

На правах рукописи



Морозова Екатерина Андреевна

**Клинические и молекулярно-генетические особенности развития
преэклампсии на основании анализа транскриптома плаценты**

3.1.4. Акушерство и гинекология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2025

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Никитина Наталья Александровна

Официальные оппоненты:

Цахилова Светлана Григорьевна - доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины Института клинической медицины им. Н.А. Семашко, профессор кафедры

Апресян Сергей Владиславович - доктор медицинских наук, доцент, Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, кафедра акушерства и гинекологии, профессор кафедры

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии имени академика В.И. Краснопольского»

Защита диссертации состоится «30» июня 2025 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.28 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1) и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан « » _____ 2025 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета ДСУ 208.001.28
доктор медицинских наук., профессор

Семиков Василий Иванович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Клиническая значимость преэклампсии (ПЭ) обусловлена ее значимым вкладом в структуру материнской и перинатальной заболеваемости и смертности [Филиппов О. С. и соавт., 2020; Сидорова И. С. и соавт., 2021].

Этиологические факторы и механизмы этих нарушений на сегодняшний день остаются не вполне ясны. При этом четкая верификация факторов, способствующих инициированию и прогрессированию данного осложнения беременности, является ключевой задачей для стратификации риска и имеет решающее значение для понимания патофизиологических механизмов и путей взаимодействия матери и плода. Однако, ни один из изученных на сегодняшний день биомаркеров не может служить надежным предиктором развития ПЭ, предложенные модели и алгоритмы не имеют необходимой прогностической и диагностической точности [Stepan H. et al., 2020].

В настоящее время большинство авторов придерживается 2-этапной модели развития ПЭ – плацентарный (доклинический) и материнский этапы. Кроме того, выделяют раннюю и позднюю ПЭ с клинической манифестацией симптомов до или после 34 недель гестации. Ранняя ассоциирована с отсутствием адекватной перестройки маточно-плацентарных артерий, признаками плацентарной мальперфузии и высокой частотой задержки роста плода (ЗРП), поздняя - с дисфункцией материнской сердечно-сосудистой системы [Arbuzova S., 2023]. В то же время последние публикации постулируют [Redman C. W. G. et al., 2022], что аномальная плацентация на ранних сроках беременности (при ранней ПЭ) и неспособность плаценты поддерживать адекватное кровоснабжение на более поздних сроках (при поздней ПЭ) имеют общее конечное звено – «стресс» синцитиотрофобласта.

В связи с этим, возникла необходимость более глубокого и всестороннего исследования трофобласта плаценты с использованием инновационных высоко

производительных технологий, которые позволяют одновременно оценить весь спектр патофизиологических изменений при ПЭ на молекулярном уровне.

Одним из таких подходов является планируемый в данной диссертационной работе сравнительный анализ паттернов плацентарного транскриптома, специфичного для ПЭ, и свойственного нормальной беременности. Большая часть транскриптома человека (90%) состоит из некодирующих РНК [Veneziano D., 2015], которые являются регуляторами экспрессии генов. За последние 10 лет особый научный интерес вызывают малые РНК, участвующие в посттранскрипционной регуляции (микроРНК). Полногеномное профилирование транскриптома микроРНК плаценты обеспечивает беспристрастный подход к изучению нормальной физиологии беременности и патофизиологии плацентарных синдромов, включая ПЭ и задержку роста плода [Yong H. E. J. et al., 2020].

Степень разработанности темы исследования

Исследования последних десятилетий убедительно показывают важную роль микроРНК в развитие таких патологических процессов как эндотелиальная дисфункция, дисбаланс системы коагуляции, окислительный стресс, дисрегуляция иммунного ответа, системная воспалительная реакция, которые составляют патофизиологическую основу развития ПЭ [Redman C. W. G. et al., 2022].

Структурные особенности маточно-плацентарно-плодового комплекса создают единую коммуникативную систему, обеспечивающую возможность проникновения специфичных плацентарных «продуктов» как в материнский, так и в плодовый кровоток. Это обуславливает возможность обнаружения плаценто-специфичных микроРНК в различных биологических материалах [Guo D. et al., 2018; Гусар В.А. и соавт., 2019; Apicella C. et al., 2019; Miura K. et al., 2017; Murakami Y. et al., 2018; Juracek J. et al., 2019; Mas-Parés V. et al., 2019]. Считается, что выявление дифференцированной экспрессии микроРНК в плаценте и плазме

крови матери позволяет использовать эти молекулы в качестве прогностических и диагностических биомаркеров различных осложнений беременности.

Цель и задачи исследования

Оптимизация диагностики преэклампсии и прогнозирования исходов беременности при данном осложнении на основании анализа транскриптома микроРНК плаценты и патогенетически значимых микроРНК периферической крови беременных.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Провести сравнительный анализ клинико-анамнестических факторов, особенностей течения беременности, родов и послеродового периода, а также перинатальные исходы у беременных с ПЭ и с физиологическим течением беременности.

2. Изучить транскриптомный профиль микроРНК образцов плацентарной ткани при физиологической беременности и при ПЭ с выделением дифференциально экспрессируемых при ПЭ молекул.

3. Проанализировать уровни экспрессии дифференциально экспрессируемых при ПЭ плацентарных микроРНК в плазме крови пациенток с разными клиническими фенотипами ПЭ, ЗРП, а также у здоровых беременных с последующей оценкой их диагностической и прогностической значимости в отношении ПЭ и перинатальных исходов.

4. Усовершенствовать подходы к ранней диагностике и тактике ведения беременности, осложненной ПЭ, с учетом полученных клинических данных и определения патогенетически значимых микроРНК плазмы крови беременных.

Научная новизна

Изучены особенности транскриптома микроРНК плаценты у пациенток с разными клиническими фенотипами ПЭ и при физиологически протекающей беременности.

Продемонстрирована роль выделенных дифференциально экспрессированных при ПЭ плацентарных микроРНК в патогенезе ранней и поздней ПЭ. С использованием электронных баз данных выявлен большой спектр биологических процессов, вовлеченных в развитие и прогрессирование ПЭ. Проведен корреляционный анализ между уровнями дифференциально экспрессируемых при ПЭ плацентарных микроРНК и клиническими показателями, что позволило оценить патогенетическую значимость этих молекул в развитии клинических фенотипов ПЭ.

Показана возможность применения неинвазивного метода «жидкостной биопсии плаценты» с определением патогенетически значимых плацентарных микроРНК в плазме крови в качестве диагностических и прогностических биомаркеров для ранней диагностики ПЭ, а также для определения риска неблагоприятных перинатальных исходов у беременных с ПЭ.

Теоретическая и практическая значимость работы

На основании комплексной оценки анамнестических, клинических, лабораторных и инструментальных данных уточнены предикторы развития ранней и поздней ПЭ. Продемонстрированы отличительные клинические особенности течения и развития, разные материнские и перинатальные исходы при ранней и поздней ПЭ, что позволяет классифицировать ПЭ как минимум на два клинических фенотипа (ранний и поздний).

Изучение транскриптома плаценты и последующий анализ дифференциально экспрессируемых при ПЭ плацентарных микроРНК свидетельствует о вовлечении в патофизиологию ПЭ чрезвычайно широкого спектра биологических процессов, определяющих вариабельность клинической картины и развитие разных клинических фенотипов ПЭ.

Разработаны математические модели, позволяющие проводить раннюю диагностику ПЭ, а также прогнозировать неблагоприятные перинатальные исходы при ПЭ на основании определения патогенетически значимых микроРНК в плазме крови беременных. Полученные данные позволили

усовершенствовать тактику ведения беременных с ПЭ с момента появления одного из ее симптомов.

Методология и методы исследования

На I этапе проведен ретроспективный анализ 200 истории беременности и родов пациенток с ПЭ (n=100) и физиологически протекающей беременностью (n=100). Пациентки с диагнозом ПЭ были разделены на две подгруппы согласно сроку дебюта патологии: I подгруппу составили 35 женщин с ранней ПЭ, II подгруппу – 65 пациенток с поздней ПЭ. На II этапе было проведено одномоментное когортное рандомизированное исследование в параллельных группах пациенток с ПЭ (основная группа, n=20) и физиологическим течением беременности (контрольная группа, n=20). Изучен транскриптом микроРНК ткани плаценты методом глубокого секвенирования при разных клинических фенотипах ПЭ (ранней и поздней, сочетанной с ЗРП и без ЗРП). На III этапе проводился анализ микроРНК в плазме крови пациенток методом ПЦР в режиме реального времени. Анализ проводился у 20 здоровых беременных и 20 женщин с ПЭ, у которых исследовался транскриптом микроРНК плаценты, а также дополнительно набраны 20 здоровых беременных и 22 пациентки с ПЭ. Для уточнения специфической роли выявленных микроРНК в развитии плацентарных нарушений, набрана третья группа пациенток с ЗРП без ПЭ (группа сравнения, n=20). В диссертационном исследовании использовались следующие методы: стандартное клинико-диагностическое обследование, молекулярно-генетические методы, сравнительно-статистический анализ.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно проведен поиск, анализ и систематизация литературных данных по изучаемой проблематике, определены актуальность и дизайн исследования. В ходе ретроспективного исследования диссертант проводил выборку историй родов пациенток с ПЭ и здоровых женщин с физиологической беременностью, подготовил электронную базу, содержащую

сведения обо всех пациентках, и осуществил статический анализ данных. Автор лично принимал участие в ведении части пациенток от момента поступления до выписки/перевода из стационара, проводил забор биологического материала. Диссертантом произведены систематизация и анализ полученных результатов, выполнена их статистическая обработка, сформулированы выводы и практические рекомендации.

Положения, выносимые на защиту

1. Ранний и поздний фенотипы ПЭ отличаются по траекториям риска, выраженности и распространенности патологических нарушений, клиническим особенностям развития и прогрессирования, имеют разные материнские и перинатальные исходы, в связи с чем могут рассматриваться как два клинико-патогенетических варианта данного осложнения беременности.

2. ПЭ сопровождается значимыми изменениями транскриптома микроРНК плаценты, ассоциированных с большим числом сигнальных путей и биологических процессов. Различия микроРНОма плаценты при ранней и поздней ПЭ свидетельствуют о разных молекулярных механизмах их развития: при ранней ПЭ доминируют плацентарные нарушения с изменением экспрессии микроРНК, регулирующих рост и развитие плода, морфогенез и функционирование плаценты; при поздней ПЭ определяется дисбаланс микроРНК, ассоциированных с сердечно-сосудистыми, эндокринными заболеваниями и метаболическими нарушениями со вторичным повреждением плаценты.

3. Определение патогенетически значимых при ПЭ микроРНК в сыворотке крови беременных может использоваться в качестве неинвазивного метода исследования функционального статуса плаценты и прогнозирования неблагоприятных исходов беременности. Разработанные панели микроРНК, ассоциированных с плацентарной дисфункцией, кардиоваскулярными, цереброваскулярными и метаболическими нарушениями, обладают высокой диагностической и предиктивной ценностью в отношении ранней диагностики ПЭ и прогнозирования неблагоприятных перинатальных исходов.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1, 2, 3 и 4 научной специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология.

Степень достоверности и апробация результатов

Основные результаты исследования были представлены на XXII Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя» (2021 г., Москва), VI Всероссийской научно-практической конференции «Неотложные состояния в акушерстве» (2022 г., Москва), XXIX Всероссийском Конгрессе с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы» (2023 г., Москва), I Сеченовском международном форуме материнства и детства (2024 г., Москва).

Практические рекомендации, основанные на результатах исследования, используются в работе акушерских отделений. Материалы и результаты, полученные в ходе работы, используются в учебном процессе в виде практических занятий и лекций для клинических ординаторов, аспирантов.

Публикации по теме диссертации

По теме настоящего исследования опубликовано 6 научных работ, в том числе 4 научные статьи в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus, 2 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Структура и объем диссертации

Диссертационное исследование изложено на 226 страницах компьютерного текста, иллюстрировано 65 таблицами и 9 рисунками; включает введение, литературный обзор, главу «Клиническая характеристика обследованных пациенток, материалы и методы исследования», 3 главы, посвященные

результатам собственных исследований, обсуждение полученных результатов, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список литературы (содержит 316 источников, из которых 29 российских и 287 зарубежных).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Настоящее диссертационное исследование выполнялось в период 2020-2023 гг. на базе кафедры акушерства и гинекологии №1 ФГБУ МГМУ имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), МНИОИ имени П.А. Герцена и ФГАОУ ВО НИУ ВШЭ.

На I этапе исследования проведен ретроспективный анализ 200 историй беременности и родов пациенток, которые были родоразрешены в родильном доме №4 и родильном доме №17 (филиал №1 ГКБ им. В.В. Виноградова) в 2020-2023 годы. В основную группу включены пациентки с диагностированной ПЭ (n = 100): I подгруппу составили 35 женщин с ранней ПЭ (рПЭ), II подгруппу – 65 пациенток с поздней ПЭ (пПЭ). В контрольную группу включены относительно здоровые женщины с физиологическим течением беременности и родов (n = 100).

Критериями включения являлись: возраст от 18 до 45 лет, одноплодная беременность, наличие ПЭ (для основной группы), физиологическое течение беременности и родов (для контрольной группы). Критерии невключения: возраст младше 18 лет и старше 45 лет, декомпенсированные формы экстрагенитальной патологии, инфекционно-воспалительные заболевания в фазе обострения, многоплодная беременность, беременность, наступившая в результате вспомогательных репродуктивных технологий.

Для более глубокого изучения молекулярных механизмов развития ПЭ на II этапе было проведено одномоментное когортное рандомизированное исследование в параллельных группах пациенток с ПЭ (I группа - основная, n=20) и физиологическим течением беременности (II группа - контрольная, n=20): изучен транскриптом микроРНК ткани плаценты методом глубокого

секвенирования (NGS) при разных клинических фенотипах ПЭ (ранней и поздней, сочетанной с ЗРП и без ЗРП). Критерии включения в основную и контрольную группу, критерии невключения аналогичны предыдущему этапу. Все пациентки были проинформированы относительно цели и задач данного научного исследования, и дали свое письменное согласие на участие в нем.

На III этапе проводился анализ микроРНК в плазме крови пациенток методом ПЦР в режиме реального времени: определялся уровень экспрессии дифференциально экспрессируемых при ПЭ плацентарных микроРНК, выявленных на предыдущем этапе, а также, дополнительно определены микроРНК, ассоциированные с сердечно-сосудистыми и цереброваскулярными заболеваниями. Анализ проводился у 20 здоровых беременных и 20 женщин с ПЭ, у которых исследовался транскриптом микроРНК плаценты, а также дополнительно набраны 20 здоровых беременных и 22 пациентки с ПЭ. Для уточнения специфической роли выявленных микроРНК в развитии плацентарных нарушений, набрана III группа пациенток с ЗРП без ПЭ – группа сравнения (n=20).

Критерии включения в основную и контрольную группу, критерии невключения аналогичны предыдущим этапам. Критерии включения пациенток в группу сравнения включали: возраст от 18 до 45 лет, одноплодная беременность в сроки гестации от 22 до 42 нед, наличие ЗРП, подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Всем пациенткам, включенным в исследование, проводились стандартные методы исследования. Специальные методы исследования включали: глубокое секвенирование плацентарных микроРНК плаценты на платформе Illumina NextSeq (NGS), также определение уровней экспрессии микроРНК в плазме материнской крови методом ПЦР-RT. Анализ сигнальных путей и биологических процессов проводился с помощью баз данных DIANA miRPath v.4.0 [<http://www.microrna.gr/miRPathv4>] и KEGG («Kyoto encyclopedia of genes and genome») [<https://www.genome.jp/>].

Статистическую обработку данных осуществлялась на персональном компьютере с использованием программ SPSS 26 и Statistica 12. Для создания математической модели применяли метод логистической регрессии. Оценку качества полученной модели проводили с помощью ROC-анализа. Анализ значимости различий уровней экспрессии исследуемых микроРНК в группах сравнения выполнен с использованием двухстороннего теста Вилкоксона–Манна–Уитни. Порогом статистической значимости считали $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ретроспективный анализ особенностей развития и течения ранней и поздней преэклампсии

Пациентки в группах рПЭ и пПЭ были статистически значимо старше по возрасту по сравнению со здоровыми беременными ($p=0,017$ и $p=0,001$ соответственно). Так, средний возраст пациенток с ранним дебютом составил 34,00 (28,0; 36,0) год, с поздним дебютом - 35,5 (27,0; 36,5) года, с неосложнённым течением беременности - 28,0 (24,0; 32,0) лет. Индекс массы тела (ИМТ) у женщин с ПЭ в целом значимо превышал аналогичный показатель в группе женщин с физиологическим течением беременности ($p < 0,001$) и в среднем составил для группы рПЭ - 31,0 (28,8-33,9) кг/м², для группы пПЭ - 32,9 (27,2; 34,88) кг/м².

У большинства женщин, чья беременность была осложнена ранней ПЭ, четко прослеживался семейный характер кардиоваскулярных и аутоиммунных нарушений, что указывает на существенный вклад наследственного фактора в развитие данного осложнения беременности: у пациенток с ранней ПЭ в семейном анамнезе в 20 раз чаще регистрировались заболевания сердечно-сосудистой системы, в 10 раз чаще – тромбозы различной локализации по отношению к группе женщин с поздним дебютом ПЭ.

Неосложненный соматический анамнез (в соответствии с критериями включения в исследование) значимо чаще регистрировался в контрольной группе (84% против 31% соответственно, $p < 0,001$). В группах рПЭ и пПЭ по отношению к группе контроля значимо чаще встречались ХАГ – 6/35 (17,1%) и 4/65 (6,2%),

варикозная болезнь нижних конечностей – 4/35 (11,4%) и 4/65 (6,2%), хронический тонзиллит – 10/35 (28,6%) и 13/65 (20,0%), хронический бронхит – 3/35 (8,6%) и 7/65 (10,8%), хронический пиелонефрит – 7/35 (20,0%) и 6/65 (9,2%), ожирение – 6 (17,1%) и 36 (55,4%) и сахарный диабет – 7/35 (20,0%) и 12/65 (18,5%) соответственно. В группе женщин с ранним дебютом ПЭ статистически значимо чаще имели место хронический гастрит – 3/35 (8,6%), гипотиреоз – 3/35 (8,6%), аутоиммунный тиреоидит – 2/35 (5,7%) по сравнению с группой неосложненного течения беременности. Среди пациенток с поздним фенотипом ПЭ по сравнению с рПЭ чаще были зафиксированы избыточная масса тела и ожирение – у 17 (26,2%) и 36 (55,4%) соответственно.

Анализ репродуктивного анамнеза женщин с ПЭ показал, что перенесенные во время предыдущей беременности такие осложнения как ПЭ, эклампсия, ЗРП, невынашивание беременности, HELLP-синдром, также могут рассматриваться в качестве факторов высокого риска развития ПЭ в данной беременности [Mastrolia S.A. et al., 2020]. Так, у повторнородящих пациенток с ранней ПЭ значимо чаще регистрировалась ПЭ во время предыдущей беременности (23,5% против 2,3% в группе пПЭ), а также ЗРП и гипотрофия новорожденного (11,4% против 2,3% в группе пПЭ), что согласуется с опубликованными данными отечественных и зарубежных авторов [Liu X., 2021; Robillard P.-Y. et al., 2021].

Анализ особенностей течения настоящей беременности в группах пациенток с разными фенотипами ПЭ позволил отметить следующее. На протяжении II и III триместров беременности, как в группе с ранним, так и поздним дебютом ПЭ, зарегистрированы гемодинамические нарушения в сосудах системы мать-плацента-плод, что указывает на важное значение плацентарной дисфункции в патогенезе ПЭ. Кроме того, течение II и III триместра в данной группе чаще осложнялось предлежанием плаценты, угрозой прерывания беременности, маловодием и ЗРП.

Из 35 беременных с ранней манифестацией ПЭ у 32 (91,4%) была диагностирована тяжелая форма ПЭ. Степень тяжести поздней ПЭ у 62 из 65 женщин (95,3%) была умеренная. Так, в случае ранней ПЭ значимо чаще имела

место тяжелая артериальная гипертензия – у 20% при отсутствии таковой в группе пПЭ, выраженная протеинурия – у 45,7% (по сравнению с 7,7% при пПЭ), анасарка - у 34,2% (по сравнению с 4,6% при пПЭ), олигурия - у 31,4 % (по сравнению с 6,2% при пПЭ). Только при раннем дебюте ПЭ зарегистрированы такие осложнения как эклампсия (5,7%), HELLP-синдром (2,9%), острая почечная недостаточность (2,9%), преждевременная отслойка плаценты (2,9%). Полученные нами результаты согласуются с опубликованными данными, где авторами отмечено более неблагоприятное течение беременности, осложненной ранней ПЭ, по сравнению с ее поздним фенотипом [Wadhvani P., et. al., 2020].

Как при ранней, так и при поздней ПЭ первыми клиническими симптомами чаще всего регистрировались патологическая прибавка веса и отеки - у 51,4% и 64,6% соответственно. Данный факт свидетельствует о необходимости усовершенствования подходов к ранней диагностике и прогнозированию развития ПЭ уже с момента появления первых клинических симптомов.

Получены данные о значимом повышении уровня креатинина в моче у пациенток с ранним дебютом ПЭ по сравнению с беременными группы поздней ПЭ (114 (54,5;181,5) мкмоль/л против 97 (50,0;112,2) мкмоль/л соответственно, ($p=0,021$)). Также, в случае ранней манифестации ПЭ чаще имела место печеночная дисфункция: регистрировались более высокие значения ЛДГ и ЩФ в группе ранней ПЭ (293 (234;469) ЕД/л против 235 (196;293) ЕД/л при поздней ПЭ, $p=0,03$ и 200,5 (121,65;273,25) ЕД/л против 164,8 (134,3;225,75 в пПЭ, $p=0,03$ соответственно).

Клинические особенности развития и течения ПЭ в группах с ранней и поздней манифестацией симптомов оказывают влияние на сроки и особенности родоразрешения. Так, в нашем исследовании 65,7% пациенток группы рПЭ были родоразрешены путем экстренного кесарева сечения, в то время как аналогичный показатель в группе пПЭ составил – 4,6% ($p<0,001$). Опубликованные данные свидетельствуют, что оперативное родоразрешение при ранней форме ПЭ проводится в 60-90% случаев [Нургалиева А. Н. и соавт., 2021; Lu С. Q. et al., 2018]. В случае дебюта ПЭ после 34 недель в большинстве случаев

родоразрешение произошло своевременно с рождением детей с нормальными антропометрическими показателями, что согласуется с результатами других исследований [Wojtowicz A. et al., 2019; Akurati L. et al., 2018].

Согласно проведенному нами анализу, общая неонатальная заболеваемость ожидаемо выше была у пациенток группы рПЭ по сравнению с пациентками пПЭ (42,9% против 12,3% соответственно, $p < 0,001$). Значимые различия в группе рПЭ по сравнению с пПЭ выявлены в отношении частоты регистрации маловесного для гестационного возраста плода (51,4% против 4,6%, $p = 0,036$), церебральной депрессии (31,4% против 10,8%, $p = 0,011$) и РДС-синдрома (31,4% против 1,5%, $p < 0,001$). Кроме того, 40% новорожденным из группы рПЭ потребовалось лечение в отделении интенсивной терапии и реанимации, 31,4% были переведены на второй этап выхаживания.

Таким образом, ранний и поздний фенотипы ПЭ имеют несколько отличающиеся траектории риска. Для ранней ПЭ характерны более тяжелое, часто быстро прогрессирующее течение, раннее появление признаков плацентарной дисфункции, высокая частота неблагоприятных перинатальных исходов, что связано с длительностью и выраженностью нарушений как в фето-плацентарной системе, так и в организме матери. Поздняя ПЭ по степени тяжести как правило умеренная, реже сопровождается гемодинамическими нарушениями в сосудах фето-плацентарной системы и ЗРП, имеет благоприятные материнские и перинатальные исходы.

На основании проведенного всестороннего анализа клинико-анамнестических факторов нами разработаны математические модели предикции ранней и поздней ПЭ. Прогностическая модель развития ранней ПЭ, включающая возраст старше 35 лет, ПЭ в предыдущие беременности, ожирение, ХАГ, прегестационный диабет, высокий риск ПЭ по данным I скрининга, невынашивание беременности в анамнезе, хронический пиелонефрит, имеет показатели чувствительности 71,4%, специфичности 75%, AUC 0,795. Модель развития поздней ПЭ, включающая возраст старше 35 лет, ПЭ в предыдущие беременности, ожирение, ХАГ, прегестационный диабет, имеет чувствительность

71,4%, специфичность 62,4%, AUC 0,561. Разработанные модели на основании оценки только клинико-anamнестических факторов демонстрируют довольно низкую чувствительность и специфичность, недостаточную для использования в рутинной клинической практике.

Молекулярные механизмы развития преэклампсии на основании анализа транскриптома микроРНК плаценты

В каждом образце ткани плаценты было идентифицировано около 3500 транскриптов. Значимые различия в уровнях экспрессии выявлены в отношении 90 плацентарных микроРНК. Дальнейший расчет отношений шансов развития ПЭ на основе логистической регрессии позволил выделить 16 микроРНК.

Особо стоит подчеркнуть факт дисрегуляции 5 микроРНК - hsa-miR-103a-3p, hsa-miR-18a-5p, hsa-miR-487b-5p, hsa-miR-523-3p, hsa-miR-5582-3p (Таблица 1), уровень экспрессии которых коррелировал с клинико-anamнестическими характеристиками обследуемых пациенток.

Таблица 1 - Однофакторный анализ влияния экспрессии микроРНК на развитие преэклампсии

МикроРНК	Основная группа (n=20)*	Контрольная группа (n=20)*	ОШ (95% ДИ)	p
hsa-miR-103a-3p	20,93 (19,93; 21,52)	0,00 (0,00; 14,95)	1,19 (1,02-1,38)	0,023
hsa-miR-18a-5p	0,00 (0,00; 0,00)	19,93 (4,98; 20,68)	0,85 (0,73-0,98)	0,026
hsa-miR-487b-5p	21,22 (19,93; 22,83)	0,00 (0,00; 15,70)	1,18 (1,02-1,36)	0,024
hsa-miR-523-3p	0,00 (0,00; 0,00)	19,93 (4,98; 20,68)	0,85 (0,73-0,98)	0,027
hsa-miR-5582-3p	0,00 (0,00; 0,00)	19,93 (4,98; 19,93)	0,84 (0,72-0,98)	0,025

Примечание: * - логарифмированные по основанию 2 данные, нормализованные методом RPM (read per million), представлены в виде медианы с интерквартильным интервалом [Me (Q25%; Q75%)].

Потенциальная роль данных микроРНК в развитии осложнений беременности была подтверждена и в ходе биоинформационного анализа, результаты которого продемонстрировали вовлеченность указанных молекул в каскады сигнальных путей, имеющих принципиальное значение в патогенезе ПЭ (Таблица 2). Выполненная оценка качества модели продемонстрировала следующие показатели: площадь под ROC-кривой составила 0,9 с показателем чувствительности равный 0,917 и показателем специфичности – 0,99.

Таблица 2 - Многофакторная модель развития преэклампсии

микроРНК	Отношение шансов (95% ДИ)*	p*
hsa-miR-103a-3p	1,07 (1,01-1,81)	0,015
hsa-miR-18a-5p	0,93 (0,41-0,99)	0,006
hsa-miR-487b-5p	1,08 (1,008-1,18)	0,016
hsa-miR-523-3p	0,92 (0,42-0,98)	0,004
hsa-miR-5582-3p	0,92 (0,35-0,98)	0,003
Константа (коэффициент)	1,07	

Примечание: * - оценено с использованием процедуры бутстрепа на основе 1000 выборок.

Всесторонний анализ профиля экспрессии плацентарных микроРНК при ранней и поздней ПЭ позволил выявить дифференциальную экспрессию 176 микроРНК между подгруппами. Дальнейший анализ рисков развития ранней ПЭ по сравнению с поздней, выполненных с помощью инструментария логистической регрессии, позволил снизить число рассматриваемых микроРНК до 36. Проведенный корреляционный анализ между указанными дифференциально экспрессируемыми при ранней и поздней ПЭ плацентарными микроРНК и клинико-лабораторными показателями позволил выделить 8 молекул (hsa-let-7i-5p, hsa-miR-1301, hsa-miR-451a и hsa-miR-519a-3p, miR-20a-5p, miR-146a-5p, miR-181a-5p и miR-574-3p), демонстрирующих наиболее значимую связь с особенностями развития и прогрессирования ПЭ. На основании нашего предположения о возможности рассмотрения данных микроРНК в качестве биомаркеров развития той или иной формы ПЭ была построена многофакторная модель развития ранней и поздней ПЭ.

В модель развития ранней ПЭ включены наиболее клинически и функционально значимые микроРНК - hsa-let-7i-5p, hsa-miR-1301, hsa-miR-451a, hsa-miR-519a-3p (Таблица 3). Площадь под ROC-кривой составила 0,9 с показателем чувствительности равный 0,917 и показателем специфичности – 0,98, что указывает на высокое качество разработанной модели, позволяющее с точностью прогнозировать развитию ранней ПЭ.

Таблица 3 - Многофакторная модель развития ранней преэклампсии

микроРНК	Отношение шансов (95% ДИ)*	p*
hsa-let-7i-5p	3,35 (3,19-3,63)	0,001
hsa-miR-1301	0,32 (0,29-0,33)	0,001

Продолжение Таблицы 3

hsa-miR-451	0,30 (0,28-0,31)	0,001
hsa-miR-519a-3p	1,06 (1,06-1,07)	0,001
Константа (коэффициент)	5,00	0,004
Примечание: * - оценено с использованием процедуры бутстрепа на основе 1000 выборок.		

В Таблице 4 представлена многофакторная модели логистической регрессии, позволяющая прогнозировать развития поздней ПЭ. Выполненная оценка качества разработанной модели продемонстрировала ее значимую практическую ценность с показателями чувствительности 0,9, специфичности – 0,833 и площадью под кривой равной 0,917.

Таблица 4 - Многофакторная модель развития поздней преэклампсии

микроРНК	Отношение шансов (95% ДИ)*	p*
miR-20a-5p	2,457	0,001
miR-146a-5p	0,400	0,004
miR-181a-5p	1,083	0,014
miR-574-3p	1,065	0,038
Константа (коэффициент)	$8,0 \cdot 10^{-10}$	
Примечание: * - оценено с использованием процедуры бутстрепа на основе 1000 выборок.		

Таким образом, микроРНКом плаценты при ранней и поздней ПЭ значимо отличается, что свидетельствует о разных молекулярных механизмах их развития: при ранней ПЭ доминируют плацентарные нарушения с изменением экспрессии микроРНК, регулирующих рост и развитие плода, морфогенез и функционирование плаценты, иммунную толерантность; при поздней ПЭ преобладает дисбаланс микроРНК, ассоциированных с сердечно-сосудистыми, эндокринными заболеваниями и метаболическими нарушениями с вторичным повреждением плаценты.

Диагностический и прогностический потенциал патогенетически значимых при преэклампсии микроРНК, определяемых в плазме крови беременных

На заключительном этапе исследования для изучения возможности клинического применения дифференциально экспрессируемых при ПЭ 16 плацентарных микроРНК в качестве неинвазивных диагностических и прогностических маркеров, проводился их анализ в плазме крови пациенток. Также, учитывая современные представления о патофизиологии ранней и поздней ПЭ, дополнительно определены 6 плазменных микроРНК, ассоциированных с

сердечно-сосудистыми и цереброваскулярными заболеваниями (hsa-miR-20a-5p, hsa-miR-143-3p, hsa-miR-146a-5p, hsa-miR-181a-5p, hsa-miR-574-3p, hsa-miR-574-5p).

Анализ 22 плазменных микроРНК у пациенток анализируемых групп показал разнонаправленные изменения уровней их экспрессии. Так, в группе пациенток с ПЭ по сравнению с контрольной группой получена статистически значимая разница в отношении 12 плазменных микроРНК с наиболее выраженными изменениями экспрессии 7 молекул (miR-1301, miR-519a-3p, miR-517c-3p, miR-574-5p, miR-18a-5p, miR-103a-3p, miR-487b-5p), определение патологических уровней которых в плазме крови беременных свидетельствует о развитии ПЭ.

В ходе дальнейшего корреляционного анализа взаимосвязи между выделенными микроРНК с клиническими симптомами ПЭ была выявлена значимая корреляция в отношении 6 из 12 молекул (miR-519a-3p, miR-517c-3p, miR-574-3p, miR-18a-5p, miR-487b-5p и miR-523-3p); 6 микроРНК коррелировали с лабораторными данными (miR-146a-5p, miR-210-3p, miR-519a-3p, miR-517c-3p, miR-574-3p, miR-1301).

В последующем нами была создана многофакторная модель, позволяющая проводить своевременную диагностику начавшейся ПЭ с момента появления ее первых клинических симптомов на основе анализа уровней экспрессии плазменных микроРНК. В результате была отобрана модель с наилучшими характеристиками, включающая 5 микроРНК (hsa-miR-519a-3p, hsa-miR-517c-3p, hsa-miR-574-3p, hsa-miR-487b-5p, hsa-miR-130) (Таблица 5).

Таблица 5 - Многофакторная модель ранней диагностики преэклампсии.

микроРНК	Отношение шансов (95% ДИ)*	p*
hsa-miR-519a-3p	0,85 (0,49-0,98)	0,032
hsa-miR-517c-3p	2,89 (2,72-3,29)	0,001
hsa-miR-574-3p	3,90 (1,47-56,7)	0,016
hsa-miR-487b-5p	2,08 (1,04-3,12)	0,038
hsa-miR-1301	0,91 (0,33-0,99)	0,008
Константа (коэффициент)	$1,05 \cdot 10^{-14}$	
Примечание: * - оценено с использованием процедуры бутстрепа на основе 899 выборок.		

Проведенный анализ позволил определить показатель чувствительности, равный 0,92, и показатель специфичности – 0,83 и площадь под кривой – 0,875, демонстрирует высокое качество представленной модели,

Из 22 анализируемых микроРНК у беременных с ЗРП не было выявлено статистической значимой разницы уровней ни одной из них по сравнению с контролем. В то же время, обнаружена дифференциальная экспрессия 5 микроРНК между группами с ПЭ и с ЗРП: при ЗРП оказались значимо повышены уровни miR-146a-5p, miR-181a-5p, miR-517c-3p, miR-574-3p, miR-574-5p по сравнению с пациентками с ПЭ.

В дальнейшем результаты проведенного корреляционного анализа плазменных микроРНК с развитием неблагоприятных перинатальных исходов позволили разработать многофакторную математическую модель, позволяющую прогнозировать тяжелое течение ПЭ. В результате была отобрана модель с наилучшими характеристиками, включающая 6 микроРНК: hsa-miR-210-3p, hsa-miR-517c-3p, hsa-miR-146a-5p, hsa-miR-18a-5p, hsa-miR-523-3p, hsa-miR-574-3p: снижение экспрессии hsa-miR-210-3p повышает шансы развития неблагоприятных перинатальных исходов в 2,36 раза, hsa-miR-517c-3p – в 2,78 раза, hsa-miR-18a-5p – в 0,8 раза, hsa-miR-523-3p – в 0,37 раза, hsa-miR-574-3p – в 0,36 раза, повышение экспрессии hsa-miR-146a-5p увеличивает риски в 2,29 раз (Таблица 6).

Таблица 6 - Многофакторная прогностическая модель неблагоприятных перинатальных исходов при преэклампсии на основе экспрессии микроРНК

микроРНК	Отношение шансов (95% ДИ)	p*
hsa-miR-18a-5p	0,80 (0,70-0,88)	0,001
hsa-miR-210-3p	2,36 (2,18-2,54)	0,002
hsa-miR-517c-3p	2,78 (2,21-3,01)	0,002
hsa-miR-523-3p	0,37 (0,34-0,39)	0,001
hsa-miR-574-3p	0,36 (0,34-0,39)	0,002
hsa-miR-146a-5p	2,29 (1,08-2,49)	0,002
Константа	39,38	
Примечание: * - оценено с использованием процедуры бутстрепа на основе 899 выборок.		

Чувствительность модели 90,9 %, специфичность – 80%, площадь под кривой 0,855. Проверка адекватности модели демонстрирует довольно высокое качество представленной модели и указывает на ее клинико-диагностическую значимость.

ВЫВОДЫ

1. Как ранняя, так и поздняя ПЭ чаще развивается у беременных старше 35 лет с ожирением, ХАГ, сахарным диабетом, ПЭ и ЗРП во время предыдущей беременности. Дополнительными факторами риска ранней ПЭ являются отягощенный семейный анамнез в отношении сердечно-сосудистых заболеваний, высокий риск развития ПЭ по результатам I скрининга, невынашивание беременности в анамнезе, инфекции мочевыводящих путей, нарушения маточно-плацентарного кровотока, предшествующие клинической манифестации ПЭ во время данной беременности. Прогнозирование ПЭ на основании оценки анамнестических факторов риска имеет довольно низкую предиктивную точность и позволяет определить вероятность развития ранней ПЭ с чувствительностью 71,4%, специфичностью 75%, поздней ПЭ – с чувствительностью 71,4%, специфичностью 62,4%.

2. Ранняя ПЭ по сравнению с поздней характеризуется тяжелым течением (91,4% по сравнению с 4,7%), высокой частотой досрочного (45,7% против 4,6%) и оперативного (74,3% против 45,9%) родоразрешения, часто сочетается с нарушениями гемодинамики в сосудах фето-плацентарного комплекса (в 42,9% против 27,7%) и ЗРП (в 14,3 % против 4,6%), что определяет высокую частоту рождения недоношенных, маловесных для гестационного срока детей, имеющих осложненное течение неонатального периода (57,1% против 13,8%), нуждающихся в лечении в ОРИТН (40% против 13,8%) и переводе на II этап выхаживания (31,4% против 13,8%).

3. Выраженная дисрегуляция плацентарного транскриптома микроРНК при ПЭ свидетельствует о вовлечении в патофизиологию данного осложнения крайне широкого спектра сигнальных путей и биологических процессов, ассоциированных с морфогенезом и функционированием плаценты (инвазия,

пролиферация, дифференцировка клеток, апоптоз, ангиогенез, ответ на гипоксию, воспаление, иммунный ответ), ростом и развитием плода, а также с патологической направленностью множества клеточных процессов (обмена белков, жиров, углеводов, гормонов). Данный факт ставит под сомнение возможность использования какого-либо одного биомаркера с диагностической и/или прогностической целью.

4. Глобальный профиль микроРНК плаценты при ранней и поздней ПЭ значительно отличаются, но при этом регистрируются при обоих клинических фенотипах, что свидетельствует о той или иной степени вовлечения плаценты в патофизиологию ПЭ на этапе развития материнского синдрома не зависимо от срока ее клинической манифестации.

5. Разработанная панель плазменных микроРНК, ассоциированных с плацентарной дисфункцией, кардиоваскулярными, цереброваскулярными и метаболическими нарушениями (miR-519a-3p, miR-517c-3p, miR-574-3p, miR-487b-5p и miR-1301) позволяет своевременно диагностировать ПЭ с момента появления одного из ее симптомов с чувствительностью 92% и специфичностью 83%.

6. Применение разработанных моделей логистической регрессии позволяет прогнозировать неблагоприятные перинатальные исходы при ПЭ с чувствительностью 90,9 %, специфичностью 80% на основании определения уровней экспрессии комбинации из 6 микроРНК (miR-210-3p, miR-517c-3p, miR-146a-5p, miR-18a-5p, hsa-miR-523-3p, miR-574-5p) в плазме крови беременных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью своевременного начала профилактических мероприятий необходима четкая стратификация рисков развития ПЭ. С этой целью возможно использование разработанных в данной работе математических прогностических моделей.

2. При выявлении ЗРП, нарушений гемодинамики в сосудах фето-плацентарного комплекса по данным УЗИ и доплерометрии беременные должны

быть выделены в группу высокого риска по развитию ПЭ, не зависимо от результатов I пренатального скрининга и наличия анамнестических факторов риска.

3. Для своевременной диагностики ПЭ при появлении одного из ее симптомов (патологическая прибавка веса и отеки, АГ или протеинурия), при атипичной клинической картине, а также регистрации PI в маточных артериях \geq 95 перцентиля целесообразно использование моделей логистической регрессии с определением miR-519a-3p, miR-517c-3p, miR-574-3p, miR-487b-5p и miR-1301 в плазме крови беременных для ранней диагностики начала ПЭ.

4. Для прогноза неблагоприятных перинатальных исходов при ПЭ в рамках решения вопроса о пролонгировании беременности в комплекс обследования рекомендовано включить комбинированное определение уровней экспрессии панели из 6 микроРНК (miR-210-3p, miR-517c-3p, miR-146a-5p, miR-18a-5p, hsa-miR-523-3p и miR-574-5p) в материнской плазме.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Сидорова И.С., Никитина Н.А., Агеев М.Б., Тимофеев С.А., **Морозова Е.А.** Современные возможности транскриптомики в изучении преэклампсии. **Акушерство и гинекология.** 2022; 7: 5-12. [Scopus]
2. Никитина Н.А., Сидорова И.С., Агеев М.Б., Тимофеев С.А., Кирьянова М.А., **Морозова Е.А.** Новые технологии в решении проблем преэклампсии. **Акушерство и гинекология.** 2022; 10: 5-13. [Scopus]
3. Никитина Н.А., Сидорова И.С., Райгородская М.П., **Морозова Е.А.**, Тимофеев С.А., Агеев М.Б., Амирасланова Н.И. Особенности экспрессии плацентарных микроРНК у пациенток с преэклампсией и задержкой роста плода. **Российский вестник акушера-гинеколога.** 2024; 24(6): 14-25. [Scopus]
4. Никитина Н.А., Сидорова И.С., Райгородская М.П., **Морозова Е.А.**, Тимофеев С.А., Агеев М.Б., Амирасланова Н.И. Эпигенетические механизмы развития ПЭ:

роль плазменных микроРНК. **Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева.** 2024; 11(2): 179-192. [Scopus]

5. **Морозова Е.А.,** Никитина Н.А., Агеев М.Б. Роль микроРНК hsa-mir-517a-3p, hsa-mir-517c-3p, hsa-mir-574- 5p, hsa-mir-20a-5p, hsa-mir-1340-5p, hsa-mir-210-3p hsa-mir- 320a-3p hsa-mir-517c-3p в развитии преэклампсии. Материалы «XVII Международного Конгресса по репродуктивной медицине». – Москва, 2023 – С. 69-71.

6. **Морозова Е.А.,** Никитина Н.А., Агеев М.Б. Особенности профиля экспрессии микроРНК в плазме крови у пациенток с преэклампсией. Материалы XXIX Всероссийского Конгресса «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы». – Москва, 2023 – С. 84-86.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ЗРП - задержка роста плода

ИМТ - индекс массы тела

МПК - маточно-плацентарного кровотока

пПЭ - поздняя преэклампсия

ЛДГ - лактатдегидрогеназа

микроРНК - малые некодирующие молекулы РНК

МПК - маточно-плацентарный кровоток

ПЭ – преэклампсия

ПЦР-RT - полимеразной цепной реакции в режиме реального времени

рПЭ - ранняя преэклампсия

СКФ - скорость клубочковой фильтрации

УЗИ - ультразвуковое исследование

ХАГ - хроническая артериальная гипертензия

ЩФ - щелочная фосфатаза

FC - кратность изменений