



(51) МПК  
*G01N 33/50* (2006.01)  
*C12Q 1/6806* (2018.01)  
*C12Q 1/6827* (2018.01)  
*C12Q 1/686* (2018.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
*G01N 33/50* (2022.05); *C12Q 1/6806* (2022.05); *C12Q 1/6827* (2022.05); *C12Q 1/686* (2022.05)

(21)(22) Заявка: 2021137576, 17.12.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 17.12.2021

Дата регистрации:  
 30.06.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 17.12.2021

(45) Опубликовано: 30.06.2022 Бюл. № 19

Адрес для переписки:

308015, Белгородская обл., г. Белгород, ул.  
 Победы, 85, НИУ "БелГУ", ОИС, Лебедевой  
 А.С.

(72) Автор(ы):

Решетников Евгений Александрович (RU),  
 Чурносов Михаил Иванович (RU),  
 Елыкова Анна Владимировна (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 2738680 C1, 15.12.2020. RU  
 2738674 C1, 15.12.2020. RU 2540928 C1,  
 10.02.2015. WO 2021123830 A1, 24.06.2021.  
 СЕРЕБРОВА В.Н. и др. Выявление новых  
 маркеров предрасположенности к  
 преэклампсии путем анализа регуляторных  
 участков генов, дифференциально  
 экспрессирующихся в плацентарной ткани.  
 Молекулярная биология. 2016; 50(5): 870-879.

(54) Способ прогнозирования риска развития задержки роста плода

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицинской  
 диагностики и предназначено для  
 прогнозирования риска развития задержки роста  
 плода (ЗРП) у неродственных пациенток.  
 Осуществляют выделение ДНК. Проводят  
 полимеразную цепную реакцию и анализ  
 полиморфизма генов. Повышенный риск развития  
 ЗРП прогнозирует выявление аллеля Т в рамках

аддитивной и рецессивной моделей полиморфного  
 варианта гена rs3771787 НК2. Изобретение  
 обеспечивает получение критериев оценки риска  
 развития ЗРП у беременных русской  
 национальности, уроженок Центрально-  
 Черноземного региона РФ, на основе данных об  
 аллеле Т полиморфного варианта гена rs3771787  
 НК2. 1 табл., 4 пр.

RU 2 775 435 C1

RU 2 775 435 C1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*G01N 33/50* (2006.01)  
*C12Q 1/6806* (2018.01)  
*C12Q 1/6827* (2018.01)  
*C12Q 1/686* (2018.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC  
*G01N 33/50* (2022.05); *C12Q 1/6806* (2022.05); *C12Q 1/6827* (2022.05); *C12Q 1/686* (2022.05)

(21)(22) Application: **2021137576, 17.12.2021**

(24) Effective date for property rights:  
**17.12.2021**

Registration date:  
**30.06.2022**

Priority:

(22) Date of filing: **17.12.2021**

(45) Date of publication: **30.06.2022** Bull. № 19

Mail address:

**308015, Belgorodskaya obl., g. Belgorod, ul. Pobedy, 85, NIU "BelGU", OIS, Lebedevoy A.S.**

(72) Inventor(s):

**Reshetnikov Evgenij Aleksandrovich (RU),  
Churnosov Mikhail Ivanovich (RU),  
Elykova Anna Vladimirovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego obrazovaniya "Belgorodskij gosudarstvennyj natsionalnyj issledovatel'skij universitet" (NIU "BelGU") (RU)**

(54) **METHOD FOR PREDICTING THE RISK OF FETAL GROWTH RETARDATION**

(57) Abstract:

FIELD: medical diagnostics.

SUBSTANCE: invention relates to the field of medical diagnostics and is intended to predict the risk of developing fetal growth retardation (FGR) in unrelated patients. The DNA is extracted. Polymerase chain reaction and analysis of gene polymorphism are carried out. An increased risk of developing IGR is predicted by the detection of the T allele in additive and

recessive models of the polymorphic variant of the rs3771787 HK2 gene.

EFFECT: invention provides obtaining criteria for assessing the risk of developing FGR in pregnant Russians, natives of the Central Black Earth region of the Russian Federation, based on data on the T allele of the polymorphic variant of the rs3771787 HK2 gene.

1 cl, 1 tbl, 4 ex

**RU 2 775 435 C1**

**RU 2 775 435 C1**

Изобретение относится к области медицинской диагностики и предназначено для прогнозирования риска развития задержки роста плода.

Плацентарная недостаточность является ключевой особенностью беременностей с задержкой роста плода (ЗРП). ЗРП определяется как патологическое торможение внутриутробного роста плода и неспособность плода достичь своего потенциала роста, при котором размеры плода ниже 10-го перцентиля для данного гестационного возраста (Early onset fetal growth restriction / A. Dall'Asta, V. Brunelli, F. Prefumo [et al.]. – DOI: 10.1186/s40748-016-0041-x // *Matern. Health Neonatol. Perinatol.* – 2017. – Vol. 3. – Art. 2. – URL: <https://mhnpjournal.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s40748-016-0041-x.pdf>).

Эмбриональный рост, как известно, является важным показателем исхода беременности и отражает взаимодействие физиологических и патологических факторов, влияющих на плод (Haram, K. Intrauterine growth restriction: effects of physiological fetal growth determinants on diagnosis / K. Haram, E. Sjøfteland, R. Bukowski. – DOI: 10.1155/2013/708126 // *Obstet. Gynecol. Int.* – 2013. – Vol. 2013. – Art. 708126. – URL: <https://www.hindawi.com/journals/ogi/2013/708126/>). Рост плода напрямую зависит от нормальной плацентации, так как плацента обеспечивает транспортную, трофическую, эндокринную и метаболическую функции. Необходимый уровень маточно-плацентарного кровообращения вместе с быстрым ангиогенезом ворсинок хориона являются ключевыми факторами, необходимыми для адекватного развития и функционирования плаценты и последующего роста плода. Нарушения развития плаценты могут возникать из-за неполного вторжения трофобласта, что приводит к неполному ремоделированию спиральных артерий и уменьшению маточно-плацентарного кровотока, и обычно связано с преэклампсией и задержкой роста плода (The placental basis of fetal growth restriction / R. L. Zur, J. C. Kingdom, W. T. Parks, S. R. Hobson // *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* – 2020. – Vol. 47, № 1. – P. 81-98.).

Преэклампсия занимает одно из ведущих мест в структуре перинатальной заболеваемости и смертности (Early-onset fetal growth restriction: a systematic review on mortality and morbidity / A. Pels, I. M. Beune, A. G. van Wassenaer-Leemhuis [et al.] // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2020. – Vol. 99, № 2. – P. 153-166.), а также обуславливает в дальнейшем у детей отставание в физическом развитии, его дисгармоничность, задержку темпов психомоторного развития (Ярыгина, Т. А. Задержка (замедление) роста плода: все, что необходимо знать практикующему врачу / Т. А. Ярыгина, А. И. Гус // *Акушерство и гинекология.* – 2020. – № 12. – С. 14-24.). На территории РФ в настоящее время данная патология встречается в 5-18% случаев (Darendeliler, F. IUGR: genetic influences, metabolic problems, environmental associations/triggers, current and future management / F. Darendeliler // *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2019. – Vol. 33, № 3. – Art. 101260. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521690X1930003X>).

Преэклампсия и задержка роста плода являются коморбидными осложнениями беременности, так как их развитие связано с аномальной плацентацией, развитием окислительного стресса, воспалительного процесса и формированием эндотелиальной дисфункции (Диагностическая значимость определения уровня внеклеточной фетальной ДНК у беременных с преэклампсией и задержкой роста плода / А. А. Садекова, З. В. Хачатрян, А. М. Красный [и др.] // *Акушерство и гинекология.* – 2019. – № 8. – С. 144-149.). Считается, что ранняя форма ЗРП регистрируется в 20-30% случаев и в том числе в 50% она связана с ранней ПЭ, тяжелой плацентарной недостаточностью и хронической гипоксией плода. На долю поздней формы приходится 70-80% всех случаев ЗРП и она значительно реже (лишь в 10% случаев) сочетается с ПЭ (Maršál, K. Preeclampsia and intrauterine growth restriction: placental disorders still not fully understood / K. Maršál // *J. Perinat.*

Med. – 2017. – Vol. 45, № 7. – P. 775-777).

Недостаточное ремоделирование спиральных артерий приводит к развитию острых атеротических изменений с накоплением пенных клеток и сужением их просвета.

Недостаточность кровоснабжения плода в дальнейшем приводят к задержке его развития и снижению веса при рождении (Failure of physiologic transformation of spiral arteries, endothelial and trophoblast cell activation, and acute atherosclerosis in the basal plate of the placenta / С. А. Labarrere, Н. L. DiCarlo, E. Bammerlin [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2017. – Vol. 216, № 3. – P. 287.e1-287.e16.).

Таким образом, окончательное ремоделирование плаценты происходит в конце первого/начале второго триместра беременности, когда плацента становится полностью гемохориальной. От нормального протекания данного процесса будет зависеть конечный размер плаценты и, следовательно, её функциональная способность. Эта подтверждается результатами исследований, свидетельствующими о том, что беременность, осложненная ЗРП, характеризуется меньшим объемом плаценты и более высоким индексом резистентности маточных артерий.

При многоплодной беременности риск возникновения ЗРП также выше, чем при одноплодной (до 20-30% при дихорионных и до 40% при монохорионных плацентах) (Townsend, R. Fetal growth restriction in twins / R. Townsend, A. Khalil // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. – 2018. – Vol. 49. – P. 79-88.).

Низкий вес до беременности и низкий прирост веса во время беременности также приводят к увеличению риска развития ЗРП (Different risk factors for very low birth weight, term-small-for-gestational-age, or preterm birth in Japan / N. Tamura, T. Hanaoka, K. Ito [et al.]. – DOI: 10.3390/ijerph15020369 // Int. J. Environ. Res. Public. Health. – 2018. – Vol. 15, № 2. – Art. 369. – URL: <https://www.mdpi.com/1660-4601/15/2/369>).

Так как плацента принимает непосредственное участие в регуляции росто-весовых показателей плода путем обеспечения транспорта различных веществ, иммунной защиты и нейроэндокринных функций, то нарушения её нормальной структуры будет связано с развитием плацентарной недостаточности и сопутствующих осложнений беременности (Burton, G. J. What is the placenta? / G. J. Burton, E. Jauniaux // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2015. – Vol. 213, № 4, suppl. – P. S6-S8.). Учитывая вышесказанное, логичным является изучение экспрессии генов плацентарной ткани, влияющих на вес и рост плода, и развитие таких нарушений беременности, как плацентарная недостаточность с задержкой роста плода. Проведенные исследования транскриптома плаценты у беременных с ЗРП выявляют различия в экспрессии генов по всему геному. Процессы, связанные с изменением экспрессии плацентарных генов, включают: ангиогенез, иммунные реакции, энергетический обмен и регуляцию роста (Identification of placental genes linked to selective intrauterine growth restriction (IUGR) in dichorionic twin pregnancies: gene expression profiling study / L. Biesiada, A. Sakowicz, M. Grzesiak [et al.] // Hum. Genet. – 2019. – Vol. 138, № 6. – P. 649-659.). Так как вес и рост плода является одним из показателей его развития, перспективным является полногеномный поиск ассоциаций (GWAS), ассоциированных с весом и ростом при рождении плода и поэтому влияющих на развитие плацентарной недостаточности. Учитывая вышесказанное, логичным является изучение экспрессии генов плацентарной ткани, влияющих на вес и рост плода, и развитие таких нарушений беременности, как плацентарная недостаточность с задержкой роста плода.

Ген НК2 кодирует гексокиназу 2, которая катализирует первый этап метаболизма глюкозы – фосфорилирование с образованием глюкозо-6-фосфата (<https://www.genecards.org/>).

С практической точки зрения представляется крайне необходимым выделение

критериев индивидуального прогнозирования риска развития ЗРП на основании исследованных полиморфных вариантов генов дифференциально экспрессирующихся в плаценте, а так же других возможных факторов риска с целью выявления беременных с развитием задержки роста плода.

5 В Российской Федерации исследования о вовлеченности полиморфного варианта гена rs3771787 НК2 в формирование предрасположенности к риску развития задержки роста плода у женщин отсутствуют.

Для оценки сложившейся патентной ситуации был выполнен поиск по охраняемым документам за период с 1990 по 2021 гг. Анализ документов производился по  
10 направлению: способ прогнозирования риска развития задержки развития плода в зависимости от полиморфного варианта гена rs3771787 НК2. Источники информации: сайты Федерального института промышленной собственности <http://fips.ru>.

В изученной научно-медицинской и доступной патентной литературе авторами не было обнаружено способа прогнозирования риска развития ЗРП на основе данных о  
15 полиморфном варианте гена НК2.

Известен способ прогнозирования задержки внутриутробного роста плода, отличающийся тем, что с ранних сроков беременности определяют относительное содержание CD3+CD16+56+-лимфоцитов, уровень С3-компонента комплемента и растворимого рецептора фактора некроза опухоли (sTNF-R) в венозной крови женщины,  
20 вычисляют прогностический индекс (PI) по формуле:

$$PI = -0,8911X1 - 0,0321X2 - 2,3669X3 + 11,0779,$$

где X1 - относительное содержание CD3+CD16+CD56+-лимфоцитов, %;

X2 - концентрация С3-компонента комплемента, мг/дл;

X3 - концентрация sTNF-R, нг/мл

и при PI менее 0 прогнозируют задержку внутриутробного роста плода во второй  
25 половине беременности, а при PI более 0 делают заключение о низком риске развития данного патологического состояния (патент РФ №2526178, от 20.08.2014). К недостаткам данного способа можно отнести многокомпонентность, сложный расчет, затрудняющий получение заключения о прогнозе, отсутствие сведений о точности и особенно  
30 специфичности способа, поскольку изменение многих иммунологических параметров, в том числе используемых CD+-лимфоцитов, имеет место и при преэклампсии, не учитываются генетические факторы (патент РФ №2265221, 2005).

Из области техники известен патент № 2677335C1 «Способ прогнозирования риска формирования суб- и декомпенсированной плацентарной недостаточности с  
35 исходом в синдром задержки роста плода на основе генетических особенностей энергетического обмена матери» по заявке № 2017138891, от 2017.11.08. Сущность способа: проводят определение наиболее информативных сочетаний патологических полиморфизмов генов энергетического обмена PPARD(-87C>T), PPARGC 1A(S482G G>A) и AMPD(Q12X G>A), а также исследование уровня липопротеинов низкой  
40 плотности (ЛПНП) и холестерина у матери. Затем вычисляют прогностический индекс D по формуле:  $D = 0,19 * X1 + 0,39 * X2 - 0,71 * X3 - 1,04 * X4 - 0,68 * X5 - 1,86$ , где D - прогностический индекс, X1 - уровень холестерина в ммоль/л в крови у женщины, X2 - уровень липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в ммоль/л в крови женщины, X3 - наличие у женщины генотипов, содержащих вариантный аллель - 87\_T полиморфного  
45 ДНК-локуса PPARD(-87C>T) в гомо- и гетерозиготном состоянии: если есть - 1, если нет - 0, X4 - наличие у женщины генотипов, содержащих вариантный аллель S482 A полиморфного ДНК-локуса PPARGC 1 A(S482G G>A) в гомо- и гетерозиготном состоянии: если есть -1, если нет - 0, X5 - наличие у женщины генотипов, содержащих

вариантный аллель Q12X\_A полиморфного ДНК-локуса AMPD(Q12X G>A) в гомо- и гетерозиготном состоянии: если есть - 1, если нет - 0, - 1,86 - CONST. Риск развития суб- и декомпенсированной плацентарной недостаточности с исходом в синдром задержки роста, оценивается в зависимости от величины показателя D: D<0 соответствует

5 высокому риску, D≥0 - низкому.

Недостатком данного способа является низкий уровень специфичности решения: изменение данных показателей может наблюдаться у женщин с ожирением, нарушением липидного обмена, атеросклерозом, данный способ ограничен в применении ввиду сложности и длительности его выполнения, а также не учитываются другие генетические

10 детерминанты.

Известен способ прогнозирования синдрома задержки роста плода (СЗРП) у женщин во втором триместре беременности, осложненной гестозом (патент № 2221253 С2 от 01.10.2004.). Для этого в периферической венозной крови определяют число тромбоцитов, активированное парциальное тромбопластиновое время, уровень

15 фибриногена и вычисляют прогностический индекс S по формуле:  $S = AK1 + BK2 + CK3 +$

const, где А - число тромбоцитов в  $10^9/л$ ; В - активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ); С - уровень фибриногена, г/л; К1, К2, К3 - коэффициенты, равные соответственно 0,02; 0,046; -0,06; const=-4.39, и если значение индекса S менее 0, то прогнозируют угрозу СЗРП, если значение S более 0, то

20 прогнозируют пропорциональное развития плода.

Недостатками способа являются: трудоемкость, так как требует определения трех показателей для вычисления прогностического критерия; в изобретении не указывается точный срок беременности, в котором следует проводить исследование и срок гестации, в котором прогнозируется развитие СЗРП; сложность математической обработки

25 результата по формуле; не учитываются генетические факторы.

Известен способ прогнозирования риска развития плацентарной недостаточности с синдромом задержки роста плода 2-3-ей степени у беременных, включающий забор периферической венозной крови, отличающийся тем, что после выделения ДНК проводят анализ полиморфизмов генов факторов коагуляции 20210G/A FII, 1691G/A FV, 10976G/A

30 FVII и прогнозируют повышенный риск развития плацентарной недостаточности с синдромом задержки роста плода 2-3-ей степени у беременных в случае выявления аллеля 10976G FVII и генотипа 10976GG FVII, а низкий риск прогнозируют при наличии

следующих комбинаций: генотипа 20210GG FII и аллеля 10976A FVII; аллелей 20210G FII, 10976A FVII с генотипом 1691GG FV; аллелей 20210G FII и 10976A FVII (патент РФ №2540928, от 10.02.2015). Недостатком данного способа в том, что не учитываются другие генетические полиморфизмы.

За прототип взят патент № 2646505 «Способ выявления наследственной предрасположенности к развитию задержки роста плода у курящих женщин» по заявке № 2017115003 от 27.04. 2017. Способ представляет собой исследование периферической

40 венозной крови, включающий выделение ДНК, проведение полимеразной цепной реакции и анализ полиморфизма генов женщин, отличающийся тем, что проводят анализ полиморфизма гена IL-10 G-1082A и при выявлении генотипов IL-10-1082A/A или IL-70-1082G/A делают вывод о наличии наследственной предрасположенности к задержке роста плода у курящих женщин. Недостатками указанного способа являются:

45 1. Использование в качестве маркера только одного генетического полиморфизма, что снижает статистическую мощность проведенного исследования; 2. Способ прогнозирования риска развития задержки роста плода может быть использован только у ограниченной группе, а именно, у курящих женщин.

Задачей настоящего исследования является расширение арсенала методов диагностики, а именно создание способа прогнозирования риска развития задержки роста плода на основе данных об аллеле Т полиморфного варианта гена rs3771787 НК2.

5 Технический результат использования изобретения – получение критериев оценки риска развития задержки роста плода у беременных русской национальности, уроженок Центрально – Черноземного региона РФ, на основе данных о полиморфного варианта гена rs3771787 НК2.

10 Технический результат достигается тем, что в известный способ, включающий выделение ДНК, проведение полимеразной цепной реакции и анализ полиморфизма генов женщин, внесены следующие новые признаки:

- анализ полиморфного варианта гена rs3771787 НК2;

- прогнозирование высокого риска развития ЗРП у беременных при выявлении аллеля Т полиморфного варианта гена rs3771787 НК2.

15 Новизна и изобретательский уровень заключаются в том, что из уровня техники не известна возможность прогноза развития ЗРП у беременных на основе данных об аллеле Т полиморфного варианта гена rs3771787 НК2.

Выделение геномной ДНК из периферической крови осуществляют методом фенольно-хлороформной экстракции (Miller, S. A. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells / S. A. Miller, D. D. Dykes, H. F. Polesky // Nucleic Acids. Res. – 1988. – Vol. 16, № 3. – P. 1215) в два этапа.

20 На первом этапе к 4 мл крови с ЭДТА добавляют 25 мл лизирующего буфера, содержащего 320мМ сахарозы, 1% тритон X-100, 5мМ MgCl<sub>2</sub>, 10мМ трис-HCl (pH=7,6). Полученную смесь перемешивают и центрифугируют при 4°C, 4000 об./мин. в течение 25 20 минут. После центрифугирования надосадочную жидкость сливают, к осадку добавляют 4 мл раствора, содержащего 25 мМ ЭДТА (pH=8,0) и 75 мМ NaCl, ресуспензируют. Затем прибавляют 0,4 мл 10% SDS, 35 мкл протеиназы К (10мг/мл) и инкубируют образец при 37°C в течение 16 часов.

30 На втором этапе из полученного лизата последовательно проводят экстракцию ДНК 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 35 растворяют в бидистиллированной, деионизованной воде и хранят при -20<sup>0</sup>С.

40 Генотипирование образцов ДНК было выполнено в Центре коллективного пользования «Медицинская геномика» Томского национального исследовательского медицинского центра РАН на базе НИИ медицинской генетики (использовался метод MALDI и масс-спектрометр MassARRAY Analyzer 4 (фирма производитель “Sequenom”, страна производства США). Для генотипирования использовали образцы ДНК в концентрации 10-20 нг в микролитре общим объемом 10 мкл. В процессе экспериментального анализа образцов выполняли следующие этапы: проведение мультиплексной ПЦР; осуществление SAP-реакции; выполнение iPLEX реакции с последующим обессоливанием и нанесением на SpectroCHIP; процедуры ионизации и анализа спектров с помощью масс-спектрометрии MALDI-TOF (Степанов, В. А. Мультиплексное генотипирование однонуклеотидных полиморфных маркеров методом масс-спектрометрии MALDI-TOF: частоты 56 SNP в генах иммунного ответа в популяциях человека / В. А. Степанов, Е. А. Трифонова // Молекулярная биология. – 2013. – Т. 47, № 6. – С. 976-986).

Ассоциации SNPs генов-кандидатов с формированием преэклампсии и задержки роста плода оценивали при помощи логистической регрессии с включением в расчеты трех моделей – аддитивной (модель 1), рецессивной (модель 2) и доминантной (модель 3), и поправкой на ковариаты (выявленные в работе средовые факторы риска) и множественные сравнения (использовались адаптивные пермутационные процедуры с расчетом показателя  $p_{perm}$ ). Финальную оценку статистической значимости выявленных ассоциаций выполняли с учетом дополнительно введенной поправки на множественные сравнения – поправки Бонферрони, равной 3, учитывающей число тестируемых генетических моделей (модели 1, 2 и 3). В конечном итоге, при рассмотрении самостоятельных эффектов SNPs показатель  $p_{perm} < 0,017$  принимался за статистически значимый. Для оценки направленности ассоциации использовался показатель отношения шансов ( $OR_{adj}$ ) и его 95% доверительный интервал ( $95\%CI_{adj}$ ). При показателе  $OR_{adj}$  большем единице связь оценивали как положительную (рассматриваемый генетический маркер является рисковым), а значение  $OR_{adj}$  меньше единицы указывало на отрицательную ассоциацию (изучаемый маркер выполняет «протективную роль»). Анализ ассоциаций осуществлялся с помощью программы gPLINK v2.050 (PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses / S. Purcell, B. Neale, K. Todd-Brown [et al.] // Am. J. Hum. Genet. – 2007. – Vol. 81, № 3. – P. 559-575).

Возможность использования предложенного способа для оценки прогнозирования риска развития ЗРП у беременных подтверждает анализ результатов наблюдений 904 пациенток, из них женщины с изолированной задержкой роста плода ( $n=194$ ) и беременные с сочетанием задержки роста плода с преэклампсией ( $n=79$ ) и 631 женщин контрольной группы. Основные медико-биологические и клиничко-анамнестические характеристики беременных с задержкой роста плода и женщин группы контроля отражены в таблице 1.

30

35

40

45



Общая характеристика беременных с задержкой роста плода и женщин контрольной группы

Показатели	Беременные с ЗПП (n =273)	Контрольная группа (n =631)	p
Средн. возраст, лет	27,18±4,84 (16-45)	26,57±4,94 (18-41)	<b>0,017</b>
Средн. рост, м	1,65±0,06	1,65±0,06 (1,47-1,99)	0,52
Средн. вес, кг	63,53±11,81	63,50±11,22 (42-100)	0,78
Средн. ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	23,40±4,31	23,40±3,47	0,23
Доля индивид. по ИМТ, даны % (кол-во): менее 18,50 18,50-24,99 25,00-29,99 более 30	8,69 (24) 66,30 (181) 14,29 (39) 10,62 (29)	5,55 (35) 66,72 (421) 22,19 (140) 5,55 (35)	<b>0,0001</b>
<b>Характер-ки менархе и менструального цикла</b>			
Средний возр. менархе, лет	12,80±1,14	12,83±1,17	0,51
Доля индивид. по возр. менархе, даны % (кол-во): менее 12 лет 12-14 лет более 14 лет	3,66 (10) 90,11 (246) 6,23 (17)	6,5 (41) 86,69 (547) 6,81 (43)	0,23
Длитель. менструальн. цикла, дни	28,11±1,64	28,05±1,93	0,19
Продолжительн. менструации, дни	5,02±0,85	5,04±1,03	0,93
<b>Репродуктив. характер-ки</b>			
Доля женщин с 1-ой беремен.	34,93 (95)	40,41 (255)	0,19
Кол-во беремен.	1,47±1,55	1,07±2,04	<b>0,004</b>
Кол-во родов	0,59±0,69	0,56±0,81	0,43
Кол-во мертворожд.	0,01±0,10	0,007±0,08	0,62
Кол-во спонтанных аборт	0,23±0,53	0,13±0,35	0,07
Кол-во медицинских аборт	0,64±0,99	0,37±0,78	<b>0,0001</b>
<b>Факторы риска</b>			
Курение	61,54 (168)	63,71 (402)	0,87
Алкоголь	81,68 (223)	79,72 (503)	0,79
Артериальная гипертензия до беременности	8,79 (24)	1,74 (11)	<b>0,0001</b>
ЗППП в анамнезе:	35,56 (16)	26,62 (168)	0,28
Преэклампсия в анамнезе	10,99 (30)	3,80 (24)	<b>0,001</b>
Задержка роста плода в анамнезе	19,78 (54)	0,79 (5)	<b>0,00001</b>

Примечание: ЗППП – заболевания, передающиеся половым путем; p – уровень значимости различий между сравниваемыми группами по критерию Краскела-Уоллиса.

В выборку для исследования вошли женщины с преэклампсией и/или задержкой роста плода и женщины контрольной группы (с физиологическим течением беременности), давшие свое информированное согласие на участие в данной исследовательской работе и соответствующие ряду критериев: русский этнос, место рождения и проживания – регион Центрального Черноземья России. Основаниями для исключения женщин из исследовательской выборки были отказ от участия в данной работе, наличие родства между ними различной степени, выявление тяжелых хр. заболеваний, проводящих к декомпенсации, нерусский этнос и иные (нежели Центральное Черноземье России) места рождения и/или проживания.

Клиническое, клинико-лабораторное, клинико-инструментальное обследование беременных и новорожденных детей, верификация диагноза осложнений беременности – ПЭ, ЗРП (или их отсутствие), сбор медико-биологической информации, результатов клинического, клинико-лабораторного, клинико-инструментального обследования беременных и новорожденных детей в специально разработанные анкеты и формирование электронной базы данных проводилось сертифицированными врачами профильных отделений перинатального центра Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа.

При расчете частот аллелей и анализе их ассоциаций у индивидуумов установлена связь полиморфного варианта гена rs3771787 НК2 с формированием задержки роста плода. Аллель Т полиморфного варианта гена rs3771787 НК2 связан с развитием ЗРП в рамках аддитивной ( $OR_{adj}=1,34$ ,  $p_{perm}=0,038$ ) и рецессивной моделей ( $OR_{adj}=2,45$ ,  $p_{perm}=0,021$ ).

В качестве примеров конкретного применения разработанного способа приведено обследование русских пациенток, уроженок Центрально-Черноземного региона РФ и не являющихся родственницами между собой: проведено генетическое исследование по полиморфного варианта гена rs3771787 НК2.

1. У женщины Д., русской национальности, уроженки Центрального Черноземья на ранних сроках беременности была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров был выявлен аллель Т в рамках аддитивной и рецессивной моделей полиморфного варианта гена rs3771787 НК2, что позволило отнести ее в группу беременных с высоким риском развития ЗРП. Это подтвердило дальнейшее наблюдение: в течение беременности и после родов, были выявлены признаки ЗРП.

2. У женщины Л., при прегравидарной подготовке, была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров был выявлен аллель Т в рамках аддитивной и рецессивной моделей полиморфного варианта гена rs3771787 НК2, что позволило отнести ее в группу беременных с повышенным риском развития ЗРП. Это подтвердило дальнейшее наблюдение. При возникновении беременности у нее на сроке 27 недель был диагностирован синдром задержки роста плода.

3. У беременной Е., русской национальности, уроженки Центрального Черноземья, на ранних сроках беременности была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров был выявлен аллель G в рамках аддитивной и рецессивной моделей полиморфного варианта гена rs3771787 НК2, что позволило отнести ее в группу беременных с пониженным риском развития ЗРП. Это подтвердило дальнейшее наблюдение: в течение беременности и после родов не было выявлено признаков ЗРП.

4. У женщины И., русской национальности, уроженки Центрального Черноземья, при прегравидарной подготовке была взята венозная кровь. При генотипировании ДНК-маркеров был выявлен аллель G в рамках аддитивной и рецессивной моделей полиморфного варианта гена rs3771787 НК2, что позволило отнести ее в группу беременных с пониженным риском развития ЗРП. Это подтвердило дальнейшее наблюдение: в течение беременности и после родов не было выявлено признаков ЗРП.

Применение данного способа позволит на доклиническом этапе формировать среди пациенток группы риска и своевременно реализовывать в этих группах необходимые лечебно-профилактические мероприятия по предупреждению развития ЗРП.

#### (57) Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития задержки роста плода (ЗРП) у неродственных пациенток, включающий выделение ДНК, проведение полимеразной

цепной реакции и анализ полиморфизма генов, отличающийся тем, что повышенный риск развития ЗРП прогнозирует выявление аллеля Т в рамках аддитивной и рецессивной моделей полиморфного варианта гена rs3771787 НК2.

5

10

15

20

25

30

35

40

45