

**НАО «ЗАПАДНО-КАЗАХСТАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
ИМЕНИ МАРАТА ОСПАНОВА**

КАФЕДРА АКУШЕРСТВА И ГИНЕКОЛОГИИ №2

АННОТАЦИЯ

на тему диссертационной работы на соискание степени PhD

**«Презклампсия, связанная с уровнем плацентарного фактора роста и
полиморфизмом rs1042886 гена *PIGF* у казашек»**

Специальность: 6D110100- «Медицина»

Группа образовательных программ: D 141 «Медицина»

Докторант: Аренова Ш.Б.

Сроки выполнения: 2018-2021гг.

Научный консультант: руководитель кафедры
акушерства и гинекологии №2
Западно-Казахстанского медицинского
университета имени Марата Оспанова,
к.м.н., профессор
Тусупкалиев А.Б.

Зарубежный консультант: PhD, доцент кафедры хирургии
ННЦ «Институт биологии и медицины»
Киевского национального университета
имени Тараса Шевченко
Динец А.В.

Актобе 2021 г.

Актуальность исследования. Преэклампсия - это мультисистемное расстройство, осложняющее 4-8% всех беременностей и являющееся основной причиной материнской и неонатальной заболеваемости и смертности [1,2,3,4]. Несмотря на то, что в данной области ведутся интенсивные исследования, патофизиология преэклампсии до сих пор остается неясной. Одной из наиболее распространенных гипотез возникновения преэклампсии является поверхностная инвазия вневорсинчатого трофобласта с последующим неполным ремоделированием сосудистых структур матери, что ведет к маточно-плацентарной недостаточности и внутриутробной задержке роста плода [5,6,7,8].

На сегодняшний день наиболее хорошо изучена значимость про- и антиангиогенных факторов как ранних сывороточных предикторов развития преэклампсии [9].

Плацентарный фактор роста (PlGF - Placental Growth Factor) – это протеин, который относится к семейству белков сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF) и является одним из важнейших регуляторов формирования плаценты и васкуляризации ее ворсин [10]. В организме человека PLGF представлен 4 изоформами: PLGF-1, PLGF-2, PLGF-3, PLGF-4 [11]. Дисбаланс ангиогенных факторов, таких как VEGF или PLGF, и факторов препятствующих ангиогенезу, таких как растворимая ФМС-подобная тирозинкиназа-1 (sFLT-1), играет фундаментальную роль в патогенезе преэклампсии [12,13].

Понижение концентрации свободного PlGF и повышение sFlt-1 у беременных является маркером дефектной плацентации и преэклампсии. Несмотря на то, что PlGF играет значительную роль в нормальном протекании эмбриогенеза, информации о патологиях беременности, связанных с наличием в геноме однонуклеотидного полиморфизма (SNP - Single nucleotide polymorphism) данного гена, немного. Ген *PlGF* расположен в хромосоме 14q24,3. SNP гена *PlGF* может быть ассоциирован с развитием патологии плацентации и эмбриогенеза. Например, полиморфизма rs1042886 гена *PlGF* ассоциируют с преэклампсией среди популяции женщин Шри-Ланки [1,14]. Muetze S. с соавторами в своём исследовании показал связи точечных мутаций генов *PlGF*, *Flt-1*, *IGF-1*, и *IGF-IR* с внутриутробной задержкой роста, однако такой связи ни у одного из генов обнаружено не было [14,15].

В развитии преэклампсии важную роль играют наличие молекулярно-генетических аномалий, в частности SNP генов. Изучение идентификация молекулярно-генетических маркеров к преэклампсии позволит на предгравидарном этапе предсказать и своевременно сформировать группу высокого риска по развитию преэклампсии, и использовать это в рутинной клинической практике. Однако, данный прогностический механизм все еще находится на стадии изучения [16].

Несмотря на некоторые успехи в изучении молекулярных механизмов преэклампсии (ПЭ), следует отметить, что результаты, полученные разными исследователями при изучении генетической предрасположенности к этому заболеванию, зачастую противоречивы для отдельных этнических групп. Некоторые авторы в качестве основной причины такого рода противоречий рассматривают вариабельность структуры наследственного компонента ПЭ между различными популяционными выборками, формирующуюся в результате демографической истории конкретной популяции.

Таким образом, представляется чрезвычайно актуальным изучение структуры наследственной предрасположенности к ПЭ с учетом этнической принадлежности и поиск общих и этноспецифичных генетических маркеров данной патологии [17].

Возможность выделения беременных в группу риска по развитию ранней ПЭ, определение уровня генетических маркеров достоверно повысит возможность более точного прогнозирования развития ранней ПЭ. А это, в свою очередь, позволит своевременно начать профилактику осложнений как со стороны матери, так и со стороны плода. Поэтому возникает необходимость изучения именно этой темы.

Цель научно-исследовательской работы: оценить взаимосвязь SNP rs1042886 гена *PLGF* и преэклампсии у казашек, изучить клиническое значение PLGF как потенциального прогностического маркера преэклампсии.

Задачи научно-исследовательской работы:

1. Определить уровень плацентарного фактора роста (PLGF) в первом триместре беременности у казашек.
2. Определить наличие и частоту SNP rs1042886 гена *PLGF* у казашек.
3. Определить взаимосвязь между развитием преэклампсии и уровнем PLGF в I триместре беременности у казашек.
4. Определить взаимосвязь между SNP rs1042886 *PLGF* и развитием преэклампсии у казашек.

Научная новизна:

1. Впервые изучен полиморфизм rs1042886 гена *PLGF* у казашек.
2. Впервые изучена взаимосвязь между развитием преэклампсии и уровнем PLGF в крови и моче в I триместре беременности у казашек.
3. Впервые изучена взаимосвязь между полиморфизмом rs1042886 *PLGF* и развитием преэклампсии у казашек.

Теоретическая и практическая значимость: разработана модель прогнозирования преэклампсии на ранних сроках беременности, полученная в результате математического моделирования, включающая результаты клинического и лабораторного мониторинга уровней PLGF в крови и моче, которая может быть использована для оценки прогноза исхода беременности у казашек.

Апробация работы.

Основные положения диссертации доложены на расширенном заседании Научной проблемной комиссии Западно-Казахстанского медицинского университета имени Марата Оспанова.

Результаты проведенного исследования доложены на научно-практических конференциях:

1) THE III INTERNATIONAL SCIENTIFIC AND EDUCATIONAL CONFERENCE // MINERVA MEDICA//АКТОБЕ, KAZAKHSTAN, APRIL 25-26, 2019.

2) The IX Annual International Scientific-Practical Conference “Medicine Pressing Questions” May 6-8, 2020, Baku, AZERBAIJAN.

3) LVIX научная конференция студентов и молодых учёныхс международным участием, посвященной 60-летию Студенческого научного общества Западно-Казахстанского медицинского университета имени Марата Оспанова (24 апреля 2019 год).

4) XIV Международная научно-практическая конференция молодых ученых-медиков// Казан – 2020г.

5) Международная научно-практическая конференция «СОВРЕМЕННАЯ МЕДИЦИНА: НОВЫЙ ПОДХОД И АКТУАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ» среди медицинских организаций образования Казахстана, ближнего и дальнего зарубежья, приуроченной ко дню Всемирного дня борьбы с остеопорозом// Актобе-2021г.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая характеристика исследования

Работа выполнена на кафедре акушерства и гинекологии №2.

Клиническая часть исследования проводилась на базах городских поликлиник и родовспомогательных медицинских учреждений г.Актобе: ГКП на ПХВ "ГП №1" г.Актобе ул.Маресьева 1Б, ГКП на ПХВ "ГП №2" г.Актобе ул.Ахтанова 50, ГКП на ПХВ "ГП №3" 12мкр. 51Д, ГКП на ПХВ "ГП №4" г.Актобе ул. Братьев Жубановых 293Б, ГКП на ПХВ "ГП №5" ул.Конаева, ГКП на ПХВ "ГП №6" г.Актобе проспект Абулхаир-хана 87, ГКП на ПХВ "Каргалинская городская больница" г.Актобе, с.Каргала ул.Кургулова 19/Б, ГКП на ПХВ "Актюбинский областной консультативно-диагностический центр" г.Актобе ул.Богенбай-батыра 50, ГКП на ПХВ "Актюбинская областная клиническая больница" г.Актобе, п. Жанаконус 8Е, ГКП на ПХВ "Областной перинатальный центр г.Актобе" г.Актобе ул.Алтынсарина 3А.

Лабораторная часть исследования проведена на базе клинической лаборатории ГКП на ПХВ «Областной перинатальный центр г.Актобе» г.Актобе, ул.Алтынсарина 3А, а генетическая часть исследования проведена на базе научно-практического центра, г.Актобе ул. Маресьева 74.

Работа выполнена в рамках научно-технической программы «Плацентарный фактор роста-1 как скрининг преэклампсии» номер государственной регистрации 0119РКИ0262, кафедры акушерства и гинекологии №2, финансируемой Западно-Казахстанским медицинским университетом имени Марата Оспанова.

Дизайн исследования:

- 1 этап- Обсервационное проспективное когортное исследование.
- 2 этап- «Случай-контроль».

Объектом исследования являются беременные женщины. Объем выборки 1 этап - 304 пациенток, 2 этап - 218 пациенток (случай-101 и контроль-117), в возрастном диапазоне от 18 до 40 лет. Исследование проводилось только в этнической группе казашек до 3-го поколения, так как результаты, полученные разными исследователями при изучении генетической предрасположенности к этому заболеванию, зачастую противоречивы для отдельных этнических групп. Таким образом, представляется чрезвычайно актуальным изучение структуры наследственной предрасположенности к ПЭ с учетом этнической принадлежности и поиск общих и этноспецифичных генетических маркеров данной патологии. Исследование не предполагает проведение процедур, повышающих риск для здоровья объекта исследования или плода, и не предполагает превышение среднего или высокого уровня боли.

План исследования: участники исследования отобраны путем простой случайной выборки методом генерации случайных чисел, в результате чего определены участники исследования согласно критериям включения и исключения.

Критерии включения в исследование:

На 1 этапе: 1.Принадлежность к группе этнических казашек. 2.Возраст от 18 до 40 лет. 3.Одноплодная беременность. 4.Срок гестации менее 14 недель. 5.Живой эмбрион без каких-либо аномалий, выявленных на этом этапе. 5.Добровольное информированное согласие пациентки на участие в исследовании.

На 2 этапе: 1. Принадлежность к группе этнических казашек. 2.Возраст от 18 до 40 лет. 3.Одноплодная беременность. 4.Доношенный срок беременности. 5.Живой эмбрион без каких-либо аномалий, выявленных на этом этапе. 6.Добровольное информированное согласие пациентки на участие в исследовании.

Критериями исключения из исследования :

На 1 этапе: 1.Непринадлежность к группе этнических казашек. 2.Возраст менее 18 лет и старше 40 лет. 3.Многоплодная беременность. 4.Срок гестации более 14 недель. 5.Хронические заболевания: сердечно-сосудистые заболевания, хронические заболевания

почек, сахарный диабет, аутоиммунные заболевания, ожирение (ИМТ >30), тромбофилия, доброкачественные и злокачественные опухоли. 6. Аномалии плода: внутриутробные пороки развития плода, подозрение на хромосомную патологию.

На 2 этапе: 1. Непринадлежность к группе этнических казашек. 2. Возраст менее 18 лет и старше 40 лет. 3. Многоплодная беременность. 4. Недоношенный срок беременности. 5. Хронические заболевания: сердечно-сосудистые заболевания, хронические заболевания почек, сахарный диабет, аутоиммунные заболевания, ожирение (ИМТ >30), тромбофилия, доброкачественные и злокачественные опухоли. 6. Аномалии плода: внутриутробные пороки развития плода, подозрение на хромосомную патологию.

Клиническая часть исследования

Исследование проводилось в несколько этапов

1 этап - анализ клинико-anamnestических показателей и данных гинекологического осмотра, а также забор крови для определения уровня плацентарного фактора роста.

1. Опрос. Сбор паспортных и этнико-anamnestических данных, перенесенных заболеваний, уточнение о репродуктивном здоровье и репродуктивной функции, течение и исходы предыдущих беременностей, течение настоящей беременности, перенос информации в анкеты.

2. Общеклиническое обследование: определение антропометрических данных (вес, рост, индекс массы тела), по системное обследование, специальное акушерское обследование. Определение уровня систолического артериального давления (САД) и диастолического артериального давления (ДАД) путем его измерения сфигмоманометром по стандартной методике, рекомендуемой ВОЗ.

3. Забор сыворотки крови в объеме 5,0 мл. за одну процедуру, натощак (минимум 8 часовое ночное голодания), для определения уровня PIGF, путем венепункции методом вакуумного забора в вакутейнеры AVATUBE (ЭкоФармИнтернейшнл, Казахстан) с соблюдением мер асептики и антисептики.

4. Забор мочи в контейнеры для сбора мочи с целью определения уровня протеинурии количественным методом.

5. Определение уровня PLGF в крови методом иммуноферментного анализа с использованием реактивов Human PIGF Quantitine ELISA Kit.

6. Определение уровня тромбоцитов в крови как дополнительный метод диагностики преэклампсии.

7. Определение уровня трансаминаз АЛТ и АСТ как дополнительный метод диагностики ПЭ.

8. УЗИ плода с целью подтверждения или исключения задержки внутриутробного развития плода: проведение фетометрии плода - определение бипариетального размера и окружности головы плода, окружности живота и длины бедренной кости, определение индекса амниотической жидкости (ИАЖ).

Затем до родоразрешения осуществлялось проспективное наблюдение с целью установить факт наличия преэклампсии.

2 этап - определение полиморфизма rs1042886 гена *PIGF*. В III периоде родов 218 - роженицам проводился забор крови из пуповины для определения полиморфизма rs1042886 гена *PIGF* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Для выделения ДНК из крови использовался набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из крови «ДНК-Кровь-М-100» с магнитным штативом, а для анализа SNP rs1042886 *PIGF* использован набор реагентов для генотипирования полиморфных маркеров и мутаций rs1042886 гена *PGF (PIGF)* для приборов ДНК-Технология (ДТ-96, ДТ-лайт и др.), 200 тестов (300 реакций) .

3-этап - разработана модель прогнозирования преэклампсии на ранних сроках беременности, полученная в результате математического моделирования, включающая результаты клинического и лабораторного мониторинга уровней плацентарного фактора

роста в крови и моче, которая может быть использована для оценки прогноза исхода беременности у казашек.

Анализ статистических методов.

Статистический анализ и визуализация полученных данных проводились с использованием среды для статистических вычислений R 4.1.0 (R Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия).

Описательные статистики представлены в виде числа наблюдений (относительная частота) - для качественных переменных и среднего (стандартного) отклонения и медианы (1-й и 3-й квартили) - для количественных.

Для изучения ассоциации категориальных переменных использовался точный тест Фишера. Для сравнения количественных переменных использовался тест Манна-Уитни. Корреляционный анализ количественных переменных проводили с использованием рангового коэффициента корреляции (ρ) Спирмена. Ассоциацию считали статистически значимой при $p < 0,05$.

Для анализа ассоциации изучаемых исходов с возможными предикторами использовались обобщенные линейные регрессионные модели: для бинарных исходов – бинарная логистическая регрессия (в качестве оценки размера эффекта выступало отношение шансов (ОШ) с соответствующим 95% доверительным интервалом (ДИ), для порядковых исходов – модель пропорциональных шансов (в качестве оценки размера эффекта выступало отношение пропорциональных шансов с соответствующими 95% ДИ).

Для оценки влияния предикторов на динамику количественных показателей использовались смешанные линейные регрессионные модели, с включением термина взаимодействия, эффект считали статистически значимым при $p < 0,05$ для коэффициента взаимодействия.

Для количественных переменных, в отношении которых была обнаружена статистически значимая ассоциация с основным изучаемым исходом (развитие преэклампсии), была проведена оценка их прогностических характеристик (AUC), а также эти переменные были включены в модели классификационных деревьев, с последующей оценкой чувствительности (Se), специфичности (Sp), предсказательной ценности отрицательного (NPV) и положительного (PPV) результатов и соответствующих 95% биномиальных ДИ.

Пошаговый отбор (метод включения–исключения) переменных в прогностическую модель осуществлялся на основании информационного критерия Акаике (AIC). Кроме того, производился контроль мультиколлинеарности предикторов, критическим для включения переменной в итоговую модель было значение фактора инфляции дисперсии (VIF) меньше 1,5. Отобранные предикторы включались в бинарную логистическую регрессионную модель без взаимодействий. В качестве метрик прогностических характеристик полученной модели использовали чувствительность, специфичность, предсказательную ценность положительного результата, предсказательную ценность отрицательного результата, отношение правдоподобия для положительного результата и отношение правдоподобия для отрицательного результата, и соответствующие точные 95% ДИ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате проспективного когортного исследования медианы концентрации плацентарного фактора роста в крови составила 35,5 (диапазон 22,4–51,2) пг/мл, медианы концентрация PlGF в моче составила 20,8 (диапазон 13,8–34,6) пг/мл. Коэффициент корреляции концентрации PlGF в крови и в моче составил 0,62 (95% ДИ: 0,54; 0,68, $p < 0,0001$).

В зависимости от развития в течении беременности ПЭ, исследуемые были разделены на 2 группы: исследуемые с преэклампсией 5,2% ($n=15$) - группа ПЭ (группа I);

исследуемые без преэклампсии 94,8% (n = 273) – группа нормотензия (группа II). Средний возраст исследуемых в I группе составил 27,0 (диапазон 25,0–34,0) лет, во II группе 26,0 (диапазон 24,0–31,0) лет. Медианы срока беременности на момент включения в исследование составили в обеих группах 12 (диапазон 11–13) недель. Средние значения ИМТ не превышали порогового значения предожирения (ИМТ > 25 и < 30 кг/м²) и составили 22,47 (3,60) в I группе и 22,49 (3,00) во II группе (p > 0,05). Социальный статус, включающий в себя работающих 40% и не работающих 60% в I группе, не был статистически различим внутри группы (p > 0,05), во второй группе работающие составили 49%, не работающие 50,41%, также не различались внутри группы (p > 0,05). Наследственность в семейном анамнезе по артериальной гипертензии была отягощена в I группе в 13% случаях, во II группе в 3,1% (p > 0,05). В группе II так же встречался сахарный диабет в семейном анамнезе в 2,8% случаев, что не отмечалось в группе I. Медианы возраста наступления менархе в обеих группах составили 13 лет (p > 0,05). Медианы возраста начала половой жизни в I группе составили 22,00 (диапазон 20,50–24,00) лет, во II группе - 21,00 (диапазон 19,00–22,00), были выявлены статистические различия (p < 0,05). Хронические экстрагенитальные заболевания чаще всего представляли миопии в I группе 6,7%, во II группе 3,1%, только во II группе мастопатия 1,0%, бронхит и гастрит 0,7%, редко гипотиреоз, пиелонефрит, тонзиллит, фиброаденома молочной железы, цистит, эпилепсия выявлялись в одном случае. Варикозное расширение вен нижних конечностей встречается в I группе с частотой 6,7%, во II группе - 1,7%, а только во II группе варикозное расширение вен наружных половых органов 1,0% (n=3), варикозное расширение вен н/к и наружных половых органов в 0,7% (n=2) случаях, что не выявило статистических различий (p > 0,05). Из гинекологических заболеваний чаще всего в обеих группах встречались эрозия шейки матки 20% (n=3) и 21% (n=60) случаях, только во II группе кисты яичников, синдром поликистозных яичников, полипы эндометрия, эндометрит, аднексит выявлены в одном случае. Кроме того, из перенесенных заболеваний в I группе острый аппендицит 13% (n=2), во II группе 14% (n=40) случаях, только во II группе ветряная оспа - 3,1%, гепатит А - 4,2%, ИМВП - 0,7%, калькулезный холецистит - 0,3%. Об оперативных вмешательствах выявлена аппендэктомии в - 13% случаев в I группе, 14% случаев во II группе, только во II группе 3,1% случаев кесарева сечения, а цистэктомия, мастэктомия, холецистэктомия - только в одном случае (p > 0,05). Анализ паритета родов не показал значимых различий между группами (p > 0,05). Первые роды встречались в 53% случаев в группе I и в 35% случаев во II группе. Повторные роды выявлены в 47% случаев в I группе и 65% во II группе. Предыдущие беременности у исследуемых I группы закончились медицинскими абортами и самопроизвольными абортами по 13% (n=2) случаев, во II группе данные показатели встречались по 20% (n=58) и 14 % случаев соответственно. При анализе течения настоящей беременности были статистически не различимы между группами средние уровни систолического артериального давления и диастолического артериального давления (p > 0,05). Средние уровни САД в I группе было 103,3 ± 8,2 (диапазон 100-110) мм.рт.ст., во II группе 103,8 ± 7,7 (диапазон 100-110) мм.рт.ст.. Средние уровни ДАД в I группе составило 66,0 ± 6,3 (диапазон 60–70) мм.рт.ст., во II группе 65,4 ± 6,6 (диапазон 60–70) мм.рт.ст.. А также в I группе с прогрессированием беременности уровни САД имели тенденцию к нарастанию и, начиная с 24 недель беременности, были статистически различимы (p < 0,05). Клинические проявления повышенного уровня САД (≥ 142 мм.рт.ст.) чаще всего определялись с 34 недель беременности. В ходе анализа течения беременности обнаружены значительные статистические различия в уровнях диастолического артериального давления с 24-й недели беременности (p < 0,05). Клинические проявления повышенного уровня ДАД (≥ 102 мм.рт.ст.) чаще всего определялись в 40 недель беременности. Уровень протеинурии, использованный для диагностики и/или дифференциальной диагностики гипертензивных состояний и их тяжести, у исследуемых в обеих группах с 20-й недели беременности был статистически не различим (p < 0,05). До

24 недели беременности обнаружен более высокий уровень протеинурии в I группе, в сравнении со II группой, однако данный показатель оставался выше клинически значимых уровней ($<0,3$ г/л) в 30 недель беременности. В I триместре беременности у всех обследуемых определена концентрация тромбоцитов, уровни трансаминаз АЛТ и АСТ в крови, как дополнительный метод диагностики преэклампсии. Анализ результатов исследования не выявил достоверных статистических различий между группами ($p>0,05$). Средний уровень АЛТ в I группе составил $16,9 \pm 5,0$ (диапазон 12,0–19,0) ед/л, во II группе $14,1 \pm 7,0$ (диапазон 9,3–16,5) ед/л, средний уровень трансаминазы АСТ в группе I составил $27 \pm 8,0$ (диапазон 23–31) ед/л, во II группе - $26 \pm 14,0$ (диапазон 20–29) ед/л. Средняя концентрация тромбоцитов в I группе составила $235 \pm 65,0$ (диапазон 200–263) * 10^9 / л, во II группе $238 \pm 50,0$ (диапазон 200–264) * 10^9 / л. Средний срок родоразрешения составил 38,0 (диапазон 37,0–40,0) недель в I группе и 39,0 (диапазон 38,0–40,0) недель во II группе. А также в I группе частота срочных родов составила 73%, преждевременных родов - 27%, во II группе срочные роды - 95%, преждевременные роды - 5%. При сравнительном анализе были выявлены статистические различия между сроком беременности и видом родов, т.е. группой срочных/преждевременных родов, что может быть связано с досрочной индукцией родов при преэклампсии. Оперативные роды составили 20% в I группе и 9,4% во II группе, что не выявило статистических различий между группами ($p>0,05$). У новорожденных от исследуемых были выявлены статистические различия между группой I и группой II по весу и росту новорожденных, а также состоянию новорожденных через 1 минуту / 5 минут по шкале Апгар ($p<0,05$).

При сравнительном анализе уровней PIGF в группе ПЭ медианы концентрации плацентарного фактора роста в крови составила 11,4 (диапазон 8,6–33,0) пг/мл, в моче составила 7,2 (диапазон 5,8–18,0) пг/мл. Соответственно во II группе медианы концентрации плацентарного фактора роста в крови составила 36,5 (диапазон 22,9 ± 52,2) пг/мл, в моче составила - 21,4 (диапазон 14,4–35,1) пг/мл. При сравнительном анализе уровней PIGF у пациенток из группы ПЭ выявлена статистически более низкая концентрация белка как в крови, так и в моче ($p<0,05$). В результате проведенного корреляционного анализа уровней PIGF в крови и в моче и количественных анамнестических показателей (возраст беременной, возраст менархе, возраст начала половой жизни) нами была установлена статистически отрицательная значимая корреляция концентрации PIGF в крови и возрастом беременной ($\rho = -0,17$, 95% ДИ: -0,27; -0,05, $p = 0,0039$), при этом данный показатель статистически значимо не коррелировал с уровнем PLGF в моче ($\rho = -0,06$, 95% ДИ: -0,17; 0,05, $p = 0,2797$).

В результате оценки ассоциации анамнестических и клинических данных с риском развития ПЭ с помощью однофакторных логистических регрессионных моделей, статистически значимая связь была обнаружена в отношении возраста начала половой жизни: при увеличении возраста начала половой жизни на каждый 1 год в среднем шансы развития ПЭ увеличивались в 1,2 раза.

Также при анализе ассоциации концентрации PIGF в крови и в моче с риском развития ПЭ с помощью однофакторных логистических регрессионных моделей, в отношении обоих предикторов была выявлена статистически значимая связь, при этом размер эффекта не менялся при добавлении в модель возраста в качестве ковариаты. При увеличении концентрации PIGF в крови на каждые 10 пг/мл шансы развития ПЭ снижались в среднем в 1,54 раза, при увеличении концентрации PIGF в моче на каждые 10 пг/мл шансы развития ПЭ снижались в среднем в 2,7 раза. AUC для концентрации PLGF в крови составил 0,74 [95% ДИ: 0,58; 0,90], для концентрации PLGF в моче – 0,79 [95% ДИ: 0,64; 0,93].

При анализе ассоциации уровня PIGF в крови и моче с порядковым исходом, сформированным как отсутствие осложнений < ГАГ < ПЭ легкой степени < ПЭ тяжелой степени < Эклампсия, было установлено, что увеличение концентрации PIGF в крови было ассоциировано со снижением риска развития осложнений и снижением степени

тяжести (на каждые 10 пг/мл ОШ составило 0,68, 95 %ДИ: 0,52; 0,84, $p = 0,0001$), увеличение концентрации PIGF в моче было ассоциировано со снижением риска развития осложнений и снижением степени тяжести (на каждые 10 пг/мл ОШ составило 0,46, 95 %ДИ: 0,29; 0,67, $p < 0,0001$).

Не было обнаружено статистически значимой ассоциации концентрации PLGF в крови и моче с оценкой по шкале Апгар на 1 минуте (ОШ = 1,01, 95 %ДИ: 0,91; 1,12, $p = 0,9047$ и ОШ = 1,08, 95 %ДИ: 0,95; 1,24, $p = 0,2283$, соответственно) и на 5 минуте (ОШ = 1,00, 95 %ДИ: 0,91; 1,11, $p = 0,9275$ и ОШ = 1,08, 95 %ДИ: 0,96; 1,24, $p = 0,224$, соответственно). Не было обнаружено статистически значимой ассоциации концентрации PLGF в крови и моче с риском преждевременных родов (ОШ = 0,96, 95% ДИ: 0,77; 1,16, $p = 0,7075$ и ОШ = 1,04, 95% ДИ: 0,82; 1,27, $p = 0,7049$, соответственно). Не было обнаружено статистически значимой ассоциации концентрации PLGF в крови и моче с риском развития ВПР (ОШ = 0,96, 95% ДИ: 0,58; 1,38, $p = 0,8541$ и ОШ = 1,14, 95% ДИ: 0,71; 1,62, $p = 0,496$, соответственно). Не было обнаружено статистически значимой ассоциации концентрации PLGF в крови и моче с риском перевода новорожденного в ОРИТ или ОПН (ОШ = 0,90, 95% ДИ: 0,70; 1,10, $p = 0,3226$ и ОШ = 0,93, 95% ДИ: 0,69; 1,17, $p = 0,577$, соответственно). Концентрация PLGF в крови и моче не была статистически значимо ассоциирована с уровнем тромбоцитов ($\rho = 0,04$ [-0,07; 0,15], $p = 0,4852$ и $\rho = -0,03$ [-0,15; 0,08], $p = 0,563$, соответственно), АЛТ ($\rho = -0,14$ [-0,46; 0,22], $p = 0,4608$ и $\rho = -0,31$ [-0,60; 0,04], $p = 0,082$, соответственно) и АСТ ($\rho = -0,10$ [-0,43; 0,26], $p = 0,5959$ и $\rho = -0,20$ [-0,51; 0,16], $p = 0,2818$, соответственно). Концентрация PLGF в крови и моче не была статистически значимо ассоциирована с длиной тела ($\rho = -0,03$ [-0,15; 0,08], $p = 0,5624$ и $\rho = 0,06$ [-0,06; 0,17], $p = 0,3328$, соответственно), и массой новорожденного ($\rho = -0,09$ [-0,20; 0,02], $p = 0,1256$ и $\rho = -0,04$ [-0,15; 0,08], $p = 0,5113$, соответственно).

Нами был проведен анализ зависимости динамики САД, ДАД и протеинурии в зависимости от концентрации PIGF в крови и моче беременных женщин. Низкая концентрация PIGF в крови и моче была статистически значимо ассоциирована с увеличением САД и ДАД в 3 триместре беременности ($p < 0,0001$). Низкая концентрация PIGF в крови и моче была статистически значимо ассоциирована с увеличением концентрации протеинурии в моче в 3 триместре беременности ($p < 0,0001$).

Далее на основе данных первого этапа диссертации с целью разработки прогностической модели нами был произведен двунаправленный пошаговый отбор предикторов на основании информационного критерия Акаике. В результате оценки коэффициентов регрессионной модели, полученной при пошаговом двунаправленном отборе, в модель для оценки вероятности развития ПЭ были включены плацентарный фактор роста в моче и возраст начала половой жизни. При использовании оценки вероятности ПЭ = 10% в качестве порогового значения точность модели составила 88,4% [95% ДИ: 84,2; 91,8], чувствительность – 66,7% [95% ДИ: 38,4; 88,2], PPV – 25% [95% ДИ: 12,7; 41,2], специфичность – 89,5% [95% ДИ: 85,4; 92,8], NPV – 98,1% [95% ДИ: 95,6; 99,4].

Кроме того, по данным когортного исследования с учетом исходов родов исследуемые разделены на 2 группы: основная - с преждевременными родами – 5,96% ($n = 18$), а группа сравнения – 94,04% ($n = 284$) со срочными родами. Далее мы проанализировали концентрации PIGF в крови и моче в первом триместре (10-14 недель) беременности: у исследуемых в основной группе в крови медианы концентрация составила 36,6 (диапазон 13,5–49,3) пг/мл, а в моче 24,5 (диапазон 15,6–39,9) пг/мл. Соответственно, в сравнении с показателями у исследуемых из группы сравнения: в крови медианы концентрация PIGF составила 35,2 (диапазон 22,5–51,2) пг/мл, а в моче 20,4 (диапазон 13,8–34,1) пг/мл. Группы были статистически не различимы ($p > 0,05$).

По дизайну «случай-контроль» на 2 этап исследования были включены всего 218 женщин (117 - контроль и 101 - случай).

Средний возраст исследуемых в I группе составил 29,0 (диапазон 24,0–34,0) лет, во II группе 27,0 (диапазон 24,0–32,0) лет. Средние значения ИМТ составили 26,5 (3,0) в I группе и 23,4 (3,4) во II группе ($p < 0,0001$). Работающих было 36% ($n=36$), а не работающих 64% ($n=65$) в I группе, соответственно во второй группе работающие составили 42% ($n=49$), не работающие 58% ($n=58$), и не различались внутри группы ($p > 0,05$). Наследственность в семейном анамнезе по артериальной гипертензии была отягощена в I группе в 1 случае, во II группе в 2 случаях ($p > 0,05$). Во второй группе также встречался сахарный диабет в семейном анамнезе в 1 случае, чего не отмечалось в первой группе ($p > 0,05$). Медианы возраста наступления менархе в обеих группах составили 13 лет ($p < 0,05$), а также медианы возраста начала половой жизни в обеих группах составили 13 лет, что не выявило статистических различий ($p > 0,05$). При анализе соматического и гинекологического анамнеза - по хроническим экстрагенитальным заболеваниям в I группе выявлены: пиелонефрит 3%, миопии 6,7%, а хроническая артериальная гипертензия, ревматоидный артрит, гайморит по одному случаю, во II группе миопия и мастопатия 2 %, пиелонефрит и ХАГ 0,9 % и 3,1%, только во II группе мастопатия 1,0%, бронхит и гастрит 0,7%, редко гипотиреоз, пиелонефрит, тонзиллит, фиброаденома молочной железы, цистит, эпилепсия выявлялась в одном случае. Варикозное расширение вен нижних конечностей встречается в I группе с частотой 6,9%, во II группе 4,3%, ($p > 0,05$). Из гинекологических заболеваний чаще всего в обеих группах встречались эрозия шейки матки 5,9% ($n=6$) и 15% ($n=18$) случаях, а только в I группе кисты яичников и миома матки выявлялись в 1% случаев соответственно, во II группе синдром поликистозных яичников и полип эндометрия в 1% случаев ($p < 0,05$). Анализ паритета родов не показал значимых различий между группами ($p > 0,05$). Первые роды встречались в 42% случаев в группе I и в 27% случаев во II группе. Повторные роды выявлены в 58% случаев в I группе и 73% во II группе. Предыдущие беременности у исследуемых I группы закончились медицинскими абортми и самопроизвольными абортми по 14% ($n=14$) и 20% случаев, во II группе данные показатели встречались по 24% ($n=28$) и 17% случаев соответственно. При анализе течения настоящей беременности средние уровни ДАД в I группе составили $94 \pm 15,0$ (диапазон 90–100) мм.рт.ст., во II группе $68 \pm 9,0$ (диапазон 60–70) мм.рт.ст. Средние уровни САД в I группе составили $155 \pm 23,0$ (диапазон 140–170) мм.рт.ст., во II группе $108 \pm 13,0$ (диапазон 100–110) мм.рт.ст. При анализе течения и исхода родов были выявлены статистические различия между сроком беременности и видом родов, т.е. группой срочных/преждевременных родов, что может быть связано с досрочной индукцией родов при преэклампсии. Оперативные роды составили 36% в группе I и 13% во II группе. У новорожденных от исследуемых были выявлены статистические различия между группой I и группой II по весу и росту новорожденных, а также состоянию новорожденных через 1 минуту / 5 минут по шкале Апгар ($p < 0,05$). Следует отметить, что в группе преэклампсии мертворождение выявлено у 2% новорожденных. Нами был проведен анализ соответствия частоты генотипов равновесию Харди-Вайнберга, не было установлено статистически значимых отклонений от теоретических частот как в группе случаев ($p \approx 1$), так и в группе контроля ($p = 0,2125$). При анализе частот генотипов и аллеля однонуклеотидного полиморфизма rs1042886 в группах пациенток «случай»: GG 0,64%, GC 0,32%, CC 0,04% , в группе «контроль»: GG 0,67%, GC 0,30%, CC 0,03% случаев. При наличии аллелей в I группе G наблюдался в 0,8, C - в 0,2, во II группе G - в 0,18, C - в 0,82. Статистически значимых различий не обнаружено.

В результате оценки ассоциации анамнестических и клинических данных с риском развития ПЭ с помощью однофакторных логистических регрессионных моделей, статистически значимая связь была обнаружена в отношении возраста обследуемых и возраста менархе, САД и ДАД при поступлении.

С целью разработки прогностической модели нами был произведен двунаправленный пошаговый отбор предикторов на основании информационного

критерия Акаике. В результате оценки коэффициентов регрессионной модели, полученной при пошаговом двунаправленном отборе, в модель для оценки вероятности развития ПЭ были включены возраст менархе, количество родов в анамнезе, САД при поступлении. При использовании оценки вероятности ПЭ = 10% в качестве порогового значения чувствительность модели составила – 92,1 (диапазон 85,0–96,5), специфичность – 89,5% [95% ДИ: 85,4; 92,8].

Взаимосвязи между SNP rs1042886 гена *PIGF* и преэклампсии у казашек не выявлено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании вышеизложенных результатов были сделаны следующие заключения: медианы концентрации плацентарного фактора роста в крови в 1 первом триместре составила 35,5 (диапазон 22,4–51,2) пг/мл, медианы концентрации PIGF в моче составила 20,8 (диапазон 13,8–34,6) пг/мл. В группе ПЭ медианы концентрации плацентарного фактора роста в крови составила 11,4 (диапазон 8,6–33,0) пг/мл, в моче составила 7,2 (диапазон 5,8–18,0) пг/мл. В соответствии с задачей определения наличия и частоты полиморфизма SNP rs1042886 гена *PIGF* у казашек были проанализированы данные о частоте генотипов и аллеля однонуклеотидного полиморфизма rs1042886 в группах пациенток «случай»: GG 0,64%, GC 0,32%, CC 0,04%, в группе «контроль»: GG 0,67%, GC 0,30%, CC 0,03% случаев. При анализе ассоциации концентрации PIGF в крови и в моче с риском развития ПЭ с помощью однофакторных логистических регрессионных моделей, при снижении концентрации PIGF в крови на каждые 10 пг/мл шансы развития ПЭ увеличились в среднем в 1,54 раза, при снижении концентрации PIGF в моче на каждые 10 пг/мл шансы развития ПЭ увеличились в среднем в 2,7 раза. AUC для концентрации PIGF в крови составил 0,74 [95% ДИ: 0,58; 0,90], для концентрации PIGF в моче – 0,79 [95% ДИ: 0,64; 0,93]. При анализе ассоциации уровня PIGF в крови и моче с порядковым исходом, сформированным как отсутствие осложнений < ГАГ < ПЭ легкой степени < ПЭ тяжелой степени < Эклампсия, было установлено, что увеличение концентрации PIGF в крови было ассоциировано со снижением риска развития осложнений и снижением степени тяжести (на каждые 10 пг/мл ОШ составило 0,68, 95 %ДИ: 0,52; 0,84, $p = 0,0001$ соответственно), снижение концентрации PIGF в моче было ассоциировано со снижением риска развития осложнений и увеличением степени тяжести (на каждые 10 пг/мл ОШ составило 0,46, 95 %ДИ: 0,29; 0,67, $p < 0,0001$). В результате оценки ассоциации анамнестических и клинических данных с риском развития ПЭ с помощью однофакторных логистических регрессионных моделей, статистически значимая связь была обнаружена в отношении возраста начала половой жизни.

ВЫВОДЫ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ РАБОТ:

1. Средняя концентрация плацентарного фактора роста в крови в 1 первом триместре составила 35,5 пг/мл, а в моче составила 20,8 пг/мл.
2. У казашек по частоте генотип и аллеля однонуклеотидного полиморфизма rs1042886 гена *PIGF* в группах пациенток «преэклампсия»: GG 0,64%, GC 0,32%, CC 0,04%, в группе «контроль»: GG 0,67%, GC 0,30%, CC 0,03% случаев.
3. У казашек в 1 триместре беременности при снижении концентрации PIGF в крови на каждые 10 пг/мл шансы развития ПЭ увеличились в среднем в 1,54 раза, при снижении концентрации PIGF в моче на каждые 10 пг/мл шансы развития ПЭ увеличились в среднем в 2,7 раза.
4. Взаимосвязи между SNP rs1042886 гена *PIGF* и преэклампсии у казашек не выявлено.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Акушеру-гинекологу, помимо основных диагностических критериев при комплексном обследовании беременных с преэклампсией, рекомендуется определить плацентарный фактор роста в крови и моче.
2. Наиболее информативными критериями прогнозирования развития преэклампсии в I триместре беременности являются:
 - концентрация плацентарного фактора роста в крови менее 35,5 пг/мл;
 - концентрация плацентарного фактора роста в моче менее - 20,8 пг/мл.
3. Концентрация PlGF в моче показала более высокую чувствительность маркера вероятности развития преэклампсии, чем концентрация PlGF в крови.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Prabha H. Andraweera, Gustaaf A. Dekker, Vajira H.W. Dissanayake, Tina Bianco-Miotto, Rohan W. Jayasekara & Claire T. Roberts. Vascular endothelial growth factor family gene polymorphisms in preeclampsia in Sinhalese women in Sri-Lanka. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, 2013; 26(5): 532–536 © 2013 Informa UK, Ltd.
- 2 Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005;365:785–799.
- 3 Hernández-Díaz S, Toh S, Cnattingius S. Risk of pre-eclampsia in first and subsequent pregnancies: prospective cohort study. *BMJ* 2009; 338:b2255.
- 4 Guzov I. I., Pechorina E. Yu.. New biochemical markers in prediction of preeclampsia. *Медицинский алфавит* No 8 / 2015, том No 2 Современная лаборатория
- 5 Dietl J: The pathogenesis of pre-eclampsia: new aspects. *J Perinat Med* 2000;28:464-471.
- 6 Oudejans CBM, To aML, Westermann BA, Mulders MAN, Van Wijk IJ, Van Vugt JPG: Circulating trophoblast in maternal blood. *Prenat Diagn* 2003;23:111-116.
- 7 Fisher SJ: The placental problem: linking abnormal cytotrophoblast differentiation to the maternal symptoms of preeclampsia. *Reprod Biol Endocrinol* 2004;2:53- 56.
- 8 Bdolah Y, Karumanchi SA, Sachs BP: Recent advances in understanding of preeclampsia. *Croat Med J* 2005;46:728-736.
- 9 Small H., Currie G., Delles C. Prostatin, proteases and preeclampsia // *Journal of Hypertension*. 2016. No 34. P. 193–19.
- 10 Павлов К.А., Дубова Е.А., Щеголев А.И. Фетоплацентарный ангиогенез при нормальной беременности: роль плацентарного фактора роста и ангиопоэтинов. *Акуш и гин* 2010; 6: 10-15.
- 11 Cao Y, Ji W.R., Qi P. et al. Placenta growth factor: identification and characterization of a novel isoform generated by mRNA alternative splicing/ *Biochem.Biophys.Res.Commun.* -1997 - Vol.235 - P.493-498
- 12 Stepan H, Faber R, Dornhöfer N, Huppertz B, Robitzki A, Walther Th: New insights into the biology of preeclampsia. *Biol Reprod* 2006;74:772-776.
- 13 Schmidt M, Dogan C, Birdir C, Callies R, Kuhn U, Gellhaus A, Janetzko A, Kimmig R, Kasimir-Bauer S: Altered angiogenesis in preeclampsia: evaluation of a new test system for measuring Placental Growth Factor. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45:1504-10
- 14 Машкина Е.В. Молекулярно-генетические аспекты развития гестоза у женщин северо-западного региона России: автореф. дис. ... канд. мед. наук : Санкт-Петербург – 2017.

- 15 Muetze S., Kapagerof A., Vlachopoulos L., EggermannT., Kaufmann P., Zerres K., Rath W., udnik-Schoeneborn S. Mutation analysis of the growth factor genes PlGF, Flt1, IGF-I, and IGF-IR in intrauterine growth restriction with abnormal placental blood flow // J Matern Fetal Neonatal Med. – 2010. – V. 23. –P. 142-147.
- 16 Белоцерковцева Л. Д., Коваленко Л. В., Телиц Д. П. Молекулярно-генетические предикторы ранней преэклампсии Вестник СурГУ. Медицина. No 3 (33), 2017
- 17 Ворожищева А.Ю. Генетичесие факторы развития преэклампсии в популяциях различного этнического происхождения: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 03.02.07 Томск, 2014.