



The diagnostic value of the use of circulating biomarkers for the prediction and detection of pre-eclampsia

Bahodur NEGMAJANOV¹, Sevara MAHMUDOVA²

Samarkand State Medical Institute

ARTICLE INFO

Article history:

Received June 2021

Received in revised form

20 June 2021

Accepted 25 July 2021

Available online

25 August 2021

ABSTRACT

Preeclampsia is one of the most severe complications in obstetrics, determining high rates of maternal morbidity and mortality. It continues to be a dangerous condition for the fetus, leading to delayed intrauterine development, premature births, low birth weight and perinatal mortality. There are many hypotheses of this complication in pregnancy, of which the most relevant is the theory that preeclampsia is a multifactorial disease in the development of which many genetic and environmental factors are involved.

2181-1415/© 2021 in Science LLC.

This is an open access article under the Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.ru>)

Keywords:
preeclampsia,
pregnancy,
genetics,
placental growth factor,
soluble fms-like tyrosine
kinase-1,
hypertension.

Preeklampsiyani prognozlash va aniqlash uchun aylanib yuruvchi biomarkerlardan foydalanishning diagnostik ahamiyati

ANNOTATSIYA

Kalit so'zlar:
preeklampsiya,
homiladorlik,
genetika,
platsenta o'sish faktori,
eruvchan fms ga o'xshash
tirozinkinaza-1,
gipertensiya.

Preeklampsiya – bu onalar kasallanishi va o'limining yuqori ko'rsatkichlarini belgilaydigan akusherlikdagi eng og'ir asoratlardan biridir. Bu patologiya homila uchun xavfli holat bo'lib qolmoqda, bu esa homila o'sishning orqada qolishi, muddatidan oldin tug'ilishga, tug'ilishning past vazniga va perinatal o'limga olib keladi. Homiladorlikning ushbu asoratining paydo bo'lishi uchun ko'plab gipotezalar mavjud, ular orasida eng dolzarb nazariya shundaki, u preeklampsiyani multifaktorial kasallik deb hisoblaydi, uning rivojlanishida ko'plab genetik va atrof-muhit omillari ishtirok etadi.

¹ Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Department Obstetrics and Gynecology No. 2 Samarkand State Medical Institute, Samarkand, Uzbekistan.

² Assistant of the Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Postgraduate Education, Samarkand State Medical Institute, Samarkand, Uzbekistan.

Диагностическая значимость использования циркулирующих биомаркеров для прогнозирования и выявления преэклампсии

АННОТАЦИЯ

Ключевые слова:

преэклампсия,
беременность,
генетика,
плацентарный фактор
роста,
растворимая
fms-подобной
тирозинкиназа-1,
гипертензия.

Преэклампсия – одно из самых тяжелых осложнений в акушерстве, определяющее высокие показатели материнской заболеваемости и смертности. Патология продолжает оставаться опасным состоянием и для плода, приводя к задержке внутриутробного развития, к преждевременным родам, низкому весу при рождении и перинатальной смертности. Существует множество гипотез возникновения данного осложнения беременности, среди которых наиболее актуальной представляется теория, рассматривающая преэклампсию как мультифакториальное заболевание, в развитии которого участвует множество генетических и средовых факторов.

Возможность выявления наследственных факторов риска до беременности позволит своевременно оценить вероятность развития преэклампсии и назначить профилактическое лечение. К настоящему времени установлено, что с преэклампсией ассоциировано более 100 полиморфных вариантов генов, в частности генов метаболизма, главного комплекса гистосовместимости, липидного обмена, цитокинов и ростовых факторов, системы гемостаза, регуляции функции эндотелия, сосудистой системы и др. Однако различия в методике определения степени тяжести преэклампсии у больных, этнической принадлежности обследованных, совокупности проанализированных аллельных вариантов в разных выборках определяют неоднозначность результатов, полученных разными авторами. Это диктует необходимость углубленных исследований по выявлению группы риска, разработке прогностических критериев и проведения лечебно-профилактических мероприятий с целью уменьшения перинатальных потерь и улучшения охраны здоровья матери и ребенка.

Патогенез ПЭ сложен и не до конца расшифрован. Установлено, что в основе развития ПЭ лежит нарушение плацентации вследствие дефекта ремоделирования сосудов миометрия, что на ранних сроках беременности приводит к неполноценной инвазии трофобласта. В дальнейшем поврежденная ишемизированная плацента начинает в избыточном количестве секретировать мощный антиангиогенный фактор – растворимый рецептор к васкулоэндотелиальному фактору роста (VEGF), идентифицированный как растворимая fms-подобная тирозинкиназа 1 (sFlt-1). Этот фактор ингибирует как VEGF, так и плацентарный фактор роста (PLGF), обеспечивающие нормальное развитие и функцию плаценты. Циркулируя в кровотоке матери, sFlt-1 может вносить свой вклад в развитие системной эндотелиальной дисфункции, лежащей в основе всех клинических проявлений ПЭ [4, 5]. Поражение эндотелия в почках представлено картиной гломеруллярного капиллярного эндотелиоза с отеком эндотелиальных клеток, утратой ими фенестр

и отслойкой от базальной мембранны, приводящими к окклюзии просвета капилляров. Это позволяет рассматривать поражение почек при ПЭ как особый тип тромботической микроангиопатии (ТМА), несмотря на редкость развития тромбозов капиллярных петель клубочков.

Имеются основания полагать, что выраженность клинических проявлений ПЭ обусловлена сроком беременности при развитии последней: чем раньше дебютирует ПЭ, тем тяжелее она протекает [12]. В то же время особенности проявлений ПЭ на разных сроках гестации практически неизвестны нефрологам, поскольку в современной литературе основной целью сравнения «ранней» и «своевременной» ПЭ – является изучение акушерских аспектов проблемы (состояния маточно-плацентарного кровотока и перинатальной смертности)

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Улучшение прогнозирования и ранней диагностики преэклампсии на основе клинико-генетических и эндотелиальных предикторов. Рациональное ведение пациенток с преэклампсией, сокращение материнской и перинатальной смертности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Концентрацию PIGF и sFlt-1 в сыворотке крови беременных женщин определяли с помощью электрохемилюминесцентных диагностических тест-систем Elecsys PIgf и Elecsys sFlt-1 концерна «Хоффманн Ля Рош» (Швейцария) на автоматическом анализаторе Cobas e411 той же фирмы. Спектр изученных полиморфизмов представлен в таблице 3. Выделение тотальной геномной ДНК из 100 мкл цельной венозной крови проводили сорбентным методом с использованием набора «Проба-ГС Генетика», NP-480-100 (AGTR1_1166 rs5186), NP-476-100 (AGTR2 G1675A rs1403543); для эндотелиальной синтетазы окиси азота использовали 3 набора: NP-554-100 (eNOS_786 rs 2070744), NP-555-100 (eNOS_774 rs 1549758), NP-419-100 (eNOS_298 1799983); однонуклеоидные полиморфизмы обнаруживали методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием вышеуказанных наборов. (ДНК технология, Россия).

Были обследованы: 160 беременных женщин в возрасте от 18 до 40 лет с физиологическим течением беременности наблюдавшиеся в 2,3 – родильном комплексе г. Самарканда (11-40 недель). Основная и контрольная группа были сопоставимы по возрасту, социальной характеристике и акушерско-гинекологическому анамнезу. Все женщины родили здоровых детей в сроке 38-40 недель с оценкой по шкале Апгр 8-9 баллов, с нормальными массоростовыми показателями. Послеродовый период у всех протекал без осложнений. Критериями исключения были многоплодная беременность, артериальная гипертензия, преэклампсия в анамнезе. При оценке репродуктивной функции выявлено что большинство женщин обеих групп были первородящими ($p \geq 0,05$). Однаково часто встречались воспалительные процессы органов малого таза ($p = 0,05$).

Группу пациенток с преэклампсией составили 82 беременных в сроке 20–40 недель в том числе 52 женщин с умеренной преэклампсией, 30 –с тяжелой преэкламсией. Диагноз преэклампсия был установлен на основании общепринятых критериев – гипертензия (давление $\geq 140/90$ мм.рт.ст) и протеинурия (содержание белка выше 0,3 г в суточной моче). Степень тяжести преэклампсии оценивали на основании объективных показателей и клинического состояния пациентки.

В группу пациенток с умеренной преэклампсией были включены беременные с артериальным давлением 140–160/90 мм.рт.ст., с протеинурией более 0,3 г, но не менее 2 г/сут. В группу пациенток с тяжелой преэклампсиею включены беременные с артериальным давлением 160/110 мм.рт.ст. и более, с протеинурией более 2 г/сут.

Группу сравнения составили 14 пациенток с артериальной гипертензией без протеинурии развившейся в сроке беременности 37–40 нед. Для получения референсных интервалов уровня PIGF и sFlt-1, а также значений их соотношения образцы крови исследовали в следующие гестационные сроки: 11–14, 15–19, 20–23, 24–28, 29–33, 34–36, 37–40 нед. Кровь забирали из локтевой вены.

Для получения сыворотки образцы центрифугировали 15 мин при 2000 g при комнатной температуре. Концентрацию маркеров определяли в тот же день, не позднее 1,5 ч после взятия крови. Концентрацию PI GF и sFlt-1 в сыворотке крови беременных определяли с помощью диагностических тест-систем Elecsys PI GF (Ref. №05144671190, «Roche Diagnostics GmbH», Mannheim, Германия) и Elecsys sFlt-1 (Ref. №05109523190, «Roche Diagnostics GmbH», Mannheim, Германия) на автоматическом электрохемилюминесцентном анализаторе Cobas e411 («Hitachi», Япония). Результаты обрабатывали с помощью компьютерной программы Statistica.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полученные данные свидетельствуют о том, что при физиологическом течении беременности концентрация PI GF возрастает в сроки 11–33 нед беременности и резко снижается к моменту родов. Концентрация sFlt-1 у здоровых беременных женщин начинает достоверно возрастать с 34-й недели беременности и достигает максимальных значений в 37–40 нед беременности, что, по-видимому, связано с необходимостью перестройки сосудов с целью предотвращения массивного кровотечения в период родов. Соотношение sFlt-1/PI GF имеет максимальные значения в период 11–14 и 37–40 нед беременности, при этом минимальные значения наблюдаются в 24–33 нед гестации. (таблица 1).

Полученные результаты позволяют сформировать референсные интервалы концентрации PI GF, sFlt-1 и значений их соотношения в динамике физиологической беременности с 11-й по 40-ю неделю. В таблице 1 представлены медианы и референсные интервалы в виде 5-го и 95-го перцентиляй. Следует особо отметить, что эти интервалы разработаны при использовании диагностических тест-систем Elecsys PI GF и Elecsys sFlt-1 («Хофманн-Ля Рош», Швейцария) и диагностической платформы Core («Hitachi», Япония).

Таблица 1.

Медианы и референсные интервалы (5-й и 95-й перцентиль) концентрации PIgf, sFlt-1 и значений их соотношения в динамике физиологической беременности

Срок беременности, нед	PIgf, нг/мл	sFlt-1, нг/мл	sFlt-1/PIgf
11–14 (32)	43 (26-84)	1569 (844-2672)	34 (19-71)
15–19(41)	158 (98-424)	1774 (750-3480)	11,1 (2,6-22,3)
20–23(12)	334 (155-650)	1357 (600-2560)	4,2 (1,8-6,6)
24–28(10)	451 (235-1440)	1800 (950-4130)	3,6 (1,6-6,1)
29–33(14)	649 (260-1250)	1657 (980-3753)	2,6 (1,1-6,6)
34–36(28)	377 (155-1750)	2639 (1400-5930)	6,2 (1,5-23,0)
37–40(23)	219 (103-665)	4095 (2310-7260)	18,3 (4,4-49,2)

У пациенток с преэкламсией концентрация PIgf, sFlt-1 и значения их соотношения достоверно отличались от таковых у пациенток с физиологическим течением беременности, при этом прослеживалась зависимость выявленных изменений от степени тяжести преэклампсии (таблица 2)

Таблица 2.

Концентрация PIgf, sFlt-1 и значение их соотношения в сроке 37-40 недель при физиологической беременности и при беременности, осложненной артериальной гипертензией.

Группа	PIgf, нг/мл	sFlt-1, нг/мл	sFlt-1/PIgf
Здоровые беременные (n=23)	269±14	4240±41	21,3±3,6
Беременные с АГ (n=14)	126,2 ±12,7	2730±50	27,1±4,7

Интерес представляло изучение показателей в группе беременных с артериальной гипертензией (n=14) в сроке беременности 37–40 недель (таблица 2). Как видно из таблицы 2, концентрация обоих факторов у пациенток с артериальной гипертензией ниже таковых у здоровых беременных примерно в 2 раза, при этом значение соотношения находится в рамках полученного референсного интервала.

Выявлено, что у женщин с преэкламсией частота низкофункциональных вариантов в генах, ассоциированных с развитием артериальной гипертензии (гены рецепторов 1-го и 2-го типов для ангиотензина II и синтазы окиси азота), статистически значимо превышала таковую у женщин с физиологическим течением беременности (таблица 4)

Таблица 3.

Полиморфизм изученных генов, продолжительно ассоциированных с преэкламсией.

Ген	Локализация гена	Полиморфизм
AGTR 1 (рецептор ангиотензина II тип 1)	3q21-q25	A1166C
AGTR 2 (рецептор ангиотензина II тип 2)	Xq23	G1675A
NOS3 (эндотелиальная синтетаза оксида азота)	7q36NOS 3	-786T/C

Таблица 4.

Генные и генотипические частоты полиморфизмов AGTR1 A1166≥C, AGTR2 G1675A, NOS3-786T / C у женщин с преэкламсией и женщин с физиологическим течением беременности.

Аллель/Генотип	Контрольная группа			Женщины с преэкламсией			p
	n	N	%	n	N	%	
AGTR1 A1166≥C							
A	50	56	89,29	35	54	64,81	0,003
C	6	56	10,71	19	54	35,19	0,003
AA	22	28	78,57	10	27	37,04	0,003
AC	6	28	21,43	15	27	55,56	0,009
CC	0	28	0,00	2	27	7,41	-
AGTR2 G1675A							
G	35	52	67,31	15	58	25,86	0,001
A	17	52	32,69	43	58	74,14	0,001
GG	14	26	53,85	2	29	6,90	0,001
GA	7	26	26,92	11	29	37,93	-
AA	5	26	19,23	16	29	55,17	0,006
NOS3-786T/C							
T	70	98	71,43	59	100	59,00	-
C	28	98	28,57	41	100	41,00	-
TT	27	49	55,10	16	50	32,00	0,02
TC	16	49	32,65	27	50	54,00	0,032
CC	6	49	12,24	7	50	14,00	-

Известно, что гормон ангиотензин II вызывает сужение сосудов и является основным регулятором синтеза альдостерона. Конечным результатом такого действия является увеличение объема циркулирующей крови и повышение системного артериального давления. Ангиотензин II взаимодействует с двумя клеточными рецепторами ангиотензина 1-го и 2-го типов, кодируемыми,

соответственно, генами AGTR1 и AGTR2. Замена аденина (A) на цитозин (C) в позиции 1166 в регуляторной области гена AGTR1 приводит к усилению его экспрессии. Механизм усиления обусловлен следующим. В ходе синтеза белкарецептора с некодирующими участками мРНК, транслированной с аллели AGTR1 1166A, по принципу комплементарности взаимодействуют микроРНК miR155, что тормозит процесс трансляции и способствует снижению синтеза белка. С полиморфной аллелью AGTR1 1166C микроРНК связываться не могут, в результате чего увеличивается синтез белкового продукта и изменяется функциональная активность рецепторов [10]. Сердечно-сосудистые эффекты ангиотензина II, опосредованные AT2-рецепторами, противоположны эффектам, обусловленным AT1-рецепторами, то есть взаимодействие ангиотензина II с рецепторами 2-го типа обуславливает снижение артериального давления. Увеличение количества рецепторов ангиотензина II 2-го типа на поверхности клетки определяется аллелью AGTR2 1675G, поскольку она ассоциирована с активацией транскрипции гена. При нуклеотидной замене G1675A в регуляторной области гена негативно меняется характер регуляции экспрессии гена. В результате у носителей данного низкофункционального полиморфизма наблюдается снижение количества рецепторов 2-го типа и частичная потеря ими функции (участие в продукции NO, дилатация сосудов), что и способствует увеличению риска развития артериальной гипертензии. В настоящем исследовании обращает на себя внимание более высокая частота гомозиготного носительства данного низкофункционального полиморфизма у женщин с преэклампсией по сравнению с женщинами с физиологическим течением беременности. Учитывая тот факт, что ген AGTR2 локализован в X-хромосоме, фенотипическое проявление гетерозиготного носительства аллели 1675A может быть склонено вследствие явления аллельного исключения при инактивации в клетке одной из половых хромосом. У гомозигот фенотипический эффект не нивелируется данным явлением, что, вероятно, и определяет большую частоту генотипа AGTR2 1675A/A в группе женщин с осложненным течением беременности. В патогенезе преэклампсии большое значение имеет эндотелиальная дисфункция [9], которая проявляется увеличением «чувствительности» сосудистой стенки к прессорным влияниям медиаторов с одновременным уменьшением продукции вазодилататоров, таких как оксид азота (NO). Оксид азота является основным эндотелиальным фактором релаксации, участвующим в поддержании тонуса сосудистой стенки, тромбогенезе. В синтезе NO в эндотелии и, следовательно, в регуляции сосудистого тонуса, кровотока и артериального давления участвует конституциональная эндотелиальная NO-синтаза 3-го типа (NOS3, синоним eNOS) [8]. В настоящее время наиболее активно изучаются 3 аллельных варианта гена эндотелиальной NO-синтетазы (NOS3): 4a/4b в 5 инtronе, структурная замена 894G>T в 7 экзоне и полиморфизм промоторной области гена – 786T>C. Указанные полиморфизмы являются низкофункциональными, то есть при наличии их в генотипе снижается экспрессия гена NOS3. Уменьшенная продукция эндотелиальной NO-синтетазы в свою очередь обуславливает снижение концентрации окиси азота в кровяном русле, вследствие чего понижается вазодилатация, что может быть важным

механизмом развития артериальной гипертензии. В литературе имеются данные об ассоциации низкофункциональных вариантов гена эндотелиальной NO-синтетазы с различной акушерской патологией, в основе которой лежат изменения сосудистого тонуса (гестоз, плацентарная недостаточность, синдром задержки развития плода) [3, 6]. Согласно результатам настоящего исследования, у женщин с преэклампсией отмечается повышенная частота встречаемости аллели -786C в гене NOS3 (см. табл. 4).

Обсуждение: Анализ полученных данных свидетельствует о достоверных различиях динамики концентрации PIgf, sFlt-1 и их соотношения в течение физиологической беременности и беременности, осложненной преэкламсией. Наиболее ярко выражены изменения значений соотношения sFlt-1/PIgf, кроме того, степень отклонения перечисленных параметров коррелирует с тяжестью преэклампсии. По-видимому, именно этот показатель является наиболее информативным при диагностике преэклампсии. Полученные результаты полностью согласуются с опубликованными данными о том, что развитие преэклампсии тесно связано с дисбалансом синтеза ангиогенных и антиангигенных факторов [5, 7, 9]. Известно, что процесс формирования плаценты начинается с имплантации клеток фетального происхождения (цитотрофобласта) в децидуальную ткань (модифицированный слой эндометрия беременной матки). Цитотрофобласт не только внедряется в эндометрий (интерстициальная инвазия) и спиральные артерии (эндоваскулярная инвазия), но и доходит до внутренней трети эндометрия. В результате в конце I триместра в маточно-плацентарной области формируется несколько десятков широких, зияющих артерий и начинает активно функционировать маточно-плацентарный кровоток. До его формирования функцию мощного стимула первой волны цитотрофобластной инвазии (ЦТИ) несет местная тканевая гипоксия, характерная для микроокружения эмбриона до 8–10-й недели развития. Гипоксический стимул повышает экспрессию специфических молекул клеточной адгезии, стимулирует синтез цитокинов, сосудистых факторов роста [1].

Наличие полиморфизмов генов-регуляторов сосудистого тонуса (ренин-ангиотензиновой системы и эндотелиальной синтетазы оксида азота), предрасполагающих к гипертензионным осложнениям, существенно повышает риск развития преэклампсии. Выявленные в настоящем исследовании ассоциации могут быть использованы в качестве генетических маркеров предрасположенности к формированию преэклампсии, что позволит своевременно сформировать группу риска и скорректировать лечебно-профилактические мероприятия.

A. Wang и соавт. [8] также связывают преэклампсию именно с нарушением процесса инвазии цитотрофобласта на данном этапе. Следующий этап инвазии цитотрофобласта вглубь миометрия (вторая волна инвазии) приходится на 16–18-ю неделю беременности. Цитотрофобласт трансформирует более крупные артерии нижней трети миометрия, превращая их в широкие полости. В результате возрастает объем материнской крови, поступающей в плаценту [1]. Выделение двух волн ЦТИ условно, поскольку это непрерывный процесс, который по своему значению представляет собой ключевой механизм развития нормальной

беременности либо возникновения преэклампсии. Утверждение, что преэклампсия начинается с 20-й недели беременности, соответствует лишь времени возникновения широко известных симптомов, тогда как исходные механизмы закладываются и реализуются гораздо раньше в виде дефектов лютенизации цикла, нарушения имплантации и плацентации, а также фоновых заболеваний матери. Эти и другие факторы являются причиной недостаточности ЦТИ [3].



Рис. 1. Соотношение sFlt/PIGF при нормальной беременности, умеренной (УПЭ) и тяжелой преэклампсии (ТПЭ)

Эндотелиальная дисфункция играет центральную роль в патогенезе преэклампсии. Повышение синтеза вазоактивных медиаторов ведет к преобладанию сужения сосудов и в результате недостаточному кровообращению в сосудах плаценты. Перед появлением клинических симптомов обычно снижается маточно-плацентарный кровоток и возрастает резистентность маточных сосудов, развивается плацентарная ишемия [7]. По-видимому, у пациенток, предрасположенных к развитию преэклампсии, снижение концентрации PIgf и повышение концентрации sFlt-1 свидетельствуют об аномальном развитии плаценты. Причины предрасположенности пациенток к развитию преэклампсии до настоящего времени остаются до конца не установленными, однако отмечено, что одной из возможных причин является генетический фактор. Показано, что развитие преэклампсии у матери повышает риск этой патологии у ее дочери. Считается также, что этиология и патогенез преэклампсии обусловлены наличием иммунопатологических механизмов и рядом факторов внешней среды. Профилактика и лечение преэклампсии представляют собой довольно сложную задачу. В связи с этим ранняя диагностика преэклампсии до ее клинических проявлений – одна из задач акушерства, решение которой позволит оценить степень риска и целесообразность сохранения данной беременности [4, 9]. Наличие референсных интервалов концентрации PIgf, sFlt-1 и их соотношения – маркеров, в настоящее время наиболее информативных для диагностики преэклампсии, позволяет оценивать наличие особенностей секреции этих молекул начиная с конца I триместра беременности. Ранее было показано, что уже в I триместре

беременности удается диагностировать дисбаланс в синтезе PIGF и sFlt-1, в результате чего значение соотношения этих показателей увеличивается. Повышение концентрации sFlt-1, по-видимому, нарушает внутриклеточный механизм регуляции синтеза PIGF, что в свою очередь ведет к развитию системной эндотелиальной недостаточности и прогрессированию клинических признаков преэклампсии (гипертензия и протеинурия), а также к задержке внутриутробного развития плода [3, 9, 11]. Таким образом, на основании проведенного исследования установлено, что концентрации PIGF, sFlt-1 и значение их соотношения являются высокинформативными показателями преэклампсии, а референсные интервалы концентрации PIGF, sFlt-1 и значений их соотношения могут использоваться в качестве «нормативов». Кроме того, определение концентрации этих маркеров и расчет их соотношения необходимо проводить в I и II триместрах беременности в рамках скрининговых программ диагностики внутриутробной патологии плода. Определение маркеров преэклампсии в конце II и в III триместре беременности может служить основой для окончательной постановки диагноза преэклампсии и разработки тактики пролонгирования беременности.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ:

1. Преэклампсия. Руководство. Библиотека врача-специалиста. Под ред. Сухих Г.Т., Мурашко Л.Е. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2010; 576.
2. Carty D.M., Delles C., Dominiczak A.F. Preeclampsia and future maternal health. J Hypertens 2010; 28: 1349–1355.
3. Foidart Y.M., Schaaps Y.P., Chantraine F. et al. Dysregulation of anti-angiogenic agents (sFlt-1, PIGF and sendoglin) in preeclampsia – a step forward but not the definitive answer. J Reprod Immunol. 2009; 82: 106-111.
4. Hammerova L, Chabada J, Drobny J, Batorova A. Longitudinal evaluation of markers of hemostasis in pregnancy. Bratisl Lek Listy 2014; 115 (3): 140–144.
5. McElrath T, Lim K-H, Pare E, Rich-Edwards J. et al. Longitudinal evaluation of predictive value for preeclampsia of circulating angiogenic factors through pregnancy. Am J Obst Ginecol. 2010; 11;407:e1-e7.
6. Palmer K., da Silva Costa F. Circulating biomarker use for the prediction and detection of preeclampsia // BioSystems. – 2017. – Т. 16.
7. Verlohren S., Herraiz Y., Lapaire O. et al. The sFlt-1/PIGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. Am J of Obstet Gynecol. 2012; 1: 58: e1-e8.
8. Lam C., Lim K-H., Karumanchi S.A. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. Hypertension Res. 2005; 46: 1077-1085.
9. Maynard S., Min J., Merchan J., Lim K. Excess placental soluble fms-like tyrosinekinase-1 (sFlt-1) may contribute to endometrial dysfunction, hypertension and proteinuria in preeclampsia. J Clin Invest. 2003; 111: 649-658.
10. Roberts J.M., Bell M.J. If we know so much about preeclampsia, why haven't we cured the disease? J Reprod Immunol 2013; 99: 1–9.
11. Schenkelaars N. et al. Preconceptional maternal weight loss and hypertensive disorders in pregnancy: a systematic review and meta-analysis // European Journal of Clinical Nutrition. – 2021. – С. 1-14.

12. Shibata E., Rajakumar A. Roberts R.W. et al. Soluble fms-like tyrosine kinase 1 is increased in preeclampsia but not in normotensive pregnancies with small-for-gestational-age neonates: relationship to circulating placental growth factor. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90: 4895-4903.
13. Wang A., Rana S., Karumanchi S.A. Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis. *Physiology.* 2009; 24: 147-158.
14. Yelliffe-Pawlowsky L., Shaw G., Currier R. Et al. Association of early preterm birth with abnormal levels of routinely collected second-trimester biomarkers. *Am J Obstet and Gynecol.* 2013; 208: 128-140.