [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 2015. – Vol. 112. – № 3. – P. 845–850.
50. Faas, M. M. Uterine NK cells and macrophages in pregnancy / M. M. Faas, P. de Vos // *Placenta.* – 2017. – Vol. 56. – P. 44–52.
51. Parham, P. Variable NK cell receptors and their MHC class I ligands in immunity, reproduction and human evolution / P. Parham, A. Moffett // *Nature reviews. Immunology.* – 2013. – Vol. 13. – № 2. – P. 133–144.
52. Colucci, F. The role of KIR and HLA interactions in pregnancy complications / F. Colucci // *Immunogenetics.* – 2017. – Vol. 69. – № 8-9. – P. 557–565.

53. The combination of maternal KIR-B and fetal HLA-C2 is associated with decidua basalis acute atherosclerosis in pregnancies with preeclampsia / G. M. Johnsen, G. L. Størvold, J. J. M. Drabbels [et al.] // *Journal of reproductive immunology*. – 2018. – Vol. 129. – P. 23–29.
54. Сидорова, И. С. Предиктивный, превентивный подход к ведению беременных группы риска развития преэклампсии / И. С. Сидорова, Н. А. Никитина // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2014. – Т. 14. – № 5. – С. 44–49.
55. Clinical utility of sFlt-1 and PlGF in screening, prediction, diagnosis and monitoring of pre-eclampsia and fetal growth restriction / H. Stepan, A. Galindo, M. Hund [et al.] // *Ultrasound in obstetrics and gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. – 2023. – Vol. 61. – № 2. – P. 168–180.
56. Hong, K. Clinical implications of placenta-derived angiogenic/anti-angiogenic biomarkers in pre-eclampsia / K. Hong, H. J. Park, D. Chan // *Biomarkers in medicine*. – 2021. – Vol. 15. – № 7. – P. 523–536.
57. sFlt-1: A Double Regulator in Angiogenesis-related Diseases / L. Liao, X. Zhao, M. Zhou [et al.] // *Current pharmaceutical design*. – 2021. – Vol. 27. – № 40. – P. 4160–4170.
58. Associations Between Soluble fms-Like Tyrosine Kinase-1 and Placental Growth Factor and Disease Severity Among Women With Preterm Eclampsia and Preeclampsia / R. Hastie, L. Bergman, S. P. Walker [et al.] // *Journal of the American Heart Association*. – 2022. – Vol. 11. – № 16. – P. e024395.
59. Chandrasekaran, S. Hepatic Complications in Preeclampsia. / S. Chandrasekaran, R. Simon // *Clinical obstetrics and gynecology*. – 2020. – Vol. 63. – № 1. – P. 165-174.
60. Wu, Y. Predictive Performance of Placental Protein 13 for Screening Preeclampsia in the First Trimester: A Systematic Review and Meta-Analysis / Y. Wu, Y. Liu, D. Ding // *Frontiers in medicine*. – 2021. – Vol. 8. – P. 756383.
61. Placental protein 13 (PP13): a new biological target shifting individualized risk assessment to personalized drug design combating pre-eclampsia / B. Huppertz, H. Meiri,

- S. Gizurarson [et al.] // Human reproduction update. – 2013. – Vol. 19. – № 4. – P. 391–405.
62. Gadde, R. Placental protein 13: An important biological protein in preeclampsia / R. Gadde, D. Cd, S. R. Sheela // Journal of circulating biomarkers. – 2018. – Vol. 7. – P. 1849454418786159.
63. Galectin 13 (PP13) Facilitates Remodeling and Structural Stabilization of Maternal Vessels during Pregnancy / M. Sammar, T. Drobnjak, M. Mandala [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2019. – Vol. 20. – № 13. – P. 3192.
64. Placental Protein 13 (PP13) - A Placental Immunoregulatory Galectin Protecting Pregnancy / N. G. Than, A. Balogh, R. Romero [et al.] // Frontiers in immunology. – 2014. – Vol. 5. – P. 348.
65. Maternal Serum Placental Protein-13 Levels in the Prediction of Pregnancies with Abnormal Invasive Placentation / B. Şahin, U. Turhan, B. Şahin [et al.] // Zeitschrift fur Geburtshilfe und Neonatologie. – 2021. – Vol. 225. – № 3. – P. 232–237.
66. First-trimester maternal serum PP13 in the risk assessment for preeclampsia / R. Romero, J. P. Kusanovic, N. G. Than [et al.] // American journal of obstetrics and gynecology. – 2008. – Vol. 199. – № 2. – P. 122.e1–122.e11.
67. Placental protein 13 as an early marker for pre-eclampsia: a prospective longitudinal study / R. Gonen, R. Shahar, Y. I. Grimpel [et al.] // BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology. – 2008. – Vol. 115. – № 12. – P. 1465–1472.
68. Predictive value of pregnancy-associated plasma protein-A in relation to fetal loss: A systematic review and meta-analysis / Z. Hadizadeh-Talasaz, A. Taghipour, S. H. Mousavi-Vahed [et al.] // International journal of reproductive biomedicine. – 2020. – Vol. 18. – № 6. – P. 395–406.
69. Blood biomarkers to predict the onset of pre-eclampsia: A systematic review and meta-analysis / M. Danielli, R. C. Thomas, C. L. Gillies [et al.] // Heliyon. – 2022. – Vol. 8. – № 11. – P. e11226.
70. HELLP Syndrome-Holistic Insight into Pathophysiology / A. Petca, B. C. Miron, I. Pacu [et al.] // Medicina (Kaunas, Lithuania). – 2022. – Vol. 58. – № 2. – P. 326.

71. Современные возможности прогнозирования и ранней диагностики преэклампсии / И. С. Сидорова, А. Л. Унанян, Н. А. Никитина [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2021. – Т. 21. – № 6. – С. 32-43.
72. Predictive Value of the sFlt-1:PlGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia / H. Zeisler, E. Llurba, F. Chantraine [et al.] // The New England journal of medicine. – 2016. – Vol. 374. – № 1. – P. 13–22.
73. Mass spectrometry-based proteomics for pre-eclampsia and preterm birth / K. P. Law, T. L. Han, C. Tong [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2015. – Vol. 16. – № 5. – P. 10952–10985.
74. Placental secretome characterization identifies candidates for pregnancy complications / T. Napso, X. Zhao, M. I. Lligoña [et al.] // Communications biology. – 2021. – Vol. 4. – № 1. – P. 701.
75. Прокопенко, В. М. Применение протеомного анализа в акушерстве (первые результаты исследований) / В. М. Прокопенко // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2016. – Т. 16. – № 1. – С. 28–32.
76. Navajas, R. Quantitative proteomics-based analyses performed on pre-eclampsia samples in the 2004-2020 period: a systematic review / R. Navajas, F. Corrales, A. Paradela // Clinical proteomics. – 2021. – Vol. 18. – № 1. – P. 6.
77. Clinical Utility of a Plasma Protein Classifier for Indeterminate Lung Nodules / A. Vachani, Z. Hammoud, S. Springmeyer [et al.] // Lung. – 2015. – Vol. 193. – № 6. – P. 1023–1027.
78. Robinson, M. R. Mass Spectrometry-Based Biomarkers in Drug Development / M. R. Robinson, R. A. Miller, D. S. Spellman // Advances in experimental medicine and biology. – 2019. – Vol. 1140. – P. 435–449.
79. Luu, L. D. W. Rapid Surface Shaving for Proteomic Identification of Novel Surface Antigens for Vaccine Development / L. D. W. Luu, R. Lan // Methods in molecular biology (Clifton, N.J.). – 2022. – Vol. 2414. – P. 47–62.
80. Staff, A. C. The two-stage placental model of preeclampsia: An update / A. C. Staff // Journal of reproductive immunology. – 2019. – Vol. 134-135. – P. 1–10.

81. Pathogenesis of Preeclampsia and Therapeutic Approaches Targeting the Placenta / M. K. Jena, N. R. Sharma, M. Pettitt [et al.] // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10. – № 6. – P. 953.
82. Preeclampsia: Pathophysiology, Challenges, and Perspectives / S. Rana, E. Lemoine, J. P. Granger [et al.] // *Circulation research*. – 2019. – Vol. 124. – № 7. – P. 1094–1112.
83. A review of omics approaches to study preeclampsia / P. A. Benny, F. M. Alakwaa, R. J. Schlueter [et al.] // *Placenta*. – 2020. – Vol. 92. – P. 17–27.
84. Using proteomics to advance the search for potential biomarkers for preeclampsia: A systematic review and meta-analysis / T. P. H. Nguyen, C. J. Patrick, L. J. Parry [et al.] // *PloS one*. – 2019. – Vol. 14. – № 4. – P. e0214671.
85. Detergent-Insoluble Proteome Analysis Revealed Aberrantly Aggregated Proteins in Human Preeclampsia Placentas / W. Zhang, X. Chen, Z. Yan [et al.] // *Journal of proteome research*. – 2017. – Vol. 16. – № 12. – P. 4468–4480.
86. Placental Proteomics Provides Insights into Pathophysiology of Pre-Eclampsia and Predicts Possible Markers in Plasma / S. Mary, M. J. Kulkarni, D. Malakar [et al.] // *Journal of proteome research*. – 2017. – Vol. 16. – № 2. – P. 1050–1060.
87. Proteomics analysis of human placenta reveals glutathione metabolism dysfunction as the underlying pathogenesis for preeclampsia / X. Jin, Z. Xu, J. Cao [et al.] // *Biochimica et biophysica acta. Proteins and proteomics*. – 2017. – Vol. 1865. – № 9. – P. 1207–1214.
88. Proteomics Analysis Reveals Abnormal Electron Transport and Excessive Oxidative Stress Cause Mitochondrial Dysfunction in Placental Tissues of Early-Onset Preeclampsia / Z. Xu, X. Jin, W. Cai [et al.] // *Proteomics. Clinical applications*. – 2018. – Vol. 12. – № 5. – P. e1700165.
89. Screening of differentially expressed proteins from syncytiotrophoblast for severe early-onset preeclampsia in women with gestational diabetes mellitus using tandem mass tag quantitative proteomics / X. Sun, T. Qu, X. He [et al.] // *BMC pregnancy and childbirth*. – 2018. – Vol. 18. – № 1. – P. 437.

90. Multicentric study of the effect of pre-analytical variables in the quality of plasma samples stored in biobanks using different complementary proteomic methods / J. Mateos, I. Carneiro, F. Corrales [et al.] // *Journal of proteomics*. – 2017. – Vol. 150. – P. 109–120.
91. Anderson, N. L. The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects / N. L. Anderson, N. G. Anderson // *Mol Cell Proteomics*. – 2002. – Vol. 1. – № 11. – P. 845–867.
92. The prediction of early preeclampsia: Results from a longitudinal proteomics study / A. L. Tarca, R. Romero, N. Benshalom-Tirosh [et al.] // *PloS one*. – 2019. – Vol. 14. – № 6. – P. e0217273.
93. Plasma biomarkers for the identification of women at risk for early-onset preeclampsia / A. Kolialexi, G. T. Tsangaris, S. Sifakis [et al.] // *Expert review of proteomics*. – 2017. – Vol. 14. – № 3. – P. 269–276.
94. Integrated Systems Biology Approach Identifies Novel Maternal and Placental Pathways of Preeclampsia / N. G. Than, R. Romero, A. L. Tarca [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1661.
95. Expression changes of proteins associated with the development of preeclampsia in maternal plasma: A case-control study / S. M. Kim, B. K. Cho, M. J. Kang [et al.] // *Proteomics*. – 2016. – Vol. 16. – № 10. – P. 1581–1589.
96. Screening of serum biomarkers of preeclampsia by proteomics combination with bioinformatics / Y. Ling, J. Su, J. Lin [et al.] // *Hypertension in pregnancy*. – 2019. – Vol. 38. – № 3. – P. 184–192.
97. Serum markers of pre-eclampsia identified on proteomics / Q. Lu, C. Liu, Y. Liu [et al.] // *The journal of obstetrics and gynaecology research*. – 2016. – Vol. 42. – № 9. – P. 1111–1118.
98. The prediction of late-onset preeclampsia: Results from a longitudinal proteomics study / O. Erez, R. Romero, E. Maymon [et al.] // *PloS one*. – 2017. – Vol. 12. – № 7. – P. e0181468.

99. Association of imbalanced sex hormone production with excessive procoagulation factor SerpinF2 in preeclampsia / X. Shao, Y. Wang, Y. Liu [et al.] // *J Hypertens.* – 2019. – Vol. 37. – № 1. – P. 197–205.
100. Preeclampsia is Associated with Sex-Specific Transcriptional and Proteomic Changes in Fetal Erythroid Cells / Z. Masoumi, G. E. Maes, K. Hertzen [et al.] // *International journal of molecular sciences.* – 2019. – Vol. 20 – № 8. – P. 2038.
101. Peptidome Analysis of Human Serum From Normal and Preeclamptic Pregnancies / X. Dai, X. Song, C. Rui [et al.] // *Journal of cellular biochemistry.* – 2017. – Vol. 118. – № 12. – P. 4341–4348.
102. Integrated proteomics pipeline yields novel biomarkers for predicting preeclampsia / J. E. Myers, R. Tuytten, G. Thomas [et al.] // *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979).* – 2013. – Vol. 61. – № 6. – P. 1281–1288.
103. Clinical proteomics in obstetrics and neonatology / J. Klein, B. Buffin-Meyer, W. Mullen [et al.] // *Expert review of proteomics.* – 2014. – Vol. 11. – № 1. – P. 75–89.
104. Cerebrospinal Fluid Protein Changes in Preeclampsia / E. Ciampa, Y. Li, S. Dillon [et al.] // *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979).* – 2018. – Vol. 72. – № 1. – P. 219–226.
105. Park, H. J. The Amniotic Fluid Cell-Free Transcriptome Provides Novel Information about Fetal Development and Placental Cellular Dynamics / H. J. Park, H. Y. Cho, D. H. Cha // *International journal of molecular sciences.* – 2021. – Vol. 22. – № 5. – P. 2612.
106. Alpha-1-antitrypsin acts as a preeclampsia-related protein: a proteomic study / Y. L. Feng, C. J. Zhou, X. M. Li [et al.] // *Gynecologic and obstetric investigation.* – 2012. – Vol. 73. – № 3. – P. 252–259.
107. He, X. J. Maternal prepregnancy overweight and obesity and the risk of preeclampsia: A meta-analysis of cohort studies / X. J. He, R. X. Dai, C. L. Hu // *Obesity research & clinical practice.* – 2020. – Vol. 14. – № 1. – P. 27–33.
108. Impact of maternal pre-pregnancy body mass index on maternal, fetal and neonatal adverse outcomes in the worldwide populations: A systematic review and meta-analysis / H. Vats, R. Saxena, M. P. Sachdeva [et al.] // *Obesity research & clinical practice.* – 2021. – Vol. 15. – № 6. – P. 536–545.

109. Langley-Evans, S. C. Overweight, obesity and excessive weight gain in pregnancy as risk factors for adverse pregnancy outcomes: A narrative review / S. C. Langley-Evans, J. Pearce, S. Ellis // *Journal of human nutrition and dietetics : the official journal of the British Dietetic Association*. – 2022. – Vol. 35. – № 2. – P. 250–264.
110. Wu, P. Hypertensive disorders of pregnancy / P. Wu, M. Green, J. E. Myers // *BMJ (Clinical research ed.)*. – 2023. – Vol. 381. – P. e071653.
111. Kametas, N. A. Chronic hypertension and superimposed preeclampsia: screening and diagnosis / N. A. Kametas, D. Nzelu, K. H. Nicolaides // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2022. – Vol. 226. – № 2S. – P. S1182–S1195.
112. Middeldorp, S. Thrombophilia, Thrombosis and Thromboprophylaxis in Pregnancy: For What and in Whom? / S. Middeldorp, C. Naue, C. Köhler // *Hamostaseologie*. – 2022. – Vol. 42. – № 1. – P. 54–64.
113. Зубенко, В. Б. Особенности течения беременности у пациенток с тромбофилией и аномалиями расположения плаценты / В. Б. Зубенко, А. И. Ловкова // *Акушерство, Гинекология и Репродукция*. – 2023. – Т. 17. – № 4. – С. 411–419.
114. Серенко, К. А. Прогностические факторы риска развития преэклампсии: современный взгляд на проблему (систематический обзор) / К. А. Серенко, М. Н. Бантьева // *Социальные аспекты здоровья населения [сетевое издание]*. – 2023. – Т. 69 – № 4. – С. 13.
115. Preeclampsia and Fetal Growth Restriction as Risk Factors of Future Maternal Cardiovascular Disease-A Review / S. Sławek-Szmyt, K. Kawka-Paciorkowska, A. Ciepłucha [et al.] // *Journal of clinical medicine*. – 2022. – Vol. 11. – № 20. – P. 6048.
116. Chaemsaitong, P. First trimester preeclampsia screening and prediction / P. Chaemsaitong, D. S. Sahota, L. C. Poon // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2022. – Vol. 226. – № 2S. – P. S1071–S1097.
117. Дисрегуляция системы комплемента при развитии преэклампсии / И. С. Сидорова, Н. А. Никитина, М. Б. Агеев [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2022. – № 2. – С. 46–58.

118. Новые технологии в решении проблем преэклампсии / Н. А. Никитина, И. С. Сидорова, М. Б. Агеев [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2022. – № 10. – С. 5–13.
119. Кластерный анализ протеома плазмы крови у беременных с преэклампсией / Н. А. Никитина, И. С. Сидорова, Р. Х. Зиганшин [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2023. – № 5. – С. 37–49.
120. Никитина, Н. А. Современные протеомные технологии в изучении преэклампсии / Н. А. Никитина, М. А. Кирьянова, М. Б. Агеев // *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. – 2022. – Т. 21. – № 6. – С. 86–92.
121. Roberts, J. M. Preeclampsia epidemiology(ies) and pathophysiology(ies) / J. M. Roberts // *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*. – 2024. – Vol. 94. – P. 102480.
122. Expert review: preeclampsia Type I and Type II / S. Yagel, S. M. Cohen, I. Admati [et al.] // *American journal of obstetrics & gynecology MFM*. – Vol. 5. – № 12. – P. 101203.
123. Yagel, S. An integrated model of preeclampsia: a multifaceted syndrome of the maternal cardiovascular-placental-fetal array / S. Yagel, S. M. Cohen, D. Goldman-Wohl // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2022. – Vol. 226. – № 2S. – P. S963–S972.
124. Dysregulation of complement system during pregnancy in patients with preeclampsia: A prospective study / Y. D. He, B. N. Xu, M. L. Wang [et al.] // *Molecular immunology*. – 2020. – Vol. 122. – P. 69–79.
125. Placental sFLT1 is associated with complement activation and syncytiotrophoblast damage in preeclampsia / A. R. Yonekura Collier, Z. Zsengeller, E. Pernicone [et al.] // *Hypertension in pregnancy*. – 2019. – Vol. 38. – № 3. – P. 193–199.
126. Jia, C. The complement system and autoimmune diseases / C. Jia, Y. Tan, M. Zhao // *Chronic diseases and translational medicine*. – 2022. – Vol. 8. – № 3. – P. 184–190.
127. Oncul, S. The interaction between the complement system and hemostatic factors / S. Oncul, V. Afshar-Kharghan // *Current opinion in hematology*. – 2020. – Vol. 27. – № 5. – P. 341–352.

128. Thrombin generates previously unidentified C5 products that support the terminal complement activation pathway / M. J. Krisinger, V. Goebeler, Z. Lu [et al.] // *Blood*. – 2012. – Vol. 120. – № 8. – P. 1717–1725.
129. A novel C5a receptor-tissue factor cross-talk in neutrophils links innate immunity to coagulation pathways / K. Ritis, M. Doumas, D. Mastellos [et al.] // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. – 2006. – Vol. 177. – № 7. – P. 4794–4802.
130. Heparin activation of serpins / J. A. Huntington, H. G. Garg, R. J. Linhardt [et al.] // *Chemistry and biology of heparin and heparan sulfate*. Elsevier Science – 2005. – P. 367–398.
131. Identification and characterization of a novel isoform of heparin cofactor II in human liver / S. Bano, S. Fatima, S. Ahamad [et al.] // *IUBMB life*. – 2020. – Vol. 72. – № 10. – P. 2180–2193.
132. Čápková, I. Hereditary antithrombin deficiency in pregnancy - severe thrombophilic disorder as a danger for mother and foetus / I. Čápková, P. Salaj, I. Hrachovinová // *Ceska gynekologie*. – 2021. – Vol. 86. – № 3. – P. 175–182.
133. Thomas, M. R. The role of platelets in inflammation / M. R. Thomas, R. F. Storey // *Thrombosis and haemostasis*. – 2015. – Vol. 114. – № 3. – P. 449–458.
134. Kim, S. J. Platelets as Modulators of Inflammation / S. J. Kim, R. P. Davis, C. N. Jenne // *Seminars in thrombosis and hemostasis*. – 2018. – Vol. 44. – № 2. – P. 91–101.
135. Groom, K. M. The role of aspirin, heparin, and other interventions in the prevention and treatment of fetal growth restriction / K. M. Groom, A. L. David // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2018. – Vol. 218. – № 2S. – P. S829–S840.
136. Complement and coagulation cascades activation is the main pathophysiological pathway in early-onset severe preeclampsia revealed by maternal proteomics / L. Youssef, J. Miranda, M. Blasco [et al.] // *Scientific reports*. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 3048.
137. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome (KEGG) Database. – URL: https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04141. – Текст: электронный.

138. de Bont, C. M. NETosis, complement, and coagulation: a triangular relationship / C. M. de Bont, W. C. Boelens, G. J. M. Pruijn // *Cellular & molecular immunology*. – 2019. – Vol. 16. – № 1. – P. 19–27.
139. Jorch, S. K. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease / S. K. Jorch, P. Kubes // *Nature medicine*. – 2017. – Vol. 23. – № 3. – P. 279–287.
140. Incidence and Long-Term Outcomes of Hypertensive Disorders of Pregnancy / V. D. Garovic, W. M. White, L. Vaughan [et al.] // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2020. – Vol. 75. – № 18. – P. 2323–2334.
141. Screening high-risk population of persistent postpartum hypertension in women with preeclampsia using latent class cluster analysis / Y. Y. Li, J. Cao, J. L. Li [et al.] // *BMC pregnancy and childbirth*. – 2022. – Vol. 22. – № 1. – P. 687.
142. Increased plasma CD14 levels 1 year postpartum in women with pre-eclampsia during pregnancy: a case-control plasma proteomics study / A. Manousopoulou, F. S. Abad, D. J. Garay-Baquero [et al.] // *Nutrition & diabetes*. – 2020. – Vol. 10. – № 1. – P. 2.
143. Pre-eclampsia is associated with a twofold increase in diabetes: a systematic review and meta-analysis / P. Wu, C. S. Kwok, R. Haththotuwa [et al.] // *Diabetologia*. – 2016. – Vol. 59. – № 12. – P. 2518–2526.
144. Fibronectin mediates activin A-promoted human trophoblast migration and acquisition of endothelial-like phenotype / X. Lan, L. Guo, C. Hu [et al.] // *Cell communication and signaling: CCS*. – 2024. – Vol. 22. – № 1. – P. 61.
145. Fibronectin in Cancer: Friend or Foe / T. C. Lin, C. H. Yang, L. H. Cheng [et al.] // *Cells*. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 27.
146. The comparison of plasma fibronectin in term and preterm delivery: A cross-sectional, descriptive-analytical study / Z. Moradi, P. Moradi, M. Hassan Meshkibaf [et al.] // *International journal of reproductive biomedicine*. – 2020. – Vol. 18. – № 1. – P. 11–20.

147. Different Proteomic Profiles Regarding Antihypertensive Therapy in Preeclampsia Pregnant / C. C. Pinto-Souza, J. N. S. Kaihara, P. R. Nunes [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2024. – Vol. 25. – № 16. – P. 8738.
148. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics / L. Fagerberg, B. M. Hallström, P. Oksvold [et al.] // Molecular & cellular proteomics: MCP. – 2014. – Vol. 13. – № 2. – P. 397–406.
149. Aspirin alleviates fibronectin-induced preeclampsia phenotypes in a mouse model and reverses fibronectin-mediated trophoblast invasiveness under hypoxia by regulating ciliogenesis and Akt and MAPK signaling / P. Y. Tsai, C. I. Lee, H. L. Tam, [et al.] // Biochemical pharmacology. – 2024. – Vol. 227. – P. 116423.
150. Different Proteomic Profiles Regarding Antihypertensive Therapy in Preeclampsia Pregnant / C. C. Pinto-Souza, J. N. S. Kaihara, P. R. Nunes [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2024. – Vol. 25. – № 16. – P. 8738.
151. Proteomics and Metabolomics Profiling of Platelets and Plasma Mediators of Thrombo-Inflammation in Gestational Hypertension and Preeclampsia / L. G. N. de Almeida, D. Young, L. Chow [et al.] // Cells. – 2022. – Vol. 11. – № 8. – P. 1256.
152. Zhu, Y. Multifaceted roles of PDCD6 both within and outside the cell / Y. Zhu, Q. Li // Journal of cellular physiology. – 2024. – Vol. 239. – № 5. – P. e31235
153. Lee, J. H. Programmed cell death 6 (PDCD6) protein interacts with death-associated protein kinase 1 (DAPk1): additive effect on apoptosis via caspase-3 dependent pathway / J. H. Lee, S. B. Rho, T. Chun // Biotechnology letters. – 2005. – Vol. 27. – № 14. – P. 1011–1015.
154. Programmed cell death 6 (PDCD6) inhibits angiogenesis through PI3K/mTOR/p70S6K pathway by interacting of VEGFR-2 / S. B. Rho, Y. J. Song, M. C. Lim [et al.] // Cellular signalling. – 2012. – Vol. 24. – № 1. – P. 131–139.
155. PDCD6 Promotes Hepatocellular Carcinoma Cell Proliferation and Metastasis through the AKT/GSK3 β / β -catenin Pathway / S. Y. Wen, Y. T. Liu, B. Y. Wei [et al.] // Biomedical and environmental sciences: BES. – 2023. – Vol. 36. – № 3. – P. 241–252.

156. Navigating PRKCSH's impact on cancer: from N-linked glycosylation to death pathway and anti-tumor immunity / R. Cressey, M. T. T. Han, W. Khaodee [et al.] // *Frontiers in oncology*. – 2024. – Vol. 14. – P. 1378694.
157. Transcriptomic analysis of glucosidase II beta subunit (GluII β) knockout A549 cells reveals its roles in regulation of cell adhesion molecules (CAMs) and anti-tumor immunity / W. Khaodee, G. Xiyuan, M. T. T. Han [et al.] // *BMC genomics*. – 2024. – Vol. 25. – № 1. – P. 82.
158. Hetz, C. Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response / C. Hetz, K. Zhang, R. J. Kaufman // *Nature reviews. Molecular cell biology*. – 2020. – Vol. 21. – № 8. – P. 421–438.
159. Inter- α -inhibitor heavy chain H4 and sepsis-related coagulation disturbances: Another link between innate immunity and coagulation / J. B. Larsen, R. Pihl, M. A. Aggerbeck [et al.] // *Research and practice in thrombosis and haemostasis*. – 2023. – Vol. 7. – № 2. – P. 100078.
160. ITIH4 acts as a protease inhibitor by a novel inhibitory mechanism / R. Pihl, R. K. Jensen, E. C. Poulsen [et al.] // *Science advances*. – 2021. – Vol. 7. – № 2. – P. eaba7381.
161. Longitudinal change of serum inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4, and its correlation with inflammation, multiorgan injury, and death risk in sepsis / X. Zhao, Y. Guo, L. Li [et al.] // *Journal of clinical laboratory analysis*. – 2023. – Vol. 37. – № 3. – P. e24834.
162. Opposing roles of inter- α -trypsin inhibitor heavy chain 4 in recurrent pregnancy loss / L. Li, B. C. Choi, J. E. Ryoo [et al.] // *EBioMedicine*. – 2018. – Vol. 37. – P. 535–546.
163. Moldogazieva, N. T. Pregnancy-Specific β 1-Glycoproteins: Combined Biomarker Roles, Structure/Function Relationships and Implications for Drug Design / N. T. Moldogazieva, I. M. Mokhosev, A. A. Terentiev // *Current medicinal chemistry*. – 2017. – Vol. 24. – № 3. – P. 245–267.
164. Pregnancy-specific glycoproteins: evolution, expression, functions and disease associations / T. Moore, J. M. Williams, M. A. Becerra-Rodriguez [et al.] // *Reproduction (Cambridge, England)*. – 2022. – Vol. 163. – № 2. – P. R11–R23.

165. The effects of human pregnancy-specific β 1-glycoprotein preparation on Th17 polarization of CD4⁺ cells and their cytokine profile / V. P. Timganova, S. A. Zamorina, L. S. Litvinova [et al.] // *BMC immunology*. – 2020. – Vol. 21. – № 1. – P. 56.
166. Moore, T. Pregnancy-specific glycoproteins: complex gene families regulating maternal-fetal interactions / T. Moore, G. S. Dveksler // *The International journal of developmental biology*. – 2014. – Vol. 58. – № 2–4. – P. 273–280.
167. TIMP2 ameliorates blood-brain barrier disruption in traumatic brain injury by inhibiting Src-dependent VE-cadherin internalization / J. Tang, Y. Kang, Y. Zhou [et al.] // *The Journal of clinical investigation*. – 2023. – Vol. 134. – № 3. – P. e164199.
168. Imbalance between matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in preeclampsia and gestational trophoblastic diseases / B. Rahat, R. Sharma, R. Bagga [et al.] // *Reproduction (Cambridge, England)*. – 2016. – Vol. 152. – № 1. – P. 11–22.
169. Increased Circulating Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2 Is Associated With Resistant Hypertension / A. R. Sabbatini, N. R. Barbaro, A. P. de Faria [et al.] // *Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn.)*. – 2016. – Vol. 18. – № 10. – P. 969–975.
170. Dznep, a histone modification inhibitor, inhibits HIF1 α binding to TIMP2 gene and suppresses TIMP2 expression under hypoxia / T. Yamazaki, I. Mimura, Y. Kurata [et al.] // *Physiological reports*. – 2023. – Vol. 11. – № 17. – P. e15810.
171. Manna, S. Placental Ageing in Adverse Pregnancy Outcomes: Telomere Shortening, Cell Senescence, and Mitochondrial Dysfunction / S. Manna, C. McCarthy, F. P. McCarthy // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2019. – Vol. 2019. – P. 3095383.
172. Oxidative stress, placental ageing-related pathologies and adverse pregnancy outcomes / Z. Sultana, K. Maiti, J. Aitken [et al.] // *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y.: 1989)*. – 2017. – Vol. 77. – № 5. – P. 10.1111/aji.12653.
173. Proteome profiling of human placenta reveals developmental stage-dependent alterations in protein signature / S. Khorami Sarvestani, S. Shojaeian, N. Vanaki [et al.] // *Clinical proteomics*. – 2021. – Vol. 18. – № 1. – P. 18.
174. Database «Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome» (KEGG). – URL: <https://www.kegg.jp/pathway/hsa04066> – Текст: электронный.

175. Титова, О. Н. Роль гипоксийного сигнального пути в адаптации клеток к гипоксии / О. Н. Титова, Н. А. Кузубова, Е. С. Лебедева // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2020. – Т. 4. – № 4. – С. 207–213.
176. Wiseman, R. L. Reshaping endoplasmic reticulum quality control through the unfolded protein response / R. L. Wiseman, J. S. Mesgarzadeh, L. M. Hendershot // *Molecular cell*. – 2022. – Vol. 82. – № 8. – P. 1477–1491.
177. Dang, F. Ubiquitin signaling in cell cycle control and tumorigenesis / F. Dang, L. Nie, W. Wei // *Cell death and differentiation*. – 2021. – Vol. 28. – № 2. – P. 427–438.
178. Placental mitochondrial changes in preeclampsia: a systematic review and meta-analysis / H. W. Yung, F. Colleoni, E. Dommett [et al.] // *Placenta*. – 2021. – Vol. 10. – P. 1–17.
179. A non-canonical tricarboxylic acid cycle underlies cellular identity / P. K. Arnold, B. T. Jackson, K. I. Paras [et al.] // *Nature*. – 2022. – Vol. 603. – № 7901. – P. 477–481.
180. Revisiting preeclampsia: a metabolic disorder of the placenta / M. Hu, J. Li, P. N. Baker [et al.] // *The FEBS journal*. – 2022. – Vol. 289. – № 2. – P. 336–354.
181. Nobakht M Gh, B. F. Application of metabolomics to preeclampsia diagnosis / B. F. Nobakht M Gh // *Systems biology in reproductive medicine*. – 2018. – Vol. 64. – № 5. – P. 324–339.
182. Regulation of autophagy by canonical and non-canonical ER stress responses / M. Bhardwaj, N. M. Leli, C. Koumenis [et al.] // *Seminars in cancer biology*. – 2020. – Vol. 66. – P. 116–128.
183. Galluzzi, L. Linking cellular stress responses to systemic homeostasis / L. Galluzzi, T. Yamazaki, G. Kroemer // *Nature reviews. Molecular cell biology*. – 2018. – Vol. 19. – № 11. – P. 731–745.
184. The Effect and Mechanism of Asymmetric Dimethylarginine Regulating Trophoblastic Autophagy on Fetal Growth Restriction / Y. Dai, T. H. Li, X. He [et al.] // *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*. – 2021. – Vol. 28. – № 7. – P. 2012–2022.

185. D'Arcy, M. S. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy / M. S. D'Arcy // *Cell biology international*. – 2019. – Vol. 43. – № 6. – P. 582–592.
186. Cellular Mechanisms of NETosis / H. R. Thiam, S. L. Wong, D. D. Wagner [et al.] // *Annual review of cell and developmental biology*. – 2020. – Vol. 36. – P. 191–218.
187. Vital NETosis vs. suicidal NETosis during normal pregnancy and preeclampsia / F. Guillotin, M. Fortier, M. Portes [et al.] // *Frontiers in cell and developmental biology*. – 2023. – Vol. 10. – P. 1099038.
188. Millán-Zambrano, G. Histone post-translational modifications - cause and consequence of genome function / G. Millán-Zambrano, A. Burton, A. J. Bannister // *Nature reviews. Genetics*. – 2022. – Vol. 23. – № 9. – P. 563–580.
189. Smith, M. R. STAT5b: A master regulator of key biological pathways / M. R. Smith, L. R. F. Satter, A. Vargas-Hernández // *Frontiers in immunology*. – 2023. – Vol. 13. – P. 1025373.
190. A DNA repair disorder caused by de novo monoallelic DDB1 variants is associated with a neurodevelopmental syndrome / S. M. White, E. Bhoj, C. Nellåker [et al.] // *American journal of human genetics*. – 2021. – Vol. 108. – № 4. – P. 749–756.
191. Eskandari, E. Paradoxical roles of caspase-3 in regulating cell survival, proliferation, and tumorigenesis / E. Eskandari, C. J. Eaves // *The Journal of cell biology*. – 2022. – Vol. 221. – № 6. – P. e202201159.
192. An alternative role of C1q in cell migration and tissue remodeling: contribution to trophoblast invasion and placental development / C. Agostinis, R. Bulla, C. Tripodo [et al.] // *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. – 2010. – Vol. 185. – № 7. – P. 4420–4429.
193. Singh, J. Role of complement component C1q in the onset of preeclampsia in mice / J. Singh, A. Ahmed, G. Girardi // *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*. – 2011. – Vol. 58. – № 4. – P. 716–724.
194. Autophagy Process in Trophoblast Cells Invasion and Differentiation: Similitude and Differences With Cancer Cells / L. Carvajal, J. Gutiérrez, E. Morselli [et al.] // *Frontiers in oncology*. – 2021. – Vol. 11. – P. 637594.

195. Pregnancy outcomes in nulliparous women with positive first-trimester preterm preeclampsia screening test: the Great Obstetrical Syndromes cohort study. / A. Boutin, P. Guerby, C. Gasse [et al.] // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2021 – № 224(2). – P. 204.e1–204.e7.
196. Database «Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome» (KEGG) [Electronic resource]. – URL: https://www.kegg.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04510 – Текст: электронный.
197. Database «Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome» (KEGG) [Electronic resource]. – URL: https://www.kegg.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa04151. – Текст: электронный.
198. Roediger, M. Tissue distribution of the laminin beta1 and beta2 chain during embryonic and fetal human development / M. Roediger, N. Miosge, N. Gersdorff // *Journal of molecular histology*. – 2010. – Vol. 41. – № 2–3. – P. 177–184.
199. Detection of serum lactate dehydrogenase A and its metabolites on placental function in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy / H. Huang, J. Gao, R. Dong [et al.] // *International immunopharmacology*. – 2025. – Vol. 145. – P. 113739.
200. The Complement System and C4b-Binding Protein: A Focus on the Promise of C4BP α as a Biomarker to Predict Clopidogrel Resistance / H. G. Xie, L. P. Jiang, T. Tai [et al.] // *Molecular diagnosis & therapy*. – 2024. – Vol. 28. – № 2. – P. 189–199.
201. Rubio Gomez, M. A. Aminoacyl-tRNA synthetases / M. A. Rubio Gomez, M. Ibba // *RNA (New York, N.Y.)*. – 2020. – Vol. 26. – № 8. – P. 910–936.
202. Increased cysteinyl-tRNA synthetase drives neuroinflammation in Alzheimer's disease / X. H. Qi, P. Chen, Y. J. Wang [et al.] // *Translational neurodegeneration*. – 2024. – Vol. 13. – № 1. – P. 3.
203. Cysteinyl-tRNA synthetase governs cysteine polysulfidation and mitochondrial bioenergetics / T. Akaike, T. Ida, F. Y. Wei [et al.] // *Nature communications*. – 2017. – Vol. 8. – № 1. – P. 1177.
204. Study of the role of transmembrane emp24 domain-containing protein 2 in oral squamous cell carcinoma / R. Zhao-Wei, J. Xue-Feng, X. Gao-Tian [et al.] // *Journal of applied oral science: revista FOB*. – 2025. – Vol. 33. – P. e20240305.

205. Transmembrane p24 trafficking protein 2 regulates inflammation through the TLR4/NF- κ B signaling pathway in lung adenocarcinoma / L. Feng, P. Cheng, Z. Feng [et al.] // *World journal of surgical oncology*. – 2022. – Vol. 20. – № 1. – P. 32.
206. Ferritin light chain deficiency-induced ferroptosis is involved in preeclampsia pathophysiology by disturbing uterine spiral artery remodelling / X. Yang, Y. Ding, L. Sun [et al.] // *Redox biology*. – 2022. – Vol. 58. – P. 102555.
207. Jiang, X. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease / X. Jiang, B. R. Stockwell, M. Conrad // *Nature reviews. Molecular cell biology*. – 2021. – Vol. 22. – № 4. – P. 266–282.
208. Liu, M. The emerging role of ferroptosis in female reproductive disorders / M. Liu, K. Wu, Y. Wu // *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*. – 2023. – Vol. 166. – P. 115415.
209. DJ-1 upregulates the Nrf2/GPX4 signal pathway to inhibit trophoblast ferroptosis in the pathogenesis of preeclampsia / T. Liao, X. Xu, X. Ye [et al.] // *Scientific reports*. – 2022. – Vol. 12. – № 1. – P. 2934.
210. Zhang, Y. H3K27 acetylation activated-COL6A1 promotes osteosarcoma lung metastasis by repressing STAT1 and activating pulmonary cancer-associated fibroblasts / Y. Zhang, Z. Liu, X. Yang // *Theranostics*. – 2021. – Vol. 11. – № 3. – P. 1473–1492.
211. Qi, G. Insufficient expression of COL6A1 promotes the development of early-onset severe preeclampsia by inhibiting the APJ/AKT signaling pathway / G. Qi, Y. Gong, Y. Li // *Cell death discovery*. – 2025. – Vol. 11. – № 1. – P. 81.
212. Apelin, APJ, and ELABELA: Role in Placental Function, Pregnancy, and Foetal Development-An Overview / M. Dawid, E. Mlyczyńska, M. Jurek [et al.] // *Cells*. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 99.
213. Senft, D. Ubiquitin ligases in oncogenic transformation and cancer therapy / D. Senft, J. Qi, Z. A. Ronai // *Nature reviews. Cancer*. – 2018. – Vol. 18. – № 2. – P. 69–88.
214. The role of E3 ubiquitin ligase HECTD3 in cancer and beyond / Q. Jiang, F. Li, Z. Cheng [et al.] // *Cellular and molecular life sciences: CMLS*. – 2020. – Vol. 77. – № 8. – P. 1483–1495.

215. The E3 ubiquitin ligase HectD3 attenuates cardiac hypertrophy and inflammation in mice / A. Y. Rangrez, A. Borlepawar, N. Schmiedel [et al.] // *Communications biology*. – 2020. – Vol. 3. – № 1. – P. 562.
216. Endothelial Dysfunction in Atherosclerotic Cardiovascular Diseases and Beyond: From Mechanism to Pharmacotherapies / S. Xu, I. Ilyas, P. J. Little [et al.] // *Pharmacological reviews*. – 2021. – Vol. 73. – № 3. – P. 924–967.
217. Epigenetic Control of the Notch and Eph Signaling Pathways by the Prion Protein: Implications for Prion Diseases / T. Z. Hirsch, S. Martin-Lannerée, F. Reine [et al.] // *Molecular neurobiology*. – 2019. – Vol. 56. – № 3. – P. 2159–2173.
218. Mishra, Y. G. Focal adhesion dynamics in cellular function and disease / Y. G. Mishra, B. Manavathi // *Cellular signalling*. – 2021. – Vol. 85. – P. 110046.
219. Campàs, O. Adherens junctions as molecular regulators of emergent tissue mechanics / O. Campàs, I. Noordstra, A. S. Yap // *Nature reviews. Molecular cell biology*. – 2024. – Vol. 25. – № 4. – P. 252–269.
220. Yang, P. Down-regulation of TAGLN2 associated with the development of preeclampsia by effecting the Rap1 signaling pathway / P. Yang, X. Liu, J. Lyu // *Placenta*. – 2025. – Vol. 159. – P. 20–31.
221. Adu-Gyamfi, E. A. The Involvement of Cell Adhesion Molecules, Tight Junctions, and Gap Junctions in Human Placentation / E. A. Adu-Gyamfi, A. Czika, P. N. Gorleku // *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*. – 2021. – Vol. 28. – № 2. – P. 305–320.
222. Elucidating the Biomechanics of Leukocyte Transendothelial Migration by Quantitative Imaging / A. B. Schwartz, O. A. Campos, E. Criado-Hidalgo [et al.] // *Frontiers in cell and developmental biology*. – 2021. – Vol. 9. – P. 635263.
223. Schaufelberger, M. Cardiomyopathy and pregnancy / M. Schaufelberger // *Heart (British Cardiac Society)*. – 2019. – Vol. 105. – № 20. – P. 1543–1551.
224. Sethi, D. Peripartum cardiomyopathy with preeclampsia in a parturient: A case report with literature review / D. Sethi, N. Kumar // *Turkish journal of emergency medicine*. – 2020. – Vol. 20. – № 4. – P. 202–205.