

КЛИНИКО-ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МИКРОВЕЗИКУЛЯРНОГО СОСТАВА ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БЕРЕМЕННЫХ С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

МУСТАФИН ИЛЬШАТ ГАНИЕВИЧ, ORCID ID: 0000-0001-9683-3012, докт. мед. наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России. Тел.: +7(843) 236-28-89, Казань, Россия, 420015, ул. Бутлерова 49.

E-mail: ilshat64@mail.ru

КУРМАНБАЕВ ТИМУР ЕРЛАНОВИЧ, ORCID ID: 0000-0003-0644-5767, канд. мед. наук, старший преподаватель кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны России, Санкт-Петербург, Россия, 194044, ул. Клиническая, д. 6. Тел.: +7 (812) 667-71-46.

E-mail: timka_rus@inbox.ru

ЮПАТОВ ЕВГЕНИЙ ЮРЬЕВИЧ, ORCID ID: 0000-0001-8945-8912, канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой акушерства и гинекологии Казанской государственной медицинской академии – филиала ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, Россия, 420015, ул. Бутлерова, д. 36; доцент кафедры акушерства и гинекологии, Институт Фундаментальной Медицины и Биологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия, 420012, ул. Карла Маркса, д. 74. Тел.: +7(843)236-68-92. E-mail: e.yupatov@mcclinics.ru

НАБИУЛЛИНА РОЗА МУЛЛАЯНОВНА, ORCID ID: 0000-0001-5942-5335, канд. мед. наук, доцент кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Россия, 420015, ул. Бутлерова, д. 49. Тел.: +7(843) 236-28-89.

E-mail: nabiuullina.rosa@yandex.ru

САФИНА НЕЛЛИ АХМЕТОВНА, ORCID ID: 0000-0002-2231-3716, канд. биол. наук, ассистент кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Россия, 420015, ул. Бутлерова, д. 49. Тел.: +7(843) 236- 28- 89. E-mail: nellysafina@mail.ru

МУХАМЕТЗЯНОВА ЗАРИНА РАМИСОВНА, ORCID ID: 0000-0002-7525-7455, аспирант кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Россия, 420015, ул. Бутлерова, д. 49. Тел.: +7(843) 236-28-89.

E-mail: zarinam75@gmail.com

САМИГУЛЛИН ДМИТРИЙ ВЛАДИМИРОВИЧ, ORCID ID: 0000-0001-6019-5514, канд. биол. наук, заведующий лабораторией биофизики синаптических процессов Казанский институт биохимии и биофизики. ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия, 420111, ул. Лобачевского, 2/31; Казанский национальный исследовательский технический университет им. А.Н. Туполева, Казань, Россия, 420111, ул. К. Маркса, 10. E-mail: samid75@mail.ru

ФРЕДЕРИКС ЕЛЕНА ВАДИМОВНА, ORCID ID: 0000-0002-2513-6209 канд. мед. наук, врач акушер-гинеколог, главный врач СПб ГБУЗ «Родильный дом №13», Санкт-Петербург, Россия, 191124, ул. Костромская, д.4. E-mail: evfrederiks@gmail.com

ЛЕОНОВА МАРГАРИТА ДМИТРИЕВНА, ORCID ID: 0000-0002-3813-2995, врач акушер-гинеколог, заведующая родильным отделением СПб ГБУЗ «Родильный дом №13», Санкт-Петербург, Россия, 191124, ул. Костромская, д.4. E-mail: _margarita_bk.ru.

ГАВРИЛОВА ВИКТОРИЯ БОРИСОВНА, ORCID ID: 0009-0008-8002-645X, клинический ординатор по направлению клиническая лабораторная диагностика, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия, 420012, ул. Карла Маркса, д.74. E-mail: viktoriyag24@gmail.com

ЖОГЛО АЛЕКСАНДР ОЛЕГОВИЧ, ORCID ID: 0000-0001-9660-7368, клинический ординатор кафедры акушерства, гинекологии и репродуктологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия, 197022, ул. Льва Толстого, 6-8. E-mail: zhoglo_95@mail.ru

Реферат. Введение. Преэклампсия – осложнение беременности, характеризующееся наличием артериальной гипертензии после 20 недель беременности, протеинурией и/или отеками. Патогенез преэклампсии до сегодняшнего времени остается невыясненным. Рядом исследований показана важная роль микровезикул в патогенезе различных патологических состояний. Актуальным является вопрос участия микровезикул в патогенезе преэклампсии. Учитывая все сказанное выше, нами предпринята попытка рассмотреть патогенез преэклампсии с позиции клинко-лабораторных данных. **Цель исследования:** установить роль циркулирующих в периферической крови микровезикул, их количества и фенотипа в патогенезе преэклампсии. **Материалы и методы.** Проведено одномоментное когортное исследование, включающее в себя 105 беременных: 30 беременных с тяжелой преэклампсией (группа 1) и 35 с умеренной преэклампсией (группа 2), 40 беременных без гипертензивного синдрома (группа 3) на сроке гестации от 29–40 нед. Все пациентки родоразрешались оперативным путем (Лапаротомия по Джойл-Коену, кесарево сечение в нижнем сегменте матки). Всем беременным проводился забор крови для определения количества и фенотипа микровезикул (методом проточной цитофлуориметрии), лазерной сканирующей микроскопии сгустка с целью подтверждения наличия микровезикул плацентарного происхождения, содержащих тканевой фактор, а также липополисахарида грамотрицательных микроорганизмов. **Результаты и обсуждение.** В группе пациенток с тяжелой преэклампсией обнаружено статистически значимое увеличение количества плацентарных, эритроцитарных микровезикул, микровезикул с тканевым фактором, а также липополисахаридом по сравнению с группой пациенток с умеренной преэклампсией и беременными без гипертензивного синдрома. В группе пациенток с умеренной преэклампсией обнаружено статистически

значимое увеличение количества микровезикул с тканевым фактором и липополисахаридом по сравнению с беременными без гипертензивного синдрома. Выявленные в результате исследования данные подтверждают факт, что тяжелая преэклампсия является отдельной нозологической формой, вероятнее всего тромботической микроангиопатии, связанной с беременностью. **Выводы.** Выявленные в результате исследования данные свидетельствуют о необходимости проведения дальнейших исследований с целью уточнения роли микровезикул в патогенезе преэклампсии.

Ключевые слова: преэклампсия, микровезикулы, тромботическая микроангиопатия, проточная цитофлуорометрия.

Для ссылки: Мустафин И.Г., Курманбаев Т.Е., Юпатов Е.Ю., [и др.]. Клинико-патофизиологические аспекты микровезикулярного состава периферической крови у беременных с преэклампсией // Вестник современной клинической медицины. – 2024. – Т. 17, вып. 3. – С.36–43. DOI: 10.20969/VSKM.2024.17(3).36-43.

CLINICAL AND PATHOPHYSIOLOGICAL ASPECTS OF MICROVESICULAR COMPOSITION OF PERIPHERAL BLOOD IN PREGNANT WOMEN WITH PREECLAMPSIA

MUSTAFIN ILSHAT G., ORCID ID: 0000-0001-9683-3012, Dr. sc. med., Professor, Department of Biochemistry and Clinical Laboratory Diagnostics, Kazan State Medical University, 49 Butlerov str., 420012 Kazan, Russia. E-mail: ilshat64@mail.ru

KURMANBAEV TIMUR E., ORCID ID: 0000-0003-0644-5767, Cand. sc. med., Senior Lecturer, Department of Obstetrics and Gynecology, S.M. Kirov Military Medical Academy, 6 Klinicheskaya str., 194044 Saint Petersburg, Russia. E-mail: timka_rus@inbox.ru

YUPATOV EVGENII YU., ORCID ID: 0000-0001-8945-8912, Cand. sc. med., Associate Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Kazan State Medical Academy, 36 Butlerova str., 420015 Kazan, Russia; Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University, 74 K. Marx str., 420012 Kazan, Russia. E-mail: e.yupatov@mcclinics.ru

NABIULLINA ROSA M., ORCID ID: 0000-0001-5942-5335, Cand. sc. med., Assistant Professor, Head of the Department of Biochemistry and Clinical Laboratory Diagnostics, Kazan State Medical University, 49 Butlerov str., 420012 Kazan, Russia. E-mail: nabiullina.rosa@yandex.ru

SAFINA NELLY A., ORCID ID: 0000-0002-2231-3716, Cand. sc. biol., Faculty Member, Department of Biochemistry and Clinical Laboratory Diagnostics, Kazan State Medical University, 49 Butlerov str., 420012 Kazan, Russia. E-mail: nellyasafina@mail.ru

MUKHAMETZANOVA ZARINA R., ORCID ID: 0000-0002-7525-7455, Postgraduate Student at the Department of Biochemistry and Clinical Laboratory Diagnostics, Kazan State Medical University, 49 Butlerov str., 420012 Kazan, Russia. E-mail: zarinam75@gmail.com

SAMIGULLIN DMITRIY V., ORCID ID: 0000-0001-6019-5514, Cand. sc. biol., Head of the Laboratory of Biophysics and Synaptic Processes, Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences, 2/31 Lobachevsky str., 420111 Kazan, Russia; Institute for Radio-Electronics and Telecommunications, Kazan National Research Technical University named after A. N. Tupolev – KAI, 10 K. Marx str., 420111 Kazan, Russia. E-mail: samid75@mail.ru

FREDERIKS ELENA V., ORCID ID: 0000-0002-2513-6209, Cand. sc. med., Obstetrician-Gynecologist, Chief Physician, Maternity Hospital No. 13, 4 Kostromskaya str., 191124 St. Petersburg, Russia. E-mail: evfrederiks@gmail.com

LEONOVA MARGARITA D., ORCID ID: 0000-0002-3813-2995, Obstetrician-Gynecologist, Head of the Maternity Department, Maternity Hospital No. 13, 4 Kostromskaya str., 191124 St. Petersburg, Russia. E-mail: _margarita_@bk.ru

GAVRILOVA VICTORIA B., ORCID ID: 0009-0008-8002-645X, Clinical Resident in Clinical Laboratory Diagnostics, Kazan (Volga Region) Federal University, 74 K. Marx Str., 420012 Kazan, Russia. E-mail: viktoriyag24@gmail.com

ZHOGLO ALEXANDER O., ORCID ID: 0000-0001-9660-7368, Clinical Resident at the Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 6-8 Lev Tolstoy str., 197022 St. Petersburg, Russia. E-mail: zhoglo_95@mail.ru

Abstract. Introduction. Preeclampsia is a pregnancy complication characterized by the development of arterial hypertension after 20 weeks of gestation, proteinuria, and/or oedemas. The pathogenesis of preeclampsia remains unclear to this day. Some studies have shown the importance of microvesicles in the pathogenesis of various pathological conditions. Involvement of microvesicles in the preeclampsia pathogenesis is a relevant issue. Taking into account all of the above, we have made an attempt to consider the pathogenesis of preeclampsia from the perspective of clinical and laboratory data. **Aim.** To establish the importance of microvesicles circulating in peripheral blood, their quantity and phenotype in the pathogenesis of preeclampsia. **Materials and Methods.** A one-stage cohort study was conducted, including 105 pregnant women: 30 pregnant women with severe preeclampsia (group 1), 35 pregnant women with mild preeclampsia (group 2), and 40 pregnant women without hypertensive syndrome (group 3), at 29–40 weeks of gestation. All patients were delivered surgically (Joel-Cohen laparotomy, cesarean section in the lower segment). All pregnant women underwent blood sampling to define the number and phenotypes of microvesicles (using flow cytometry) and laser scanning microscopy of the clot to confirm the presence of microvesicles of placental origin containing tissue factor, as well as the lipopolysaccharide of gram-negative microorganisms. **Results and Discussion.** In the group of patients with severe preeclampsia, a statistically significant increase was found in the number of placental, erythrocyte microvesicles, microvesicles with the tissue factor and lipopolysaccharide, compared to the group of patients with mild preeclampsia and pregnant women without hypertensive syndrome. In the group of patients with mild preeclampsia, a statistically significant increase was found in microvesicles with tissue factor and lipopolysaccharide, compared to pregnant women without hypertensive syndrome. The data obtained from the study confirm the fact that severe preeclampsia is a separate nosological entity, most likely pregnancy-associated thrombotic microangiopathy.

Conclusions. The data obtained from the study indicate the need for further research to clarify the importance of microvesicles in the preeclampsia pathogenesis.

Keywords: preeclampsia, microvesicles, thrombotic microangiopathy, flow cytometry.

For references: Mustafin IG, Kurmanbaev TE, Yupatov EYu, et al. Clinical and pathophysiological aspects of microvesicular composition of peripheral blood in pregnant women with preeclampsia. The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine. 2024; 17 (3): 36-43. DOI: 10.20969/VSKM.2024.17(3).36-43.

Введение. Преэклампсия (ПЭ) – осложнение беременности, характеризующееся наличием артериальной гипертензии после 20 недель беременности, протеинурией и/или отеками. Патогенез преэклампсии до сегодняшнего времени остается невыясненным, однако, большое значение имеют оксидантный стресс, генерализованная эндотелиальная дисфункция и наличие системного воспаления. При этом, установить первичность того или иного звена патогенеза сложно: генерализованное повреждение эндотелия может наступить в результате системного воспаления и оксидантного стресса, а также воздействия антиангиогенных факторов, таких как растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1, в свою очередь оксидантный стресс может быть следствием системного воспалительного ответа [1].

Длительное время ведущую роль в патогенезе преэклампсии отводилась плаценте. Однако, в настоящее время установлено, что в патогенезе ПЭ принимают участия гены, участвующие в регуляции артериального давления, апоптоза, роста и развития плода, секреции гормонов. При этом наборы генов, участвующих в реализации тяжелой ранней и поздней преэклампсий различные. [2,3].

Следует отметить, что ряд авторов предлагает рассматривать тяжелую преэклампсию как отдельную нозологическую единицу, являющуюся формой тромботической микроангиопатии, связанной с беременностью [4,5].

В настоящее время рядом исследований показана важная роль микровезикул в патогенезе различных патологических состояний, таких как сепсис, артериальная гипертензия, эндометриоз [6,7]. Микровезикулы (МВ) – это субклеточные структуры, формирующиеся при активации или повреждении, некрозе и апоптозе материнских клеток, содержащие фрагменты мембран, биологически активные вещества, факторы транскрипции и участки микро-РНК материнских клеток, по сути выполняющие функции передатчиков сигнала [8]. В крови здоровых людей циркулируют МВ различного происхождения, функции которых определяются их составом, зависящим от типа продуцировавшей их клетки [7,8]. МВ принимают активное участие в процессе гемостаза. Д.М. Зубаировым (1974) установлено, что образование МВ является инициальным в процессе диссеминированного внутрисосудистого свертывания [9]. Актуальным является вопрос участия МВ в патогенезе ПЭ: рядом работ показано, увеличение количества тромбоцитарных, эндотелиальных и плацентарных МВ [10-12].

В настоящее время рядом авторов в качестве триггера системного воспаления при ПЭ рассматривается эндотоксин или липополисахарид (ЛПС), который является основным компонентом наружной мембраны грамотрицательных бактерий,

высвобождающийся при гибели бактерии, а также в процессе жизнедеятельности микроорганизма путем экзоцитоза в виде микровезикул на поверхности наружной мембраны [13]. Источником эндотоксина может быть слизистая оболочка кишечника, ротовая полость и мочевыводящие пути. Известно, что ЛПС вызывает ряд важных биологических эффектов: прямое системное повреждение эндотелия сосудов, повреждение почек, печени, а также стимуляция системного воспалительного ответа. ЛПС стимулирует выброс фактора Виллебранда сосудами печени, способен активировать тромбоциты, а также повышает экспрессию тканевого фактора (ТФ) моноцитами [14-16]. Установлено, что при преэклампсии наблюдается увеличение концентрации и активности ЛПС, а также обнаружена связь между наличием в организме очагов хронического воспаления, этиологическим фактором которых является грамотрицательная флора, и развитием преэклампсии [17-20].

Учитывая все сказанное выше, нами предпринята попытка рассмотреть патогенез ПЭ с позиции клинико-лабораторных данных.

Цель исследования.

Установить роль циркулирующих в периферической крови микровезикул, их количества и фенотипа в патогенезе преэклампсии.

Материалы и методы.

Проведено одномоментное когортное исследование, включающее в себя 105 беременных: 30 беременных с тяжелой ПЭ (группа 1) и 35 с умеренной ПЭ (группа 2), 40 беременных без гипертензивного синдрома (группа 3) на сроке гестации от 29–40 нед.

Всем беременным был выполнен необходимый объем обследования, регламентируемый имеющимися клиническими рекомендациями [1]: общеклинический анализ крови и мочи, биохимический анализ крови, коагулограмма, определение уровня белка в суточной моче, кардиотокография (КТГ), ультразвуковое исследование (УЗИ) плода, доплерометрия пуповинного кровотока.

Все пациентки родоразрешались оперативным путем (Лапаротомия по Джоейл-Коену, кесарево сечение в нижнем сегменте матки). Показанием к оперативному родоразрешению в группах 1 и 2 группе служило прогрессирование симптомов ПЭ и отсутствие условий для родоразрешения через естественные родовые пути, в группе 3 – по акушерским (рубец на матке, ножное предлежание плода) и соматическим показаниям (миопия высокой степени).

Интраоперационная профилактика послеродовых кровотечений в группе 1 проводилась путем введения раствора карбетоцина 0,1 в/в, струйно, раствора транексамовой кислоты 1,0 в/в, струйно, в группе 2 и 3 – введением раствора окситоцина 10 ЕД в/в, струйно. Учет кровопотери проводился гравиметрическим методом.

Всем беременным проводился забор крови для определения количества и фенотипа МВ, лазерной сканирующей микроскопии сгустка с целью подтверждения наличия микровезикул плацентарного происхождения, содержащих тканевой фактор, а также липополисахарида грамотрицательных микроорганизмов.

Для исследования использовалась венозная кровь в объеме 5 мл, взятая из локтевой вены без использования компрессии в пробирки с цитратом натрия 3,2%. Первая порция крови, полученная после венопункции, в объеме 5 мл, утилизировалась.

Критерии включения и исключения.

Критерии включения: в группы 1 и 2 – наличие преэклампсии различной степени тяжести, в группу 3 – отсутствие гипертензивного синдрома; родоразрешение путем операции кесарева сечения.

Критерии исключения: носительство мутаций Лейден и гена протромбина (G20210A); наличие опухолей различной локализации; ожирение – (ИМТ=30 и более); возраст старше 35 лет; курение; варикозная болезнь вен нижних конечностей и малого таза; наличие аутоиммунных и острых воспалительных заболеваний; многоплодная беременность; беременность, наступившая в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий (экстракорпоральное оплодотворение).

Методы исследования.

Проточная цитофлуориметрия. Проточная цитофлуориметрия выполнялась на аппарате BD FACSCanto II, Becton Dickinson and Company (BD Biosciences, США). Для определения фенотипа микровезикул использованы меченные моноклональные

антитела фирм BD Biosciences (США), Cloud-Clone (КНР), Affinity Biosciences (КНР).

Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия. Выполнялась с целью подтверждения наличия МВ с ЛПС, TF, а также плацентарного происхождения на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе Leica TCS SP5 MP (Leica Microsystems, Германия) после образования и предварительной подготовки сгустка. В качестве меток использованы меченные моноклональные антитела фирм BD Biosciences (США), Cloud-Clone (КНР), Affinity Biosciences (КНР).

Этические аспекты. Все беременные дали информированное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных. Протокол исследования утвержден локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» МЗ РФ (протокол № 2 от 15.02.2022).

Статистический анализ. Нормальность распределения данных оценивалась с учетом критерия Шапиро–Уилка. Вычисляли значение средних показателей (M), ошибку среднеквадратичного отклонения (m), проводили расчет t-критерия Стьюдента. Различия в показателях признавались статистически значимыми при $p < 0,05$. Сравнение долей в разных группах сравнивали при помощи критерия хи-квадрат. Расчеты проводили с использованием программы Microsoft Excel 2021, Statistica 6.0. (Stat-Soft Inc., США).

Результаты и обсуждение.

Клиническая характеристика обследованных представлена в *таблице 1*.

Таблица 1

Клиническая характеристика обследованных

Table 1

Clinical characteristics of the examined patients

	Группа 1 (Тяжелая ПЭ, n=30)	Группа 2 (Умеренная ПЭ, n=35)	Группа 3 (Беременные без гипертензивного синдрома, n=40)
Возраст, лет M(m)	27,70 (4,99)	28,20 (3,62)	29,30(2,84)
Срок гестации на момент родоразрешения, нед M(m)	33,20 (3,10)*	38,60 (1,60)	39,00 (1,50)
Паритет родов			
Первородящие	26/40 (65,0%)*	11/35 (31,4%)	16/40 (40,0%)
Повторнородящие	4/40 (35,0%)	24/35 (68,6%)	24/40 (60%)
Сопутствующая соматическая патология			
Инфекция МВП в анамнезе	23/30 (76,7%)*	13/35 (37,1%)	14/40 (35,0%)
Данные УЗИ плода и доплерометрии ФПК			
Без патологии	-	32/35 (91,4%)	40/40 (100,0%)
Нарушение кровотока 1 ст	2/30 (6,7%)	3/35 (8,6%)	-
Нарушение кровотока 2 ст	28/30 (93,3%)	-	-
Интраоперационная кровопотеря, мл M(m)	206,25(46,58)*	326,67(79,11)	355,00(87,84)
Масса новорожденного, гр M(m)	1594,13(378,06)*	3520,00(232,38)	3437,56(306,17)

* $p < 0,05$

Представленные группы были сопоставимы по возрасту. Большинство пациенток группы 1 были первородящие (65,0%), имеющие в анамнезе инфекционные поражения мочевыводящих путей (76,7%). По данным ультразвукового исследования плода и доплерометрии фетоплацентарного кровотока в 100,0% случаев наблюдались нарушения ФПК. Все пациентки данной группы родоразрешены досрочно, все новорожденные переведены на второй этап лечения.

Значимых различий между пациентками группы 2 и 3 обнаружено не было.

Отклонений от нормальных значений в биохимическом анализе крови, а также по данным коагулометрических исследования обнаружено не было.

Следует отметить, что в группе 1 интраоперационная кровопотеря статистически значимо ниже, по сравнению с группами 2 и 3, однако в группе 1 встречались «отсроченные» послеродовые кровотечения (20/30, 66,7%), развивающиеся через 5-8 часов от момента родоразрешения. Объем кровотечения составлял $665,28 \pm 24,5$ мл.

Данные о количестве и фенотипе циркулирующих в периферической крови МВ у беременных групп исследования представлены в *таблице 2*.

По результатам проточной цитофлуорометрии установлено, что в группе пациенток с тяжелой ПЭ

уровень плацентарных МВ (ALLP⁺) в 2,5 раза выше, чем в группе пациенток с умеренной ПЭ ($p < 0,05$) и в 3 раза выше по сравнению с группой беременных без гипертензивного синдрома ($p < 0,05$). Статистически значимой разницы между группой беременных с умеренной ПЭ и беременных без гипертензивного синдрома получено не было ($p > 0,05$). Наличие МВ плацентарного происхождения подтверждено было нами методом лазерной сканирующей микроскопии (*Рисунок 1*).

В группе беременных с тяжелой ПЭ также обнаружено увеличение содержание микровезикул с тканевым фактором (TF): в 2 раза по сравнению с группой беременных с умеренной ПЭ ($p < 0,05$) и в 6 раз по сравнению с беременными без гипертензивного синдрома ($p < 0,05$). У беременных с умеренной ПЭ уровень МВ с тканевым фактором также в 3 раза превышал показатели беременных без гипертензивного синдрома ($p < 0,05$). У беременных без гипертензивного синдрома в крови МВ с тканевым фактором отсутствовали. Наличие МВ, экспрессирующих тканевой фактор, подтверждено лазерной сканирующей микроскопией (*Рисунок 2*).

Количество МВ с ЛПС также было статистически значимо выше у беременных с тяжелой ПЭ: в 27 раз по сравнению с беременными без гипертензивного синдрома ($p < 0,05$) и в 1,6 раз выше по сравнению с

Таблица 2

Содержание микровезикул в периферической крови обследованных

Table 2

Content of microvesicles in the examined patients' peripheral blood

Параметр	Группа 1 (Тяжелая ПЭ, n=30)	Группа 2 (Умеренная ПЭ, n=35)	Группа 3 (Беременные без гипертензивного синдрома, n=40)
ALLP ⁺ МВ, % M(m)	6,69(2,02)*	2,6(0,57)	2,15(0,49)
TF ⁺ МВ, % M(m)	6,35(2,27)*	3,03(1,66)*	0
ЛПС ⁺ МВ, % M(m)	27,36(6,86)*	17,37(4,46)*	0
CD235 ⁺ МВ, % M(m)	22,73(7,74)*	0,42(0,15)	0,23(0,10)

*- $p < 0,05$

(ALLP- плацентарная щелочная фосфатаза, TF-тканевой фактор, ЛПС- липополисахарид грам «-» бактерий, CD235- маркер эритроцитарных микровезикул).

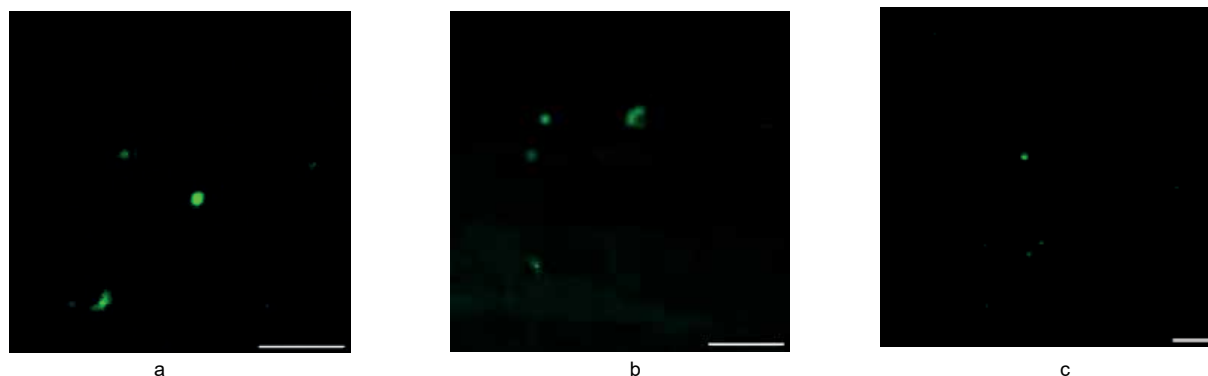


Рисунок 1. Экспрессия МВ ALLP⁺ (моноклональные антитела к плацентарной щелочной фосфатазе, меченные флуоресцеином (Affinity Biosciences, КНР)), в сгустке, лазерная сканирующая микроскопия, шкала – 20 мкм (а – тяжелая ПЭ, b – умеренная ПЭ, с – беременные без гипертензивного синдрома).

Figure 2. Expression of MVs ALLP⁺ (monoclonal antibodies to placental alkaline phosphatase, labeled with fluorescein (Affinity Biosciences, China)), in a clot, laser scanning microscopy, 20 μ m scale bar (a – severe PE, b – mild PE, c – pregnant women without hypertensive syndrome).

беременными с умеренной ПЭ ($p < 0,05$). У беременных с умеренной ПЭ уровень МВ с ЛПС в 17 раз превышал показатели беременных без гипертензивного синдрома ($p < 0,05$). Следует отметить, что в крови беременных без гипертензивного синдрома МВ с ЛПС отсутствовали. Наличие МВ с ЛПС подтверждено конфокальной сканирующей микроскопией (Рисунок 3).

Уровень эритроцитарных МВ (CD235⁺) значительно выше у беременных с тяжелой ПЭ по сравнению с беременными с умеренной ПЭ (в 52 раза, $p < 0,05$) и с отсутствием гипертензивного синдрома (в 98 раз, $p < 0,05$) (Рисунок 4).

Статистически значимых различий между содержанием эритроцитарных МВ у беременных с



Рисунок 2. Экспрессия МВ TF⁺ (моноклональные антитела к TF, меченные флуоресцеином (Cloud-Clone, КНР)) в сгустке, лазерная сканирующая микроскопия, шкала 20 мкм (а- тяжелая ПЭ, б-умеренная ПЭ).
Figure 2. Expression of MVs TF⁺ (monoclonal antibodies to TF, labeled with phycoerythrin (Cloud-Clone, China)) in the clot, laser scanning microscopy, 20 μ m scale bar (a- severe PE, b- mild PE).



Рисунок 3. Экспрессия МВ ЛПС⁺ (антитела к ЛПС, меченные флуоресцеином, (Cloud-Clone, КНР)) в сгустке, лазерная сканирующая микроскопия, шкала 20 мкм (а – тяжелая ПЭ, б – умеренная ПЭ).
Figure 3. Expression of MVs LPS⁺ (fluorescein-labeled antibodies to LPS (Cloud-Clone, China)) in the clot, laser scanning microscopy, 20 μ m scale bar (a – severe PE, b – mild PE).

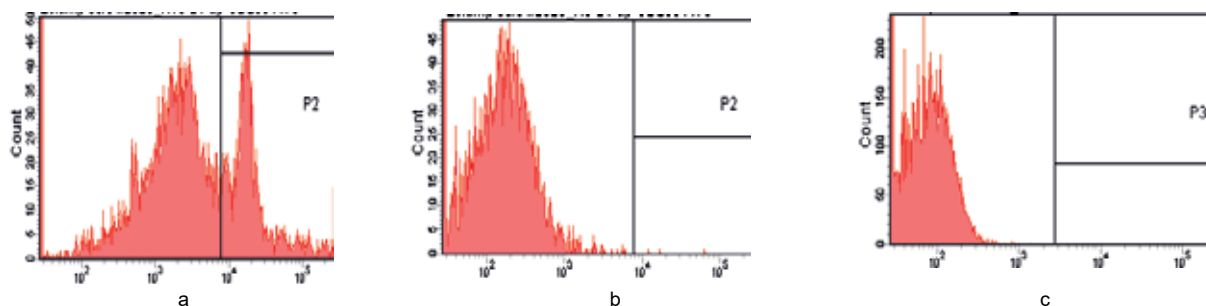


Рисунок 4. Цитофлюорограммы МВ, экспрессирующих CD235⁺ у обследуемых пациенток. (а – тяжелая ПЭ, б – умеренная ПЭ, с – беременные без гипертензивного синдрома).
Figure 4. Cytofluorograms of MVs expressing CD 235⁺ in the examined patients. (a – severe PE, b – mild PE, c – pregnant women without hypertensive syndrome).

умеренной ПЭ и отсутствием гипертензивного синдрома получено не было ($p > 0,05$).

Обнаруженное статистически значимое увеличение уровня плацентарных МВ с тяжелой ПЭ, согласуется с данными отдельных авторов [12], и, на наш взгляд, отражает степень плацентарной дисфункции.

Выявленные в результате исследования данные подтверждают факт, что тяжелая ПЭ является отдельной нозологической формой, вероятнее всего тромботической микроангиопатии, связанной с беременностью. Обнаруженное увеличение количества МВ с тканевым фактором может быть следствием генерализованного повреждения эндотелия, которое является патогенетической основной любой формы ТМА, а также наличия гипертензивного синдрома. Об этом свидетельствует (в 6 раз) увеличение уровня МВ с тканевым фактором у беременных с тяжелой ПЭ ($p < 0,05$). Обнаруженные изменения обуславливают статистически значимое снижение интраоперационной кровопотери в группе пациенток с тяжелой ПЭ также связано с увеличением количества МВ, содержащих ТФ, поскольку ТФ является основным инициатором процесса коагуляции. Однако, выявленное увеличение МВ, содержащих ТФ, по всей видимости свидетельствует о дисфункции системы гемостаза, поскольку появление тканевого фактора в кровотоке способствует потреблению факторов свертывания, в результате чего наступает истощение системы коагуляции, что клинически в нашем исследовании проявлялось отсроченными послеродовыми кровотечениями.

Установленное увеличение уровня эритроцитарных МВ у беременных с тяжелой ПЭ, на наш взгляд, является следствием субклинического повреждения эритроцитов и раздражением эритроидного ростка гемопозеза. Причинами увеличения уровня эритроцитарных МВ также может быть гемолиз эритроцитов и анемия, однако, наличие гемолиза исключалось на преаналитическом этапе путем визуальной оценки проб, клинико-лабораторные данные, свидетельствующие о наличии анемии у беременных с тяжелой ПЭ, на момент включения в исследование отсутствовали.

Актуальным остается вопрос об активаторе системного воспалительного ответа при ПЭ. На наш взгляд, системное воспаление может быть связано с участием в патогенезе процесса липополисахарида грамотрицательных микроорганизмов. В результате исследования нами установлено, что в группе тяжелой и умеренной ПЭ уровень МВ с ЛПС статистически значимо выше, по сравнению с группой беременных без гипертензивного синдрома. При этом наиболее высокие значения обнаружены в группе тяжелой ПЭ. Однако остается открытым вопрос об источнике ЛПС, которым, как уже указывалось выше, может быть кишечник, ротовая полость и мочевыводящие пути. Во время беременности создается ряд условий для увеличения проницаемости кишечного барьера для ЛПС, обсеменения мочевыводящих путей, а высокая частота инфекционных поражений последних во время беременности также создает условия для увеличения попадания ЛПС в системный

кровооток с развитием соответствующих реакций. (На наш взгляд, вопрос источника ЛПС при ПЭ также требует дальнейшего исследования). Совершенно очевидно, что обнаружение МВ, позитивных на ЛПС, у пациенток с ПЭ требует детального дальнейшего исследования для выяснения источника происхождения этих МВ и их роли в патогенезе ПЭ.

Выводы.

При тяжелой преэклампсии обнаружено статистически значимое увеличение уровня плацентарных, эритроцитарных микровезикул, а также микровезикул с ТФ и ЛПС по сравнению с умеренной преэклампсией и беременными без гипертензивного синдрома.

Установленное увеличение уровня плацентарных микровезикул является отражением плацентарной дисфункции на фоне преэклампсии, требующее проведения дальнейших исследований.

Увеличение уровня микровезикул с тканевым фактором обуславливает дисфункцию системы гемостаза у беременных с тяжелой преэклампсией, проявлением которой могут быть послеродовые отсроченные кровотечения.

Увеличение уровня микровезикул с липополисахаридом может быть важным звеном в патогенезе преэклампсии, особенно тяжелой, что обуславливает необходимость уточнения продуцента ЛПС и его локализации, а также санации очагов инфекции, особенно ротовой полости, мочевыводящих путей и кишечника.

***Прозрачность исследования.** Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.*

***Декларация о финансовых и других взаимоотношениях.** Все авторы принимали участие в разработке концепции и дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.*

***Благодарности.** Получение флуоресцентных изображений выполнено при финансировании в рамках государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН. Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП-САЦ ФИЦ КазНЦ РАН.*

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Преэклампсия. Эклампсия. Отеки, протеинурия и гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Клинические рекомендации // Москва, 2021. – 79 с. [Preeklampsiya; Eklampsiya; Oteki, proteinuriya i gipertenzivnye rasstrojstva vo vremya beremennosti, v rodah i poslerodovom periode: Klinicheskie rekomendacii [Preeklampsia; Eklampsia; Edema, proteinuria and hypertensive disorders during pregnancy, childbirth and the postpartum period: Clinical guidelines]. Moskva [Moscow]. 2021; 79 p. (In Russ.)]. Режим доступа (URL): https://cr.minzdrav.gov.ru/schem a/637_1?ysclid=lwqwr88c9d803445769
2. Сидорова И.С., Никитина Н.А., Агеев М.Б., [и др.]. Современные возможности транскриптомики в изучении преэклампсии // Акушерство и гинекология. – 2022. – №7. – С.5–12. [Sidorova IS, Nikitina NA, Ageev MB, et al. Sovremennye vozmozhnosti transkriptomiki v izuchenii

- preeklampsii [Modern possibilities of transcriptomics in the study of preeclampsia]. *Akusherstvo i ginekologiya* [Obstetrics and gynecology]. 2022; 7: 5–12. (In Russ.). DOI: 10.18565/aig.2022.7.5–12
3. Ren Z, Gao Y, Gao Y, et al. Distinct placental molecular processes associated with early-onset and late-onset preeclampsia. *Theranostics*. 2021; 11 (10): 5028–44. DOI: 10.7150/thno.56141
 4. Сидорова И.С., Никитина Н.А. Критические формы преэклампсии // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2017. – Т.17, №6. – С.4–8. [Sidorova IS, Nikitina NA. Kriticheskie formy preeklampsii [Critical forms of preeclampsia]. *Rossiiskij vestnik akushera-ginekologa* [Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist]. 2017; 17 (6): 4–8. (In Russ.)]. DOI: 10.17116/rosakush20171764–8
 5. Макацария А.Д., Акиншина С. В., Бицадзе В. О., [и др.]. Тяжелые акушерские осложнения как проявление тромботической микроангиопатии // *Журнал акушерства и женских болезней*. – 2015. – Т. 64, №5. – С.6–15. [Makacariya AD, Akinshina SV, Bicadze VO, et al. Tyazhelye akusherskie oslozhneniya kak proyavlenie tromboticheskoy mikroangiopatii [Severe obstetric complications as a manifestation of thrombotic microangiopathy]. *Zhurnal akusherstva i zhenskih boleznej* [Journal of Obstetrics and Women's Diseases]. 2015; 64 (5): 6–15. (In Russ.)].
 6. Маркова К.Л., Коган И.Ю., Шевелева А.Р., [и др.]. Микровезикулы лейкоцитарного происхождения // *Вестник Российской академии медицинских наук*. – 2018. – Т.73, № 6. – С. 378–387. [Markova KL, Kogan IYu, Sheveleva AR, et al. Mikrovezikuly lejkocitarnogo proiskhozhdeniya [Microvesicles of leukocyte origin]. *Vestnik Rossijskoj akademii medicinskix nauk* [Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences]. 2018; 73 (6): 378–387. (In Russ.)]. DOI: 10.15690/vramn1031
 7. Гомзикова М.О., Гайфуллина Р.Ф., Мустафин И.Г., [и др.]. Мембранные микровезикулы: биологические свойства и участие в патогенезе заболеваний // *Гены и клетки*. – 2013. – Т.8, № 1. – С.6–11. [Gomzikova MO, Gajfullina RF, Mustafin IG, et al. Membrannye mikrovezikuly: biologicheskie svojstva i uchastie v patogeneze zabolevanij [Membrane microvesicles: biological properties and participation in the pathogenesis of diseases]. *Geny i kletki* [Genes and cells]. 2013; 8 (1): 6–11. (In Russ.)].
 8. Момот А.П., Царигородцева Н.О., Фёдоров Д.В., и др. Тромбоцитарные микровезикулы и их роль в обеспечении гемостатического потенциала (обзор литературы) // *Сибирский научный медицинский журнал*. – 2020. – Т. 40, № 2. – С.1–14. [Momot AP, Carigorodceva NO, Fyodorov DV, et al. Trombocitarnye mikrovezikuly i ih rol' v obespechenii gemostaticheskogo potentsiala (obzor literatury) [Platelet microvesicles and their role in providing hemostatic potential (literature review)]. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal* [Siberian Scientific Medical Journal]. 2020; 40 (2): 1–14. (In Russ.)]. DOI: 10.15372/SSMJ20200201
 9. Мустафин И.Г. Д.М. Зубаиров и его научная школа // *Казанский медицинский журнал*. – 2011. – Т. 92, № 5. – С.670–671. [Mustafin IG. DM Zubairov i ego nauchnaya shkola [DM Zubairov and his scientific school]. *Kazanskij medicinskij zhurnal* [Kazan Medical Journal]. 2011; 92 (5): 670–671. (In Russ.)].
 10. Галеева С.А., Таджибоева Н.А. Роль микровезикул тромбоцитов в патогенезе преэклампсии // *Казанский медицинский журнал*. – 2022. – Т.103, № 4. – С. 641–649. [Galeeva SA, Tadzhiboeva NA. Rol' mikrovezikul trombocitov v patogeneze preeklampsii [The role of platelet microvesicles in the pathogenesis of preeclampsia]. *Kazanskij medicinskij zhurnal* [Kazan Medical Journal]. 2022; 103 (4): 641–649. (In Russ.)]. DOI: 10.17816/KMJ2022–641
 11. Николаева М.Г., Терехина В. Ю., Кудинов А. В., [и др.]. Роль экстрацеллюлярных везикул различного происхождения в развитии преэклампсии // *Вестник Российской академии медицинских наук*. – 2021. – Т.76, №3. – С.237–243. [Nikolaeva MG, Terekhina VYu, Kudinov AV, et al. Rol' ekstrakletochnyh vezikul razlichnogo proiskhozhdeniya v razvitii preeklampsii [The role of extracellular vesicles of various origins in the development of preeclampsia]. *Vestnik Rossijskoj akademii medicinskix nauk* [Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences]. 2021; 76 (3): 237–243. (In Russ.)]. DOI: 10.15690/vramn1369
 12. Levine L, Habertheuer A, Ram C, et al. Syncytiotrophoblast extracellular microvesicle profiles in maternal circulation for noninvasive diagnosis of preeclampsia. *Sci Rep*. 2020 Apr 14; 10 (1): 6398. DOI: 10.1038/s41598–020–62193–7
 13. Brown GC. The endotoxin hypothesis of neurodegeneration. *Journal of neuroinflammation*. 2019; 16 (1): 180. DOI:10.1186/s12974–019–1564–7
 14. Semeraro F, Ammolto CT, Morrissey JH, et al. Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: involvement of platelet TLR2 and TLR4. *Blood*. 2011; 118 (7): 1952–1961. DOI:10.1182/blood–2011–03–343061
 15. Nightingale T, Cutler D. The secretion of von Willebrand factor from endothelial cells; an increasingly complicated story. *J Thromb Haemost*. 2013; 11 (suppl 1): 192–201. DOI:10.1111/jth.12225
 16. Pawlinski R, Mackman N. Cellular sources of tissue factor in endotoxemia and sepsis. *Thromb Res*. 2010; 125: S70e3. DOI:10.1016/j.thromres.2010.01.042
 17. Thiemermann C, Ruetten H, Wu CC, et al. The multiple organ dysfunction syndrome caused by endotoxin in the rat: attenuation of liver dysfunction by inhibitors of nitric oxide synthase. *Br J Pharmacol*. 1995; 116: 2845–2851. DOI:10.1111/j.1476–5381.1995.tb15935.x
 18. Бондаренко К.Р., Мавзютов А.Р., Озолина Л.А. Роль системной эндотоксинемии в патогенезе гестоза // *Вестник Российского государственного медицинского университета*. – 2013. – №3. – С.40–43. [Bondarenko KR, Mavzyutov AR, Ozolina LA. Rol' sistemoj endotoksinemii v patogeneze gestoza [The role of systemic endotoxemia in the pathogenesis of gestosis]. *Vestnik Rossijskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Bulletin of the Russian State Medical University]. 2013; 3: 40–43. (In Russ.)].
 19. Contreras A, Herrera JA, Soto JE, et al. Periodontitis is associated with preeclampsia in pregnant women. *Journal of periodontology*. 2006; 77 (2): 182–188. DOI:10.1902/jop.2006.050020
 20. Huang X, Wang J, Liu J, et al. Maternal periodontal disease and risk of preeclampsia: a meta-analysis. *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*. 2014; 34: 729–735. DOI:10.1007/s11596–014–1343–8