

*На правах рукописи*

**ВОЛЬФ ЮЛИЯ**

**КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ И  
ДИАГНОСТИКИ РАННЕЙ И ПОЗДНЕЙ ПРЕЭКЛАМПСИИ**

**14.01.01 – Акушерство и гинекология**

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

**Москва – 2019 год**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Тверской государственной медицинской университете» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, доцент

**Радьков Олег Валентинович**

**Официальные оппоненты:**

**Шалина Раиса Ивановна** - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра акушерства и гинекологии педиатрического факультета, профессор

**Баев Олег Радомирович** – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, руководитель родильного отделения

**Ведущая организация** – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г., в \_\_\_\_\_ ч. на заседании диссертационного совета Д 208.048.01 при Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» (101000, Москва, ул. Покровка, д.22а).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (<http://moniiag.ru>) Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии».

Автореферат разослан “\_\_\_” \_\_\_\_\_ 2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, профессор

**Зайдиева Янсият Зайдилаевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в мире 5–8% беременных страдают от преэклампсии (ПЭ), причем этот показатель за неполные четверть века увеличился на 40% (ВОЗ, 2014). Заболевание ПЭ – причина смерти до 60000 матерей в мире ежегодно, а также характеризуется крайне неблагоприятными перинатальными исходами (Сухих Г.Т. и др., 2015, 2016, Hund M. et al., 2014).

Современная концепция трехстадийного развития ПЭ и теория «больших синдромов» в акушерстве диктуют четкое выделение двух различных форм этого гипертензивного расстройства беременных: ранней и поздней ПЭ (Ходжаева З.С. и др., 2013, Li X.L. et al., 2016). Однако патогенез этих осложнений беременности остается не вполне ясным, а значит в прогнозировании, диагностике и профилактике значимых успехов не достигнуто (Tranquilli A.L., 2014, Kwiatkowski S. et al., 2016). С развитием ПЭ связывают множество средовых факторов, однако большинство гестаций, находясь под влиянием этих факторов, не осложняются ПЭ, а значит, генетическая предрасположенность играет важнейшую роль в развитии специфичной для гестации гипертензии (Ворожищева А.Ю., 2014, Pissetti C.W. et al., 2014, Chen W. et al., 2015). В этой связи анализ ассоциаций генотипа с фенотипами ранней и поздней ПЭ является актуальным методом прогнозирования этих заболеваний.

Внеклеточная ДНК – перспективный прогностический биомаркер осложнений беременности, отражающий патологические процессы в системе мать–плацента–плод (Баев О.Р. и др., 2018, Silver R.M. et al., 2017). Однако данные о роли циркулирующих форм ДНК для прогноза и диагностики гипертензивных расстройств у беременных противоречивы, а значит, актуальным является исследование этих биомолекул. Эпителий сосудов – важнейшая цель триггеров, запускающих процесс ПЭ (Сидорова И.С. и др., 2015, Prochazka M. et al., 2015). В ответ на ишемию плаценты происходит аномальная продукция факторов вазоконстрикции и воспаления сосудов, лежащих в основе дисфункции эндотелия при ПЭ (van Rijn B.V. et al., 2016, Воуças А.Р. et al., 2017). Регуляции тонуса сосудов у беременных ПЭ изучается активно, однако, остается неясным ее роль в развитии ПЭ с разным сроком манифестации.

### **Степень разработанности темы исследования**

Несмотря на проводимые исследования по выявлению клиничко-анамнестических факторов риска ранней и поздней ПЭ, значимость их маркерных свойств остается не вполне установленной. Пополняется круг генов-кандидатов, влияющих на риск ПЭ, однако воспроизводимость результатов исследования монолокусных ассоциаций в различных популяциях оказывается невозможной. В этой связи остаются неизученными генетические механизмы наследования предрасположенности к ранней и поздней ПЭ. Внеклеточные формы ДНК и сосудодвигательная функция эндотелия могут объективно отражать патологические процессы в системе мать-плацента-плод при ПЭ с разным сроком манифестации. Однако отсутствие единого подхода к интерпретации данных по уровням этих биомолекул и эндотелиальной регуляции сосудов затрудняет эффективное использование их в качестве маркеров прогноза и диагностики ранней и поздней ПЭ. Описаны способы оценки индивидуального риска ПЭ, однако модели, включающие клиничко-генетические факторы с представленными полиморфизмами генов для персонифицированного анализа вероятности осложнения гестации ранней и поздней ПЭ, не исследовались.

### **Цель исследования**

Разработать новые прогностические и диагностические маркеры ранней и поздней ПЭ на основании анализа клиничко-генетических факторов, определяющих характер течения этих осложнений беременности.

### **Задачи исследования**

1. Выявить характерные клиничко-анамнестические признаки и факторы риска ранней и поздней ПЭ.
2. Провести анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфных локусов генов *VDR*, *TLR 4*, *TNF- $\alpha$* , *IL-10* и *NOS3* для выявления их ассоциации с предрасположенностью к ранней и поздней ПЭ.
3. Установить зависимость между концентрацией внеклеточных форм ДНК и клиническими формами ПЭ с разными сроками манифестации заболевания.
4. В формате фенотипического и гено-фенотипического анализа оценить характер нарушений вазомоторной функции эндотелия у беременных с ранней и поздней ПЭ.

5. На основании данных клинико-anamnestического, молекулярно-генетического анализа, параметров вазомоторной функции эндотелия выделить и оценить прогностические и диагностические маркеры ранней, поздней ПЭ.

6. Разработать с помощью многофакторного анализа данных персонафицированные модели оценки риска ранней и поздней ПЭ.

### **Научная новизна исследования**

Впервые на выбранной популяции проведен анализ частот аллелей и генотипов полиморфных локусов: BsmI (rs1544410) и TaqI (rs731236) гена *VDR*, rs1799983 и rs2070744 гена *NOS3*, rs1800629 гена *TNF- $\alpha$* , rs1800896 гена *IL-10* и rs4986790 гена *TLR 4* относительно их ассоциации с ранней и поздней ПЭ, а также клиническими особенностями течения, связанными с этими заболеваниями. Получены новые сведения о связи концентрации внеклеточной общей и внеклеточной плодной ДНК с ПЭ разных сроков манифестации, а также особенностями клиники этого осложнения беременности. Впервые на основании данных об уровнях внеклеточных форм ДНК представлены прогностические и диагностические критерии ранней, поздней ПЭ, задержки роста плода у этих пациенток, а так же степени тяжести ПЭ, что позволило разработать «Способ оценки тяжести преэклампсии» (Патент №2478966 Российской Федерации). Впервые на модели микрососудов кожи (МК) показано, что с ранней ПЭ связаны наиболее выраженные проявления эндотелиальной дисфункции; нарастание степени сосудодвигательных расстройств ассоциируется с тяжелым течением ПЭ и задержкой роста плода, а показатели эндотелий-зависимой вазодилатации являются значимыми маркерами этих осложнений беременности. С позиций гено-фенотипического анализа сформулированы новые представления о генетических факторах, модифицирующих выраженность сосудодвигательных расстройств у беременных с ранней и поздней ПЭ. Разработаны новые модели оценки индивидуального риска ранней и поздней ПЭ.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Изучение частоты распределения аллелей и генотипов полиморфных сайтов изученных генов-кандидатов ПЭ позволяет понять механизмы наследования этих заболеваний в анализируемой популяции, а так же использовать генетические маркеры в качестве критериев оценки индивидуального прогноза риска развития этого ослож-

нения беременности в зависимости от срока его возникновения. Понятие об уровнях внеклеточных форм ДНК у пациенток с ранней и поздней ПЭ позволяет раскрыть элементы патогенеза этих заболеваний, а также использовать изучаемые биомолекулы в качестве маркеров гестационных гипертензивных расстройств, их степени тяжести и осложнений. Оценки реактивности МК у беременных с ПЭ разных сроков манифестации расширяет представления о патобиологии этих осложнений гестации, также является скрининговым методом, позволяющим оптимизировать экспертизу прогноза и диагностики ранней, поздней ПЭ и задержки роста плода у этих пациенток. Предложенная модель прогноза позволяет оценить индивидуальный уровень риска ранней и поздней ПЭ для проведения превентивных мероприятий при высоком риске этих осложнений беременности.

### **Методология и методы исследования**

Для достижения поставленной цели сформированы выборки из двух групп беременных (основной и контрольной). В основную группу вошли пациентки с ПЭ, у которых на основании клинико-лабораторных данных диагностировалась ранняя ПЭ (112 беременных) и поздняя ПЭ (143 пациентки). Контрольная группа включала 120 беременных. Объем обследования включал в себя клинические методы исследования, генотипирование, количественный анализ внеклеточных форм ДНК в крови матери, ультразвуковая доплерография МК, антенатальная оценка состояния плода и данные о состоянии новорожденных.

### **Положения диссертации, выносимые на защиту**

1. Значимые независимые клинико-anamнестические предикторы ПЭ определяют срок манифестации заболевания.
2. Молекулярные варианты локусов BsmI (rs1544410) гена *VDR*, rs4986790 гена *TLR4* и rs2070744 гена *NOS3* ассоциированы с ранней ПЭ, полиморфизм rs1799983 гена *NOS3* влияет на риск развития поздней ПЭ, а сайт rs1800896 гена *IL10* связаны с предрасположенностью к обеим формам гипертензивных расстройств. Генетические факторы, определяющие тяжесть течения заболевания и формирование задержки роста плода, зависят от срока начала ПЭ.
3. Внеклеточная плодная ДНК – значимый биомаркер прогноза ранней ПЭ. Концентрация внеклеточных циркулирующих форм ДНК находится в обратной зависи-

мости с гестационным сроком начала ПЭ, а риск развития задержки роста плода и тяжесть течения заболевания прямо ассоциированы с уровнем этих биомолекул в плазме крови матери.

4. Нарушения эндотелий-зависимой вазодилатации в микрососудах кожи у беременных с ранней ПЭ возникают в латентный период, значимо прогрессируют по мере манифестации обеих форм заболевания, становясь максимально выраженными при раннем развитии этого осложнения гестации. Полиморфизмы: rs1800629 гена *TNF- $\alpha$* , rs1800896 гена *IL10* и BsmI (rs1544410) гена *VDR* ассоциируются с нарушением сосудодвигательной функции эндотелия в микрососудах кожи в манере, зависящей от срока начала ПЭ.

5. Персонафицированный подход к прогнозированию ранней и поздней ПЭ является эффективным методом анализа индивидуального риска гипертензивных расстройств у беременных.

#### **Внедрение результатов работы в практику**

Результаты исследования внедрены в клиническую практику системы родовспоможения Тверской области. Положения диссертации включены в учебные программы дисциплины «Акушерство и гинекология» Федерального государственного образовательного стандарта высшего образования, используются для преподавания на кафедре акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО Тверского ГМУ Минздрава России.

#### **Личный вклад автора в проведенное исследование**

Автором лично выполнены исследования реактивности МК, сбор образцов крови для генетических анализов, разработана анкета для формирования базы данных при оценке факторов риска ранней и поздней ПЭ, проведен анализ медицинской документации, статистическая обработка и обобщение полученных результатов. Автор лично участвовал в подготовке и публикации научных работ по теме диссертации.

#### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность полученных результатов достигнута за счет достаточного объема сформированных выборок, соответствующих представленным разделам диссертационного исследования и адекватного выбора статистического инструментария для аналитических действий в сформированных группах обследованных беременных.

Материалы диссертации представлены в докладах на X и XVIII Всероссийских научных форумах «Мать и Дитя» (Москва, 2009, 2017); Всероссийской конференции «Артериальная гипертензия – спорные и нерешенные вопросы» (Ярославль, 2010); Международном конгрессе «Большие акушерские и неонатальные синдромы – патофизиология и клиническая практика» (Санкт-Петербург, 2017); III Международной научной конференции «Постгеномные технологии в медицине: от теории к практике» (Воронеж, 2017), Российском национальном конгрессе кардиологов (Москва, 2018). Апробация диссертации состоялась 26.04.2018 г. на научной конференции сотрудников кафедр акушерства и гинекологии, госпитальной терапии и профессиональных болезней ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России, ГБУЗ ТО «Областной клинический перинатальный центр им. Е.М. Бакуниной».

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 16 работ, из них 6 статей в журналах, входящих в перечень ВАК Минобрнауки России (в т.ч. работа в издании, индексируемом в базах данных Scopus и Web of Science), получен патент РФ на изобретение.

### **Структура и объем диссертации**

Текст диссертации изложен на 168 страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы с результатами собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы из 35 отечественных и 205 зарубежных источников, приложения. Данные диссертации иллюстрированы 48 таблицами и 25 рисунком.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

Сформированы выборки из двух групп беременных (основной и контрольной). В основной группе – 255 пациенток с ПЭ. Критерии включения в группу: согласие на исследование; артериальная гипертензия (АГ) после 20 недели беременности: систолическое АД  $\geq 140$  мм рт. ст. и/или диастолическое АД  $\geq 90$  мм рт. ст., определенное как среднее в результате, как минимум, 2-х измерений, проведенных на одной руке через 15 мин. с интервалом более 4 часов; протеинурия  $\geq 0,3$  г/л в суточной пробе, либо в двух пробах, взятых с интервалом 6 часов. Критерии исключения: отказ от ис-



следования, многоплодная беременность, уровень АД  $\geq 130/85$  мм р.ст. в I триместре гестации, сахарный диабет, гипо- и гипертиреоз. Основная группа разделена на 2 подгруппы. Первую подгруппу с ПЭ составили 143 пациентки с поздней ПЭ (ПЭ в 34 недели гестации и позже). Во вторую подгруппе – 112 пациенток с ранней ПЭ (до 34 недели гестации). Для анализа критериев прогноза ПЭ сформирована группа из 27 беременных: 18 женщин с ПЭ в анамнезе и рецидивом при настоящей гестации и 9 пациенток без отягощенного анамнеза по ПЭ у которых во II и III триместре развилась ПЭ. Контрольная группа – 120 беременных из диспансерных групп здоровых или практически здоровых, чья гестация закончилась родами в 37 недель 1 день – 41 неделя беременности с рождением детей с нормальной массой тела без асфиксии.

Для генотипирования представлено 354 образца ДНК крови. Исследовано 7 однонуклеотидных полиморфизмов пяти генов-кандидатов ПЭ: полиморфизмы гена синтазы оксида азота 3 (*NOS3*) - rs1799983 и rs2070744; сайты гена рецептора витамина D (*VDR*) – BsmI (rs1544410) и TaqI (rs731236); локус гена толл-подобного рецептора 4 (*TLR4*) – rs4986790; сайт гена фактора некроза опухолей – альфа (*TNF- $\alpha$* ) – rs1800629 и полиморфизм гена интерлейкина – 10 (*IL-10*) – rs1800896. Однонуклеотидные полиморфизмы типировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием наборов праймеров и аллель-специфических гибридационных зондов («Applied Biosystems», США).

Определение концентрации внеклеточных общей и плодной ДНК (воДНК и впДНК) в плазме беременных определено в 173 образцах крови. Расчет прогноза риска ПЭ, по воДНК и впДНК выполнен по данным, полученным в 15–18 недель беременности. Диагностические критерии ПЭ рассчитаны на основании анализа образцов, полученных при поступлении в стационар пациенток с ПЭ или в 26–36 недель гестации для группы контроля. Для определения концентрации ДНК использовали тест-системы «Quantifiler» и «Quantifiler Y» («Applied Biosystems», США).

Детектирующий амплификатор во всех исследованиях – система регистрации ПЦР ДНК «ABI Prism» 7500 («Applied Biosystems», США).

Для оценки скоростных показателей кровотока в МК использовали высокочастотную ультразвуковую доплерографию с помощью прибора «Минимакс-Допплер-К» («СП-Минимакс», Санкт-Петербург, РФ). Для выяснения прогностических и ди-

агностических возможностей параметров реактивности МК регистрация доплерограмм проведена в 18-22 недели беременности и при поступлении в стационар пациенток с ПЭ или в 28-36 недель гестации для группы контроля. Для исследования функции эндотелия МК использовалась проба с постокклюзионной реактивной гиперемией (ПРГ) (Васина Л.В. и др., 2017, Tee G.V., et al., 2004). Количественно ПРГ отражает прирост скорости кровотока в МК ( $V\%_{\text{accel}}$ ) и время реактивной гиперемии.

Аntenатальная оценка состояния плода включала: ультразвуковую фетоплацентометрию, анализ объема околоплодных вод, оценку кровотока в сосудах фетоплацентарного комплекса с помощью доплерометрии, кардиотахографию.

При сравнении количественных фактических данных применяли *t*-критерий Стьюдента или *U*-критерий Манна-Уитни. Качественные данные сравнивались с помощью критерия  $\chi^2$  или точного критерия Фишера. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез  $<0,05$ . Об ассоциации генотипов с ПЭ судили по величине отношения шансов (odds ratio (OR)). Определение значимости предикторов ПЭ и расчет моделей прогноза выполнены с помощью бинарной логистической регрессии. Для оценки прогностической ценности критериев использовался анализ кривой ROC (receiver operating characteristic, рабочая характеристика приёмника). Рассчитывалась: площадь под ROC кривой (area under the ROC curve (AUC)); чувствительность; специфичность; отношение правдоподобия положительного (likelihood ratio of a positive test, +LR) и отрицательного результата (likelihood ratio of a negative test, -LR). Качество модели по интервальным значениям  $AUC = 0,9-1,0$  оценивалось как отличное,  $0,8-0,9$  – очень хорошее,  $0,7-0,8$  – хорошее,  $0,6-0,7$  – среднее и  $0,5-0,6$  – неудовлетворительное. Расчеты производились в среде программ IBM SPSS Statistics (version 22, лицензия от 21.02.2018 г.) и MedCalc (version 17.7.7, MedCalc Software).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст в группе ранней ПЭ составил  $25,9 \pm 1,4$  года, поздней ПЭ –  $29,4 \pm 2,2$ , в контроле –  $25,7 \pm 1,9$  года и значимо между группами не различался. Пациенток с ранней ПЭ в возрасте до 20 лет было значимо больше, чем в группе с поздней ПЭ ( $p < 0,05$ ). Для пациенток с поздней ПЭ при сравнении с группами контроля и ранней ПЭ характерно значимое накопление возрастных классов «31–35 лет» ( $p < 0,01$

– 0,05) и «36–40 лет» (все  $p < 0,01$ ) соответственно. Среди пациенток в группе поздней ПЭ родственники первой степени родства страдали различными формами АГ чаще, чем в контроле ( $p < 0,05$ ), а ожирение I и II степени у беременных этой группы значительно чаще встречалось, чем в группе ранней ПЭ и контрольной ( $p < 0,01-0,05$ ).

Признаки угрозы прерывания беременности преобладали у всех пациенток с ПЭ (все  $p < 0,05$ ) (таблица 1). Нарушения в системе мать–плацента–плод явились строгой отличительной чертой беременных с ПЭ и касались всех представленных рубрик (все  $p < 0,01$ ), а преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты (ПОНРП) отмечена исключительно у пациенток основных групп (все  $p < 0,01$ ). Признаки HELLP (ELLP) – синдрома, как одной из форм тяжелого течения ПЭ (отмечены только в основных группах) значительно чаще диагностировались у пациенток с ранним началом гипертензии при сравнении с группой поздней ПЭ ( $p < 0,05$ ).

Таблица 1 – Осложнения беременности в анализируемых группах, n (%)

Осложнения	Поздняя ПЭ, (n=143)	Ранняя ПЭ, (n=112)	Контроль, (n=120)
Угроза прерывания (все сроки)	55 (38,5 %)*	42 (37,5 %)**	30 (25,0 %)
Плацентарные нарушения	93 (65,0 %)*	85 (75,9 %)**	15 (12,5 %)
Маловодие	28 (19,6 %)*	26 (23,2 %)**	0
Гипоксия плода	98 (68,5 %)*	88 (78,6 %)**	5 (4,2 %)
Задержка роста плода	57 (39,9 %)*	45 (40,2 %)**	2 (1,6 %)
ПОНРП	12 (8,3 %)*	10 (8,9 %)**	0
HELLP (ELLP) – синдром	7 (4,9 %)*	13 (11,6 %)** #	0

Примечание: Различия значимы между: \* – группой поздней ПЭ и контрольной; \*\* – группой ранней ПЭ и контрольной; # – группой ранней и поздней ПЭ.

Все роды у пациенток с ранней ПЭ были преждевременными, а способ родоразрешения в 96,4% случаев абдоминальный, что было значительно чаще не только при сравнении с контролем, но и группой поздней ПЭ (все  $p < 0,01$ ). По указанным признакам пациентки с поздней ПЭ так же превосходили группу контроля (все  $p < 0,01$ ).

Вес доношенных новорожденных контрольной группы преобладал над таковым у детей в группе поздней ПЭ (3378,5 (3124,3; 3828,2) против 2878,1 (2490,3; 3134,7) г,  $p = 0,043$ ). Тогда как вес при рождении недоношенных детей от матерей группы ранней ПЭ был меньше, чем в группе с поздним началом ПЭ (1853,2 (1587,3; 2070,4) против 1010,9 (682,4; 1287, 3) г,  $p = 0,020$ ). Новорожденные матерей с поздней ПЭ и,

особенно с ранним началом гипертензии получили более низкие оценки по шкале Апгар при сравнении с контролем, что связано с высокой частотой асфиксии и чаще требовало лечения в отделении реанимации (все  $p < 0,01$ ). Однако новорожденных с асфиксией в группе ранней ПЭ было значимо больше, чем в группе поздней ПЭ ( $p < 0,01$ ). Новорожденные у гипертензивных матерей чаще страдали от перинатальных поражений ЦНС, перинатальных инфекции, респираторного дистресс-синдрома, чем дети в контрольной группе (все  $p < 0,01$ ), причем раннее начало ПЭ связано с более высокой заболеваемостью, чем поздняя форма гипертензии ( $p < 0,01-0,05$ ).

Методом логистической регрессии выделены независимые клинико-анамнестические предикторы ранней ПЭ: хронический пиелонефрит коэффициент  $\text{Exp (B)} = 3,55$  ( $p = 0,038$ ), синдром поликистозных яичников –  $2,71$  ( $p = 0,047$ ) и ПЭ в предыдущую гестацию –  $12,96$  ( $p < 0,0001$ ). Выделенные предикторы увеличивают риск возникновения ранней ПЭ в  $3,55$ ,  $2,71$  и в  $12,96$  раз соответственно.

Предикторы поздней ПЭ: возраст  $> 35$  лет –  $\text{Exp (B)} = 5,60$  ( $p = 0,019$ ); АГ у родственников первой степени родства –  $2,36$  ( $p = 0,042$ ); ПЭ в анамнезе –  $13,49$  ( $p < 0,0001$ ) и индекс массы тела (ИМТ)  $\geq 30$   $\text{кг/м}^2$  –  $4,24$  ( $p = 0,034$ ). Факторы ассоциированы с увеличением риска поздней ПЭ в  $5,60$ ,  $2,36$ ,  $13,49$  и  $4,24$  раза соответственно.

Показана связь генотипов  $BB+Bb$  локуса  $BsmI$  ( $rs1544410$ ) гена  $VDR$  с риском ранней ПЭ (повышен в  $1,94$  раза) (таблица 2). Генотип  $bb$  этого сайта, напротив, ассоциируется со снижением риска ранней ПЭ ( $OR = 0,52$ ), что может быть связано с более низким уровнем АД у носителей этого генотипа (Adela R., et al., 2017).

Генотипы  $AG+GG$  полиморфизма  $rs4986790$  гена  $TLR4$  являются маркерами риска ранней ПЭ (увеличен в  $2,08$  раза) в связи со значимо большей частотой этих вариантов гена  $TLR4$  среди гипертензивных пациенток, что может быть ассоциировано со способностью аллеля  $G$  формировать провоспалительный фенотип путем синтеза более активного толл-подобного рецептора 4 (Chatterjee P., et al., 2012). Генотип  $AA$  сайта  $rs4986790$  гена  $TLR4$ , в свою очередь, является протективным в отношении ранней ПЭ ( $OR = 0,48$ ). В группе пациенток с ранней ПЭ значимо повышена частота генотипа  $GA$  и  $GA+AA$  локуса  $rs1800896$  гена  $IL-10$ , что позволило выделить их как маркеры, ассоциированные с этой формой специфичной для гестации гипертензии (риск увеличен в  $1,54$  и  $1,90$  раз соответственно).

Таблица 2 – Частота генотипов локусов генов, ассоциированных с ранней ПЭ

Генотипы	Контроль (n=108)	Ранняя ПЭ (n=110)	$\chi^2$ (p)	OR (95 % CI)
Локус BsmI (rs1544410) гена <i>VDR</i>				
Генотип BB	14 (13,0 %)	20 (18,1 %)	5,28 (0,07)	1,49 (0,71-3,13)
Генотип Bb	51 (47,2 %)	62 (56,4 %)		1,44 (0,85-2,46)
Генотип bb	43 (39,8 %)	28 (25,5 %)		0,52 (0,29-0,92)
Генотип BB+Bb	65 (60,2 %)	82 (74,5 %)	5,12 (0,02)	1,94 (1,09-3,45)
Генотип bb	43 (39,8 %)	28 (25,5 %)		0,52 (0,29-0,92)
Локус rs4986790 гена <i>TLR4</i>				
Генотип AA	84 (77,8 %)	69 (62,7 %)	6,42 (0,04)	0,48 (0,26-0,87)
Генотип AG	22 (20,4 %)	35 (31,8 %)		1,93 (1,04-3,60)
Генотип GG	2 (1,8 %)	6 (5,5 %)		3,06 (0,60-15,50)
Генотип AA	84 (77,8 %)	69 (62,7 %)	5,90 (0,02)	0,48 (0,26-0,87)
Генотип AG+GG	24 (22,2 %)	41 (37,3 %)		2,08 (1,15-3,77)
Локус rs1800896 гена <i>IL-10</i>				
Генотип GG	58 (53,7 %)	40 (36,4 %)	6,83 (0,03)	0,49 (0,29–0,85)
Генотип GA	39 (36,1 %)	57 (51,8 %)		1,90 (1,11–3,27)
Генотип AA	11 (10,2 %)	13 (11,8 %)		1,18 (0,50–2,77)
Генотип GG	58 (53,7 %)	40 (36,4 %)	6,62 (0,01)	0,49 (0,29–0,85)
Генотип GA+AA	50 (46,3 %)	70 (63,6 %)		2,03 (1,18–3,49)
Локус rs2070744 гена <i>NOS3</i>				
Генотип TT	38 (35,2 %)	27 (24,5 %)	4,43 (0,03)	0,39 (0,16-0,94)
Генотип TC	59 (54,6 %)	63 (57,3 %)		1,50 (0,81-2,76)
Генотип CC	11 (10,2 %)	20 (18,2 %)		2,55 (1,05-6,20)

Примечание: OR – отношение шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал.

Фактор наследования защитных механизмов против ранней ПЭ – генотип GG, т. к. в группе контроля этот варианты сайта rs1800896 гена *IL-10* обнаруживался значительно чаще, чем у пациенток с ранней ПЭ (OR=0,49).

Накопление в группе ранней ПЭ гомозигот CC сайта rs2070744 гена *NOS3* связано на повышение риска этого осложнения беременности в 2,55 раза, что характерно и для других популяций (Qi H.P., et al., 2013). В группе контроля гомозиготы TT локуса rs2070744 гена *NOS3* обнаруживались чаще, чем среди гипертензивных пациенток, что снижало риск заболевания ПЭ (OR=0,39).

Полиморфизмы rs1799983 гена *NOS3*, TaqI (rs731236) гена *VDR* и rs1800629 гена *TNF- $\alpha$*  не влияют на риск ПЭ с ранней манифестацией.

Генотипы GT+TT полиморфизма rs1799983 гена *NOS3* увеличивают в 2,07 раза риск поздней ПЭ, тогда как носительство гомозиготного генотипа GG является защитным в отношении развития этого осложнения гестации (OR=0,48) (таблица 3). Установленная закономерность может быть связана со снижением активности синтазы оксида азота в присутствии генотипов GT+TT сайта rs1799983 гена *NOS3* (Alpoim P.N., et al., 2014).

Таблица 3 – Частота генотипов локусов генов, ассоциированных с поздней ПЭ

Генотипы	Контроль (n=108)	Поздняя ПЭ (n=136)	$\chi^2$ (p)	OR (95 % CI)
Локус rs1799983 гена <i>NOS3</i>				
Генотип GG	92 (85,2 %)	100 (73,5 %)	5,0 (0,08)	0,48 (0,25–0,93)
Генотип GT	14 (13,0 %)	30 (22,1 %)		1,90 (0,95–3,80)
Генотип TT	2 (1,8 %)	6 (4,4 %)		2,45 (0,48–12,37)
Генотип GG	92 (85,2 %)	100 (73,5 %)	4,88 (0,03)	0,48 (0,25–0,93)
Генотип GT+TT	16 (14,8 %)	36 (26,5 %)		2,07 (1,08–3,98)
Локус rs1800896 гена <i>IL-10</i>				
Генотип GG	58 (53,7 %)	48 (35,3 %)	8,36 (0,02)	0,43 (0,19–0,98)
Генотип GA	39 (36,1 %)	67 (49,3 %)		1,72 (1,02–2,88)
Генотип AA	11 (10,2 %)	21 (15,4 %)		2,30 (1,01–5,25)
Генотип GG	58 (53,7 %)	48 (35,3 %)	8,3 (0,01)	0,43 (0,19–0,98)
Генотип GA+AA	50 (46,3 %)	88 (64,7 %)		2,13 (1,27–3,56)

Примечание: OR – отношение шансов; 95% CI – 95% доверительный интервал.

Носительство генотипов GA, AA, а также комбинации GA+AA полиморфизма rs1800896 гена *IL-10* увеличивает риск поздней ПЭ в 1,72, 2,3 и 2,13 раза соответственно. Гомозиготный генотип GG локуса rs1800896 гена *IL-10* в свою очередь протективный в отношении ПЭ с поздним началом (OR=0,43).

По данным анализа распределения частот генотипов полиморфные локусы rs2070744 гена *NOS3*, BsmI (rs1544410) и TaqI (rs731236) гена *VDR*, rs4986790 гена *TLR4*, а так же rs1800629 гена *TNF- $\alpha$*  не ассоциированы с риском поздней ПЭ.

Уровень вДНК в доклиническом периоде (15–18 недель гестации) ранней ПЭ был значимо выше, чем в контрольной группе (p=0,011) (таблица 4), что может быть связано с т. н. «первым пиком» увеличения уровня фетального внеклеточного материала в материнской крови до появления клиники ПЭ (Konečná B., 2015).

Таблица 4 – Концентрация воДНК и впДНК в доклиническом периоде ПЭ, Ме (Q1; Q3)

Показатели	Ранняя ПЭ (n=8)	Поздняя ПЭ (n=16)	Контроль (n=30)
воДНК, нг/мл	18,76 (0,00; 19,30)	15,50 (0,00; 20,53)	13,20 (0,00; 18,76)
впДНК, нг/мл	1,45 (1,05; 1,95)*	0,91 (0,55; 1,68)	0,39 (0,00; 1,320)

Примечание: \* – различия между группами ранней ПЭ и контрольной значимы.

Порогом для прогноза ранней ПЭ явился уровень впДНК более 0,87 нг/мл, а модель, рассчитанная на его основании, оценена как «хорошего» качества (рисунок 1).

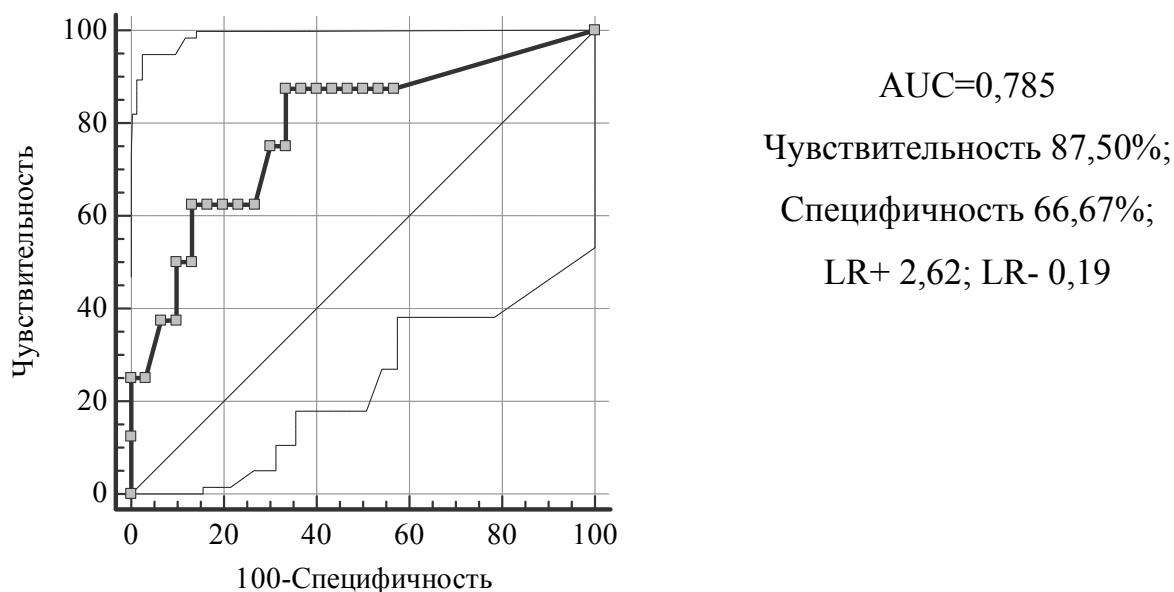


Рисунок 1. ROC-кривая оценки качества прогноза ранней ПЭ по уровню впДНК.

Таблица 5 – Концентрация воДНК и впДНК у пациенток с клиникой ПЭ, Ме (Q1; Q3)

Показатели	Ранняя ПЭ (n=47)	Поздняя ПЭ (n=72)	Контроль (n=30)
воДНК, нг/мл	20,10 (16,15; 24,06)*	18,65 (15,70; 21,75)**	17,20 (0,00; 20,01)
впДНК, нг/мл	1,55 (1,07; 1,98)* #	1,38 (0,89; 1,73)**	1,20 (0,00; 1,45)

Примечание: различия значимы между: \* – группой ранней ПЭ и контрольной; \*\* – группой поздней ПЭ и контрольной; # – группами ранней и поздней ПЭ.

Концентрация обеих форм циркулирующей ДНК у пациенток с клиникой ранней и поздней ПЭ была значимо выше, чем в контроле ( $p=0,008-0,047$ ) (таблица 5). Уровень впДНК в группе ранней ПЭ выше, чем у пациенток с поздней ПЭ ( $p=0,042$ ), на что указывают и другие авторы (Martin A. et al., 2015). Пороговым значением для диагноза ранней и поздней ПЭ является уровень воДНК  $>21,1$  нг/мл и  $>18,1$  нг/мл. AUC=0,690 и 0,625, что указывает на «среднее» качество моделей. Аналогичное качество для диагностики поздней ПЭ демонстрирует впДНК (порог  $>1,48$  нг/мл,

AUC=0,626), тогда как для диагностики ранней ПЭ по уровню этого биомаркера (порог вДНК >1,40 нг/мл, AUC=0,722) качество диагностической модели «хорошее».

Уровень воДНК в группы с поздней ПЭ с задержкой роста плода был значительно выше такового, чем в группе поздней ПЭ без задержки роста плода и контрольной (p=0,0034-0,049). Тогда как концентрация вДНК была значительно выше только у пациенток с поздней ПЭ и задержкой роста плода при сравнении с аналогичным показателем в контроле (p=0,043). Порогом для диагностики задержки роста у беременных с поздней ПЭ явился уровень воДНК >20,7 нг/мл и вДНК >1,38 нг/мл, AUC=0,646 и 0,697, что указывает только на «среднее» качество модели.

Концентрация всех форм внеклеточной ДНК была значительно выше у пациенток с ранней ПЭ, чем в контроле (p=0,019-0,035). Наибольшая концентрация вДНК отмечена в группе ранней ПЭ с задержкой роста плода, где ее значения превышали таковые из группы с ранней ПЭ без задержки роста плода (p=0,045). Уровни воДНК >21,0 нг/мл и вДНК >1,45 нг/мл – пороговые для диагностики задержки роста плода у беременных с ранней ПЭ, а по уровню AUC (0,721 и 0,807), диагностические модели по качеству – «хорошая» и «очень хорошая».

Пациентки с ранней ПЭ характеризовались большей концентрацией внеклеточных ДНК при сравнении с контролем вне зависимости от степени тяжести (p=0,0001-0,028). Аналогичная тенденция отмечена для пар признаков «ранняя тяжелая ПЭ – средняя поздняя ПЭ» и «средняя ранняя ПЭ – средняя поздняя ПЭ» (p=0,021–0,039). При тяжелой поздней ПЭ уровни воДНК и вДНК были выше таковых в контрольной группе (p=0,031–0,049). Важно, что воДНК и вДНК при диагностике тяжелой ранней ПЭ демонстрировали «очень хорошее» качество модели (AUC=0,840 и 0,854), однако при поздней тяжелой ПЭ уровень воДНК показал «хорошее» (AUC=0,704), а вДНК только «среднее» (AUC=0,688) качество диагностической модели.

Прирост скорости кровотока в МК (V%accel) у пациенток в доклиническом периоде ранней ПЭ был ниже такового в контрольной группе – 14,70 (14,50; 15,75)% против 16,50 (15,02; 17,80)%, (p=0,033). Значения V%accel до начала поздней ПЭ были ниже (15,70 (14,52; 16,37)%), чем в контроле, но без значимых различий. Порогом для прогнозирования ранней ПЭ является уровень V%accel ≤15,1%. На рисунке 2 представлена оценка качества модели прогноза этого осложнения беременности.



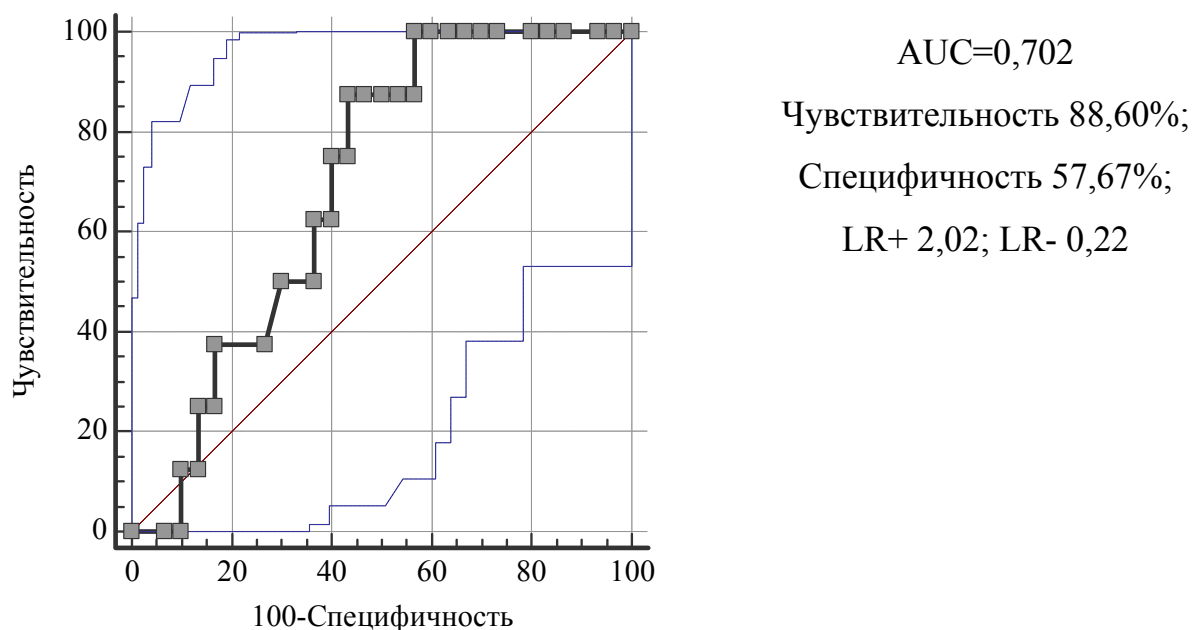


Рисунок 2. ROC-кривая оценки качества прогноза ранней ПЭ по уровню V%accel.

Таблица 6 – Функция эндотелия у беременных с ранней, поздней ПЭ и контрольной группы в 28–36 недель гестации, Me (Q1; Q3)

Показатели	Ранняя ПЭ (n=42)	Поздняя ПЭ (n=63)	Контроль (n=35)
V%accel, %	16,0 (13,8; 17,6)#	17,4 (15,1; 18,9)	22,7 (18,7; 24,8)
Время ПРГ, мин	1,9 (1,6; 2,2)#	2,1 (1,3; 2,7)	4,0 (3,1; 4,8)*

Примечание: Различия значимы между: \* – группой ранней ПЭ и контролем; \*\* – группой поздней ПЭ и контролем; # – ранней и поздней ПЭ; + – измерениями 1 и 2.

При развитии обеих форм ПЭ прирост показателей функции эндотелия был незначим по сравнению с данными, полученными в латентный период заболевания (таблица 6). В этой связи V%accel был значимо ниже в группах с ранней и поздней ПЭ при сравнении с контрольной ( $p=0,012-0,028$ ), а значения V%accel у беременных с ранней ПЭ отставали от данных группы с поздним началом заболевания ( $p=0,040$ ).

Диагностическим порогом ранней ПЭ является уровень V%accel  $\leq 17,5\%$  (AUC=0,817) при «очень хорошем» качестве модели, тогда как для поздней ПЭ при пороге V%accel  $\leq 18,0\%$  качество модели «среднее» т.к. AUC = 0,667.

Нарушение функции эндотелия у пациенток с поздней ПЭ при сравнении с контролем было значимой только при сочетании этой формы ПЭ с задержкой роста плода ( $p=0,046$ ), тогда как для ранней ПЭ характерна значимо выраженная эндотелиальная дисфункция независимо от отставания показателей фетометрии ( $p=0,0011-0,039$ ).

Отмечена четкая ассоциация более выраженного нарушения функции эндотелия и задержки роста плода у беременных с ранней ПЭ ввиду того, что V%accel и время гиперемии были значимо ниже у этих пациенток, чем в группе без задержки роста плода ( $p=0,021$  и  $p=0,036$ ). Данные функции эндотелия МК показали высокие тестовые характеристики для диагностики задержки роста плода у пациенток с ПЭ. Так диагностический порог задержки роста у беременных с ранней ПЭ - V%accel  $\leq 17,5\%$ , а качество модели было «очень хорошим» (AUC=0,901), а при показателе V%accel  $\leq 18,1\%$  у беременных с поздней формой ПЭ диагностировали это осложнение со стороны плода при AUC=0,811 (качество модели «хорошее»).

Реактивность МК для групп пациенток с ранней тяжелой и средней ПЭ были значимо ниже по сравнению с контролем ( $p=0,0001-0,044$ ). В группе тяжелой ранней ПЭ нарушения вазодилатации более выражена при сравнении с показателями поздней и ранней ПЭ средней степени тяжести ( $p=0,034-0,023$ ), а функция эндотелия при поздней ПЭ характеризовалась значимым снижением при сравнении с контролем только в случае тяжелого течения ( $p=0,038$ ). В этой связи есть мнение, что прогрессирование дисфункции эндотелия прямо связано с тяжестью течения ПЭ (Brandão A.H., et al., 2014). Показатели V%accel  $\leq 17,2\%$  и  $\leq 17,7\%$  – пороговые для диагностики тяжелой ранней и поздней ПЭ соответственно (AUC=0,918 и 0,834).

Значения вазодилатации у пациенток с ранней ПЭ ассоциируются с сайтами rs1800629 гена *TNF- $\alpha$*  и rs1800896 гена *IL-10*. Для носителей генотипов AA+AG и AA этих локусов характерен более низкий уровень V%accel, чем для гомозигот GG обоих полиморфизмов ( $p=0,043-0,045$ ). Гомозиготы BB локуса BsmI (rs1544410) гена *VDR* беременных с поздней ПЭ характеризуются значимо меньшими значениями V%accel по сравнению с носителями гомозиготного генотипа bb ( $p=0,043$ ).

Выделено 4 предиктора с расчетом коэффициентов B, включенных в модель индивидуальной оценки риска ранней ПЭ: данные генотипирования по rs1800896 гена *IL-10* ( $B_1=0,537$ ) и rs4986790 гена *TLR4* ( $B_2=0,389$ ), ПЭ в анамнезе ( $B_3=2,413$ ) и хронический пиелонефрит ( $B_4=1,297$ ), константа уравнения ( $B_0=-0,232$ ).

Модель расчета риска ранней ПЭ:  $p$  (ранняя ПЭ) =  $1/1+e^z$ , где  $p$  (ранняя ПЭ) – уровень риска болезни;  $e$  – основание натуральных логарифмов, а  $z$  рассчитывается с помощью уравнения:  $z = 0,537*X_1 + 0,389*X_2 + 2,413*X_3 + 0,614*X_4 - 0,232$ , где  $X_1$

– генотип GG – «1»; генотипы GA+AA – «2» сайта rs1800896 гена *IL-10*; X2 – генотип AA – «1»; генотипы AG+GG – «2» сайта rs4986790 гена *TLR4*; X3 – ПЭ в анамнезе: да – «1»; нет – «2»; X4 – хронический пиелонефрит: да – «1»; нет – «2».

Значение  $p$  (ранняя ПЭ)  $>0,472$  указывает на высокий риск, а  $<0,472$  на низкий риск болезни. Качество модели прогноза ранней ПЭ «очень хорошее» (AUC=0,801).

Для индивидуальной оценки риска поздней ПЭ также выделено 4 значимых предиктора: данные генотипирования по локусам rs1800896 гена *IL-10* ( $B_1=1,207$ ) и rs1799983 гена *NOS3* ( $B_2=0,923$ ), возраст старше 35 лет ( $B_3=1,429$ ) и ИМТ более 30 кг/м<sup>2</sup> ( $B_4=1,332$ ) и константа уравнения ( $B_0=0,361$ ).

Модель прогноза поздней ПЭ:  $p$  (поздняя ПЭ) =  $1/1+e^z$ , где  $p$  (поздняя ПЭ) – риск заболевания;  $e$  – основание натуральных логарифмов. Значение  $z$  рассчитывается с помощью уравнения:  $z = 1,207 \cdot X_1 + 0,923 \cdot X_2 + 1,429 \cdot X_3 + 1,332 \cdot X_4 + 0,361$ , где X1 - генотип GG - «1»; генотипы GA - «2», генотип AA - «3» сайт rs1800896 гена *IL-10*; X2 - генотип GG – «1»; генотипы GT+TT – «2» сайта rs1799983 гена *NOS3*; X3 - Возраст  $>35$  лет : да – «1»; нет – «2»; X4 – ИМТ  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>: да – «1»; нет – «2».

Значение  $p$  (поздняя ПЭ)  $>0,470$  указывает на высокий риск, а  $<0,470$  на низкий риск поздней ПЭ. Значение AUC=0,723. Качество модели для расчета индивидуального риска поздней ПЭ относится к рубрике «хорошего» качества.

## ВЫВОДЫ

1. Клинико-анамнестические независимые предикторы ассоциированы с ПЭ в зависимости от срока манифестации заболевания, и для ранней формы таковыми является: синдром поликистозных яичников, хронический пиелонефрит, для поздней ПЭ: возраст старше 35 лет, артериальная гипертензия у родственников первой степени родства, ИМТ  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>, а риск обеих форм этого осложнения беременности увеличивается при ПЭ в анамнезе.

2. Предрасполагающими генетическими факторами к развитию ранней ПЭ являются генотипы: BB+Bb локуса BsmI (rs1544410) гена *VDR*, AG+GG сайта rs4986790 гена *TLR4*, CC полиморфизма rs2070744 гена *NOS3*; поздней ПЭ – генотипы GT+TT сайта rs 1799983 гена *NOS3*, а риск обеих форм заболевания ассоциирован с генотипами GA и AA локуса rs1800896 гена *IL-10*.

3. Тяжелое течение ПЭ определяется молекулярными вариантами генов: rs2070744 *NOS3* (TC+CC), rs1800896 *IL-10* (GA+AA), rs4986790 *TLR4* (AG+GG), BsmI (rs1544410) *VDR* (BB) + rs2070744 *NOS3* (CC) при ранней форме заболевания и rs1800896 *IL-10* (AA), rs1800629 *TNF- $\alpha$*  (GA+AA) + rs1800896 *IL-10* (AA), rs1799983 *NOS3* (GT+TT) при для поздней ПЭ. Задержка роста плода при ранней ПЭ ассоциирована с rs2070744 *NOS3* (TC+CC), BsmI (rs1544410) *VDR* (BB+Bb), при поздней с rs1799983 *NOS3* (GT+TT), BsmI (rs1544410) *VDR* (Bb), а присутствие в генотипе вариантов rs1800629 *TNF- $\alpha$*  (GA+AA) является фактором риска задержки роста плода при обеих формах ПЭ.

4. Концентрация вДНК в плазме крови матери является значимым прогностическим маркером ранней ПЭ (AUC=0,785), а так же демонстрирует высокое качество диагностических моделей этого осложнения беременности, тяжелого течения заболевания, задержки роста плода у пациенток с ранним началом ПЭ (AUC=0,722-0,854). Высокие по качеству модели на основании уровня циркулирующей воДНК получены для диагностики задержки роста плода и тяжелого течения заболевания при раннем начале ПЭ (AUC=0,721-0,840), а так же тяжелой поздней ПЭ (AUC=0,704).

5. Сосудодвигательная функция эндотелия нарушается в доклиническую стадию ранней ПЭ, а ее уровень является значимым маркером прогноза этого осложнения гестации (AUC=0,702). Манифестация ПЭ характеризуется значимым снижением вазорелаксирующих свойств МК, наиболее выраженным при раннем начале ПЭ, а уровень эндотелий-зависимой вазодилатации определяет диагностическую модель высокого качества для тяжелой степени заболевания (AUC=0,834–0,918) и задержки роста плода (AUC= 0,811–0,901) у пациенток с обеими формами ПЭ.

6. Проявления эндотелиальной дисфункции в МК при ранней ПЭ наиболее выражено у носителей генотипов AA+AG полиморфизма rs1800629 гена *TNF- $\alpha$*  и генотипа AA локуса rs1800896 гена *IL-10*, а генотип BB сайта BsmI (rs1544410) гена *VDR* ассоциирован с наиболее низкими показателями эндотелий-зависимой вазодилатации у беременных с поздней ПЭ.

7. Разработаны модели оценки индивидуального риска ранней ПЭ, включающей результаты генотипирования по локусам rs1800896 гена *IL-10* и rs4986790 гена *TLR4*,

сведения о ПЭ в анамнезе, хронический пиелонефрит, имеющей высокое качество (AUC=0,801) и поздней ПЭ с предикторами: генотипы сайтов rs1800896 гена *IL-10* и rs1799983 гена *NOS3*, возраст старше 35 лет, ИМТ  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>, с высоким качеством (AUC=0,723) модели.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для дифференцированного формирования групп риск по развитию ранней и поздней ПЭ при постановке на учет по беременности необходимо придерживаться установленных клиничко-анамнестических рисков факторов этих осложнений гестации с учетом их прогностического веса для каждого заболевания. В группу риска ранней ПЭ необходимо относить беременных с хроническим пиелонефритом и СПКЯ. В группу риска поздней ПЭ женщин старше 35 лет, с анамнезом по АГ у родственников первой степени родства и клинически выраженным ожирением. Общими факторами риска для ранней и поздней ПЭ необходимо считать ПЭ в анамнезе.

2. В клиническую практику с целью выделения групп высокого риска развития ранней и поздней ПЭ, а также осложнений этих заболеваний для разработки эффективных индивидуальных профилактических мероприятий целесообразно внедрение метода генетического тестирования при постановке на учет по беременности. Типирование полиморфных локусов rs1799983 и rs2070744 гена *NOS3*, BsmI (rs1544410) и TaqI (rs731236) гена *VDR*, rs4986790 гена *TLR4*, rs1800896 гена *IL-10* позволяет выявить лиц с предрасположенностью к развитию ПЭ, а также неблагоприятным акушерским и перинатальным исходам при этих осложнениях беременности.

3. В перечень скрининговых исследований для расчета объективных прогностических критериев ранней ПЭ рекомендуется включать: анализ уровня вДНК в плазме крови матери (в 15-18 недель гестации) и оценку эндотелий-зависимой вазодилатации в МК (в 18-22 недели беременности). Пороговыми значениями для эффективного прогнозирования ранней ПЭ считать концентрацию вДНК  $>0,87$  нг/мл и уровень  $V\%accel \leq 15,1$  %.

4. Пациенткам с клиничко-лабораторными признаками ПЭ рекомендован количественный анализ внеклеточных форм ДНК в плазме крови. При достижении пороговых значений воДНК  $>21,0$  нг/мл и вДНК  $>1,45$  нг/мл у беременных с ранней ПЭ

фиксируются дополнительные критерии задержки роста плода, а при воДНК >22,1 нг/мл и впДНК >1,61 нг/мл диагностические признаки тяжелой формы заболевания.

5. На этапе диагностического поиска при формировании развернутого диагноза у беременных с гипертензивными расстройствами рекомендуется анализировать эндотелий-зависимую вазодилатацию в МК. При снижении коэффициента  $V\%_{\text{accel}} \leq 17,7\%$  и  $\leq 18,1\%$  в случае поздней формы ПЭ диагностируются задержка роста плода и тяжелая степень заболевания. В свою очередь уровень  $V\%_{\text{accel}} \leq 17,5\%$  и  $\leq 17,2\%$  являются диагностическими маркерами этих патологических состояний, отягощающих течение ранней ПЭ. Полученная дополнительная диагностическая информация, основанная на специфических маркерах, отражающих тяжесть расстройств в фето-плацентарной области и МК, позволяет оптимизировать алгоритм ведения этих пациенток в части выбора метода и срока родоразрешения.

6. Для оценки индивидуального риска ПЭ предложены модели прогноза:

Для ранней ПЭ – модель, включающая данные генотипирования по локусам rs1800896 гена *IL-10*, rs4986790 гена *TLR4*, сведения о перенесенной ПЭ и хроническом пиелонефрите. Расчет производится по формуле:  $p(\text{ранняя ПЭ}) = 1/1+e^z$ , где  $z = 0,537 \cdot x_{IL-10} + 0,389 \cdot x_{TLR4} + 2,413 \cdot x_{\text{аПЭ}} + 1,297 \cdot x_{\text{ХП}} - 0,232$  (значение  $p(\text{ранняя ПЭ}) > 0,472$  указывает на высокий риск болезни).

Для поздней ПЭ – модель, включающая сведения о генотипах сайтов rs1800896 гена *IL-10*, rs1799983 гена *NOS3*, возраст >35 лет, ИМТ  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>.

Расчет производится по формуле:  $p(\text{поздняя ПЭ}) = 1/1+e^z$ , где  $z = 1,207 \cdot x_{IL-10} + 0,923 \cdot x_{NOS3} + 1,429 \cdot x_{\text{Возраст}} + 1,332 \cdot x_{\text{ИМТ}} + 0,361$  (уровень  $p(\text{поздняя ПЭ}) > 0,470$  указывает на высокий риск заболевания).

**Список работ, опубликованных по теме диссертации**

1. Патент №2478966 Российская Федерация, МПК *G01N 33/50*. Способ оценки тяжести преэклампсии / Радьков О.В., Заварин В.В., Логутова Л.С., Вольф Ю., Дадабаев В.К.; заявитель и патентообладатель Радьков О.В. – № 2012103655/15; заявл. 24.01.12; опубл. 10.04.13, Бюл. № 10.
2. Вольф, Ю. Сосудистые нарушения в фетоплацентарной системе при артериальной гипертензии / Ю. Вольф, Д.В. Баженов, И.И. Стольникова, Ю.В. Раскуратов // **Морфология**. – 2008. – Т. 133. – № 2. – С. 26.
3. Вольф, Ю. Высокочастотная ультразвуковая доплерография у беременных с артериальной гипертензией – опыт применения в клинике / Ю. Вольф, И.И. Стольникова, О.В. Радьков // **Материалы X Юбилейного Всероссийского научного форума «Мать и Дитя»**. – М., 2009. – С. 39–40.
4. Стольникова, И.И. Особенности микроциркуляции у беременных с артериальной гипертензией (данные ультразвуковой доплерографии) / И.И. Стольникова, О.В. Радьков, Ю. Вольф // **Материалы IV Национального конгресса терапевтов**. – М., 2009. – С. 50–51.
5. Радьков, О.В. Влияние гипотензивной терапии на микроциркуляцию у беременных с гипертонической болезнью / О.В. Радьков, Ю. Вольф // **Тезисы Российской конференции «Артериальная гипертензия – спорные и нерешенные вопросы»**. – Клиническая медицина. – 2010. – Прил.1. – С. 68–69.
6. Радьков, О.В. Показатели суточного профиля артериального давления у беременных с хронической артериальной гипертензией в динамике беременности / О.В. Радьков, Ю. Вольф, И.В. Елисеева // **Профилактическая медицина**. – 2011. – Т. 14. – № 1. – С. 61–62.
7. Радьков, О.В. Влияние полиморфизмов генов *NOS3* и *GNB3* на реактивность микрососудов кожи у беременных с нормальным течением гестации / О.В. Радьков, Ю. Вольф // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины**. – 2013. – Т. 155. – № 1. – С. 89–92.
8. Радьков, О.В. Полиморфизм гена толл-подобного рецептора 4 и риск артериальной гипертензии у беременных: исследование случай - контроль / О.В. Радьков, Л.Н.

- Коричкина, О.В. Сизова, Е.К. Парамонова, Ю. Вольф // **Международный научно-исследовательский журнал**. – 2017. – Т. 65. – № 11. – Часть 3. – С. 43–45.
9. Вольф, Ю. Полиморфизмы генов цитокинов и восприимчивость к ранней и поздней преэклампсии / Ю. Вольф, О.В. Радьков, Л.Н. Коричкина, О.В. Сизова, Е.К. Парамонова // **Современные проблемы науки и образования**. – 2017. – № 6. – URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27222>.
10. Радьков, О.В. Молекулярные биомаркеры прогнозирования и диагностики преэклампсии / О.В. Радьков, Л.Н. Коричкина, О.В. Сизова, Ю. Вольф, Е.К. Парамонова // **Acta Biomedica Scientifica**. – 2018. – Т. 3. – № 2. – С. 20–24.
11. Радьков, О.В. Способ оценки тяжести преэклампсии / О.В. Радьков, Н.И. Блинова, Ю. Вольф, О.В. Сизова, Ю.С. Нечаева // Материалы XVIII Всероссийского научно-образовательного форума «Мать и Дитя». - М., 2017. - С. 64-65.
12. Сизова, О.В. Метаболизм натрия у беременных с преэклампсией / О.В. Сизова, О.В. Радьков, Ю.С. Нечаева, Н.И. Блинова, Ю. Вольф, И.В. Елисеева // Материалы XVIII Всероссийского научно-образовательного форума «Мать и Дитя». – М., 2017. – С. 71–72.
13. Вольф, Ю. Ассоциация полиморфизмов генов *TLR4* и *VDR* с риском ранней преэклампсии / Ю. Вольф, О.В. Радьков, О.В. Сизова // Материалы Международного конгресса «Большие акушерские и неонатальные синдромы – патофизиология и клиническая практика». – С.-Пб., 2017. – С. 10–11.
14. Радьков, О.В. Ассоциация полиморфизма rs4986790 гена *TLR4* с риском артериальной гипертензии у беременных / О.В. Радьков, Л.Н. Коричкина, Ю. Вольф, О.В. Сизова // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2017. – Т.20. – №4. – С. 83–85.
15. Сизова, О.В. Генетические аспекты преэклампсии и хронической артериальной гипертензии (обзор литературы) / О.В. Сизова, Е.К. Парамонова, Ю. Вольф, Л.Н. Коричкина, Н.И. Блинова, О.В. Радьков // Верхневолжский медицинский журнал. – 2017. – Т. 17. – Вып. 3. – С. 33–37.
16. Вольф, Ю. Модели прогноза индивидуального риска артериальной гипертензии у беременных / Ю. Вольф, О.В. Сизова, Е.К. Парамонова, О.В. Радьков // Материалы Российского национального конгресса кардиологов. - М., 2018. – С. 416.