

КАСУМ-ЗАДЕ НИГЯР КАСУМОВНА

**МЕТАБОЛОМ ПЛАЗМЫ КРОВИ.
ВОЗМОЖНОСТИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ПРЕЭКЛАМПСИИ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, профессор

Шалина Раиса Ивановна

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор

Петрухин Василий Алексеевич

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского», кафедра акушерства и гинекологии, профессор кафедры

Доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН

Игнатко Ирина Владимировна

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии ИКМ им. Н.В. Склифосовского, заведующий кафедрой

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2024 года в 14:00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.058.08 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения России по адресу: 117997, Москва, ул. Островитянова, д.1

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117977, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1 и на сайте: <http://rsmu.ru>.

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

Доктор медицинских наук, профессор

Хашукоева Асият Зульчифовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Преэклампсия (ПЭ) является мультисистемным заболеванием и одной из ведущих причин материнской и младенческой смертности в мире (Савельева Г.М., 2021; Rolnik DL, 2020). В России на ПЭ в структуре материнской смертности приходится 3-8% (Савельева Г.М., Шалина Р.И, Ходжаева З.С., 2021). Согласно данным FIGO (2021), ежегодно вследствие развившейся у матери ПЭ разной степени тяжести погибает до 500 тыс. новорожденных, что свидетельствует о том, что проблема сохраняет свою актуальность. Указанная тенденция вынуждает ученых разрабатывать различные диагностические модели, способные прогнозировать развитие ПЭ в 11-14 недель беременности (FIGO, 2021).

В настоящее время существует многочисленное количество методов прогнозирования ПЭ (ACOG, 2022; NICE, 2023), но, несмотря на многообразие алгоритмов, внедрение их в клиническую практику не снизило существенно частоту тяжелых форм ПЭ и ее значимость в структуре материнской смертности.

В 2000 году Фондом медицины плода (FMF) под руководством Kurpos Nicolaides было разработано программное обеспечение Astraia, включающее в себя комплекс клинических, лабораторных и инструментальных методов исследования. Согласно исследованиям, программа позволяет прогнозировать в 100% (95% CI, 80-100%) раннюю ПЭ, в 75% (95% CI, 62–85%) – позднюю ПЭ (O’Gorman N., Wright D., Poon L.C., 2017).

В 2021 г. S. Prasad, D.S. Sahota, P. Vanamail опубликовали результаты проспективного когортного исследования, проведенного в течение 2 лет. Был проведен анализ эффективности скрининга Astraia в Индокитае, так как пациентки данного региона в исследованиях команды FMF не участвовали. Согласно заключению, алгоритм показал эффективность скрининга ниже заявленной авторами. Авторы сделали вывод, что нормативные значения факторов риска, используемые алгоритмом, должны быть адаптированы для коренных жительниц Южной Азии. Беременные нашей страны также не были включены в исследования FMF. С 2011 г данная программа внедрена в практику медицинских учреждений г.

Москвы. Имеется незначительное количество работ, посвященных итогам внедрения данного скрининга в клиническую практику (Медведев М.В., 2018).

В последние годы мировым трендом в создании диагностических методов является использование метаболомных тестов. Метаболиты формируют молекулярный фенотип организма, так как являются субстратами или продуктами биохимических реакций. Поэтому в метаболоме, как в «молекулярном зеркале», отражаются все, в том числе и патологические, процессы, проходящие в организме (Лохов П.Г., 2021), что создает возможность для прогнозирования и диагностики различных заболеваний еще на доклиническом этапе. В имеющихся работах достоверно не установлены метаболиты, имеющие значение в прогнозировании ПЭ.

Высокая частота материнской, перинатальной заболеваемости и смертности, отсутствие эффективных методов профилактики ПЭ, обуславливают необходимость усовершенствования прогнозирования и разработку превентивных методов на ранних сроках беременности, что и определило цель и задачи данного исследования.

Степень разработанности темы исследования

Проблеме прогноза ПЭ посвящены труды как отечественных, так и зарубежных авторов (Савельева Г.М., 2020; Шалина Р.И., 2020; Сидорова И.С., 2021; Игнатко И.В., 2023; Тимохина Е.В., 2023; Петрухин В.А., 2022; Баев О.Р., 2021; Гурьева В.М., 2021; Цахилова С.Г., 2023; Ходжаева, З.С., 2023; O’Gorman N., 2023; Wright D., 2023; Poop L.C., 2023; Kypros N., 2023). Научные работы позволили приблизиться к пониманию принципов прогнозирования ПЭ и определить факторы риска развития осложнения беременности.

Проведенные исследования стали основой для создания различных алгоритмов, способных определить группу высокого риска развития ПЭ. Однако, добиться значимого снижения частоты заболевания и его осложнений, разработать высокоэффективный персонифицированный превентивный алгоритм полностью не удалось. Так, при использовании анамнестических данных пациенток для выделения групп риска развития ПЭ частота ложноположительных результатов

достигает 64,2% (O’Gorman N et., 2017).

Комплексная оценка пренатального скрининга, проведенного с помощью программного обеспечения Astraia, проведение метаболомного анализа плазмы крови, а также определение потенциальных биомаркеров, может позволить повысить эффективность раннего прогнозирования преэклампсии.

Вышесказанное послужило основанием для настоящего исследования.

Цель исследования

Повысить эффективность прогнозирования ПЭ на основе комплексной оценки пренатального скрининга и показателей метаболома плазмы крови.

Задачи исследования

1. Провести ретроспективный анализ эффективности прогнозирования ПЭ с использованием пренатального скрининга и программно-аппаратного комплекса «Astraia» в условиях городского центра планирования семьи и репродукции.
2. Выявить наиболее значимые, входящие в программу Astraia показатели, определяющие прогнозирование ПЭ.
3. Провести анализ эффективности профилактических мероприятий ПЭ, основанных на результатах пренатального скрининга.
4. Получить и сравнить масс-спектры метаболомов плазмы крови здоровых беременных и с ПЭ различной степени тяжести.
5. Определить метаболиты, вносящие вклад в патогенез и прогнозирование ПЭ.

Научная новизна

В условиях отделения пренатального скрининга проанализирована прогностическая значимость и выявлены наиболее достоверные факторы риска ПЭ, входящих в программу пренатального скрининга Astraia. На основании полученных данных отмечено, что для развития и прогнозирования ПЭ важное значение имеют нарушения гемодинамики, в том числе в маточных сосудах. Изменения плазменных белков показали меньшую прогностическую значимость.

Изучен метаболомный профиль плазмы крови беременных в I и III триместрах беременности при отсутствии и наличии ПЭ и показана его значимость в патогенезе заболевания.

При использовании масс-спектрометрического анализа плазмы из наиболее важных метаболитов идентифицированы низкомолекулярные химические соединения, определяющие патогенез ПЭ. Показано, что наибольшее значение имеют метаболиты, относящиеся к длинноцепочечным жирным кислотам, фосфо- и сфинголипидам, сахарам, определяющим структурно-функциональные свойства клеточных мембран.

При проведении масс-спектрометрического исследования на основании установленных изменений липидного профиля у беременных выявлены 9 соединений (Neuroprotectin D1, 3-2-(acetylamino)-1,5-anhydro-2-deoxy-4-O-b-D-galactopyranosyl-D-arabino-Hex-1-enitol, Biotinyl-5'-AMP, Cer(d18:0/20:0), Allolithocholic acid, Estriol-16-Glucuronide, Dodecanedioylcarnitine, N-Acetyl-D-glucosaminylphosphatidylinositol, ADP-glucose), способствующих прогнозированию заболевания с I триместра.

Теоретическая и практическая значимость работы

Приведены результаты ретроспективного анализа прогнозирования и профилактики ПЭ с использованием пренатального скрининга Astraia в условиях городского центра планирования семьи и репродукции.

В ходе проведенного исследования определены наиболее важные факторы риска развития ПЭ, вошедшие в программу пренатального скрининга Astraia. Установлено, что наибольшей прогностической значимостью обладают изменения пульсационного индекса в маточных артериях в 11-14 недель (чувствительность – 75%, специфичность – 65%).

Определена значимость липидных соединений в прогнозировании ПЭ.

Частота встречаемости выявленных наиболее значимых метаболитов не зависит от наличия превентивных мероприятий, а также вида профилактических мероприятий (ПМ).

Показано, что профилактическая терапия ПЭ должна быть персонифицирована с учетом клинических и биохимических факторов риска заболевания.

Методология и методы исследования

Методология включала анализ результатов клинических, лабораторных и инструментальных методов исследования у пациенток с физиологическим течением беременности и ПЭ. Исследование выполнено с соблюдением принципов доказательной медицины (отбор больных и статистическая обработка результатов). Работа выполнена в дизайне сплошного двухэтапного (ретроспективный и проспективный) исследования с использованием клинических, инструментальных, лабораторных и статистических методов исследования.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Разнообразие клинических факторов риска ПЭ приводит как к ее гипердиагностике, так и недооценке факторов риска заболевания. Наиболее значимыми факторами риска являются высокие показатели ИМТ (25 кг/м^2 и более) (Se 7,99%, Sp 61%), наличие наследственной тромбофилии (Se 17,9%, Sp 75,9%), наступление беременности вследствие использования ВРТ (Se 12,8%, Sp 93,3%).
2. Из комплекса объективных параметров, входящих в программу пренатального скрининга Astraia, наибольшей значимостью в плане прогноза ПЭ обладал пульсационный индекс маточных артерий (Se 75%, Sp 65%; AUC=0,600). При гемодинамических нарушениях у пациенток группы риска ПЭ развивалась у 1 из 8 пациенток, при изменении плазменных белков данное осложнение наблюдалось у 1 из 15 (Se 67%, Sp 65%; AUC=0,431).
3. Частота развития ПЭ у беременных группы высокого риска с вероятностью более 1:100, согласно программе Astraia, в общей сложности составила 10,0%. Частота заболевания определялась видом профилактических мероприятий (ПМ).
4. Из комплекса соединений, составляющих метаболом плазмы, наибольшую значимость для патогенеза и прогнозирования ПЭ имели метаболиты, которые по своей природе являются длинноцепочечными жирными кислотами (Neuroprotectin D1; Cer(d18:0/20:0)), фосфо- и сфинголипидами (3-2-(acetylamino)-1,5-anhydro-2-deoxy-4-O-b-D-galactopyranosyl-D-arabino-Hex-1-enitol, Biotinyl-5'-AMP, Allolithocholic acid, N-Acetyl-D-glucosaminylphosphatidylinositol, Dodecanedioylcarnitine, Estriol-16-Glucuronide), сахарами – ADP-glucose.

Степень достоверности результатов исследования

Статистическая обработка материалов выполнена с использованием пакетов прикладных программ «SPSS Statistics 25», «Exel». Различия между группами анализировались с помощью критерия хи-квадрат Пирсона. Критерий Фишера применялся для анализа четырехпольных таблиц в случае значений ожидаемого явления менее 5. Статистически значимыми считались данные при $p < 0,05$. Для сравнения непараметрических признаков применялся U-тест Манна-Уитни. Для описания количественных данных использовались показатели медианы с указанием квартилей. Риск развития ПЭ вычислен программой Astraia.

Апробация диссертации

Основные положения научно-исследовательской работы доложены и обсуждены на: 77-й Международная научно-практическая конференция молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2019); Алмазовском молодежном медицинском форуме 2019 (Санкт-Петербург, 2019); Виртуальном всемирном конгрессе Королевского колледжа акушерства и гинекологии (2021); XXIII Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2022).

Апробация диссертационной работы состоялась на совместной научно-практической конференции сотрудников кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета им.Г.М.Савельевой РНИМУ им. Н.И. Пирогова и врачей ГБУЗ ЦПСиР ДЗМ (протокол №10 от 27 апреля 2023).

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в выборе направления исследования, постановке цели и задач, клиническом обследовании и определении тактики ведения беременных с тяжелыми формами ПЭ, их родоразрешении. Диссертант производил набор пациенток для проспективного исследования, осуществлял забор образцов крови, центрифугирование и криоконсервацию плазмы. Самостоятельно проведен анализ полученных данных, статистическая обработка, написание и оформление основных публикаций по теме диссертации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1, 2, 4, 5 паспорта акушерства и гинекологии.

Внедрение результатов исследования в практику

Полученные научные и практические данные внедрены в клиническую практику ГБУЗ ГKB им. С.С. Юдина ЦПСИР ДЗМ и Родильный дом №4 при ГБУЗ «ГКБ №31 им. академика Г.М. Савельевой ДЗМ».

Материалы работы используются в учебном процессе при подготовке студентов, ординаторов и аспирантов на кафедре акушерства и гинекологии им. Г.М. Савельевой педиатрического факультета ФGAOY BO PИMИY им. Н.И. Пирогова Минздрава России (зав. кафедрой – академик РАН, профессор, д.м.н. Курцер М.А.).

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликованы 3 печатные работы в изданиях, рекомендованных Высшей Аттестационной Комиссией (ВАК) при Министерстве науки и высшего образования РФ для публикации основных результатов диссертационных работ на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Объем и структура и диссертации

Диссертация изложена на 122 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, дизайна и объема исследования, собственных результатов, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы, включающего 213 работ, из них отечественных 62 и зарубежных 151. Иллюстративный материал представлен 11 таблицами и 19 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование выполнялось в период 2017-2020 гг. на кафедре акушерства и гинекологии педиатрического факультета ФGAOY BO PИMИY им. Н.И. Пирогова

Минздрава России (заведующий кафедрой – академик РАН, д.м.н., профессор М.А. Курцер). Исследования проводились на базе ГБУЗ ГКБ им. С.С. Юдина ЦПСИР ДЗМ (главный врач – д.м.н. О.В. Папышева) и ФГБНУ НИИ биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича (д.м.н., профессор Маркин С.С.).

На **первом этапе** ретроспективно были проанализированы 2374 истории беременности и родов пациенток, прошедших первый пренатальный скрининг в программе Astraia в ГБУЗ ЦПСИР ДЗМ (Рисунок 1).

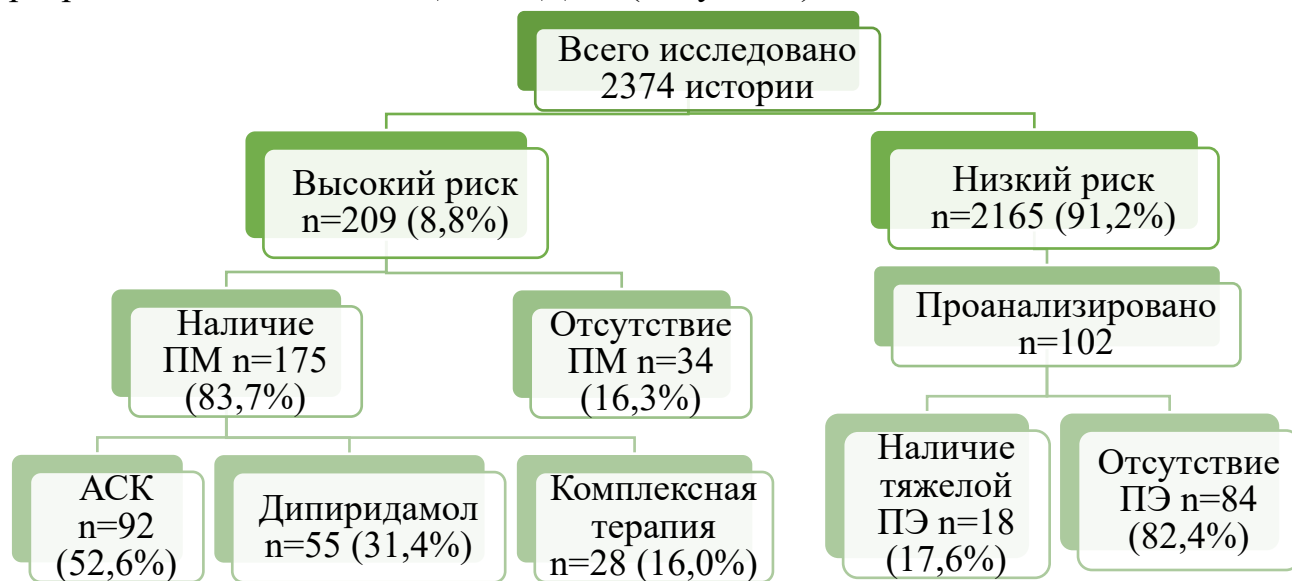


Рисунок 1 – Дизайн исследования. Первый этап. Прогнозирование ПЭ с использованием программы Astraia

Пороговым значением для включения в группу ВР по ПЭ считали вероятность $\geq 1:100$. В группу высокого риска (ВР) в отношении ПЭ были определены 209 (8,8%) человек, из которых у 175 (83,7%) проводились профилактические мероприятия. ПЭ развилась у 21 (10,0%). 92 (52,6%) пациентки в качестве профилактических мер (ПМ) принимали ацетилсалициловую кислоту (АСК) в дозе 150 мг/сут; 55 (31,4%) беременных получали дипиридамола (75 мг); 28 (16%) пациенткам с учетом наследственной тромбофилии и явлений гиперкоагуляции дополнительно назначался эноксапарин натрия (0,4 мг/сут) одновременно с АСК в дозах 150 мг/сут (16) или дипиридамолом в дозе 75 мг/сут (12). При этом 34 (16,3%), пациентки отказались от проведения профилактической терапии.

Для сравнительной оценки значимости факторов риска одновременно было прослежено течение беременности пациенток с НР: 102 пациентки без осложнений

беременности, 18 - с тяжелой ПЭ.

На **втором проспективном этапе** (Рисунок 2) работы проведен метаболомный анализ посредством масс-спектрометрии плазмы крови 104 пациенток (Рисунок 2).

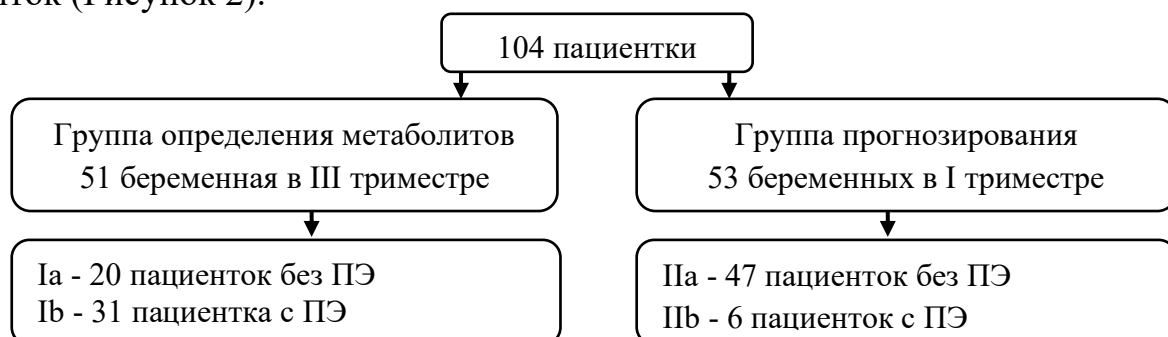


Рисунок 2 – Дизайн исследования. Второй этап. Метаболомный анализ

Для определения значимости метаболитов в патогенезе ПЭ обследованы 51 пациентка в III триместре. Контрольную группу составили 20 пациенток, у которых беременность протекала без осложнений. У 31 отмечена ПЭ различной степени тяжести (10 (32,3%) – умеренной степени, 21 (67,7%) - тяжелой). Одновременно обследовано 53 пациенток в I триместре: у 47 беременность протекала без осложнений, у 6 развилась умеренная ПЭ. Отмечены 9 эндогенных метаболитов в плазме крови, частота встречаемости которых значимо отличалась при физиологическом течении беременности и при развитии ПЭ ($p < 0,05$). Определены соединения, вносящие вклад в прогнозирование и патогенез ПЭ. Данные метаболиты по своей природе являются фосфолипидами, сфинголипидами, длинноцепочечными жирными кислотами и сахарами.

Критериями включения пациенток в исследование **на первом этапе явились:** высокий риск развития ранней и поздней ПЭ согласно результатам первого пренатального скрининга, проведенного в программе Astraia; пациентки с НР развития ранней и поздней форм заболевания с последующим развитием тяжелой ПЭ. **Критерии включения на втором этапе:** пациентки в III триместре (с ПЭ и без) и в I триместре (11-14 нед). **Критерии исключения:** генетические заболевания; врожденные пороки развития плода, многоплодная беременность, прерывание беременности.

На первом этапе для определения риска развития ПЭ в 11-14 недель

беременности в рамках первого пренатального скрининга пациенткам проводилось полное клинико-лабораторное обследование: общие клинические анализы, биохимический анализ крови с определением биохимических маркеров крови (PAPPA-A, PLGF, св. β -ХГЧ), коагулограмма, динамическая оценка АД, ЧСС, рСО₂, диуреза. Биохимические показатели (PAPP-A, PLGF) определялись на экспресс-анализаторе DELFIA Xpress компании Perkin Elmer.

Ультразвуковые исследования проводились трансабдоминально и трансвагинально с определением пульсационного индекса (ПИ) в маточных артериях (МА) на ультразвуковых аппаратах Voluson E8 (GE) по правилам Фонда медицины плода (FMF).

На втором этапе посредством масс-спектрометрии было зарегистрировано 14087 соединений, среди которых задетектировано и идентифицировано 1234 химических вещества. Анализ образцов выполняли на гибридном квадруполь-времяпролетном масс-спектрометре с электроспрейным источником ионизации maXisImpact (Bruker Daltonik GmbH, Germany) методом прямой инъекции.

Обработку масс-спектров проводили в программе DataAnalysis 4.1 (Bruker Daltonik GmbH, Germany) путем суммирования зарегистрированных сигналов.

Далее произвели оценку общего числа ионов низкомолекулярных веществ в спектрах, соответствующих каждому образцу. Суммарно количество зарегистрированных масс составило 14 087. Из них 30% встречались во всех образцах. Таким образом, для каждого образца был получен перечень массово-зарядных характеристик ионов и их интенсивностей в двух технических повторениях. Для каждого иона проводили оценку воспроизводимости его интенсивности в технических повторах. Ион считали детектированным, если его m/z был зарегистрирован в обоих технических повторах.

Обработку перечня масс и идентификацию химических соединений проводили с использованием ресурса <http://www.myccompoundid.org>. Для этого перечень детектированных m/z загружали в окно поиска и устанавливали точность измерения 2 ppm. После этого в автоматическом режиме загружали перечень

идентифицированных метаболитов.

Статистическая обработка материалов выполнена с использованием пакетов прикладных программ «SPSS Statistics 25», «Exel». Различия между группами анализировались с помощью критерия хи-квадрат Пирсона, который использовался для сравнения двух относительных показателей, характеризующих частоту определенного бинарного признака.

Критерий Фишера применялся для анализа четырехпольных таблиц в случае значений ожидаемого явления менее 5, что является ограничением для применения критерия хи-квадрат Пирсона. Статистически значимыми считались данные при $p < 0,05$. Анализ однородности групп сравнения по частоте встречаемости отобранных метаболитов (независимо друг от друга) проводили с использованием критерия хи-квадрат. Перед применением критерия данные для технический повторений усреднялись.

Для сравнения непараметрических признаков применялся U-тест Манна-Уитни.

Для описания количественных данных использовались показатели медианы с указанием квартилей в формате (Me; [Q1;Q3]). Риск развития ПЭ, вычисленный программой Astraia, указан в формате 1:n, означающий, что ПЭ может развиться у 1 пациентки из n человек.

В расчетах применялся ROC-анализ, площадь под ROC-кривой обозначена как AUC.

Данное исследование выполнено с соблюдением принципов доказательной медицины. Работа выполнена в дизайне сплошного двухэтапного (ретроспективный и проспективный) исследования с использованием клинических, инструментальных, лабораторных и статистических методов исследования.

Результаты исследования и их обсуждение

Прогнозирование и профилактика преэклампсии в условиях отделения пренатального скрининга городского центра планирования семьи и репродукции. Из 2374 беременных 209 были включены в группу ВР развития ПЭ, из которых 175 (83,7%) пациенток согласились на проведение ПМ, состоящих из

приема АСК в дозе 150 мг/сут (n=92 - 52,6%), дипиридамола в дозе 75 мг (n=55 - 31,4%) или комбинированной терапии (эноксапарин натрия (0,4 мг/сут) + АСК (150 мг/сут) или дипиридамол (75 мг/сут)) у пациенток с дефектами системы гемостаза (n=28 - 16,0%). В группе ВР частота развития ПЭ в общей сложности составила 10,0% (n=21), при наличии ПМ - 9,7% (n=17), при отсутствия ПМ - 11,8% (n=4). Частота ПЭ в зависимости от типа ПМ, показателей общей популяции достоверно не отличалась.

У 21 (10,0%) беременность осложнилась ПЭ различной степени тяжести: у 2 (9,5%) - ранняя умеренная ПЭ; у 15 (71,4%) - поздняя умеренная, у 4 (19,0%) - поздняя тяжелая.

Риски развития ПЭ согласно программе Astraia представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Высокий риск ПЭ в 11-14 недель и частота развития ранней и поздней ПЭ

Вероятность развития ПЭ согласно программе Astraia	Вероятности развития ПЭ согласно программе Astraia	Высокий риск n=209	Наличие ПЭ n=21		Реальная вероятность развития ПЭ согласно Astraia
			ПМ «-» n=4	ПМ «+» n=17	
Риск ранней ПЭ n=2	1:100-1:51	2 (0,96%)	-	-	-
	1:50-1:4	-	-	-	-
Риск поздней ПЭ n=128	1:100-1:51	95 (45,5%)	4 (4,2%)	4 (4,2%)	1:87 - 1:54
	1:50-1:4	33 (15,8%)	-	2 (6,1%)	1:47 - 1:42
Комбинированный риск ПЭ n=79	1:100-1:51	43 (20,6%)	-	3 (7,0%)	1:81 - 1:76
	1:50-1:4	36 (17,2%)	-	8 (22,2%)	1:39 - 1:4

Анализ значений вероятности развития ПЭ показал (Таблица 1), что в группе ВР (n=209 у 2 беременных был риск только ранней ПЭ (1:100-1:51). Риск поздней был у 128 (61,2%), из которых у 95 (74,2%) в пределах 1:100-1:51. 79 (37,8%) пациенток имели риск как ранней, так и поздней ПЭ, при этом у половины они составили 1:100-1:51, Как ранняя, так и поздняя формы умеренной и тяжелой

ПЭ развились у пациенток с поздним и комбинированным рисками. ПЭ развивалась с вероятностью 1:87-1:4 (Таблица 1). Возможно, в нашем исследовании частота развития ПЭ превышала прогноз в связи с тем, что лишь у 2 (2,0%) пациенток был риск развития ранней ПЭ, а программа, согласно разработчикам, наиболее эффективна в прогнозе именно для данной когорты пациенток.

Одновременно проанализировано 18 (17,6%) пациенток с тяжелой и поздней ПЭ, которые по результатам первого пренатального скрининга не вошли в группу ВР в отношении развития ПЭ. Вероятность развития ПЭ у них составила 1:20000 - 1:101.

Выявлены и проанализированы факторы риска, ассоциированные с развитием ПЭ различной степени тяжести, несмотря на проведенные превентивные меры.

Все вошедшие в исследование пациентки относились к европеоидной расе. Возраст их варьировал от 19 до 46 лет, средний возраст составил $31,52 \pm 5,38$ лет. Статистически значимых отличий возраста пациенток вне зависимости от наличия риска и исхода не отмечено ($p > 0,05$) (чувствительности 7,62%, специфичность 77,4%).

В группе ВР вне зависимости от наличия или отсутствия ПЭ доля пациенток с ИМТ ≥ 25 (110 - 52,6%) в 2,6 раза больше, чем при НР (21 - 20,6%) ($p < 0,001$) (Таблица 2). У беременных с ПЭ и НР ее развития, нарушение жирового обмена отмечалось у половины обследованных; в то время как при НР и отсутствии ПЭ - всего у 16,7% ($p = 0,003$). Из 21 пациентки с ПЭ, превентивную терапию получали 17 (81,0%). Среди них НЖО было отмечено у 6 (35,3%), тогда как при отсутствии ПМ - 4 (100,0%) ($p < 0,05$) (чувствительности 7,99%, специфичность 61,6%).

В группе высокого риска ХАГ (Таблица 2) отмечалась в 4 раза чаще, чем в популяции (4-5%). При этом среди пациенток с ВР и НР достоверных отличий в частоте встречаемости ХАГ в зависимости от исхода и получаемой ПМ не выявлено ($p = 0,67$). Оценка прогностической значимости как фактора риска показала, что ее чувствительность составляет 12,8%, тогда как специфичность достигает 86,4%.

Таблица 2 – Клинические факторы риска (ФР) при НР и ВР ПЭ в 11-14 нед. беременности по данным программы Astraia при наличии и отсутствии ПМ

Группы исследуемых ФР ПЭ	Высокий риск ПЭ n=209					Низкий риск ПЭ n=102		
	Всего n=209 1	Отсутствие ПЭ n=188 (90,0%)		Наличие ПЭ n=21 (10,0%)		Всего n=102 6	Отсутствие ПЭ n=84 (82,4%) 7	Наличие ПЭ n=18 (17,6%) 8
		«-» ПМ n=30 (16,0%) 2	«+» ПМ n=158 (84,0%) 3	«-» ПМ n=4 (19,0%) 4	«+» ПМ n=17 (81,0%) 5			
ИМТ ≥25	110 (52,6%)*	20 (66,7%)	80 (50,6%)	4 (100,0%) [#]	6 (35,3%) [#]	21 (20,6%)*	14 (16,7%)* [^]	9 (50,0%) [^]
ХАГ	33 (15,8%)	8 (26,7%)	21 (13,3%)	-	4 (23,5%)	9 (8,8%)	8 (9,5%)	1 (5,6%)
НТ	64 (30,6%)**	11 (10,7%)	52 (32,9%)	-	1 (5,9%) ^{&}	11 (10,8%)	5 (5,9%)**	6 (33,3%) ^{&}
ВРТ	19 (9,1%)	6 (20,0%)	11 (7,0%)	-	2 (11,8%)	4 (3,9%)	1 (1,2%) ^{\$}	3 (16,7%) ^{\$}

Примечание: * p<0,05 - 1 группа по отношению к 6, 7; ^ p<0,05 - 8 группа по отношению к 7; # p<0,05 - 4 группа по отношению к 5; ** p<0,05 - 1 группа по отношению к 7; & p<0,05- 8 группа по отношению к 5; \$ p<0,05 - 8 группа по отношению к 7

При высоком риске в общей сложности наследственная тромбофилия (НТ) была в 5 раз выше, чем в группе с НР и отсутствием ПЭ ($p < 0,001$) (Таблица 2). Можно предположить, что именно использование НМГ совместно с АСК способствовало тому, что ПЭ развилась только у 1 (5,9%), что может свидетельствовать об эффективности комбинированной терапии в профилактике ПЭ у пациенток с наследственными патологиями свертывающей системы крови.

Доля пациенток в группе ВР, чья беременность наступила вследствие использования вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), была почти в 2 раза больше, чем в группе НР (чувствительности 12,8%, специфичность 93,3%). Исследование связи фактора бесплодия и развития ПЭ может позволить в дальнейшем улучшить эффективность определения групп риска и ПМ (Таблица 2).

Полученные нами результаты подтверждают данные литературы (O’Gorman N et., 2017), что определение групп риска развития ПЭ с помощью лишь анамнестических данных пациенток не объективно (частота ложноположительных результатов может достигать 64,2%). Использование анамнестических данных в комплексе с инструментальными и лабораторными методами исследования улучшит прогностическую модель.

Особое внимание было уделено белковым биомаркерам, таким как ассоциированный с беременностью плазменный протеин-А (РАРР-А), плацентарный фактор роста (PLGF), и показателям доплерографии маточных артерий в 11-14 недель гестации, в частности, пульсационному индексу (ПИ).

В группах ВР и НР средние показатели РАРР-А достоверно не отличались ($p=0,76$). Ранее ряд исследователей (Макацария А.Д., Бреннер Б., Бицадзе В.О., Акиньшина С.В., 2016) считали фактором риска ПЭ снижение уровня этого протеина на доклинической стадии развития ПЭ. В последующем было отмечено, что при использовании скрининга, основанного на данных анамнеза, экстрагенитальной патологии и ПИ в МА, выявляемость заболевания составила 68%, при добавлении в алгоритм РАРР-А показатель не изменился (К. Nicolaides, 2018). В настоящем исследовании частота низких значений РАРР-А у пациентов с ПЭ и без нее достоверно не отличались, а проведение ПМ не повлияло на исходы (Рисунок 3).

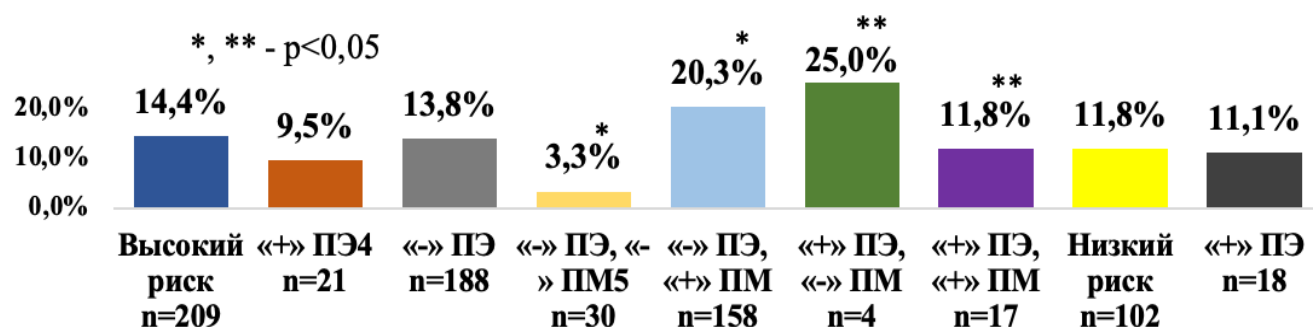


Рисунок 3 – Частота пациенток с уровнем РАРР-А < 0,5 МоМ в зависимости от риска ПЭ, наличия или отсутствия профилактической терапии

Согласно ROC анализу чувствительность РАРР-А, как фактора риска ПЭ, в исследовании составили 67%, а специфичность - 65%, площадь под кривой - 0,430, что свидетельствует о его низкой прогностической значимости.

Важное значение для развития ПЭ имеют сосудистые изменения. Значения среднего артериального давления (САД) у пациенток, вошедших в группу высокого риска (Me=87), не отличались от значений таковых при низком риске (Me=83), вне зависимости от исхода, наличия или отсутствия проведенных ПМ ($p=0,91$). Чувствительность и специфичность данного показателя для прогнозирования ПЭ составили 55,0% и 60,4%, соответственно. Можно предположить, что полученные результаты значения САД связаны с тем, что все пациентки ($n=42$) с артериальной гипертензией получали антигипертензивную терапию, на фоне которой цифры АД имели нормальные значения.

Анализ полученных в ходе исследования данных показал, что значения ПИ у пациенток (Рисунок 4), отнесенных в группу ВР по развитию ПЭ, были в 1,3 раза выше, чем у таковых при НР. Самыми высокими были показатели у пациенток с развившейся в последующем ПЭ. Данные пациентки отказались от проведения ПМ.

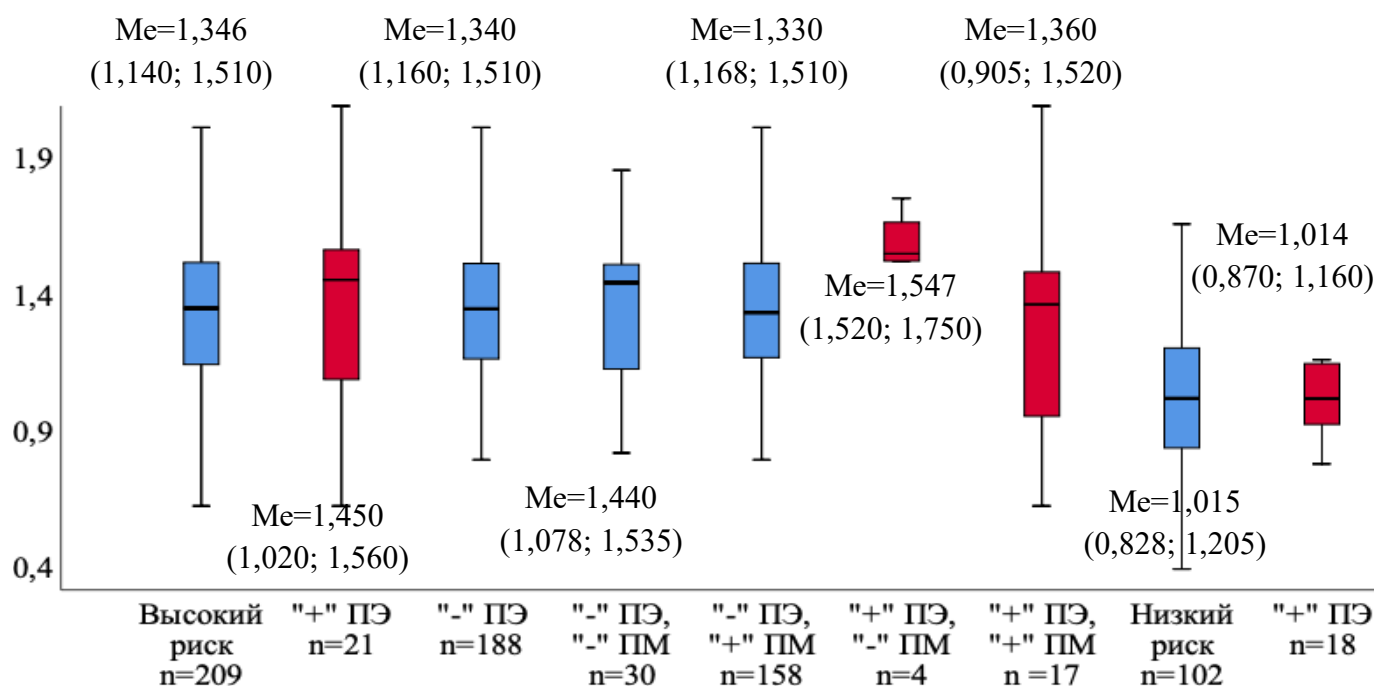


Рисунок 4 – Значения ПИ в МА в 11-14 недель в группах высокого и низкого риска, при наличии и отсутствии ПЭ и ПМ

Данный факт указывает, что исходное нарушение кровотока в маточных артериях оказалось причиной развития ПЭ. Возможно, своевременное назначение и проведение ПМ у данных пациенток могла бы предотвратить осложнение

беременности, как у пациенток, согласившихся на ПМ. Обращает на себя внимание нормальные показатели кровотока в маточных артериях у пациенток с ПЭ, которые были отнесены программой Astraia в группу НР. Данный факт явился причиной недооценки состояния беременных, что и послужило причиной недостаточной настороженности в их отношении.

Проведен расчет вероятности осложнения беременности в зависимости от наличия или отсутствия изменений значений РАРР-А и ПИ маточных артерий. Было выявлено, что при гемодинамических нарушениях частота развития ПЭ составляла 1:8 (12,5%), а при изменении показателей РАРР-А - 1:15 (6,7%). Среди пациенток с ПЭ, отказавшихся от ПМ, частота изменения плазменных белков составила 25%, а у согласившихся – 11,8%. Наши результаты также подтвердили данные литературы (К. Nicolaides, 2021) и показали, что изменения гемодинамики маточных артерий более прогностически значимый фактор, чем показатели плазменных белков крови.

Анализ эффективности шкалы Astraia показал, что при использовании входящих в нее параметров (как инструментальных, так и лабораторных), прогностическая эффективность недостаточная для существенного снижения частоты ПЭ.

Разнообразие клинических факторов риска приводит к неадекватной оценке возможности развития болезни. Полученные данные свидетельствовали о том, что прогнозирование ПЭ в 11-14 недель на основании только анамнеза и экстрагенитальной патологии сложная задача и менее эффективна без учета дополнительных исследований.

В связи с отсутствием значимого снижения частоты развития ПЭ, было решено продолжить нашу работу по поиску более эффективных факторов прогнозирования.

Метаболомный анализ плазмы крови в патогенезе ПЭ. В нашем исследовании при изучении метаболома в первой части исследования был проведен масс-спектрометрический анализ образцов крови 104 пациенток, вошедших в исследование. Среди них у 37 пациенток была отмечена ПЭ: у 16

умеренной степени, у 21 – тяжелой. У 67 беременность протекала без осложнений.

Во второй части исследования показана значимость выявленных метаболитов в прогнозировании ПЭ.

При проведении метаболомного анализа плазмы крови было зарегистрировано 14087 масс, задетектировано и идентифицировано 1234 химических вещества.

В первой части исследования у пациенток с ПЭ в III триместре (Рисунок 5) были отмечены 9 эндогенных метаболитов в плазме крови, частота встречаемости которых значимо отличалась от таковых при физиологическом течении беременности ($p < 0,05$).

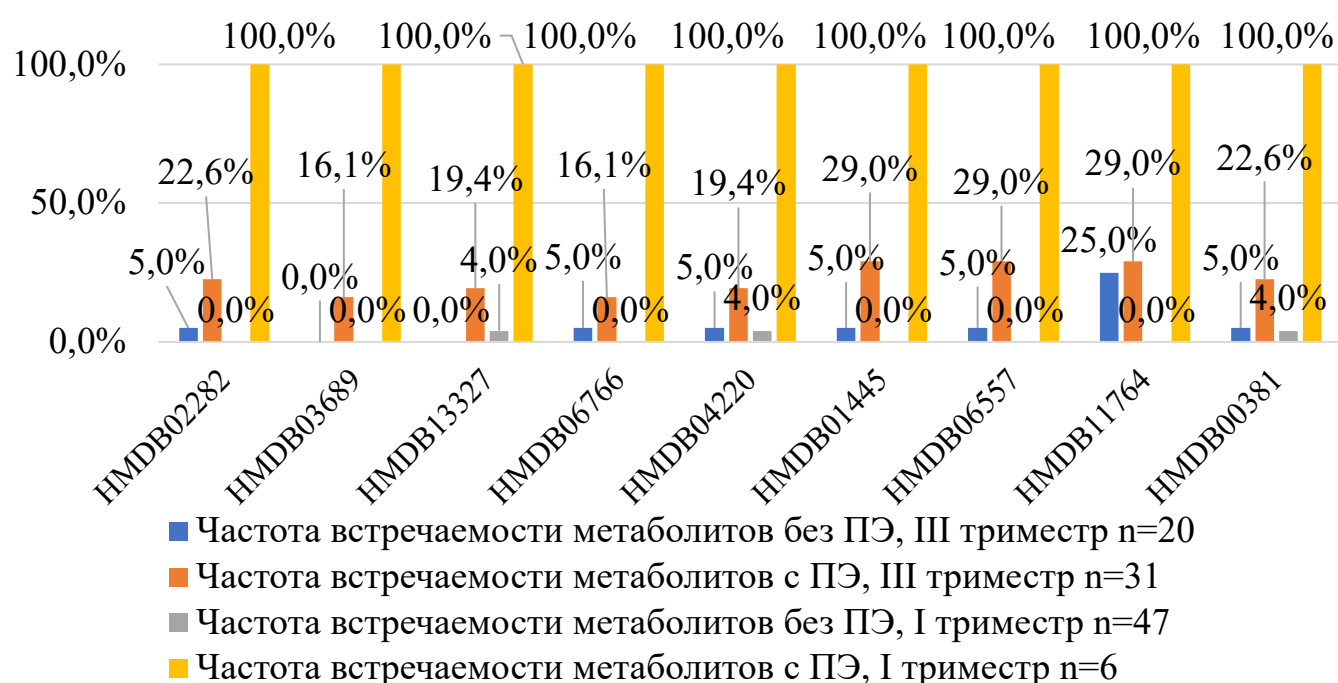


Рисунок 5 – Частота встречаемости выделенных метаболитов (n=9) в I триместре в зависимости от исхода

У пациенток с ПЭ выявлены метаболиты, относящиеся к фосфо- и сфинголипидам (3-2-(acetylamino)-1,5-anhydro-2-deoxy-4-O-b-D-galactopyranosyl-D-arabino-Hex-1-enitol - HMDB02282, Dodecanedioylcarnitine – HMDB13327, Estriol-16-Glucuronide - HMDB06766, Biotinyl-5'-AMP - HMDB04220, N-Acetyl-D-glucosaminylphosphatidylinositol - HMDB01445, Allolithocholic acid - HMDB00381), длинноцепочечным жирным кислотам (Neuroprotectin D1 - HMDB03689; Cer(d18:0/20:0) - HMDB11764), к сахарам – ADP-glucosea - HMDB06557 (Таблица

3, Рисунок 5).

Таблица 3 – Метаболиты плазмы крови у здоровых и с ПЭ в I и III триместрах со статистической оценкой по критерию хи-квадрат

№	ID метаболита	Название метаболита	Детекти- рованная масса	III триместр, p-value*	I триместр, p-value**	p-value для всех 4х групп***
1	HMDB02282	2-(acetylamino)-1,5-anhydro-2-deoxy-4-O-b-D-galactopyranosyl-D-arabino-Hex-1-enitol	366.05	0,19596	$2,71 \cdot 10^{-5}$	6,16E-05
2	HMDB03689	Neuroprotectin D1	399.25	0,44705	0,00569	1,63E-06
3	HMDB13327	Dodecanedioylcarnitine	412.25	0,94164	0,00505	2,83E-05
4	HMDB06766	Estriol-16-Glucuronide	503.1	1	0,00088	7,64E-07
5	HMDB04220	Biotinyl-5'-AMP	574.1	0,94164	$8,66 \cdot 10^{-5}$	2,71E-11
6	HMDB01445	N-Acetyl-D-glucosaminyldiphosphodolichol	610.15	0,50985	0,00211	0,00695
7	HMDB06557	ADP-glucose	612.05	0,44769	$5,44 \cdot 10^{-5}$	3,46E-10
8	HMDB11764	Cer(d18:0/20:0)	618.6	0,97668	$4,19 \cdot 10^{-5}$	1,39E-05
9	HMDB00381	Allolithocholic acid	622.15	0,79919	0,01436	0,01569

Примечание: * - значение Р у здоровых пациенток в III триместре (n=20) и с ПЭ (n=31).

** - значение Р обследованных в I триместре с физиологическим течением беременности (n=47) и при развившейся в последующем ПЭ (n=6)

*** - сравнение однородности всех групп сравнения

Выявленные метаболиты участвуют в синтезе жирных кислот (3-2-(acetylamino)-1,5-anhydro-2-deoxy-4-O-b-D-galactopyranosyl-D-arabino-Hex-1-enitol [HMDB02282], Dodecanedioylcarnitine [HMDB13327]), углеводном обмене (Biotinyl-5'-AMP [HMDB04220]), обеспечивают проницаемость клеточных мембран (N-Acetyl-D-glucosaminyldiphosphatidylinositol [HMDB01445]), моделируют энергетический баланс, в том числе в плаценте (Estriol-16-Glucuronide [HMDB06766], ADP-glucose [HMDB06557]), обладают токсическим действием (Allolithocholic acid [HMDB00381]). Отмечено, что ряд метаболитов (Neuroprotectin

D1 [HMDB03689], Estriol-16-Glucuronide [HMDB06766]) выявлены только при тяжелой ПЭ.

6 из 9 соединений выделенного сета метаболитов были идентифицированы при ЗРП с частотой 14,3% - 42,9%. Данные химические вещества связывают с процессами стабилизации структуры клеточных мембран и мембран органелл, нарушение которой возможно в плаценте с развитием ее недостаточности.

Научных трудов по определению метаболомного профиля, его значимости в патогенезе ПЭ незначительное количество. В настоящее время идет накопление фактов его изменения при различных осложнениях беременности и оценке их прогностической значимости. Опубликованы единичные статьи (Kenny L.C., Broadhurst D.I., Dunn W., 2010; Korkes H.A., Sass N., Moron A.F., 2014) о роли каждого соединения при ПЭ. Исследования метаболома могут расширить знания о патогенезе ПЭ и повысить эффективность терапии.

Таким образом, проведенный анализ возможной биологической значимости выявленного набора метаболитов для патогенеза ПЭ показал, что соединения, относящиеся к классу липидов, могут быть вовлечены в процессы, которые сопровождают развитие ПЭ.

Метаболомный анализ плазмы крови в прогнозировании ПЭ. С целью прогнозирования ПЭ были обследованы 53 беременных в I триместре, из которых у 6 (11,6%) в III триместре развилась умеренная ПЭ. У них были зарегистрировано 9 эндогенных метаболитов (Таблица 3), частота встречаемости которых в I триместре статистически значимо отличалась от таковых пациенток с физиологическим течением беременности ($p < 0,05$).

У беременных с физиологическим течением беременности задетектированы 3 соединения, которые были выявлены в незначительном количестве (до 4,3%): Dodecanedioylcarnitine [HMDB13327], Biotinyl-5'-AMP [HMDB04220] и Allolithocholic acid [HMDB00381]. Данные метаболиты относились к фосфо-, сфинголипидам и сахарам.

Статистический анализ всех определяемых метаболитов выявил однородность распределения данных групп сравнения (Таблица 3). Как

свидетельствуют данные, представленные в Таблице 3 (столбец «p-value for all Groups», $p < 0,05$), каждый метаболит определяет значимые отличие между группами. Значение p-value $< 0,05$ свидетельствовало о статистически значимой ассоциации между детектированным метаболитом и заболеванием.

Таким образом, учитывая полученные данные, можно предположить, что выделенные метаболиты могут расцениваться как потенциальные биомаркеры развития ПЭ. Они могут быть использованы как дополнительные предикторы в рамках первого пренатального скрининга в 11-14 недель гестации. Расширение перечня факторов риска и использование комбинированного скрининга может позволить увеличить чувствительность и специфичность скрининга, провести более прицельную ПМ, что позволит значимо снизить частоту осложнения беременностей.

Метаболомный анализ является перспективным методом исследования, который может улучшить прогнозирование ПЭ и эффективность современных лабораторных анализов.

Выявленные метаболиты, относящиеся к фосфо- и сфинголипидам, длинноцепочечным жирным кислотам и сахарам могут быть использованы как в III триместре для оценки степени тяжести ПЭ, так и в I триместре с целью прогнозирования заболевания.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Результаты проведенного исследования создают основу для улучшения эффективности имеющихся алгоритмов прогнозирования развития преэклампсии. Это позволит провести своевременные превентивные мероприятия и значимо снизить частоту развития осложнений.

Целесообразно продолжить дальнейшее исследование метаболомного профиля беременных с ранней и тяжелой преэклампсией, разработать принципы персонализированной терапии, оценить ее влияние на развитие осложнения беременности с помощью масс-спектрометрического анализа.

Выводы

1. При использовании программно-аппаратного комплекса «Astraia» прогноз ПЭ с вероятностью 1:100 и более составил 8,8%. Среди вошедших в группу высокого риска при наличии профилактических мероприятий ПЭ диагностирована у 9,7%, при отсутствии - 11,8%. Ранняя ПЭ зарегистрирована у 2,5% от прогнозируемого риска при вероятности ее развития 1:96-1:4, поздняя у 9,2% при риске 1:95-1:4.
2. Из комплекса объективных параметров, входящих в программу пренатального скрининга Astraia, наибольшей значимостью в плане прогноза ПЭ обладает пульсационный индекс маточных артерий (AUC=0,600, чувствительность 75%, специфичность 65%).
3. Проведение ПМ с 12-14 недель гестации у пациенток с факторами риска развития ПЭ снижает частоту развития осложнения. Наиболее эффективным и статистически значимым у пациенток с исходными изменениями гемостаза и наследственными тромбофилиями является использование низкомолекулярного гепарина в сочетании с ацетилсалициловой кислотой или дипиридамолом.
4. Отличительной чертой метаболомного профиля пациенток с ПЭ по сравнению с теми, чья беременность протекала без осложнений, являлось превалирование длинноцепочечных жирных кислот, фосфо- и сфинголипидов, сахара, обеспечивающих молекулярные основы ПЭ, связанные с транспортом липидов через синцитиотрофобласт, патологическим окислением жирных кислот в клеточных мембранах, дисфункцией эндотелия.
5. При проведении масс-спектрометрического исследования липидного профиля в III триместре у беременных с последующим развитием ПЭ в III триместре выявлены 9 значимых соединений (Neuroprotectin D1, 3-2-(acetylamino)-1,5-anhydro-2-deoxy-4-O-b-D-galactopyranosyl-D-arabino-Hex-1-enitol, Biotinyl-5'-AMP, Cer(d18:0/20:0), Allolithocholic acid, Estriol-16-Glucuronide, Dodecanedioylcarnitine, N-Acetyl-D-glucosaminylphosphatidylinositol, ADP-glucose), использование которых возможно для прогнозирования развития ПЭ.

Практические рекомендации

1. Для улучшения прогнозирования ПЭ на малых сроках гестации первый пренатальный скрининг должен проводиться в комплексе с использованием современных программных обеспечений.
2. При отсутствии программных обеспечений в лечебных учреждениях для выявления групп риска в отношении ПЭ, наряду с клиническими факторами, необходимо учитывать состояние кровотока в маточных артериях. Считать значимым для прогнозирования повышение ПИ в маточных артериях до 1,5 МоМ и выше в 11-14 недель гестации.
3. У пациенток с врожденными дефектами гемостаза профилактическая терапия ПЭ должна быть комплексной, включающей антикоагулянты и дезагреганты.
4. В группе повышенного риска ПЭ, её профилактика должна быть комплексной и включать в себя одновременно ежедневный контроль АД, массы тела; по показаниям терапия экстрагенитальной патологии совместно с профильными специалистами, диета с ограничением соли до 4 г/с, ацетилсалициловую кислоту ежедневно.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Касум-заде, Н.К. Прогнозирование и профилактика преэклампсии в условиях городского центра планирования семьи и репродукции / Шалина Р.И., Касум-заде Н.К., Конопляников А.Г., Латышкевич О.А., Шеховцов Д.Б.// **Акушерство и гинекология.** – М., 2020; 7: 61-70 <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.7.61-70>
2. Касум-заде, Н.К. Липидом плазмы крови: возможности ранней диагностики преэклампсии / Торховская Т.И., Захарова Т.С., Короткевич Е.И., Касум-заде Н.К., Шалина Р.И., Маркин С.С. // **Биоорганическая химия.** – 2020. – Т. 46, № 3. – С. 239-246. – DOI 10.31857/S0132342320030318. – EDN YZYPSB.
3. Kasum-Zade, N. Metabolomic Markers for Predicting Preeclampsia in the First Trimester of Pregnancy: A Retrospective Study / Ilgisonis EV, Shalina RI, Kasum-Zade N, Burkova KG, Trifonova OP, Maslov DL, Kaysheva AL, Markin SS. // *Molecules.* 2022 Apr 12;27(8):2475. doi: 10.3390/molecules27082475. PMID: 35458675; PMCID: PMC9025490