

Самусевич Анастасия Николаевна

**БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РЕТРОПЛАЦЕНТАРНОЙ КРОВИ
ПРИ ПРЕЭКЛАМПСИИ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

1.5.4. Биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

МОСКВА – 2025

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Научные руководители:

Доктор медицинских наук, профессор
Доктор медицинских наук, доцент

Панина Ольга Борисовна
Проскурнина Елена Васильевна

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор

Кан Наталья Енкиновна

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заместитель генерального директора по научной работе – директор института акушерства

Доктор медицинских наук, профессор

Бородулин Владимир Борисович

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА - Российский технологический университет», Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, кафедра аналитической химии имени И.П. Алимарина, профессор кафедры

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2025 года в 14:00 час. на заседании Диссертационного совета 21.2.058.08 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский университет) по адресу: 117513, г. Москва, ул. Островитянова д.1, стр. 6

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский университет) по адресу: 117513, г. Москва, ул. Островитянова д.1, стр. 6 и на сайте: www.rsmu.ru
Автореферат разослан «___» _____ 202__ года

Ученый секретарь диссертационного совета

Доктор медицинских наук, профессор

Хашукоева Асият Зулчифовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Преэклампсия (ПЭ) до настоящего времени остается глобальной проблемой здравоохранения мирового масштаба, представляет серьезную угрозу материнскому здоровью и жизни [Радзинский В.Е. и др., 2016; Кан Н.Е. и др., 2024]. Преэклампсия составляет 9–26% в структуре основных причин материнской смертности и значительную долю преждевременного родоразрешения, обуславливает не только материнскую, но и неонатальную заболеваемость [Ульянина Е.В. и др., 2016; Townsend R. et al., 2016; Юсупова З.С. и др., 2018].

По данным Минздрава России, гипертензивные осложнения беременности занимают четвертое место в списке причин материнской смертности в течение последнего десятилетия, а их частота (включая отеки и протеинурию) составила в 2022 году 7,9% [Егоренко С.Н. и др., 2023; Кан Н.Е. и др., 2024].

Эффективность прогнозирования ПЭ в рамках пренатального скрининга (комбинация материнских характеристик со средним артериальным давлением, пульсационным индексом в маточной артерии, сывороточным плацентарным фактором роста (PIGF) способствует выявлению преэклампсии до 32 и 37 недель, а также после 37 недель в 90%, 75% и 41% соответственно (уровень ложноположительных результатов – 10%) [Шмаков Р.Г. и др., 2021; Chaemsaitong P. et al., 2022].

В настоящее время описано много предикторов (до 20 нед. беременности) и маркеров (после 20 нед. беременности) ПЭ, но ни один из них не является достаточно достоверным для котирования его как ведущего, поэтому актуален поиск новых маркеров диагностики течения преэклампсии [Мирошина Е.Д. и др., 2017].

Таким образом, поиск новых высокоспецифических и значимых маркеров преэклампсии является актуальным и перспективным направлением для снижения материнской и перинатальной смертности, а также отдаленных исходов.

Степень разработанности темы исследования

Известно, что окислительный стресс (ОС) играет одну из ключевых ролей в патогенезе преэклампсии, способствуя развитию эндотелиальной дисфункции и другим патофизиологическим механизмам [Красный А.М. и др., 2016; Афанасьева А.А. и др., 2019; Afrose D. et al., 2022; Бородулин В.Б. и др., 2024].

Легкодоступность и простота в использовании биомаркеров является одним из главных требований необходимых для улучшения ранней диагностики преэклампсии и более точного объяснения механизмов ее патогенеза [Сидорова И.С. и др., 2021; Ходжаева З.С. и др., 2022].

Ретроплацентарная кровь (РПК), поступающая из спиральных артерий матери и омывающая ворсины хорионы, является ценным ресурсом и может дать более точные представления о патологических процессах, происходящих на границе системы мать–плацента–плод, по сравнению с исследованиями системного кровотока. В литературе имеются единичные публикации, посвященные лишь иммунологическим характеристикам ретроплацентарной крови. В то время как отсутствуют данные, касающиеся клинических, гемостатических и биохимических показателей ретроплацентарной крови [Grudsinkas J.G. et al., 1979; Павленко А.Ф. и др., 1986; Панина О.Б. и др., 2022].

Таким образом, результаты клинических анализов ретроплацентарной крови могут играть существенное значение при определении тактики ведения пациенток с преэклампсией и новорожденных в раннем послеродовом и неонатальном периодах соответственно.

Цель исследования

Оценить изменения биохимических показателей ретроплацентарной крови у пациенток с преэклампсией.

Задачи исследования

1. Разработать методику взятия проб ретроплацентарной крови при самопроизвольных родах (СР) и кесаревом сечении (КС).
2. Изучить биохимические показатели (АЛТ, АСТ, ЛДГ, общий белок, альбумин, мочевины, креатинин, общий и прямой билирубин, глюкоза, мочево-

кислота) и антиоксидантную емкость (АОЕ) плазмы ретроплацентарной крови при физиологическом течении беременности.

3. Оценить влияние метода родоразрешения на биохимические показатели и антиоксидантную емкость плазмы ретроплацентарной крови.

4. Изучить биохимические показатели (АЛТ, АСТ, ЛДГ, общий белок, альбумин, мочевины, креатинин, общий и прямой билирубин, глюкоза, мочевая кислота) и антиоксидантную емкость плазмы ретроплацентарной крови при преэклампсии.

5. Исследовать значимость изученных показателей ретроплацентарной крови в прогнозировании течения преэклампсии в послеродовом периоде и течения раннего неонатального периода.

Научная новизна исследования

Предложено определение ретроплацентарной крови и разработана методика взятия ее проб с материнской поверхности плаценты, которая может быть использована как при самопроизвольных родах, так и при кесаревом сечении.

Выявлены достоверные различия ($p < 0,05$) между периферической (ПК) и ретроплацентарной кровью при сравнении значений биохимических показателей и уровней антиоксидантной емкости плазмы, как при физиологической беременности (ФБ), так и при преэклампсии. С помощью программы Bellview определены референсные интервалы биохимических показателей ретроплацентарной крови при физиологической беременности.

Доказано влияние способа родоразрешения на изменение биохимических показателей и антиоксидантную емкость плазмы ретроплацентарной крови.

Показано, что на основании уровня антиоксидантной емкости плазмы ретроплацентарной крови возможно прогнозирование течения раннего послеродового и неонатальных периодов.

Теоретическая и практическая значимость исследования

В ходе настоящего исследования разработана простая, доступная в использовании и универсальная методика взятия проб ретроплацентарной крови (независимо от способа родоразрешения беременной), которая делает этот вид

крови легкодоступным для дальнейших исследований, как врачам, так и среднему медицинскому персоналу.

На основании полученных данных определены факты уникальности ретроплацентарной крови как субстрата, расположенного на границе системы мать–плацента–плод, что позволяет получить более точную информацию о биохимическом составе крови, до того, как ее элементы попадут в периферический кровоток.

Результаты проведенной работы дополняют патогенетическую картину развития преэклампсии: изучен вклад окислительного стресса в процесс угнетения дифференцировки и инвазии трофобласта в спиральные артерии матери. Доказано, что ретроплацентарная кровь обеспечивает баланс про- и антиоксидантов на границе системы мать–плацента–плод, поэтому антиоксидантная емкость плазмы ретроплацентарной крови может быть использована в качестве прогностического маркера регрессии основных симптомов преэклампсии (артериальная гипертензия, протеинурия) и необходимости дополнительной респираторной поддержки, времени начала прибавки массы тела у новорожденных в раннем неонатальном периоде.

Методология и методы исследования

Работа проводилась в формате продольного ретроспективного исследования типа случай-контроль и была выполнена в три этапа с 2020 по 2022 год. В исследование были включены 144 пациентки, которые были разделены на 2 группы: с физиологически протекающей беременностью и беременностью, осложнившейся преэклампсией. На первом этапе, осуществлялся сбор анамнеза и ретроспективный анализ историй родов, взятие проб периферической и ретроплацентарной крови. Далее выполнялось биохимическое исследование сывороток периферической и ретроплацентарной крови и определение антиоксидантной емкости их плазм. На третьем этапе были выполнены анализ и сопоставление полученных результатов, а также статистическая обработка данных с последующей формулировкой выводов и рекомендаций.

Исследование проведено в соответствии с принципами доказательной медицины, а также этическими принципами Хельсинской декларации.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Легкодоступность разработанной методики получения и подготовки ретроплацентарной крови на преаналитическом этапе позволяет проводить исследования биохимических показателей и антиоксидантной емкости плазмы методом люминол-активированной хемилюминесценции как врачам, так и среднему медицинскому персоналу.
2. Ретроплацентарная кровь является уникальным субстратом и имеет достоверные отличия от периферической крови по биохимическим показателям и уровню антиоксидантной емкости плазмы как при физиологической беременности, так и при преэклампсии.
3. Способ родоразрешения оказывает влияние на изменение не только биохимических показателей периферической и ретроплацентарной крови, но и на уровень антиоксидантной емкости их плазмы.
4. Уровень антиоксидантной емкости плазмы ретроплацентарной крови влияет на течение раннего послеродового и неонатального периодов матерей и новорожденных при физиологической беременности и преэклампсии соответственно.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность данных диссертационной работы подтверждается достаточным количеством наблюдений, объемом исследования, который соответствует целям и задачам исследования. Статистическая обработка результатов исследования была выполнена с использованием программного обеспечения статистического пакета Jamovi 2.3.22.

Нормальность распределения непрерывных переменных определялась при помощи критерия Шапиро-Уилка. Для сравнения зависимых переменных в группах и подгруппах в зависимости от вида распределения использовали t-тест и критерий Вилкоксона, для независимых переменных – t-тест и критерий Манна-

Уитни. Методы Спирмана и Пирсона применялись для оценки корреляционных взаимосвязей. Статистически достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

Определения референсных интервалов биохимических показателей ретроплацентарной крови производилось косвенным апостериорным исследованием данных с помощью программы Bellview.

Стадирование преэклампсии, диагностические исследования (в частности УЗИ органов малого таза) и клиническая оценка состояния пациенток и новорожденных выполнена на основании действующих федеральных клинических рекомендаций, с использованием сертифицированного медицинского оборудования.

Апробация диссертации

Основные положения научно-исследовательской работы доложены и обсуждены на: III Общероссийской научно-практической конференции для акушеров-гинекологов «Оттовские чтения» 2021 (Санкт-Петербург, 2021), XXIII Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя – 2022» (Москва, 2022).

Апробация диссертационной работы состоялась на совместной научно-практической конференции сотрудников кафедры акушерства и гинекологии Факультета фундаментальной медицины, отдела репродуктивной медицины Медицинского научно-образовательного института Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», сотрудников кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» (Пироговский университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации, сотрудников Медицинского научно-образовательного института Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего

образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (протокол № 5 от 28 марта 2024 года).

Личный вклад автора

Автором лично разработан дизайн исследования и методика взятия проб биоматериала, собраны и обработаны образцы биоматериалов, клиничко-анамнестические данные, выполнены лабораторные исследования биоматериалов, сформирована электронная база данных, проведен статистический анализ и интерпретация полученных результатов. Написание и оформление основных публикаций по теме диссертации также выполнено автором.

Соответствие диссертации паспорту научной деятельности

Научные положения диссертации соответствуют паспортам научных специальностей 3.1.4. Акушерство и гинекология, 1.5.4 Биохимия. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования, а именно пунктам 2, 3, 4, 5 паспорта специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология и по пунктам 1, 3, 11, 13 паспорта специальности 1.5.4 Биохимия.

Реализация и внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены и реализуются в работе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Центр планирования семьи и репродукции Департамента здравоохранения города Москвы» Городской клинической больницы имени С.С. Юдина и Перинатального центра Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница №67 имени Л.А. Ворохобова Департамента здравоохранения города Москвы».

Материалы диссертационной работы используются в цикле лекций и семинаров для студентов, ординаторов и аспирантов кафедры акушерства и гинекологии факультета фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, из них 3 – в рецензируемых журналах, входящих в перечень Высшей аттестационной комиссии Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации основных результатов диссертационной работы на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 147 страницах печатного текста и состоит из введения, четырех глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, включающего 137 источника: 25 – отечественных и 112 – зарубежных. Работа иллюстрирована 29 рисунками и 51 таблицей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящая работа выполнена в период с 2020 г. по 2022 г. Клиническая часть исследования выполнялась на кафедре акушерства и гинекологии факультета фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» (зав. кафедрой – д.м.н., профессор О.Б. Панина) на базе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Центр планирования семьи и репродукции Департамента здравоохранения города Москвы» Городской клинической больницы имени С.С. Юдина (главный врач – д.м.н. В.Н. Галкин), исследовательская часть – в отделе лабораторной диагностики Медицинского научно-образовательного института Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» (руководитель – к.м.н., доцент Л.М. Самоходская).

Работа проводилась в формате продольного ретроспективного исследования типа случай-контроль и была выполнена в три этапа.

Критерии включения: в основную группу – преэклампсия (умеренная и тяжелая), в контрольную группу – физиологическое течение беременности.

Критерий включения при самопроизвольных родах: продолжительность III периода ≤ 5 минутам.

Критерии исключения: многоплодная беременность, тяжелые соматические, инфекционные, сопутствующие гинекологические и онкологические заболевания, другие осложнения беременности (например, гестационный сахарный диабет, хроническая гипоксия плода, Rh-сенсibilизация, гемолитическая болезнь плода, врожденные пороки развития и генетические аномалии плода), а также наркомания, табакокурение. На момент родов у всех пациенток РНК SARS-CoV-2 была не обнаружена.

На первом этапе 144 беременные были разделены на две группы. В первую вошли 82 пациентки с физиологически протекающей беременностью, во вторую – 62 пациентки с беременностью, осложнившейся преэклампсией. Для удобства каждая из перечисленных выше групп была дополнительно поделена на еще две подгруппы в зависимости от вида родоразрешения. Далее были изучены и проанализированы клиничко-анамнестические особенности каждой группы и выявлены традиционные факторы риска развития ПЭ, проведена оценка перинатальных исходов. Также выполнено взятие проб периферической и ретроплацентарной крови в раннем послеродовом периоде (сразу после отделения плаценты и выделения последа) из кубитальной вены и с материнской поверхности плаценты соответственно. От каждой пациентки было получено 18 мл крови в 4-х вакутайнерах: 2 пробирки с активатором свертывания и разделительным гелем для биохимического анализа и 2 пробирки с гепарином (5 ЕД/мл) для хемилюминесцентного анализа. После транспортировки (в контейнерах при температуре 4°C) в лабораторных условиях проводили центрифугирование со скоростью 3000 об/мин (600 g) в течение 5 минут.

На втором этапе в сыворотках периферической и ретроплацентарной крови на биохимическом анализаторе Beckman Coulter AU480 оценивали уровни биохимических показателей: АЛТ, АСТ, ЛДГ, глюкоза, общий белок, альбумин,

мочевина, мочевая кислота, креатинин, общий и прямой билирубин. Далее проводилось определение антиоксидантной емкости плазмы периферической и ретроплацентарной крови с помощью хемилюменометра SmartLum 100 (с частотой регистрации 1 Гц) методом подавления люминол-активированной хемилюминесценции. В качестве аналитического сигнала в работе использован латентный период (τ_{lat}) – временной промежуток от момента добавления плазмы, после выхода ХЛ раствора на плато, до пересечения касательной к восходящей части кривой хемилюминесценции с временной осью, как показано на Рисунке 1.

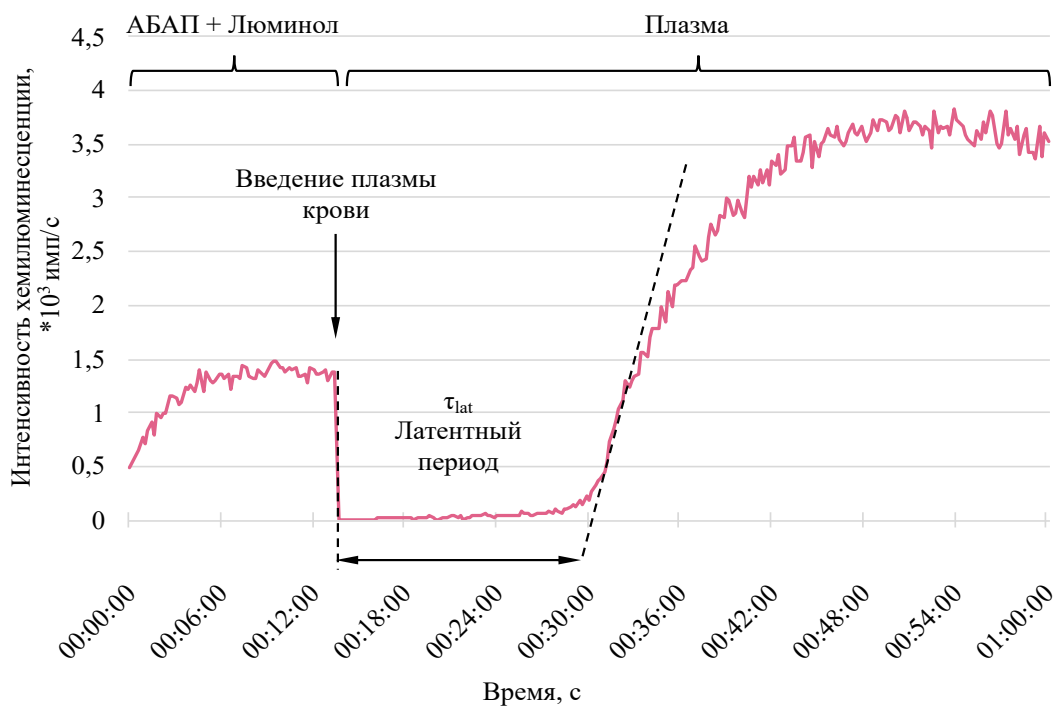


Рисунок 1 – Анализ кинетической кривой хемилюминесценции в системе АБАП – люминол с добавлением пробы плазмы крови

На третьем этапе были выполнены анализ и сопоставление полученных результатов, а также определены референсные интервалы биохимических показателей ретроплацентарной крови для физиологической беременности. Статистическая обработка данных с последующей формулировкой выводов и рекомендаций.

Статистическая обработка результатов исследования была выполнена с использованием программного обеспечения статистического пакета Jamovi 2.3.22. Статистически достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В рамках клинического (первого) этапа каждая группа пациенток была подробно охарактеризована и дана оценка традиционным факторам риска ПЭ. Средний возраст пациенток на момент родов в контрольной группе составил $30,78 \pm 5,26$ (медиана – 31) лет и $30,06 \pm 5,82$ (медиана – 28,5) лет – в основной. При этом количество пациенток старше 35 лет было практически одинаково в обеих группах: 17,0% против 16,0% в основной и контрольной группах соответственно. Однако, в основной группе ПЭ наблюдалась в 63,0% случаев у пациенток до 30 лет (возрастная группа 21–25 лет – 20,0%, возрастная группа 26–30 лет – 43,0%).

После анализа исходных цифр артериального давления (до беременности) в нашем исследовании при сравнении пациенток из подгрупп с умеренной и тяжелой ПЭ были выявлены достоверные отличия ($p < 0,05$). У 70,9 % пациенток с умеренной ПЭ было выявлено статистически значимое повышение САД на 30–35 мм рт.ст., а у 29,1% – на 25 мм рт.ст по сравнению с пациентками из подгруппы самопроизвольных родов (группа ФБ). Повышение ДАД у всех пациенток в данной подгруппе достоверно не превышало 20 мм рт.ст по сравнению с самопроизвольными родами (группа ФБ). При тяжелой ПЭ наблюдалось достоверно значимое повышение САД не менее чем на 60 мм рт.ст. и повышение ДАД не менее чем на 30 мм рт.ст по сравнению с пациентками из подгруппы КС (группа ФБ).

При анализе протеинурии, она была выявлена у подавляющего числа пациенток основной группы (62,0%). При умеренной ПЭ в 77,4% случаев наблюдалась только умеренная протеинурия, а у беременных с тяжелой ПЭ помимо умеренной протеинурии (25,8%), в 54,8% случаев была массивная протеинурия.

Несмотря на тот факт, что отеки по-прежнему не являются обязательным диагностическим критерием ПЭ [Шмаков Р.Г. и др., 2021], в 27,4% наблюдений у основной групп пациенток были выявлены генерализованные отеки и впоследствии у них развилась тяжелая преэклампсия.

Согласно литературным данным ПЭ является одним из факторов риска преждевременных родов [Conde-Agudelo A. et al., 2000; Доброхотова Ю.Э. и др., 2015; Hoodbhoy Z. et al., 2016; Elawad T. et al., 2022; Dimitriadis E. et al., 2023]. Примечательно, что среди пациенток основной группы в нашем исследовании в 25,8% случаев беременность закончилась преждевременными оперативными родами на сроках 30 недель 2 дня – 36 недель 6 дней. Все случаи наблюдались у пациенток с тяжелой ПЭ. В контрольной группе роды у всех пациенток произошли в срок. Исходя из того, что все преждевременные роды (ПР) в нашем исследовании были индуцированными (по показаниям со стороны матери и плода), в раннем неонатальном периоде 20,9% новорожденных были переведены в отделение интенсивной терапии и реанимации с последующим вторым этапом выхаживания.

Результаты индивидуального анализа изменений артериального давления и уровней протеинурии на 1-е, 3-и и 5-е сутки у женщин с тяжелой преэклампсией, а также их детей лишней раз наглядно продемонстрировали, что такие пациенты заслуживают тщательного мониторингирования состояния не только во время течения беременности и родов, но и в послеродовом и неонатальных периодах. Максимальное снижение показателей САД, ДАД и протеинурии наблюдалось на 5-е сутки после кесарева сечения ($159 \pm 11,7$ мм.рт.ст., $92,5 \pm 3,98$ мм.рт.ст., $3 \pm 1,80$ г/л соответственно). Что касается новорожденных, то время начала прибавки массы тела детей от матерей с тяжелой преэклампсией наблюдалось на 4-е – 6-е сутки, в то время как у остальных детей – на 2-е сутки.

Ретроплацентарная кровь является уникальным субстратом, легкодоступным для исследования, который может нести важную информацию о состоянии маточно-плацентарного кровообращения и локальных процессах, происходящих на границе мать-плод [Панина О.Б. и др, 2022], поэтому мы разработали легкодоступную и универсальную методику взятия проб РПК:

1. В асептических условиях сразу после рождения плаценту с оболочками и пуповиной помещали в специальную стерильную емкость материнской поверхностью вниз на 3-5 минут, оболочки располагались на плодовой поверхности плаценты.

2. Пуповину пережимали при помощи корнцанга и отводили в другую емкость для предотвращения смешивания ретроплацентарной крови с пуповинной кровью.
3. Скопившуюся в стерильной емкости кровь разливали по вакутайнерам без использования дополнительного инструментария (в том числе шприца) во избежание гемолиза.

На втором этапе работы по завершении биохимического исследования сывороток ПК и РПК, а также определения АОЕ их плазм были получены интересные и значимые результаты.

Нами было установлено, что биохимический состав ПК и РПК при физиологической беременности значительно отличаются друг от друга. Так, достоверные различия ($p < 0,05$) были выявлены в отношении всех вышеперечисленных биохимических показателей в ПК и РПК соответственно: АЛТ (10,7 (8,9; 14,4) Ед/л против 17,8 (14,4; 22,8) Ед/л), АСТ (21 (18; 25) Ед/л против 176 (116; 368) Ед/л), ЛДГ (219 (195; 250) Ед/л против 2191 (1541; 2870) Ед/л), общий белок (58,9 (54,7; 64,5) г/л против 56,2 (51,0; 61,6) г/л), альбумин (32,8 (30,4; 35,1) г/л против 31,1 (28,5; 33,0) г/л), мочевины (2,9 (2,4; 3,4) ммоль/л против 3,7 (2,9; 4,4) ммоль/л), креатинин (59 (54; 64) мкмоль/л против 75 (67; 100) мкмоль/л), общий билирубин (6,4 (5,2; 10,1) мкмоль/л против 5,1 (2,2; 7,2) мкмоль/л), прямой билирубин (1,10 (0,75; 1,45) мкмоль/л против 1,5 (1,3; 1,8) мкмоль/л), глюкоза (4,7 (3,9; 5,3) ммоль/л против 3,4 (2,8; 4,4) ммоль/л), мочевая кислота (228 (192; 282) мкмоль/л против 283 (227; 297) мкмоль/л).

Исследование биохимических показателей крови при ПЭ также позволило выявить ряд важных отличий. Так, в частности, уровень ЛДГ практически десятикратно был выше в ретроплацентарной крови чем в периферической (2233 (1694; 3269) Ед/л против 237 (195; 298) Ед/л соответственно). Уровень АСТ был шестикратно выше в ретроплацентарной крови (189 (120; 357) Ед/л) по сравнению с периферической кровью (29,5 (23,2; 42,7) Ед/л). Достоверные различия ($p < 0,05$) касались и ряда других показателей ПК и РПК соответственно: общий белок (61,6 (55,7; 64,0) г/л против 54,3 (51,7; 57,1) г/л), мочевины (3,5 (3,0; 4,6) ммоль/л против 4,2 (3,4; 4,9) ммоль/л), креатинин (67,0 (59,5; 76,0) мкмоль/л против 85 (74; 94)

мкмоль/л), прямой билирубин (0,8 (0,7; 1,4) мкмоль/л против 1,6 (1,0; 2,1) мкмоль/л), глюкоза (4,59 (4,20; 5,32) ммоль/л против 3,17 (2,89; 3,74) ммоль/л), мочева кислота (318 (286; 385) мкмоль/л против 372 (344; 481) мкмоль/л).

При сравнительном анализе каждого биохимического показателя в ПК и РПК по отдельности в группах были выявлены следующие различия (Таблица 1).

Значения величин таких показателей, как АЛТ, АСТ, мочевины, креатинина и мочева кислота у пациенток с ПЭ в периферической крови были достоверно выше ($p < 0,05$), а альбумина – ниже по сравнению с группой физиологической РПК достоверные различия при преэклампсии были только по уровню мочева кислоты (372 (344; 481) мкмоль/л против 283 (227; 297) мкмоль/л). По всем остальным значениям медиан биохимические показатели в РПК в основной и контрольной группах достоверно не различались.

Похожая картина наблюдалась при разделении пациенток на группы в зависимости от вида родоразрешения. В периферической крови при кесаревом сечении медианы АЛТ (19,5 (10,2; 31,0) Ед/л) и мочевины (3,5 (3,0; 4,4) ммоль/л) были достоверно ($p < 0,05$) выше по сравнению с группой самопроизвольных родов (11,9 (9,8; 15,3) Ед/л и 2,9 (2,4; 3,4) ммоль/л соответственно), а медианы общего белка (61,0 (57,9; 64,6) г/л при СР против 56,3 (50,8; 64,0) г/л при КС) и альбумина (33,2 (31,6; 35,2) г/л при СР против 28,7 (26,0; 31,3) г/л при КС) наоборот – ниже. При сравнении величин биохимических показателей в ретроплацентарной крови, обращали на себя внимания достоверно высокие значения АЛТ, АСТ, ЛДГ и прямого билирубина и низкие значения общего белка, креатинина и глюкозы при оперативном родоразрешении по сравнению с самопроизвольными родами (Таблица 2).

Таблица 1. Биохимические показатели ПК и РПК крови при физиологической беременности и преэклампсии

Вид крови	Показатель	Медиана (Q1;Q3) (физ. беременность)	Медиана (Q1;Q3) (преэклампсия)	$p^{1,2}$
Периферическая кровь	АЛТ, Ед/л	10,7 (8,9; 14,4)	23,5 (14,2; 34,3)	< 0,001 ¹
	АСТ, Ед/л	21,4 (17,8; 24,5)	29,5 (23,2; 42,7)	< 0,001 ¹
	ЛДГ, Ед/л	219 (195; 250)	237 (195; 298)	0,137 ¹
	Общий белок, г/л	58,9 (54,7; 64,5)	61,6 (55,7; 64,0)	0,539 ²
	Альбумин, г/л	32,8 (30,4; 35,1)	29,4 (25,1; 32,3)	< 0,001 ²
	Мочевина, ммоль/л	2,9 (2,4; 3,4)	3,5 (3,0; 4,58)	< 0,001 ¹
	Креатинин, мкмоль/л	59,0 (53,5; 64,0)	67,0 (59,5; 76,0)	< 0,001 ²
	Общ. билирубин, мкмоль/л	6,4 (5,2; 10,1)	5,6 (3,9; 8,1)	0,105 ¹
	Пр. билирубин, мкмоль/л	1,1 (0,8; 1,5)	0,8 (0,7; 1,2)	0,402 ¹
	Глюкоза, ммоль/л	4,7 (3,9; 5,3)	4,6 (4,2; 5,3)	0,686 ¹
	Мочевая кислота, мкмоль/л	228 (192; 282)	318 (286; 385)	< 0,001 ²
Ретроплацентарная кровь	АЛТ, Ед/л	17,8 (14,4; 22,8)	20,3 (15,9; 28,8)	0,175 ¹
	АСТ, Ед/л	176 (116; 368)	189 (120; 357)	0,692 ¹
	ЛДГ, Ед/л	2191 (1541; 2870)	2233 (1694; 3269)	0,581 ¹
	Общий белок, г/л	56,2 (51,0; 61,6)	54,3 (51,7; 57,1)	0,389 ¹
	Альбумин, г/л	31,1 (28,5; 33,0)	30,0 (28,0; 32,6)	0,488 ¹
	Мочевина, ммоль/л	3,7 (2,9; 4,4)	4,2 (3,4; 4,9)	0,127 ¹
	Креатинин, мкмоль/л	75 (67; 100)	85 (74; 94)	0,247 ¹
	Общ. билирубин, мкмоль/л	5,1 (2,2; 7,2)	5,6 (2,4; 9,5)	0,586 ¹
	Пр. билирубин, мкмоль/л	1,5 (1,3; 1,8)	1,6 (1,0; 2,1)	0,886 ¹
	Глюкоза, ммоль/л	3,4 (2,8; 4,4)	3,2 (2,9; 3,8)	0,157 ²
	Мочевая кислота, мкмоль/л	283 (227; 297)	372 (344; 481)	< 0,001 ²

Примечание: ¹критерий Манна-Уитни; ²Т-критерий Стьюдента для независимых выборок

Таблица 2. Биохимические показатели ПК и РПК при самопроизвольных родах и кесаревом сечении

Вид крови	Показатель	Медиана (Q1;Q3) (самопроизв. роды)	Медиана (Q1;Q3) (кесарево сечение)	$p^{1,2}$
Периферическая кровь	АЛТ, Ед/л	11,9 (9,8; 15,3)	19,5 (10,2; 31,0)	0,008 ¹
	АСТ, Ед/л	23 (21; 26)	25 (18; 40)	0,465 ¹
	ЛДГ, Ед/л	227 (197; 259)	205 (192; 279)	0,716 ¹
	Общий белок, г/л	61,0 (57,9; 64,6)	56,3 (50,8; 64,0)	0,043 ²
	Альбумин, г/л	33,2 (31,6; 35,2)	28,7 (26,0; 31,3)	< 0,001 ²
	Мочевина, ммоль/л	2,9 (2,5; 3,4)	3,5 (3,0; 4,4)	0,014 ¹
	Креатинин, мкмоль/л	62 (56; 68)	61 (54;71)	0,917 ²
	Общ. билирубин, мкмоль/л	6,5 (5,4; 10,1)	5,6 (3,9; 8,2)	0,075 ¹
	Пр. билирубин, мкмоль/л	1,2 (0,8; 1,7)	0,8 (0,7; 1,2)	0,063 ¹
	Глюкоза, ммоль/л	4,8 (4,1; 5,5)	4,5 (4,2; 5,0)	0,341 ¹
	Мочевая к-та, мкмоль/л	269 (192; 300)	289 (228; 329)	0,134 ²
Ретроплацентарная кровь	АЛТ, Ед/л	17,1 (13,0; 22,8)	20,6 (17,3; 27,8)	0,024 ¹
	АСТ, Ед/л	138 (95; 194)	384 (318; 483)	< 0,001 ¹
	ЛДГ, Ед/л	1937 (1435; 2582)	2673 (1942; 3543)	0,032 ¹
	Общий белок, г/л	57,6 (52,1; 60,8)	52,7 (50,7; 55,8)	0,012 ¹
	Альбумин, г/л	30,4 (27,6; 33,0)	31,4 (29,6; 32,8)	0,511 ¹
	Мочевина, ммоль/л	3,8 (3,0; 4,5)	3,8 (3,1; 4,8)	0,828 ¹
	Креатинин, мкмоль/л	89 (73; 105)	69 (61; 82)	< 0,001 ¹
	Общ. билирубин, мкмоль/л	4,8 (1,9; 6,3)	6,9 (2,7; 9,4)	0,052 ¹
	Пр.билирубин, мкмоль/л	1,4 (1,1; 1,7)	1,8 (1,4; 2,4)	0,023 ¹
	Глюкоза, ммоль/л	3,8 (3,1; 4,4)	2,9 (2,8; 3,2)	< 0,001 ¹
	Мочевая к-та, мкмоль/л	317 (282; 372)	313 (260; 369)	0,636 ²

Примечание: ¹ критерий Манна-Уитни; ² Т- критерий Стьюдента для независимых выборок

Как известно, уровень окислительного стресса при преэклампсии значительно выше по сравнению с физиологической беременностью, поэтому полученные достоверные различия при сравнении данного показателя в основной и контрольных группах ПК и РПК по отдельности вполне закономерны.

В нашем исследовании при анализе медиан АОЕ плазмы между ПК и РПК как при физиологической беременности, так и при преэклампсии были выявлены достоверные различия ($p < 0,05$): у пациенток основной группы уровень АОЕ плазмы был выше в ретроплацентарной крови в 1,35 раз (1073 (492; 1440) сек в ПК против 1454 (970; 2124) сек в РПК), а у женщин в контрольной группе – в 1,76 раз (774 (546; 1113) сек в ПК против 1362 (1002; 1983) сек в РПК). При сравнении уровней АОЕ плазмы периферической и ретроплацентарной крови в зависимости от родоразрешения наблюдались достоверные различия ($p < 0,05$) как при самопроизвольных родах (894 (739; 1250) сек в ПК против 1524 (1200; 2094) сек в РПК), так и при кесаревом сечении (396 (209; 1242) сек в ПК против 941 (666; 1955) сек в РПК).

При сравнении медиан АОЕ плазмы в ПК у пациенток с умеренной и тяжелой ПЭ были выявлены достоверные отличия: при умеренной преэклампсии в ПК уровень АОЕ плазмы был достоверно ($p < 0,05$) выше в 2,29 раз, чем при тяжелой. В РПК прослеживалась та же закономерность: уровень АОЕ плазмы при умеренной преэклампсии был достоверно ($p < 0,05$) выше в 1,64 раза (Рисунок 2).

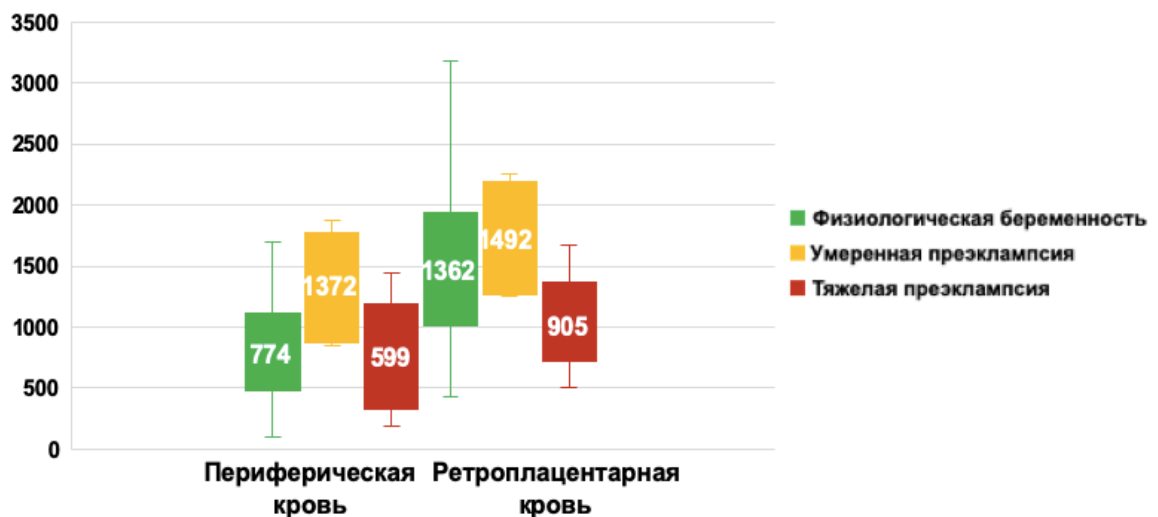


Рисунок 2 – Медианы АОЕ плазмы периферической и ретроплацентарной крови (ФБ, умеренная и тяжелая ПЭ)

Кроме того, мы выявили значимые различия при сравнении медиан АОЕ плазмы в периферической крови у пациенток при самопроизвольных родах и кесаревом сечении так, как и при сравнении уровней АОЕ плазмы в ретроплацентарной крови пациенток из тех же групп (Рисунок 3).

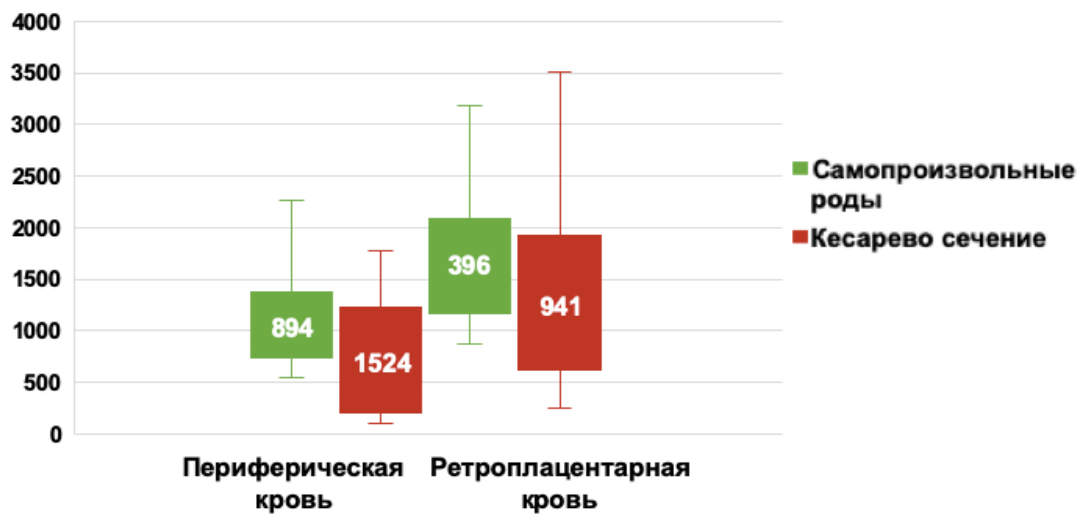


Рисунок 3 – Медианы АОЕ плазмы периферической и ретроплацентарной крови (СР и КС)

При этом медиана АОЕ плазмы в периферической крови при самопроизвольных родах была выше в 2,25 раз, чем при оперативном родоразрешении: 894 (739;1250) сек против 396 (209; 1242) сек так, как и медиана АОЕ плазмы в ретроплацентарной крови при самопроизвольных по сравнению с кесаревым сечением: 1524 (1200; 2094) сек против 941 (666; 1955) сек.

С течением беременности соотношение про- и антиоксидантов меняется в пользу увеличения свободных радикалов, которые вырабатываются и, вследствие физиологического «старения» плаценты, могут рассматриваться как некий паракринный сигнал активации родовой деятельности. Мы не исключаем, что повышенный уровень АОЕ плазмы в РПК может быть следствием инициации родов, а не только беременности, так как кровь у рожениц забиралась после родоразрешения [Панина О.Б. и др., 2022].

В ходе третьего этапа при оценке силы корреляционных связей между ПК и РПК у биохимических показателей и АОЕ плазмы в основной и контрольных группах у большинства пациенток были выявлены положительные значимые связи достаточной силы. При физиологической беременности у мочевины ($r = 0,841$;

$p < 0,001$), мочевого кислоты ($r = 0,775$; $p < 0,001$), АОЕ плазмы ($r = 0,734$; $p < 0,001$) и общего белка ($r = 0,629$; $p < 0,001$). При преэклампсии у мочевины ($r = 0,605$; $p = 0,004$), мочевого кислоты ($r = 0,799$; $p < 0,001$), АОЕ плазмы ($r = 0,904$; $p < 0,001$) и АЛТ ($r = 0,886$; $p < 0,001$). То есть, чем выше был уровень перечисленных показателей в периферической крови, тем выше он был и в ретроплацентарной крови. Таким образом, можно сделать вывод о наличии схожих механизмов регуляции уровня биохимических показателей и АОЕ плазмы в обеих жидкостях.

Более того, при проведении корреляционного анализа между биохимическими показателями в периферической крови и массой новорожденных от пациенток с преэклампсией были выявлены значимые умеренные отрицательные связи только при преэклампсии между массой новорожденных и АЛТ ($r = -0,414$; $p = 0,008$), АСТ ($r = -0,343$; $p < 0,03$) и мочевиной ($r = -0,367$; $p = 0,02$). В ретроплацентарной крови была выявлена лишь одна достоверная умеренная отрицательная связь между массой новорожденных и АЛТ ($r = -0,622$; $p = 0,003$) только при преэклампсии. То есть, чем выше значения биохимических показателей в крови при преэклампсии, тем меньше масса тела новорожденного.

В последних исследованиях послеродовую ПЭ рассматривают как самостоятельное и не до конца изученное патологическое состояние. По некоторым данным женщины с ПЭ, возникшей при беременности и в послеродовом периоде, значительно различаются по профилю, симптомам, лабораторным маркерам и исходам беременности [Юсупова З.С. и др., 2018; McMaster K. et al., 2018; Кан Н.Е. и др., 2024].

Таким образом, отсечная точка АОЕ плазмы ретроплацентарной крови (1500 с), выбранная нами по результатам индивидуального анализа изменений показателей артериального давления и протеинурии, позволяет разделить течение преэклампсии в послеродовом периоде на более и менее благоприятное, а также прогнозировать течение неонатального периода у детей от матерей с тяжелой преэклампсией (срок перевода новорожденных на самостоятельное дыхание, а также время начала прибавки массы тела).

Проблема соотношения системного и локального метаболизма является актуальной проблемой, но практически неизученной. Ретроплацентарная кровь, непосредственно омывающая ворсины хориона, может содержать не только больше информации о состоянии плода, но также иметь специфические белки, продуцируемые плацентой, которые не попадают в системный кровоток и, как следствие, не дают полной картины. Исходя из этого, полученные нами результаты позволят продолжить дальнейшие исследования для получения более полных представлений о патогенезе преэклампсии и других плацента-ассоциированных заболеваний, а также состоянии не только матери, но и плода.

Перспективы дальнейшей разработки темы

По результатам проведенных биохимических исследований можно сделать вывод о том, что ретроплацентарная кровь значительно отличается от периферической крови и требует дальнейшего изучения, так как может дать информацию о патогенезе нарушений состояния плода и методах их профилактики при последующих беременностях.

Несмотря на то, что данное исследование являлось пилотным, его результаты открывают перспективы в отношении прогнозирования течения последующих беременностей. Из обследованных нами пациенток у четверых через 1-2 года наступили беременности, течение которых было нами проанализировано. У двух пациенток с АОЕ плазмы в РПК выше 1500 сек в нашем исследовании беременность протекала без осложнений и закончилась своевременными родами, у двух других с АОЕ плазмы в РПК ниже 1500 сек беременность осложнилась тяжелой преэклампсией. Безусловно, на основании единичных наблюдений выводы делать преждевременно, однако исследования в данном направлении целесообразно продолжить.

ВЫВОДЫ

1. Разработана методика взятия проб ретроплацентарной крови при самопроизвольных родах и кесаревом сечении с материнской поверхности плаценты, исключающая смешивание с кровью матери (травма мягких родовых

путей при самопроизвольных родах, рассечение тканей при кесаревом сечении) и кровью из сосудов пуповины.

2. Ретроплацентарная кровь имеет значимые отличия от периферической крови ($p < 0,05$) при физиологической беременности по всем биохимическим показателям: АЛТ, АСТ, ЛДГ, общий белок, альбумин, мочевины, креатинин, общий и прямой билирубин, глюкоза, мочевиная кислота. Уровень антиоксидантной емкости плазмы достоверно выше ($p < 0,05$) в ретроплацентарной крови, чем в периферической крови как при физиологической беременности – 774 (546; 1113) сек и 1362 (1002; 1983) сек, так и при преэклампсии – 1073 (492; 1440) сек и 1454 (970; 2124) сек.

3. Способ родоразрешения оказывает влияние на биохимические показатели и антиоксидантную емкость плазмы ретроплацентарной крови. При кесаревом сечении уровни АЛТ, АСТ, ЛДГ и прямого билирубина в ретроплацентарной крови были достоверно выше ($p < 0,05$), чем при самопроизвольных родах в 1,2; 2,8; 1,4 и 1,3 раза соответственно, а уровни общего белка, креатинина и глюкозы, наоборот, были выше в ретроплацентарной крови при самопроизвольных родах в 1,1; 1,3 и 1,3 раз соответственно, по сравнению с кесаревым сечением. Уровень антиоксидантной емкости плазмы в ретроплацентарной крови при самопроизвольных родах был достоверно выше ($p < 0,05$): в 1,6 раз по сравнению с кесаревым сечением.

4. При преэклампсии уровни АЛТ, АСТ, мочевины, креатинина в ретроплацентарной крови в 2,19; 1,37; 1,2; 1,14 раз соответственно были выше, а для альбумина в 1,12 раз достоверно ниже чем в норме; уровень мочевиной кислоты был выше в 1,39 раз в периферической крови и в 1,31 раз в ретроплацентарной крови, чем в норме ($p < 0,05$). При тяжелой преэклампсии уровень антиоксидантной емкости плазмы был достоверно ниже ($p < 0,05$) как в периферической, так и в ретроплацентарной крови по сравнению с умеренной преэклампсией (599 (360; 1152) сек против 1372 (893; 1687) сек в периферической крови и 905 (783; 1187) сек против 1492 (1267; 2124) сек в ретроплацентарной крови).

5. При антиоксидантной емкости плазмы ретроплацентарной крови более 1500 сек купирование симптомов преэклампсии (уровень артериального давления, степень выраженности протеинурии) в послеродовом периоде происходило быстрее, чем при более низких значениях данного показателя. При высоких уровнях АОЕ плазмы РПК (более 1500 сек) течение неонатального периода также было более благоприятным и характеризовалось более ранним переводом с искусственной вентиляции легких на самостоятельное дыхание и более ранним началом прибавки массы тела, чем при АОЕ плазмы РПК менее 1500 сек.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанная методика получения и подготовки ретроплацентарной крови на преаналитическом этапе позволяет проводить исследования биохимических показателей и антиоксидантной емкости плазмы методом люминол-активированной хемилюминесценции.
2. Референсные интервалы биохимических показателей ретроплацентарной крови при физиологической беременности обладают рядом значимых особенностей по сравнению с периферической кровью, что обуславливает целесообразность использования этих показателей в том числе при плацента-ассоциированных осложнениях беременности.
3. Уровень антиоксидантной емкости плазмы РПК позволяет прогнозировать клиническое течение преэклампсии после родоразрешения: при значении АОЕ плазмы РПК выше 1500 сек происходит более быстрое и значимое купирование симптомов тяжелой преэклампсии (систолического и диастолического артериального давления, протеинурии), чем при АОЕ плазмы РПК ниже 1500 сек.
4. При АОЕ плазмы РПК > 1500 сек прибавка массы тела наблюдается с 4-ых суток, при более низких значениях АОЕ плазмы РПК – не ранее 6-ых суток жизни.
5. На основании уровня АОЕ плазмы РПК возможно прогнозирование течения раннего неонатального периода: сроки перевода с искусственной вентиляции легких на самостоятельное дыхание и начала прибавки массы тела.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Самусевич, А.Н. Антиоксидантный дисбаланс в патогенезе преэклампсии / И.А. Михеева, А.Н. Самусевич // Материалы III Общероссийской научно-практической конференции для акушеров-гинекологов «Оттовские чтения» (12–13 ноября 2021 года, г. Санкт-Петербург) – Т. 29. – Издательство журнала StatusPraesens Москва, 2021. – С. 61-62.
2. Самусевич, А.Н. Биохимические характеристики ретроплацентарной крови при физиологической беременности и тяжелой преэклампсии / А.Н. Самусевич, Е.В. Проскурнина, Л.М. Самоходская, О.Б.Панина // Материалы XXIII Всероссийского научно-образовательного форума «Мать и Дитя – 2022», Московская область, г. Красногорск, Россия, 28-30 сентября 2022.– С. 81-82.
3. **Самусевич, А.Н.** Антиоксидантный профиль ретроплацентарной крови при физиологической беременности и преэклампсии / О.Б. Панина, А.Н. Самусевич, Л.Н. Щербакова, И.А. Михеева, Е.В. Проскурнина, М.М. Созарукова, Л.М. Самоходская // **Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.** – 2022. – Т. 21, № 3. – С. 19 -27.
4. **Самусевич, А.Н.** Изучение биохимических показателей ретроплацентарной крови и их значение в клинической медицине / О.Б. Панина, А.Н. Самусевич, Е.В. Проскурнина, Л.М. Самоходская, Д.А. Кривоносова // **Технологии живых систем.** – 2022. – Т. 19, № 4. – С. 60-69.
5. **Самусевич, А.Н.** Биохимические показатели ретроплацентарной крови при преэклампсии / А.Н. Самусевич, Л.М. Самоходская, Е.В. Проскурнина, И.В. Игнатко, О.Б. Панина // **Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева.** – 2024. – Т. 11, №2. – С.169-178