



## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 33/582 (2025.01); C12Q 1/6806 (2025.01); C12Q 1/6827 (2025.01); C12Q 1/686 (2025.01); C12Q 1/6876 (2025.01); C12Q 1/6883 (2025.01)

(21)(22) Заявка: 2024125629, 02.09.2024

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
02.09.2024

Дата регистрации:

14.02.2025

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 02.09.2024

(45) Опубликовано: 14.02.2025 Бюл. № 5

Адрес для переписки:

308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, НИУ  
"БелГУ", Крылова Анна Сергеевна

(72) Автор(ы):

Абрамова Мария Юрьевна (RU),  
 Чурносова Мария Михайловна (RU),  
 Пономаренко Ирина Васильевна (RU),  
 Чурносов Михаил Иванович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное автономное  
 образовательное учреждение высшего  
 образования "Белгородский государственный  
 национальный исследовательский  
 университет" (НИУ "БелГУ") (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2568892 C1, 20.11.2015. RU  
2653765 C1, 14.05.2018. RU 2638785 C1,  
15.12.2017. RU 2723627 C1, 17.06.2020.

АБРАМОВА М.Ю. Генетические маркеры  
 тяжелого течения преэклампсии. Научные  
 результаты биомедицинских исследований.  
 2022; 8(3): 305-316. CHURNOSOV M. et al.  
 Polymorphisms of hypertension susceptibility  
 genes as a risk factors of preeclampsia (см.  
 прод.)

(54) Способ прогнозирования риска развития преэклампсии тяжелого течения

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к акушерству и гинекологии, биотехнологии и медицинской генетике, и может быть использовано для прогнозирования риска развития преэклампсии тяжелого течения. Из лейкоцитов периферической венозной крови выделяют ДНК. Исследуют полиморфные локусы генов TBX2, OBFC1, RGL3, BAG6, AC026703.1. В случае выявления комбинации полиморфных локусов rs8068318 CC TBX2 × rs4387287 AA OBFC1 × rs167479 GG RGL3 × rs805303 AA BAG6

× rs1173771 GG AC026703.1 прогнозируют высокий риск развития преэклампсии тяжелого течения. Способ обеспечивает получение новых критериев оценки риска развития преэклампсии тяжелого течения у женщин русской национальности на основе данных о межлокусном взаимодействии полиморфных локусов rs8068318 гена TBX2, rs4387287 гена OBFC1, rs167479 гена RGL3, rs805303 гена BAG6, rs1173771 гена AC026703.1. 5 ил., 6 пр.

(56) (продолжение):

in the Caucasian population of central Russia. *Placenta*. 2022 Nov; 129: 51-61. Epub 2022 Sep 20. ABRAMOVA M. et al. Effects of Pre-Pregnancy Overweight/Obesity on the Pattern of Association of Hypertension Susceptibility Genes with Preeclampsia. *Life (Basel)*. 2022 Dec 3; 12(12): 2018.

R U 2 8 3 4 8 0 9 C 1

R U 2 8 3 4 8 0 9 C 1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*G01N 33/58* (2006.01)  
*C12Q 1/6806* (2018.01)  
*C12Q 1/6827* (2018.01)  
*C12Q 1/686* (2018.01)  
*C12Q 1/6876* (2018.01)  
*C12Q 1/6883* (2018.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*G01N 33/582* (2025.01); *C12Q 1/6806* (2025.01); *C12Q 1/6827* (2025.01); *C12Q 1/686* (2025.01); *C12Q 1/6876* (2025.01); *C12Q 1/6883* (2025.01)

(21)(22) Application: **2024125629, 02.09.2024**

(24) Effective date for property rights:  
**02.09.2024**

Registration date:  
**14.02.2025**

Priority:

(22) Date of filing: **02.09.2024**

(45) Date of publication: **14.02.2025** Bull. № 5

Mail address:

**308015, g. Belgorod, ul. Pobedy, 85, NIU "BelGU",  
Krylova Anna Sergeevna**

(72) Inventor(s):

**Abramova Mariia Iurevna (RU),  
Churnosova Mariia Mikhailovna (RU),  
Ponomarenko Irina Vasilevna (RU),  
Churnosov Mikhail Ivanovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe  
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego  
obrazovaniia "Belgorodskii gosudarstvennyi  
natsionalnyi issledovatel'skii universitet" (NIU  
"BelGU") (RU)**

(54) **METHOD FOR PREDICTION OF RISK OF SEVERE PREECLAMPSIA**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, namely to obstetrics and gynaecology, biotechnology and medical genetics, and can be used to predict the risk of severe preeclampsia. DNA is recovered from peripheral venous blood leukocytes. Examined are polymorphic loci of genes TBX2, OBFC1, RGL3, BAG6, AC026703.1. In case of detecting a combination of polymorphic loci rs8068318 CC TBX2 × rs4387287 AA OBFC1 × rs167479 GG RGL3 × rs805303 AA

BAG6 × rs1173771 GG AC026703.1, high risk of severe preeclampsia is predicted.

EFFECT: method provides obtaining new criteria for assessing the risk of developing severe preeclampsia in Russian women based on data on interlocus interaction of polymorphic loci rs8068318 of the TBX2 gene, rs4387287 of the OBFC1 gene, rs167479 of the RGL3 gene, rs805303 of the BAG6 gene, rs1173771 of the AC026703\_1 gene.

1 cl, 5 dwg, 6 ex

RU 2 834 809 C1

RU 2 834 809 C1

Изобретение относится к области медицины, а именно акушерству и гинекологии, биотехнологии и медицинской генетике и может быть использовано для раннего прогнозирования риска развития преэклампсии тяжелого течения у женщин русской национальности.

5 Преэклампсия (ПЭ) представляет собой грозное осложнение гестации, клинически характеризующееся артериальной гипертензией (более 140/90 мм рт. ст.), протеинурией (более 0,3 г/сут) и развитием отеков с нарушением работы различных органов и систем. Согласно различным литературным данным, ПЭ осложняет течение беременности в 3-8% всех случаев и является одной из основных причин неонатальной и материнской  
10 заболеваемости и смертности [Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin Summary, Number 222 / Obstet Gynecol // 2020; 135(6): 1492-1495.]. Согласно материалам, опубликованным Федеральной службой государственной статистики (Росстат) в Статистическом сборнике 2020 г., отеки, протеинурия и гипертензивные расстройства осложнили течение беременности в 84,2 всех случаев (на 1000 родов)  
15 [Состояние здоровья беременных, рожениц, родильниц и новорожденных. Статистический сборник 2020. Москва, 2020].

Принципиальное значение в клинической практике для определения прогноза и тактики ведения данной беременности имеет разделение ПЭ на два фенотипа: с ранним началом (до 34 недели гестации) и с поздним - после 34 недели гестации [Roberts J.M. et  
20 al. Global Pregnancy Collaboration. Subtypes of Preeclampsia / Recognition and Determining Clinical Usefulness. Hypertension // 2021; 77(5):1430-1441]. Нарушение инвазии вневорсинчатого цитотрофобласта и неполноценное ремоделирование спиральных маточных артерий приводит к патоморфологическим изменениям маточно-плацентарного кровотока и ранней манифестации ПЭ, в основном, тяжелого течения  
25 [Сюндюкова Е.Г., Чулков В.С., Рябикина М.Г. Преэклампсия: современное состояние проблемы. Доктор. Ру. 2021; 20(1): 11-16]. Развитие поздней ПЭ обусловлено, преимущественно, наличием особенностей функционирования сердечно-сосудистой системы и гемодинамики матери и сопровождается умеренным течением. Тяжелое течение ПЭ сопряжено с более высокими рисками развития неблагоприятных  
30 последствий. Так у 42% женщин с тяжелым течением ПЭ в течение года после родоразрешения сохраняется стойкая артериальная гипертензия (АТ), а в отдаленном будущем риск развития сердечно-сосудистых заболеваний более чем в 10 раз выше в сравнении с поздним формированием ПЭ с умеренным течением [Hauspurg A., Countouris M.E., Catov J.M. Hypertensive Disorders of Pregnancy and Future Maternal Health: How Can the Evidence Guide Postpartum Management? / Curr Hypertens Rep // 2019; 21(12):96]. Однако,  
35 не смотря на различные молекулярные механизмы, лежащие в основе патогенеза этих фенотипов, дифференцировать между собой два типа ПЭ только на основе определения биохимических параметров не представляется возможным, что предопределяет актуальность поиска новых специфичных для тяжелого течения ПЭ маркеров [Stepan H, Hund M, Andrzejek T. Combining Biomarkers to Predict Pregnancy Complications and Redefine Preeclampsia: The Angiogenic-Placental Syndrome / Hypertension // 2020; 75(4):918-926].  
40

Ген ТВХ2 кодирует белок T-box transcription factor 2 (ТВХ2), являющимся регулятором транскрипционной активности различных генов (<https://www.uniprot.org/>) и относится  
45 к членам филогенетически консервативного семейства генов с общим ДНК-связывающим мотивом (домен T-box) [24]. Ген ТВХ2 вовлечен в процессы морфогенеза различных органов и систем органов в эмбриогенезе, а также выступает ключевым звеном регуляции механизмов клеточной пролиферации, дифференцировки, апоптоза

и старения клеток [Takagi, Y., Shimada, K., Shimada, S., et al., SPIB is a novel prognostic factor in diffuse large B-cell lymphoma that mediates apoptosis via the PI3K-AKT pathway. *Cancer Sci.* 2016, 107(9):1270-1280.].

Ген *OBFC1* кодирует белок *OB Fold-containing Protein 1*, являющийся субъединицей альфа-вспомогательного фактора, который стимулирует активность комплекса ДНК-полимераза- $\alpha$ /Праймаза - фермента, инициирующего репликацию ДНК. Также, ген *OBFC1* является ключевым компонентом комплекса *CST*, который регулирует доступ теломеразы к теломерной ДНК и препятствуют ее укорочению. Теломеры защищают концы хромосом во время репликации ДНК от деградации и слияния и определяют продолжительность жизни клеток [Cardinale A, Cantalupo S, Fasorsa VA, et al. Functional annotation and investigation of the 10q24.33 melanoma risk locus identifies a common variant that influences transcriptional regulation of *OBFC1*. *Hum Mol Genet.* 2022;31(6):863-874].

Ген *RGF3* кодирует белок, относящийся к факторам обмена гуаниловых нуклеотидов (*Guanine nucleotide Exchange Factors (GEFs)*), и активирует работу малых гуанозинтрифосфат гидролаз (*ГТФазы*, малые *G-белки*) посредством облегчения их диссоциации с *GDP*. Установлено, что *GEFs* экспрессируются в эндотелиальных и гладкомышечных клетках артерий и участвуют в регуляции работы данных структур, что обуславливает потенциальную роль *GEFs* в развитии гипертензивных расстройств, включая ПЭ [Li M. et al. The Emerging Role of Rho Guanine Nucleotide Exchange Factors in Cardiovascular Disorders: Insights Into Atherosclerosis: A Mini Review // *Front Cardiovasc Med.* 2022. V. 8. P. 782098.]. Сигнальные пути с участием малых *G-белков* модулируют активность различных мембранных ионных каналов (эпителиального натриевого канала (*ENaC*),  $K^+$  - и  $Ca^{2+}$  -канала). Одним из ключевых факторов регуляции объема циркулирующей в организме жидкости, а следовательно, и АД, является реабсорбция ионов натрия в дистальных отделах нефронов через *ENaC* [Карпушев А. В. и соав. Роль малых *G-белков* в регуляции ионных каналов // *Успехи физиологических наук.* 2020. Т. 51. №1. С. 3-17]. Также, экспрессия *RPM/RGL3* ингибирует индукцию фактора транскрипции *Elk-1*, участвующего в процессах роста, дифференцировки и миграции клеток [66. Kasza A. Signal-dependent *Elk-1* target genes involved in transcript processing and cell migration // *Biochim. Biophys. Acta.* 2013. V. 1829 №10. P. 1026-1033].

Ген *BAG6* кодирует ремоделирующий ядерный белок, вовлеченный в процессы коррекции нативной структуры полипептидных цепей - молекулярный ко-шаперон семейства *BAG 6*. Ген *BAG6* индуцирует процесс апоптоза во время стресса эндоплазматического ретикулума, контролирует аутофагию митохондрий, опосредует гибель клеток, вызванную повреждением ДНК, участвует в регуляции цитотоксичности естественных киллеров (*NK-клеток*) и секреции провоспалительных цитокинов [Ponath V. et al. Secreted Ligands of the NK Cell Receptor *NKp30: B7-H6* Is in Contrast to *BAG6* Only Marginally Released via Extracellular Vesicles. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(4):2189].

Полиморфный локус *rs1173771* гена *AC026703.1* показал значимые ассоциации ( $p \leq 5 \times 10^{-8}$ ) с различными параметрами АД и АГ по результатам восьми полногеномных исследований, в ходе которых было установлено, что аллель *G* исследуемого полиморфного локуса ассоциирован с повышением показателей САД, ДАД, ПД, в то время как аллель *A* выполняет «протективную» функцию в отношении развития АГ и связан с более низкими уровнями САД, ДАД, ПД и СрАД [Churnosov M. et al., Polymorphisms of hypertension susceptibility genes as a risk factors of preeclampsia in the Caucasian population of central Russia / *Placenta* // 2022; 129: 51-61].

Для оценки сложившейся патентной ситуации был выполнен поиск по охраняемым документам за период с 1990 по 2023 гг. Анализ документов производился по

направлению: способ прогнозирования риска развития преэклампсии в зависимости от данных о полиморфных локусах генов TBX2, OBFC1, RGL3, BAG6, AC026703.1. Источник информации: сайт Федерального института промышленной собственности <http://fips.ru>.

5 В изученной научно-медицинской и доступной патентной литературе авторами не было обнаружено способа прогнозирования риска развития преэклампсии у женщин русской национальности на основе данных о межлокусном взаимодействии генов TBX2, OBFC1, RGL3, BAG6, AC026703.1

10 Из области техники известен патент №2730958 «Способ диагностики тяжелой преэклампсии у беременных» по заявке №2019122327, от 16.07.2019. Способ включает определение в плазме крови беременной концентрации внеклеточной ДНК (вк ДНК), число копий рибосомальной ДНК в составе внеклеточной ДНК (вк рДНК), число копий митохондриальной ДНК в составе внеклеточной ДНК (вк мтДНК), нуклеазную активность ДНКазы 1; в ядерной ДНК лейкоцитов определяют число копий геномной рибосомальной ДНК (геном рДНК), число копий геномной митохондриальной ДНК (геном мтДНК) и при вк ДНК более 1000 нг/мл, вк рДНК более 1000, вк мтДНК более 200, отношении вк рДНК к геном рДНК более 2, отношении вк мтДНК к геном мтДНК более 1,64, нуклеазной активности ДНКазы 1 более 10 ед/мл - диагностируют тяжелую преэклампсию. Недостатками метода являются: дороговизна исследований, проведение  
15  
20 большого количества сложных манипуляций и расчетов; невозможность прогнозирования риска развития преэклампсии на прегравидарном этапе.

В патенте №2723627 описан «Способ прогнозирования тяжелой преэклампсии у беременных при носительстве мутации гена протромбина, генотип F2G20210A» по заявке №2019131765, от 08.10.2019. Способ включает исследование крови беременных  
25 в сроке 7-8 недель, отличающийся тем, что определяют активность протромбина путем использования дефицитной по субстрату плазмы, и при выявлении активности протромбина >180%, при том условии, что 100% соответствует концентрации протромбина в плазме 1 МЕ/мл, делают вывод о риске развития тяжелой преэклампсии. Недостатками метода являются: возможность прогнозирования только тяжелого  
30 течения преэклампсии; данный способ информативен только в когорте женщин-носительниц мутации гена протромбина F2G20210A; невозможность прогнозирования риска развития преэклампсии на прегравидарном этапе.

За прототип выбран патент №2653765 «Способ прогнозирования риска развития преэклампсии тяжелого течения с учетом генетических данных» по заявке №2017113408,  
35 от 18.04.2017. Данный способ включает выделение ДНК из периферической венозной крови и анализ полиморфизмов генов MMP-2 (rs243865), MMP-8 (rs11225395), MMP-8 (rs1320632), MMP-9 (rs17577). Фактором риска развития ПЭ тяжелого течения является сочетание генетических вариантов G MMP-9 (rs17577) и G MMP-2 (rs243865). Комбинация T MMP-8 (rs11225395) и A MMP-9 (rs17577) имеет протективное значение  
40 для формирования преэклампсии тяжелого течения. Недостатком прототипа является ограниченность его применения, т.к. используется только анализ полиморфных локусов генов матриксных металлопротеиназ.

Задачей настоящего исследования является расширение арсенала способов диагностики, а именно создание способа прогнозирования риска развития тяжелой  
45 преэклампсии у женщин русской национальности на основе данных о межлокусном взаимодействии полиморфных локусов rs8068318, rs4387287, rs167479, rs805303, rs1173771.

Технический результат использования изобретения - получение новых критериев оценки риска развития преэклампсии тяжелого течения у женщин русской

национальности на основе данных о межлокусном взаимодействии полиморфных локусов rs8068318 гена TBX2, rs4387287 гена OBFC1, rs167479 гена RGL3, rs805303 гена BAG6, rs1173771 гена AC026703.1, включающий:

- выделение ДНК из лейкоцитов периферической венозной крови;

5 - анализ полиморфных локусов rs8068318 гена TBX2, rs4387287 гена OBFC1, rs167479 гена RGL3, rs805303 гена BAG6, rs1173771 гена AC026703.1.

- прогнозирование высокого риска развития преэклампсии у женщин русской национальности при выявлении комбинации генотипов rs8068318 CC TBX2 × rs4387287 AA OBFC1 × rs167479 GG RGL3 × rs805303 AA BAG6 × rs1173771 GG AC026703.1.

10 Новизна и изобретательский уровень заключаются в том, что из уровня техники не известна возможность прогноза развития преэклампсии тяжелого течения у женщин русской национальности на основе данных о межлокусном взаимодействии полиморфных локусов rs8068318 гена TBX2, rs4387287 гена OBFC1, rs167479 гена RGL3, rs805303 гена BAG6, rs1173771 гена AC026703.1.

15 Выделение геномной ДНК из периферической венозной крови осуществляют методом фенольно-хлороформной экстракции (Mathew, 1984) в два этапа. На первом этапе к 4 мл крови с ЭДТА добавляют 25 мл лидирующего буфера, содержащего 320 мМ сахарозы, 1% тритон X-100, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 10 мМ трис-HCl (pH=7,6). Полученную смесь перемешивают и центрифугируют при 4°C, 4000 об./мин. в течение 20 минут. После  
20 центрифугирования надосадочную жидкость сливают, к осадку добавляют 4 мл раствора, содержащего 25 мМ ЭДТА (pH=8,0) и 75 мМ NaCl, ресуспендируют. Затем прибавляют 0,4 мл 10% SDS, 35 мкл протеиназы К (10 мг/мл) и инкубируют образец при 37°C в течение 16 часов.

На втором этапе из полученного лизата последовательно проводят экстракцию ДНК  
25 равными объемами фенола, фенол-хлороформа (1:1) и хлороформа с центрифугированием при 4000 об/мин. в течение 10 минут. После каждого центрифугирования производят отбор водной фазы. ДНК осаждают из раствора двумя объемами охлажденного 96% этанола. После лиофилизации полученную ДНК  
30 растворяют в бидистиллированной, деионизованной воде и хранят при температуре -20°C. Выделенную ДНК используют для проведения полимеразной цепной реакции синтеза ДНК.

Анализ полиморфных локусов rs8068318, rs4387287, rs167479, rs805303, rs1173771 осуществлялся методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на термоциклере CFX-96 Real-Time System («Bio-Rad», США) с использованием стандартных  
35 олигонуклеотидных праймеров и зондов (синтезированы в ООО «Тест - Ген» (Ульяновск). Амплификация геномной ДНК производилась в реакционной смеси, суммарным объемом 10 мкл, включающей смесь для ПЦР - 4 мкл, Taq-полимеразу - 2 мкл, исследуемый образец (~30 нг ДНК/мкл) - 1 мкл, деионизованная вода - 3 мкл. Генотипирование исследуемых образцов осуществлялось с использованием  
40 программного обеспечения «CFX-Manager™» методом дискриминации аллелей по величинам относительных единиц флуоресценции (ОЕФ). Для полиморфного локуса rs8068318 гена TBX2 зонд с флуоресцентным красителем VIC соответствует аллелю Т, зонд с красителем FAM - аллелю С (фиг. 1), для полиморфного локуса rs4387287 гена OBFC1 зонд с флуоресцентным красителем VIC соответствует аллелю С, зонд с  
45 красителем FAM - аллелю А (фиг. 2), для полиморфного локуса rs167479 гена RGL3 зонд с флуоресцентным красителем VIC соответствует аллелю G, зонд с красителем FAM - аллелю Т (фиг. 3), для полиморфного локуса rs805303 гена BAG6 зонд с флуоресцентным красителем VIC соответствует аллелю G, зонд с красителем FAM -

аллелю А (фиг. 4), для полиморфного локуса rs1173771 гена AC026703.1 зонд с флуоресцентным красителем VIC соответствует аллелю G, зонд с красителем FAM - аллелю А (фиг. 5).

Изобретение характеризуется фигурами.

5 Фиг. 1. Дискриминации аллелей методом детекции TaqMan зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе CFX96 с детектирующей системой в режиме реального времени полиморфного локуса rs8068318 гена TBX2: ■-ТТ, ●-СС, ▲-СТ, ◆- отрицательный контроль.

10 Фиг. 2. Дискриминации аллелей методом детекции TaqMan зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе CFX96 с детектирующей системой в режиме реального времени полиморфного локуса rs4387287 гена OBFC1: ■-СС, ●-АА, ▲-АС, ◆- отрицательный контроль.

15 Фиг. 3. Дискриминации аллелей методом детекции TaqMan зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе CFX96 с детектирующей системой в режиме реального времени полиморфизма RGL3 (s167479): ■-GG, ●-ТТ, ▲-GT, ◆- отрицательный контроль.

20 Фиг. 4. Дискриминации аллелей методом детекции TaqMan зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе CFX96 с детектирующей системой в режиме реального времени полиморфного локуса rs805303 гена BAG6: ■-GG, ●-АА, ▲-AG, ◆- отрицательный контроль.

25 Фиг. 5. Дискриминации аллелей методом детекции TaqMan зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе CFX96 с детектирующей системой в режиме реального времени полиморфного локуса rs1173771 гена AC026703.1 ■-GG, ●-АА, ▲-AG, ◆- отрицательный контроль.

30 Для анализа ассоциации изучаемых полиморфных локусов с риском развития тяжелой преэклампсии у женщин русской национальности проведен расчет показателей отношения шансов (ОШ) и его 95% доверительного интервала (95% ДИ). Вычисления выполнялись методом логистической регрессии в статистическом пакете программы PLINK (размещен на электронном ресурсе <http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>) согласно четырех генетических моделей с введение поправок на ковариаты (возраст и индекс массы тела женщины до беременности) и множественные сравнения (применялся адаптивный пермутационный тест). Для изучения межлокусных взаимодействий, ассоциированных с развитием тяжелой преэклампсии, использовалась модификация метода Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) - MB-MDR. Выполнение MB-MDR проводилось в одноименной программе (версия 2.6) в среде R.

40 Возможность использования предложенного способа для оценки риска развития тяжелой преэклампсии у женщин русской национальности подтверждает анализ результатов наблюдений 452 беременных: 72 женщины с ПЭ тяжелого течения и 380 индивидуумов с умеренной преэклампсией. В выборки включались женщины русского этноса, которые родились и проживали в Центральном Черноземье России не имели  
45 родственных связей между собой. При включении в исследование женщина давала добровольное информированное согласие. Из исследования исключались женщины с многоплодной беременностью, имеющие другую патологию беременности (аномалии прикрепления и расположения плаценты, плацентарную недостаточность, реус-



конфликт, врожденные пороки развития плода (плода) и тяжелую соматическую патологию (АГ, СД и др.), отказавшиеся от участия в исследовании. Верификация диагноза ПЭ осуществлялась на основании наличия артериальной гипертензии и протеинурии. Диагноз ПЭ тяжелого течения устанавливался при наличии тяжелой АГ (ДАД более 110 мм рт. ст. и/или САД более 160 мм рт. ст.) и суточной протеинурии более 5 г/л в сочетании с одним или более критериев тяжелой ПЭ, указанных в клинических рекомендациях «Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия» (2016). При исключении признаков тяжелой ПЭ и наличии АГ (САД = 140-159 мм рт. ст. и/или ДАД = 90-109 мм рт. ст.) и протеинурии  $\geq 0,3$  г/л устанавливался диагноз ПЭ умеренного течения. Клиническое, клиничко-анамнестическое и клиничко-лабораторное обследование беременных было проведено на сроке родоразрешения, под контролем этического комитета медицинского института НИУ БелГУ.

Для анализа ассоциации полиморфных локусов rs8068318 гена TBX2, rs4387287 гена OBFC1, rs167479 гена RGF3, rs805303 гена BAG6, rs1173771 гена AC026703.1 с риском развития преэклампсии тяжелого течения у женщин русской национальности проведен расчет показателей отношения шансов (ОШ) и его 95% доверительного интервала (95% ДИ). Вычисления выполнялись методом логистической регрессии в статистическом пакете программы PLINK согласно аллельной, аддитивной, рецессивной, доминантной генетических моделей с введением поправок на ковариаты и множественные сравнения (выполнено не менее 1000 пермутационных процедур). В качестве статистически значимого уровня использовали значение  $P_{репл} < 0,05$ . Для изучения межлокусных взаимодействий, ассоциированных с развитием преэклампсии тяжелого течения, использовалась модификация метода Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) - MB-MDR. Выполнение MB-MDR проводилось в одноименной программе (версия 2.6) в среде R.

В ходе исследования установлено, что комбинации полиморфных локусов rs8068318 CC TBX2  $\times$  rs4387287 AA OBFC1  $\times$  rs167479 GG RGL3  $\times$  rs805303 AA BAG6  $\times$  rs1173771 GG AC026703.1 в рамках эпистатической модели пятилокусного взаимодействия ( $\beta = 2,88$ ;  $p = 0,01$ ), ассоциирована с высоким риском развития преэклампсии тяжелого течения у женщин русской национальности.

В качестве примеров конкретного применения разработанного способа приведено обследование женщин русской национальности, выполнено молекулярно-генетическое обследование по полиморфным локусам rs8068318 гена TBX2, rs4387287 гена OBFC1, rs167479 гена RGL3, rs805303 гена BAG6, rs1173771 гена AC026703.1

У женщины Р., на этапе прегравидарной подготовки после забора венозной крови из локтевой вены и последующего генотипирования выделенной ДНК установлена комбинация полиморфных локусов rs8068318 CC TBX2  $\times$  rs4387287 AA OBFC1  $\times$  rs167479 GG RGL3  $\times$  rs805303 AA BAG6  $\times$  rs1173771 GG AC026703.1. Согласно результатам генетического анализа, пациентка Р. включается в группу индивидуумов с высоким риском развития преэклампсии. При дальнейшем наблюдении у данной женщины на сроке 30 недель был установлен диагноз: преэклампсия тяжелого течения.

У женщины П., на этапе прегравидарной подготовки после забора венозной крови из локтевой вены и последующего генотипирования ДНК выявлена комбинация полиморфных локусов rs8068318 CC TBX2  $\times$  rs4387287 AA OBFC1  $\times$  rs167479 GG RGL3  $\times$  rs805303 AA BAG6  $\times$  rs1173771 GG AC026703.1. Согласно результатам молекулярно-генетического анализа, пациентка П. включается в группу индивидуумов с высоким риском развития преэклампсии. При дальнейшем наблюдении у данной женщины на

сроке 29 недель был установлен диагноз: преэклампсия тяжелого течения.

У женщины Г., обратившейся к врачу для планирования беременности, после забора венозной крови из локтевой вены и последующего генотипирования выделенной ДНК выявлена комбинация полиморфных локусов rs8068318 TC TBX2 × rs4387287 AA OBFC1 × rs167479 TT RGL3 × rs805303 GG BAG6 × rs1173771 AG AC026703.1. Согласно данным генотипирования пациентка Г. не включается в группу индивидуумов с высоким риском развития преэклампсии. При дальнейшем наблюдении у данной женщины при наступлении беременности не было выявлено клинических признаков преэклампсии в течение всего срока гестации.

У женщины Д., обратившейся к врачу для планирования беременности, после забора венозной крови из локтевой вены и последующего генотипирования геномной ДНК выявлена комбинация полиморфных локусов rs8068318 CC TBX2 × rs4387287 AA OBFC1 × rs167479 GT RGT3 × rs805303 GG BAG6 × rs1173771 AG AC026703.1. Согласно данным генотипирования пациентка Д. не включается в группу индивидуумов с высоким риском развития преэклампсии. При дальнейшем наблюдении у данной женщины при наступлении беременности не было выявлено клинических признаков преэклампсии в течение всего срока гестации.

У женщины Я., на этапе прегравидарной подготовки после забора венозной крови из локтевой вены и последующего генотипирования выделенной ДНК выявлена комбинация полиморфных локусов rs8068318 CT TBX2 × rs4387287 AA OBFC1 × rs167479 TT RGL3 × rs805303 AG BAG6 × rs1173771 AG AC026703.1. Согласно данным генотипирования пациентка Я. не включается в группу индивидуумов с высоким риском развития преэклампсии. При дальнейшем наблюдении у данной женщины при наступлении беременности не было выявлено клинических признаков преэклампсии в течение всего срока гестации.

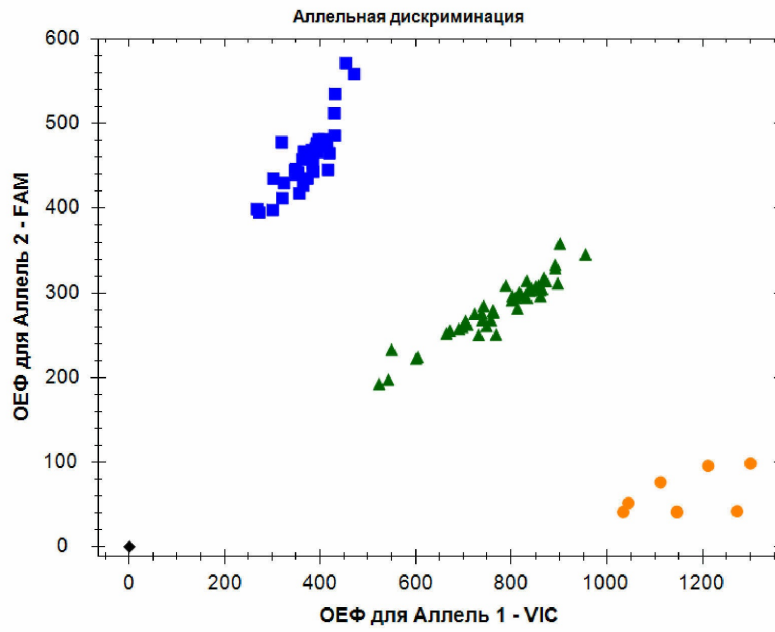
У женщины О., на этапе прегравидарной подготовки после забора венозной крови из локтевой вены и последующего генотипирования выделенной ДНК выявлена комбинация полиморфных локусов rs8068318 CT TBX2 × rs4387287 AG OBFC1 × rs167479 GG RGL3 × rs805303 AA BAG6 × rs1173771 AG AC026703.1. Согласно данным генотипирования пациентка О. не включается в группу индивидуумов с высоким риском развития преэклампсии. При дальнейшем наблюдении у данной женщины при наступлении беременности не было выявлено клинических признаков преэклампсии в течение всего срока гестации.

Применение данного способа позволит на прегравидарном этапе формировать среди женщин русской национальности группы риска и своевременно реализовывать в данных когортах необходимые лечебно-профилактические мероприятия по предупреждению развития преэклампсии тяжелого течения и развития ее осложнений.

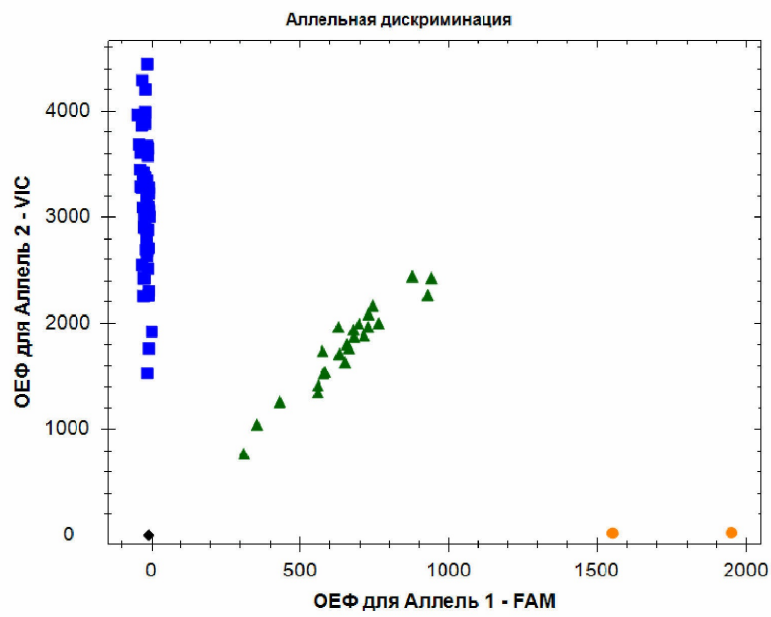
#### (57) Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития преэклампсии тяжелого течения, включающий выделение ДНК из лейкоцитов периферической венозной крови, отличающийся тем, что при исследовании полиморфных локусов генов TBX2, OBFC1, RGL3, BAG6, AC026703.1 в случае выявления комбинации полиморфных локусов rs8068318 CC TBX2 × rs4387287 AA OBFC1 × rs167479 GG RGL3 × rs805303 AA BAG6 × rs1173771 GG AC026703.1 прогнозируют высокий риск развития преэклампсии тяжелого течения.

1

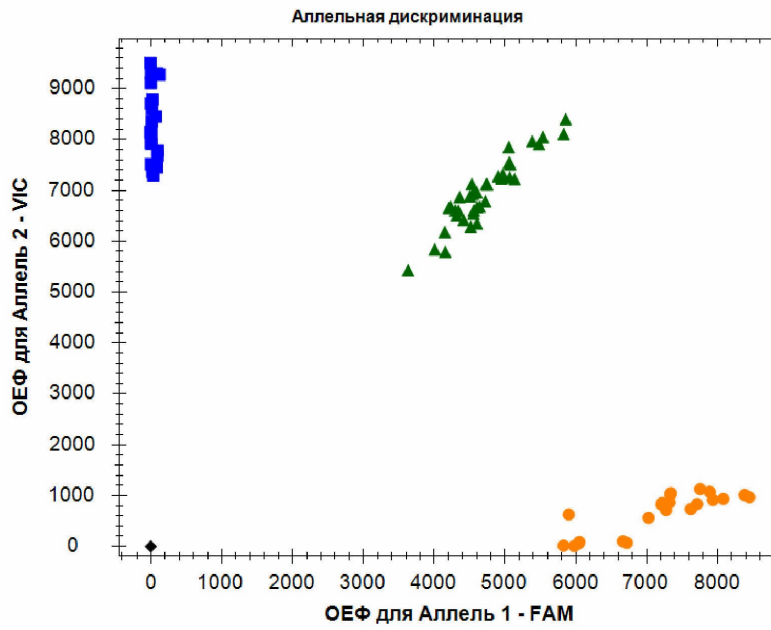


Фиг. 1

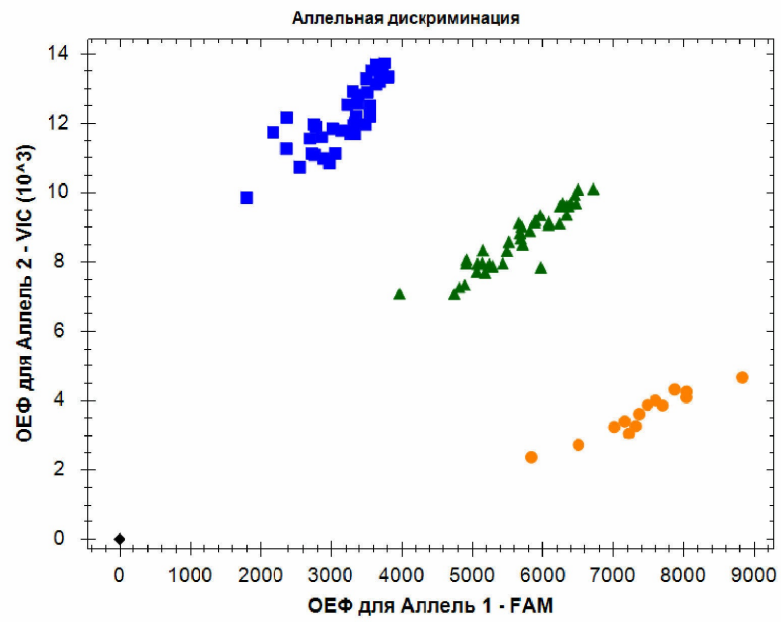


Фиг. 2

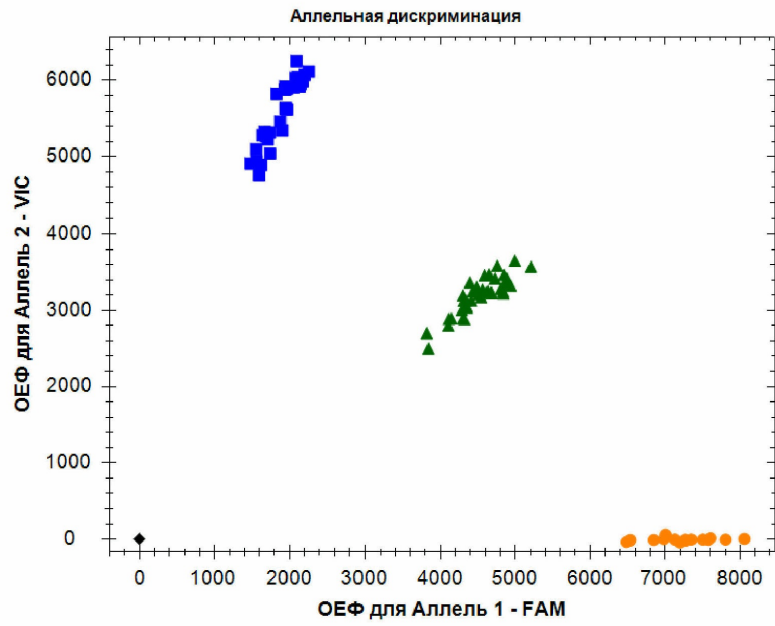
2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5