

*На правах рукописи*

МУМИНОВА

Камилла Тимуровна

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ И РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА  
ПРЕЭКЛАМПСИИ ПО ПЕПТИДНОМУ ПРОФИЛЮ МОЧИ

Специальность: 14.01.01-Акушерство и гинекология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва, 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор РАН Шмаков Роман Георгиевич

кандидат биологических наук Стародубцева Наталия Леонидовна

Официальные оппоненты:

Малышкина Анна Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ "Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова" Минздрава России, директор

Мурашко Андрей Владимирович, доктор медицинских наук, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), кафедра акушерства и гинекологии №1 лечебного факультета, профессор

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.125.01 на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» по адресу: 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России и на сайте [http://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/MuminovaKT\\_diss.pdf](http://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/MuminovaKT_diss.pdf)

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,

доктор медицинских наук, профессор

Калинина Елена Анатольевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Гипертензивные расстройства во время беременности (ГРБ), встречающиеся с частотой 2-30%, вносят неравнозначный вклад в течение беременности. Наиболее грозным из их числа является преэклампсия (ПЭ), которая остается самым загадочным состоянием в акушерстве.

Признание двух фенотипических вариантов ПЭ (ранней и поздней) способствовало лучшему пониманию патофизиологии течения и исходов беременности для матери и плода (Stubert J. et al, 2014; Vaddamani S. et al, 2017; Weissgerber TL et al, 2019 и др.).

В последние годы наиболее значимыми в практическом отношении явились результаты исследования по прогнозированию ПЭ в рамках расширенного комбинированного скрининга (Wright A. et al., 2018) и эффективности и целесообразности применения аспирина (Wright D. et al., 2018).

Вместе с тем стремительное развитие фундаментальных наук, в особенности «омиксных» технологий, стимулирует попытки поиска предикторов и биомаркеров ПЭ в мельчайших продуктах обмена биологических жидкостей организма. Пептидомный анализ позволяет одновременно изучать тысячи молекул, которые могут служить не только диагностическим маркером заболевания, но и терапевтической мишенью (Klein J. et al., 2014).

### Степень разработанности темы исследования

Изучение пептидома мочи с целью выявления возможных предикторов или маркеров ПЭ связано с составом мочи, содержащей белки, секретлируемые почками и белки крови, которые проходят через гломерулярный фильтрационный барьер. При этом в моче отсутствуют белки, широко представленные в плазме крови (Decramer S. Et al., 2008). Литературные данные о различных концентрациях одних и тех же пептидов при ГРБ (Buhimschi I. A. et al., 2008; Chen G. et al., 2011) представляют

клинический интерес. Однако в проведенных до настоящего времени протеомных/пептидомных исследованиях отсутствует стратификация ПЭ как по времени манифестации, так и по степени тяжести, а также отсутствуют данные о других ГРБ (хроническая и гестационная артериальная гипертензия). Таким образом, пептидомный анализ остается не до конца изученным при ПЭ и потому заслуживает более глубокого исследования с целью определения уровня экспрессии пептидов, которые могут стать ключевыми биомаркерами в раннем скрининге, дифференциальной диагностике ГРБ, а также при разработке панели маркеров и предикторов ПЭ.

#### Цель исследования:

Повышение эффективности прогнозирования, ранней диагностики преэклампсии и дифференциальной диагностики гипертензивных состояний во время беременности по пептидному профилю мочи.

#### Задачи исследования:

1. Представить сравнительную клинико-anamнестическую характеристику беременных с гестационными гипертензивными расстройствами.
2. Оценить особенности течения беременности, родов и послеродового периода и состояние новорожденных у обследованных женщин.
3. Провести сравнительный анализ пептидного профиля мочи у пациенток с гестационными гипертензивными расстройствами и на основании полученных результатов разработать панель пептидов-биомаркеров ПЭ.
4. Сопоставить прогностическую значимость панели пептидного профиля мочи у пациенток высокого риска развития ПЭ с результатами комбинированного скрининга I триместра.

5. Разработать алгоритм дифференциальной диагностики гестационных гипертензивных расстройств, а также прогнозирования и ранней диагностики ПЭ.

#### Научная новизна

Впервые проведено сравнительное исследование пептидома мочи у пациенток с гипертензивными расстройствами во время беременности (хроническая артериальная гипертензия (ХАГ), гестационная артериальная гипертензия (ГАГ) и ПЭ на фоне ХАГ), а также с различными фенотипами ПЭ (ранняя: умеренная и тяжелая, поздняя: умеренная и тяжелая). Была выявлена панель пептидов, способная достоверно диагностировать ПЭ, при этом чувствительность и специфичность данной панели оказались выше, чем для соотношения sFlt-1/PlGF.

Для каждой исследуемой группы пациенток удалось выявить специфичную панель пептидов, отличающую каждую из групп либо по составу, либо по уровню пептидов.

Результаты исследования обосновали целесообразность трехэтапного скрининга с целью выявления пациенток с высоким риском развития ПЭ, что включало тщательную оценку клинико-анамнестических данных женщины, комбинированный скрининг I триместра в 11-13 недель с измерением АД и пульсационного индекса в маточных артериях и динамический анализ пептидного профиля мочи с 20 недель в группе пациенток высокого риска развития ПЭ. Согласно полученным данным, в группе высокого риска повышена частота неблагоприятных исходов беременности, включая неразвивающуюся беременность, что, очевидно, также связано с аномальной плацентацией.

#### Теоретическая и практическая значимость

Идентифицированная панель пептидов, характерных для ПЭ (чувствительность 93%, специфичность 91%), позволяет прогнозировать и своевременно диагностировать развитие ПЭ.

Определены пептиды, специфичные для тяжелой ПЭ, что делает возможным более пристальным мониторинг состояния беременной и плода с целью определения оптимальных сроков родоразрешения.

При указании на перенесенную ПЭ в анамнезе целесообразно выделить группу женщин для старта превентивных мер (назначение низких доз аспирина) и тщательного обследования с ранних сроков беременности с целью профилактики осложнений и неблагоприятных исходов беременности.

При наличии или развитии гипертензивного нарушения у беременной рекомендуется проведение серии повторных анализов пептидома мочи в целях доклинической диагностики ПЭ.

Пациенткам с высоким риском развития ПЭ ( $\geq 1:150$ ), по результатам комбинированного скрининга I триместра, рекомендуется динамическое проведение пептидомного исследования мочи с 20 нед беременности с целью прогнозирования ее развития.

На основании полученных результатов разработано и внедрено в клиническую практику два современных алгоритма, основанных на проведении пептидомного анализа мочи: ведение пациенток с ГРБ и ведение пациенток высокого риска развития ПЭ. Указанные алгоритмы направлены на снижение частоты акушерских осложнений и улучшение перинатальных исходов.

#### Методология и методы исследования

На I этапе работы с целью поиска панелей пептидов, характерных для различных ГРБ, был проведен сравнительный анализ 165 беременных. На II этапе для оценки возможности прогнозирования ПЭ с помощью пептидомного анализа мочи было проведено проспективное исследование, включившее 42-х женщин, прошедших комбинированный скрининг I триместра. Все пациентки подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Было получено разрешение локального этического комитета на проведение данного исследования.

В работе использованы общеклинические, лабораторные, инструментальные и специальные методы исследования: пептидомный анализ мочи, поиск генных онтологий пептидов.

#### Положения, выносимые на защиту:

1. Ранняя ПЭ всегда характеризуется тяжелым течением, которое проявляется либо сразу (80%), либо быстро прогрессирует из умеренной в тяжелую форму (20%). СЗРП и HELLP-синдром достоверно чаще ассоциируются с тяжелыми формами как ранней, так и поздней ПЭ.

2. ПЭ на фоне ХАГ характеризуется повышением АД с конца I триместра, формированием СЗРП в 35%, тяжелым течением, что требует усиления антигипертензивной терапии и в 45% является показанием к досрочному (до 34 недель) родоразрешению. ГАГ является наиболее благоприятным из всех ГРБ для матери, хотя частота СЗРП достигает 15%.

3. Пептидомный анализ мочи позволил выделить панель пептидов, специфичных для ПЭ, а также для ХАГ и ГАГ. Для ПЭ и ПЭ на фоне ХАГ специфичны 12 пептидов. Чувствительность и специфичность выявленной пептидной панели составила 93 и 91%. Подгруппа из 6 пептидов - фрагментов  $\alpha$ -1-антитрипсина и коллагенов (I и III типов), а также уромодулина, позволяет со 100% диагностической значимостью идентифицировать развитие тяжелой ПЭ.

4. При исследовании пептидома мочи прогнозирование ПЭ возможно с 20-й нед беременности. Динамический пептидомный анализ мочи с 20-й недели имеет высокую чувствительность и специфичность в прогнозировании ПЭ и может быть включен в алгоритм предикции ПЭ наряду с комбинированным скринингом I триместра.

#### Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в определении тематики научного исследования, формировании методологической структуры, формулировке цели и задач, подборе пациенток, сборе биологического материала, обобщении, анализе, статистической обработке полученных

результатов и публикации результатов исследования. Автор проанализировал данные медицинской документации, выполнил клиническую часть работы и научное обобщение полученных результатов.

#### Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.01 – «акушерство и гинекология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1, 2 и 4 паспорта акушерства и гинекологии.

#### Степень достоверности результатов исследования

Достоверность данных исследования подтверждается количеством пациенток, включенных в исследование (187), а также современными методами статистической обработки.

#### Апробация результатов

Основные результаты исследования были представлены на XVII Всероссийском форуме Мать и Дитя (Москва, 2016), на XXV Европейском конгрессе European Congress of the European Board & College of Obstetrics and Gynecology (Италия, 2017), на XXVI Европейском конгрессе European Congress of the European Board & College of Obstetrics and Gynecology (Франция, 2018), на международном совещании Preterm Birth International Collaborative (PREBIC), Biomarker Summit (Москва, 2018).

В рамках конкурса молодых ученых XVII Всероссийского научно-образовательного форума «Мать и дитя» (Москва, 2016) доклад занял 2-е место.

Работа обсуждена на межклинической конференции (13.12.2018) и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (17.12.2018, протокол №15).

#### Внедрение результатов исследования в практику

Разработанная на основании полученных результатов тактика прогнозирования и ранней диагностики ПЭ используется в практической



деятельности акушерских отделений ФГБУ "НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова" Минздрава России. Результаты работы представляются клиническим ординаторам и аспирантам в рамках лекционного материала и практических занятий.

По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, в том числе 9 статей в рецензируемых научных журналах.

#### Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, глав собственного исследования, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа представлена на 166 страницах, иллюстрирована 17 рисунками и 46 таблицами. Библиографический указатель включает 6 работ на русском и 135 - на английском языках.

### СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

#### Материал и методы исследования

В исследование было включено 187 беременных, которые были разделены на 7 групп (табл. 1).

Таблица 1

#### Распределение беременных по группам

Группы/ подгруппы	Характеристика групп/подгрупп	Количество беременных
I группа	Ранняя преэклампсия (РПЭ)*	25
IA подгруппа	Ранняя умеренная преэклампсия (РуПЭ)	5
IB подгруппа	Ранняя тяжелая преэклампсия (РтПЭ)	20
II группа	Поздняя преэклампсия (ППЭ)**	40
IIA подгруппа	Поздняя умеренная преэклампсия (ПуПЭ)	20
IIB подгруппа	Поздняя тяжелая преэклампсия (ПтПЭ)	20
III группа	Гестационная артериальная гипертензия (ГАГ)	20
IV группа	Хроническая артериальная гипертензия (ХАГ) <sup>#</sup>	20
V группа	ПЭ на фоне ХАГ	20

VI группа	Неосложненная беременность (контроль)	40
VIА подгруппа	Низкий риск ПЭ по результатам комбинированного скрининга I триместра	20
VII группа	Высокий риск ПЭ по результатам комбинированного скрининга I триместра	22
Всего		187

\*ПЭ, развившаяся до 34 нед беременности

\*\* ПЭ, развившаяся после 34 нед беременности

# Беременность наступила на фоне нормотензии

Критерии включения для всех участников исследования:

- Информированное согласие на участие в исследовании
- Возраст пациенток 18-40 лет
- Одноплодная спонтанная беременность

Критерии включения для пациенток с высоким риском развития ПЭ:

- Прохождение комбинированного скрининга 1 триместра
- Риск ПЭ до 34 или до 37 нед > 1:150

Критерии невключения:

- Многоплодная беременность
- Беременность, наступившая после ВРТ
- Сахарный диабет
- Трансплантированные органы
- Аутоиммунные заболевания
- Онкологические заболевания
- Заболевания почек в стадии декомпенсации

Критерии исключения:

- Хромосомные аномалии у плода
- Врожденные пороки развития плода
- Антенатальная гибель плода

Диагноз тяжелой ПЭ устанавливался на основании критериев ВОЗ (2011).

Результаты обследования вносились в специально разработанную тематическую карту и в электронные таблицы MS Excel. Статистическая обработка данных выполнялась на индивидуальном компьютере с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и пакета статистической программы IBM SPSS Statistics v22 (США).

Статистический анализ пептидомных результатов проводился в пакете R. ВЭЖХ-МС/МС данные были обработаны также в программном продукте PEAKS de novo sequencing software (v.7.0, Bioinformatics Solutions Inc., Waterloo, ON Canada) с аналогичными условиями идентификации пептидов. Поиск генных онтологий (GO) проводился в программе Scaffold по базе данных UniprotKB.

### Результаты собственных исследований и их обсуждение

#### Сравнительный анализ обследованных с ГРБ

Средний возраст пациенток, включенных в исследование, составил  $31,72 \pm 3,47$  лет. Пациентки с РтПЭ были старше пациенток с ПуПЭ и женщин контрольной группы ( $p=0,046$  и  $p=0,049$ , соответственно). ИМТ пациенток с ГАГ, ХАГ и ПЭ на фоне ХАГ был выше, чем в контроле ( $p=0,021$ ;  $p=0,042$  и  $p=0,004$ , соответственно).

Среди пациенток с РтПЭ, с ХАГ и ПЭ на фоне ХАГ артериальная гипертензия у родственников встречалась чаще, чем в контроле ( $p=0,007$ ). Кроме того, в семьях пациенток с ПЭ на фоне ХАГ чаще отмечались инфаркты миокарда в сравнении с контрольной группой ( $p=0,034$ ).

У пациенток с РтПЭ, ХАГ и ПЭ на фоне ХАГ преэклампсия в анамнезе встречалась чаще, чем в подгруппе с ПуПЭ ( $p=0,006$ ;  $p=0,013$  и  $p=0,013$ , соответственно) и контроле ( $p<0,0001$ ;  $p=0,001$  и  $p=0,001$ , соответственно). Частота ПЭ в анамнезе в группе с ГАГ (20%) была выше, чем в контроле ( $p=0,027$ ).

Повышение АД уже с ранних сроков беременности отмечалось у 3 (15%) женщин с ХАГ и у 7 (35%) – с ПЭ на фоне ХАГ.

Манифестация симптомов ПЭ во 2 триместре чаще имела место в группе с РтПЭ: частота повышения АД составила 65% ( $n=13$ ) и была выше, чем в подгруппах с ПуПЭ ( $p<0,0001$ ) и ПВ с ПтПЭ ( $p<0,0001$ ) и группе с ХАГ ( $p=0,016$ ). Частота протеинурии также выше в сравнении с подгруппами с ПуПЭ ( $p=0,005$ ) и с ПтПЭ ( $p=0,007$ ). Частота отеков у пациенток с РуПЭ (40%) и с РтПЭ (35%) была выше, чем в подгруппе с ПуПЭ ( $p=0,033$  и

$p=0,005$ , соответственно), группах с ХАГ ( $p=0,037$  и  $p=0,006$ , соответственно) и контрольной ( $p=0,005$  и  $p<0,0001$ , соответственно). Также отеки встречались чаще у пациенток с РтПЭ в сравнении с ПтПЭ ( $p=0,029$ ) и с ГАГ ( $p=0,029$ ). СЗРП был диагностирован только у пациенток с РтПЭ (30%), ПтПЭ (10%) и с ПЭ на фоне ХАГ (15%), и его частота при РтПЭ была выше, чем при ПтПЭ ( $p=0,032$ ).

Досрочное родоразрешение к концу второго триместра потребовалось 6 (30%) женщинам с РтПЭ и 3 (15%) – с ПЭ на фоне ХАГ.

В 3 триместре (табл. 3) частота протеинурии варьировала в пределах 92% - 100% в группах с ПЭ. Частота отеков была выше при ПуПЭ (80%) в сравнении с ХАГ (40%) ( $p=0,048$ ), ПЭ на фоне ХАГ (35%) ( $p=0,01$ ), а также при ПтПЭ (65%) - в сравнении с ПЭ на фоне ХАГ ( $p=0,043$ ). СЗРП чаще наблюдался в подгруппе с ПтПЭ ( $p=0,02$  по сравнению с ПуПЭ,  $p=0,027$  по сравнению с ГАГ и  $p=0,023$  - с ХАГ), хотя он также был зафиксирован среди женщин с РтПЭ и ПЭ на фоне ХАГ. Нарушение кровотоков, по данным УЗ-доплерометрии, чаще регистрировалось в группе ПтПЭ в сравнении с ГАГ, ХАГ ( $p=0,006$ ) и контролем ( $p<0,0001$ ). Тромбоцитопения чаще наблюдалась у женщин с РтПЭ в сравнении с ПуПЭ, ГАГ и ХАГ ( $p=0,006$ ), а также с ПЭ на фоне ХАГ ( $p=0,023$ ). Важно отметить, что HELLP-синдром был диагностирован только у пациенток с тяжелой ПЭ. Эти данные свидетельствуют о полиорганных нарушениях (СЗРП и HELLP- синдрома) при тяжелой ПЭ в сравнении с другими ГРБ.

Таблица 3- Течение беременности у обследованных женщин в III триместре

Особенности	Подгруппы				Группы			
	IA (n=5)	IB (n=14)*	IIA (n=20)	IIB (n=20)	III (n=20)	IV (n=20)	V (n=17) <sup>#</sup>	VI (n=40)
Угрожающие ПР	2 (40%)	2 (14%)	1 (5%)	1 (5%)	1 (5%)	4 (20%)	0 (0%)	8 (20%)
Повышение АД	5 (100%)	8 (57%)	20 (100%)	19 (95%)	16 (80%)	14 (70%)	8 (47%) <sup>1</sup>	-
ПУ	5 (100%)	13 (92%)	20 (100%)	20 (100%)	-	-	16 (94%)	-

Отеки	2 (40%)	6 (43%)	16 (80%) <sup>2</sup>	13 (65%) <sup>3</sup>	10 (50%)	8 (40%)	6 (35%)	7 (17,5%) <sup>4</sup>
СЗРП	0 (0%)	3 (21%)	0 (0%)	6 (30%) <sup>5</sup>	0 (0%)	0 (0%)	2 (12%)	0 (0%)
Нарушение ФПК и МПК	1 (20%)	4 (29%)	4 (20%)	8 (40%) <sup>6</sup>	0 (0%)	0 (0%)	2 (12%)	0 (0%)
Снижение количества тромбоцитов	0 (0%)	8 (57%) <sup>7,8</sup>	0 (0%)	5 (25%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (6%)	0 (0%)
Повышение печеночных трансаминаз	1 (20%)	4 (28,6%)	0 (0%)	4 (20%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (6%)	0 (0%)
HELLP- синдром	0 (0%)	4 (28,6%)	0 (0%)	2 (10%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

\* 14 пациенток в группе, т.к. 6 женщин были родоразрешены во II триместре

# 17 пациенток в группе, т.к. 3 женщины были родоразрешены во II триместре

<sup>1</sup> p<0,01 против IIА (ПуПЭ) и IIВ (ПтПЭ)

<sup>2</sup> p<0,05 против IV (ХАГ) и V (ПЭ на фоне ХАГ)

<sup>3</sup> p<0,05 против V (ПЭ на фоне ХАГ)

<sup>4</sup> p<0,01 против IA (РуПЭ), IB (РтПЭ), IIА (ПуПЭ), IIВ (ПтПЭ), III (ГАГ), IV (ХАГ) и V (ПЭ на фоне ХАГ)

<sup>5</sup> p<0,05 против IIА (ПуПЭ), III (ГАГ) и IV (ХАГ)

<sup>6</sup> p<0,001 против III (ГАГ), IV (ХАГ) и VI (контроль)

<sup>7</sup> p<0,01 против IIА (ПуПЭ), III (ГАГ) и IV (ХАГ)

<sup>8</sup> p<0,05 против V (ПЭ на фоне ХАГ)

Дебют гипертензии у пациенток с РуПЭ произошел в  $27,4 \pm 3,2$ , РтПЭ - в  $25,9 \pm 3,86$ , с ПуПЭ - в  $36,3 \pm 2,36$ , с ПтПЭ - в  $35,7 \pm 1,95$ , с ГАГ - в  $31,95 \pm 4,75$ , с ХАГ - в  $25,2 \pm 10,43$  и с ПЭ на фоне ХАГ - в  $23,1 \pm 10,9$  нед.

Протеинурия фиксировалась при РуПЭ в  $31,6 \pm 2,3$ , РтПЭ - в  $28,25 \pm 3,77$ , ПуПЭ - в  $35 \pm 2,47$ , ПтПЭ - в  $36,3 \pm 1,95$  и ПЭ на фоне ХАГ - в  $32,85 \pm 5,77$  нед.

Значения протеинурии в подгруппе с ПтПЭ были выше в сравнении с ПуПЭ (p=0,006). То же касалось и значений суточной протеинурии (p=0,006 в сравнении с ПуПЭ и p=0,036 в сравнении с ПЭ на фоне ХАГ).

Соотношение sFlt-1/ PlGF было самым высоким в подгруппе РтПЭ и статистически значимо различалось с подгруппами ПуПЭ, ПтПЭ, группами ГАГ и ХАГ (p<0,0001). В группе ХАГ соотношение маркеров было самым низким, и эта разница была достоверна при сравнении со всеми подгруппами и группами, кроме ГАГ (p=0,033- p<0,0001). В группе ГАГ данное соотношение было ниже, чем в подгруппе ПтПЭ (p=0,007) и группе ПЭ на фоне ХАГ (p=0,035).

Согласно результатам сравнительного анализа суточного мониторирования АД, частота нормального снижения ночного АД («диппер») была выше в группе ГАГ в сравнении с РтПЭ ( $p=0,003$ ), а также ПтПЭ и ПЭ на фоне ХАГ ( $p=0,024$ ). Частота недостаточного снижения АД в ночные часы («нон-диппер») была самой высокой в группах с тяжелой ПЭ, причем у пациенток с РтПЭ этот показатель был выше в сравнении с ГАГ ( $p=0,029$ ), а у пациенток с ПтПЭ - в сравнении с ПуПЭ ( $p=0,01$ ) и с ГАГ ( $p=0,005$ ). Пациентки-«найтпикеры» наблюдались исключительно среди РтПЭ (20%), ХАГ (10%) и ПЭ на фоне ХАГ (20%).

Средний срок родоразрешения пациенток с РуПЭ составил  $33,98 \pm 3,34$ , с РтПЭ -  $29,83 \pm 3,58$ , в с ПуПЭ -  $38,06 \pm 1,72$ , с ПтПЭ -  $37,51 \pm 1,44$ , с ГАГ -  $37,78 \pm 1,11$ , с ХАГ -  $37,59 \pm 2,35$ , с ПЭ на фоне ХАГ -  $34,18 \pm 4,14$  и в контрольной группе -  $39,38 \pm 1,04$  нед. Итак, наименьший срок родоразрешения наблюдался в подгруппе с РтПЭ ( $p=0,041$  в сравнении с РуПЭ ( $p<0,0001$  в сравнении с остальными группами).

Плановое родоразрешение чаще имело место среди пациенток с ПуПЭ ( $p=0,011$ ), ГАГ ( $p=0,004$ ) и ХАГ ( $p<0,0001$ ) в сравнении с ПтПЭ. Большинство женщин с ХАГ были родоразрешены планово в сравнении с пациентками с ПЭ на фоне ХАГ ( $p=0,002$ ). Ни одна из женщин из группы ранней ПЭ не была родоразрешена в плановом порядке, и различия были статистически значимыми при сравнении с остальными группами ( $p<0,0001$  -  $p=0,043$ ).

Для объективной оценки состояния новорожденных стоит отметить, что очень ранние ПР в сроке 22-27,6 нед были отмечены только у 5(25%) женщин с РтПЭ и у 3 (15%) женщин с ПЭ на фоне ХАГ. Ранние ПР в сроке 28-33,6 недель имели место у женщин с ранней ПЭ и с ПЭ на фоне ХАГ. ПР в 34-36,6 нед отмечались лишь при ранней и поздней ПЭ. Ни одна из женщин из группы ранней ПЭ не была родоразрешена в доношенном сроке в отличие от женщин с ГАГ, ХАГ и контрольной группы (табл.4). Частота своевременного родоразрешения в подгруппе ПтПЭ и группе ПЭ на фоне

ХАГ была ниже, чем в группах ГАГ ( $p=0,013$ ;  $p=0,002$ ), ХАГ ( $p=0,013$ ;  $p=0,002$ ) и контрольной ( $p<0,0001$ ).

Таблица 4 - Гестационные сроки родоразрешения у обследованных

	Подгруппы				Группы			
	IA (n=5)	IB (n=20)	IIA (n=20)	IIB (n=20)	III (n=20)	IV (n=20)	V (n=20)	VI (n=40)
Средний срок родов, нед.	33,98± 3,34	29,83± 3,58	38,06± 1,72	37,51± 1,44	37,78± 1,11	37,59± 2,35	34,18± 4,14	39,38± 1,04
*22 <sup>0</sup> -27 <sup>6</sup>	0 (0%)	5 (25%) <sup>1</sup>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (15%)	0 (0%)
*28 <sup>0</sup> -33 <sup>6</sup>	2 (40%) <sup>2,3</sup>	9 (45%) <sup>4</sup>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (30%) <sup>5,6</sup>	0 (0%)
*34 <sup>0</sup> -36 <sup>6</sup>	3 (60%) <sup>7</sup>	6 (30%) <sup>8,9</sup>	3 (15%)	7 (35%) <sup>10,11</sup>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
≥ 37 <sup>0</sup>	0 (0%) <sup>12,13</sup>	0 (0%) <sup>14</sup>	17 (85%)	13 (65%) <sup>15,16</sup>	20 (100%)	20 (100%)	11 (55%) <sup>17</sup>	40 (100%)

<sup>1,2</sup>  $p<0,01$  против VI (контроль)

<sup>3</sup>  $p<0,05$  против IIA (ПуПЭ), IIB (ПтПЭ), III (ГАГ), IV (ХАГ), VI (контроль)

<sup>4</sup>  $p<0,01$  против IIA (ПуПЭ), IIB (ПтПЭ), III (ГАГ), IV (ХАГ), VI (контроль)

<sup>5</sup>  $p<0,01$  против IIB (ПтПЭ) и VI (контроль)

<sup>6</sup>  $p<0,05$  против IIA (ПуПЭ), III (ГАГ) и IV (ХАГ)

<sup>7</sup>  $p<0,01$  против III (ГАГ), IV (ХАГ), V (ПЭ на фоне ХАГ), VI (контроль)

<sup>8,10,15</sup>  $p<0,01$  против VI (контроль)

<sup>9,11</sup>  $p<0,05$  против III (ГАГ), IV (ХАГ) и V (ПЭ на фоне ХАГ)

<sup>12</sup>  $p<0,01$  против IIA (ПуПЭ), III (ГАГ), IV (ХАГ) и VI (контроль)

<sup>13</sup>  $p<0,05$  против IIB (ПтПЭ)

<sup>14</sup>  $p<0,01$  против IIA (ПуПЭ), IIB (ПтПЭ), III (ГАГ), IV (ХАГ), V (ПЭ на фоне ХАГ) и VI (контроль)

<sup>16</sup>  $p<0,05$  против III (ГАГ) и IV (ХАГ)

<sup>17</sup>  $p<0,05$  против III (ГАГ), IV (ХАГ) и VI (контроль)

Масса тела новорожденного была самой низкой в группах ранней ПЭ. В подгруппе ПтПЭ и группе ПЭ на фоне ХАГ масса новорожденного была ниже в сравнении с ПуПЭ ( $p=0,002$  и  $p=0,001$ , соответственно), ГАГ ( $p=0,004$ ) и ХАГ ( $p=0,023$  и  $p=0,009$ , соответственно).

Частота рождения детей с СЗРП была наибольшей в подгруппе РтПЭ (60%), что отразилось в статистически значимых различиях с остальными группами, кроме подгруппы РуПЭ ( $p<0,0001$  –  $p=0,036$ ). В группе с ПтПЭ частота СЗРП равнялась 40%, что было выше, чем в группе ХАГ ( $p=0,034$ ).

Обращает на себя внимание высокая частота осложнений раннего неонатального периода в группах с ранней ПЭ и ПЭ на фоне ХАГ (РДС, врожденная пневмония, ВЖК).

Ранняя неонатальная смерть была зарегистрирована в двух группах при экстремально раннем родоразрешении: РтПЭ и ПЭ на фоне ХАГ - по два случая. Все остальные дети после 2 этапа выхаживания были выписаны домой.

У всех пациенток с ГАГ АД нормализовалось в течение первой недели после родов в сравнении с другими родильницами ( $p < 0,0001$  –  $p = 0,043$ ). У половины женщин с ПуПЭ также произошла нормализация АД, что было достоверно чаще, чем у пациенток с ПЭ на фоне ХАГ ( $p = 0,043$ ). Отсутствие нормализации АД спустя 6 недель после родоразрешения наблюдалось среди пациенток с РтПЭ, ПтПЭ и с ХАГ (10-25%).

Сравнительный анализ пациенток, прошедших комбинированный скрининг I триместра

На II этапе данной работы был проведен проспективный анализ 42 беременных. Пациенты были разделены на 2 группы: в VIA группу вошли 20 здоровых пациенток с физиологическим течением данной беременности, у которых по результатам комбинированного скрининга риск развития ПЭ до 34 или до 37 недель составил  $< 1:150$  (контрольная группа); в VII группу были включены 22 женщины с высоким риском развития ПЭ ( $\geq 1:150$ ). Средний риск развития ПЭ в группе высокого риска составил 1:174 для ранней и 1:43 – для поздней ПЭ, что было выше при сравнении с результатами в контрольной группе: 1:13105 и 1:2422, соответственно ( $p < 0,0001$ ). Важно отметить, что у 17 из 22 указанных женщин имелись факторы риска, значимо повышающие вероятность развития ПЭ: ПЭ в анамнезе ( $n=15$ ), ХАГ ( $n=7$ ), врожденные тромбофилии высокого риска ( $n=1$ ). В группе высокого риска аспирин (100 мг) получали 14 пациенток (63%).



Сравнительный анализ не выявил статистически значимых различий в среднем возрасте, ИМТ, частоте экстрагенитальных и гинекологических заболеваний между группами.

У 6 (31,8%) женщин из группы высокого риска чаще были отмечены ятрогенные преждевременные роды в анамнезе, в основном связанные с развитием тяжелой ПЭ ( $p=0,037$ ). В данной группе частота ПЭ в анамнезе также была выше в сравнении с контролем ( $p<0,0001$ ).

Течение беременности в первом триместре статистически значимо не различалось между группами. В группе высокого риска во 2 триместре повышение АД было зафиксировано у 6 пациенток (27,3% против 0% в контрольной группе,  $p=0,037$ ), а в 3 триместре у 6 женщин была отмечена клинически значимая протеинурия (30% против 0% в группе низкого риска,  $p=0,02$ ).

Неосложненное течение беременности имело место у всех пациенток группы низкого риска против 9 женщин в группе высокого риска ПЭ ( $p<0,0001$ ), в которой отмечалась высокая частота неблагоприятных исходов беременности: неразвивающаяся беременность - у 2 (9%) женщин, антенатальная гибель плода - у 1 (4,5%), СЗРП развился у 2 (9%) пациенток, ГАГ - у 3 (13,7%), ПЭ - у 7 (31,8%,  $p=0,019$ ), вращение - у 1 (4,5%).

Сроки родоразрешения в группе высокого риска были меньше и составили  $36,87\pm 3,17$  против  $39,52\pm 0,95$  нед в группе низкого риска ( $p<0,0001$ ).

Сравнительный анализ не продемонстрировал достоверных различий в частоте своевременных родов, которая, однако, была ниже в группе высокого риска в сравнении с контрольной (70% против 100%).

Масса тела при рождении в группе высокого риска была статистически значимо меньше, чем в контрольной группе и составила  $2769,24\pm 753,4$  и  $3420,14\pm 316,38$ , соответственно ( $p<0,0001$ ). Более того, в группе высокого риска 6 (30%) детей были рождены недоношенными, что значимо чаще в сравнении с контролем ( $p=0,027$ ).

## Пептидомный анализ мочи

Нами были выделены пептиды, уровень которых в моче достоверно различает ХАГ (16 пептидов) и ГАГ (15 пептидов). Данные пептиды оказались в основном фрагментами коллагена, уромодулина и фибриногена.

На рисунке 1 показано распределение наиболее значимых 312 выявленных пептидов по группам, в которых они присутствуют. В центре диаграммы - ядро распределения пептидов, присутствующих во всех группах, оно состоит по большей части (128 из 140) из фрагментов различных коллагенов. При этом 12 пептидов встречаются только в группах ПЭ и ПЭ на фоне ХАГ: 1 фрагмент коллагена, 1 фрагмент фибриногена, 1 фрагмент альфа-2-HS-гликопротеина и 9 фрагментов альфа-1-антитрипсина.

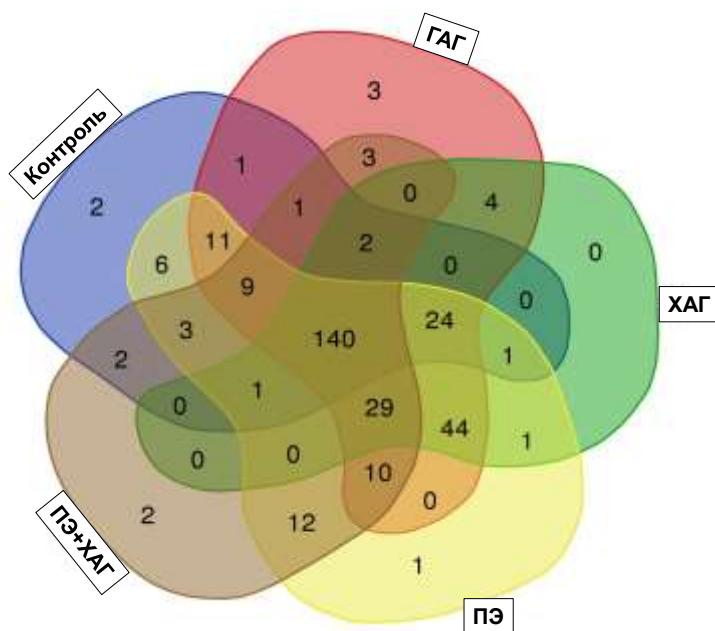


Рисунок 1. Диаграмма Вена по распределению 312 пептидов мочи, наиболее значительно различающихся в группах беременных. По данным сравнения средних значений пептидов по тесту Краскела-Уолисса ( $p < 0,05$ ).

В результате сравнительного анализа пептидного состава мочи пациенток с умеренной, тяжелой ПЭ и с физиологически протекающей беременностью были получены 35 пептидов, с высокой степенью достоверности выделяющие группу ПЭ от контрольной группы. Данные пептиды являются в основном фрагментами  $\alpha$ -цепи коллагена I и III типов,  $\alpha$ -

1-антитрипсина, а также уромулина. Уровни этих пептидов достоверно повышены в группе тяжелой ПЭ в сравнении с умеренной ПЭ и контролем, что позволяет со 100% диагностической значимостью дифференцировать тяжелую ПЭ. Поиск по онтологиям для этих белков показал, что наибольшим изменениям при тяжелой ПЭ подвержены процессы организации межклеточного матрикса (в частности, сборка коллагеновых фибрилл), коагуляции (активация тромбоцитов), гемостаза, ответа на стресс, метаболизма коллагена, гуморальной регуляции.

Особый интерес в изучении ПЭ представляет белок альфа-1-антитрипсин (SERPINA1) и его специфический лизис. Для группы ПЭ характерно наличие пептидов данного белка, причем при тяжелой ПЭ их уровень значительно возрастает.

Для оценки параметров чувствительности и специфичности идентифицированной панели маркерных для ПЭ пептидов была построена ROC-кривая (рис. 2). Площадь под ней, AUC (area under curve), составила 0,955, что соответствует значениям чувствительности - 93% и специфичности - 91%.

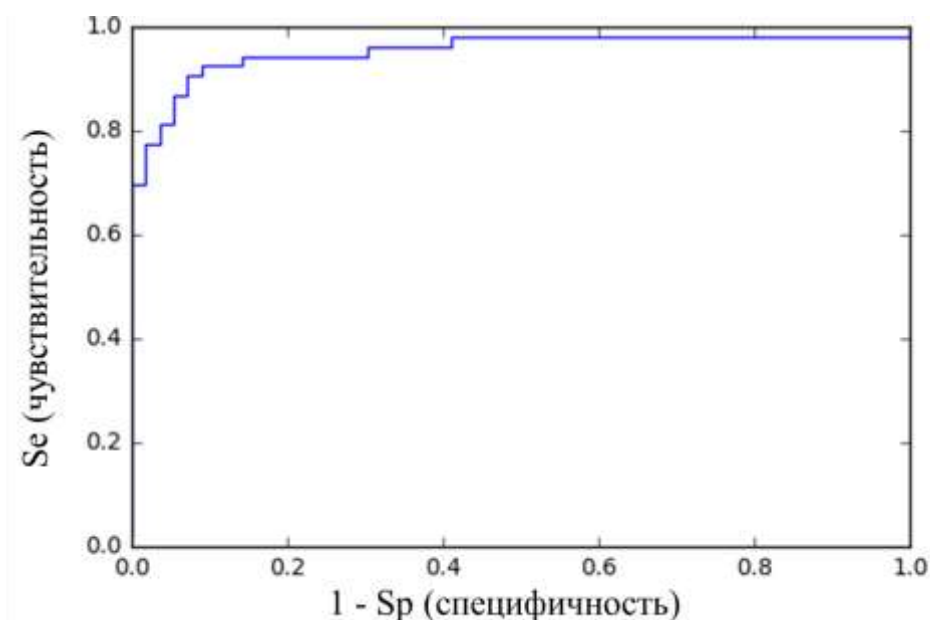


Рисунок 2. ROC-кривая зависимости чувствительности и специфичности модели, отличающей пациенток с ПЭ.

Последующий анализ сопоставил данные ROC-кривых для сывороточных маркеров преэклампсии: sFlt-1, PlGF и отношение их концентраций, и нашей модели (Peps\_PLS), оцененной с кросс-валидацией (рис. 3). Были продемонстрированы лучшие показатели чувствительности и специфичности разработанной модели (AUC 0,824 против AUC 0,637 для соотношения sFlt-1/PlGF).

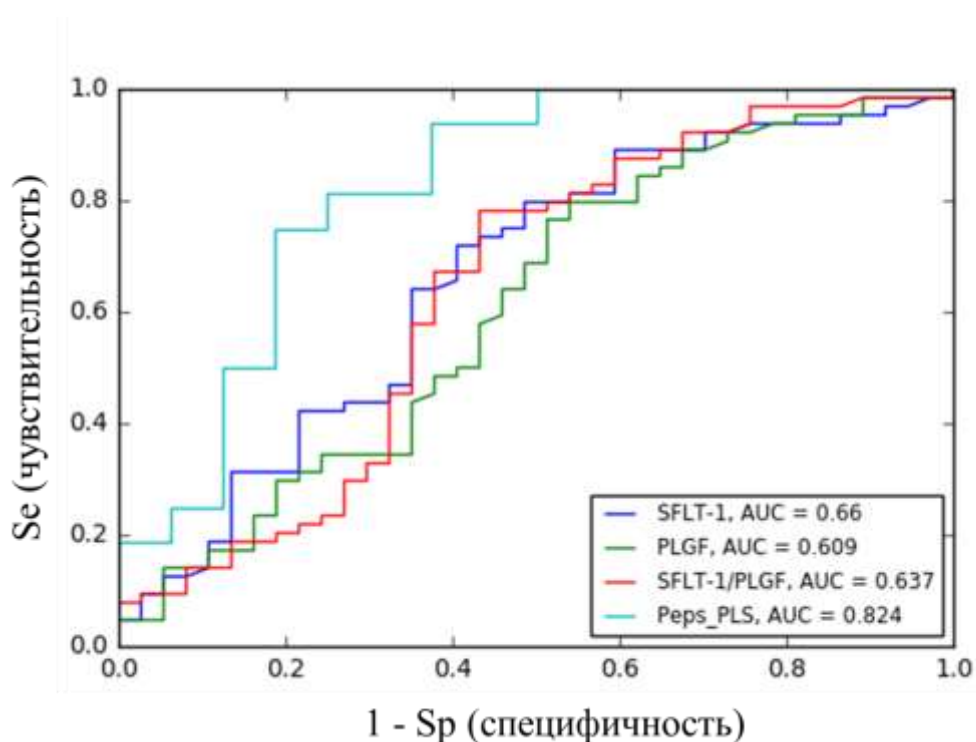


Рисунок 3. ROC-кривые зависимости чувствительности и специфичности различных методов диагностики ПЭ.

Полученные пептидомные данные позволили разработать алгоритм ведения пациенток с ГРБ, представленный в приложении 1.

В дальнейшем на основании идентифицированной панели пептидов, специфичных для ПЭ, была предпринята попытка ее прогнозирования в группе пациенток высокого риска. Был проведен анализ пептидома мочи в динамике в 11-13 нед., 16-18 нед., 20-24 нед. и 30-34 нед. беременности. Начиная с 20-й недели, применение разработанной математической модели по результатам анализа пептидома мочи позволило достигнуть 80% чувствительности и 100% специфичности; на 30 неделе – 100% и 84%, соответственно. Однако объединение результатов скрининга I триместра и

пептидомного анализа мочи не улучшает данные показатели. В таблице 5 дополнительно приведены чувствительность и специфичность комбинации комплексного классификатора (КК) и риска, рассчитанного на скрининге I триместра.

Таблица 5 - Чувствительность и специфичность скрининга 1 триместра и КК

	Риск на скрининге	КК (11 неделя)	КК (16 неделя)	КК (20 неделя)	КК (30 неделя)	КК (20 нед) +риск	КК (30 нед) +риск
Чувствительность	100%	0%	0%	80%	100%	83%	100%
Специфичность	61%	100%	100%	100%	84%	76%	68%

В результате анализа клинико-анамнестических характеристик и данных динамического пептидомного исследования мочи был разработан алгоритм ведения беременности в группе женщин высокого риска ПЭ (приложение 2).

## ВЫВОДЫ

1. Преэклампсия – гетерогенный синдром, для которого характерны непредсказуемость клинического течения и исходов беременности. Ранняя ПЭ в 80% случаев характеризуется тяжелым течением, ранняя умеренная ПЭ встречается в 20%, что объясняется быстрым прогрессированием в тяжелую форму. Максимальные значения протеинурии отмечались при поздней тяжелой ПЭ. ПЭ на фоне ХАГ характеризуется тяжелым течением, что в 45% является показанием к досрочному (до 34 нед) родоразрешению.

2. В группах ранней тяжелой ПЭ, ХАГ и ПЭ на фоне ХАГ ПЭ в анамнезе встречалась достоверно чаще (40%, 35% и 35%, соответственно).

3. Синдром задержки роста плода ассоциируется с тяжелой формой ПЭ. Так, частота СЗРП при ранней тяжелой ПЭ составила 60%, при поздней тяжелой ПЭ-40%, при ПЭ на фоне ХАГ-35%.

4. Соотношение sFlt-1/PlGF было самым высоким в подгруппе ранней тяжелой ПЭ. Эти изменения, по-видимому, свидетельствуют о более выраженных плацентарных нарушениях в данной группе женщин. В группах

ХАГ и ГАГ этот показатель был самым низким. Можно предположить, что адаптация гемодинамических показателей была наиболее сохранной в группе пациенток с ГАГ, в которой наблюдалась наибольшая частота «дипперов», согласно показателям СМАД

5. Для ПЭ и ПЭ на фоне ХАГ специфичны 12 пептидов. Чувствительность и специфичность выявленной пептидной панели составила 93 и 91%%. При этом подгруппа из 6 пептидов - фрагментов  $\alpha$ -1-антитрипсина и коллагенов (I и III типов), а также уромодулина, позволяет со 100% диагностической значимостью идентифицировать развитие тяжелой ПЭ. Уровень пептидов SERPINA1 коррелирует со степенью тяжести ПЭ.

6. Проведение пептидомного анализа мочи в динамике способствует прогнозированию ПЭ и доклинической детекции развития ПЭ у пациенток с ГАГ или ХАГ.

7. Динамическое исследование пептидомного анализа мочи позволяет заблаговременно фиксировать тенденцию к нарастанию тяжести клинической симптоматики ПЭ. Идентификация женщин, у которых разовьется картина тяжелой ПЭ, способствует оптимизации сроков родоразрешения в целях предупреждения серьезных осложнений ПЭ (эклампсия, преждевременная отслойка плаценты, HELLP-синдром).

8. Динамический пептидомный анализ мочи с 20 недели имеет высокую чувствительность и специфичность в прогнозировании преэклампсии и может быть включен в алгоритм предикции ПЭ наряду с комбинированным скринингом I триместра.

#### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При оценке клиничко-анамнестических факторов риска с акцентом на перенесенную ПЭ целесообразно выделить группу женщин для тщательного мониторинга с ранних сроков беременности с целью профилактики неблагоприятных исходов (потерь беременности, гипертензивных осложнений, СЗРП)

2. Учитывая, что среди гипертензивных расстройств беременных наиболее тяжелыми в плане исходов для женщины и новорожденного являются ранняя и поздняя тяжелая преэклампсия и преэклампсия на фоне ХАГ, рекомендуется направлять таких беременных в лечебно-профилактические учреждения 3 группы.

3. При наличии или развитии гипертензивного нарушения у беременной рекомендуется проведение серии повторных анализов пептидома мочи в целях доклинической диагностики ПЭ

4. При развитии симптомов ПЭ следует проводить пептидомный анализ мочи в динамике для выявления тенденции к нарастанию тяжести ПЭ

5. С целью оптимизации результатов скрининга I триместра целесообразно его проведение в 3 этапа:

(1) Подробная оценка материнских факторов риска развития ПЭ (ПЭ в анамнезе, ХАГ, врожденные тромбофилии высокого риска и т.д.)

(2) При наличии материнских факторов риска рекомендуется проведение комбинированного скрининга в 11-13 недель с обязательным измерением АД и оценкой пульсационного индекса в маточных артериях

(3) При выявлении высокого риска ПЭ ( $\geq 1:150$ ) рекомендуется проведение пептидомного исследования мочи в 20 нед беременности

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Молекулярные детерминанты развития ранней и поздней преэклампсии / Ходжаева З.С., Акатьева А.С., Холин А.М., Сафонова А.Д., Вавина О.В., **Муминова К.Т.** // **Акушерство и гинекология.**- 2014. - № 6. - С. 14-19.

2. Clinical and pathogenetic features of early and late onset preeclampsia / Khodzhaeva Z.S., Kogan E.A., Shmakov R.G., Klimenchenko N.I., Akatyeva A.S., Vavina O.V., Kholin A.M., **Muminova K.T.**, Sukhikh G.T. // *Journal of Maternal, Fetal & Neonatal Medicine.* - 2016. - Vol. 29, №18. - P. 2980-2986.

3. An untargeted approach for the analysis of the urine peptidome of women with preeclampsia / A.S. Kononikhin, N.L. Starodubtseva, A.E. Bugrova, V.A. Shirokova, V.V. Chagovets, M.I. Indeykina, I.A. Popov, Y.I. Kostyukevich, O.V. Vavina, **K.T. Muminova**, Z.S. Khodzhaeva, N.E. Kan, V.E. Frankevich, E.N. Nikolaev, G.T. Sukhikh // *Journal of Proteomics*. - 2016. - №149. - P. 38-43.
4. Urine peptidome study for preeclampsia diagnosis / **K.T. Muminova**, A.S. Kononikhin, N.L. Starodubtseva, A.E. Bugrova, Z.S. Khodzhaeva, O.V. Vavina, G.T. Sukhikh // *European board & College of Obstetrics and Gynecology (Torino, Italy,2016) // European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*.- 2016. - № 206. - P.171.
5. Поиск новых маркеров преэклампсии / **Муминова К.Т.**, Вавина О.В., Полушкина Е.С., Иванец Т.Ю., Беззубенко Ю.В., Строкова С.О., Шмаков Р.Г., Ходжаева З.С. // **Акушерство и гинекология**. - 2016. - № 7. - С. 41-45.
6. Прогнозирование преэклампсии в первом триместре беременности: валидация алгоритмов скрининга на российской популяции / Холин А.М., **Муминова К.Т.**, Балашов И.С., Ходжаева З.С., Боровиков П.И., Иванец Т.Ю., Гус А.И. // **Акушерство и гинекология**. – 2017. - № 8. - С. 74-84.
7. Клинико-лабораторная оценка состояния митохондрий плаценты при тяжелой преэклампсии/Ходжаева З.С., Вавина О.В., Вишнякова П.А., **Муминова К.Т.**, Тарасова Н.В., Высоких М.Ю., Сухих Г.Т. // **Акушерство и гинекология**. - 2017. - № 9. - С. 72-76.
8. Особенности пептидома мочи при гипертензивных патологиях беременных / Сергеева В.А., **Муминова К.Т.**, Стародубцева Н.Л., Кононихин А.С., Бугрова А.Е., Индейкина М.И., Байбакова В.В., Ходжаева З.С., Кан Н.Е., Франкевич В.Е., Шмаков Р.Г., Николаев Е.Н., Сухих Г.Т. // **Биомедицинская химия**. - 2017. - Т. 63, № 5. - С. 379-384.



9. Ацетилсалициловая кислота в профилактике преэклампсии и ассоциированных акушерских и перинатальных осложнений / Ходжаева З.С., Холин А.М., Чулков В.С., **Муминова К.Т.** // **Акушерство и гинекология.** - 2018. - №8. - С. 12-19.

10. Возможности неинвазивных постгеномных технологий в прогнозировании и ранней диагностике преэклампсии / **Муминова К.Т.** // **Акушерство и гинекология.** - 2018. - №5. - С. 5-10.

11. Дифференциальная диагностика преэклампсии на фоне других гипертензивных нарушений во время беременности с помощью анализа пептидомного профиля мочи / **Муминова К.Т.**, Кононихин А.С., Ходжаева З.С., Шмаков Р.Г., Сергеева В.А., Бугрова А.Е., Индейкина М.И., Стародубцева Н.Л., Франкевич В.Е., Николаев Е.Н., Кан Н.Е., Сухих Г.Т. // **Акушерство и гинекология.** - 2018. - №8. - С.66-75.

12. Прогнозирование преэклампсии в первом триместре на основе клинико-anamnestических факторов, биомаркеров и 3D-энергетической доплеровской оценки васкуляризации плацентарного ложа / Холин А.М., **Муминова К.Т.**, Нагоев Т.М., Ходжаева З.С., Гус А.И. // **Акушерство и гинекология.** - 2018. - №8. - С.56-66.

Приложение 1

Алгоритм ведения пациенток с гипертензивными расстройствами во время беременности



Приложение 2

Алгоритм ведения беременности в группе женщин высокого риска ПЭ

