

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования

«Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

На правах рукописи

Ревина Дарья Борисовна

**ПЛАЦЕНТА-АССОЦИИРОВАННЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ И
ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ БЕЛКОВ СИСТЕМЫ УРОКИНАЗЫ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Панина Ольга Борисовна

Научный консультант:
кандидат медицинских наук
Балацкий Александр Владимирович

МОСКВА – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1 Плацента-ассоциированные осложнения беременности и плацентарная недостаточность. Патогенез.....	12
1.2 Патоморфологическая характеристика и клинические проявления плацента-ассоциированных осложнений	16
1.3 Факторы риска плацента-ассоциированных осложнений беременности	21
1.4 Урокиназная система в процессах имплантации, плацентации и плацентарного ангиогенеза в норме и при плацента-ассоциированных осложнениях беременности	23
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	33
1.1 Дизайн исследования. Критерии включения и исключения	33
1.2 Материалы исследования	35
2.3 Методы исследования	36
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	45
3.1 Клиническая характеристика пациенток.....	45
3.2 Анализ влияния материнского генотипа на перинатальный исход.....	65
3.3 Анализ влияния генотипа плода на перинатальный исход	76
3.4 Анализ сочетанного влияния генотипов матери и плода на перинатальный исход	82
3.5 Иммуногистохимическая оценка экспрессии белков урокиназной системы в плацентарной ткани при плацента-ассоциированных осложнениях и в норме	83
3.6 Влияние генетических полиморфизмов на строение плаценты и экспрессию урокиназы и ее рецептора в плацентарной ткани.....	86
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	93
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	108
ВЫВОДЫ	110
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	111
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	112
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	113

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Плацента-ассоциированные осложнения беременности (задержка роста плода (ЗРП), преэклампсия и эклампсия) и сопутствующая им плацентарная недостаточность относятся к основным причинам материнской и перинатальной заболеваемости и смертности. В основе плацента-ассоциированных осложнений беременности лежит аномальное формирование плаценты, дальнейшее снижение способности плаценты поддерживать адекватный обмен между организмом матери и плода, развитие дисбаланса вазоактивных факторов и системная эндотелиальная дисфункция у матери. Нарушение кровообращения в системе «мать-плацента-плод» и ишемия плаценты, возникающие в результате недостаточной инвазии вневорсинчатого трофобласта и неполного ремоделирования спиральных артерий, происходят задолго до клинических проявлений [152].

Гипертензивные расстройства беременности, включающие преэклампсию и эклампсию, занимают 3-е место в структуре материнской смертности в мире, уступая только кровотечениям (в которые также входит преждевременная отслойка нормально-расположенной плаценты (ПОНРП), наиболее часто происходящая на фоне преэклампсии) и инфекционным осложнениям беременности, и являются причиной смерти для 76 000 женщин и 500 000 новорожденных ежегодно [13; 86; 164]. Наличие преэклампсии в анамнезе повышает риск смерти от сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета и снижает ожидаемую продолжительность жизни [101]. Наиболее опасной является плацентарная преэклампсия, характеризующаяся тяжелым течением и ранним началом.

ЗРП приводит к повышению перинатальной смертности более чем в 8 раз. И ЗРП, и преэклампсия являются причинами индуцированных преждевременных родов. К отдаленным последствиям, обусловленным недоношенностью и непосредственным влиянием внутриутробной гипоксии при ЗРП и преэклампсии, относятся нарушения нервно-психического развития, отклонения массо-ростовых

показателей от нормы, сердечно-сосудистые заболевания и метаболические нарушения во взрослом возрасте [113; 117].

Плацента-ассоциированные осложнения беременности можно предотвратить или, по крайней мере, уменьшить выраженность клинических проявлений. Выделение группы риска, своевременное начало профилактики и целенаправленное пренатальное наблюдение составляют основу управления большими акушерскими синдромами – преэклампсией и ЗРП.

Степень разработанности темы исследования

Отнесение в группу высокого риска плацента-ассоциированных осложнений возможно при наличии одного или нескольких из следующих факторов: возраст матери 35 лет и более, наличие в анамнезе преэклампсии или ЗРП, наступление беременности при помощи вспомогательных репродуктивных технологий, ожирение, наличие экстрагенитальных заболеваний, в том числе анемии, сахарного диабета, семейный анамнез и принадлежность к определенным народностям и расам.

Кроме того, широко распространены способы определения риска развития ЗРП и преэклампсии с использованием различных комбинаций анамнестических факторов и показателей среднего артериального давления матери, пульсационного индекса в маточных артериях, уровня сывороточного фактора роста плаценты (PlGF, placental growth factor), ассоциированного с беременностью протеина-А плазмы. Данные диагностические алгоритмы используются с 11 по 13 неделю, то есть уже после завершения первой волны инвазии трофобласта. Частота выявления ранней и поздней преэклампсии с использованием перечисленных показателей для европеоидной расы и точке отсечения 1:100 составляет 69% и 40% соответственно при индексе позитивности 10% (61174 обследованных, 2,9% с преэклампсией) [128]. Наиболее точные способы прогнозирования ЗРП основываются на определении уровня различных ангиогенных факторов, в том числе PlGF, и имеют чувствительность около 38% и специфичность 71% [147]. В настоящее время поиск

новых факторов риска и способов прогнозирования развития плацента-ассоциированных осложнений продолжается.

Наследственная и расовая предрасположенность свидетельствует в пользу наличия генетической составляющей в патогенезе акушерской патологии. Выявление носительства генетических полиморфизмов (SNP, single nucleotide polymorphism, однонуклеотидный полиморфизм) матерью является важным диагностическим подходом для определения риска развития акушерской патологии на этапе планирования беременности и ее ранних сроках [2].

В качестве прогностических факторов патологической плацентации рассматриваются полиморфизмы генов системы свертывания, ангиогенеза, регуляции сосудистого тонуса и др. Тем не менее, накопленные данные нередко являются противоречивыми, в связи чем исследование генетических факторов риска плацента-ассоциированных осложнений продолжает быть актуальным.

Цель исследования. Оценить роль полиморфизмов генов белков системы урокиназы в развитии плацента-ассоциированных осложнений беременности.

Задачи исследования:

1. Определить у пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями беременности (преэклампсия и задержка роста плода) частоту полиморфизмов генов белков системы урокиназы.
2. Исследовать у новорожденных детей пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями беременности (преэклампсия и задержка роста плода) частоту полиморфизмов генов белков системы урокиназы.
3. Провести оценку сочетанного влияния полиморфизмов генов белков системы урокиназы матери и плода на риск развития плацента-ассоциированных осложнений беременности.
4. Оценить иммуногистохимическую экспрессию в ткани плаценты белков системы урокиназы при плацента-ассоциированных осложнениях и при нормальном течении беременности.
5. Изучить влияние полиморфизмов генов белков системы урокиназы на строение ворсин плаценты и степень их васкуляризации.

Научная новизна исследования

Прогностическая значимость ряда генетических маркеров (в гене урокиназы *PLAU* - rs4065 (C/T 3'-UTR) и rs2227564 (P141L), в гене ее рецептора *PLAUR* - rs344781 (T(-516)C) и rs2302524 (A659G)) впервые была оценена в рамках акушерской патологии.

В результате проведенного анализа выявлена ассоциация материнского полиморфизма гена урокиназы *PLAU* rs4065 и полиморфизма гена ее рецептора *PLAUR* rs2302524 с развитием плацента-ассоциированных осложнений: прогностически неблагоприятным является наличие генотипа CC/CT и AA, соответственно. Негативное влияние также продемонстрировано для генотипа CC *PLAU* rs4065 и CC *PLAUR* rs344781 плода.

Выявленные закономерности также были оценены в рамках системной концепции, при условии которой, в развитие преэклампсии, ЗРП вносит вклад и генотип матери, и генотип плода. По данным многофакторного анализа наибольший вклад в развитие плацента-ассоциированных осложнений вносит именно наличие однонуклеотидных замен у плода.

Кроме того, был применен подход, оценивающий не только влияние SNP на факт развития или отсутствия заболевания, но и их связь с патологическими изменениями в плаценте. Так, материнский генотип CC гена *PLAU* C/T 3'-UTR ассоциирован со снижением степени васкуляризации ворсин хориона, для генотипа TT, наоборот, характерно нормальное строение сосудистого русла плаценты.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Результаты проведенной работы дополняют патогенетическую картину развития плацента-ассоциированных осложнений беременности – плацентарной преэклампсии и ЗРП: изучен вклад генетических модификаций uPA и uPAR в процессы аномальной плацентации, ангиогенеза, проведен анализ уровней экспрессии белков при наличии плацента-ассоциированных осложнений и в норме.

На основании полученных данных определены дополнительные факторы риска плацента-ассоциированных осложнений беременности: генотип матери CC-

CT *PLAU* rs4065 и AG-GG *PLAUR* rs2302524, генотип плода CC *PLAU* rs4065 и CC *PLAUR* rs344781. Определение данных генетических маркеров позволит своевременно начать прегравидарную подготовку и целенаправленное пренатальное наблюдение. Кроме того, согласно полученным результатам, преэклампсия и ЗРП имеют одни и те же генетические факторы риска, что подтверждает представления о едином патогенезе данных осложнений и необходимости одинаковых профилактических мероприятий.

В ходе настоящего исследования разработаны: способ прогнозирования развития плацента-ассоциированных осложнений и плацентарной недостаточности (патент №2703463) при помощи определения генетических маркеров плода в фетальной ДНК крови матери, методика компьютерной автоматической микроморфометрии в плаценте, компьютерной автоматической количественной оценки интенсивности иммуногистохимической экспрессии в плаценте.

Методология и методы исследования

Работа проводилась в формате продольного ретроспективного исследования типа случай-контроль с использованием наблюдения, сравнения, измерения данных, полученных клиническими, лабораторными методами, с соблюдением принципов доказательной медицины и этических принципов Хельсинкской декларации.

Положения, выносимые на защиту

1. Плацента-ассоциированные осложнения беременности, а именно преэклампсия и ЗРП, являются мультифакториальными заболеваниями, в развитие которых, помимо факторов внешней среды, вносят свой вклад генетические полиморфизмы матери и плода. С развитием плацента-ассоциированных осложнений беременности ассоциированы генотип матери CC *PLAU* C/T 3'-UTR и генотип AA *PLAUR* A(659)G и генотип плода CC гена *PLAU* C/T 3'-UTR и CC *PLAUR* T(-516)C.

2. При единовременной оценке материнских и фетальных генетических маркеров наиболее значимым является наличие у плода генотипа СС гена *PLAU* C/T 3'-UTR. Определение наличия однонуклеотидных замен у плода является более релевантным.
3. Ассоциация генетических полиморфизмов с развитием плацента-ассоциированных осложнений обусловлена их влиянием на развитие ворсинчатого древа и строение сосудистой сети плаценты.

Степень достоверности результатов

Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным количеством включенных в исследование наблюдений, использованием оператор-независимых методов оценки, адекватной размеру и структуре выборки статистической обработкой. Статистическая обработка данных, объединенных в таблицы формата .xls при помощи программы Microsoft Office Excel® 2007, проводилась в программе Statistica 12.

Если при использовании критерия Шапиро-Уилка распределение данных отличалось от нормального, при сравнении групп использовался непараметрический критерий Манна-Уитни либо критерий Краскела-Уоллиса (при сравнении нескольких групп), если не отличалось от нормального - использовался t-тест, либо дисперсионный анализ, соответственно. Если при использовании критерия Краскела-Уоллиса обнаруживались статистически значимые различия между группами, проводился post-hoc анализ с использованием критерия Тьюки для определения конкретных пар групп, между которыми имелись значимые отличия. Для определения значимости взаимосвязи между номинативными переменными использовался метод χ^2 Пирсона, в том числе с поправкой Йетса (для таблиц 2 x 2), коэффициент корреляции Спирмена.

В работе также представлены отношения шансов (ОШ) возникновения тех или иных признаков. Шансом в каждой группе называлась вероятность наличия исследуемого признака к вероятности его отсутствия. Для построения 95%-доверительных интервалов (ДИ) и точечной оценки ОШ применялась модель

однофакторной бинарной логистической регрессии. Достоверность моделей оценивалась с помощью метода максимального правдоподобия. Следует отметить, что ОШ является статистически значимым, если 95% ДИ для отношения шансов не включает единицу. Многофакторный анализ проводился с использованием моделей линейной и логистической регрессии. Описание регрессионной модели включало значение свободного члена модели, регрессионные коэффициенты, вероятность равенства коэффициента нулю (p), стандартную ошибку (усредненную ошибку предсказания значений зависимой переменной с использованием данной модели) и значения t -теста.

Обработка данных также проводилась при помощи веб-программы SNP Stats, разработанной для анализа генетических эпидемиологических исследований генетического полиморфизма генов. С помощью данной программы для каждого выбранного SNP получены частота аллелей и генотипов, анализ ассоциации с необходимыми показателями на основе линейной или логистической регрессии [154]. Информационный критерий Акаике (ИКА) использовали для определения модели наследования, наиболее соответствующей полученным результатам (кодминантная, доминантная, рецессивная, сверхдоминантная или лог-аддитивная). Предпочтение отдавалось моделям с наименьшими значениями ИКА, указывающими на хорошее соответствие данным при использовании меньшего числа параметров.

Статистически достоверными считались результаты при p -уровне значимости менее 0,05.

Апробация диссертации

Апробация диссертационной работы состоялась на совместной научно-практической конференции сотрудников кафедры акушерства и гинекологии Факультета фундаментальной медицины, отдела репродуктивной медицины Медицинского научно-образовательного центра ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова, сотрудников кафедры акушерства и гинекологии педиатрического

факультета ФГБОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова МЗ РФ, сотрудников ГБУЗ ЦПСиР ДЗМ (протокол № 2 от 16 сентября 2021 года).

Личный вклад автора

Автором создан дизайн исследования, собраны и обработаны большинство образцов биоматериалов, клинических данных, сформирована база данных, проведен статистический анализ и интерпретация полученных результатов. Написание и оформление основных публикаций по теме диссертации также выполнено автором.

Соответствие диссертации паспорту научной деятельности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4 Акушерство и гинекологи. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1, 3, 4 паспорта специальности 3.1.4 Акушерство и гинекология.

Реализация и внедрение полученных результатов в практику

Результаты исследования внедрены и реализуются в работе ГБУЗ ЦПСиР ДЗМ и Медицинского научно-образовательного центра ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова. Материалы диссертации используются в цикле лекций и семинаров для студентов, ординаторов и аспирантов кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова, курсе повышения квалификации, проводимых отделом клинической лабораторной диагностики Медицинского научно-образовательного центра ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 7 работ, из них 2 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ Минобрнауки РФ, 1 – индексируемых в базе Scopus, 2 тезиса в сборниках, 1 выступление с устным докладом на конференции, а

также 1 патент на изобретение, зарегистрированном в Государственном реестре РФ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 135 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной материалам и методам исследования, главы, содержащих собственные результаты и их обсуждение, заключения, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 19 рисунками и 24 таблицами. Список литературы содержит 188 источников, из них отечественных – 25, зарубежных – 163.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Плацента-ассоциированные осложнения беременности и плацентарная недостаточность. Патогенез

Снижение способности плаценты поддерживать адекватный обмен между организмом матери и плода клинически проявляется синдромом плацентарной недостаточности [16]. Плацентарная недостаточность обусловлена морфофункциональными изменениями в плаценте и нарушениями компенсаторно-приспособительных механизмов, обеспечивающих функциональную полноценность органа [1].

Плацентарная недостаточность делится по срокам возникновения на первичную, возникающую до 16 недели беременности (на этапе имплантации, раннего эмбриогенеза и плацентации), и вторичную, возникающую после 16 недель (на фоне уже сформированной плаценты) [16].

В основе патогенеза первичной плацентарной недостаточности лежит патология плацентарного кровообращения, формирующаяся поэтапно под действием генетических, эндокринных, иммунологических, гемостазиологических и других факторов: от нарушения миграции внутрисосудистого трофобласта (недостаточность инвазии приводит к сохранению мышечного слоя и lamina elastica спиральных артерий) и аномального ангиогенеза в ворсинах хориона [50].

Первоначальное питание эмбриона происходит за счет сети материнских капилляров, сливающихся с лакунами синцитиотрофобласта. В дальнейшем в лакуны прорастают аваскулярные ворсины, которые постепенно приобретают сосудистый компонент. Развитие сосудов ворсин происходит параллельно с постепенной инвазией вневорсинчатого цитотрофобласта в децидуу и гестационными изменениями спиральных артерий [146].

Инвазия трофобласта находится под контролем множества факторов: цитокинов, факторов роста, матриксных металлопротеиназ, клеточного микроокружения, парциального давления кислорода [61].

В норме ремоделирование спиральных артерий происходит в несколько стадий, в ходе которых спиральные артерии теряют свой мышечный слой, эндотелий заменяется фибриноидом с инкорпорированными клетками трофобласта [119].

На I стадии гладкомышечный слой интактен, эндотелиальная выстилка сохранена, но вакуолизирована, внутрисосудистый трофобласт отсутствует, медиа спиральных артерий густо инфильтрирована НК-клетками и макрофагами. Количество НК-клеток в децидуальной ткани значительно превышает таковое в секретирующем эндометрии, они играют ключевую роль в данном процессе, как и их взаимодействие с вневорсинчатым трофобластом [116]. Нокаут НК клеток *in vivo* полностью блокирует процесс ремоделирования [87]. Взаимодействие молекул главного комплекса гистосовместимости I класса трофобласта провоцирует выработку НК клетками матриксных металлопротеиназ, деградацию внеклеточного матрикса [90].

На II стадии происходит дезорганизация медики, набухание эндотелия, просвет артерий начинает расширяться. I и II стадии ремоделирования являются трофобласт-независимыми.

На III стадии наблюдается частичное исчезновение гладкомышечного слоя и эндотелиальной выстилки, внутри просвета начинают появляться клетки внутрисосудистого трофобласта, эндотелий и медиа частично заменяются фибриноидом.

На IV стадии внутрисосудистый трофобласт выполняет всю внутреннюю поверхность спиральных артерий. В определенной степени гладкомышечные клетки и эндотелий гибнут апоптозом, однако доказано, что в преобладающем большинстве случаев клетки мигрируют [74; 170].

На V стадии происходит репарация эндотелия и утолщение интимы. В результате ремоделирования просвет спиральных артерий расширяется, скорость движения жидкости в межворсинчатом пространстве падает.

Ангиогенез в плаценте можно также разделить на два этапа. Первый этап - этап разветвляющегося ангиогенеза, начинающийся с момента превращения

мезобластов ворсин в гемангиобласты и воссоединения первичных капилляров ворсин с сосудистой сетью эмбриона. В этот период капилляры ворсин обильно ветвятся внутри незрелых промежуточных ворсин. В плаценте постепенно нарастает экспрессия VEGF-A, рецептора VEGF-A 1 и 2 типа, достигая своего максимума и выходя на плато. Экспрессия плацентарного фактора роста (PlGF) остается умеренной. Переход ко второму этапу сопровождается сменой разветвляющегося ангиогенеза на неразветвляющийся (25 неделя), возрастает экспрессия PlGF. В стволовых ворсинах часть капилляров регрессирует, в строме ворсины локализуются уже не капилляры, а артерии и вены. Начинают появляться первые терминальные ворсины. К концу беременности терминальные ворсины являются самой многочисленными и представляют собой широкие сосудистые синусоиды, концентрирующиеся под истонченным слоем синцитиотрофобласта, что обеспечивает оптимальные условия обмена между матерью и плодом [46; 56; 94].

При недостаточной инвазии вневорсинчатого трофобласта и неполноценной трансформации спиральных артерий, скорость циркуляции крови в межворсинчатом пространстве остается высокой [139]. В результате время экстракции кислорода из крови матери снижается, ворсины хориона повреждаются быстрым током жидкости – происходит шеддинг ворсин (от английского «shedding» – слущивание). На поверхности поврежденных ворсин экспонируются факторы, запускающие каскад свертывания крови, в межворсинчатое пространство и кровотоки матери также выделяются прокоагулянты. Это приводит к формированию депозитов фибрина, тромботической окклюзии спиральных артерий, их разрыву с кровоизлияниями, а также системному вазоспазму: постепенно гипероксия плаценты переходит в ее гипоксию [11; 142].

В условиях пониженного давления кислорода в тканях стабильными становятся факторы, индуцируемые гипоксией, что провоцирует изменения баланса ангиогенных факторов и патологический ангиогенез [36]. Так, недостаточный эффект PlGF выражается в превалировании фазы разветвляющегося ангиогенеза, терминальный участок сосудистого русла представляет собой

развитую капиллярную сеть. Увеличение сосудистого компонента приводит к гипертрофии терминальных ворсин, сужению межворсинчатого пространства и снижению скорости кровотока в нем. При недостаточном эффекте VEGF-A, наоборот, сосудистый компонент терминальных ворсин развит недостаточно, терминальные ворсины тонкие, малая поверхность диффузии не обеспечивает достаточного обмена между матерью и плодом [109].

Кроме того, продукты деградации фибрина оказывают проапоптотическое действие на клетки трофобласта [93].

В дополнение к сужению и окклюзии спиральных артерий микротромбами происходит массивная инфильтрация их эндотелиальной выстилки жировыми каплями, липидный детрит поглощается макрофагами, которые превращаются в пенистые клетки и закупоривают просвет спиральных артерий (феномен атероза) [95].

Вышеперечисленные события приводят к гипоксии, активации оксидативного стресса, стресса эндоплазматического ретикулума, синтез белка снижается, замедляются темпы роста плаценты и плода [51]. Плазма крови матери при плацентарной недостаточности содержит высокие концентрации sFlt-1 - растворимой формы рецептора VEGFA 1 типа, который вырабатывается плацентой под воздействием гипоксии и обладает мощным вазоконстрикторным действием [186]. Также в системный кровоток реализуется большое количество микрочастиц некротизированного синцитиотрофобласта, содержащие окисленные липиды, развивается системный воспалительный ответ и преэклампсия [143]. Если в системный кровоток выделяются преимущественно апоптотические микрочастицы синцитиотрофобласта, то формируется изолированный синдром ЗРП с бессимптомной эндотелиальной дисфункцией у матери [91].

Общий патогенез позволяет объединить преэклампсию и ЗРП в группу ишемических болезней плаценты (ischemic placental disease) или плацента-ассоциированных осложнений беременности [34].

Патогенез плацента-ассоциированных осложнений беременности и плацентарной недостаточности представлен на Рисунке 1.



Рисунок 1 – Механизм развития плацента-ассоциированных осложнений беременности (Verlohen, 2012, с изменениями)

За исключением травматической ПОНРП преждевременное отделение плаценты от стенки матки происходит на фоне хронических патологических процессов в маточно-плацентарном компартменте, вызванных отсутствием физиологической перестройки спиральных артерий и их последующими патологическими изменениями. Доказано, что наиболее часто источником кровотечения для образования ретроплацентарной гематомы при ПОНРП служит разрыв патологически изменённых сосудов decidua basalis. Кроме того, дефекты инвазии трофобласта могут приводить к образованию в миометрии сосудистых мальформаций, которые предположительно являются причиной ПОНРП [66].

1.2 Патоморфологическая характеристика и клинические проявления плацента-ассоциированных осложнений

Гистологическая картина при всех плацента-ассоциированных осложнениях демонстрирует общие морфологические характеристики, относящиеся к сосудистым процессам в плаценте по международной классификации поражений плаценты, созданной Амстердамской рабочей группой по изучению плаценты [25; 136].

Морфологические изменения на микроуровне в плаценте, выявляемые при плацента-ассоциированных осложнениях, следующие: высокая частота инфарктов по сравнению с нормальной беременностью, периворсинковое отложение фибрина вплоть до массивного, часто встречающиеся тромбозы межворсинчатого пространства. Гистологически в таких плацентах выявляется изменение соотношения стромального и сосудистого компонентов ворсин (выраженный фиброз стромы стволовых, промежуточных, якорных ворсин или ангиоматоз ворсин), изменение строения стенок сосудов (периартериальный фиброз, гипертрофия мышечного слоя артерий с фиброзными изменениями), многочисленные мелкие, слабоваскуляризованные ворсины (гипоплазия ворсин), отложение фибрина в межворсинчатом пространстве [19].

Основным доклиническим проявлением плацента-ассоциированных осложнений является нарушение кровообращения в системе мать-плацента-плод, стандартом диагностики которого является доплерометрическое исследование кровотока в маточных артериях, артерии пуповины и средней мозговой артерии плода. На доплерометрических показателях основывается классификация плацентарной недостаточности на стадии (компенсированная, субкомпенсированная и декомпенсированная), и степени [19; 20]. Нарушение маточно-плацентарного кровотока (IA степень) постепенно вовлекает в патологический процесс плацентарно-плодовый компонент с формированием сочетанных нарушений (II степень), достигающих критического уровня при отсутствии или реверсном кровотоке в диастолу в артерии пуповины (III степень), переход из I степени в II предположительно происходит при повреждении одной трети ворсин плаценты и более [71; 102].

Наиболее распространенным плацента-ассоциированным осложнением беременности является преэклампсия. По определению International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy, преэклампсия – это сочетание артериальной гипертензии (регистрация систолического АД ≥ 140 мм рт. ст. и/или диастолическое АД ≥ 90 мм рт. ст. по крайней мере в двух измерениях с разницей не менее 4 часа у в прошлом нормотензивной пациентки), возникшей в или после 20 недели беременности, в сочетании с протеинурией ($> 0,3$ г/л/сутки) или с одним из следующих симптомов/симптомокомплексов:

- острое почечное повреждение (креатинин ≥ 90 мкмоль/л);
- нарушение функции печени (концентрация аспартатаминотрансферазы или аланинаминотрансферазы > 40 МЕ/л) с/без боли в правом верхнем квадранте живота/эпигастрии;
- неврологические нарушения (эклампсия, изменение сознания, расстройства психики, потеря зрения, острое нарушение мозгового кровообращения, клонус, головные боли, персистирующие скотомы);
- гематологические осложнения (тромбоцитопения $< 150\ 000$ /мкл, синдром диссеминированного сосудистого свертывания, гемолиз);
- другие плацента-ассоциированные осложнения (плацентарная недостаточность, ЗРП, аномалии кровотока при доплерометрии, и, как следствие, ante- и интранатальная гибель плода) [164].

Согласно определению отечественных клинических рекомендаций, повышение САД ≥ 140 мм рт. ст. и/или ДАД ≥ 90 мм рт. ст. после 20-й недели беременности независимо от уровня АД в анамнезе уже является диагностическим критерием преэклампсии [7].

Преэклампсия классифицируется на умеренную и тяжелую, раннюю и позднюю.

Тяжелая преэклампсия – это преэклампсия, характеризующаяся тяжелой артериальной гипертензией (систолическое АД ≥ 160 мм рт. ст. или диастолическое АД ≥ 110 мм рт. ст.) или уровнем суточной протеинурии > 5 г/л [7,187]. Отдельно выделяют критическую форму (стадию) тяжелой преэклампсии,

для которой характерно наличие присоединения тяжелой неврологической симптоматики (в том числе выраженной головной боли, нарушений зрения, синдрома задней обратимой энцефалопатии, острого и хронического нарушения мозгового кровообращения) в дополнение к артериальной гипертензии и протеинурии [14].

Ранней называется преэклампсия, возникшая до 34 недели беременности, поздней – в 34 недели и позже, соответственно [7, 64]. Данное разделение основано на следующих различиях. Основу ранней преэклампсии представляет патологическая плацентация, в связи с чем некоторые авторы применяют термин «плацентарная» преэклампсия [22; 122]. При ранней преэклампсии, в отличие от поздней, наблюдается гипоплазия плаценты, отсутствие признаков ремоделирования спиральных артерий и их тромбоз, склерозирование сосудов ворсин, инфаркты ворсин хориона [122]. При поздней преэклампсии потребности плода превосходят обменные возможности нормально сформированной плаценты, что приводит к компенсаторной реакции со стороны плаценты и материнского организма. При патоморфологическом исследовании плаценты при поздней преэклампсии наблюдается ее гиперплазия, воспалительные изменения ворсин и децидуи [22]. Ранняя преэклампсия встречается реже чем поздняя, как правило, характеризуется более тяжелым течением, высокой материнской и перинатальной заболеваемостью и смертностью, связанной как с самим антенатальным влиянием преэклампсии, так и с высокой частотой индуцированных преждевременных родов [70; 143]. Для нее более характерно рецидивирование в течение последующих беременностей, семейный анамнез преэклампсии [34; 115]. Ранняя форма чаще, чем поздняя, ассоциируется с хронической артериальной гипертензией и аномальным кариотипом плаценты (плода) [99]. Риск развития поздней преэклампсии растет с возрастом матери, при патологической прибавке массы тела в течение беременности, наличии сахарного диабета [107; 130; 143].

ЗРП – это синдром, характеризующийся отставанием ультразвуковых фетометрических показателей от целевых для конкретного срока беременности. Общепринятым является порог 10-го перцентиля для окружности живота или

предполагаемой массы плода (ПМП), оцениваемым при помощи ультразвукового исследования. В России дополнительным диагностическим критерием является отставание размеров плода от фактического срока на 2 недели и более: I степень – на 2 недели, II – на 3-4 недели, III – более 4 недель.

Актуальной остается дифференциальная диагностика ЗРП от конституционально маленького плода (SGA, small for gestational age). По данным исследований PORTO (1116 пациенток с ПМП < 10-го перцентиля, критерий исключения: хромосомные аномалии и пороки развития) SGA составляет > 70% всех диагностированных случаев отставания ростовых показателей от нормы [112]. Отличительным признаком истинной ЗРП является изменение доплерометрических показателей в системе «мать-плацента-плод» [30; 151].

Как и преэклампсия, ЗРП делится на раннюю (до 32 недель) и позднюю формы. В 2016 году международным консенсусом были разработаны диагностические критерии ЗРП: ранняя форма – окружность живота менее 3-го перцентиля, или ПМП менее 3-го перцентиля, или отсутствие диастолического кровотока в артерии пуповины, или сочетание окружности живота/ПМП менее 10-го перцентиля с пульсационным индексом более 95-го перцентиля в артерии пуповины/маточной артерии; поздняя форма – окружность живота/ПМП менее 10-го перцентиля, или окружности живота/ПМП более перцентиля равному 2-м квартилям, или церебро-плацентарное отношение менее 5-го перцентиля, или пульсационный индекс в маточной артерии более 95-го перцентиля [59].

Для сочетания ЗРП с нарушениями кровотока в артерии пуповины характерно сужение просвета артериол ворсин до их полной облитерации, большее чем в норме количество инфарктов ворсин, массивные депозиты фибрина, гипоплазия ворсин с компенсаторной пролиферацией цитотрофобласта, утолщением базальной мембраны синцитиотрофобласта и гематоплацентарного барьера [18; 52; 85]. Для ранней ЗРП более, чем для поздней формы, характерна высокая частота инфарктов ворсин, массивных отложения фибрина и агглютинация ворсин, а также атероза и гипертрофии стенки

спиральных артерий, что объясняет типичное для ранней формы ЗРП сочетание с преэклампсией [167].

1.3 Факторы риска плацента-ассоциированных осложнений беременности

Помимо единого патогенеза плацента-ассоциированные осложнения беременности имеют общие эпидемиологические и клинические факторы риска: низкий социально-экономический статус, возраст матери 35 лет и более, негроидная раса, индекс массы тела (ИМТ) 35 кг/м² и более, бесплодие, ЭКО, хроническая артериальная гипертензия, анамнестические факторы – антенатальная гибель плода, преждевременные роды, ЗРП, ПОНРП, преэклампсия в анамнезе [23; 33; 35; 69; 140].

Несмотря на большое количество накопленных клинических и патоморфологических данных, а также установленную патогенетическую последовательность, вопрос об исходной причине плацента-ассоциированных осложнений и первичной плацентарной недостаточности остается открытым.

Наиболее вероятно, что плацента-ассоциированные осложнения беременности являются многофакторными, или мультифакториальными, заболеваниями – заболеваниями, при которых условия, способствующие его возникновению, играют такую же важную роль, как и его причины: значим вклад и среды, и наследственности. Таким образом, развитие плацента-ассоциированных осложнений связано не только с воздействием клинико-демографических факторов, но и с реализацией функции генов матери и плаценты (плода) [4].

Плацента-ассоциированные осложнения относятся к наиболее многочисленной группе из мультифакториальных заболеваний – группе полигенных болезней с наследственной предрасположенностью, и соответствует всем ее критериям:

- высокая частота в популяции (так, только преэклампсия осложняет 2,2% всех беременностей),

- полиморфизм клинической картины от субклинических форм до ярко выраженных проявлений,
- зависимость от возраста, факторов внешней среды,
- неменделевское наследование,
- этническая неоднородность (например, риск развития преэклампсии выше у женщин афро-карибского и южно-азиатского происхождения [134]).

Доказательства роли наследственных факторов в развитии плацента-ассоциированных осложнений также получены двумя традиционными клинико-генетическими методами: семейным (генеалогическим) и близнецовым [67]. В последних выявлено, что наряду с конкордантностью, плацента-ассоциированные осложнения обладают и дискордантностью: то есть значимое влияние оказывает не только генотип матери, но и генотип плаценты (плода). Так, например, суммарный вклад генетических факторов в развитие преэклампсии составляет 55% [188].

Одним из основных подходов к анализу влияния наследственных факторов является сравнение частот встречаемости вариантов SNP и их комбинаций. С учетом патогенеза в качестве потенциальных наследственных факторов, способствующих развитию плацента-ассоциированных осложнений были рассмотрены SNP генов белков свертывающей системы (гена фактора свертывания крови V – *F5*, гена протромбина – *F2*, гена метилентетрагидрофолатредуктазы *MTHFR*, гена ингибитора активатора плазминогена 1 типа *SERPINE-1*), белков, регулирующих тонус сосудов (гена ангиотензиногена *AGT*, гена ангиотензинпревращающего фермента *ACE*, гена эндотелиальной NO-синтазы *eNOS3*), цитокинов (гена фактора некроза опухоли *TNF* [41], гена интерлейкина *IL10*), ангиогенных факторов (гена сосудисто-эндотелиального фактора роста VEGF-A и гена его рецептора *VEGFR1*) и др.[8; 21; 29; 39; 42; 43; 111; 150; 155; 162; 166]. Превалирующее число исследований посвящены исследованию материнских маркеров.

Роль фетального генотипа подтверждает более высокая частота преэклампсии в семьях, где антенатальный период жизни отца был также осложнен преэклампсией матери [135]. Также в ходе исследования McGinnis и соавторов

(4380 наблюдений с преэклампсией и 310 238 контрольных) получено прямое доказательство влияния SNP плода для аллели С локуса rs4769613, располагающегося около гена рецептора сосудисто-эндотелиального фактора роста FLT-1 [185]. Аналогичные результаты получены в менее мощных исследованиях для других однонуклеотидных замен в генах металлопротеиназ, молекул клеточной адгезии и др. [44; 76; 125; 127; 150].

Небольшое количество исследований посвящено совокупной оценке генотипа матери и плода [104; 108]. Их результаты подтверждают гипотезу о необходимости комплексной оценки: наличие негативной аллели и у матери, и у плода значительно повышают риск плацента-ассоциированных осложнений беременности по сравнению с изолированными мутациями.

1.4 Урокиназная система в процессах имплантации, плацентации и плацентарного ангиогенеза в норме и при плацента-ассоциированных осложнениях беременности

Инвазия трофобласта, васкуло- и ангиогенез в плаценте невозможны без участия протеаз [110; 177]. Речь идет не только о мобилизации гладкомышечных и эндотелиальных клеток, облегчения их миграции, но также о регуляции процессов сосудистого роста. Во-первых, расщепление внеклеточного матрикса приводит к высвобождению ангиогенных факторов, во-вторых, протеазы модулируют их активность путем протеолиза, как посттрансляционной модификации, в-третьих, протеазы опосредуют сигналинг не только ангиогенных, но и ростовых факторов, участвуют в вовлечении новых стволовых/прогениторных клеток [31; 75].

К протеазам, способным запускать протеолитические и сигнальные каскады, относится система плазмина и активаторов плазминогена. В ее состав входят tPA (тканевой активатор плазминогена, tissue plasminogen activator), uPA (урокиназа, urokinase plasminogen activator), их субстрат – плазминоген, ингибиторы активаторов плазминогена 1 и 2 типов (PAI-1, PAI-2), а также рецептор урокиназы – uPAR. Существование двух активаторов плазминогена ставит вопрос о различии

в их функций. tPA служит активатором лизиса фибрина и тромболизиса в кровеносных сосудах, а основная роль uPA - стимуляция протеолиза компонентов внеклеточного матрикса и обеспечение клеточной миграции. Данные различия обусловлены спецификой функционирования двух активаторов: протеолитическое действие uPA реализуется преимущественно на поверхности клеток, тогда как tPA работает непосредственно в плазме крови [96]. Остановимся подробнее на составляющих урокиназной системы.

Урокиназа синтезируется эндотелиоцитами, гладкомышечными и эпителиальными клетками, фибробластами, моноцитами, макрофагами, клетками вневорсинчатого трофобласта и представляет собой мультидоменную структуру, состоящую из трех доменов: N-концевой домен, домен, подобный эпидермальному фактору роста (GFD-домен), крингл-домен и каталитический домен. Сложное строение обеспечивает разнообразие молекулярных взаимодействий.

Каталитический домен урокиназы содержит в своем активном центре триаду His204/Asp255/Ser356. Субстратом урокиназы являются плазминоген, конвертируемый в плазмин, матриксные металлопротеиназы, активируемые посредством частичного протеолиза. Плазмин в свою очередь способен активировать саму урокиназу, переводя ее в более активную, двухцепочечную, форму (одноцепочечная форма также известна как pro-uPA). Отрицательная обратная связь реализуется за счет расщепления плазмина uPA с образованием ангиостатина, ингибирующий миграцию и пролиферацию клеток [165].

Рецептор урокиназы состоит из трех гомологичных доменов и закреплен на мембране при помощи гликозилфосфатидилинозитольного якоря [132]. Как и многие другие белки, закрепленные на мембране при помощи ГФИ-якоря, uPAR концентрируется в кавеолах [156]. Посредством клатринового транспорта uPAR-содержащие кавеолы способны рекрутироваться к определенному участку клеточной мембраны, что обеспечивает высокую подвижность рецепторов на мембране и их быструю кластеризацию на лидирующем полюсе мигрирующей клетки [179].

uPA-зависимый протеолиз происходит более эффективно при условии взаимодействия домена GFD pro-uPA и uPA с полостью, сформированной остатками всех трех доменов урокиназного рецептора. Кроме того, uPAR способствует сохранению урокиназы в ее активном состоянии, закрывая от плазмينا GFD-домен, задействованный в плазмин-опосредованной деградации урокиназы [123]. Таким образом, при участии uPAR на определенном конце клетки формируется мощный протеолитический комплекс.

Связывание uPA со своим рецептором приводит к изменению конформации самого рецептора путем замыкания его в кольцо [158] и экспонированию участка -SRSRY-, ответственного за взаимодействие с трансмембранными корецепторами, что создает дополнительные условия для внутриклеточной сигнализации.

Мощным проангиогенным эффектом обладает растворимая форма uPAR (suPAR). suPAR, как и uPAR, связанный с uPA, экспонирует -SRSRY-последовательность и способен стимулировать образование эндотелиальных трубок *in vitro* через рецепторы хемотаксических формилированных пептидов и вызывать активный спрутинг эндотелия *in vitro* [149; 171]. suPAR образуется в результате протеолиза рецептора самой урокиназой, дальнейший шеддинг осуществляется ГФИ-специфической фосфолипазой D [53; 181].

Сложная организация позволяет uPAR инициировать различные пути внутриклеточного сигналинга [48]. Обладая двумя отдельными сайтами связывания, он может одновременно взаимодействовать с двумя лигандами [63]. Во взаимодействия с uPAR вступает витронектин, $\beta 1, \beta 2, \beta 3$ -интегрины, рецепторы, сопряженные с G-белками, рецептор тромбоцитарного фактора роста β -типа, рецептор эпидермального фактора роста [153]. Ассоциация с $\alpha M \beta 2$ -интегринами может приводит к усилению адгезии моноцитов и нейтрофилов в области воспаления, с $\alpha 5 \beta 1$ - к повышению клеточной пролиферации и протеолиза внеклеточного матрикса, с $\alpha 3 \beta 1$ и $\alpha v \beta 3$ - к потере клеточных контактов и мобилизации клетки, росту ее инвазивного потенциала [72; 78; 184; 173; 175].

Таким образом, урокиназа и ее рецептор выступают как система, видоизменяющая клеточное окружение путем протеолиза внеклеточного матрикса

и запускающая в ответ на эти изменения процессы пролиферации и миграции клеток, в том числе в ходе инвазии вневорсинчатого трофобласта, ангиогенеза в плаценте.

Данная связь прослеживается и во взаимодействии урокиназной системы с VEGF. Как было замечено выше, протеолиз внеклеточного матрикса, в том числе сериновыми протеазами, приводит к высвобождению из его скаффолда ангиогенных факторов, включая VEGF-A. Взаимодействие VEGF-A с KDR-рецептором, в свою очередь, приводит к экспонированию на лидирующем конце клетки протеолитического комплекса uPA-uPAR с интегринами [49].

Активность урокиназы регулируется серпинами, из которых основным является ингибитор активатора плазминогена 1 типа (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1). PAI-1 мимикрирует под субстрат протеазы. При взаимодействии uPA с PAI-1 происходит расщепление связи между доменами P1-P1' ингибитора и образование новой - между P1 и сериновым остатком протеолитического центра, после чего происходят транслокация фермента на противоположный полюс молекулы PAI-1 с полной утратой протезной активности [62].

PAI-1 является короткоживущим белком, время циркуляции его активной формы в плазме составляет 1-2 часа, после чего происходит спонтанная вставка активного центра в β -складчатый слой молекулы. Связывание PAI-1 с соматомедин В-подобным доменом витронектина увеличивает его время жизни до 4-6 часов [148]. Интересно, что участок взаимодействия PAI-1 перекрывается со специфическим сайтом связывания витронектина uPAR [92]. Таким образом, PAI-1 является не только прямым ингибитором uPA, но и способен подавлять ее эффекты, в том числе, связанные с ангиогенезом, опосредованно через взаимодействие с uPAR и витронектином [157].

Аналогичной PAI-1 субстратной специфичностью обладает PAI-2, но его активность как ингибитора в 5 ниже, чем у PAI-1 [97].

Роль урокиназной системы в процессах плацентации и ангиогенеза в плаценте была неоднократно подтверждена в многочисленных *in vitro* и *in vivo* исследованиях.

Уже с 4 дня post coitum синтез uPA клетками трофобласта значительно возрастает [138]. В условиях локального снижения парциального давления кислорода и последующего увеличения стабильности фактора, индуцируемого гипоксией 1α (HIF- 1α) параллельно растёт экспрессия uPAR, PAI-1, PAI-2 [60; 89]. Промоторные области генов урокиназного рецептора и PAI-1 содержат сайты связывания HIF- 1α [26; 79]. Промотор uPAR имеет 4 таких сайта [178].

Согласно модели Graham HIF- 1α стимулирует повышение экспрессии uPAR на инвазирующем конце клеток трофобласта, PAI-1 – на противоположном [32]. Один полюс клетки приобретает агрессивный протеолитический и миграционный потенциал и способен взаимодействовать с витронектином внеклеточного матрикса. На другом полюсе протеолитическая активность урокиназы заингибирована PAI-1, им же блокирован сайт взаимодействия с uPAR витронектина. Таким образом, инвазия в плаценте является уже на клеточном уровне строго направленным процессом.

Высокая экспрессия uPAR клетками ворсинчатого трофобласта поддерживается в течение всего первого триместра и значительно превышает таковую на момент доношенной беременности [55]. Постепенное снижение концентрации uPAR на мембране трофобласта происходит синхронно с дифференцировкой цитотрофобласта в синцитиотрофобласт. uPAR локализуется на поверхности клеток промежуточного трофобласта – производном трофобласта, которое не имеет способности к делению и представляет собой основной тип клеток, формирующих плацентарную площадку вместе с клетками децидуи и внедряющихся в материнские спиральные артерии, а также формирующих основную массу клеток плацентарных перегородок. uPA обнаруживается в клетках промежуточного трофобласта в области прикрепления якорных ворсин к базальной пластинке [100; 160].

Как уже было сказано, инвазирующий потенциал трофобласта находится под контролем PAI-1/2: их внеклеточная секреция значительно превышает секрецию uPA трофобластом, что позволяет эффектам uPA осуществляться только под защитой рецептора, то есть локально [55]. Фронт PAI-1 формируют и

децидуальные клетки, направленные к заякоривающейся ворсине. Напротив, большинство клеток плацентарного ложа, смежных с интерстициальным или сосудистым трофобластом, PAI-1-негативны. Состояния неконтролируемой инвазии (пузырный занос) сопровождается недостаточной секрецией PAI-1 клетками децидуи. Таким образом, инвазия трофобласта регулируется, в том числе, сигналами клеток децидуи при помощи PAI-1 [65]. PAI-1 также представлен на ворсинчатом синцитиотрофобласте и солокализован с фибриноидом фибринового типа на поверхности ворсины.

В течение первой волны инвазии трофобласта НК клетки являются основными источниками uPA децидуи, только ассоциированные с НК клетками и клетками вневорсинчатого трофобласта uPAR-позитивные гладкомышечные и эндотелиальные клетки обретают миграционный фенотип. В меньшей степени экспрессируют урокиназу и ее рецептор внутрисосудистый и периваскулярный трофобласт [137; 172]. Интересно, что сосудистая перестройка сосудов опухолей и гематогенное метастазирование также происходит с активным участием макрофагов и НК-клеток, секретирующих uPA [88].

Широко известна роль белков урокиназной системы как основных компонентов системы фибринолиза. В том числе урокиназа является регулятором образования и деградации фибриноида в плаценте. Фибриновые депозиты на поверхности ворсин и в межворсинчатом пространстве ассоциированы с эндотелиальными клетками и макрофагами, экспрессирующими на своей поверхности uPAR и секретирующими pro-uPA [183].

Нокаутные по гену урокиназы (обозначается как *PLAU*) и гену рецептора урокиназы (обозначается как *PLAUR*) животные развиваются нормально, их плацента ни морфологически, ни функционально не отличается от таковой у особей с сохранной функцией генов [80; 169]. Аналогично генетический дефект PAI-1 не имеет никаких проявлений [47]. В связи с этим, внимания заслуживает работа Solberg и соавт., где «поломка» была совершена на более высоком уровне (нокаут по гену плазминогена), а также дополнена введением ингибитора матриксных металлопротеиназ широкого спектра действия галардина [27]. Таким образом,

эффекты всех протеаз, задействованных в процессах развития плаценты, были заблокированы. Авторы в очередной раз подтвердили отсутствие значимых изменений только при нокауте гена плазминогена или только при хроническом введении галардина. Сочетание этих двух факторов приводило к гибели большинства эмбрионов, что было обусловлено недостаточной децидуализацией, васкуляризацией децидуи и недоразвитием лабиринтного слоя плаценты (аналог ворсинчатого слоя плаценты человека) при отсутствии эмбриопатии. В данной работе наглядно продемонстрирован синергизм матриксных металлопротеиназ и плазмина: участие множества протеаз (в том числе урокиназы) обеспечивает нормальную плацентацию.

По некоторым данным, такие состояния, как тяжелая преэклампсия и ЗРП характеризуется смещением соотношения uPA/PAI-1 в сторону последнего в ткани плаценты и снижением интенсивности экспрессии uPAR ворсинами хориона, что соответствует функции данных белков и патогенезу заболевания [163]. Однако существуют исследования с противоположными результатами [98; 121].

Изменение интенсивности экспрессии и функциональной активности uPA/uPAR может быть генетически обусловленным. В гене *PLAU* и *PLAUR* существует несколько SNP, обладающих клинической значимостью.

Замена С/Т в 3'-UTR приводит к увеличению экспрессии урокиназы на посттрансляционном уровне за счет увеличения стабильности ее мРНК [133]. В различных популяциях частота минорной аллели Т составляет от 2,2% до 36,9% [144]. Наличие Т аллели, увеличивающей активность урокиназы и, тем самым, способствующей процессам клеточной миграции и инвазии, является неблагоприятным прогностическим фактором в плане развития и прогрессии онкологических заболеваний (в том числе немелкоклеточного рака легких, рака эндометрия) [40; 45; 81]. Кроме того, эффект аллели Т выражается в развитии синдрома Квебек, характеризующегося высокой концентрацией урокиназы в мегакариocyтах, предшественниках тромбоцитов, и повышенной кровоточивостью [138].

PLAU 422C/T (P141L, rs2227564) – это миссенс-мутация в 6 экзоне, приводящая к замене пролина на лейцин в переходном участке между двух β -складчатых слоев крингл-домена, uPA L141 связывается с фибрином, и внеклеточным матриксом менее эффективно, чем P141 вариант [54]. Частота минорной аллели Т составляет от 3,9% до 14% [144]. По некоторым данным наличие данного полиморфизма связано с нарушением деградации β -амилоида при болезни Альцгеймера [73].

Замена *PLAUR* 659T/C (Lys220Arg, rs2302524) также является миссенс-мутацией в кодирующей части гена (экзоне 6), приводит к замене лизина на аргинин, наличие данной замены сопровождается повышением уровня suPAR в крови [182].

PLAUR -516T/C (rs344781) – замена в области промотора гена, потенциально влияющая на его активность [168]. Наличие данной мутации сопряжено с выраженными сосудистыми поражениями у больных системной склеродермией, имеющих вызванный основным заболеванием избыток матриксных металлопротеиназ. Последние провоцируют дефицит полноразмерной версии uPAR, который в сочетании с генетически обусловленными изменениями экспрессии рецептора приводит к нарушению ангиогенеза и дифференцировки клеток [28].

На сегодняшний день наиболее изученным с точки зрения генетической вариабельности является PAI-1, особое внимание клиницистов разных специальностей сосредоточено на инсерционно-делеционной мутации -675 5G/4G (rs1799889) в промоторе гена PAI-1 (обозначается как *SERPINE-1*), приводящей к повышению скорости транскрипции. Делеционная гомозигота 4G/4G характеризуется более высокой концентрацией PAI-1. Потеря гуанина приводит к повышению активности PAI-1 в плазме и склонности к венозным тромбозам [83].

Данные о роли данных SNP в развитии акушерской патологии немногочисленны. Заслуживает внимания работа Уха и соавт. (2010), в которой оценивалась связь генетических маркеров не с клиническими, а патоморфологическими проявлениями плацентарной недостаточности, а именно с

массивными периворсинковыми отложениями фибриноида и отложениями в межворсинчатом пространстве [82]. ДНК была выделена из фрагментов 20 плацент и прогенотипирована на наличие ряда SNP, в том числе 422C/T PLAU (rs2227564). Авторы не выявили достоверных различий в частоте того или иного генотипа между основной и контрольной группами.

Andraweera и соавторы выявили повышенную частоту аллели A PLAU rs4251923 у пациенток с привычным невынашиванием беременности, влияние 422C/T PLAU (rs2227564) на развитие данной патологии подтверждено не было [126].

По данным мета-анализов генотип 4G/4G ассоциирован с повышенным риском преэклампсии [41; 111]. Также была выявлена более высокая частота гетеро- и гомозигот по аллели 4G в группах с двумя и более случаями невынашивания беременности по сравнению с контрольной группой [37]. Данных о наличии связи с другими осложнениями беременности (ЗРП, ПОНРП) получены не были [166].

Правильное формирование плаценты лежит в основе полноценной реализации ее главной функции – функции кровообращения; гемодинамические нарушения, аномалии строения сосудов ворсин и самих ворсин лежат в основе плацента-ассоциированных осложнений беременности: преэклампсии и ЗРП. Не вызывает сомнения, что одинаково важную роль в процессе плацентации играют как материнский, так и плодовой фактор системы.

Плацента-ассоциированные осложнения беременности представляет собой сложный, с точки зрения патогенеза, синдром: в его формирование вносят вклад и недостаточная инвазия трофобласта, и ремоделирование спиральных артерий, и патология ангиогенеза. Данные нарушения происходят задолго до момента клинической манифестации.

Учитывая, что плацента-ассоциированные осложнения значительно ухудшают прогноз для плода и матери, не теряет свою актуальность изучение их этиологии. Как в развитие мультифакториального заболевания, в развитие

плацента-ассоциированных заболеваний вносят вклад как факторы внешней среды, так и генетические факторы. Большинство мультифакториальных заболеваний развиваются благодаря вкладу как редких, так и относительно распространенных аллелей. Именно поэтому исследование генетического полиморфизма как этиологического фактора плацента-ассоциированных осложнений является обоснованным. Данный подход представляет собой и практический интерес, так как может применяться на этапе планирования беременности или ее ранних сроках, что позволит своевременно выбрать верную акушерскую тактику.

Поиск новых генетических факторов риска плацента-ассоциированных осложнений должен быть патогенетически обоснованным.

Значимость uPA/uPAR в процессах плацентации не вызывает сомнения. В литературе присутствует достаточное количество данных о связи урокиназной системы с процессами инвазии трофобласта и ангиогенеза в ворсинах хориона. Тем не менее, данных о клинико-генетических ассоциациях с развитием преэклампсии, ЗРП недостаточно для оценки роли белков урокиназной системы и их генетического полиморфизма в развитии больших акушерских синдромов. Также отсутствуют данные об изменении экспрессии данных белков в плаценте при плацента-ассоциированных осложнениях.

Таким образом, необходимо дальнейшее исследования роли генетических модификаций белков урокиназной системы в формировании плацента-ассоциированных осложнений и их влияния на гистопатоморфологию плаценты с целью поиска новых патогенетически обоснованных генетических факторов риска.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

1.1 Дизайн исследования. Критерии включения и исключения

Исследование проводилось с 2015 по 2020 гг. Клиническая часть исследования выполнялась на кафедре акушерства и гинекологии факультета фундаментальной медицины ФГБОУ МГУ имени М.В. Ломоносова (зав. кафедрой – д.м.н., профессор О.Б. Панина), на базе ГБУЗ ЦПСИР ДЗМ (главный врач – О.А. Латышкевич), исследовательская часть – в отделе лабораторной диагностики МНОЦ МГУ (руководитель – к.м.н., доцент Самоходская Л.М.) и отделе клинической патологии МНОЦ МГУ (руководитель – д.м.н., доцент П.Г. Мальков).

Работа проводилась в формате продольного ретроспективного исследования типа случай-контроль.

Критерии включения в основную группу: наличие плацента-ассоциированных осложнений беременности – преэклампсии и/или ЗРП в настоящую беременность, в анамнезе.

Критерии включения в контрольную группу: физиологическое течение беременности и родов, благоприятный перинатальный исход, неотягощенный акушерско-гинекологический анамнез.

Критерии исключения: тяжелая экстрагенитальная патология, гестационный сахарный диабет, многоплодная беременность, Rh-сенсibilизация, гемолитическая болезнь плода, внутриутробная инфекция, врожденные пороки развития и генетические аномалии плода, наркомания, табакокурение. С целью исключения феномена конституционально маленького плода (small for gestational age) в основной группе пациенткам с ЗРП проводили доплерометрию кровотока в артерии пуповины, из исследования были исключены пациентки с нормальными характеристиками кровотока.

На первом этапе проведен сбор клинических данных о пациентках обеих групп и их новорожденных, осуществлен сбор образцов крови матери, фрагментов пуповины плода, плаценты.

При сборе анамнестических данных особое внимание уделялось поиску факторов риска развития плацента-ассоциированных осложнений: возраст пациенток более 35 лет, наличие экстрагенитальных заболеваний, нарушений жирового обмена, гинекологических заболеваний (в особенности – внутриматочной патологии) и проведенные по поводу них оперативные вмешательства, паритет, невынашивание беременности, его срок и причина, наличие в анамнезе преэклампсии и ЗРП, ПОНРП, антенатальной гибели плода на фоне плацентарной недостаточности. При изучении течения настоящей беременности проводился анализ частоты плацента-ассоциированных осложнений (ЗРП, преэклампсия, ПОНРП, антенатальная гибель плода) и связанных с ним состояний (нарушения кровообращения в системе «мать-плацента-плод», маловодие), срок их возникновения и степень тяжести. При анализе перинатального исхода учитывался срок родов и способ родоразрешения (самопроизвольные роды через естественные родовые пути/оперативное родоразрешение, вид операции), при наличии оперативного родоразрешения – показания к нему, состояние новорожденного сразу после рождения (масса при рождении, оценка по шкале Апгар) и течение его раннего неонатального периода (необходимость перевода в отделение интенсивной терапии и реанимации и далее на второй этап выхаживания, необходимость в дыхательной поддержке и ее тип).

На втором этапе было проведено генетическое исследование ДНК, полученной из крови и пуповины, на наличие SNP, проведена оценка частот генотипов у пациенток и их новорожденных в основной и контрольной группе.

На третьем этапе проводилось патологоанатомическое исследование плацент, включающее оценку интенсивности иммуногистохимической экспрессии. Данные патоморфологии были соотнесены с результатами клинического и генетического анализа.

1.2 Материалы исследования

Биологический материал собран у 156 пациенток и 78 новорожденных детей непосредственно после завершения родов. После выписки пациенток из стационара проводился анализ историй родов, амбулаторных карт и историй развития новорожденных. Контрольную группу составили 113 здоровых пациенток. В группу плацента-ассоциированных осложнений (ПАО) было включено 43 пациента. Образцы пуповины получены от 39 новорожденных детей группы плацента-ассоциированных осложнений (беременность матери была осложнена преэклампсией и/или ЗРП), и от 39 новорожденных контрольной группы (с физиологическим течением беременности и родов). В 47 наблюдений были собраны все 3 компонента: и образец крови матери, и фрагмент пуповины новорожденного, и ткань плаценты (16 наблюдений с плацента-ассоциированными осложнениями, 31 наблюдение из контрольной группы); таким образом, удалось провести генетический анализ и матери, и новорожденного, а также дополнить клинические и генетические данные результатами морфологического исследования плаценты. В остальных наблюдениях удалось оценить или генотип матери, или генотип плода. Всего было рассмотрено 66 наблюдений беременности, осложненной плацента-ассоциированными осложнениями беременности, и 121 наблюдение физиологически протекающей беременности. Распределение пациенток по подгруппам представлено в Таблице 1.

Таблица 1 – Распределение пациенток по подгруппам.

Подгруппа	Плацента-ассоциированные осложнения	Норма
Наблюдения с изученным генотипом матери	43	113
Наблюдения с изученным генотипом плода	39	39
Наблюдения с изученным генотипом и матери, и плода	16	31
Всего наблюдений	66	121

2.3 Методы исследования

Для анализа были собраны по 5–10 мл венозной крови в пробирки с K2 ЭДТА в качестве консерванта. Отобранные на расстоянии 8–10 см от плаценты фрагменты пуповины фиксировались в 10%-м формалине или заморожены при –80 °С. Для каждой из 47 пар мать–новорожденный собирали по три фрагмента ткани плаценты размерами 1×0,5×0,5 см из краевой, парацентральной и центральной зон визуально неизменной плаценты. Фрагменты фиксировали 10%-м забуференным раствором формальдегида в течение 12 часов, далее осуществляли гистологическую проводку и заливку в парафиновые блоки.

Выделение ДНК из цельной периферической крови матери с консервантом ЭДТА K2 проводили с помощью набора «QIAmp DNA Blood Mini Kit», из ткани пуповины – при помощи набора «DNeasy Blood and Tissue Kit» (QIAGEN; Германия) по стандартной методике, рекомендованной производителем (с минимальной массой образца пуповины 25 мг и пролонгированным лизисом в течение ночи).

Определение полиморфизмов C/T 3'-UTR (rs4065) гена PLAУ и T(-516)C (rs344781) гена PLAUR проводили при помощи ПЦР с детекцией в реальном времени. Амплификацию осуществляли в детектирующем термоциклере «RotorGene Q» (QIAGEN; Германия). Применяли аллельспецифичные гидролизуемые зонды. Праймеры и зонды:

rs4065_F: 5'-TGGTTGTCATTTTTGCAGTAGAGTC-3';

rs4065_R: 5'-GGCCTATGCCTGAGGGTAAAG-3';

rs4065_prC: FAM-5'-AAGCTATTGTCGTTCCGCCCTGGTGG3'-BHQ1;

rs4065_prT: HEX-5'-AAGCTATTGTCGTTCCACCCTGGTGGG3'-BHQ1;

rs344781_F: 5'-ATCCTGAAATATGCATCTCTTAAACACT-3';

rs344781_R: 5'-TTAACATTTACCAAGGACCTACTTCG-3';

rs344781_prC: FAM-5'-CACAGCGGGAAGCAAAGCAAGGGT3'-BHQ1;

rs344781_prT: HEX-5'-CACAGCAGGAAGCAAAGCAAGGGT3'-BHQ1).

Определение C/T 7240 (rs2227564) гена *PLAU*, A659G (rs2302524) гена *PLAUR*, -675 5G/4G *SERPINE-1* (rs1799768) проводили при помощи ПЦР с детекцией в реальном времени и готовых наборов для определения SNP (ДНК-технология; Россия).

Из парафиновых блоков плацент изготавливали срезы 4 мкм, которые затем монтировали на предметные стекла с адгезивным покрытием «Polysine Slides» (Menzel GmbH & Co KG; Германия). Депарафинирование, регидратацию и демаскировку антигенов проводили при помощи буфера «Dewaxand HIER BufferM» (pH 8,0) (Thermo; Великобритания) при температуре 95–98 °C, в течение 20 мин в модуле предобработки к «PT-Module» (Thermo; Великобритания). Иммуногистохимические реакции проводили в автоматизированном режиме с помощью автостейнера «Thermo Scientific LabVision Autostainer 480S» (Thermo; Великобритания). Для проведения иммуногистохимического исследования использовали кроличьи моноклональные антитела к урокиназе (ab133563) в разведении 1:150 и кроличьи поликлональные антитела к рецептору урокиназы (ab103791) в разведении 1:100 (Abcam; Великобритания), время инкубации – 30 мин. В качестве системы детекции применяли систему «Ultra Vision Quanto Detection System» (Thermo; Великобритания) с DAB-хромогеном. После этого срезы докрашивали гематоксилином (1–3 мин) и заключали под покровное стекло. Результаты реакции учитывали с помощью микроскопа «Leica DM 1000»: объектив HI PLAN 40×/0.65 ∞/0.17/0FN25 с цифровой камерой высокого разрешения «Leica DMC 2900»; программное обеспечение «Leica Application Suite 8.0» (Leica; Германия). Суммарно было получено 920 микрофотографий: 460 для uPAR-окрашенных стекол, 460 – для uPA-окрашенных.

В каждом изображении выбирали участок фона размерами 7×7 пикселей и присваивали ему среднее значение цвета всех пикселей, которые в нем содержатся. По данному цвету корректировали баланс белого так, чтобы полученный цвет становился белым. В результате на всех микрофотографиях цвет фона очень близок к белому, а цветовое пространство стало однородным. После этого в каждой

фотографии вручную выделяли и удаляли крупные скопления эритроцитов и артефакты. Все изображения приводили к размеру 1024×768 пикселей.

В программе ImageJ, v1.51s (National Institutes of Health; США) для каждого изображения автоматически рассчитывали удельную площадь ворсин (%) и удельную площадь межворсинчатого пространства (%). Разработанный алгоритм автоматического подсчета (см. Таблицу 5) был протестирован на выборке в 82 случайных изображения (данное количество образцов позволяет экстраполировать результаты теста на всю выборку с уверенностью 95%). Результаты ручной детекции ворсин сравнивали с автоматической, ошибка автоматического расчета вычислялась по формуле (2.1):

$$(AP - RP) / RP * 100\%, \quad (2.1)$$

где AP – результат, полученный при автоматическом подсчете,

RP – результат, полученный при ручном подсчете.

По результатам сравнения средняя ошибка – 0,00%, стандартное отклонение ошибки – 4,54%, следовательно, истинная средняя ошибка имеет диапазон $\pm 0,50\%$, для 95% изображений ошибка в пределах $\pm 8,90\%$.

При помощи выделения сосудов на микрофотографиях вручную оценивали площадь сосудов (% от площади ворсин), сосуристо-стромальное соотношение. Сосуристо-стромальное соотношение рассчитывали по формуле: площадь сосудов ворсин / (площадь ворсин – площадь сосудов ворсин). Все параметры вычисляли как геометрическое среднее показателей, полученных после обработки 10 изображений для каждого среза.

Для оценки интенсивности иммуногистохимической экспрессии uPA и uPAR в соответствующих ворсинам участках отбирали пиксели со значениями цвета в следующих диапазонах: hue [0;37], saturation [46;255], brightness [62;251]. Данные параметры позволяют определить оттенки коричневого цвета. Отобранные участки изображений переводили в черно-белый спектр для определения интенсивности окрашивания пикселей. Абсолютно черным пикселям присваивали значение 255, абсолютно белым – 0.

Все пиксели, не входившие в состав ворсин, либо не отобранные по цветовому диапазону, также получили значение 0. Было посчитано среднее значение цвета пикселей в изображении без учета белых (со значением 0). Интенсивность экспрессии рассчитывали по формуле (2.2):

$$INT = \frac{\sum_{c=1}^{255} c \times N_c}{V_i \times 1024 \times 768}, \quad (2.2)$$

где INT – интенсивность;

c – среднее значение цвета не белых пикселей;

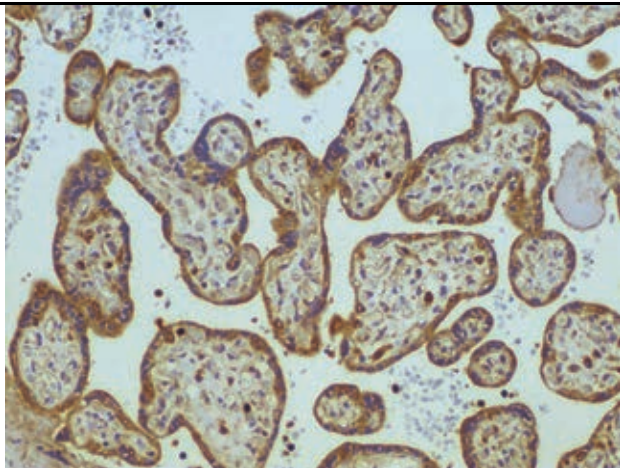
N – количество не белых пикселей на обработанном изображении;

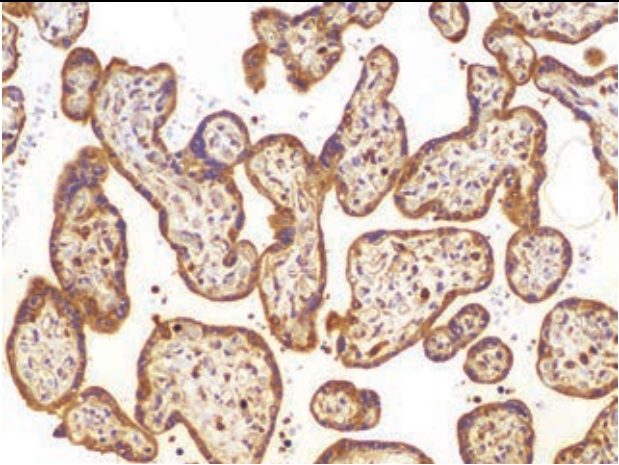
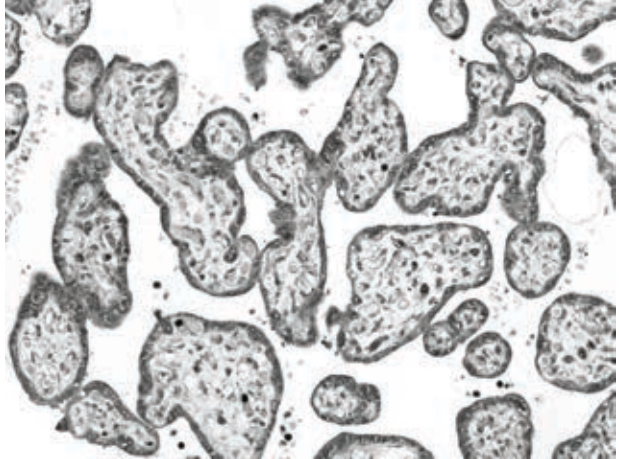
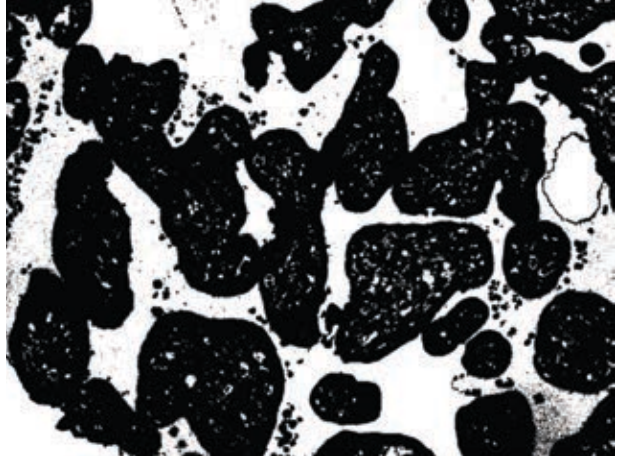
V – доля площади изображения, занятая ворсинами, от 0 до 1.

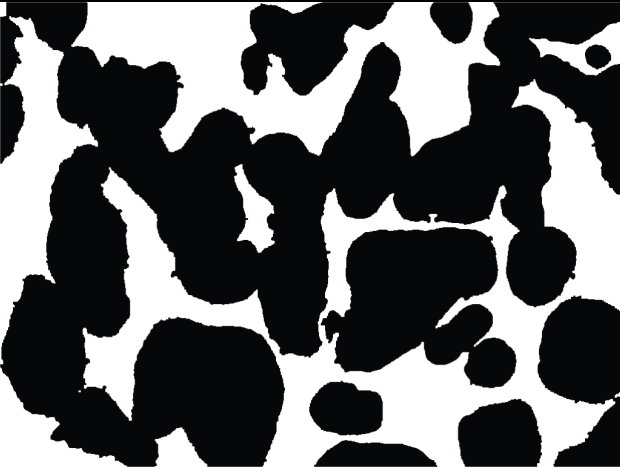
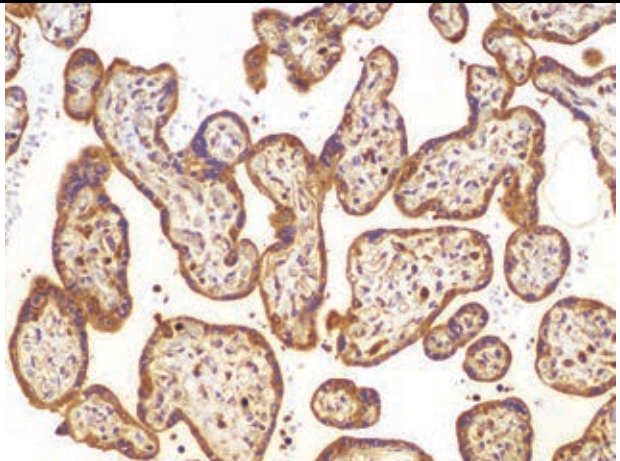
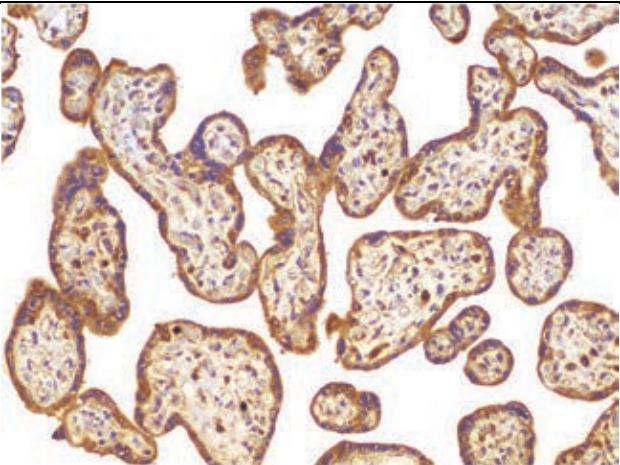
Результат расчета по указанной формуле можно интерпретировать как интенсивность экспрессии маркера от 0 (нет экспрессии) до 255 (максимальная экспрессия) в ворсине при условии ее равномерного окрашивания.

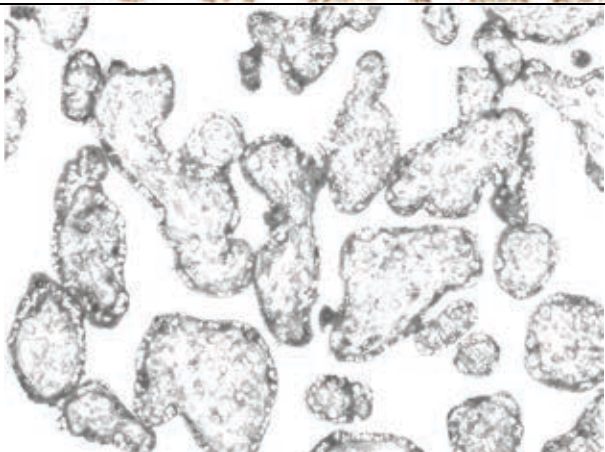
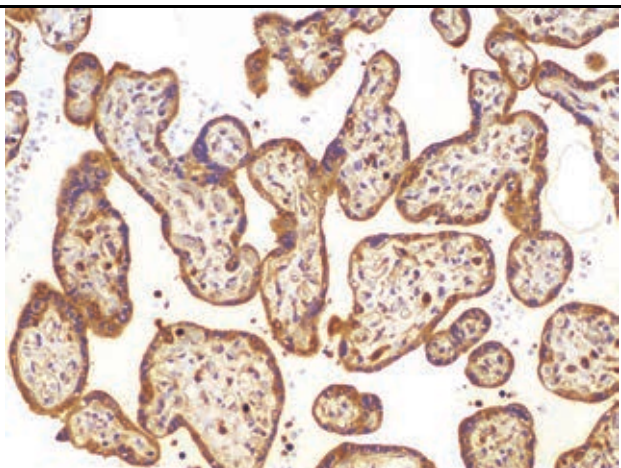
Этапы алгоритма обработки микрофотографий и оценки исследуемых параметров суммированы и проиллюстрированы примерами в Таблице 2.

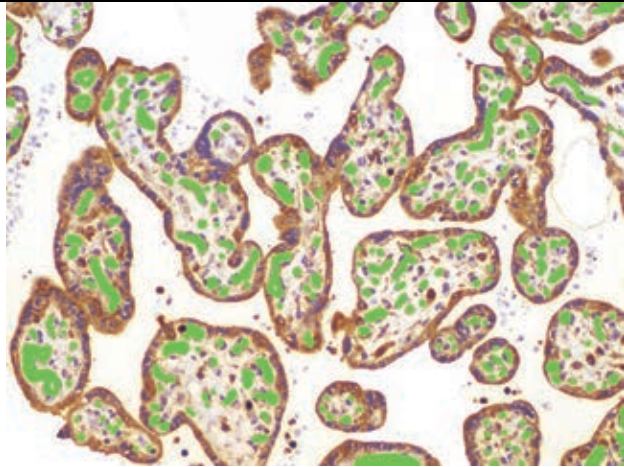
Таблица 2 – Алгоритм автоматической морфометрии и оценки интенсивности иммуногистохимической экспрессии

Этап	Результат
Предварительная обработка изображения	
Первоначальный вид	

Этап	Результат
Приведение к формату 1024x768; Коррекция цвета, создание белого фона; Удаление крупных скоплений эритроцитов, артефактов, фибриноида.	
Расчет площади ворсин и межворсинчатого пространства	
Извлечение зеленого канала для создания более четкого и контрастного черно-белого изображения; Все пиксели изображения имеют значение от 0 (черный) до 255 (белый).	
Увеличение контрастности до максимума	

Этап	Результат
Удаление оставшихся эритроцитов, «шума» (участки 2х2 рх и меньше); Заполнение участков внутри ворсин черным цветом; Расчёт площади ворсин.	
Расчет интенсивности иммуногистохимической экспрессии	
Первоначальный вид	
Применение «маски», полученной при расчете площади ворсин.	

Этап	Результат
Все пиксели, не входящие в цветовой диапазон hue [0;37], saturation[46;255], brightness[62;251] (диапазон, объединяющий оттенки коричневого цвета) обращались в белые.	
Изображение переводилось в 8-битный черно-белый режим: все пиксели получали значения от 0 (белый) до 255 (черный); Расчёт интенсивности иммуногистохимической экспрессии (см. текст).	
Расчёт площади сосудов ворсин	
Первоначальный вид.	

Этап	Результат
Выделение сосудов ворсин вручную.	
Расчёт площади сосудов ворсин, сосудисто-стромальное соотношения.	

Статистический анализ выполняли с использованием программы Statistica 12 и веб-версии SNP Stats, разработанной для анализа исследований генетического полиморфизма генов [154].

Отличие распределения непрерывных переменных от нормального определяли при помощи критерия Шапиро-Уилка. Для признаков, характеризующихся нормальным распределением, были определены следующие параметры: число наблюдений, среднее значение признака, среднее квадратичное отклонение. Для признаков, характеризующихся распределением отличным от нормального, дополнительно указывали число объектов, медиана, 95%-й доверительных интервалов. При сравнении групп в зависимости от вида распределения и числа групп использовали t-тест, критерий Манна-Уитни, критерий Краскела-Уоллиса. Категориальные переменные оценивали при помощи

χ^2 -теста Пирсона, для таблиц 2x2 использовался χ^2 -тест Пирсона с поправкой Йетса, тест Спирмена.

В работе представляли также отношения шансов (ОШ) возникновения тех или иных признаков, под шансом понимали вероятность наличия признака к его отсутствию. Для построения 95%-х доверительных интервалов (95%ДИ) и точечной оценки ОШ применяли модель однофакторной бинарной логистической регрессии. ОШ считался статистически значимым, если 95%ДИ не включал единицу.

Информационный критерий Акаике (ИКА) использовали для определения типа наследования (кодминантная, доминантная, рецессивная, сверхдоминантная или лог-аддитивная). Предпочтение отдавали моделям с наименьшими значениями ИКА, указывающими на хорошее соответствие данным при использовании меньшего числа параметров.

Для исследования веса и статистической значимости отдельных генотипов использовали логистическую регрессию. Для описания полученной при многофакторном анализе модели использовали точное значение p -уровня значимости для модели в целом, значение свободного члена, регрессионных коэффициентов и точных значений p -уровня значимости для каждого из них для каждого независимого признака.

Статистически достоверными считали результаты при $p < 0,05$, при множественных сравнениях применяли поправку Бонферрони: значимыми считали только те результаты, для которых $p < 0,05/n$, где n – количество независимых статистических тестов.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Клиническая характеристика пациенток

Средний возраст пациенток на момент родов в основной группе составил $32,21 \pm 5,12$ года, в контрольной группе – $30,49 \pm 5,46$ лет, возрастные различия между группами являлись достоверными (t -критерий = 2,1, $p = 0,04$). Распределение пациенток по возрастным группам представлено на Рисунке 2.

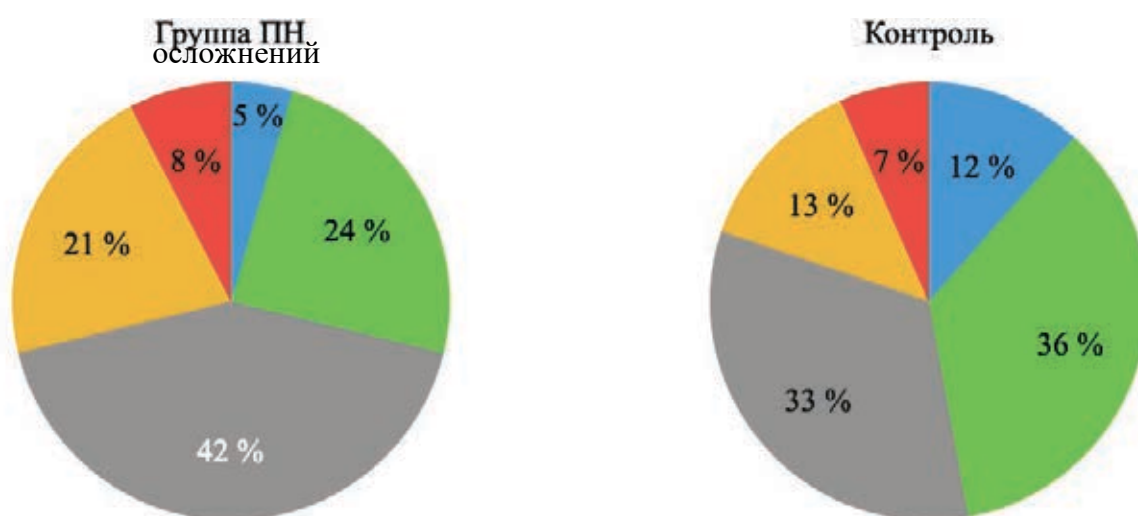


Рисунок 2 – Распределение пациенток по возрасту

Как следует из рисунка 2, наиболее многочисленной в контрольной группе была возрастная группа 25–30 лет, тогда как среди пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями (ПАО) – 30–35 лет.

При разделении всех пациенток по подгруппам в зависимости от изученного генотипа возрастные различия были найдены в выборке с изученным генотипом матери. Результаты сравнения приведены в Таблице 3.

Таблица 3 – Сравнение пациенток по возрастному показателю

Подгруппа	Средний возраст пациенток с ПАО, лет $\pm$ стандартное отклонение (медиана; 95% ДИ)	Средний возраст пациенток контрольной группы, лет $\pm$ стандартное отклонение (медиана; 95%ДИ)	p
Пациенты с изученным генотипом матери	32,58 $\pm$ 4,9 (32; 31,07–34,08)	30,34 $\pm$ 5,41 (30; 29,33–31,35)	0,019¹
Пациенты с изученным генотипом плода	31,76 $\pm$ 5,36 (32; 30,03–33,5)	33,34 $\pm$ 5,72 (33; 31,49–35,19)	0,22 ¹
Пациенты с изученным генотипом и матери, и плода	31,81 $\pm$ 5,22 (31; 29,03–34,59)	33,69 $\pm$ 5,67 (33; 31,54–35,83)	0,18 ²
Примечания ¹ сравнение при помощи t-критерия ² сравнение при помощи критерия Манна-Уитни			

Из Таблицы 3 следует, что в подгруппе с изученным генотипом матери средний возраст пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями был достоверно выше, чем в контрольной группе (32,58 лет против 30,34 лет), различия в возрасте в подгруппах с изученным генотипом плода, а также в подгруппе с изученным генотипом и матери и плода были не существенными.

Фактором риска плацента-ассоциированных осложнений является возраст матери менее 17 лет и старше 35 лет. Все пациентки, включенные в исследование, являлись совершеннолетними. Доля пациенток старше 35 лет среди всех наблюдений с плацента-ассоциированными осложнениями составила 28,78% (n = 19), в контрольной группе – 19,83% (n = 24) (различия между группами по данному показателю являлись недостоверными, χ^2 с поправкой Йетса = 1,46, p = 0,23), в исследуемых подгруппах – представлена в Таблице 4.

Таблица 4 – Сравнение по % пациенток старше 35 лет

Подгруппа	Группа ПАО, % (n)	Контрольная группа, % (n)	p
Пациентки с изученным генотипом матери	30,23 (13)	19,46 (22)	0,0747
Пациентки с изученным генотипом плода	25,64 (10)	28,2 (11)	1,0
Пациентки с изученным генотипом и матери, и плода	25 (4)	30 (9)	0,98
Примечание – сравнение при помощи метода χ^2 с поправкой Йетса			

По данным таблицы 4 среди пациенток группы ПАО доля тех, чей возраст составлял 35 лет и более, была выше в подгруппе с изученным генотипом матери, хотя данные различия не были статистически значимыми.

Средние значения и медианы индекса массы тела (ИМТ) до беременности не выходили за верхнюю границу нормальных значений в обеих группах: пациентки с плацента-ассоциированными осложнениями – $22,72 \pm 4,54$ кг/м² (медиана – 21,15 кг/м², 95%ДИ 21,6–23,83), контрольная группа – $21,68 \pm 3,86$ кг/м² (медиана – 20,77 кг/м²; 95%ДИ 20,98–22,37). Достоверных различий по данному показателю между группой ПАО и контрольной выявить не удалось (критерий Манна-Уитни, $p = 0,13$). Значения ИМТ в исследуемых подгруппах представлена в Таблице 5.

Таблица 5 – Сравнение подгрупп по значению индекса массы тела

Подгруппа	Группа ПАО, среднее (медиана; 95%ДИ), кг/м ²	Контрольная группа, среднее (медиана; 95%ДИ), кг/м ²	p
Пациентки с изученным генотипом матери	22,86 (21,33; 21,54–24,16)	21,65 (20,72; 20,91–22,38)	0,059
Пациентки с изученным генотипом плода	21,98 (20,95; 20,54–23,42)	23,29 (21,37; 21,48–25,1)	0,26
Пациентки с изученным генотипом и матери, и плода	22,49 (21,08; 19,93–25,07)	23,39 (21,36; 21,11–25,67)	0,91
Примечание – сравнение с помощью критерия Манна-Уитни			

Как следует из данных Таблицы 5, в изученных подгруппах пациентки с плацента-ассоциированными осложнениями не отличались от пациенток контрольной группы по показателю ИМТ.

Дефицит массы тела (ИМТ менее $18,5 \text{ кг/м}^2$) наблюдался в 16,67% ($n = 11$) всех наблюдений с плацента-ассоциированными осложнениями беременности (11,63% – в выборке с изученным генотипом матери ($n = 5$), 20,51% – в выборке с изученным генотипом плода ($n = 8$), 12,5% – в группе с изученным генотипом матери и плода ($n = 2$)), в контрольной группе – в 11,57% ($n = 14$) (12,39% ($n = 14$) – в выборке с изученным генотипом матери, 8,57% ($n = 3$) – в выборке с изученным генотипом плода, 10% ($n = 3$) – в группе с изученным генотипом матери и плода).

Избыточная масса тела (ИМТ более 25 кг/м^2) наблюдалась у 27,27% ($n = 18$) всех пациенток группы ПАО (наблюдения с изученным генотипом матери – 27,91% ($n = 12$), с изученным генотипом плода – 20,51 % ($n = 8$), с изученным генотипом матери и плода – 18,75% ($n = 3$)) и у 11,57% ($n = 14$) пациенток контрольной группы (наблюдения с изученным генотипом матери – 10,62% ($n = 12$), с изученным генотипом плода – 28,2% ($n = 11$), с изученным генотипом матери и плода – 23,33% ($n = 7$)). Выраженные нарушения жирового обмена (ИМТ более 35 кг/м^2) присутствовали у 3,03% ($n = 2$) пациенток группы ПАО и у 2,48% ($n = 3$) пациенток контрольной группы.

Таким образом, по показателю ИМТ статистически значимых различий между пациентками основной и контрольной группы выявлено не было, однако среди пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями доля пациенток как с недостаточной, так и с избыточной массой тела, была выше, что соответствует представлениям об отличных от нормы конституциональных характеристиках, как о факторах риска развития плацента-ассоциированных осложнений, преэклампсии, ЗРП [16; 69].

Экстрагенитальная патология пациенток группы ПАО была представлена хроническими заболеваниями мочевыводящих путей (хронический пиелонефрит – 15,15% ($n = 10$), хронический цистит – 3,03% ($n = 2$)), желудочно-кишечного тракта (хронический гастрит – 3,03%, ($n = 2$)), варикозной болезнью вен нижних

конечностей - 10,6% (n = 7), сердечно-сосудистыми заболеваниями (хроническая артериальная гипертензия – 1,6% (n = 7), пролапс митрального клапана – 6,06% (n = 4), ангиопатия сетчатки – 6,06% (n = 4), венозные тромбозы в анамнезе – 3,03% (n = 2)) и их сочетаниями, не имели хронических или острых соматических заболеваний – 45,45% (n = 30). В контрольной группе не имели экстрагенитальных заболеваний 62,81% (n = 76), 14,05% имели заболевания пищеварительной системы (n = 17), 4,96% (n = 6) – варикозную болезнь вен нижних конечностей, 9,92% (n = 12) – хронические заболевания мочевыводящих путей, у 1 пациентки была хроническая артериальная гипертензия. Данные о частоте экстрагенитальных заболеваний суммированы в Таблице 6.

Таблица 6 – Структура экстрагенитальной патологии

Экстрагенитальная патология	Группа ПАО		Контроль		p
	n	%	n	%	
Хронические заболевания мочевыводящих путей	11	16,67	12	9,92	0,09
Хронические заболевания желудочно-кишечного тракта	2	3,03	17	14,05	0,07
Хроническая венозная недостаточность	7	10,6	4,96	6	0,77
Хроническая артериальная гипертензия	7	10,6	1	0,83	0,0081
Ангиопатия сетчатки	4	10,6	0	0	—
Венозные тромбозы в анамнезе	2	3,03	0	0	—

При сравнении структуры экстрагенитальной патологии обращало на себя внимание достоверно более высокая частота сердечно-сосудистых заболеваний среди пациенток группы ПАО.

Пациентки обеих групп не имели вредных привычек (табакокурение, наркомания, злоупотребление алкоголем), жили в благоприятных социальных (состояли в браке, имели стабильное материальное положение) и санитарно-бытовых условиях, не подвергались токсическому и радиационному воздействию.

Частота гинекологических заболеваний в группах представлена в Таблице 7.

Таблица 7 – Структура гинекологической патологии

Гинекологическая патология	Группа ПАО		Контроль		p
	n	%	n	%	
Миома матки	9	13,64	3	2,48	0,04
Наружный генитальный эндометриоз	4	6,06	4	3,31	0,56
Синдром поликистозных яичников	4	6,06	2	1,65	0,07
Бесплодие	11	16,66	3	2,74	0,0041
Внутриматочная патология	4	6,06	3	2,74	0,08

Как следует из данных, приведенных в Таблице 7, среди пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями 62,12% не имели гинекологических заболеваний (n = 41). У 13,64% (n = 9) была миома матки с интерстициальной локализацией узлов (в том числе, в 1 наблюдении – миом матки больших размеров с центрипетальным ростом узла, что потребовало проведения консервативной миомэктомии до беременности, в остальных наблюдениях миоматозные узлы были малого размера и не деформировали полость матки), у 16,66% (n = 11) – бесплодие (у 9,09% (n = 6) – бесплодие неясного генеза, у 1,51% (n = 1) – мужской фактор бесплодия, у 3,03% (n = 2) – трубно-пеританеальный фактор бесплодия, у 1,51% (n = 1) – бесплодие, обусловленное синдромом поликистозных яичников, у 1,51% (n = 1) – бесплодие, вызванное наружным генитальным эндометриозом), у 6,06% (n = 4) – синдром поликистозных яичников, у 6,06% (n = 4) – наружный генитальный эндометриоз. У 4 пациенток в анамнезе присутствовали внутриматочные вмешательства: у 2 – гистерорезектоскопия (полипэктомия, разделение внутриматочных синехий, рассечение внутриматочной перегородки), у 1 – гистероскопия, биопсия эндометрия по поводу бесплодия. Беременность наступила при помощи вспомогательных репродуктивных технологий (экстракорпоральное оплодотворение) у 13,63% (n = 9).

В контрольной группе не имели гинекологических заболеваний - 84,3%, у 2,48% (n = 3) – миома матки малых размеров с интерстициальной локализацией узлов, у 3,31% (n = 4) – наружный генитальный эндометриоз, у 1,65% (n = 2) – синдром поликистозных яичников, у 2,47% (n = 3) – бесплодие (поздний репродуктивный возраст, трубно-перитонеальный фактор), у 1 пациентки в анамнезе – рассечение внутриматочной перегородки, тубэктомия по поводу внематочной беременности - также у 1 пациентки. У 3 пациенток в анамнезе были внутриматочные вмешательства: у 1 – гистерорезектоскопия (рассечение внутриматочной перегородки), у 2 – гистероскопия, раздельное диагностическое выскабливание по поводу гиперплазии эндометрия. Беременность наступила при помощи вспомогательных репродуктивных технологий (экстракорпоральное оплодотворение) у 3,31% (n = 4).

Частота бесплодия в группе ПАО была достоверно выше, чем в контрольной группе.

Данные о количестве и исходах предыдущих беременностей суммированы в Таблице 8 для всех пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями и всех пациенток с физиологически протекающей беременностью, результаты сравнения анамнеза в подгруппах – в Таблице 9.

Таблица 8 – Акушерский анамнез на момент настоящей беременности

Показатель	Группа ПАО, N = 66 % (n)		Контроль, N = 121 % (n)	
Primigravida	16,17 (11)		16,53(20)	
Multigravida	83,33 (55)		80,51 (101)	
	Nullipara	9,09 ¹ (5)	Nullipara	9,9 (10) ¹
	Primipara	67,27 ¹ (37)	Primipara	61,39(62) ¹
	Multipara	23,64 (13) ¹	Multipara	28,71 (29) ¹
	Артифициальный аборт	20 (11) ^{1,3}	Артифициальный аборт	41,5 (42) ^{1,3}

Продолжение таблицы 8

Показатель	Группа ПАО, N = 66 % (n)		Контроль, N = 121 % (n)	
	Самопроизвольный аборт	10,9(6) ¹	Самопроизвольный аборт	3,96 (4) ¹
	Неразвивающаяся беременность	29,09 (16) ^{1,3}	Неразвивающаяся беременность	6,93 (7) ^{1,3}
	Аntenатальная гибель плода	36(18) ²	Аntenатальная гибель плода	0 (0) ²
	Постнатальная гибель новорожденного	10(5) ²	Постнатальная гибель новорожденного	0 (0) ²
	ПОНРП	20(10) ²	ПОНРП	0 (0) ²
	Умеренная или тяжелая преэклампсия	24(12) ²	Умеренная или тяжелая преэклампсия	0 (0) ²
	ЗРП II-III степени	72(36) ²	ЗРП II-III степени	0 (0) ²
Примечания 1 % от количества пациенток, которые на момент исследования являлись повторнوبرеменными 2 % от количества пациенток, которые на момент исследования являлись первородящими 3 p <0,05, при сравнении основной и контрольной группы при помощи критерия Манна-Уитни				

Таблица 9 – Акушерский анамнез пациенток по подгруппам

		Подгруппа с изученным генотипом матери, % (n), группа ПАО vs. контроль	Подгруппа с изученным генотипом плода, % (n), группа ПАО vs. контроль	Подгруппа с изученным генотипом матери и плода, % (n), группа ПАО vs. контроль
Primigravida		6,98 (3) vs. 17,7 (20)	25,64 (10) vs. 2,56 (1)	12,5 (2) vs. 3,33(1) ¹
Multigravida		93,02 (40) vs. 82,3 (93)	74,36 (29) vs. 97,43 (38)	87,5 (14) vs.96,67(29) ¹
	Nullipara	5 (2) vs. 10,75(10) ¹	10,34 (3) vs. 2,63 (1) ¹	0 (0) vs. 0 (0) ¹
	Primipara	72,5 (29) vs. 64,5 (60) ¹	68,97 (20) vs.60,52 (23) ¹	85,57 (12) vs. 56,66(17) ¹
	Multipara	22,5 (9) vs.24,73 (23) ¹	20,69 (6) vs.36,84 (14) ¹	14,29 (2) vs. 36,66(11) ¹

		Подгруппа с изученным генотипом матери, % (n), группа ПАО vs. контроль	Подгруппа с изученным генотипом плода, % (n), группа ПАО vs. контроль	Подгруппа с изученным генотипом матери и плода, % (n), группа ПАО vs. контроль
	Артифициальный аборт	15 (6) vs. 41,94 (39) ^{1,3}	27,58 (8) vs. 28,95(11) ¹	21,43 (3) vs. 26,66(8) ¹
	Самопроизвольный аборт	5 (2) vs. 3,2 (3) ¹	13,8 (4) vs. 7,89 (3) ¹	7,14 (1) vs. 6,67 (2) ¹
	Неразвивающаяся беременность	30 (12) vs. 7,53 (7) ^{1,3}	24,14 (7) vs. 10,5(4) ¹	21,42 (3) vs. 13,33 (4) ¹
	Аntenатальная гибель плода	39,47(15) vs. 0(0) ²	23,08 (6) vs. 0(0) ²	21,43 (3) vs. 0(0) ²
	Постнатальная гибель новорожденного	7,89(3) vs. 0(0) ²	11,54 (3) vs. 0(0) ²	7,14 (1) vs. 0(0) ²
	ПОНРП	18,42(7) vs. 0(0) ²	19,23 (5) vs. 0(0) ²	14,28 (2) vs. 0(0) ²
	Умеренная или тяжелая преэклампсия	26,32 (10) vs. 0(0) ²	26,92 (7) vs. 0(0) ²	35,7 (5) vs. 0(0) ²
	ЗРП II-III ст.	78,94 (30) vs. 0(0) ²	69,23 (18) vs. 0(0) ²	85,71 (12) vs. 0(0) ²
Примечания ¹ % от количества пациенток, которые на момент исследования являлись повторнобеременными ² % от количества пациенток, которые на момент исследования являлись первородящими ³ p < 0,05, при сравнение основной и контрольной группы при помощи критерия Манна-Уитни				

Таким образом, среди пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями: primigravida – 16,67% (n = 11), multigravida – 83,33% (n = 55). Среди последних в анамнезе: у 20% (n = 11) – артифициальный аборт, более 1 артифициального аборта – у 5,45% (n = 3), у 29,49% – самопроизвольное прерывание беременности на сроке до 22 недель (у 10,9% (n = 6) – самопроизвольный аборт, у 29,09% (n = 16) – неразвивающаяся беременность, в том числе, 1 наблюдение – на сроке 21-22 недели, у 7,27% (n = 4) – в анамнезе и самопроизвольный аборт, и неразвивающаяся беременность), у 90,9% (n = 50) повторноремеменных – хотя бы одни роды в анамнезе. Привычное невынашивание

беременности (3 и более самопроизвольных прерывания беременности в анамнезе) диагностировано у 14,28% ($n = 2$) тех, чья беременность на момент проведения исследования была по счету четвертой и более ($n = 14$). Два и более самопроизвольного прерывания беременности в анамнезе присутствовали у 24,24% ($n = 8$) тех, чья беременность была на момент проведения исследования третьей и более ($n = 33$).

Выскабливание полости матки до наступления настоящей беременности (при искусственном или самопроизвольном прерывании беременности, по поводу внутриматочной патологии) проводилось хотя бы 1 раз у 45,45% ($n = 30$) пациенток группы ПАО.

В контрольной группе: primigravida – 16,5% ($n = 20$), multigravida – 83,47% ($n = 101$). Среди повторнобеременных в анамнезе: у 41,58% ($n = 42$) – искусственный аборт, более 1 искусственного аборта – у 9,9% ($n = 10$), у 3,96% ($n = 4$) – самопроизвольный аборт, у 6,93% ($n = 7$) – неразвивающаяся беременность, у 90,09% ($n = 91$) – хотя бы одни роды в анамнезе. Привычное невынашивание беременности в контрольной группе диагностировано у 4% ($n = 1$) тех, чья беременность на момент проведения исследования была по счету четвертой и более ($n = 25$). Два и более самопроизвольного прерывания беременности в анамнезе присутствовало у 5,88% ($n = 3$) тех, чья беременность была на момент проведения исследования третьей и более ($n = 51$).

Выскабливание полости матки до наступления настоящей беременности проводилось хотя бы 1 раз у 36,36% ($n = 44$) пациенток контрольной группы.

Достоверных различий по количеству беременностей (критерий Манна-Уитни, $p = 0,64$), частоте самопроизвольных выкидышей (критерий Манна-Уитни, $p = 0,52$), общему числу выскабливаний матки (критерий Манна-Уитни, $p = 0,49$) (и по поводу прерывания беременности, и по поводу внутриматочной патологии) выявлено не было.

Статистически значимым оказались различия по количеству искусственных абортов (критерий Манна-Уитни, $p = 0,04$) – их частота была достоверно выше в контрольной группе, и по количеству неразвивающихся

беременностей (критерий Манна-Уитни, $p = 0,04$) в анамнезе между группой ПАО и группой контроля.

Данная закономерность выявлена также и в подгруппе с изученным генотипом матери (Критерий Манна-Уитни, $p = 0,009$ – сравнение по количеству искусственных абортов, $p = 0,038$ – сравнение по количеству неразвивающихся беременностей в анамнезе), но не в подгруппе с изученным генотипом плода и подгруппе с изученными генотипом и матери, и плода.

В группе ПАО среди тех, кто имел до наступления настоящей беременности хотя бы 1 роды, антенатальная гибель плода присутствовала в анамнезе у 36% ($n = 18$) (в 4 наблюдениях антенатальная гибель произошла во II триместре, в 15 – в III триместре, в том числе, дважды у одной пациентки: впервые – на сроке 23 недели, в следующую беременность – на сроке 28 недель), постнатальная гибель новорожденного в анамнезе – у 10% ($n = 5$), и антенатальная гибель плода, и постнатальная гибель новорожденного присутствовали в анамнезе у 1 пациентки. В большинстве наблюдений причиной гибели плода или новорожденного служили плацента-ассоциированные осложнения беременности: дистресс плода на фоне плацентарной недостаточности и ЗРП – 47,8% наблюдений ($n = 11$) (13,04% ($n = 3$) – в сочетании с преэклампсией), на фоне плацентарной недостаточности и преэклампсии – 4,34% ($n = 1$), в результате ПОНРП – в 26,09% наблюдений ($n = 6$). В 21,77% наблюдений ретроспективно причину не удалось установить. Суммарно, ПОНРП присутствовала в анамнезе у 20% ($n = 10$) повторнородящих пациенток, из них у 10% ($n = 5$), благодаря своевременному оперативному родоразрешению, беременность завершилась рождением живого ребенка. Среди других поздних осложнений беременности в анамнезе у 72% пациенток группы ПАО была ЗРП II–III степени ($n = 36$), у 24% ($n = 12$) – умеренная или тяжелая преэклампсия и эклампсия, в 14% ($n = 7$) – сочетание ЗРП с преэклампсией в анамнезе. Таким образом, в группе ПАО у 90% повторнородящих пациенток в анамнезе присутствовали те или иные плацента-ассоциированные осложнения.

Акушерский анамнез пациенток контрольной группы не был отягощен преэклампсией, ЗРП, ПОНРП, все предыдущие роды были своевременными и закончились рождением живых доношенных детей.

В группе ПАО течение настоящей беременности было отягощено угрозой прерывания беременности у 48,48% пациенток ($n = 32$), у 31,82% ($n = 21$) – угрозой преждевременных родов, у 10,6% ($n = 7$) – истмико-цервикальной недостаточностью, потребовавшей хирургической коррекции путем серкляжа (серкляж влагалищным доступом – 5, лапароскопический серкляж – 1) или установки акушерского pessaria ($n = 1$). В контрольной группе угроза прерывания беременности наблюдалась у 14,88% ($n = 18$), угроза преждевременных родов – у 9,92% ($n = 12$), истмико-цервикальная недостаточность наблюдалась у 4,13% ($n = 5$). Маловодие наблюдалось у 56,06% ($n = 37$) всех пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями беременности, и у 4,13% в контрольной группе ($n = 5$).

При сравнительном анализе течения настоящей беременности выявлены достоверные различия в частоте угрозы прерывания беременности до 22 недели (критерий Манна-Уитни, $p < 0,01$), частоте угрозы преждевременных родов (критерий Манна-Уитни, $p = 0,01$), маловодия (критерий Манна-Уитни, $p < 0,01$). По частоте истмико-цервикальной недостаточности группы достоверно не различались (критерий Манна-Уитни, $p = 0,47$).

У 37,88% пациенток группы ПАО ($n = 25$) диагностирована анемия беременных легкой степени тяжести, в контрольной группе – у 18,18% ($n = 22$), различия в частоте анемии беременных были достоверными ($p = 0,03$).

Данные о течение настоящей беременности в подгруппах суммированы в Таблице 10.

Таблица 10 – Особенности течения настоящей беременности (подгруппы)

Осложнение беременности	Пациентки с изученным генотипом матери, % (n), группа ПАО vs. контроль	Пациентки с изученным генотипом плода, % (n), группа ПАО vs. контроль	Пациентки с изученным генотипом и матери, и плода, % (n), группа ПАО vs. контроль
Угроза прерывания беременности	37,21(16) vs. 15,04 (17) ¹	53,85 (21) vs. 20,51 (8) ¹	37,5(6) vs. 23,33 (7)
Угроза преждевременных родов	32,56(14) vs. 9,73 (11)	25,64 (10) vs. 15,38 (6)	18,75 (3) vs. 16,66(5)
Истмико-цервикальная недостаточность	13,95 (6) vs. 4,42 (5) ¹	2,564 (1) vs. 7,69 (3)	0(0) vs. 10 (3)
Маловодие	48,84 (21) vs. 3,54 (4) ¹	71,79 (28) vs. 12,82 (5) ¹	75(12) vs. 10 (3) ¹
Анемия беременных	46,5 (20) vs. 16,81 (19) ¹	35,9 (14) vs. 38,46 (15)	50(8) vs. 40 (12)
Примечание ¹ p < 0,05 при сравнении при помощи критерия Манна-Уитни			

Так, при делении на подгруппы частота анемии беременных, угрозы прерывания беременности, угрозы преждевременных родов, маловодия в подгруппе с исследованным генотипом матери также была достоверно выше, чем в контрольной группе. В подгруппе с исследованным генотипом плода также была достоверно выше частота маловодия и угрозы прерывания беременности, различий в частоте остальных осложнений беременности не наблюдалось. В подгруппе с исследованным генотипом матери и плода статистически значимые различия получены только в частоте маловодия.

Средняя прибавка массы тела за период беременности в группе ПАО составила $10,58 \pm 4,69$ кг (медиана 10 кг, 95%ДИ 9,42 – 11,73), в контрольной группе – $11,67 \pm 3,14$ кг (медиана 12 кг, 95%ДИ 11,11-14,81), данные различия не были статистически значимыми ($p = 0,06$). Данные по подгруппам представлены в Таблице 11.

Таблица 11 – Сравнение подгрупп по величине общей прибавки веса за беременность

Подгруппа	Группа ПАО, среднее (медиана; 95%ДИ), кг/м ²	Контрольная группа, среднее (медиана; 95%ДИ), кг/м ²	p
Пациентки с изученным генотипом матери	11,04 ± 5,29 (9,44 – 12,66)	11,71 ± 3,21 (12; 11,11–12,31)	0,64
Пациентки с изученным генотипом плода	10,12 ± 4,48 (10; 8,66–11,57)	12,47 ± 4,48 (12; 11,02–13,92)	0,01
Пациентки с изученным генотипом и матери, и плода	10,65 ± 5,71 (11; 7,16–13,7)	12,8 ± 5,04 (12,5; 10,92–14,69)	0,16

Так, в группе с исследованным генотипом плода общая прибавка веса за беременность была достоверно выше в контрольной группе, хотя данные различия были незначительными – около 2 килограммов.

Умеренная преэклампсия развивалась у 21,21% (n = 14), тяжелая преэклампсия – у 22,73% (n = 15). В зависимости от срока манифестации преэклампсии ранняя форма наблюдалась у 33,33% (n = 22), поздняя форма - у 10,6% (n = 7). ЗРП диагностирована у 71,21% (n = 47): I степени – 21,21% (n = 14), II степени – 21,21% (n = 14), III степени – 28,79% (n = 19), ранняя форма – 42,42% (n = 28), поздняя форма – 28,79% (n = 19). Сочетание преэклампсии и ЗРП имели 33,33% пациенток. Отклонения показателей доплерометрии в сосудах системы «мать-плацента-плод» от нормальных значений наблюдались у 46,96% (n = 31) пациенток, из них – у 33,33% (n = 22) выявлены критические нарушения гемодинамики (нулевой или реверсный диастолический кровоток в артерии пуповины). ПОНРП произошла у 4,54% (n = 3) пациенток. Данные по частоте плацента-ассоциированных осложнений беременности в подгруппах представлены в Таблице 12.

Таблица 12 – Частота плацента-ассоциированных осложнений беременности в подгруппах

Осложнение беременности		Пациентки с изученным генотипом матери, % (n)	Пациентки с изученным генотипом плода, % (n)	Пациентки с изученным генотипом и матери, и плода, % (n)
ЗРП	I степень	30,23 (13)	12,28 (5)	18,75 (3)
	II степень	20,93 (9)	28,2 (11)	43,75 (7)
	III степень	13,95 (6)	41,03 (16)	25 (4)
	Ранняя	30,23 (13)	61,54 (24)	56,25 (9)
	Поздняя	34,88 (15)	23,07 (9)	31,25 (5)
Преэклампсия	Умеренная	20,9 (9)	20,5 (8)	18,75 (3)
	Тяжелая	11,43 (5)	33,33 (13)	25 (4)
	Ранняя	16,28 (7)	48,72 (19)	31,25 (5)
	Поздняя	16,28 (7)	5,13 (2)	12,5 (2)
ПОНРП		4,65 (2)	10,25 (4)	18,75 (3)

В соответствии с критериями включения в контрольной группе не было преэклампсии, ЗРП, ПОНРП, антенатальной гибели плода.

Роды произошли в срок у 59,1% группы ПАО (n = 39). Беременность закончилась преждевременными родами у 40,91% (n = 27) пациенток, из них у 6,06% (n = 4) произошли очень ранние преждевременные роды (до 28 недели гестации), ранние преждевременные роды (с 28 по 31 неделю) – у 6,06% (n = 4).

Большинство преждевременных родов (88,88%, n = 24) от всех родов до 36 недель и 6 дней в группе ПАО были индуцированными. Индуцированными по показаниям со стороны матери (ухудшение состояния при преэклампсии, ПОНРП) были 22,22% (n = 6) всех преждевременных родов. Индуцированными по показаниям со стороны плода (критические показатели кровотока в артерии пуповины, отсутствие динамики роста в течение 14 дней по данным УЗ-фетометрии при ЗРП, острая гипоксия плода по данным кардиотокографии, жалобы матери на снижение двигательной активности плода) были 40,74% (n = 11)

всех преждевременных родов. Показания и со стороны матери, и со стороны плода присутствовали в 22,22% от общего числа индуцированных преждевременных родов (6 наблюдений). В 1 наблюдении произошли преждевременные индуцированные роды через естественные родовые пути на 25 неделе беременности в связи с антенатальной гибелью плода на фоне выраженных нарушений кровообращения в системе «мать-плацента-плод» и ЗРП. Характеристика родов пациенток с ПАО по подгруппам представлена в Таблице 13.

Таблица 13 – Характеристика родов пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями беременности (в подгруппах)

Роды			Пациентки с изученным генотипом матери, % (n)	Пациентки с изученным генотипом плода, % (n)	Пациентки с изученным генотипом матери и плода, % (n)
Преждевременные	Очень ранние		7,14 (1)	14,29 (3)	0 (0)
	Ранние		14,28 (2)	19,05 (4)	12,5 (2)
	Индуцированные		92,86 (13)	100 (21)	100 (8)
	Оперативные	Экстренное родоразрешение	85,71 (12)	95,24 (20)	100 (8)
		Плановое родоразрешение	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Своевременные	Оперативные	Экстренное родоразрешение	13,79 (4)	55,55 (10)	37,5(3)
		Плановое родоразрешение	86,21 (25)	27,77 (5)	37,5 (3)

Роды у всех пациенток контрольной группы были своевременными.

Через естественные родовые пути роды произошли у 13,64% (n = 9) пациенток группы ПАО и у 74,38% (n = 31) пациенток контрольной группы, у остальных было произведено оперативное родоразрешение путем операции кесарева сечения.

В экстренном порядке по жизненным показаниям путем операции кесарева сечения родоразрешены 48,48% ($n = 32$) пациенток группы ПАО, в плановом порядке – 37,88% ($n = 25$).

Все пациенты контрольной группы были родоразрешены в плановом порядке в связи с наличием несостоятельного по данным ультразвукового исследования рубца на матке, тазовым предлежанием и большой предполагаемой массой плода, неподготовленностью родовых путей на момент доношенной беременности и неэффективностью мер по подготовке шейки матки к родам, показаниям со стороны матери, связанными с наличием экстрагенитальных заболеваний (симфизит, разрыв промежности с вовлечением сфинктера прямой кишки в предыдущих родах, дистрофия сетчатки).

Роды всех пациенток, для которых проводили гистологическое исследование плаценты, происходили путем операции кесарева сечения на сроке 28 недель и более – в группе ПАО (4 пациентки – до 34-й недели, 12 пациенток – после 34-й недели), на доношенном сроке - в контрольной группе.

Как было указано выше, в группе ПАО в 1 наблюдении произошла антенатальная гибель плода на фоне выраженных нарушений кровообращения в системе «мать-плацента-плод» и ЗРП. Также 2 новорожденных группы ПАО погибли в одном наблюдении – на 3 сутки жизни, в другом – на 7 сутки, по причинам, связанным с недоношенностью (срок родов – 26 недель и 30 недель, масса при рождении – 840 и 1050 грамм, соответственно) и дистрессом на фоне преэклампсии матери во время беременности.

Хроническая внутриутробная гипоксия плода диагностирована после оценки характера околоплодных вод у 4 пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями (6,06%), у 2 пациенток (1,65%) – в контрольной группе, различия между группами были статистически недостоверными (критерий Манна-Уитни, $p = 0,62$).

Средняя масса новорожденных в группе ПАО составила $2325,69 \pm 825,69$ граммов (медиана 2440 граммов, 95%ДИ 2121,71 – 2527,67), рожденных на доношенном сроке – $2828,2 \pm 483,22$ граммов (медиана – 2880 граммов, 95%ДИ

2485,16 – 3171,24 граммов). Гипотрофия I степени (дефицит массы 11-20%) диагностирована у 17,94% (n = 7) доношенных новорожденных группы ПАО, II степени (дефицит массы 21-30%) – у 28,21% (n = 11), III степени (дефицит массы более 30%) – у 12,82% (n = 5).

Беременности пациенток контрольной группы завершились рождением живых доношенных детей. Средняя масса новорожденных в контрольной группе составила $3499,79 \pm 384,95$ граммов (медиана 3500 граммов, 95%ДИ, 3430,59 – 3568,91).

Масса доношенных новорожденных детей пациенток группы ПАО была достоверно ниже таковой в контрольной группе (Критерий Манна-Уитни, $p < 0,01$). Данная закономерность прослеживалась и во всех во всех трех подгруппах (Таблица 14).

Таблица 14 – Сравнение подгрупп по значению массы доношенных новорожденных

Подгруппа	Группа ПАО, среднее $\pm$ стандартное отклонение (медиана; 95%ДИ), граммы	Контрольная группа, среднее $\pm$ стандартное отклонение (медиана; 95%ДИ), граммы	p^1
Пациентки с изученным генотипом матери	$2952,41 \pm 392,13$ (2960; 2805,26–3099,56)	$3529,46 \pm 364,18$ (3530; 3461,58–3597,34)	$< 0,01$
Пациентки с изученным генотипом плода	$2618,33 \pm 492,72$ (2490; 2373,31–2863,31)	$3563,51 \pm 442,21$ (3640; 3420,16–3706,86)	$< 0,01$
Пациентки с изученным генотипом и матери, и плода	$2707,5 \pm 444,58$ (2485; 2335,82–3079,18)	$3655 \pm 408,28$ (3705; 3502,55–3807,45)	$< 0,01$
Примечание ¹ сравнение при помощи критерия Манна-Уитни			

В группе ПАО средний балл новорожденных по шкале Апгар на 1-ой минуте составил $7,34 \pm 1,17$ (медиана 8 баллов, 95%ДИ 7,06–7,63), на 5-ой минуте – $8,29 \pm 1,08$ (медиана 9 баллов, 95%ДИ 8,03–8,56). В состоянии легкой асфиксии (6–7 баллов по шкале Апгар) родились 21,54% (n = 14) всех, родившихся живыми (n =

65), в состоянии асфиксии средней степени тяжести (4–5 баллов по шкале Апгар) - 10,77% (n = 7) (Рисунок 3).

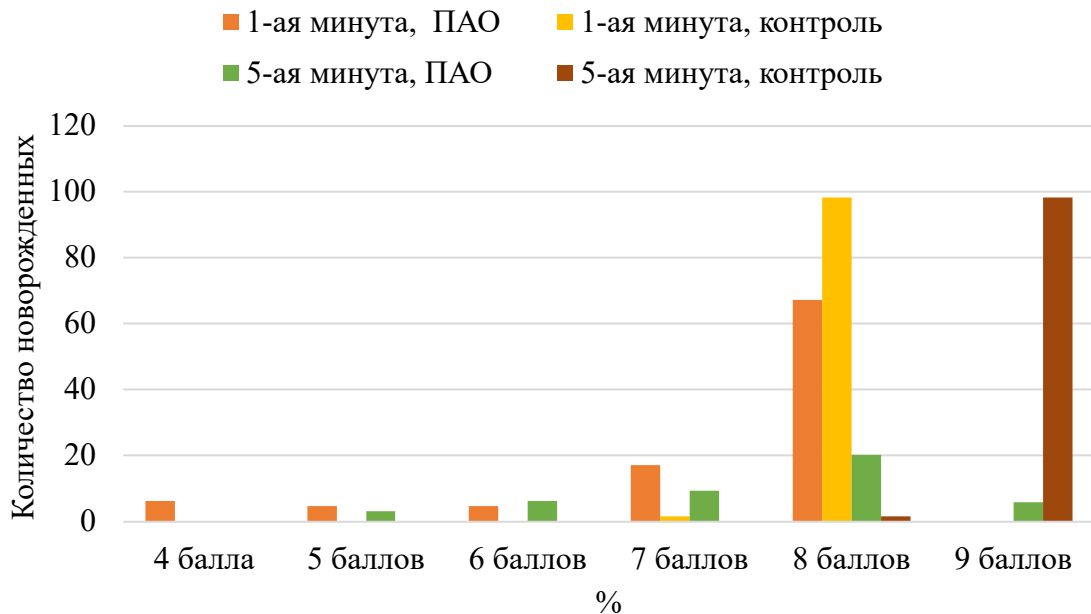


Рисунок 3 – Баллы новорожденных по шкале Апгар на 1-ой и 5-ой минутах жизни в группе ПАО и контрольной группе

Состояние 47,69% (n = 31) новорожденных потребовало их перевода в отделение интенсивной терапии и реанимации и далее на второй этап выхаживания. Дыхательная поддержка потребовалась 41,54% (n = 27) новорождённых: поддержание постоянного положительного давления при спонтанном дыхании проводилось у 20% (n = 13), инвазивная принудительная искусственная вентиляция легких – у 20% (n = 13), в одном наблюдении – высокочастотная принудительная искусственная вентиляция легких.

В контрольной группе средний балл новорожденных по шкале Апгар на 1-ой минуте составил $7,98 \pm 0,13$ баллов (медиана 8, 95%ДИ 7,96–8,01), на 5-ой минуте - $8,98 \pm 0,13$ (медиана 9, 95%ДИ 8,96–9,01) (Рисунок 3), в раннем неонатальном периоде все новорожденные находились на совместном пребывании с матерью. Балл всех новорожденных детей пациенток контрольной группы на 1-ой и 5-ой минуте жизни достоверно превышал таковой новорожденных детей пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями (критерий Манна-Уитни, $p < 0,01$).

По результатам анализа клинических данных характеристика сформированных выборок соответствует описанию, заявленному в критериях включения. Ни одна из пациенток не имеет заболеваний и/или состояний подходящими под критерии исключения.

Отличительной особенностью пациенток плацента-ассоциированных осложнений являлось наличие у большинства из них ранних по сроку манифестации и тяжелых по степени выраженности преэклампсии и ЗРП, причем у 90% повторнородящих пациенток плацента-ассоциированные осложнения также присутствовали в анамнезе. Перинатальная смертность в группе плацента-ассоциированных осложнений составила 4‰.

Также был выявлен ряд различий в частоте встречаемости традиционных факторов риска развития плацента-ассоциированных осложнений. Отношения шансов и доверительные интервалы для традиционных факторов риска изображены на Рисунке 4.

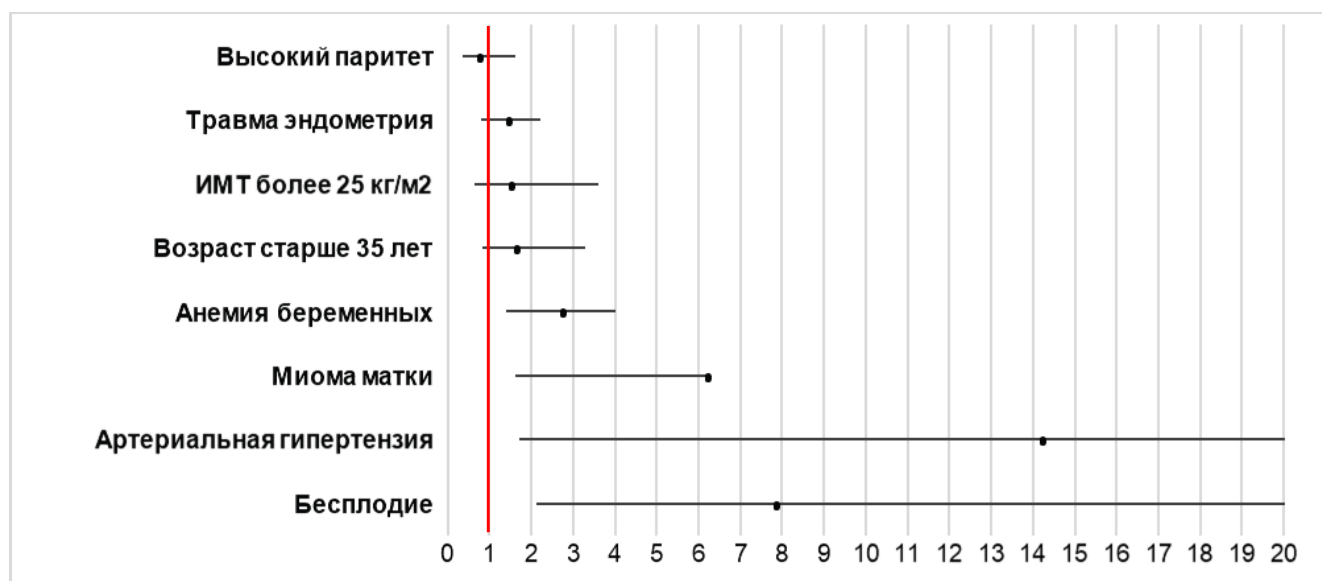


Рисунок 4 – Клинико-анамнестические факторы риска плацента-ассоциированных осложнений беременности

Расположение доверительного интервала правее единицы свидетельствует о статистически значимом шансе развития плацента-ассоциированных осложнений. Доверительный интервал располагался правее единицы для следующих факторов:

анемии беременных, миомы матки, артериальной гипертензии и бесплодия. Данные факторы были учтены при дальнейшем проведении анализа влияния генетических маркеров.

3.2 Анализ влияния материнского генотипа на перинатальный исход

Нами оценена частота генотипов по 5 однонуклеотидным заменам: в гене урокиназы *PLAU* – C/T 3'-UTR rs4065, P141L rs2227564, в гене рецептора урокиназы *PLAUR* – T(-516)C rs344781, A659G (rs2302524), в гене ингибитора активатора плазминогена 1 типа *SERPINE-1* – (-675) 4G/5G (rs1799768). Всего обследовано 156 пациенток: 113 – контрольная группа с физиологическим протеканием беременности и родов, 43 – основная группа с плацента-ассоциированными осложнениями беременности.

Данные, полученные при сравнении групп по частоте генотипов и однофакторном анализе «генотип – ПАО» без учета традиционных факторов риска развития плацентарной недостаточности, суммированы в Таблице 15.

Таблица 15 – Частота генотипов полиморфизмов генов урокиназной системы у пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями (ПАО) и в контрольной группе

Модель наследования	Генотип	ПАО, % (n)	Контроль, % (n)	ОШ (95% ДИ)	p*	ИКА
C/T 3'-UTR rs4065 <i>PLAU</i>						
Кодоминантная	T/T	30,2 (13)	71,8 (79)	1,00	< 0,01	160,7
	C/T	44,2 (19)	24,6 (27)	4,28 (1,87–9,81)		
	C/C	25,6 (11)	3,6 (4)	16,71 (4,62–60,47)		
Доминантная	T/T	30,2 (13)	71,8 (79)	1,00	< 0,01	163,5
	C/T-C/C	69,8 (30)	28,2 (31)	5,88 (2,72–12,73)		
Рецессивная	T/T-C/T	75,6 (34)	96,3 (104)	1,00	< 0,01	170,9

Модель наследования	Гено-тип	ПАО, % (n)	Контроль, % (n)	ОШ (95% ДИ)	p*	ИКА
	C/C	25,6 (11)	3,6 (4)	9,11 (2,72–30,57)		
Сверх-доминантная	C/C-T/T	55,8 (24)	75,5 (83)	1,00	0,019	180,3
	C/T	44,2 (19)	24,6 (27)	2,43 (1,16–5,11)		
Лог-аддитивная	-	-	-	4,15 (2,32–7,42)	< 0,01	158,7
P141L rs2222456 <i>PLAU</i>						
Кодоминантная	C/C	65,1(28)	55,8 (63)	1,00	0,35	187,6
	C/T	27,9(12)	39,8(45)	0,6 (0,28–1,3)		
	T/T	7 (3)	4,4 (5)	1,35 (0,30–6,04)		
Доминантная	C/C	65,1(28)	55,8 (63)	1,00	0,29	192,7
	T/T-C/T	34,9(15)	44,2 (50)	0,68 (0,33–1,4)		
Рецессивная	C/C-C/T	93(40)	95,6 (108)	1,00	0,53	193,4
	T/T	7 (3)	4,4 (5)	1,62 (0,37–7,09)		
Сверх-доминантная	C/C-T/T	72,1(31)	60,2 (68)	1,00	0,16	191,8
	C/T	27,9(12)	39,8(4)	0,58 (0,27–1,26)		
Лог-аддитивная	-	-	-	0,82 (0,45–1,51)	0,52	193,4
T(-516)C rs344781 <i>PLAUR</i>						
Кодоминантная	T/T	41,9(18)	33,6 (38)	1,00	0,12	185,4
	C/T	48,8(21)	43,4 (49)	0,9 (0,42–1,93)		
	C/C	9,3(4)	23 (26)	0,32 (0,1–1,07)		
Доминантная	T/T	41,9(18)	33,6 (38)	1,00	0,34	192,0
	C/T-C/C	58,1(25)	66,4 (75)	0,70 (0,34–1,45)		

Модель наследования	Гено-тип	ПАО, % (n)	Контроль, % (n)	ОШ (95% ДИ)	p*	ИКА
Рецессивная	T/T-C/T	91,1(4)	77 (87)	1,00	0,04	189,6
	C/C	9,3 (4)	23 (26)	0,34 (0,11–1,05)		
Сверх-доминантная	C/C-T/T	51,2(22)	56,6(6)	1,00	0,54	187,3
	C/T	48,8(2)	43,4 (49)	1,25 (0,62–2,52)		
Лог-аддитивная	-	-	-	0,65 (0,39–1,08)	0,087	184,8
A659G rs2302524 <i>PLAUR</i>						
Кодоминантная	T/T	79,1(34)	51,3 (58)	1,00	< 0,01	183,7
	C/T	18,6 (8)	38,9 (44)	0,31 (0,13–0,74)		
	C/C	2,3 (1)	9,7 (11)	0,16 (0,02–1,25)		
Доминантная	T/T	79,1(34)	51,3 (58)	1,00	< 0,01	183,3
	C/T-C/C	20,9 (9)	48,7 (55)	0,28 (0,12–0,64)		
Рецессивная	T/T-C/T	97,7(42)	90,3 (102)	1,00	0,085	184,7
	C/C	2,3 (1)	9,7 (11)	0,22 (0,03–1,76)		
Сверх-доминантная	C/C-T/T	81,4(35)	61,1 (69)	1,00	< 0,01	184
	C/T	18,6 (8)	38,9 (44)	0,36 (0,15–0,84)		
Лог-аддитивная	-	-	-	0,34 (0,16–0,69)	< 0,01	183
(-675) 4G/5G rs1799768 <i>SERPINE-1</i>						
Кодоминантная	4G/4G	28,6(12)	33 (37)	1,00	0,5	185,1
	5G/4G	52,4(22)	55,4 (62)	1,09 (0,49–2,47)		
	5G/5G	19,1(8)	11,6 (13)	1,9 (0,63–5,67)		
Доминантная	4G/4G	28,6(12)	33 (37)	1,00	0,59	184,2

Модель наследования	Гено-тип	ПАО, % (n)	Контроль, % (n)	ОШ (95% ДИ)	p*	ИКА
Доминантная	5G/4G - 5G/5G	71,4 (30)	67 (75)	1,23 (0,57-2,68)	0,59	184,2
Рецессивная	5G/4G - 4G/4G	81 (34)	88,4 (99)	1,00	0,24	183,1
	5G/5G	19,1 (8)	11,6 (13)	1,79 (0,68–4,69)		
Сверх-доминантная	4G/4G - 5G/5G	47,6(20)	44,6 (50)	1,00	0,74	184,4
	5G/4G	52,4(22)	55,5 (61)	0,88 (0,44–1,81)		
Лог-аддитивная	-	-	-	1,46 (0,85–2,51)	0,31	183,4
Примечание Значимыми являются результаты, для которых $p < 0,01$, так как количество независимых статистических тестов (количество исследуемых полиморфных локусов) равно 5.						

В результате проведенного анализа выявлена ассоциация полиморфизма гена урокиназы *PLAU* rs4065 с развитием плацента-ассоциированных осложнений: у пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями беременности достоверно чаще встречается аллель С. Неблагоприятное прогностическое влияние оказывает не только СС-генотип, но и СТ-генотип: СС-генотип встречается у 25,6% пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями беременности и только у 3,6% пациенток с физиологическим течением беременности и родов, гетерозиготное СТ-носительство встречается в группе ПАО у 44,2% и у 24,6% – в контрольной группе (Рисунок 5). Моделью наследования, наиболее соответствующей полученным результатам, послужил лог-аддитивный вариант, согласно которому происходит увеличение риска развития плацента-ассоциированных осложнений в 4,15 раза.

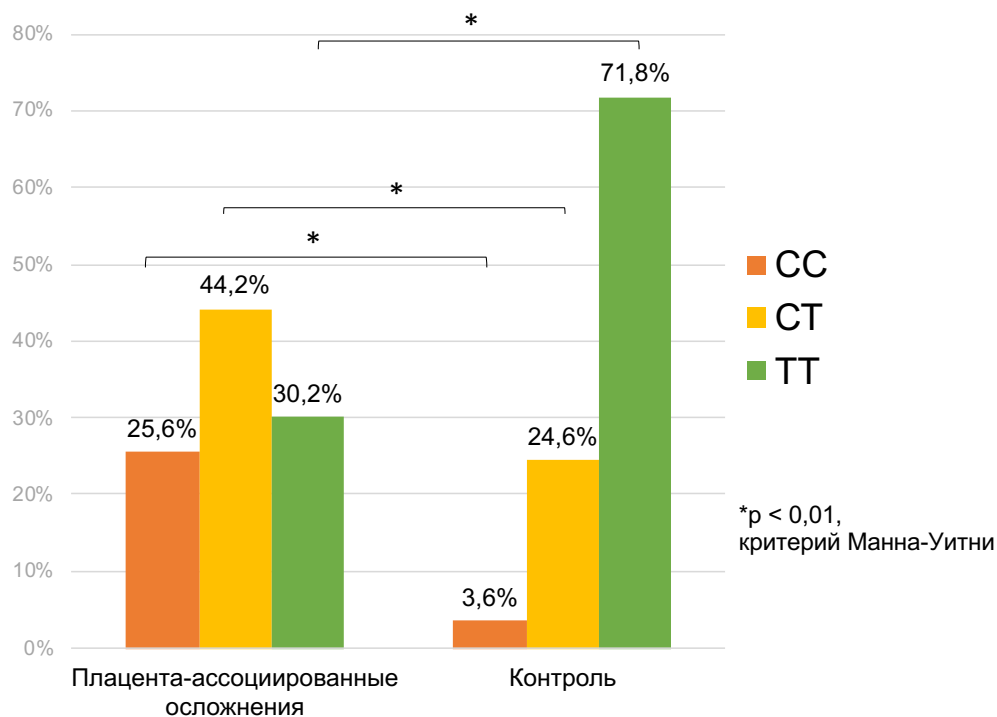


Рисунок 5 – Частота генотипов полиморфизма C/T 3'-UTR *PLAU*

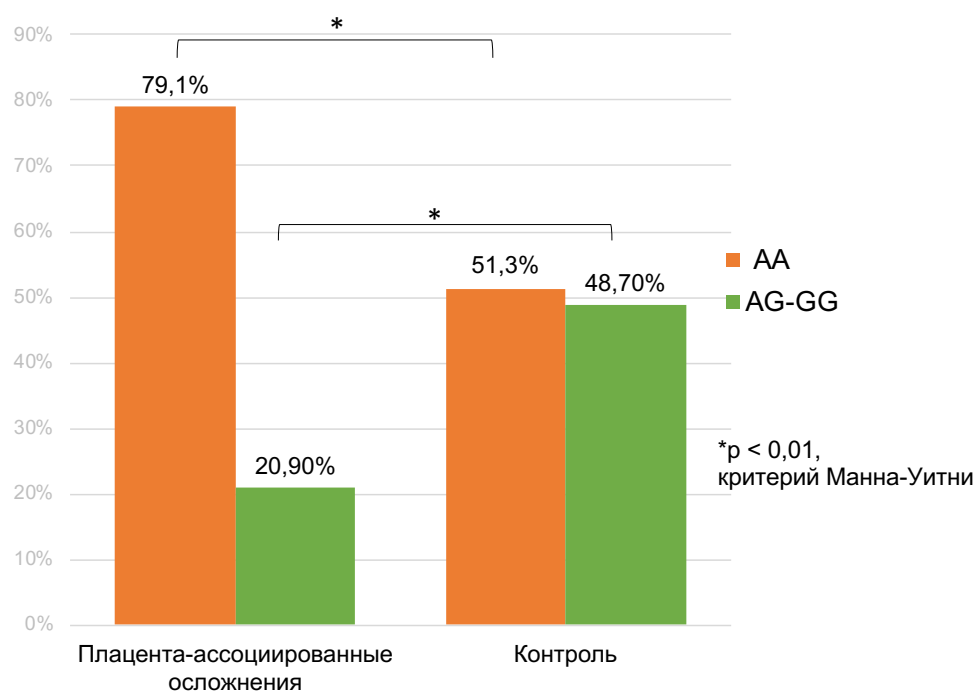


Рисунок 6 – Частота генотипов полиморфизма A659G *PLAUR*

Наличие замены А на G в 659 позиции гена *PLAUR* rs2302524 связано с уменьшением риска развития плацента-ассоциированных осложнений (Рисунок 6). Моделью наследования, наиболее соответствующей полученным результатам,

послужил лог-аддитивный вариант: G/G-A/G-генотип ассоциирован с уменьшением риска развития плацента-ассоциированных осложнений в 2,94 раза.

Приведенные в Таблице 15 данные свидетельствуют о том, что исследуемые группы не различались по частоте генотипов изученного SNP гена *SERPINE-1*, rs2222456 гена *PLAU*, rs344781 гена *PLAUR*.

Для дополнительной оценки роли генетических маркеров чья значимость была обнаружена при однофакторном анализе, произведено сравнение групп пациенток с учетом традиционных факторов риска – наличия миома матки и анемии, чье влияние подтверждено на этапе анализа клинических данных. При введении в модель возрастного показателя и поправки на наличие анемии беременных у матери статистически значимые различия были подтверждены для rs4065 гена *PLAU* и rs2302524 гена *PLAUR* (Таблица 16).

Таблица 16 – Частота генотипов полиморфизмов генов урокиназной системы у пациенток с ПАО и в контрольной группе (с поправкой на традиционные факторы риска)

Модель наследования	Генотип	ПАО, % (n)	Контроль, % (n)	ОШ (95% ДИ)	p*	ИКА
C/T 3'-UTR rs4065 <i>PLAU</i>						
Кодоминантная	T/T	30,2(13)	71,8 (79)	1,00	< 0,01	151,8
	C/T	44,2(19)	24,6 (27)	4,35 (1,79–10,60)		
	C/C	25,6(11)	3,6 (4)	13,98 (3,61–54,15)		
Доминантная	T/T	30,2(13)	71,8 (79)	1,00	< 0,01	152,9
	C/T-C/C	69,8 (30)	28,2 (31)	5,75 (2,5–13,22)		
Рецессивная	T/T-C/T	75,6(34)	96,3 (104)	1,00	< 0,01	160.8
	C/C	25,6 (11)	3,6 (4)	7,48 (2,1–26,61)		
Сверхдоминантная	C/C-T/T	55,8(24)	75,5 (83)	1,00	0,022	166,5

Модель наследования	Гено-тип	ПАО, % (n)	Контроль, % (n)	ОШ (95% ДИ)	p*	ИКА
	C/T	44,2(19)	24,6 (27)	2,55 (1,14–5,7)		
Лог-аддитивная	-	-	-	3,92 (2,11–7,29)	< 0,01	149,9
A659G rs2302524 PLAUR						
Кодоминантная	T/T	79,1(34)	51,8 (57)	1,00	< 0,01	164,8
	C/T	18,6 (8)	39,1 (43)	0,3 (0,12–0,76)		
	C/C	2,3 (1)	9,1 (10)	0,13 (0,01 - 1,14)		
Доминантная	T/T	79,1(34)	51,8 (57)	1,00	< 0,01	163,4
	C/T-C/C	20,9 (9)	48,2 (53)	0,26 (0,11–0,64)		
Рецессивная	T/T-C/T	97,7(42)	90,9 (100)	1,00	0,068	170
	C/C	2,3 (1)	9,1 (10)	0,19 (0,02–1,61)		
Сверх-доминантная	C/C-T/T	81,4(35)	60,9 (67)	1,00	0,019	167,9
	C/T	18,6 (8)	39,1 (43)	0,36 (0,14–0,89)		
Лог-аддитивная	-	-	-	0,32 (0,15–0,69)	< 0,01	162,9
Примечание – значимыми являются результаты, для которых $p < 0,01$, так как количество независимых статистических тестов (количество исследуемых полиморфных локусов) равно 5.						

При проведении многофакторного анализа для 5 исследуемых вариантных аллелей подтверждена значимость вклада генетических полиморфизмов матери в развитие плацента-ассоциированных осложнений. Характеристика полученной модели представлена в Таблице 17.

Таблица 17 – Описание модели многофакторного анализа влияния материнских полиморфизмов на развитие ПАО

Параметр модели		Значение регрессионного коэффициента	p
Свободный член		19,62	0,07
Независимый признак	rs4065	-0,16	0,0001
	rs344781	-0,016	0,12
	rs2302524	0,08	0,184
	rs2227564	-0,06	0,296
	rs1799768	0,02	0,07
Примечание – p для модели в целом = 0,0011			

Как видно из Таблицы 17, при проведении многофакторного анализа, учитывающего совместное влияние генетических полиморфизмов матери, в развитие ПАО вносит вклад наличие полиморфизм rs4065 гена *PLAU*. Максимальное по модулю значение регрессионного коэффициента генотипа по rs4065 также свидетельствует о его доминирующем влиянии среди материнских генетических маркеров.

Значимость генотипа rs4065 гена *PLAU* как фактора риска также подтверждена при сравнении пациенток с ЗРП по частоте носительства различных вариантов данного полиморфизма. Наличие генотипа ТТ 3'-UTR rs4065 в гене *PLAU* у матери сопровождается снижением риска развития ЗРП в 2,44 раза (95% ДИ 1,37-4,34, $p=0,0025$ для лог-аддитивной модели наследования). Также выявлена корреляционная связь между генотипом и сроком развития задержки роста (метод Пирсона, $\rho = -0,64$, $p < 0,05$): генотипу ТТ соответствует более позднее начало отставания фетометрических показателей от гестационной нормы (Рисунок 7).

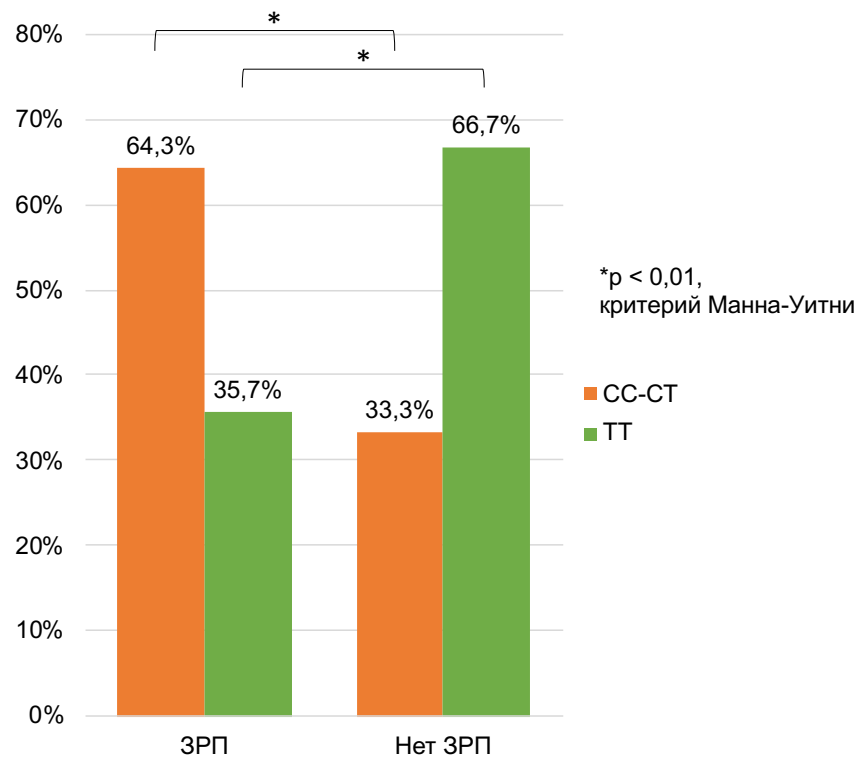


Рисунок 7 – Форма ЗРП и генотип C/T 3'-UTR rs4065 гена *PLAU*

Аналогичные данные получены для прогнозирования развития преэклампсии: замена C/T 3'-UTR гена *PLAU* rs4065 снижает риск развития преэклампсии в 2,15 раза (95% ДИ 1,03–4,49, $p = 0,045$, для аддитивной модели наследования). Выявлена корреляционная связь между генотипом и сроком манифестации преэклампсии ($\rho = -0,3$, $p < 0,05$) (Рисунок 8): свое протективное влияние также подтвердил генотип TT.

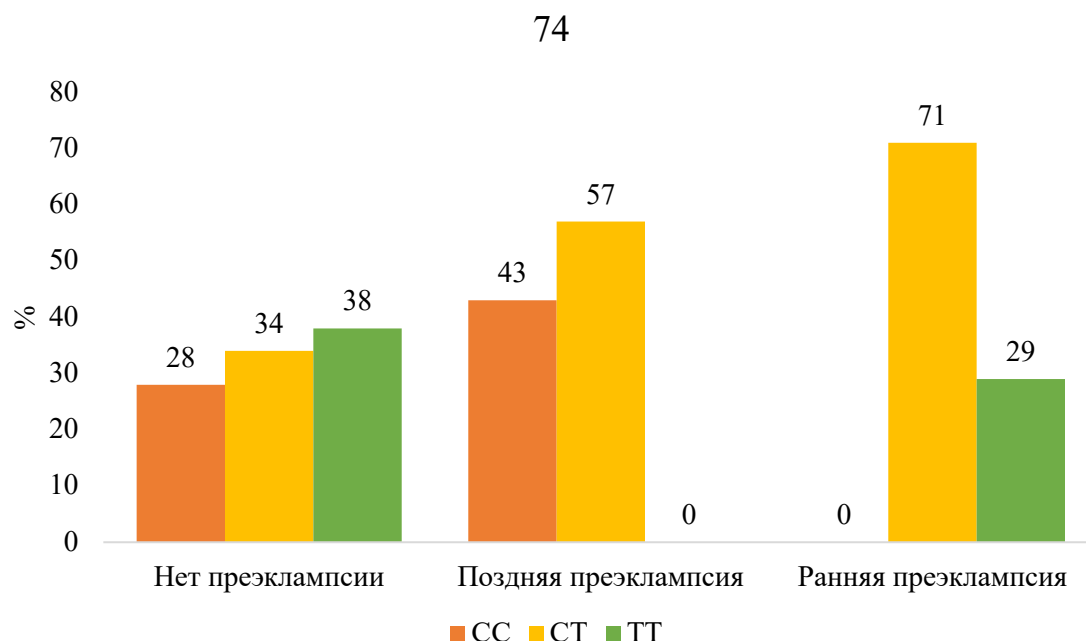


Рисунок 8 – Срок манифестации преэклампсии и генотип C/T 3'-UTR rs4065 гена *PLAU*

В качестве комплексного количественного показателя, характеризующего перинатальный исход и косвенно позволяющего судить о качестве кровообращения в системе мать-плацента-плод, можно рассматривать вес новорождённого при рождении. При условии своевременных родов масса новорожденных значительно различается в зависимости от генотипа по rs4065 C/T 3'-UTR гена *PLAU* (критерий Краскела-Уоллиса, $p = 0,0053$): при наличии генотипа TT у матери масса новорожденного достоверно превышает таковую при CC и CT генотипах. Зависимость веса новорожденного от генотипа представлена на Рисунке 9.

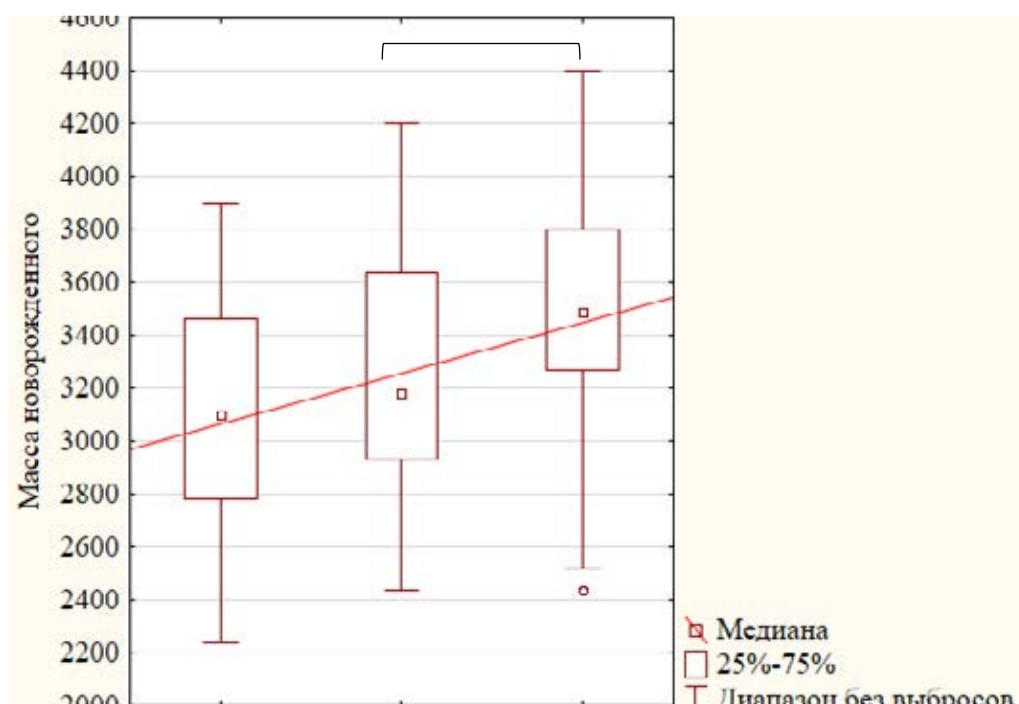


Рисунок 9 – Зависимость массы новорожденного от генотипа по rs4065 C/T 3'-UTR гена *PLAU*

Протективная роль в плане развития ЗРП также была доказана для замены аденина на гуанин rs2302524 *PLAUR*. Наличие генотипов GG-GA снижает риск развития ЗРП в 3,03 раза (ОШ 0,33 95% ДИ 0,13–0,87, $p = 0,016$, для доминантной модели наследования). Влияния данного SNP на развитие преэклампсии выявлено не было.

Как было сказано ранее, среди пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями беременности 93,02% относились к группе высокого риска в связи с наличием в анамнезе ранней и/или тяжелой преэклампсии, ЗРП. В течение беременности, исход которой учитывался в ходе настоящего исследования, данным пациенткам была назначена ацетилсалициловая кислота в низких дозах с целью профилактики. Из них 30% имели генотип ТТ *PLAU* rs4065, 70% – генотип СТ-СС. Эффективность профилактики с использованием ацетилсалициловой кислоты зависела от генотипа: профилактика оказалось эффективной у 66% пациенток с генотипом ТТ и у 25% – с генотипом СС-СТ ($p < 0,05$). Таким образом, генотип СТ-

СС *PLAU* rs4065 не только увеличивает риск развития плацента-ассоциированных осложнений беременности, но и снижает вероятность того, что профилактические мероприятия будут эффективными.

3.3 Анализ влияния генотипа плода на перинатальный исход

Для определения влияния генотипа плода произведено исследование образцов, полученных от 39 новорожденных, антенатальный период которых был отягощен плацента-ассоциированными осложнениями беременности матери, и 39 новорожденных с физиологическим течением беременности матери. Генотипирование также проводилось по 5 однонуклеотидным заменам: в гене урокиназы *PLAU* – C/T 3'-UTR rs4065, P141L rs2227564, в гене ее рецептора *PLAUR* – T(-516)C rs344781, A659G rs2302524, в гене ингибитора активатора плазминогена 1 типа *SERPINE-1* – (-675) 4G/5G rs1799768. Данные, полученные при сравнении по частоте генотипов основной и контрольной группе, представлены в Таблице 18.

Таблица 18 – Частота генотипов полиморфизмов генов урокиназной системы у новорожденных детей пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями и в контрольной группе

Модель наследования	Генотип	ПАО, % (n)	Контроль, % (n)	ОШ (95% ДИ)	p	ИКА
<i>C/T 3'-UTR rs4065 PLAU</i>						
Кодоминантная	C/C	35,9(14)	20,5(8)	1,00	0,051	108,2
	C/T	53,9(21)	48,7 (19)	0,63 (0,22–1,84)		
	T/T	10,3 (4)	30,8 (12)	0,19 (0,05–0,79)		
Доминантная	C/C	35,9(14)	20,5(8)	1,00	0,13	109,8
	C/T-T/T	64,1 (25)	79,5 (31)	0,46 (0,17–1,27)		
Рецессивная	C/T-C/C	89,7(35)	69,2 (27)	1,00	0,022	106,9

Модель наследования	Генотип	ПАО, % (n)	Контроль, % (n)	ОШ (95% ДИ)	p	ИКА
	T/T	10,3 (4)	30,8 (12)	0,26 (0,07–0,89)		
Сверх-доминантная	C/C-T/T	46,1(18)	51,3 (20)	1,00	0,65	111,9
	C/T	53,9(21)	48,7 (19)	1,23 (0,50–2,99)		
Лог-аддитивная	-	-	-	0,46 (0,23–0,91)	0,021	106,8
P141L rs2222456 <i>PLAU</i>						
Кодоминантная	C/C	56,4(22)	56,4	1,00	0,72	113,5
	C/T	30,8(12)	35,9 (14)	0,86 (0,32–2,26)		
	T/T	12,8 (5)	7,7 (3)	1,67 (0,35–7,84)		
Доминантная	C/C	56,4(22)	56,4 (22)	1,00	-	112,1
	T/T-C/T	43,6 (17)	43,6 (17)	1,00 (0,41–2,45)		
Рецессивная	C/C-C/T	87,2(34)	92,3 (36)	1,00	0,45	111,6
	T/T	12,8 (5)	7,7 (3)	1,76 (0,39–7,96)		
Сверх-доминантная	C/C-T/T	69,2(27)	64,1 (25)	1,00	0,63	111,9
	C/T	30,8(12)	35,9 (14)	0,79 (0,31–2,04)		
Лог-аддитивная	-	-	-	1,12 (0,58–2,17)	0,74	116,7
T(-516)C rs344781 <i>PLAUR</i>						
Кодоминантная	T/T	46,1(18)	41 (16)	1,00	0,01	105
	T/C	28,2(11)	53,9 (21)	0,47 (0,17–1,26)		
	C/C	25,6(10)	5,1 (2)	4,44 (0,84–23,40)		
Доминантная	T/T	46,1(18)	41 (16)	1,00	0,65	111,9
	T/C-C/C	53,9(21)	59 (23)	0,81 (0,33–1,99)		
Рецессивная	T/T-T/C	74,4(29)	94,9 (37)	1,00	<0,01	105,3

Модель наследования	Генотип	ПАО, % (n)	Контроль, % (n)	ОШ (95% ДИ)	p	ИКА
	C/C	25,6(10)	5,1 (2)	6,38 (1,30–31,41)		
Сверх-доминантная	C/C-T/T	71,8(28)	46,1 (18)	1,00	0,02	106,8
	T/C	28,2(11)	53,9 (21)	0,34 (0,13–0,86)		
Лог-аддитивная	-	-	-	1,36 (0,72–2,54)	0,34	111,2
A659G rs2302524 <i>PLAUR</i>						
Кодоминантная	T/T	71,8(28)	69,2 (27)	1,00	0,5	112,7
	C/T	28,2(11)	28,2 (11)	0,96 (0,36–2,59)		
	C/C	0 (0)	2,6 (1)	-		
Доминантная	T/T	71,8(28)	69,2 (27)	1,00	0,8	112,1
	C/T-C/C	28,2(11)	30,8 (12)	0,88 (0,33–2,34)		
Рецессивная	T/T-C/T	95,6(43)	91 (101)	1,00	0,24	110,7
	C/C	0 (0)	2,6 (1)	-		
Сверх-доминантная	C/C-T/T	71,(28)	71,8 (28)	1,00	1	112,1
	C/T	28,2 (11)	28,2 (11)	1,00 (0,37–2,68)		
Лог-аддитивная	-	-	-	0,81 (0,32–2,01)	0,64	111,9
(-675) 4G/5G rs1799768 <i>SERPINE-1</i>						
Кодоминантная	4G/4G	25,6(10)	27,8 (10)	1,00	0,98	109,8
	5G/4G	53,9 (21)	52,8 (19)	1,11 (0,38–3,24)		
	5G/5G	20,5 (8)	19,4 (7)	1,14 (0,30–4,37)		
Доминантная	4G/4G	25,6(10)	27,8 (10)	1,00	0,83	107,8
	5G/4G-5G/5G	74,4(29)	72,2 (26)	1,12 (0,40–3,11)		
Рецессивная	5G/4G-4G/4G	79,5(31)	80,6 (29)	1,00	0,91	107,8

Продолжение таблицы 18

Модель наследования	Генотип	ПАО, % (n)	Контроль, % (n)	ОШ (95% ДИ)	p	ИКА
	5G/5G	20,5 (8)	19,4 (7)	1,07 (0,34–3,32)		
Сверх-доминантная	4G/4G-5G/5G	46,1(18)	47,2 (17)	1,00	0,93	107,8
	5G/4G	53,9(21)	52,8 (19)	1,04 (0,42–2,59)		
Лог-аддитивная	-	-	-	1,07 (0,55–2,09)	0,84	107,8

Как и в случае генотипа матери, выявлен протективный эффект от замены аллели С на аллель Т в 3'-UTR гена *PLAU* (rs4065) у плода. Наличие генотипа ТТ сопряжено со значительным снижением риска развития плацента-ассоциированных осложнений (Рисунок 10). Однако, стоит указать, что статистическая значимость выявленной ассоциации нивелируется при применении поправки Бонферрони, то есть при p - уровне значимости менее 0,01.

Исходя из данных Таблицы 18, в отличие от материнского генотипа, не удалось выявить ассоциацию между генотипом плода по A659G rs2302524 гена *PLAUR* и развитием плацента-ассоциированных осложнений беременности. Однако при сопоставлении частот генотипов в группе ПАО и контрольной выявлена ассоциация между плацента-ассоциированными осложнениями и заменой Т на С в позиции -516 в гене *PLAUR* (rs344781) (Таблица 18, Рисунок 11): аллель С оказывает негативное влияние и способствует развитию плацента-ассоциированных осложнений.

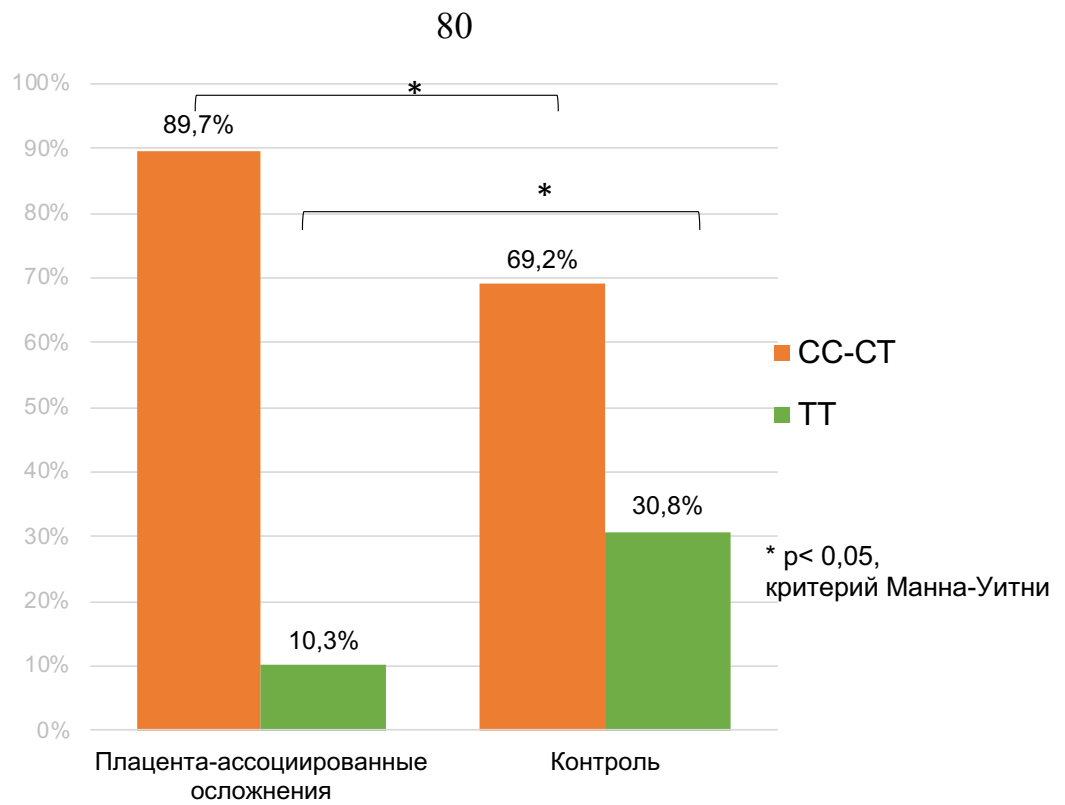


Рисунок 10 – Частота генотипов полиморфизма C/T 3'-UTR rs4065 *PLAU* у новорожденных

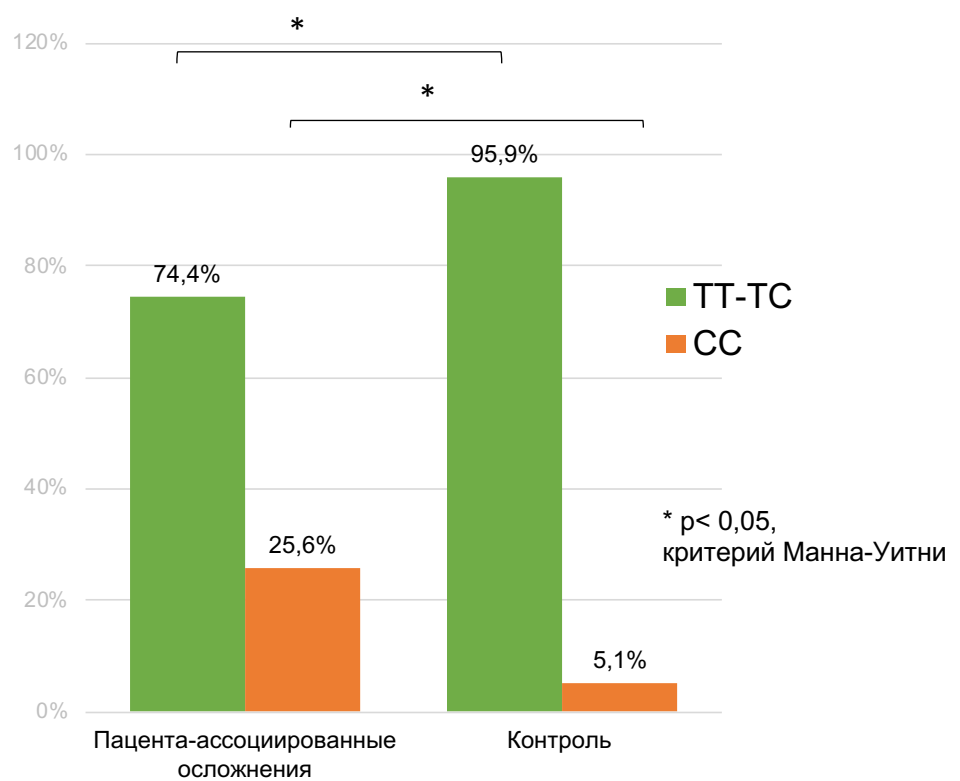


Рисунок 11 – Частота генотипов полиморфизма T(-516)C rs344781 *PLAUI* у новорожденных

Так как для выборки с изученным генотипом плода при анализе клинических данных между основной и контрольной группой не было выявлено различий в частоте традиционных факторов риска развития плацента-ассоциированных осложнений, роль вышеуказанных генетических полиморфизмов в развитии плацента-ассоциированных осложнений беременности не вызывает сомнения.

При проведении многофакторного анализа для 5 исследуемых вариантных аллелей подтверждена значимость вклада генетических полиморфизмов плода в развитие плацента-ассоциированных осложнений. Характеристика полученной модели представлена в Таблице 19.

Таблица 19 – Описание модели многофакторного анализа влияния полиморфизмов плода на развитие плацента-ассоциированных осложнений беременности

Параметр модели		Значение регрессионного коэффициента	p
Свободный член		-7,47	0,72
Независимый признак	rs4065	-0,15	0,05
	rs344781	0,101	0,22
	rs2302524	-0,103	0,42
	rs2227564	-0,07	0,31
	rs1799768	-0,002	0,97
Примечание – p для модели в целом = 0,04			

Как видно из Таблицы 19 при проведении многофакторного анализа, учитывающего совместное влияние генетических полиморфизмов плода, в развитие плацента-ассоциированных осложнений вносит вклад наличие вариантов rs4065 гена PLAU. Максимальное по модулю значение регрессионного коэффициента генотипа по rs4065 свидетельствует о его доминирующем влиянии среди генетических маркеров плода.

3.4 Анализ сочетанного влияния генотипов матери и плода на перинатальный исход

Для оценки единовременного влияния SNP матери и плода проведен анализ риска возникновения плацента-ассоциированных осложнений в зависимости от генотипа по каждому из 5 полиморфизмов. Описание модели, полученной при проведении многофакторного анализа, приведено в Таблице 20.

Таблица 20 – Описание модели многофакторного анализа влияния полиморфизмов матери и плода на развитие плацента-ассоциированных осложнений

Параметр модели		Значение регрессионного коэффициента	p
Свободный член		-7,2	0,72
Мутации матери	rs4065	-0,14	0,05
	rs344781	0,1	0,22
	rs2302524	-0,104	0,42
	rs2227564	-0,07	0,31
	rs1799768	-0,002	0,97
Мутации плода	rs4065	-0,16	0,05
	rs344781	-0,017	0,12
	rs2302524	0,9	0,184
	rs2227564	-0,7	0,296
	rs1799768	0,23	0,07
Примечание – p для модели в целом = 0,044			

При учете как материнских, так и плодовых полиморфизмов, подтверждено протективное влияние замены C/T 3'-UTR *PLAU* и у матери, у плода. Максимальное по модулю значение регрессионного коэффициента соответствует генотипу плода по rs4065, что свидетельствует о его доминирующем влиянии. Таким образом, более значимым фактором развития плацента-ассоциированных осложнений является генотип плода, что логично, так как генотип плаценты в большинстве случаев совпадает с ним. Однако, так как генотип матери косвенно определяет

генотип плода, генотипирование матери может рассматриваться как метод оценки фактора развития плацента-ассоциированных осложнений.

3.5 Иммуногистохимическая оценка экспрессии белков урокиназной системы в плацентарной ткани при плацента-ассоциированных осложнениях и в норме

При иммуногистохимическом окрашивании ткани плаценты при помощи антител к урокиназе обращала на себя внимание выраженная экспрессия урокиназы клетками синцитиотрофобласта. Интенсивность окрашивания клеток синцитиотрофобласта превосходила таковую клеток эндотелия сосудов ворсин. Также, по сравнению с клетками синцитиотрофобласта, экспрессия урокиназы в строме ворсин практически отсутствовала. При окрашивании антителами к урокиназному рецептору отличия между интенсивностью окрашивания синцитиотрофобласта и стромы были менее выраженными, а строма и капилляры ворсин были окрашены равномерно (Рисунок 12).

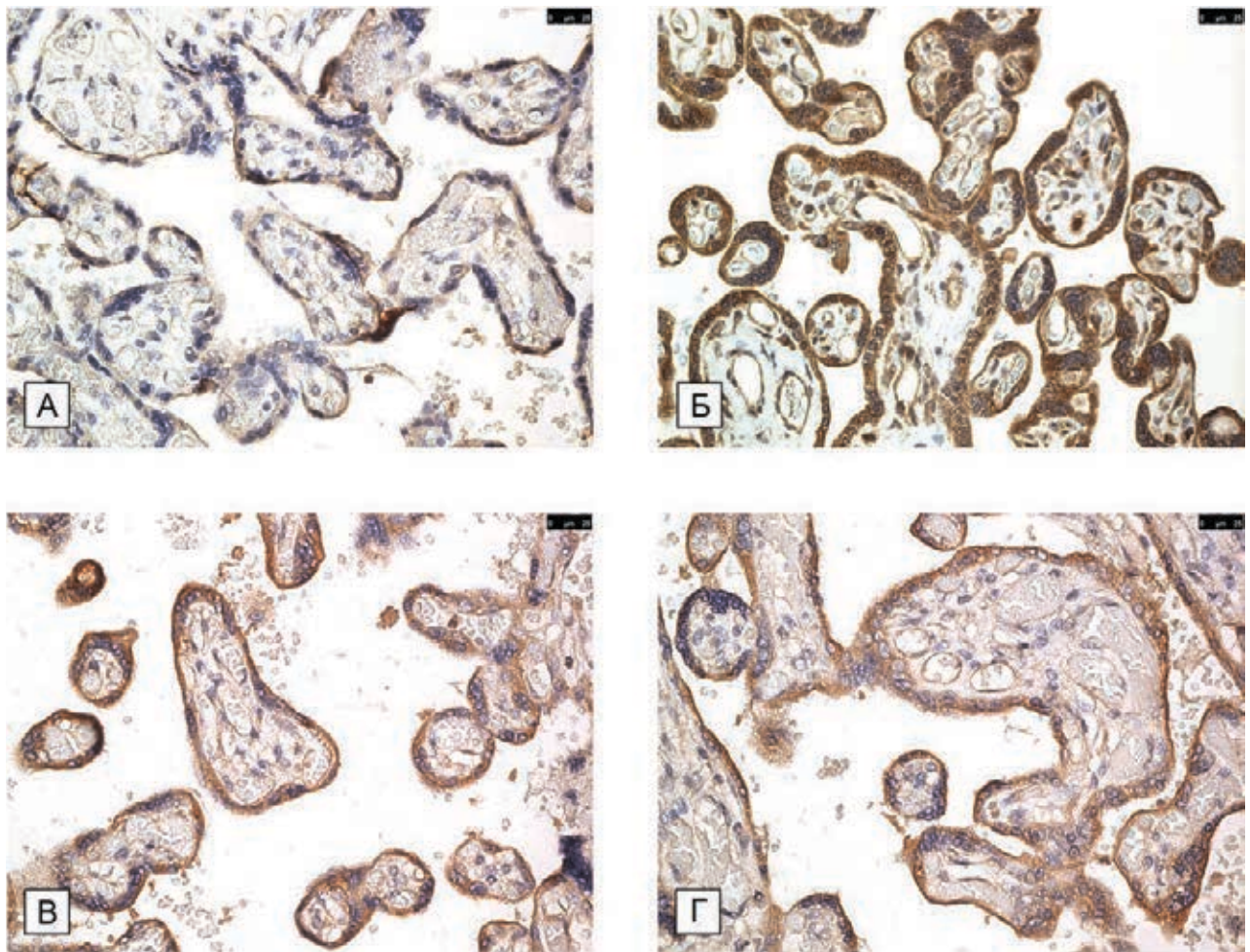


Рисунок 12 – Экспрессия uPA (А, Б) и uPAR (В, Г) ворсинами хориона в контрольной группе (Б, Г) и группе ПАО (А, В) при иммуногистохимическом выявлении. Масштабный отрезок – 25 мкм.

В норме и при плацента-ассоциированных осложнениях отмечено интенсивное окрашивание синцитиотрофобласта антителами к uPA и uPAR (Рисунок 12, А–Г). В ткани плаценты при плацента-ассоциированных осложнениях (Рисунок 12, А) выявлено менее интенсивное uPA-окрашивание синцитиотрофобласта по сравнению с контрольной группой (Рисунок 12, Б). Разницы в экспрессии uPAR при ее иммуногистохимической оценке между группами выявлено не было (Рисунок 12, В, Г).

При количественной оценке интенсивности экспрессии урокиназы и ее рецептора в плацентарной ткани установлено, что при плацента-ассоциированных осложнениях наблюдается более низкий уровень экспрессии урокиназы, чем при

нормально протекающей беременности (Таблица 21). Интенсивность иммуногистохимической экспрессии рецептора урокиназы в норме и при плацента-ассоциированных осложнениях была схожей (Таблица 21). Выявленные феномены отображают микрофотографии, представленные на Рисунке 12, и количественно подтверждают диаграммы размахов, изображенные на Рисунке 13.

Таблица 21 – Интенсивность экспрессии uPA и uPAR в ткани плаценты

	Медиана (95%ДИ)		p
Экспрессия uPA	112,83(99,73–120,68)	4,64(116,8–132,49)	0,013

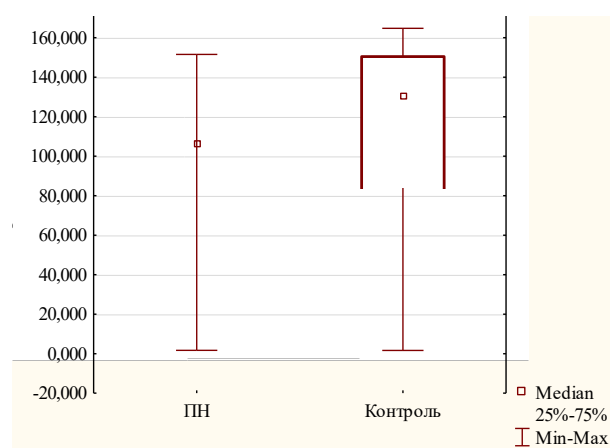
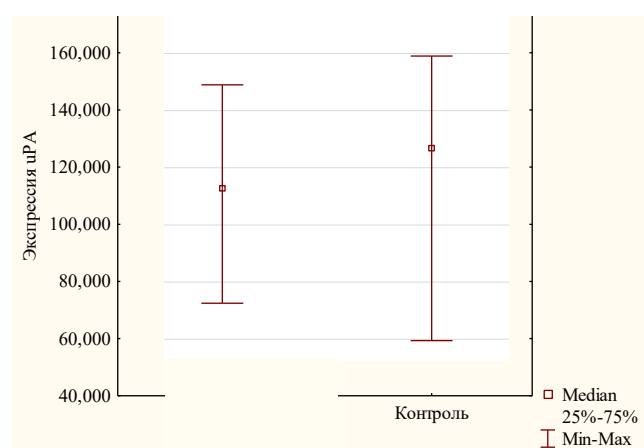
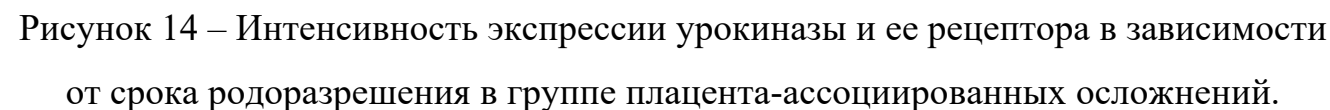


Рисунок 13 – Интенсивность экспрессии рецептора урокиназы в ткани плаценты при плацента-ассоциированных осложнениях (ПАО) и в норме.

Как было указано ранее, роды всех пациенток группы ПАО, для которых проводили гистологическое исследование плаценты, происходили на сроке 28 недель и более (4 пациентки – до 34-й недели, 12 пациенток - после 34-й недели), у пациенток контрольной группы – на доношенном сроке. Корреляции между интенсивностью экспрессии урокиназы в образцах ткани плаценты при плацента-ассоциированных осложнениях и сроком родоразрешения выявлено не было ($p =$



Таким образом, выявленные различия в уровне экспрессии белков между контрольной группой и группой ПАО не могут быть объяснены различиями в сроке родоразрешения, и, наиболее вероятно, косвенно или напрямую, связаны с наличием плацента-ассоциированных осложнений.

3.6 Влияние генетических полиморфизмов на строение плаценты и экспрессию урокиназы и ее рецептора в плацентарной ткани

С целью анализа генетической предрасположенности к патологическому развитию ворсинчатого древа, как основы патогенеза плацента-ассоциированных осложнений, на первом этапе были исследованы микроскопические характеристики ткани плаценты в группе ПАО и контрольной группы.

На втором этапе результаты анализа данных микроскопии соотносили с данными генетического анализа путем оценки медиан и доверительных интервалов

микроморфометрических параметров (площадь ворсин, площадь межворсинчатого пространства, удельная площади сосудов и сосудисто-стромальное соотношение) в зависимости от материнского генотипа и генотипа плода.

При гистологическом исследовании образцов плацент в группе ПАО выявлено разнообразие морфологических феноменов, что было обусловлено различиями в форме преэклампсии (ранняя или поздняя) и ЗРП (ранняя или поздняя, форма с сохраненным конечным диастолическим кровотоком в артерии пуповины или с нулевым или реверсным кровотоком), в сроке родоразрешения. В большинстве наблюдений присутствовали выраженные компенсаторно-приспособительные реакции ткани плаценты, возникающие в ответ на патологических кровотоков в маточно-плацентарном компартменте: ангиоматоз ворсин, большое количество синцитиальных почек, объединение ворсин в группы, сужение межворсинчатого пространства. Реже строение плаценты на микроуровне характеризовалось преобладанием неразветвляющего ангиогенеза в виде дефицита терминальных ворсин, их малого диаметра, ворсины с узкими, центрально расположенными капиллярами и отсутствием синцитиальных почек. Все морфологические феномены, выявленные при гистологическом исследовании ткани плаценты в группе ПАО, относились к сосудистым процессам согласно международной классификации поражений плаценты, разработанной Амстердамской рабочей группой по изучению плаценты. В контрольной группе гистологическая картина соответствовала нормальному развитию ворсинчатого дерева.

Вышеописанные закономерности, выявленные при гистологическом исследовании, удалось подтвердить при количественной автоматизированной оценке площади ворсин и межворсинчатого пространства (Рисунок 15, Таблица 22). В группе ПАО площадь ворсин была достоверно выше таковой в образцах плацент группы контроля (медиана (95%ДИ), ПАО vs. контроль – 53,18% (50,47; 55,89) vs. 45,79% (42,96; 57,24), $p = 0,0007$, критерий Манна-Уитни), что объясняется нарушением формирования ворсинчатого дерева плаценты по типу избыточного разветвляющего ангиогенеза, развивающегося в ответ на гипоксию

при плацента-ассоциированных осложнениях. Значения площади межворсинчатого пространства, соответственно, были выше в ткани плацент контрольной группы (медиана (95%ДИ), ПАО vs. контроль – 46,37 (44,11–49,53) vs. 54,21 (50,9–54,82), $p = 0,0007$, критерий Манна-Уитни).

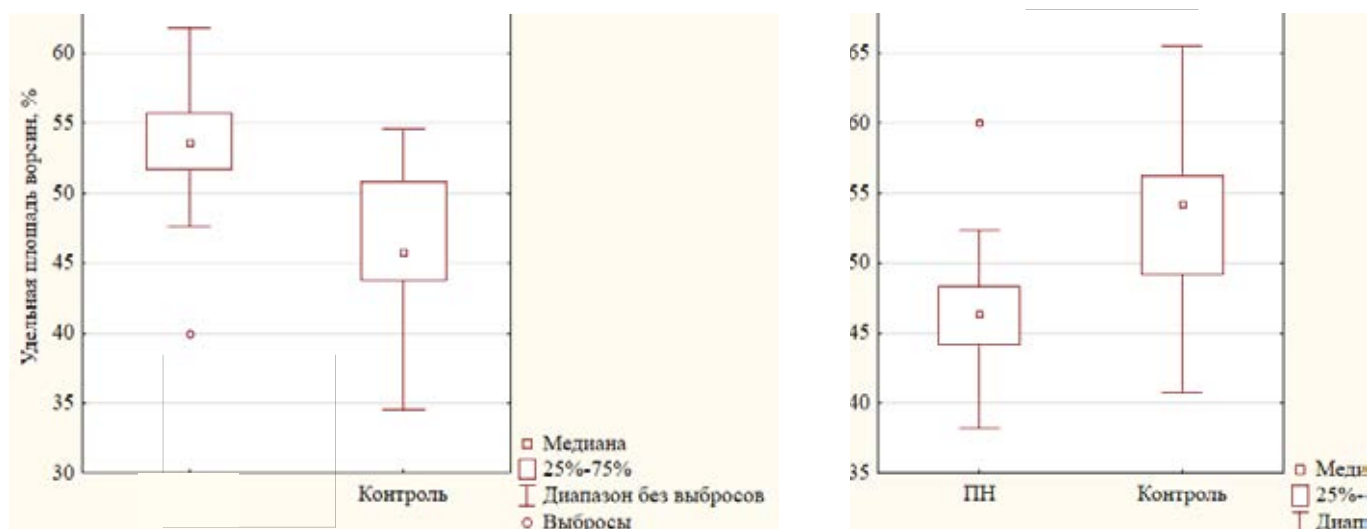


Рисунок 15 – Площадь ворсин и межворсинчатого пространства в норме и при плацента-ассоциированных осложнениях (ПАО)

Таблица 22 – Морфометрические характеристики ткани плаценты

Удельная площадь ворсин	53,18% (50,47–55,89)	49% (42,96–57,24)	,0007
Удельная площадь межворсинчатого пространства	46,37 (44,11–49,53)	54,21 (50,9–54,82)	,0007
Сосудисто-стромальное	0,2 (0,18–0,23)	0,18 (0,17–0,22)	0,44
Примечание – сравнение с использованием критерия Манна-Уитни			

При оценке сосудистого русла в терминальных ворсинах плаценты достоверных различий между группой ПАО и контрольной по удельной площади сосудов ворсин выявлено не было (медиана, % (95%ДИ), ПАО vs. контроль - 16,9 (15,03–19,6) vs. 15,21 (14,4–8,6), $p = 0,54$, критерий Манна-Уитни), как и при исследовании соотношения стромы и сосудистого компонента ворсин по сосудисто-стромальному соотношению (медиана,% (95%ДИ), ПАО vs. контроль - 0,2 (0,18–0,23) vs. 0,18 (0,17–0,22), $p = 0,44$, критерий Манна-Уитни) (Таблица 22, Рисунок 16).

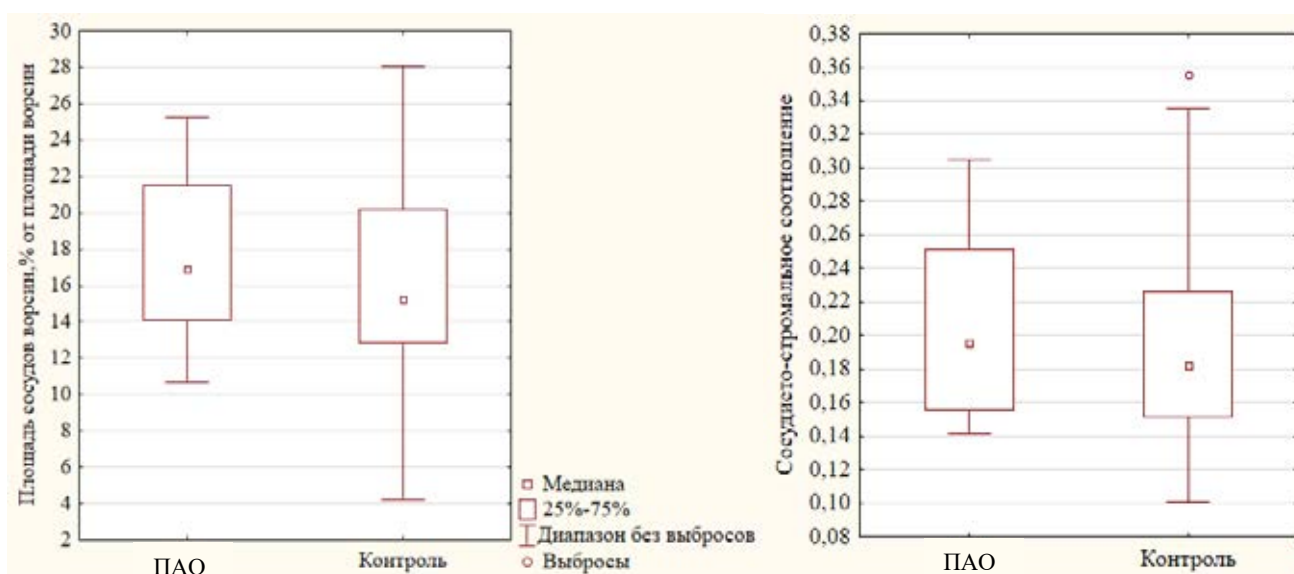


Рисунок 16 – Удельная площадь сосудов и сосудисто-стромальное соотношение в группе плацента-ассоциированных осложнений (ПАО) и контрольной группе

Ассоциаций интенсивности экспрессии урокиназы с генотипом плода по С/Т 3'-UTR rs4065 и Р141L rs2227564 гена *PLAU* выявлено не было. Также не было обнаружено влияния полиморфизмов гена *PLAUR* rs344781 Т(-516)С и rs2302524 А659G на экспрессию урокиназного рецептора в плаценте (Таблица 23). Таким образом, вышеописанные изменения экспрессии урокиназы при плацента-ассоциированных осложнениях не связаны с наличием исследованных минорных аллелей у плода.

Таблица 23 – Интенсивность экспрессии урокиназы и ее рецептора в зависимости от генотипа плода

Интенсивность экспрессии uPA, медиана (95% ДИ)	C/T 3'-UTR rs4065			p*
	C/C	C/T	T/T	
Интенсивность экспрессии uPA, медиана (95% ДИ)	120,5 (101,83–122,91)	119,3 (109,94–130,67)	133,17 (116,58–143,50)	0,54
	P141L rs2227564			
	C/C	C/T	T/T	
	116,88 (109,64–128,09)	126,09 (115,26–133,29)	120,89 (74,53–144,71)	0,49
	rs344781 T(-516)C			
	T/T	T/C	C/C	
Интенсивность экспрессии uPAR, медиана (95% ДИ)	131,53 (89,49–139,27)	98,42 (82,64–120,09)	93,68 (28,11–144,07)	0,05
	rs2302524 A659G			
	A/A	A/G	G/G	
	98,42 (76,67–114,68)	129,32 (100,28–142,74)	84,33 (63,23–107,81)	0,05
	rs344781 T(-516)C			
	T/T	T/C	C/C	
Примечание – сравнение с применением критерия Краскела-Уоллиса				

При соотнесении результатов микроморфометрии с результатами генетического анализа обнаружено влияние замены C/T rs4065 в гене *PLAU* матери на степень васкуляризации ворсин: в зависимости от генотипа удельная площадь сосудистого русла и величина сосудисто-стромального соотношения достигали наибольших значений при генотипе ТТ (Рисунок 17, Таблица 23) как в группе ПАО, так и в контрольной группе. Данные различия являлись статистически значимыми (при использовании критерия Краскела-Уоллиса $p = 0,03$ – при сравнении удельной площади сосудов, и $p = 0,015$ – при сравнении сосудисто-стромального соотношения).

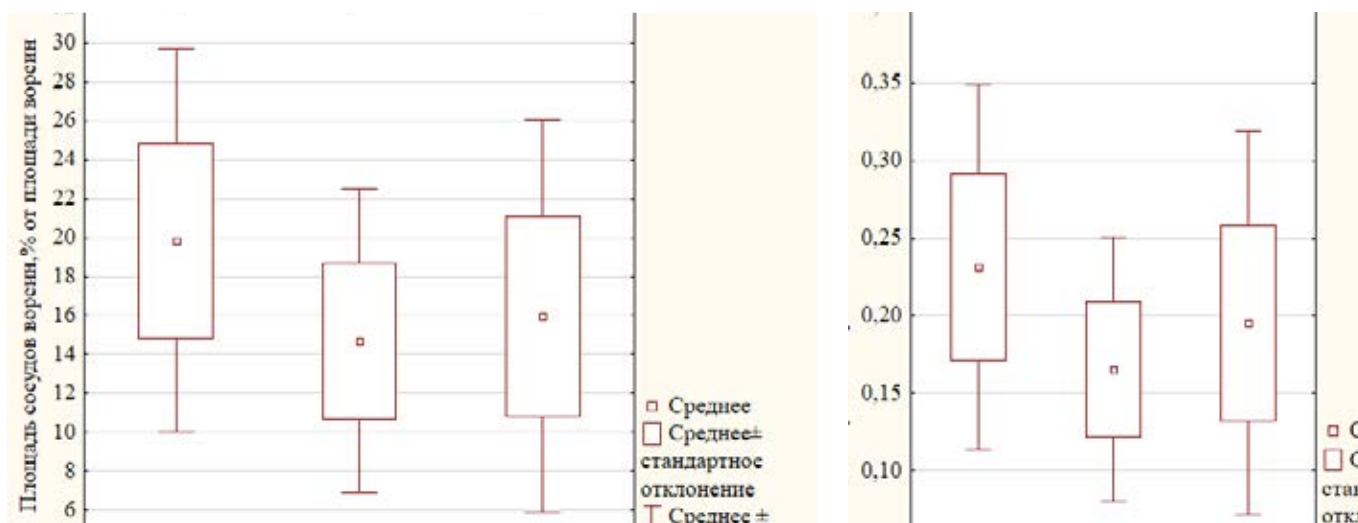


Рисунок 17 – Удельная площадь сосудистого русла ворсин и сосудисто-стромальное соотношение в зависимости от генотипа матери по *PLAU* rs4065.

Таблица 23 – Результаты анализа ассоциаций между материнским генотипом *PLAU* rs4065 и степенью васкуляризации ворсин

	дельная площадь сосудистого русла, %		Сосудисто-стромальное соотношение	
C/C	14,42 (12,28–17,11)	0,03	0,16 (0,14–0,19)	0,015

Поскольку критерий Краскела-Уоллиса не позволяет оценить попарные различия между генотипами, был проведен post-hoc анализ по методу Тьюки, результаты которого показали наличие достоверно значимых отличий только между гомозиготами C/C и гомозиготами T/T ($p = 0,023$ и $p = 0,024$ при сравнении медианных значений удельной площади сосудов и сосудисто-стромального соотношения, соответственно) (Таблица 24).

Таблица 24 – Результаты попарного анализа ассоциаций между материнским генотипом *PLAU* rs4065 и степенью васкуляризации ворсин

	р, сравнение по удельной площади сосудистого русла	р, сравнение по сосудисто- стромальному соотношению
C/C vs C/T	1,0	0,57
C/C vs T/T	0,023	0,014
C/T vs T/T	0,13	0,247

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Плацента-ассоциированные осложнения беременности, сопровождающиеся плацентарной недостаточностью, такие как ЗРП, преэклампсия, происходящая на их фоне антенатальная гибель плода, ПОНРП, и связанные с ними преждевременные роды, являются ведущими причинами как материнской, так и перинатальной заболеваемости и смертности. ЗРП и преэклампсия также приводят к неблагоприятным в долгосрочной перспективе последствиям для здоровья матери и ребенка.

В связи с этим, выделение группы высокого риска плацент-ассоциированных осложнений, проведение у них прегравидарной подготовки и выбор адекватной тактики ведения беременности является важной задачей современного акушерства.

Общепризнано, что наличие в анамнезе преэклампсии, ЗРП является фактором риска развития этих плацента-ассоциированных осложнений беременности и в последующую беременность. Кроме того, неблагоприятное прогностическое значение имеет наличие семейного анамнеза плацента-ассоциированных осложнений беременности. Это, а также широкая распространенность в популяции, многообразие клинических проявлений по сроку их возникновения и степени выраженности, свидетельствует в пользу того, что плацента-ассоциированные осложнения беременности являются мультифакториальными заболеваниями: их этиология представляет собой реализацию генетических особенностей организма в условиях внешней среды.

В связи с этим изучение клинико-генетических ассоциаций является перспективной и обоснованной стратегией для поиска факторов риска развития плацента-ассоциированных осложнений. Не вызывает сомнения, что следует проводить поиск генетических факторов риска в том числе среди генов белков, задействованных в процессе плацентации: преэклампсия, ЗРП являются прямым следствием нарушения миграции и недостаточной инвазии клеток цитотрофобласта. К таковым и относятся гены белков урокиназной системы. Кроме

того, в условиях растущей популярности и все более широкого использования методов изучения фетальной ДНК, актуальным является изучение вклада не только генетических маркеров матери, но и плода.

В связи с этим нами было проведено исследование, основной целью которого служил поиск новых патогенетически обоснованных подходов к выделению группы высокого риска плацента-ассоциированных осложнений при помощи типирования матери и плода по полиморфизмам генов белков урокиназной системы.

Настоящее исследование включало в себя три этапа.

Первый этап (клинический) имел традиционный для клинико-генетических исследований формат. Была сформирована основная группа – группа плацента-ассоциированных осложнений (ПАО), состоящая из 66 человек, и контрольная группа, состоящая из 121 человека. Обе группы были разделены на подгруппы – подгруппа с исследованным генотипом матери (группа ПАО $n = 43$, группа контроля $n = 113$), подгруппа с исследованным генотипом плода (группа ПАО $n = 39$, группа контроля $n = 39$), подгруппа с исследованным генотипом матери и плода (группа ПАО $n = 16$, группа контроля $n = 31$), подгруппы частично пересекались между собой. Путем анализа клинических данных между соответствующими подгруппами выявлен ряд традиционных факторов риска плацента-ассоциированных осложнений, которые было необходимо учесть на этапе оценки риска развития плацента-ассоциированных осложнений в зависимости от генотипа.

На втором этапе (генетическом) путем оценки частот генотипов в группе ПАО и контрольной группе были определены генетические полиморфизмы генов белков урокиназной системы, влияющие на риск развития плацента-ассоциированных осложнений.

Третий этап (морфологический) включал в себя проведение гистологического исследования (в том числе, автоматической морфометрии и исследования интенсивности экспрессии урокиназы и ее рецептора при помощи иммуногистохимии) 46 плацент пациенток вошедших в первый и второй этап

исследования (16 плацент пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями, 31 плацента пациенток контрольной группы).

Наконец, данные клинического, генетического и морфологического этапов сопоставлялись между собой для выявления генетических факторов риска развития плацента-ассоциированных осложнений и их патогенетического обоснования.

В рамках первого (клинического) этапа группы и подгруппы были подробно охарактеризованы, проведена оценка традиционных факторов риска развития плацента-ассоциированных осложнений и плацента-ассоциированных осложнений беременности.

По нашим данным средний возраст был выше в группе ПАО и составил $32,21 \pm 5,12$ год (в контрольной группе – $30,49 \pm 5,46$ лет), доля пациенток старше 35 лет составила 27,78% (в контрольной группе – 19,46%). Возрастные различия были статистически достоверными только в подгруппе с исследованным генотипом матери. Эти данные согласуются с общепринятым в зарубежном и отечественном медицинских сообществах мнением о том, что возраст матери равный 35 годам и более на момент настоящей беременности является предиктором развития плацента-ассоциированных осложнений, преэклампсии, ЗРП [1; 84; 103].

Группы и подгруппы значимо не различались между собой по показателю индекса массы тела, хотя в группе ПАО доля пациенток с избыточной массой тела, была больше (24,24% против 11,57%), что также соответствует современным представлениям о нарушениях жирового обмена, как о факторе риска плацента-ассоциированных осложнений беременности [5; 84].

В литературе встречаются многочисленные данные о большей частоте экстрагенитальной патологии у пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями беременности [9; 15; 57; 114]. Несмотря на то, что тяжелая соматическая патология до беременности служила критерием исключения из исследования, нами выявлены различия в частоте и структуре заболеваемости между пациентками группы ПАО и контрольной группой. Выявленная в группе с плацента-ассоциированными осложнениями беременности более высокая частота сердечно-сосудистых заболеваний (хроническая артериальная гипертензия - 10,6%

против 0,83%, в контрольной группе, ангиопатия сетчатки - 10,6% против 0%, тромботические осложнения – 3,03% против 0%) подтверждает связь плацента-ассоциированных осложнений с системной эндотелиальной дисфункцией у матери и ее последствиями - системными или органными нарушениями кровообращения, дисрегуляцией сосудистого тонуса и аномалиями реологических свойств крови [105]. Плацентарная недостаточность также является своеобразным локальным проявлением нарушения гемодинамики, для которого областью скомпроментированного кровоснабжения является межворсинчатое пространство. Таким образом, плацента-ассоциированные осложнения беременности – это не следствие наличия сердечно-сосудистой патологии, это части одного и того же патологического процесса, в основе которого лежит реализация наследственного фактора в условиях внешней среды. В пользу этого, свидетельствует и тот факт, что отдаленный прогноз первично здоровых женщин, перенесших преэклампсию и ЗРП во время беременности, характеризуется повышенной частотой развития ишемической болезни сердца, инсультов [129]. Дети этих матерей также чаще подвержены развитию сердечно-сосудистых заболеваний [3; 77].

Закономерной также является достоверно более высокая частота анемии в группе ПАО (37,88% против 18,18% в контрольной группе). Статистически достоверная разница в частоте анемии беременных между основной и контрольной группами подтверждает ее значимость как прогностически неблагоприятного фактора в плане развития плацента-ассоциированных осложнений [6; 159]. Анемия матери и последующая долговременная гемическая гипоксия в межворсинчатом пространстве приводит к нарушению развития сосудистого дерева плаценты по типу избыточного разветвляющего ангиогенеза [46].

Группа ПАО также характеризовалась высокой частотой гинекологических заболеваний: только 62,12% не имели заболеваний женской половой системы (в контрольной группе – 84,3%). Также необходимо отметить, что у пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями беременности частота бесплодия (в том, числе при исключении мужского фактора бесплодия) была выше, чем у пациенток контрольной группы. Вероятно, более высокая частота

гинекологических заболеваний, в том числе, бесплодия, обусловлена возрастными различиями между группами. Тем не менее, существует точка зрения, что как успех наступления, так и течения беременности, также определяется наличием в генотипе женщины тех или иных аллельных вариантов генов, которые значимы и для процессов оплодотворения, и для имплантации, и для плацентации [2; 12]. Таким образом, бесплодие и плацента-ассоциированные осложнения также могут иметь общие первопричины.

Помимо частоты гинекологических заболеваний, в каждой группе нам было необходимо оценить частоту выскабливаний матки как фактора риска «скомпроментированного» эндометрия. Общепризнанной является роль состояния эндометрия в генезе плацента-ассоциированных осложнений беременности: неполноценный эндометрий может стартовой точкой осложнений беременности [141]. Среди приобретённых причин повреждения эндометрия особое значение имеют травмы матки при остром кюретаже (искусственное прерывание беременности, удаление остатков плодного яйца при неполном выкидыше или неразвивающейся беременности, выскабливание по поводу внутриматочной патологии) [24].

Частота выскабливания матки в анамнезе в группе ПАО и контрольной группе была сопоставимой – до наступления настоящей беременности кюретаж проводился хотя бы 1 раз у 40,9% пациенток группы ПАО и у 36,36% пациенток контрольной группы. Однако, если в контрольной группе основным поводом для проведения выскабливания был артифициальный аборт, проводимый по желанию пациентки, в группе ПАО основной причиной для внутриматочного вмешательства служила неразвивающаяся беременность. Различия по количеству неразвивающихся беременностей в анамнезе (29,09% в группе ПАО против 6,93% в контрольной группе), а также частоте привычного невынашивания (14,28% против 4%) были статистически значимыми. Данная закономерность также ранее подтверждена в ряде исследований, а их авторами высказано предположение, что нарушение имплантации и плацентации – это общий этап патогенеза привычного

невынашивания беременности и осложнений беременности, связанных с плацентарной недостаточностью [10; 17; 38; 106; 141; 161].

При сравнительном анализе течения настоящей беременности выявлены достоверные различия в частоте маловодия (56,06% в группе ПАО и 4,13% в контрольной группе), что соответствует современным представлениям о маловодии, как о прямом следствии снижения скорости мочеобразования у плода в условиях ухудшения кровообращения в системе «мать-плацента-плод» и гипоксии [12]. Кроме того, соответствует критериям включения в основную группу высокая частота в ней экстренных оперативных, в том числе, преждевременных, родов. Большинство преждевременных родов были индуцированными по показаниям со стороны матери и/или плода. Состояние почти 50% новорожденных требовало оказания неотложной помощи в раннем неонатальном периоде в связи с недоношенностью, гипотрофией и антенатальным воздействием гипоксии на фоне плацентарной недостаточности.

Таким образом, в ходе клинической характеристики включенных в исследование пациенток и их новорожденных, во-первых, подтверждено соответствие групп критериям включения и исключения, во-вторых, подтверждена связь между «большими акушерскими синдромами», а также ими и некоторыми экстрагенитальными и гинекологическими заболеваниями, в-третьих, выявлены средовые факторы риска, которые было необходимо учесть при анализе вклада генетических маркеров в развитие плацента-ассоциированных осложнений беременности.

По результатам второго этапа настоящего исследования, при оценке распределения генотипов среди пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями беременности нами отмечена достоверно более высокая частота генотипов CC и CT rs4065 (C/T 3'-UTR) гена урокиназы *PLAU*, более низкая – генотипов AG-GG rs2302524 (A659G) гена урокиназного рецептора.

Так как группы различались между собой по частоте традиционных факторов риска развития плацента-ассоциированных осложнений беременности, результаты, полученные в ходе изолированной оценки частот генотипов, были дополнены

многофакторным анализом, учитывающим и наличие генетических полиморфизмов, и различия по возрасту и частоте анемии между группами. При совместной оценке и клинических, и генетических факторов, все полиморфизмы, значимость которых была выявлена первоначально, сохранили свою прогностическую значимость.

Риск развития плацента-ассоциированных осложнений беременности при генотипе СТ rs4065 (C/T 3'-UTR) превышает таковой при генотипе ТТ в 4,28 раз, а при генотипе СС – в 16,71 раз. Прогностическая значимость генотипа rs4065 гена *PLAU* также была подтверждена для ЗРП, как основного проявления плацентарной недостаточности: наличие генотипа ТТ 3'-UTR rs4065 в гене *PLAU* у матери сопровождается снижением риска развития ЗРП в 4,87 раза. При этом, в отсутствие ЗРП не только чаще встречается генотип ТТ, но и случаи ЗРП при данном генотипе характеризуются более поздним началом отставания фетометрических показателей от гестационной нормы. Аналогичные данные получены для прогнозирования развития преэклампсии: замена C/T 3'-UTR гена *PLAU* rs4065 снижает риск развития преэклампсии в 2,15 раза, свое протективное влияние в плане степени тяжести и срока манифестации гипертензивных осложнений беременности также подтвердил генотип ТТ. По результатам нашего исследования масса новорожденного при условии родов на доношенном сроке, как косвенный показатель качества кровообращения в системе «мать-плацента-плод» и важнейший фактор, определяющий течение неонатального периода, также была максимальной при генотипе ТТ у матери и составила 3450 граммов (медиана, 95% ДИ 3360,15 – 3555,8,49) против 3115 граммов при генотипе СС (медиана, 95% ДИ 3072,35 – 3547,1) и против 3050 граммов при генотипе СТ (медиана, 95% ДИ 2865,28 – 3500,18).

Протективная роль в плане развития ЗРП также была доказана для замены аденина на гуанин rs2302524 *PLAUR*. Наличие генотипов GG-GA снижает риск развития ЗРП в 3,03 раза.

Далее, в ходе нашей попытки оценить риск развития плацента-ассоциированных осложнений беременности в зависимости от наличия

однонуклеотидных замен в генах плода было показано, что наиболее высокому риску развития плацента-ассоциированных осложнений беременности также соответствует СС генотип, а наиболее низкому – ТТ генотип гена *PLAU* rs4065 (C/T 3'-UTR): появление генотипа ТТ приводит к снижению риска развития плацента-ассоциированных осложнений беременности в 3,84 раза. Также негативное влияние продемонстрировано для мутантной гомозиготы СС гена *PLAUR* rs344781 (T(-516)C – ее наличие сопровождается увеличением риска развития плацента-ассоциированных осложнений беременности в 6,38 раз, хотя ее наличие у матери не являлось прогностически неблагоприятным.

Отношения шансов и доверительные интервалы для генетических и традиционных факторов риска развития плацента-ассоциированных осложнений изображены на Рисунке 18.

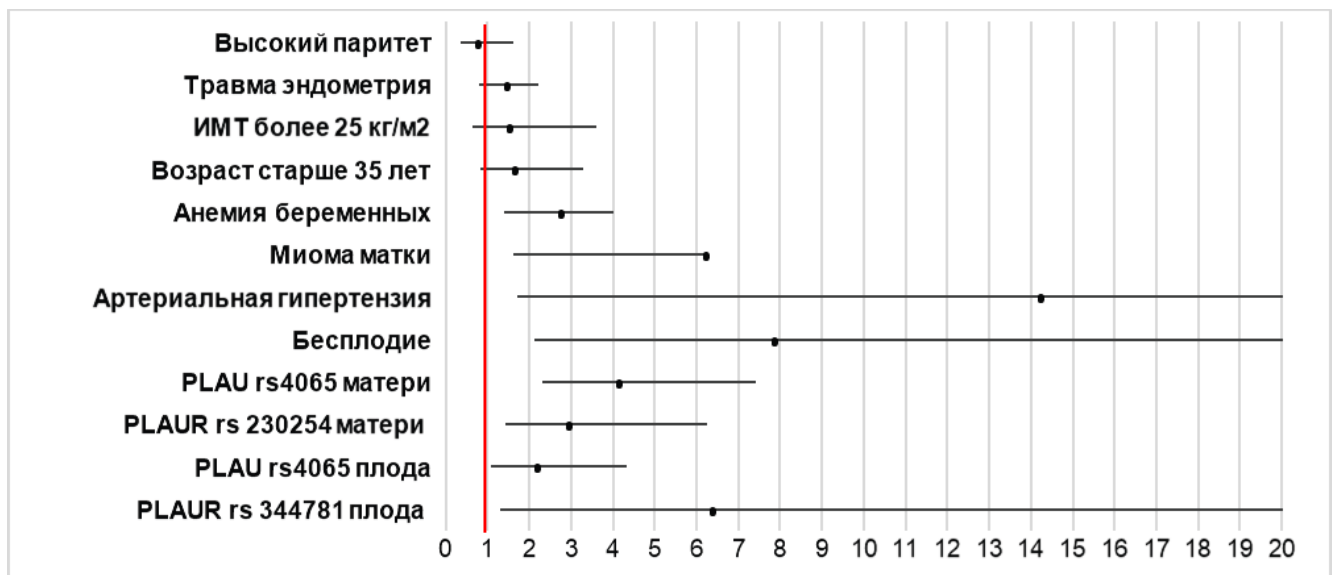


Рисунок 18 – Клинико-анамнестические и генетические факторы риска плацента-ассоциированных осложнений беременности

Расположение доверительного интервала правее единицы свидетельствует о статистически значимом шансе развития плацента-ассоциированных осложнений. Доверительный интервал располагался правее единицы для следующих факторов: анемии беременных, миомы матки, артериальной гипертензии и бесплодия. В дальнейшем, по результатам многофакторного анализа было показано, что более значимым является наличие аллели Т замены rs4065 именно в гене плода. За

исключением редких случаев плацентарного мозаицизма генотип плаценты совпадает с генотипом плода. Таким образом, выявленные для генотипа плода закономерности можно экстраполировать на генотип плаценты – генотип клеток трофобласта, эндотелиоцитов ворсин хориона.

Влияние полиморфизма rs4065 гена урокиназы матери или плода на развитие акушерских осложнений не было изучено ранее. Также напрямую не было оценено влияние данного SNP на экспрессию белка. По полученным нами результатам можно предположить, что замена С/Т является функциональной, наличие генотипа ТТ усиливает процессы миграции и пролиферации клеток, носит проангиогенный характер, тем самым снижая риск развития плацента-ассоциированных осложнений беременности.

Это предположение подтверждает факт влияния этого полиморфизма на опухолевую прогрессию и аналогичное потенцирование опухолевого ангиогенеза. Существуют данные о значительном увеличении риска развития злокачественных новообразований, быстрого распространения первичной опухоли при наличии аллели Т и генотипа ТТ [40; 68]. Также общепризнанным является тот факт, что высокий уровень uPA в ткани ряда опухолей служит предпосылкой неблагоприятного исхода [176]. Кроме того, Т-аллель rs4065 связана с развитием синдрома Квебек – состояния, обусловленного избыточным фибринолизом вследствие повышенного содержания uPA в тромбоцитах [133].

Данные, касающиеся вклада генетического полиморфизма гена урокиназного рецептора в развитие осложнений беременности, являются принципиально новыми, так как нам не удалось найти свидетельств о подобных исследованиях в литературе. Однако существуют работы, также косвенно свидетельствующие о влиянии генотипа по rs2302524 A659G и rs344781 T(-516)C гена PLAUR на уровень экспрессии белка, которое сопровождается развитием соответствующих клинических проявлений.

Вероятно, замена А на G в 6-ом экзоне (rs2302524) гена урокиназного рецептора так же, как и замена С/Т 3'-UTR в гене урокиназы, увеличивает функциональную активность соответствующего белка: наличие мутантной аллели

ассоциировано с более высокой концентрацией растворимой версии рецептора в плазме крови, показана ее связь с ускоренным ремоделированием стенки бронхов (усиление протеолитической активности клеток иммунной системы, дезорганизация соединительной ткани, сужение просвета) при бронхиальной астме и при хроническом бронхите курильщиков [58; 124; 182]. Наоборот, для развития плацента-ассоциированных осложнений беременности, как следствия нарушения процессов миграции и неполноценного ремоделирования спиральных артерий, более высокая концентрация урокиназного рецептора носит протективный характер, что подтверждают результаты нашего исследования: среди пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями беременности нами была отмечена достоверно более низкая частота генотипов A/G-G/G rs2302524 гена урокиназного рецептора.

В отличие от замены С на Т 3'-UTR в гене *PLAU* и замены А на G в 6-ом экзоне в гене *PLAUR*, сопровождающихся увеличением функциональной активности урокиназы и ее рецептора, замена аллели Т на мутантную аллель С в области промотора (rs344781) гена *PLAUR* провоцирует снижение экспрессии uPAR. Генетически обусловленное снижение экспрессии рецептора, как основного регулятора активности самой урокиназы, ингибирует процессы миграции и пролиферации клеток, протеолиза внеклеточного матрикса, находящиеся под контролем всего комплекса uPA-uPAR.

Это подтверждают результаты ряда клинических исследований, в которых продемонстрировано протективное влияние вызванного данной мутацией снижения экспрессии uPAR на развитие и скорость прогрессии злокачественных опухолей [40]. Для ранних стадий плацентации и ангиогенеза в ворсинах хориона, снижение функциональной активности урокиназного комплекса за счет уменьшения экспрессии рецептора носит негативный характер, что и было продемонстрировано в нашем исследовании: наличие у плода генотипа СС rs344781 гена *PLAUR* ассоциировано с развитием плацента-ассоциированных осложнений беременности.

Таким образом, генетическими факторами риска плацента-ассоциированных осложнений беременности являются однонуклеотидные замены в ДНК матери и плода, приводящие к снижению функциональной активности урокиназы и ее рецептора, что соответствует современным представлениям о роли урокиназной системы в процессе плацентации в норме и о патогенезе плацента-ассоциированных осложнений беременности.

Далее нами была предпринята попытка исследования способа реализации действия выявленных в ходе второго этапа генетических факторов риска: различается ли экспрессия урокиназы и ее рецептора в плаценте в норме и при плацента-ассоциированных осложнениях беременности, если да, то определяются ли эти различия наличием генетических полиморфизмов, как влияют генетические маркеры на строение плаценты на микроуровне.

В ходе третьего этапа было обнаружено, что при иммуногистохимической оценке в III триместре уровни экспрессии урокиназного рецептора в ткани плаценты не отличались в норме и у пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями беременности. Однако, были выявлены достоверные различия при сравнении групп по интенсивности экспрессии самой урокиназы. Уровень экспрессии урокиназы при плацента-ассоциированных осложнениях беременности был достоверно ниже такового при нормально протекающей беременности и, наиболее вероятно, данная закономерность не была обусловлена различиями в сроке родоразрешения в группе ПАО и контрольной группе.

По данным Floridon и соавт. результаты исследований, касающихся интенсивности экспрессии урокиназы и ее рецептора в плаценте в III триместре, немногочисленны и достаточно противоречивы: интенсивность иммуногистохимического окрашивания разнится от полного отсутствия до выраженной экспрессии. По мнению авторов, данные противоречия обусловлены типом использованных антител и типом препарата (залитый в парафин или замороженный), а также особенностями подготовки к окрашиванию [100]. При исследовании уровня экспрессии урокиназы при помощи иммуноферментного анализа (ИФА), было обнаружено, что урокиназа и ее рецептор присутствуют в

ткани плаценты, причем концентрация урокиназы в плаценте, в отличие от концентрации рецептора, превышает таковую в миометрии [180].

Сравнение интенсивности иммуногистохимической экспрессии урокиназы и ее рецептора в норме и при плацента-ассоциированных осложнениях беременности проведено в настоящем исследовании впервые. Исследования, проведенные с использованием ИФА, свидетельствуют об отсутствии различий в концентрации урокиназы в плаценте при преэклампсии, HELLP-синдроме, изолированными нарушениями кровотока в системе «мать-плацента-плод» и в норме [131].

К сожалению, нам не удалось продемонстрировать, что изменения уровня uPA в плаценте при плацента-ассоциированных осложнениях беременности обусловлены наличием исследованных однонуклеотидных замен в ее гене у плода: при соотнесении данных иммуногистохимического исследования и генетического анализа каких-либо закономерностей выявлено не было. Наиболее вероятно, что различия в уровне экспрессии урокиназы при плацента-ассоциированных осложнениях беременности и в норме могут быть объяснены активацией оксидативного стресса, стресса эндоплазматического ретикулума и последующего общего снижения синтеза белка в плаценте при ее ишемической патологии [120].

Однако, при соотнесении результатов микроморфометрии с результатами генотипирования были прослежены интересные закономерности: обнаружено влияние замены C/T rs4065 в гене *PLAU* матери на степень васкуляризации ворсин. В зависимости от генотипа удельная площадь сосудистого русла и величина сосудисто-стромального соотношения достигали наибольших значений при генотипе ТТ, значения данных параметров достоверно превышали таковые при генотипе СС: для удельной площади сосудистого русла – в 1,4 раза, для сосудисто-стромального соотношения – в 1,3 раза. Таким образом, ассоциация материнского генотипа ТТ rs4065 гена урокиназы с большей площадью сосудистого компонента ворсин подтверждает выявленный при оценке риска развития плацентарной недостаточности и плацента-ассоциированных осложнений беременности феномен протективного влияния генотипа ТТ rs4065 гена урокиназы, негативного влияния - генотипа СС.

Как было сказано выше, урокиназная система – важный участник процесса плацентации. С момента имплантации эмбриона возрастает синтез урокиназы клетками трофобласта, повышается экспрессия uPAR на полюсе клетки, осуществляющем инвазию, параллельно активность uPA контролируют ингибиторы PAI-1,2. Таким образом, при активном участии урокиназной системы идет процесс модулируемой инвазии клеток трофобласта. Кроме клеток трофобласта источниками uPA в плаценте являются NK-клетки и макрофаги. С трофобласт-независимых стадий они обеспечивают ремоделирование спиральных артерий эндометрия, и только в ассоциации с ними uPAR-позитивные гладкомышечные и эндотелиальные клетки приобретают миграционный фенотип. Под контролем урокиназной системы, а именно экспрессирующих данные белки клеток, находится и процесс образования и деградации фибриноида фибринового типа. Протеолиз внеклеточного матрикса, в том числе сериновыми протеазами, приводит к высвобождению из его скаффолда ангиогенных факторов. При генетически обусловленном изменении экспрессии урокиназы и ее рецептора наблюдается нарушение инвазии трофобласта и неполное ремоделирование спиральных артерий, нарушение ангиогенеза в ворсинах хориона - таким образом, на раннем сроке беременности формируется патологическая предрасположенность к истощению компенсаторных резервов плаценты и развитию плацентарной недостаточности в будущем. Зафиксированное морфологически снижение экспрессии урокиназы в плаценте на поздних сроках обусловлено уже не наличием генетических мутаций, а возникает вторично в результате общего снижения синтетической функции плаценты.

Данный патогенетический каскад можно проиллюстрировать схемой, изображенной на Рисунке 19.



Рисунок 19 – Роль генетического полиморфизма урокиназы и ее рецептора в развитии плацента-ассоциированных осложнений беременности

Объединяя клинические, морфологические и генетические данные, можно предполагать, что полиморфизм генов белков урокиназной системы матери и плода вносит вклад в развитие плацентарной недостаточности и плацента-ассоциированных осложнений беременности. Влияние мутаций на перинатальный исход, наиболее вероятно, обусловлено их ролью в процессах клеточной инвазии и дифференцировки на ранних и основополагающих этапах плацентации. В дальнейшем, в зависимости от генотипа, сохраняется правильное соотношение про- и антиангиогенных факторов либо наблюдается патологический ангиогенез в плаценте. Морфологически это подтверждается взаимосвязью генотипа с особенностями строения плаценты на микроуровне, в том числе, со степенью васкуляризации ворсин. Таким образом, определение генотипа матери и

фетального генотипа на наличие мутаций в генах урокиназной системы является клинически и морфологически обоснованным способом прогнозирования развития плацентарной недостаточности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В основе как преэклампсии, так и задержки роста плода (плацента-ассоциированных осложнений беременности) лежат патологические изменения в плодово- и/или маточно-плацентарном комплексе, заключающиеся в аномалиях плацентарного ангиогенеза, созревания ворсин хориона и ремоделирования спиральных артерий. Суммированные в обзоре литературы данные свидетельствуют о том, что в основе патогенеза данных состояний на молекулярном уровне лежат изменения в механизмах клеточной миграции и пролиферации, протекающих с участием системы uPA/uPAR/PAI-1. Для изучения роли данных белков в ходе настоящей работы была предпринята попытка ассоциировать изменения в уровне их экспрессии, обусловленные однонуклеотидными заменами в соответствующих генах, с развитием плацента-ассоциированных осложнений, что позволило бы составить более полную патогенетическую картину, а также разработать новые подходы к формированию группы риска.

Научная новизна исследования состоит не только в том, что прогностическая значимость для ряда генетических маркеров впервые оценены в рамках акушерской патологии (*PLAU* rs4065 (C/T 3'-UTR), rs2227564 P141L и *PLAUR* rs344781 (T(-516)C), rs2302524 (A659G)), но и в том, что они были изучены в рамках системной концепции, когда плацента-ассоциированные осложнения беременности, такие как преэклампсия и ЗРП, являются патологиями, вклад в формирование которых вносит и материнский и плодовый генетический компонент.

В ходе выполнения работы нами показано, что для развития плацентарной недостаточности наиболее значимым является наличие у матери генотипа CC гена *PLAU* (rs4065, C/T 3'-UTR), AA гена *PLAUR* (rs2302524, A659G), наличие у плода генотипа CC гена *PLAU* (rs4065, C/T 3'-UTR) и CC гена *PLAUR* (rs344781, T(-516)C). При учете как материнского, так и плодового генотипа прогностическое

значение наличия у плода негативное генотипа *CC* гена *PLAU* преобладает над значением материнских полиморфизмов.

В ходе исследования доказано, что генетически обусловленное снижение активности урокиназной системы носит негативный характер и увеличивает риск развития преэклампсии и ЗРП, предположительной причиной этому служит нарушение процессов инвазии клеток трофобласта и неполное ремоделирование спиральных артерий на раннем сроке беременности. Единые генетические факторы риска преэклампсии и ЗРП еще раз подтверждают возможность использования термина «плацента-ассоциированные осложнения беременности» и позволяют рассматривать преэклампсию и ЗРП как следствия одного патологического процесса. Таким образом, становится возможным применять единую стратегию профилактики данных состояний и применять низкие дозы ацетилсалициловой кислоты не только, для предотвращения преэклампсии, но и ЗРП.

При сопоставлении результатов молекулярно-генетического исследования с гистологическими данными удалось установить взаимосвязь между генотипом матери и степенью васкуляризации ворсин хориона: полиморфизмам с прогностически неблагоприятным влиянием в плане развития плацента-ассоциированных осложнений морфологически соответствует более низкая площади сосудистого компонента.

На основании полученных результатов становится возможным использовать определение генотипа матери и фетального генотипа по *SNP*, чья значимость доказана в настоящем исследовании, для выделения группы риска преэклампсии и ЗРП на доклинической стадии.

ВЫВОДЫ

1. У пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями достоверно чаще, чем при нормально протекающей беременности, встречаются: генотип CC PLAУ C/T 3'-UTR – в 7,11 раз, генотип AA PLAUR A(659)G – в 1,54 раз. Однонаправленность распределения генотипов характерна для ЗРП и преэклампсии: при ЗРП частота выявления генотипа CC PLAУ C/T 3'-UTR наблюдается в 2,92 раза чаще, генотип AA PLAUR A(659)G – в 1,58 раза чаще; при преэклампсии частота выявления генотипа CC PLAУ C/T 3'-UTR наблюдается в 1,98 раза чаще, при нормальном течении беременности.
2. У детей пациенток с плацента-ассоциированными осложнениями беременности достоверно чаще, чем при нормально протекающей беременности, встречается генотип CC гена PLAУ C/T 3'-UTR (в 1,75 раза), генотип CC PLAUR T(-516)C (в 5,02 раза).
3. По данным многофакторного анализа с учетом как генотипа матери, так и генотипа плода, наиболее значимым фактором риска развития плацента-ассоциированных осложнений является наличие фетального генотипа CC гена PLAУ C/T 3'-UTR.
4. В плацентах пациенток с преэклампсией и ЗРП интенсивность иммуногистохимической экспрессии урокиназы снижена на 10,5% по сравнению с нормально протекающей беременностью. Взаимосвязи снижения экспрессии урокиназы с наличием генетических полиморфизмов C/T 3'-UTR, P141L в ее гене у плода выявлено не было.
5. Снижение степени васкуляризации ворсин плаценты, приводящее к плацентарной недостаточности, обусловлено наличием материнского генотипа CC гена PLAУ C/T 3'-UTR. Генотип TT гена PLAУ C/T 3'-UTR определяет нормальное строение сосудистого русла плаценты, то есть является протективным в отношении плацента-ассоциированных осложнений.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для оценки риска развития плацента-ассоциированных осложнений беременности целесообразно определение полиморфизма генов PLAУ и PLAUR матери и плода.
2. Пациенткам группы высокого риска плацента-ассоциированных осложнений по данным молекулярно-генетического анализа необходима коррекция модифицируемых факторов риска: исключение железодефицита на этапе планирования беременности, рациональная контрацепция.
3. Учитывая общую генетическую предрасположенность к развитию преэклампсии и ЗРП, правомочно объединять их в группу в плацента-ассоциированных осложнений и проводить профилактику ЗРП так же, как и преэклампсии, путем назначения низких доз ацетилсалициловой кислоты.
4. Тактика ведения пациенток с ранней и/или тяжелой преэклампсией и ЗРП в анамнезе должна быть дифференцированной в зависимости от результатов генотипирования, так как эффективность профилактики с использованием ацетилсалициловой кислоты зависит от генотипа.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД – артериальное давление

ДИ – доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЗРП – задержка роста плода

ИМТ – индекс массы тела

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

ОШ – отношение шансов

ПАО – плацента-ассоциированные осложнения беременности

ПМП – предполагаемая масса плода

ПОНРП – преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты

РНК – рибонуклеиновая кислота

А – аденин

С – цитозин

G – гуанин

GFD-домен – домен, подобный эпидермальному фактору роста

HIF-1 α – фактор, индуцируемый гипоксией 1 α

L – лейцин

NK-клетки – натуральные киллеры

PAI-1, 2 – ингибитор активатора плазминогена 1, 2 типа

PLAU – ген урокиназы

PLAUR – ген рецептора урокиназы

P – пролин

PlGF – плацентарный фактор роста

Pro-uPA – одноцепочечная форма урокиназы

SERPINE-1 – ген ингибитор активатора плазминогена 1 типа

SNP – однонуклеотидный полиморфизм

suPAR – растворимая форма рецептора урокиназы

T – тимин

tPA – активатор плазминогена тканевого типа

uPA – урокиназа, активатор плазминогена урокиназного типа

uPAR – рецептор урокиназы

VEGF-A – сосудисто-эндотелиальный фактор роста A

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акушерство : национальное руководство / под ред. Г. М. Савельевой, Г. Т. Сухих, В. Н. Серова, В. Е. Радзинского. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : ГЭОТАР– Медиа, 2019. – 1080 с.
2. Анализ полиморфных маркеров ДНК для прогноза осложнений беременности. Методическое пособие по молекулярной генетике / под ред. В. А. Ткачука. – М. : Из-во Моск. ун-та, 2009. – 40 с.
3. Артымук, Н. В. Перинатальные исходы и отдаленные последствия при задержке роста плода / Н. В. Артымук, А. Г. Тришкин, Е. С. Бикметова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. – Т. 61, № 6. – С. 68 – 75.
4. Большие акушерские синдромы: «гордиев узел» генных сетей / В. В. Ковалев, Е. В. Кудрявцева, Н. М. Миляева, С. Р. Беломестнов // Уральский медицинский журнал. – 2018. – Т. 13. – С. 40 – 47.
5. Боровкова, Е. И. Вероятность развития осложнений беременности у женщин с избыточным весом и ожирением / Е. И. Боровкова, И. О. Макаров, М. А. Байрамова // Вестник РУДН. – 2011. – Т. S5. – С. 151 – 157.
6. Доброхотова, Ю. Э. Железодефицитная анемия беременных: профилактика и лечение / Ю. Э. Доброхотова, И. В. Бахарева // РМЖ. – 2018. – Т. 26, № 2. – С. 59 – 64.
7. Клинические рекомендации [Текст] : Преэклампсия. Эклампсия. Отеки, протеинурия и гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. / ред. совет: З. С. Ходжаева [и др.]. – Москва : Министерство Здравоохранения Российской Федерации, 2021. – 799 с.
8. M235T полиморфизм гена ангиотензина и E298D полиморфизм гена эндотелиальной синтазы оксида азота у женщин с гестозом / И. П. Князева, Л. М. Самоходская, Т. А. Косикова, В. Е. Радзинский, Т. В. Галина, Ф. М. Есенева // Вестник РУДН. – 2010. – Т. 6. – С. 23 – 28.
9. Мамедов, Н. Н. Состояние плода и новорожденного при задержке внутриутробного роста. Клинико – морфологические параллели: дис. ... канд. мед.

наук : 14.01.01 : защищена 23.04.2018 / Мамедов Николай Назимович. – М., 2018. – 126 с.

10. Меньшенина, Т. А. Течение беременности у женщин, перенесших неразвивающуюся беременность / Т. А. Меньшенина, М. Ю. Зильбер // Уральский медицинский журнал. – 2012. – Т. 6. – С. 82 – 87.

11. Милованов, А. П. Патология системы мать-плацента-плод: Руководство для врачей / А. П. Милованов. – М. : Медицина, 1999. – 448 с.

12. Молекулярно-генетический анализ предрасположенности человека к мультифакторным заболеваниям / под ред. В. А. Ткачука. – М. : Изд-во МГУ, 2011. – 388 с.

13. Основные показатели здоровья матери и ребенка, деятельность службы охраны детства и родовспоможения в Российской Федерации : статистический сб. / Министерство здравоохранения Российской Федерации, Департамент мониторинга, анализа и стратегического развития здравоохранения. – М. : ФГБУ «ЦНИИОИЗ» Минздрава Российской Федерации, 2020. – 170 с.

14. Преэклампсия и эклампсия: новые подходы к диагностике и оценке степени тяжести / Г. М. Савельева, Р. И. Шалина, А. Г. Коноплянников, М. А. Симухина // Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. – 2018. – Т. 6, № 4. – С. 25 – 30.

15. Роль экстрагенитальных и акушерско-гинекологических факторов в формировании задержки внутриутробного развития плода / Д. В. Илатовская, И. И. Логвинова, И. И. Некрасова, Черников С. Н. // Бюллетень Федерального Центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова. – 2010. – Т. 6. – С. 29.

16. Савельева, Г. М. Плацентарная недостаточность / Г. М. Савельева. – М. : Медицина, 1991. – 276 с.

17. Сидельникова, В. М. Привычная потеря беременности / В. М. Сидельникова. – М. : Триад-Х, 2005. – 304 с.

18. Синдром задержки роста плода: клинико-морфологические аспекты / Е. Б. Ларина, Н. Н. Мамедов, Н. А. Нефедова, Л. В. Москвина, А. И. Андреев, О. Б.

- Панина, П. Г. Мальков // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2013. – Т. 1. – С. 22 – 27.
19. Стрижаков, А. Н. Синдром задержки роста плода / А. Н. Стрижаков, И. В. Игнатко, Е. В. Тимохина. – М. :ГЭОТАР, 2013. – 120 с.
20. Стрижаков, А. Н. Фетоплацентарная недостаточность: патогенез, диагностика и лечение / А.Н. Стрижаков, Т. Ф. Тимохина, О. Р. Баев // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2003. – Т. 2, № 2. – С. 53 – 63.
21. Халфорд-Князева, И.П. Генетические маркеры прогнозирования преэклампсии / И. П. Халфорд-Князева // Доктор.Ру. – 2013. – Т. 7, № 1. – С. 58 – 66.
22. Ходжаева, З.С. Ранняя и поздняя преэклампсия: парадигмы патофизиологии и клиническая практика / З. С. Ходжаева, А. М. Холин, Е. М. Вихляева // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 10. – С. 4 – 11.
23. Шахбазова, Н. А. Группы высокого и низкого риска развития гипертензивных расстройств при беременности / Н. А. Шахбазова // Российский кардиологический журнал. – 2018. – Т. 4. – С. 19 – 24.
24. Шестакова, И. Г. Деликатному эндометрию деликатный подход / И. Г. Шестакова // StatusPraesens. Гинекология, акушерство, бесплодный брак. – 2014. – Т. 4. – С. 26 – 31.
25. Щеголев, А. И. Современная морфологическая классификация повреждений плаценты / А. И. Щеголев // Акушерство и гинекология. 2016. – Т. 4. – С. 16 – 23.
26. A conserved TATA-less proximal promoter drives basal transcription from the urokinase-type plasminogen activator receptor gene / E. Soravia, A. Grebe, P. De Luca, K. Helin, T. T. Suh, J. L. Degen, F. Blasi // Blood. – 1995. – Vol. 86, № 2. – P. 624 – 635.
27. A functional overlap of plasminogen and MMPs regulates vascularization during placental development / H. Solberg, J. Rinkenberger, K. Danø, Z. Werb, L. R. Lund // Development. – 2003. – Vol. 130, № 18. – P. 4439 – 4450.
28. A genetic variation located in the promoter region of the UPAR (CD87) gene is associated with the vascular complications of systemic sclerosis / M. Manetti, Y. Allanore, L. Revillod, C. Fatini, S. Guiducci, G. Cuomo, C. Bonino, V. Riccieri, L.

Bazzichi, V. Liakouli, P. Cipriani, R. Giacomelli, R. Abbate, S. Bombardieri, G. Valesini, C. Montecucco, G. Valentini, L. Ibba-Manneschi, M. Matucci-Cerinic // *Arthritis & Rheumatology*. – 2011. – Vol. 63, № 1. – P. 247 – 256.

29. Absence of an association of tumor necrosis factor (TNF)– alpha G308A, interleukin– 6 (IL– 6) G174C and interleukin– 10 (IL– 10) G1082A polymorphism in women with preeclampsia / F. Stonek, E. Hafner, M. Metzenbauer, Sch. Katharina, I. Stümpflen, Ch. Schneeberger, H. Zeisler, P. Husslein, K. Philipp // *Journal of Reproductive Immunology*. – 2008. – Vol. 77, № 1. – P. 85 – 90.

30. ACOG Practice bulletin no. 134: fetal growth restriction // *Obstetrics and gynecology*. – 2013. – Vol. 121, № 5. – P. 1122 – 1133.

31. Activation of plasminogen into plasmin at the surface of endothelial microparticles: a mechanism that modulates angiogenic properties of endothelial progenitor cells in vitro/ R. Lacroix, F. Sabatier, A. Mialhe, A. Basire, R. Pannell, H. Borghi, S. Robert, E. Lamy, L. Plawinski, L. Camoin– Jau, V. Gurewich, E. Angles– Cano, F. Dignat-George // *Blood*. – 2007. – Vol. 110, № 7. – P. 2432 – 2439.

32. Adriana and Luisa Castellucci award lecture 1999: role of oxygen in the regulation of trophoblast gene expression and invasion / C.H. Graham, L.M. Postovit, H. Park, M.T. Canning, T.E. Fitzpatrick // *Placenta*. – 2000. – Vol. 21, № 5-6. – P. 443 – 450.

33. Ananth, C. V. Ischemic placental disease: epidemiology and risk factors / C. V. Ananth, A. M. Vintzileos A.M. // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. – 2011. – Vol. 159, № 1. – P. 77 – 82.

34. Ananth, C.V. Maternal-fetal conditions necessitating a medical intervention resulting in preterm birth / C. V. Ananth, A. M. Vintzileos // *American Journal of Obsterics & Gynecology*. – 2006. – Vol. 195, № 6. – P. 1557 – 1563.

35. Ananth, C.V. Medically indicated preterm birth: recognizing the importance of the problem / C. V. Ananth, A. M. Vintzileos // *Clinics in Perinatology*. – 2008. – Vol. 35, № 1. – P. 53 – 67, viii.

36. Angiogenesis and vascularization: Cellular and molecular mechanisms in health and diseases / ed. J. Dulak, A. Jozkowicz, A. Łoboda, A. – New York : Springer, 2013. – 416 p.

37. Association between plasminogen activator inhibitor 1 gene mutation and different subgroups of recurrent miscarriage and implantation failure / F. Khosravi, S. Zarei, N. Ahmadvand, Z. Akbarzadeh-Pasha, E. Savadi, A.-H. Zarnani, M.-R. Sadeghi, M. Jeddi-Tehrani // Journal of assisted reproduction and genetics. – 2014. – Vol. 31, № 1. – P. 121 – 124.
38. Association between previous spontaneous abortion and pre-eclampsia during a subsequent pregnancy / M. Sepidarkish, A. Almasi-Hashiani, S. Maroufizadeh, S. Vesali, R. Pirjani, R. O Samani // International journal of gynaecology and obstetrics : the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics. – 2017. – Vol. 136, № 1. – P. 83 – 86.
39. Association between the MTHFR C677T polymorphism and recurrent pregnancy loss: a meta-analysis / X. Wu, L. Zhao, H. Zhu, D. He, W. Tang, Y. Luo // Genet Test Mol Biomarkers. – 2012. – Vol. 16, № 7. – P. 806 – 811.
40. Association between the polymorphisms of urokinase plasminogen activation system and cancer risk: a meta-analysis / Z. Xu, L.-L. Meng, J. Lin, Yu. Ling, Sh.-X. Chen, N. Lin // OncoTargets and therapy. – 2015. – Vol. 8. – P. 2493 – 2502.
41. Association between the SERPINE1 (PAI-1) 4G/5G insertion/deletion promoter polymorphism (rs1799889) and pre-eclampsia: a systematic review and meta-analysis / L. Zhao, M.B. Bracken, A.T. Dewan, S. Chen // Molecular Human Reproduction. – 2013. – Vol. 19, № 3. – P. 136 – 143.
42. Association between tumor necrosis factor (TNF)-alpha G308A gene polymorphism and preeclampsia complicated by severe fetal growth restriction / A. Molvarec, A. Jermendy, B. Nagy, M. Kovács, T. Várkonyi, P. Hupuczi, Z. Prohászka, J. Rigó Jr // Clinica Chimica Acta. – 2008. – Vol. 392, № 1-2. – P. 52 – 57.
43. Association of angiotensin-converting enzyme intron 16 insertion/deletion polymorphism with history of foetal loss / L. Bukreeva, A. Grigorov, H. Kiesewetter, B. Hoppe // Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System. – 2009. – Vol. 10, № 4. – P. 237 – 240.
44. Association of Maternal and Fetal Single-Nucleotide Polymorphisms in Metalloproteinase (MMP1, MMP2, MMP3, and MMP9) Genes with Preeclampsia / A.

Sakowicz, M. Lisowska, L. Biesiada, M. Rybak-Krzyszowska, A. Gach, B. Sakowicz, M. Grzesiak, H. Huras, T. Pietrucha // Disease markers. –2018. – Vol. 2018. – P. 1371425.

45. Association of polymorphisms in the genes of the urokinase plasminogen activation system with susceptibility to and severity of non– small cell lung cancer / Ch.– M. Shih, W.-H. Kuo, Ch.-W. Lin, W. Chen, W.-E. Cheng, Sh.-Ch. Chen, Y.-L. Lee // Clinica Chimica Acta. – 2011. – Vol. 412, № 1-2. – P. 194 – 198.

46. Benirschke, K. Pathology of the Human Placenta / K. Benirschke, P. Kaufmann, M. R. Baergen. – 5th edition. – New York : Springer. – 2006. – 1050 c.

47. Biological effects of disruption of the tissue-type plasminogen activator, urokinase-type plasminogen activator, and plasminogen activator inhibitor-1 genes in mice / P. Carmeliet, A. Bouché, C. De Clercq, S. Janssen, S. Pollefeyt, S. Wyns, R. C. Mulligan, D. Collen // Annals of the New York Academy of Sciences. – 1995. – Vol. 748. – P. 362 – 367.

48. Blasi, F. uPAR: a versatile signalling orchestrator / F. Blasi, P. Carmeliet // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2002. – Vol. 3, № 12. – P. 932 – 943.

49. Breuss, J. M. VEGF– initiated angiogenesis and the uPA/uPAR system / J. M. Breuss, P. Uhrin // Cell Adhesion & Migration. – 2012. – Vol. 6, № 6. – P. 535 – 540.

50. Brosens, I. Placental bed research: I. The placental bed: from spiral arteries remodeling to the great obstetrical syndromes // I. Brosens, P. Puttemans, G. Benagiano / American Journal of Obstetrics & Gynecology. – 2019. – Vol. 221, № 5. – P. 437 – 456.

51. Burton, G.J. Oxidative stress / G. J. Burton, E. Jauniaux // Best Practice & Research in Clinical Obstetrics & Gynaecology. – 2011. – Vol. 25, №.3. – P.287 – 99.

52. Burton, G.J. Pathophysiology of placental-derived fetal growth restriction / G. J. Burton, E. Jauniaux // American Journal of Obstetrics & Gynecology. – 2018. – Vol. 218, № 2S. – P. S745 – S761.

53. Cellular glycosylphosphatidylinositol-specific phospholipase D regulates urokinase receptor shedding and cell surface expression / O. G. Wilhelm, S. Wilhelm, G. M. Escott, V. Lutz, V. Magdolen, M. Schmitt, D. B. Rifkin, E. L. Wilson, H. Graeff, G. Brunner // Journal of Cellular Physiology. – 1999. – Vol. 180, № 2. – P. 225 – 235.

54. Characterization of single chain urokinase-type plasminogen activator with a novel amino-acid substitution in the kringle structure / M. Yoshimoto, Y. Ushiyama, M. Sakai, S. Tamaki, H. Hara, K. Takahashi, Y. Sawasaki, K. Hanada // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 1996. – Vol. 1293, № 1. – P. 83 – 89.
55. Characterization of urokinase receptor expression by human placental trophoblasts / J.M. Zini, S.C. Murray, C.H. Graham, P.K. Lala, K. Karikó, E.S. Barnathan, A. Mazar, J. Henkin, D.B. Cines, K.R. McCrae // *Blood*. – 1992. – Vol. 79, № 11. – P. 2917 – 2929.
56. Charnock-Jones D. S., Kaufmann P., Mayhew T. M. Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. I. Molecular regulation // *Placenta*. – 2004. – Vol. 25, № 2-3. – P. 103 – 113.
57. Chronic renal disease and pregnancy outcome / G. Cunningham, S.M. Cox, T.W. Harstad, R.A. Mason, J.A. Pritchard // *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 1990. – Vol. 163, № 2. – P. 453 – 459.
58. Cigarette Smoke and the Induction of Urokinase Plasminogen Activator Receptor In Vivo: Selective Contribution of Isoforms to Bronchial Epithelial Phenotype / M. A. Portelli, C. E. Stewart, I. P. Hall, Ch. E. Brightling, I. Sayers // *American journal of respiratory cell and molecular biology*. – 2015. – Vol. 53, № 2. – P. 174 – 183.
59. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure / S. J. Gordijn, I. M. Beune, B. Thilaganathan, A. Papageorgiou, A. A. Baschat, P. N. Baker, R. M. Silver, K. Wynia, W. Gansevoort // *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. – 2016. – Vol. 48, № 3. – P. 333 – 339.
60. Contribution of hypoxic stimulation on invasion and uPA-system of primary extravillous trophoblast / T. Tsunemi, K. Naruse, A. Onogi, J. Akasaka, C. Uekuri, N. Koike, M. Akasaki, H. Kobayashi // *Placenta*. – 2013. – Vol. 34, № 10. – P. A11.
61. Control of human trophoblast function / L. Lunghi, M. E. Ferretti, S. Medici, C. Biondi, F. Vesce // *Reproductive Biology and Endocrinology*. – 2007. – Vol. 5. – P. 6.
62. Craen, B. van De. The Biochemistry, Physiology and Pathological roles of PAI-1 and the requirements for PAI-1 inhibition in vivo / B. van De Craen, P. J. Declerck, A. Gils // *Thrombosis Research*. – 2012. – Vol. 130, № 4. – P. 576 – 585.

63. Crystal structures of two human vitronectin, urokinase and urokinase receptor complexes / Q. Huai, A. Zhou, L. Lin, A.P. Mazar, G.C. Parry, J. Callahan, D.E. Shaw, B. Furie, B.C. Furie, M. Huang // *Nature Structural & Molecular Biology*. – 2008. – Vol. 15, № 4. – P. 422 – 423.
64. Dadelszen, P. von. Subclassification of preeclampsia / P. von Dadelszen, L. A. Magee, J. M. Roberts // *Pregnancy Hypertension*. – 2003. – Vol. 22, № 2. – P. 143 – 148.
65. Does plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) control trophoblast invasion? A study of fetal and maternal tissue in intrauterine, tubal and molar pregnancies / C. Floridon, O. Nielsen, B. Hølund, F. Sweep, L. Sunde, S. G. Thomsen, B. Teisner // *Placenta*. – 2000. – Vol. 21, № 8. – P. 754 – 762.
66. Dommisse, J. Placental bed biopsies in placental abruption / J. Dommisse, A. J. Tiltman // *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. – 1992. – Vol. 99, № 8. – P. 651 – 654.
67. Duckitt, K. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies / K. Duckitt, D. Harrington // *British Medical Journal*. – 2005. – Vol. 330, № 7491. – P. 565.
68. Duffy, M. J. The urokinase plasminogen activator system: role in malignancy/ M. J. Duffy // *Current Pharmaceutical Design*. – 2004. – Vol. 10, № 1. – P. 39 – 49.
69. Early pregnancy prediction of preeclampsia in nulliparous women, combining clinical risk and biomarkers: The Screening for Pregnancy Endpoints (SCOPE) international cohort study / L. C. Kenny, M. A. Black, L. Poston, R. Taylor, J. E. Myers, P. N. Baker, L. M. McCowan, N. A. B. Simpson, G. A. Dekker, C. T. Roberts, K. Rodems, B. Noland, M. Raymundo, J. J. Walker, R. A. North // *Hypertension*. – 2014. – Vol. 64, № 3. – P. 644 – 652.
70. Early-onset preeclampsia is associated with perinatal mortality and severe neonatal morbidity / J. J. A. van Esch, A. F. van Heijst, A. F. J. de Haan, O. W. H. van der Heijden // *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. – 2017. – Vol. 30. N. 23. – P. 2789 – 2794.

71. Effect of placental embolization on the umbilical arterial velocity waveform in fetal sheep / R. J. Morrow, S. L. Adamson, S. B. Bull, J. W. Ritchie // *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 1989. – Vol. 161, № 4. – P. 1055 – 1060.
72. EGFR is a transducer of the urokinase receptor-initiated signal that is required for in vivo growth of a human carcinoma / D. Liu, J. A. Ghiso, Y. Estrada, L. Ossowski // *Cancer Cell*. – 2002. – Vol. 1, № 5. – P. 445 – 457.
73. Elevated amyloid beta protein (Abeta42) and late onset Alzheimer's disease are associated with single nucleotide polymorphisms in the urokinase-type plasminogen activator gene / N. Ertekin-Taner, J. Ronald, L. Feuk, J. Prince, M. Tucker, L. Younkin, M. Hella, Sh. Jain, A. Hackett, L. Scanlin, J. Kelly, M. Kihiko-Ehman, M. Neltner, L. Hersh, M. Kindy, W. Markesbery, M. Hutton, M. de Andrade, R. C Petersen, N. Graff-Radford, S. Estus, A. J Brookes, S. G Younkin // *Hum. Mol. Genet.* – 2005. – Vol. 14, № 3. – P. 447 – 460.
74. Evidence for immune cell involvement in decidual spiral arteriole remodeling in early human pregnancy / S. D. Smith, C. E. Dunk, J. D. Aplin, L. K. Harris, R. L. Jones // *The American Journal of Pathology*. – 2009. – Vol. 174, № 5. – P. 1959 – 1971.
75. Extracellular matrix mediates a molecular balance between vascular morphogenesis and regression / G. E. Davis, D. R. Senger // *Current Opinion in Hematology*. – 2008. – Vol. 15, № 3. – P. 197 – 203.
76. Fetal MMP2/MMP9 polymorphisms and intrauterine growth restriction risk / S. Gremlich, D. Nguyen, D. Reymondin, P. Hohlfield, Y. Vial, S. S. Witkin, S. Gerber // *Journal of Reproductive Immunology*. – 2007. – Vol. 74, № 1-2. – P. 143 – 151.
77. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life / D. J. Barker, P. D. Gluckman, K. M. Godfrey, J. E. Harding, J. A. Owens, J. S. Robinson // *Lancet*. – 1993. – Vol. 341, № 8850. – P. 938 – 941.
78. Function of the urokinase receptor (CD87) in neutrophil chemotaxis / M. R. Gyetko, R. G. Sitrin, J. A. Fuller, R. F. Todd 3rd, H. Petty, T. J. Standiford // *Journal of Leukocyte Biology*. – 1995. – Vol. 58, № 5. – P. 533 – 538.

79. Further characterization of the 5'-flanking DNA of the gene encoding human plasminogen activator inhibitor-1 / P. J. Bosma, T. Kooistra, D. R. Siemieniak, J. L. Slightom // *Gene*. – 1991. – Vol. 100. – P. 261 – 266.
80. Generation and characterization of urokinase receptor– deficient mice / M. Dewerchin, A. V. Nuffelen, G. Wallays, A. Bouché, L. Moons, P. Carmeliet, R. C. Mulligan, D. Collen // *Journal of Clinical Investigation*. – 1996. – Vol. 97, № 3. – P. 870 – 878.
81. Genetic polymorphism of the plasminogen activator inhibitor– 1 is associated with an increased risk of endometrial cancer / C.-K. Su, K.-T. Yeh, Ch.-B. Yeh, P.-H. Wang, E.S.-Ch. Ho, M.-C. Chou, K.-Ch. Liu, Sh.-F. Yang, Y.-Ch. Yi // *Journal of Surgical Oncology*. – 2011. – Vol. 104, № 7. – P. 755 – 759.
82. Genetic polymorphisms in the fibrinolytic system of placentas with massive perivillous fibrin deposition / R. Uxa, D. Baczyk, J. C. P. Kingdom, S. Viero, R. Casper, S. Keating // *Placenta*. – 2010. – Vol. 31, № 6. – P. 499 – 505.
83. Genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus is associated with altered levels of plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity / S. Dawson, A. Hamsten, B. Wiman, A. Henney, S. Humphries // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 1991. – Vol. 11, № 1. – P. 183 – 190.
84. Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222 // *Obstetrics and gynecology*. – 2020. – Vol. 135, № 6. – P. e237 – e260.
85. Giles, W. B. Fetal umbilical artery flow velocity waveforms and placental resistance: pathological correlation / W. B. Giles, B. J. Trudinger, P. J. Baird // *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 1985. – Vol. 92, № 1. – P. 31 – 38.
86. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis / L. Say, D. Chou, A. Gemmill, Ö. Tunçalp, A.-B. Moller, J. Daniels, A M. Gülmezoglu, M. Temmerman, L. Alkema // *The Lancet. Global health*. – 2014. – Vol. 2, № 6. – P. e323 – 333.
87. Guimond, M. J. Engraftment of bone marrow from severe combined immunodeficient (SCID) mice reverses the reproductive deficits in natural killer cell– deficient tg epsilon

- 26 mice / M. J. Guimond, B. Wang, B. A. Croy // *Journal of Experimental Medicine*. – 1998. – Vol. 187, № 2. – P. 217 – 223.
88. Heme oxygenase-1 in pregnancy and cancer: similarities in cellular invasion, cytoprotection, angiogenesis, and immunomodulation / H. Zhao, M. Ozen, R.J. Wong, D.K. Stevenson // *Frontiers in Pharmacology*. – 2014. – Vol. 5. – P. 295.
89. Hypoxia increased invasion of primary human extravillous trophoblast via enhance of urokinase– type plasminogen activator system / T. Tsunemi, N. Koike, A. Shigemitsu, K. Iwai, K. Naruse, M. Akasaki, H. Kobayashi, Hiroshi // *Placenta*. – 2014. – Vol. 35, № 9. – P. A100.
90. Immunology of preeclampsia / L. Matthiesen, G. Berg, J. Ernerudh, C. Ekerfelt, Y. Jonsson, S. Sharma // *Chemical Immunology and Allergy*. – 2005. – Vol. 89. – P. 49 – 61.
91. Is endothelial function impaired among women with placenta– mediated fetal growth restriction? / M. Kirshenbaum, L. Topaz, S. Mazaki– Tovi, Y. Yinon // *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 2020. – Vol. 222, №. 1. – P. S194 – S195.
92. Is plasminogen activator inhibitor– 1 the molecular switch that governs urokinase receptor– mediated cell adhesion and release? / G. Deng, S. A. Curriden, S. Wang, S. Rosenberg, D. J. Loskutoff // *Journal of Cell Biology*. – 1996. – Vol. 134, № 6. – P. 1563 – 1571.
93. Katzman, P. J. Maternal floor infarction and massive perivillous fibrin deposition: histological definitions, association with intrauterine fetal growth restriction, and risk of recurrence / P. J. Katzman, D. R. Genest // *Pediatric and Developmental Pathology*. – 2002. – Vol. 5, № 2. – P. 159 – 164.
94. Kaufmann, P. Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. II. Changes during normal pregnancy / P. Kaufmann, T. M. Mayhew, D. S. Charnock-Jones // *Placenta*. – 2004. – Vol. 25, № 2-3. – P. 114 – 126.
95. Khong, T. Y. Acute atherosclerosis in preeclampsia: maternal determinants and fetal outcome in the presence of the lesion / T. Y. Khong, J. M. Pearce, W. B. Robertson // *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 1987. – Vol. 157, № 2. – P. 360 – 363.

96. Kinetics of the activation of plasminogen by human tissue plasminogen activator. Role of fibrin / M. Hoylaerts, D. C. Rijken, H. R. Lijnen, D. Collen // *Journal of Biological Chemistry*. – 1982. – Vol. 257, № 6. – P. 2912 – 2919.
97. Kruithof, E. K. Biological and clinical aspects of plasminogen activator inhibitor type 2 / E. K. Kruithof, M. S. Baker, C. L. Bunn // *Blood*. – 1995. – Vol. 86, № 11. – P. 4007 – 4024.
98. Leukemia inhibitory factor promote trophoblast invasion via urokinase– type plasminogen activator receptor in preeclampsia / Q. Zheng, K. Dai, X. Cui, M. Yu, X. Yang, B. Yan, Sh. Liu, Q. Yan // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2016. – Vol. 80. – P. 102– 108.
99. Lisonkova, S. Incidence of preeclampsia: risk factors and outcomes associated with early- versus late-onset disease / S. Lisonkova, K.S. Joseph // *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 2013. – Vol. 209, № 6. – P. 544.e1 – 544.e12.
100. Localization and significance of urokinase plasminogen activator and its receptor in placental tissue from intrauterine, ectopic and molar pregnancies / C. Floridon, O. Nielsen, B. Holund, L. Sunde, J. G. Westergaard, S.G. Thomsen, B. Teisner // *Placenta*. – 1999. – Vol. 20, № 8. – P. 711 – 721.
101. Long-term mortality risk and life expectancy following recurrent hypertensive disease of pregnancy / L. H. Theilen, H. Meeks, A. Fraser, M. S. Esplin, K. R. Smith, M. W. Varner // *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 2018. – Vol. 219, № 1. – P. 107.e1 – 107.e6.
102. Mandruzzato, G. P. The clinical significance of absent or reverse end– diastolic flow in the fetal aorta and umbilical artery / G. P. Mandruzzato, P. Bogatti, L. Fischer, C. Gigli // *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. – 1991. – Vol. 1, № 3. – P. 192 – 196.
103. Maternal age and incidence of low birth weight at term: a population study / K. S. Lee, R. M. Ferguson, M. Corpuz, L. M. Gartner // *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 1988. – Vol. 158, № 1. – P. 84 – 89.
104. Maternal and fetal HL-G 14 bp gene polymorphism in pregnancy– induced hypertension, preeclampsia, intrauterine growth restricted and normal pregnancies / Ch.

Mandò, P. Pileri, M.I. Mazzocco, D. Lattuada, A. Zolin, M. Plebani, M. Massari, S. Calabrese, S. Milani, I. Cetin // 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, № 9. – P. 1509 – 1514.

105. Maternal cardiovascular profiling in the first trimester of pregnancies complicated with gestation– induced hypertension or fetal growth retardation: a pilot study / J. Oben, K. Tomsin, T. Mesens, A. Staelens, G. Molenberghs, W. Gyselaers // 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, № 16. – P. 1646 – 1651.

106. Maternal placental vasculopathy and infection: two distinct subgroups among patients with preterm labor and preterm ruptured membranes / F. Arias, L. Rodriguez, S.C. Rayne, F. T. Kraus // American Journal of Obstetrics & Gynecology. – 1993. – Vol. 168, № 2. – P. 585 – 591.

107. Maternal risk factors for hypertensive disorders in pregnancy: a multivariate approach / L. C. Y. Poon, N. A. Kametas, T. Chelemen, A. Leal, K. H. Nicolaides // Journal of Human Hypertension. – 2010. – Vol. 24, № 2. – P. 104 – 110.

108. Maternal/newborn VEGF– C936T interaction and its influence on the risk, severity and prognosis of preeclampsia, as well as on the maternal angiogenic profile / L. M. Procopciuc, G. Caracostea, G. Zaharie, F. Stamatian // 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, № 17. – P. 1754 – 1760.

109. Mayhew, T. M. Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. III. Changes in complicated pregnancies / T. M. Mayhew, D. S. Charnock-Jones, P. Kaufmann // Placenta. – 2004. – Vol. 25, № 2– 3. – P. 127 – 139.

110. Molecular pathology: the molecular basis of human disease / ed. W. B. Coleman, G. J. Tsongalis. – New York : Academic Press, 2018. – 802 p.

- 111.Morgan, J. A. Association of plasminogen activator inhibitor-type 1 (-675 4G/5G) polymorphism with pre-eclampsia: systematic review / J. A. Morgan, S. Bombell, W. McGuire // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, № 2. – P. e56907.
- 112.Optimizing the definition of intrauterine growth restriction: the multicenter prospective PORTO Study / J. Unterscheider, S. Daly, M. P. Geary, M. M. Kennelly, F. M. McAuliffe, K. O'Donoghue, A. Hunter, J. J. Morrison, G. Burke, P. Dicker, E. C. Tully, F. D. Malone // American Journal of Obstetrics & Gynecology. – 2013. – Vol. 208, № 4. – P. 290.e1 –e6.
- 113.Osmond, C. Fetal, infant, and childhood growth are predictors of coronary heart disease, diabetes, and hypertension in adult men and women / C. Osmond, D. J. Barker // Environmental Health Perspectives. – 2000. – Vol. 108 – P. 545 – 553.
- 114.Ounsted, M. Risk factors associated with small– for– dates and large– for– dates infants / M. Ounsted, V. A. Moar, A. Scott // BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology. – 1985. – Vol. 92, № 3. – P. 226 – 232.
- 115.Outcomes of subsequent pregnancy after first pregnancy with early– onset preeclampsia / B. B. van Rijn, L. B. Hoeks, M. L. Bots, A. Franx, H. W. Bruinse // American Journal of Obstetrics & Gynecology. – 2006. – Vol. 195, № 3. – P. 723 – 728.
- 116.Pericellular-acting proteases in human first trimester decidua / M. Plaisier, P. Koolwijk, F. Willems, F. M. Helmerhorst, V. W. M. van Hinsbergh // Molecular Human Reproduction. – 2008. – Vol. 14, № 1. – P. 41 – 51.
- 117.Perinatal complications and long-term neurodevelopmental outcome of infants with intrauterine growth restriction / A.-K. von Beckerath, M. Kollmann, Ch. Rotky– Fast, E. Karpf, U. Lang, Ph. Klaritsch // American Journal of Obstetrics & Gynecology. – 2013. – Vol. 208, № 2. – P. 130.e1– e6.
- 118.Physiology of amniotic fluid volume regulation / M. H. Beall, J. P. H. M. van den Wijngaard, M. J. C. van Gemert, M. G. Ross // Placenta. – 2007. – Vol. 28, № 8-9. – P. 824 – 832.
- 119.Pijnenborg, R. Deep trophoblast invasion and spiral artery remodelling in the placental bed of the chimpanzee / R. Pijnenborg, L. Vercruysse, A.M. Carter // Placenta. – 2011. – Vol. 32, № 5. – P.400 – 408.

120. Placental endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathophysiology of unexplained intrauterine growth restriction and early onset preeclampsia / G. J. Burton, H.-W. Yung, T. Cindrova-Davies, D. S. Charnock-Jones // *Placenta*. – 2009. – Vol. 30 Suppl A. – P. S43 – S48.
121. Placental expression of proteases and their inhibitors in patients with HELLP syndrome / S. P. von Steinburg, A. Kruger, Th. Fischer, K.-Th. M. Schneider, M. Schmitt // *Biological Chemistry*. – 2009. – Vol. 390, № 11. – P. 1199 – 1204.
122. Placental pathology suggesting that preeclampsia is more than one disease / D. B. Nelson, M. S. Ziadie, D. D. McIntire, B. B. Rogers, K. J. Leveno // *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 2014. – Vol. 210, № 1. – P. 66.e1 – 66.e7.
123. Plasmin-dependent elimination of the growth– factor– like domain in urokinase causes its rapid cellular uptake and degradation / A. Poliakov, V. Tkachuk, T. Ovchinnikova, N. Potapenko, S. Bagryantsev, V. Stepanova // *Biochemical Journal*. – 2001. – Vol. 355, № Pt 3. – P. 639 – 645.
124. PLAUR polymorphisms and lung function in UK smokers / C. E. Stewart, I. P. Hall, S. G. Parker, M. F. Moffat, A. J. Wardlaw, M. J. Connolly, C. Ruse, I. Sayers // *BMC Medical Genetics*. – 2009. – Vol. 10. – P. 112.
125. Polymorphisms in maternal and fetal genes encoding for proteins involved in extracellular matrix metabolism alter the risk for small– for– gestational– age / D. R. Velez Edwards, R. Romero, J. P. Kusanovic, S. S. Hassan, Sh. Mazaki-Tovi, E. Vaisbuch, Ch. J. Kim, O. Erez, T. Chaiworapongsa, B. D. Pearce, J. Bartlett, L. A. Friel, B. A. Salisbury, M. K. Anant, G. F. Vovis, M. S. Lee, R. Gomez, E. Behnke, E. Oyarzun, G. Tromp, R. Menon, S. M. Williams // *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, № 2. – P. 362 – 380.
126. Polymorphisms in the fibrinolytic pathway genes and the risk of recurrent spontaneous abortion / P. H. Andraweera, G. A. Dekker, S. D. Thompson, R. C. Nowak, R. W. Jayasekara, V. H. W. Dissanayake, C. T. Roberts // *Reproductive BioMedicine Online*. – 2014. – Vol. 29, № 6. – P. 745 – 751.

127. Polymorphisms of Platelet Glycoprotein Receptors and Cell Adhesion Molecules in Fetuses with Fetal Growth Restriction and Their Mothers as Detected with Pyrosequencing / M. Simou, E. Kouskouni, N. Vitoratos, E. Economou, G. Creatsas // *In Vivo*. – 2017. – Vol. 31, № 2. – P. 243 – 249.
128. Poon, L.C. Screening and Prevention of Preeclampsia / L.C. Poon, D. Sahota // *Maternal-Fetal Medicine*. – 2019. – Vol. 1, № 1. – P. 25 – 30.
129. Preeclampsia: long– term consequences for vascular health / L. M. Amaral, M. W. Cunningham, Jr, D. C. Cornelius, B. LaMarca // *Vascular health and risk management*. – 2015. – Vol. 11. – P. 403 – 415.
130. Pregnancy Weight Gain Before Diagnosis and Risk of Preeclampsia: A Population-Based Cohort Study in Nulliparous Women / J. A. Hutcheon, O. Stephansson, S. Cnattingius, L. M. Bodnar, A. K. Wikström, K. Johansson // *Hypertension*. – 2018. – Vol. 72, № 2. – P. 433 – 441.
131. Proteases and their inhibitors are indicative in gestational disease / M. Kolben, A. Lopens, J. Bläser, K. Ulm, M. Schmitt, K. T. Schneider, H. Tschesche // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. – 1996. – Vol. 68, № 1– 2. – P. 59– 65.
132. Protein structure and membrane anchorage of the cellular receptor for urokinase– type plasminogen activator / M. Ploug, N. Behrendt, D. Løber, K. Danø // *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. – 1991. – Vol. 17, № 3. – P. 183 – 193.
133. Quebec platelet disorder is linked to the urokinase plasminogen activator gene (PLAU) and increases expression of the linked allele in megakaryocytes / M. Diamandis, A. D. Paterson, J. M. Rommens, D. Kika Veljkovic, J. Blavignac, D. E. Bulman, J. S. Wayne, F. Derome, G. E. Rivard, C. P. M. Hayward // *Blood*. – 2009. – Vol. 113, № 7. – P. 1543 – 1546.
134. Racial/ethnic differences in pregnancy– related hypertensive disease in nulliparous women / G. Ghosh, J. Grewal, T. Männistö, P. Mendola, Z. Chen, Y. Xie, S. K. Laughon // *Ethnicity & Disease*. – 2014. – Vol. 24, № 3. – P. 283 – 289.
135. Recurrence of pre-eclampsia across generations: exploring fetal and maternal genetic components in a population-based cohort / R. Skjaerven, L. J. Vatten, A. J. Wilcox, Th.

Rønning, L. M. Irgens, R. Terje Lie // *British Medical Journal*. – 2005. – Vol. 331, № 7521. – P. 877.

136.Redline, R.W. Classification of placental lesions / R.W. Redline // *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 2015. – Vol. 213, № 4 Suppl. – P. S21 – S28.

137.Regulation of extravillous trophoblast invasion by uterine natural killer cells is dependent on gestational age / G. E. Lash, H. A. Otun, B. A. Innes, K. Percival, R. F. Searle, S. C. Robson, J. N. Bulmer // *Human Reproduction*. – 2010. – Vol. 25, № 5. – P. 1137 – 1145.

138.Regulation of proteinases during mouse peri-implantation development: urokinase-type plasminogen activator expression and cross talk with matrix metalloproteinase 9 / M. G. Martínez-Hernández, L. A. Baiza-Gutman, A. Castillo-Trápala, D. Randall Armant // *Reproduction*. – 2011. – Vol. 141, № 2. – P. 227 – 239.

139.Rheological and physiological consequences of conversion of the maternal spiral arteries for uteroplacental blood flow during human pregnancy / G. J. Burton, A. W. Woods, E. Jauniaux, J. C. P Kingdom // *Placenta*. – 2009. – Vol. 30, № 6. – P. 473 – 482.

140.Risk of ischemic placental disease is increased following in vitro fertilization with oocyte donation: a retrospective cohort study / A. M. Modest, K. M. Johnson, S. A. Karumanchi, N. Resetkova, B. C. Young, M. P. Fox, L. A. Wise, M. R. Hacker // *Journal of assisted reproduction and genetics*. – 2019. – Vol. 36, № 9. – P. 1917 – 1926.

141.Risk of placental dysfunction disorders after prior miscarriages: a population– based study / J. Gunnarsdottir, O. Stephansson, S. Cnattingius, H. Akerud, A.-K. Wikström // *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 2014. – Vol. 211, № 1. – P. 34.e1 – P. 34.e8.

142.Roberts, J. M. Pathophysiology of ischemic placental disease / J. M. Roberts // *Semin. Perinatol*. – 2014. – Vol. 38, № 3. – P. 139 – 145.

143.Roberts, J. M. The two-stage model of preeclampsia: variations on the theme / J. M. Roberts, C. A. Hubel // *Placenta*. – 2009. – Vol. 30, Suppl A. – P. S32 – 37.

144.Rs2227564 [электронный ресурс] / Режим доступа: <https://www.snpedia.com/index.php/Rs2227564>.

145.Rs4065. [электронный ресурс] / Режим доступа: <https://www.snpedia.com/index.php/Rs4065>.

146.Schöni-Affolter, F. Online course in embryology for medicine students developed by the universities of Fribourg, Lausanne and Bern (Switzerland) with the support of the Swiss Virtual Campus Human Embriology [электронный ресурс] / F. Schöni-Affolter, C. Dubui-Grieder, E. Strauch. – 2008. Режим доступа: <http://www.embryology.ch/indexen.html>.

147.Screening for fetal growth restriction using fetal biometry combined with maternal biomarkers / F. Gaccioli, I. L. M. H. Aye, U. Sovio, D. S. Charnock-Jones, G. C. S. Smith // American Journal of Obstetrics & Gynecology. – 2018. – Vol. 218, № 2S. – P. S725 – S737.

148.Serpins in thrombosis, hemostasis and fibrinolysis / J. C. Rau, L. M. Beaulieu, J. A. Hungtington, F. C. Church // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2007. – Vol. 5. – P. 102 – 115.

149.Sidenius, N. Shedding and cleavage of the urokinase receptor (uPAR): identification and characterization of uPAR fragments in vitro and in vivo / N. Sidenius, C. F. Sier, F. Blasi // FEBS Letters. – 2000. – Vol. 475, № 1. – P. 52 – 56.

150.Single-nucleotide polymorphisms in the KDR gene in pregnancies complicated by gestational hypertensive disorders and small-for-gestational-age infants / P. H. Andraweera, G. A. Dekker, S. D. Thompson, C. T. Roberts // Reproductive Sciences. – 2012. – Vol. 19, № 5. – P. 547 – 554.

151.Small-for-Gestational-Age Fetus, Investigation and Management // London: Royal College of obstetrics and Gynecologists, 2013. – 34 p.

152.Smith, G. C. S. First– trimester determination of complications of late pregnancy / G. C. S. Smith // JAMA. – 2010. – Vol. 303, № 6. – P. 561 – 562.

153.Smith, H. W. Regulation of cell signalling by uPAR / H. W. Smith, C. J. Marshall // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2010. – Vol. 11, № 1. – P. 23 – 36.

154.SNPStats: a web tool for the analysis of association studies / X. Solé, E. Guinó, J. Valls, R. Iniesta, V. Moreno // Bioinformatics. – 2006. – Vol. 22, № 15. – P. 1928 – 1929.

155. Song, G. G. Associations between vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and pre-eclampsia susceptibility: a meta-analysis / G. G. Song, J.-H. Kim, Y. H. Lee // *Immunological Investigations*. – 2013. – Vol. 42, № 8. – P. 749 – 762.
156. Stahl, A. The urokinase-type plasminogen activator receptor, a GPI-linked protein, is localized in caveolae / A. Stahl, B. M. Mueller // *Journal of Cell Biology*. – 1995. – Vol. 129, № 2. – P. 335 – 344.
157. Stefansson, S. The serpin PAI-1 inhibits cell migration by blocking integrin alpha V beta 3 binding to vitronectin / S. Stefansson, D. A. Lawrence // *Nature*. – 1996. – Vol. 383, № 6599. – P. 441 – 443.
158. Structure of human urokinase plasminogen activator in complex with its receptor / Q. Huai, A.P. Mazar, A. Kuo, G.C. Parry, D.E. Shaw, J. Callahan, Y. Li, C. Yuan, Ch. Bian, L.Chen, B. Furie, B.C. Furie, D.B. Cines, M. Huang // *Science*. – 2006. – Vol. 311, № 5761. – P. 656 – 659.
159. Tandu-Umba, B. Association of maternal anemia with other risk factors in occurrence of Great obstetrical syndromes at university clinics, Kinshasa, DR Congo / B. Tandu-Umba, A. M. Mbangama // *BMC Pregnancy Childbirth*. – 2015. – Vol. 15. – P. 183.
160. Teesalu, T. Embryo implantation in mouse: fetomaternal coordination in the pattern of expression of uPA, uPAR, PAI-1 and alpha 2MR/LRP genes / T. Teesalu, F. Blasi, D. Talarico // *Mechanisms of Development*. – 1996. – Vol. 56, № 1-2. – P. 103 – 116.
161. The «Great Obstetrical Syndromes» are associated with disorders of deep placentation / I. Brosens, R. Pijnenborg, L. Vercruysse, R. Romero // *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 2011. – Vol. 204, № 3. – P. 193 – 201.
162. The association of factor V leiden and prothrombin gene mutation and placenta-mediated pregnancy complications: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies / M. A. Rodger, M. T. Betancourt, P. Clark, P. G. Lindqvist, D. Dizon-Townson, J. Said, U. Seligsohn, M. Carrier, O. Salomon, I. A. Greer // *PLOS Medicine*. – 2010. – Vol. 7, № 6. – P. e1000292.

163. The imbalance of plasminogen activators and inhibitor in preeclampsia / M. Gao, M. Nakabayashi, M. Sakura, Y. Takeda // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. – 1996. – Vol. 22, № 1. – P. 9 – 16.
164. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) initiative on preeclampsia: A pragmatic guide for first– trimester screening and prevention / L. C. Poon, A. Shennan, J. A. Hyett, A. Kapur, E. Hadar, H. Divakar, F. McAuliffe, F. da Silva Costa, P. von Dadelszen, H. D. McIntyre, A. B. Kihara, G. C. Di Renzo, R. Romero, M. D'Alton, V. Berghella, K. H. Nicolaides, M. Hod // *International journal of gynaecology and obstetrics : the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*. – 2019. – Vol. 145 Suppl, № Suppl 1. – P. 1 – 33.
165. The mechanism of cancer-mediated conversion of plasminogen to the angiogenesis inhibitor angiostatin / S. Gately, P. Twardowski, M. S. Stack, D. L. Cundiff, D. Grella, F. J. Castellino, J. Enghild, H. C. Kwaan, F. Lee, R. A. Kramer, O. Volpert, N. Bouck, G. A. Soff // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1997. – Vol. 94, № 20. – P. 10868 – 10872.
166. The PAI-1 4G/5G polymorphism is not associated with an increased risk of adverse pregnancy outcome in asymptomatic nulliparous women / J. M. Said, R. Tsui, A. J. Borg, J. R. Higgins, E. K. Moses, S. P. Walker, P. T. Monagle, S. P. Brennecke // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2012. – Vol. 10, № 5. – P. 881 – 886.
167. The placental factor in early- and late- onset normotensive fetal growth restriction / M. Kovo, L. Schreiber, A. Ben-Haroush, G. Cohen, E. Weiner, A. Golan, J. Bar // *Placenta*. – 2013. – Vol. 34, № 4. – P. 320 – 324.
168. The prognostic value of the suPARnostic ELISA in HIV-1 infected individuals is not affected by uPAR promoter polymorphisms / U. V. Schneider, R. L. Nielsen, C. Pedersen, J. Eugen-Olsen // *BMC Infectious Diseases*. – 2007. – Vol. 7. – P. 134.
169. The receptor for urokinase-type plasminogen activator is not essential for mouse development or fertility / T. H. Bugge, T. T. Suh, M. J. Flick, C. C. Daugherty, J. Rømer, H. Solberg, V. Ellis, K. Danø, J. L. Degen // *Journal of Biological Chemistry*. – 1995. – Vol. 270, № 28. – P. 16886 – 16894.

170. The role of vascular smooth muscle cell apoptosis and migration during uterine spiral artery remodeling in normal human pregnancy / J. N. Bulmer, B. A. Innes, J. Levey, S. C. Robson, G. E. Lash // *FASEB Journal*. – 2012. – Vol. 26, № 7. – P. 2975 – 2985.
171. The soluble form of urokinase receptor promotes angiogenesis through its Ser88-Arg-Ser-Arg-Tyr92 chemotactic sequence / K. Bifulco, I. Longanesi-Cattani, M. Gala, G. D. I. Carluccio, M. T. Masucci, V. Pavone, L. Lista, C. Arra, M. P. Stoppelli, M.V. Carriero // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2010. – Vol. 8, № 12. – P. 2789 – 2799.
172. The Urokinase Plasminogen Activator (uPA) System in Uterine Natural Killer Cells in the Placental Bed During Early Pregnancy / K. Naruse, G. E. Lash, J. N. Bulmer, B. A. Innes, H. A. Otun, R. F. Searle, S. C. Robson // *Placenta*. – 2009. – Vol. 30, № 5. – P. 398 – 404.
173. The urokinase receptor (CD87) facilitates CD11b/CD18– mediated adhesion of human monocytes / R. G. Sitrin, R. F. Todd 3rd, E. Albrecht, M. R. Gyetko // *Journal of Clinical Investigation*. – 1996. – Vol. 97, № 8. – P. 1942 – 1951.
174. The urokinase receptor (CD87) represents a central mediator of growth factor– induced endothelial cell migration / M. Poettler, M. Unseld, J. Mihaly– Bison, P. Uhrin, F. Koban, B. R. Binder, Ch. C. Zielinski, G. W. Prager // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2012. – Vol. 108, № 2. – P. 357 – 366.
175. The urokinase receptor is required for human monocyte chemotaxis in vitro / M. R. Gyetko, R. F. Todd 3rd, C. C. Wilkinson, R. G. Sitrin // *Journal of Clinical Investigation*. – 1994. – Vol. 93, № 4. – P. 1380 – 1387.
176. The urokinase-type plasminogen activator system in cancer metastasis: a review / P. A. Andreasen, L. Kjøller, L. Christensen, M. J. Duffy // *International Journal of Cancer*. – 1997. – Vol. 72, № 1. – P. 1 – 22.
177. Tkachuk, V. A. Regulation of arterial remodeling and angiogenesis by urokinase– type plasminogen activator / V. A. Tkachuk, O. S. Plekhanova, Y. V. Parfyonova // *Canadian journal of physiology and pharmacology*. – 2009. – Vol. 87, №. 4. – P. 231 – 251.

178. Transcriptional regulation of urokinase-type plasminogen activator receptor by hypoxia-inducible factor 1 is crucial for invasion of pancreatic and liver cancer / P. Büchler, H. A Reber, J. S. Tomlinson, O. Hankinson, G. Kallifatidis, H. Friess, I. Herr, O.J. Hines // *Neoplasia*. – 2009. – Vol. 11, № 2. – P. 196 – 206.
179. Uhrin, P. uPAR: a modulator of VEGF-induced angiogenesis / P. Uhrin, J. M. Breuss // *Cell Adhesion & Migration*. – 2013. – Vol. 7, № 1. – P. 23 – 26.
180. Urokinase plasminogen activator (uPA) and its receptor (uPAR) in gestational tissues; Measurements and clinical implications / M. Uszyński, M. Perlik, W. Uszyński, E. Żekanowska // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. – 2004. – Vol. 114, № 1. – P. 54 – 58.
181. Urokinase plasminogen activator cleaves its cell surface receptor releasing the ligand-binding domain / G. Høyer-Hansen, E. Rønne, H. Solberg, N. Behrendt, M. Ploug, L. R. Lund, V. Ellis, K. Danø // *Journal of Biological Chemistry*. – 1992. – Vol. 267, № 25. – P. 18224 – 18229.
182. Urokinase plasminogen activator receptor polymorphisms and airway remodelling in asthma / D. Ierodiakonou, M. A. Portelli, D. S. Postma, G. H. Koppelman, J. Gerritsen, N. H. Ten Hacken, W. Timens, H. M. Boezen, J. M. Vonk, I. Sayers // *The European respiratory journal*. – 2016. – Vol. 47, № 5. P. – 1568 – 1571.
183. Urokinase receptor is up-regulated in endothelial cells and macrophages associated with fibrinoid deposits in the human placenta / C. Pierleoni, M. Castellucci, P. Kaufmann, L. R. Lund, B. Schnack Nielsen // *Placenta*. – 2003. – Vol. 24, № 6. – P. 677 – 685.
184. Urokinase-type plasminogen activator receptors associate with beta1 and beta3 integrins of fibrosarcoma cells: dependence on extracellular matrix components / W. Xue, I. Mizukami, R. F. Todd 3rd, H. R. Petty // *Cancer Research*. – 1997. – Vol. 57, № 9. – P. 1682 – 1689.
185. Variants in the fetal genome near FLT1 are associated with risk of preeclampsia / R. McGinnis 1, V. Steinthorsdottir, N. O. Williams, G. Thorleifsson, S. Shooter, S. Hjartardottir, S. Bumpstead, L. Stefansdottir, L. Hildyard, J.K. Sigurdsson, J.P. Kemp, G.B. Silva, L. C. V Thomsen, T. Jackeline, E. Kajantie, S. Chappell, N. Kalsheker, A. Moffett, S. Hiby, W. K. Lee, Sa. Padmanabhan, N. A B Simpson, V. A Dolby, E. Staines–

Urias, S. M Engel, A. Hagan, L. Trogstad, G. Svyatova, N. Zakhidova, D. Najmutdinova, FINNPEC Consortium; GOPEC Consortium; A. F Dominiczak, H. K. Gjessing, J. P Casas, F. Dudbridge, J. J Walker, F. Broughton Pipkin, U. Thorsteinsdottir, R. T Geirsson, D. A Lawlor, A.-C. Iversen, P. Magnus, H. Laivuori, K. Stefansson, L. Morgan // *Nature genetics*. – 2017. – Vol. 49, № 8. – P. 1255 – 1260.

186. Verlohren, S. Angiogenic growth factors in the diagnosis and prediction of pre-eclampsia / S. Verlohren, H. Stepan, R. Dechend // *Clinical Science*. – 2012. – Vol. 122, № 2. – P. 43 – 52.

187. WHO Recommendations for Prevention and Treatment of Pre-Eclampsia and Eclampsia / Geneva: WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee, 2011. – 38 p.

188. Williams, P. J. The genetics of pre-eclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy / P. J. Williams, F. B. Pipkin // *Best Practice & Research: Clinical Obstetrics & Gynaecology*. – 2011. – Vol. 25, № 4. – P. 405 – 417.