

Дифференциально- диагностические возможности подсчета уровня нейтрофильных внеклеточных ловушек в венозной крови беременных: сравнительное проспективное исследование

Н.Б. Кузина¹, Е.Н. Плахотина², А.Н. Кузовлев¹,
Т.Н. Белоусова², Е.В. Брянцев², Д.В. Касина³

¹ ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр
реаниматологии и реабилитологии», Москва, Россия

² ГБУЗ МО «Видновский перинатальный центр», Видное,
Московская область, Россия

³ ГБУЗ МО «Московский областной научно-
исследовательский клинический институт
им. М.Ф. Владимирского», Москва, Россия

Реферат

Актуальность. Тяжелая преэклампсия на ранних стадиях заболевания может проявляться исключительно изолированной тромбоцитопенией, что затрудняет ее своевременную диагностику и проведение необходимых лечебных мероприятий. Как правило, диагноз тяжелой преэклампсии выставляется при развернутой клинико-лабораторной картине этого осложнения, что увеличивает риски для матери и плода. Однако, если клинических проявлений преэклампсии кроме тромбоцитопении нет, существует проблема дифференциальной диагностики между тромбоцитопенией, являющейся проявлением преэклампсии, и гестационной тромбоцитопенией, которая является физиологической и не требует каких-либо вмешательств и ограничений. В настоящее время не существует скрининговых методов дифференциальной диагностики этих состояний. **Цель исследования.** Оценить возможности метода определения уровня нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) при проведении дифференциального диагноза между преэклампсией и гестационной тромбоцитопенией. **Материалы и методы.** Межгрупповой сравнительный ана-

Differential diagnostic capabilities of calculating the level of neutrophil extracellular traps in the venous blood of pregnant women: a comparative prospective study

N.B. Kuzina¹, E.N. Plakhotina², A.N. Kuzovlev¹,
T.N. Belousova², E.V. Bryantsev², D.V. Kasina³

¹ Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine
and Rehabilitology, Moscow, Russia

² Vidnovsky perinatal center, Vidnoye, Russia

³ Moscow Regional Research Clinical Institute, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Severe preeclampsia in early stages can be detected by isolated thrombocytopenia, which makes it difficult to diagnose it in time and carry out the necessary therapeutic measures. As a rule, the diagnosis of severe preeclampsia can be declared with a detailed clinical and laboratory researches, and it increases the risks for the mother and the embryo. However, if there are no clinical symptoms of preeclampsia except of thrombocytopenia, there is a problem of differential diagnosis between thrombocytopenia, which has the same symptoms as preeclampsia and gestational thrombocytopenia, which is a physiological peculiarity and does not require any medical interventions and restrictions. Nowadays there are no screening methods for differential diagnosis of these conditions. **Objectives.** To estimate the possibilities of determining the level of neutrophil extracellular traps (NETs) during the differential diagnosis of preeclampsia and gestational thrombocytopenia. **Materials and methods.** The comparative analysis of the level of NETs was carried out in three groups of pregnant women. Group 1 included patients with severe preeclampsia ($n = 45$), group 2-patients with gestational thrombocytopenia ($n = 44$) and group 3 consisted of healthy pregnant women ($n = 44$).

лиз уровня НВЛ был проведен в трех группах беременных. В группу № 1 вошли пациентки с тяжелой преэклампсией ($n = 45$), в группу № 2 — пациентки с гестационной тромбоцитопенией ($n = 44$) и группу № 3 (контрольную) составили беременные без тромбоцитопении и преэклампсии ($n = 44$). **Результаты.** Проведенное исследование выявило значимое увеличение уровня НВЛ в группе пациенток с преэклампсией (среднее 15,26 %) по сравнению с группами беременных без тромбоцитопении (среднее 7,65 %, $p = 0,001$) и пациенток с гестационной тромбоцитопенией (среднее 7,04 %, $p = 0,002$). Значимых различий в уровне НВЛ между группами беременных без тромбоцитопении и пациенток с гестационной тромбоцитопенией не выявлено. **Заключение.** Значимое увеличение уровня НВЛ у пациенток с тяжелой преэклампсией позволяет рассматривать метод подсчета уровня НВЛ у пациенток с тромбоцитопенией, выявленной после 20-й недели беременности, при отсутствии других лабораторных и клинических признаков преэклампсии как скрининговый для ранней диагностики этого осложнения.

Ключевые слова: беременность, преэклампсия, тромбоцитопения, нейтрофильные внеклеточные ловушки

✉ Для корреспонденции: Кузовлев Артем Николаевич — д-р мед. наук, заместитель директора — руководитель НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР, заведующий кафедрой анестезиологии-реаниматологии ИВД-ПО ФНКЦ РР, ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии», Москва; e-mail: artem_kuzovlev@mail.ru

✉ Для цитирования: Кузина Н.Б., Плахотина Е.Н., Кузовлев А.Н., Белоусова Т.Н., Брянцев Е.В., Касина Д.В. Дифференциально-диагностические возможности подсчета уровня нейтрофильных внеклеточных ловушек в венозной крови беременных: сравнительное проспективное исследование. Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова. 2021;4:79–87. DOI: 10.21320/1818-474X-2021-4-79-87

✉ Поступила: 04.10.2021

✉ Принята к печати: 30.11.2021

✉ Дата онлайн-публикации: 19.01.2022

Results. The research revealed significant increase in the level of NETs in the group of patients with preeclampsia (15.26 %) compared with the groups of healthy patients (7.65 %, $p = 0.001$) and patients with gestational thrombocytopenia (7.04 %, $p = 0.002$). There were no significant differences in the level of NETs between the groups of healthy patients and patients with gestational thrombocytopenia.

Conclusions. A significant increase of the level of NETs among the patients with severe preeclampsia allows us to consider the method of calculating the level of NETs among patients with thrombocytopenia which can be detected after the 20th week of pregnancy, if there are no other laboratory and clinical signs of preeclampsia as a screening method for early diagnosis of this complication.

Keywords: pregnancy, pre-eclampsia, thrombocytopenia, neutrophil extracellular traps

✉ For correspondence: Artem N. Kuzovlev, MD, PhD, head of the V. Negovsky research institute of general reanimatology, head of the chair of Anesthesiology and Resuscitation, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation, Moscow, Russia; e-mail: artem_kuzovlev@mail.ru

✉ For citation: Kuzina N.B., Plakhotina E.N., Kuzovlev A.N., Belousova T.N., Bryantsev E.V., Kasina D.V. Differential diagnostic capabilities of calculating the level of neutrophil extracellular traps in the venous blood of pregnant women: a comparative prospective study. Annals of Critical Care. 2021;4:79–87. DOI: 10.21320/1818-474X-2021-4-79-87

✉ Received: 04.10.2021

✉ Accepted: 30.11.2021

✉ Published online: 19.01.2022

DOI: 10.21320/1818-474X-2021-4-79-87

Введение

В 2004 г. Zychlinsky et al. было описано явление нейтразализации патогенных микроорганизмов нейтрофилами с помощью образуемых ими внеклеточных структур, названных «нейтрофильными внеклеточными ловушками» (НВЛ; Neutrophil Extracellular Traps — NETs). Так как в процессе образования ловушек нейтрофил гибнет, то механизм их образования был назван НЕТоз, по аналогии с апоптозом и некрозом [1].

В литературе имеются сведения о количестве НВЛ у здоровых доноров, которое составило $5,7 \pm 2,5$ %, Min-Max: 1,8–11,9 % [2].

Многочисленные исследования показывают, что образование НВЛ играет важную роль в патогенезе таких заболеваний, как системная красная волчанка [3], преэклампсия [4, 5], сепсис [6–8], муковисцидоз [9], иммунокомплексные заболевания [10], воспалительные заболевания кишечника [11], атеросклероз [12], антифосфолипидный синдром [13, 14].

При преэклампсии снижение перфузии плаценты связано в том числе с повышенным высвобождением воспалительных мембранных микрочастиц микроволокон синцитиотрофобласта и цитокинов в ответ на первичную гипоксию, вызванную изначальным нарушением инвазии трофобласта. Увеличение уровня микроволокон синцитиотрофобласта было выявлено в крови у женщин с преэклампсией. Исследования показали, что микроволокна синцитиотрофобласта разрушают эндотелий и ингибируют пролиферацию эндотелиальных клеток в культуре и эндотелий-зависимую релаксацию мелких артерий *in vitro* [15–18]. Было выдвинуто предположение, что при недостаточной перфузии в плаценте при преэклампсии образуются активные формы кислорода [19], являющиеся индукторами НЕТоза. Как следствие этого, образуется порочный круг, при котором начальная гипоксия, вызванная неправильной структурой спиральных артерий, и связанный с ней окислительный стресс индуцируют нейтрофилы для образования ловушек, наличие которых усугубляет нарушение плацентарного кровотока, увеличивая степень гипоксии и окислительного стресса [5, 20–23].

Для тяжелой преэклампсии характерно быстрое прогрессирование клинических симптомов с развитием таких осложнений, как задержка внутриутробного развития плода (8–20 %) [24], преждевременная отслойка плаценты [25], эклампсия (8 %) [26], HELLP-синдром (4–12 %) [27]. В структуре материнской смертности данное осложнение находится на четвертом месте [24]. Преэклампсия становится причиной более 70 000 материнских и 500 000 внутриутробных/неонатальных смертей ежегодно в мире [28]. В случае манифестации тяжелой преэклампсии изолированной тромбоцитопенией необходима своевременная диагностика и исключение других видов тромбоцитопений, прежде всего гестационной, как наиболее часто встречающейся.

В настоящее время диагноз тяжелой преэклампсии выставляется на основании развернутой клинико-лабораторной картины. Однако атипичная манифестация состояния может снизить настороженность в отношении преэклампсии, склоняя врача к диагнозу гестационной тромбоцитопении. Данная позиция способна привести к неправильной тактике ведения пациенток и развитию тяжелых осложнений преэклампсии. Но даже при настороженности врача подтверждение или исключение диагноза преэклампсии на ранних ее стадиях без выраженной клинической картины вызывает определенные трудности. Диагностические маркеры ранней преэклампсии, например, определение соотношения sflt-1/plgf, малодоступны в обычной клинической практике [29]. Гипердиагностика данного осложнения влечет за собой необоснованную полипрагмазию и излишние вмешательства, в том числе преждевременное родоразрешение, в которых нет необходимости при гестационной тромбоцитопении. С другой стороны, четких диагностических критериев гестационной тром-

боцитопении в настоящее время также нет, диагноз гестационной тромбоцитопении является диагнозом исключения. Гестационная тромбоцитопения имеет физиологическую природу, обычно не сопровождается нарушениями коагуляции, не требует каких-либо вмешательств и проходит самостоятельно после родоразрешения [30, 31].

Таким образом, в настоящее время не существует доступного скринингового метода дифференциальной диагностики начальных проявлений тяжелой преэклампсии с другими состояниями, сопровождающимися тромбоцитопенией, в том числе гестационной.

Цель исследования — оценка возможности метода определения уровня НВЛ при проведении дифференциального диагноза между преэклампсией и гестационной тромбоцитопенией.

Материалы и методы

Сравнительное проспективное клиническое исследование уровня НВЛ в венозной крови пациенток с тяжелой преэклампсией, гестационной тромбоцитопенией и здоровых беременных было проведено на базе ГБУЗ МО «Видновский перинатальный центр» (рис. 1). Для проведения исследования формировались три группы пациенток. Объем выборки определялся табличным методом по методике К.А. Отдельновой [32]. Набор пациенток проводился без рандомизации до достижения рассчитанного объема. Пациентки распределялись в группы после подтверждения диагнозов тяжелой преэклампсии, гестационной тромбоцитопении или их исключения. В группу № 1 вошли 45 пациенток с диагнозом «тяжелая преэклампсия», установленным по следующим критериям: диастолическое АД более или равно 110 мм рт. ст., систолическое АД \geq 160 мм рт. ст., суточная протеинурия превышает 5 г/л и/или наличие одного или нескольких дополнительных критериев тяжелой преэклампсии (HELLP-синдром, устойчивые головные боли, рвота, другие церебральные или зрительные расстройства, нарушение функции почек, острое повреждение легких, отек легких, отек зрительного нерва, нарушение функции печени, боли в эпигастрии/ правом верхнем квадранте живота, тромбоцитопения и/или ее прогрессирование, внезапно появившиеся/ прогрессирующие отеки, подтверждение страдания плода) [33]. Группа № 2 включала в себя 44 пациентки с диагнозом «гестационная тромбоцитопения», установленным по следующим критериям: снижение количества тромбоцитов во время данной беременности ниже $150 \times 10^9/\text{л}$, отсутствие диагноза тромбоцитопении любого генеза до настоящей беременности [34]. Контрольную группу № 3 составили 44 пациентки без преэклампсии и тромбоцитопении. Общими для всех

групп критериями исключения являлись заболевания, которые согласно опубликованным данным могут сопровождаться повышением уровня НВЛ: онкологические заболевания в анамнезе или на момент исследования, сифилис в анамнезе или на момент исследования, наследственная тромбофилия (мутация V фактора (мутация Лейдена), мутация гена протромбина, дисфибриногенемия, мутация генов протеинов C и S), установленная с помощью генетических скрининговых методов до настоящей беременности, если пациентка не имела данного диагноза и не обследовалась на его наличие, то считалась свободной от данного признака; хронические инфекционные заболевания в стадии обострения, антифосфолипидный синдром, диагностированный

до наступления настоящей беременности на основании Австралийских критериев 2006 г., если пациентка не имела данного диагноза и не обследовалась на его наличие, то считалась свободной от данного признака; системная красная волчанка, муковисцидоз, сепсис, ревматоидный артрит, геморрагический васкулит [3, 6–14]. Также в процессе исследования из выборки были исключены пациентки с отрицательным резус-фактором крови, многоплодной беременностью и гестационным сахарным диабетом, требующим применения инсулинотерапии. При анализе полученных данных у данной категории пациенток выявлено значимое увеличение уровня НВЛ, что требует отдельного более глубокого изучения (см. рис. 1).

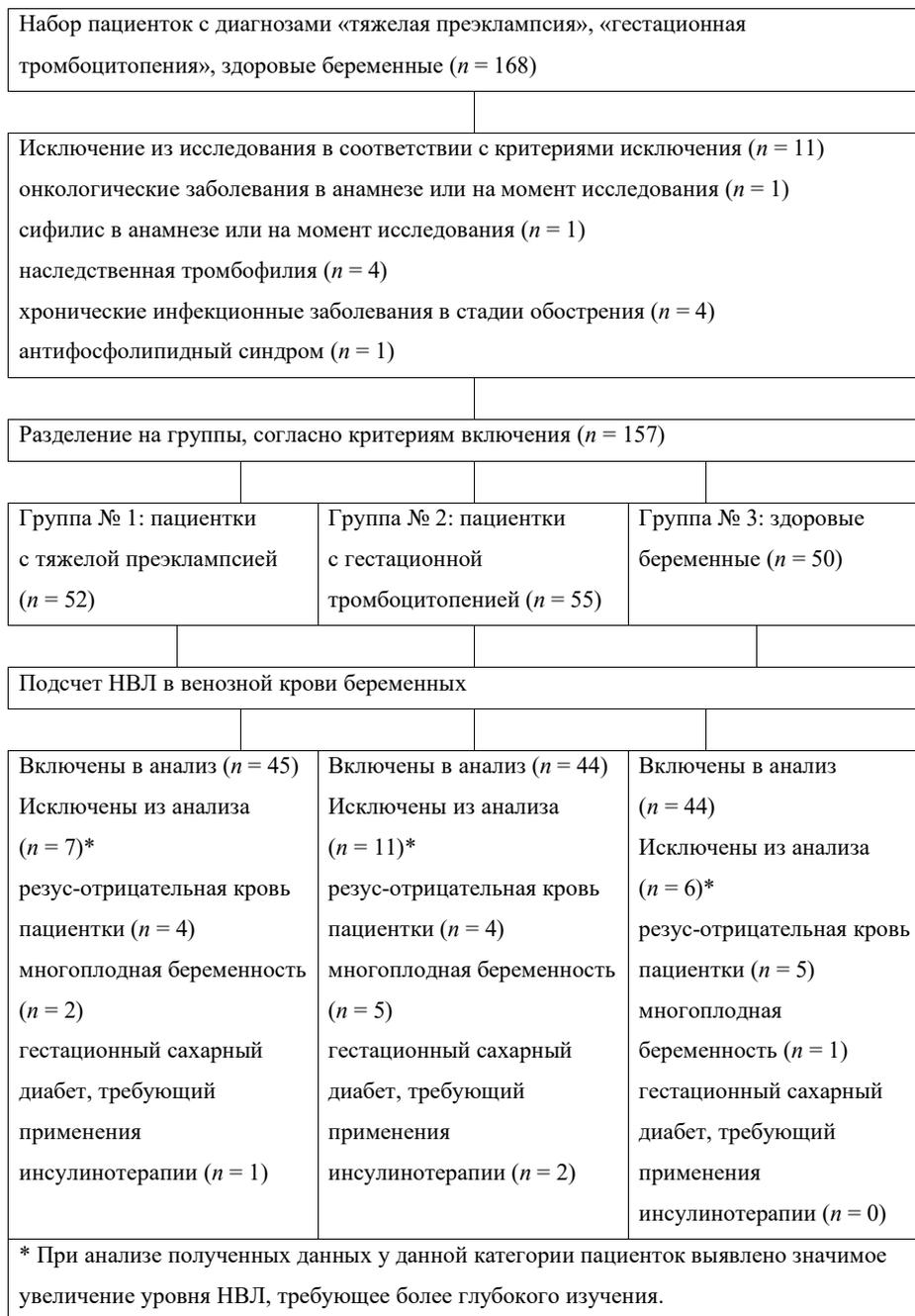


Рис. 1. Схема проведения сравнительного проспективного клинического исследования «Подсчет и сравнение уровня НВЛ в венозной крови пациенток с тяжелой преэклампсией, гестационной тромбоцитопенией и здоровых беременных»
Fig. 1. Flow diagram of comparative prospective clinical study "Calculation and comparison of the level of NETs in the venous blood of patients with severe preeclampsia, gestational thrombocytopenia and healthy pregnant women"

С целью количественной оценки уровня НВЛ проводился забор венозной крови пациенток во II–III триместрах беременности в пробирки для общего анализа крови RusTech и PUTH с КЗ ЭТДА. В дальнейшем в течение 1,5 ч с момента забора изготавливался мазок крови с плотным монослоем клеток и проводилось исследование в соответствии с методикой, описанной в патенте РФ № 2121297 «Способ определения относительного количества этотически трансформированных фагоцитов» с использованием устройства для изготовления мазка (ООО «Медтехнопарк»). Способ заключается в проведении концом размазывающей поверхности пластины по рабочей поверхности рабочего стекла, на которую наносится мазок, при этом мазок крови изготавливают равномерным по толщине в один слой эритроцитов с плотностью эритроцитов в нем 4–15 тыс./мм. Для этого использовали 2 мкл забранной крови, полученные мазки окрашивали по Романовскому—Гимзе. Подсчет НВЛ в мазке, образованных НЕТоз-трансформированными фагоцитами крови, проводился с использованием комплекса автоматизированной микроскопии МЕКОС-Ц2 (ЗАО «МЕКОС») и синтетического иммерсионного масла (ООО «Минимед»).

Во всех изготовленных мазках подсчитывалось количество нативных фагоцитов ($N_{\text{нат}}$) и разрушенных трансформированных фагоцитов ($N_{\text{разр}}$), визуализируемых на мазке как НВЛ, уровень НВЛ вычисляли по формуле:

$$\text{Уровень НВЛ} = N_{\text{разруш}} / (N_{\text{нат}} + N_{\text{разруш}}) (\%).$$

Все анализируемые данные были проверены на нормальность распределения. В случае их соответствия нормальному распределению для описания использованы параметрические критерии: среднее значение и стандартное отклонение. Для сравнительного анализа исследуемых групп в этом случае применялся дисперсионный анализ и *t*-критерий Стьюдента. Если распре-

деление данных не соответствовало нормальному, для описания использовались медиана (М), первый и третий квартили (Q1–Q3), а для проведения сравнительного анализа критерии Краскела—Уоллеса и U-тест Манна—Уитни. Для анализа качественных признаков применялся критерий χ^2 Пирсона. Различия считали достоверными при уровне критерия значимости менее 0,05. Статистический анализ результатов исследования проведен с использованием программы Statistica 10 (StatSoftInc., США).

Проведение данного исследования было одобрено этическим комитетом ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей реаниматологии имени В.А. Неговского», г. Москва (протокол № 2/20/3 от 10.06.2020).

Результаты исследования

При анализе возрастных и весо-ростовых показателей (табл. 1) различий в исследуемых группах не выявлено. Срок гестации при проведении исследования (см. табл. 1) был значимо меньше в группе № 1, чем в группе № 2 ($p = 0,000001$, U-критерий Манна—Уитни) и в группе № 3 ($p = 0,0002$, U-критерий Манна—Уитни). Данное различие объясняется частой необходимостью преждевременного родоразрешения у пациенток с тяжелой преэклампсией. Различий в сроках беременности при проведении исследования в группах № 2 и № 3 не выявлено (U-критерий Манна—Уитни $p > 0,05$). Более частая встречаемость преэклампсии у первобеременных женщин [35–37] объясняет преобладание в группе № 1 первородящих пациенток по сравнению с группой № 2 ($p = 0,006$, U-критерий Манна—Уитни) и с группой № 3 ($p = 0,006$, U-критерий Манна—Уитни) (см. табл. 1). Значимых различий между группами № 2 и № 3 не выявлено (U-критерий Манна—Уитни, $p > 0,05$).

Таблица 1. Характеристика исследуемых групп

Table 1. Characteristics of the studied groups

Показатель <i>Indicator</i>	Группа № 1 <i>Group 1</i>	Группа № 2 <i>Group 2</i>	Группа № 3 <i>Group 3</i>
Возраст, Ме (Q1–Q3), лет <i>Age, Me (Q1–Q3), years</i>	31 (23–37)	30 (27–31,5)	31 (25–35)
Индекс массы тела, Ме (Q1–Q3) <i>Body Mass Index, Me (Q1–Q3)</i>	30,2 (25,4–35,9)	27,9 (25,6–29,5)	28,3 (26,3–29,6)
Срок беременности, Ме (Q1–Q3), недель <i>Gestation period, Me (Q1–Q3), weeks</i>	36,3 (30–38)*	39 (37,5–39,2)	39 (38–39,6)
Паритет родов, Ме (Q1–Q3) <i>Birth parity, Me (Q1–Q3)</i>	1 (1–2)*	2 (1–2,25)	2 (1–2,75)

* - $p < 0,05$ по сравнению с двумя другими группами, U-критерий Манна-Уитни

Среди сопутствующей патологии у пациенток преобладали заболевания мочеполовой системы, заболевания эндокринной системы и нарушение жирового обмена, анемия 1-й степени. Большое количество заболеваний эндокринной системы и нарушение жирового обмена в группе № 1, составляющие 40,3 % от общего числа заболеваемости, обусловлено уве-

личением риска развития преэклампсии у пациенток с нарушением жирового обмена [35-37]. За счет данных результатов связь между факторным и резуль- тативным признаками статистически значима при уровне значимости $p < 0,01$. Более подробно структу- ра сопутствующей патологии в исследуемых группах представлена в табл. 2.

Таблица 2. Характер и частота сопутствующей патологии в группах сравнения

Table 2. Analysis of the nature and frequency of concomitant pathology in comparison groups

Нозология <i>Nosology</i>	Группа № 1 <i>Group 1 n = 45</i>	Группа № 2 <i>Group 2 n = 44</i>	Группа № 3 <i>Group 3 n = 44</i>	p , критерий χ^2 Пирсона p , <i>Chi-square test</i>
Анемия 1-й степени <i>Anemia of the 1st degree</i>	6 (9 %)	8 (25,8 %)	6 (15 %)	
Варикозное расширение крупных вен <i>Varicose veins of large veins</i>	8 (11,9 %)	3 (9,7 %)	3 (7,5 %)	
Заболевания ЖКТ <i>Diseases of the gastrointestinal tract</i>	3 (4,5 %)	7(22,5 %)	3 (7,5 %)	
Заболевания опорно-двигательного аппарата <i>Diseases of the musculoskeletal system</i>	0	0	2(5 %)	
Заболевания сердечно-сосудистой системы <i>Diseases of the cardiovascular system</i>	6 (9 %)	1 (3,3 %)	6 (15 %)	$p < 0,001$
Заболевания дыхательной системы <i>Diseases of the respiratory system</i>	2 (2,9 %)	0	2(5 %)	
Заболевания эндокринной системы и нарушение жирового обмена <i>Diseases of the endocrine system and violation of fat metabolism</i>	27(40,3 %)	7 (22,5 %)	5 (12,5 %)	
Неврологические заболевания <i>Diseases of the nervous system</i>	3 (4,5 %)	0	2 (5 %)	
Заболевания мочевыделительной и половой систем <i>Diseases of the urinary-excretory and reproductive systems</i>	12 (17,9 %)	5 (16,2 %)	11 (27,5 %)	

Отличия в количестве участников в группах и сопутствующей патологии обусловлены наличием нескольких сопутствующих заболеваний у некоторых пациенток.

Выявленные групповые различия по характеру и частоте сопутствующей патологии закономерны, поскольку заболевания эндокринной системы, нарушения жирового обмена являются факторами риска развития преэклампсии [34–36] и не могли повлиять на результаты исследования.

Характеристика количества НВЛ в исследуемых группах представлена в табл. 3.

При проведении дисперсионного анализа количества НВЛ выявлены значимые межгрупповые различия ($p = 0,003$). При попарном сравнении групп с использованием t -критерия Стьюдента в группе № 1 пациенток с преэклампсией количество НВЛ было значимо выше, чем в группе № 2 пациенток с гестационной

тромбоцитопенией ($p=0,001$). При сравнении группы преэклампсии с группой № 3 здоровых пациенток также выявлены значимые различия ($p = 0,001$, t -критерий Стьюдента). Количество НВЛ в группах № 2 и № 3 не различалось ($p > 0,05$, t -критерий Стьюдента).

Обсуждение

В связи с отсутствием общепризнанных нормальных популяционных значений уровня НВЛ в венозной крови беременных за норму было принято среднее показателя НЕТоза группы № 3 с учетом стандартного отклонения, которое составило 4,45–10,85 % ($7,65 \pm 3,2$ %, Min-Max: 1–13,7 %).

Таблица 3. Характеристики показателей количества НВЛ в исследуемых группах**Table 3.** Characteristics of the indicators of the number of NETs in the studied groups

	Среднее значение <i>Average value</i>	Минимум <i>Minimum</i>	Максимум <i>Maximum</i>	Стандартное отклонение <i>Standard deviation</i>
Группа № 1 <i>Group 1</i> (<i>n</i> = 45), %	15,3*	5,8	28,7	5,7
Группа № 2 <i>Group 2</i> (<i>n</i> = 44), %	7,2	0,9	13,4	3,2
Группа № 3 <i>Group 3</i> (<i>n</i> = 44), %	7,7	1	13,7	3,2

* - $p < 0,05$ (t-критерий Стьюдента) по сравнению с группой №2 и группой №3.

Выявленное в проведенном исследовании повышение уровня НВЛ при преэклампсии подтверждает данные мировой литературы. Подобные результаты были получены Gupta et al., которые показали, что и микро-волоконна синцитиотрофобласта и растворимые плацентарные факторы *in vitro* активируют нейтрофилы для образования НВЛ. Они также выявили у ловушек способность захватывать не только объемные объекты, например, бактерии (> 2 мкм), но и очень мелкие (< 200 Нм) частицы, такие как микроволоконна синцитиотрофобласта. При преэклампсии количество сетей в плаценте было значимо выше, чем в плаценте здоровых пациенток [20]. Данных отечественных исследований на эту тему в доступных источниках найдено не было.

Эпителиальная дисфункция и эндотелиоз при преэклампсии, возможно, также связаны с увеличением уровня НВЛ, что отражено в работе Saffarzadeh et al., показавшей непосредственное токсическое действие компонентов НВЛ на эндотелий [38].

Прокоагулянтный эффект ловушек, доказанный многими авторами [39, 40], объясняет возникновение тромбоцитопении при преэклампсии, которая в первую очередь является тромбоцитопенией потребления и может предшествовать развернутой клинико-лабораторной картине преэклампсии.

С другой стороны, отсутствие различий в количестве НВЛ у пациенток с гестационной тромбоцитопенией и в контрольной группе еще раз указывает на возможный физиологический характер первой, отсутствие выраженного поражения эндотелия при данном состоянии и массивной тромбоцитопении потребления по сравнению с тромбоцитопенией при преэклампсии.

Однако недостаточная изученность данного вопроса требует проведения более масштабных исследований с целью определения референсных значений уровня НВЛ у здоровых беременных с учетом сроков

гестации: при различной патологии беременности и сравнение их уровня с небеременными здоровыми исследуемыми.

Заключение

Проведенный сравнительный анализ не выявил различий уровня НВЛ у здоровых беременных и пациенток с гестационной тромбоцитопенией.

Значимое повышение уровня НВЛ при развитии преэклампсии требует дальнейшего изучения возможности метода подсчета уровня НВЛ для ранней диагностики этого осложнения у пациенток высокого риска.

Значимые различия в уровне НВЛ при преэклампсии и гестационной тромбоцитопении позволяют использовать метод для дифференциальной диагностики данных заболеваний.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Кузина Н.Б., Плахотина Е.Н., Кузовлев А.Н., Белоусова Т.Н., Брянцев Е.В., Касина Д.В. — разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Author contribution. Kuzina N.B., Plakhotina E.N., Kuzovlev A.N., Belousova T.N., Bryantsev E.V., Kasina D.V. - all authors according to the ICMJE criteria participated in the development of the concept of the article, obtaining and analyzing factual data, writing and editing the text of the article, checking and approving the text of the article.

ORCID авторов

Кузина Н.Б. — 0000-0002-1223-8740
 Плахотина Е.Н. — 0000-0002-6793-2318
 Кузовлев А.Н. — 0000-0002-5930-0118

Белуцова Т.Н. — 0000-0003-3804-7691

Брянцев Е.В. — 0000-0001-6155-9404

Касина Д.В. — 0000-0002-6759-9121

Литература/References

- [1] *Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., et al.* Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science (New York, N.Y.)*. 2004; (303)5663: 1532–5. DOI: 10.1126/science.1092385
- [2] *Mosalskaya D.V., Guryev A.S., Lopatin A.F.* Prognostic value of determining the level of DNA traps in sepsis. *Materials of the Conference: Sepsis 2018*. 2018, 1–3 October. Bangkok, Thailand.
- [3] *Handono K., Pradana B.A., Nugroho R.A., et al.* 1,25(OH)2D3 Inhibits Endothelial Apoptosis by Neutrophil Extracellular Traps Externalization in Systemic Lupus Erythematosus Patients. *Turk J Immunol*. 2017; 5(3): 89–95. DOI: 10.25002/tji.2017.623
- [4] *Marder W., Knight J.S., Kaplan M.J., et al.* Placental histology and neutrophil extracellular traps in lupus and pre-eclampsia pregnancies. *Lupus Sci Med*. 2016; 3: e000134. DOI: 10.1136/lupus-2015-000134
- [5] *Gupta A.K., Hasler P., Holzgreve W., et al.* Neutrophil NETs: a novel contributor to preeclampsia-associated placental hypoxia? *Semin Immunopathol*. 2007; 29: 163–7. DOI: 10.1007/s00281-007-0073-4
- [6] *Liu X., Shen Y., Wang H., et al.* Prognostic Significance of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Patients with Sepsis: A Prospective Observational Study. *Mediators Inflamm*. 2016; 2016: 8191254. DOI: 10.1155/2016/8191254
- [7] *Tamayo E., Gómez E., Bustamante J., et al.* Evolution of neutrophil apoptosis in septic shock survivors and nonsurvivors. *J Critical Care*. 2012; 27: 415. e1–415.e11. DOI: 10.1016/j.jcrc.2011.09.001
- [8] *Camicia G., Pozner R., de Larran G.* Neutrophil extracellular traps in sepsis. *Shock*. 2014; 42(4): 286–94. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000221
- [9] *Law Sh. M., Gray R.D.* Neutrophil extracellular traps and the dysfunctional innate immune response of cystic fibrosis lung disease: a review. *J Inflamm (Lond)*. 2017; 14: 29. DOI: 10.1186/s12950-017-0176-1
- [10] *Зубкова Ж.В., Новикова И.А., Железко В.В.* Влияние тромбоцитов на формирование нейтрофилами экстрацеллюлярных сетей у пациентов с иммунокомплексной патологией. *Проблемы здоровья и экологии*. 2016; 3(49): 66–70. [*Zubkova Zh.V., Novikova I.A., Zhelezko V.V.* Influence of platelets on the formation of extracellular networks by neutrophils in patients with immunocomplex pathology. *Problems of health and ecology*. 2016; 3(49): 66–70. (In Russ)]
- [11] *Li T., Wang C., Liu Y. et al.* Neutrophil extracellular traps induce intestinal damage and thrombotic tendency in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. 2020; 10;14(2):240-253. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjz132.
- [12] *Moschonas I.C., Tselepis A.D.* The pathway of neutrophil extracellular traps towards atherosclerosis and thrombosis. *Atherosclerosis*. 2019;288:9-16. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.06.919.
- [13] *Yalavarthi S., Gould T.J., Rao A.N. et al.* Release of neutrophil extracellular traps by neutrophils stimulated with antiphospholipid antibodies. A newly identified mechanism of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Arthritis & Rheumatology*. 2015;67(11): 2990-3003. DOI:10.1002/art.39247
- [14] *Bravo-Barrera J., Kourilovitch M., Galarza-Maldonado C.* Neutrophil extracellular traps, antiphospholipid antibodies and treatment. *Antibodies*. 2017; 6: 4; DOI:10.3390/antib6010004
- [15] *Gardiner Ch., Vatish M.* Impact of haemostatic mechanisms on pathophysiology of preeclampsia. *Thrombosis Research*. 2017; 151(1): 48–52. DOI: 10.1016/S0049-3848(17)30067-1
- [16] *Goulopoulou S., Davidge S.T.* Molecular mechanisms of maternal vascular dysfunction in preeclampsia. *Trends Mol Med*. 2015; 21(2): 88–97. DOI: 10.1016/j.molmed.2014.11.009
- [17] *Ratsep M.T., Felker A.M., Kay V.R., et al.* Uterine natural killer cells: supervisors of vasculature construction in early decidua basalis. *Reproduction*. 2015; 49: 91–102. DOI: 10.1530/REP-14-0271
- [18] *Chaiworapongsa T., Chaemsaitong P., Yeo L., et al.* Preeclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology. *Perinatology Nat Rev Nephrol*. 2014; 10(8): 466–80. DOI: 10.1038/nrneph.2014.102
- [19] *Giaglis S., Stoikou M., Grimalozzia F., et al.* Neutrophil migration into the placenta: Good, bad or deadly? *Cell Adhesion & Migration*. 2016; 10(1–2): 1–18. DOI: 10.1080/19336918.2016.1148866
- [20] *Gupta A.K., Hasler P., Holzgreve W., et al.* Induction of Neutrophil Extracellular DNA Lattices by Placental Microparticles and IL-8 and Their Presence in Preeclampsia. *Human Immunology*. 2005; (66): 1146–54. DOI: 10.1016/j.humimm.2005.11.003
- [21] *Gupta A., Hasler P., Gebhardt S., et al.* Occurrence of Neutrophil Extracellular DNA Traps (NETs) in Pre-Eclampsia A Link with Elevated Levels of Cell-Free DNA? *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2006; (1075): 118–22. DOI: 10.1196/annals.1368.015
- [22] *Germain S.J., Sacks G.P., Soorana S.R., et al.* Systemic Inflammatory Priming in Normal Pregnancy and Preeclampsia: The Role of Circulating Syncytiotrophoblast Microparticles. *J Immunol*. 2007; (178): 5949–56. DOI: 10.4049/jimmunol.178.9.5949
- [23] *Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А. и др.* Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд на «старых игроков» на иммунологическом поле. *Иммунология*. 2015; 36(4): 257–64. [*Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., et al.* Neutrophil granulocytes: a new look at the «old players» in the immunological field. *Immunologiya*. 2015; 36(4): 257–65. (In Russ)]
- [24] *Степанова Р.Н.* Преэклампсия, эклампсия: терминология и классификация. *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2018; 2:41-46. [*Stepanova R.N.* Preeclampsia, eclampsia: terminology and classification. *Ulyanovsk Medical*

- and Biological Journal. 2018; 2:41-46. (In Russ)]. DOI:10.23648/UMVJ.2018.30.13994]
- [25] Жукова А.П., Травин М.А., Залавина С.В. и др. Наблюдение материнской смертности при преждевременной отслойке плаценты. Вестник судебной медицины. 2018; 1(7):31-34. [Zhukova A.P., Travin M.A., Zalavina S.V., et al. Observation of maternal mortality in premature placental abruption. Bulletin of Forensic Medicine. 2018; 1(7):31-34 (In Russ)].
- [26] Петров Ю.А., Купина А.Д. Преэклампсия и эклампсия: перспективные возможности диагностики и профилактики. МатеридитявКузбассе.2020;2(81):54–60. [Petrov Yu.A., Kupina A.D. Preeclampsia and eclampsia: promising opportunities for diagnosis and prevention. Mother and child in Kuzbass. 2020; 2(81): 54–60. DOI: 10.24411/2686–7338 -2020-10023 (In Russ)]
- [27] Ибрагимова С.М., Стрижаков А.Н., Тимохина Е.В. и др. Особенности теченияHELLP-синдрома. Материалы 2-й международной конференции «Гемостаз, тромбоз и репродукция: междисциплинарный подход». Акушерство и гинекология Санкт-Петербурга. 2018; (2): 8–8а. [Ibragimova S.M., Strizhakov A.N., Timokhina E.V., et al. Features of the course of Hellp syndrome. Materials of the All-Russian Conference with international participation «Hemostasis, thrombosis and reproduction: an interdisciplinary approach». Obstetrics and Gynaecology of Saint-Petersburg. 2018; (2): 8–8а. (In Russ)]
- [28] Сяндюкова Е.Г., Чулков В.С., Рябикина М.Г. Преэклампсия: современное состояние проблемы. Доктор.Ру. 2021; 20(1): 11–6. [Syundyukova E.G., Chulkov V.S., Ryabikina M.G. Preeclampsia: the current state of the problem. Doctor.Ru. 2021; 20(1): 11–6. DOI: 10.31550/1727-2378-2021-20-1-11-16 (In Russ)]
- [29] Ющенко М.И., Дука Ю.М. Роль своевременного определения соотношения PIGF/sFlt-1 как раннего маркера преэклампсии. Акушерство и гинекология Санкт-Петербурга. 2019; 2: 41. [Yushchenko M.I., Duka Y.M. The role of timely determination of the ratio of PIGF / sFlt-1 as an early marker of preeclampsia. Obstetrics and gynecology of St. Petersburg. 2019; 2: 41. (In Russ)]
- [30] Lim C.C.Y., Patel D.K., Bakhtiari A., et al. An unusual presentation of gestational thrombocytopenia. Platelets. 2013; 24(6): 498–9. DOI: 10.3109/09537104.2012.724484
- [31] Win N., Rowley M., Pollard C., et al. Severe gestational (incidental) thrombocytopenia: To treat or not to treat. Hematology. 2005; 10(1): 69–72. DOI: 10.1080/10245330400020421
- [32] Лихванцев В.В., Ядгаров М.Я., Берикашвили Л.Б. и др. Определение объема выборки. Анестезиология и реаниматология. 2020;6:77-86. [Likhvantsev VV, Yadgarov MYa, Berikashvili LB, Kadantseva K.K, Kuzovlev AN. Sample size estimation. Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology. 2020;6:77-86. (In Russ)] DOI:10.17116/anaesthesiology202006177
- [33] Гипертензивные расстройства во время беременности, родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия. Клинические рекомендации (Протоколы лечения). 2016. Дата доступа 15 октября 2021. Режим доступа: https://mz.mosreg.ru/upload/iblock/fcc/gipertenzivnye-rasstroystva-vo-vremya-beremennosti_-v-rodakh-i-poslerodovom-periode.-preeklampsiya.-eklampsiya.pdf [Gipertenzivnye rasstrojstva vo vremya beremennosti, rodah i poslerodovom periode. Preeklampsiya. Eklampsiya. Klinicheskie rekomendacii (Protokoly lecheniya). 2016. Accessed 2021 Oct 15. Available from: https://mz.mosreg.ru/upload/iblock/fcc/gipertenzivnye-rasstroystva-vo-vremya-beremennosti_-v-rodakh-i-poslerodovom-periode.-preeklampsiya.-eklampsiya.pdf (In Russ)]
- [34] Войцеховский В.В., Заболотских Т.В., Целуйко С.С. Тромбоцитопении. Амурский медицинский журнал. 2017; 18(2): 7–25. [Voytsekhovsky V.V., Zabolotskih T.V., Tseluyko S.S. Thrombocytopenia. Amur Medical Journal. 2017; 18(2): 7–25. (In Russ)]
- [35] Rana S., Lemoine E., Granger J.P., et al. Preeclampsia Pathophysiology, Challenges, and Perspectives Circ Res. 2019; 124: 1094–112. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313276
- [36] Phipps E.A., Thadhani R., Benzing Th., et al. Pre-eclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies Nature reviews. Nat Rev Nephrol. 2019; 15(5): 275–89. DOI: 10.1038/s41581-019-0119-6
- [37] Sutton A.L.M., Harper L.M., Tita A.T.N. Hypertensive Disorders in Pregnanc. Obstet Gynecol Clin North Am. 2018; 45(2): 333–47. DOI: 10.1016/j.ogc.2018.01.012
- [38] Saffarzadeh M., Juenemann Ch., Queisser M.A., et al. Neutrophil Extracellular Traps Directly Induce Epithelial and Endothelial Cell Death: A Predominant Role of Histones. PLoS One. 2012; 7(2): e32366. DOI: 10.1371/journal.pone.0032366
- [39] Fuchsa T.A., Brilla A., Duerschmieda D., et al. Extracellular DNA traps promote thrombosis. Proc Natl Acad Sci USA. 2010; 107(36): 15880–5. DOI: 10.1073/pnas.1005743107
- [40] Бицадзе В.О., Слуханчук Е.В., Хизроева Д.Х. и др. Внеклеточные ловушки нейтрофилов (NETS) в патогенезе тромбоза и тромбовоспалительных заболеваний. Вестник российской академии медицинских наук. 2021; 76 (1): 75–85. [Bitsadze V.O., Slushanchuk E.V., Khizroeva D.H., et al. Extracellular neutrophil traps (NETS) in the pathogenesis of thrombosis and thrombi of inflammatory diseases. Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences. 2021; 76 (1): 75–85. DOI: 10.15690/vramn1395 (In Russ)]