



БОЛЬШИЕ ВЫЗОВЫ

ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНКУРС
НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЕКТОВ



Региональный трек
Всероссийского конкурса
научно-технологических проектов

«БОЛЬШИЕ ВЫЗОВЫ»

направление

**Генетика, персонализированная и прогностическая
медицина**

название работы

Изучение концентраций и
характеристик внеклеточной ДНК, как
маркера преэклампсии и гестационной
артериальной гипертензии в течение
беременности

участник(и)

Клочкова Полина Юрьевна

#большиевызовы
#МГК

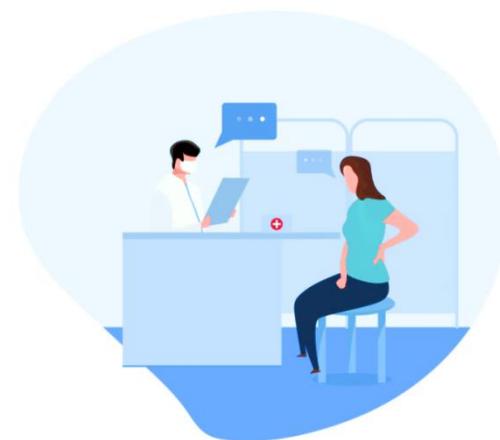
mgk.olimpiada.ru

г. Москва
2021

Осложнения

Тяжелые осложнения преэклампсии:

- эклампсия;
- HELLP синдром;
- острая почечная недостаточность;
- отек легких;
- инсульт;
- инфаркт миокарда;
- отслойка плаценты;
- антенатальная гибель плода;
- отек, кровоизлияние и отслойка сетчатки.



Актуальность

Осложнения, вызванные заболеванием, приводят к инвалидизации матерей и их детей.

У детей с ВЗРП наблюдается задержка физического и психосоматического развития.

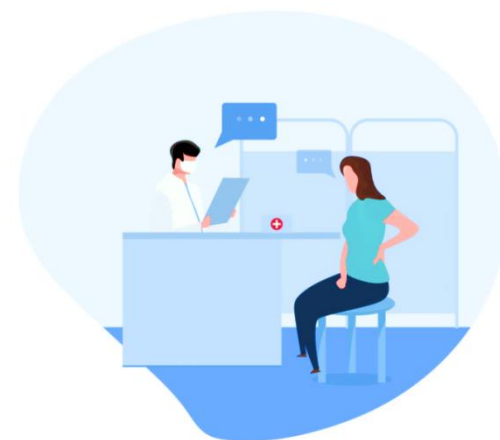
Проблема является значимой в медицинском и социальном ключах.



Осложнения

Тяжелые осложнения преэклампсии:

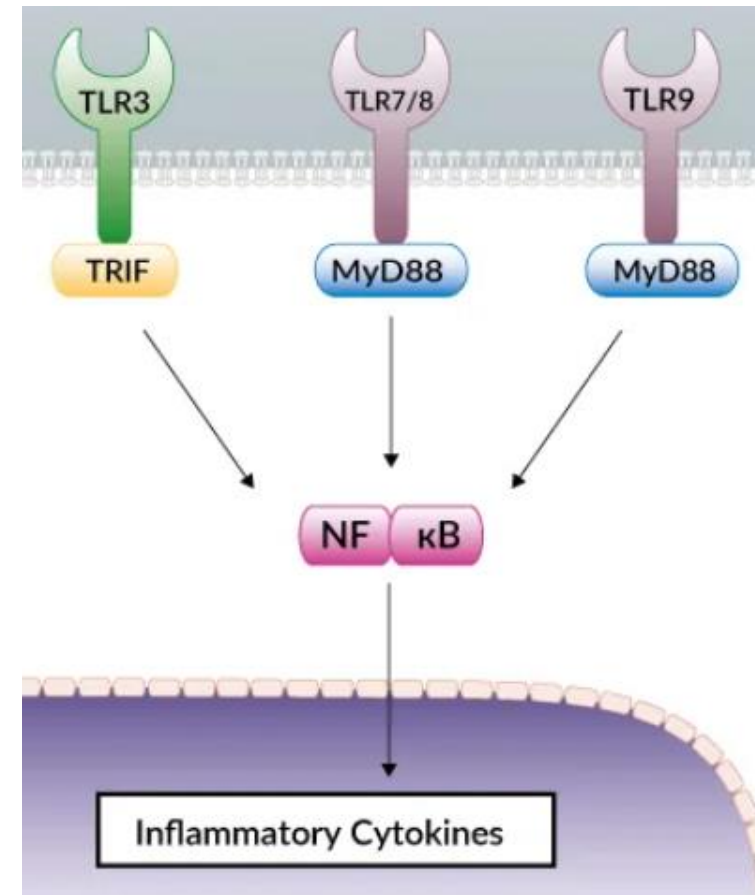
- эклампсия;
- HELLP синдром;
- острая почечная недостаточность;
- отек легких;
- инсульт;
- инфаркт миокарда;
- отслойка плаценты;
- антенатальная гибель плода;
- отек, кровоизлияние и отслойка сетчатки.



Внеклеточная ДНК

ВкДНК появляется в межклеточном пространстве и плазме крови в процессе гибели клеток и при экскреции ДНК клетками.

Избыточная концентрация вкДНК влияет на концентрацию веществ, запускающих воспалительные процессы.



Рибосомные повторы

Транскрибируемый локус рибосомного повтора особенно устойчив к двунитевым разрывам, поэтому они склонны накапливаться в плазме крови при длительно текущих заболеваниях.

Увеличение их количества в анализах позволяет судить о массивности цитолиза при длительных и вялотекущих заболеваниях, клинические признаки которых могут не проявляться.



Гипотеза

При преэклампсии и гестационной артериальной гипертензии в плазме крови беременной женщины происходит повышение количества рибосомных повторов, и его можно рассматривать как один из маркеров этих заболеваний.



Цель и задачи

Цель работы:

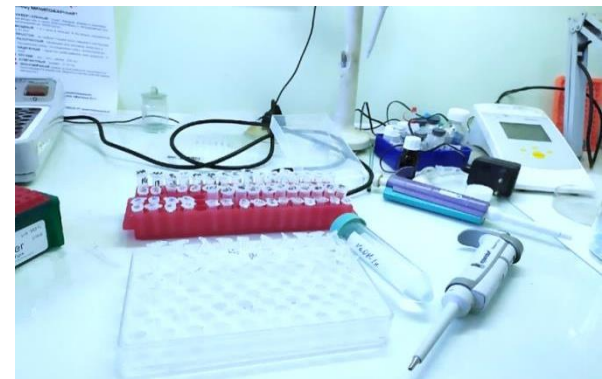
выявить закономерности в изменениях количеств рибосомных повторов в гДНК и вкДНК у беременных женщин с преэклампсией или гестационной артериальной гипертензией и сравнить их с контрольной группой женщин, беременность которых протекает без осложнений.

Задачи:

- Выделение гДНК из клеток крови женщин, участвующих в исследовании.
- Выделение вкДНК из образцов плазм крови женщин, участвующих в исследовании.
- Уравнивание концентраций гДНК.
- Определение количества рибосомных повторов в гДНК и вкДНК.

Методы

- Выделение вкДНК из образцов плазмы и геномной ДНК из клеток крови осуществляли методом фенольной экстракции.
- Содержание рибосомных повторов в образцах геномной и внеклеточной ДНК определяли методом нерадиоактивной количественной дот-гибридизации.
- Измерение количества концентраций геномной и внеклеточной ДНК при помощи методов флуориметрии (ribogreen Invitrogen) и спектрофотометрии.



Пациентки

В исследуемую выборку (79 человек) были включены следующие группы: 30 женщин с нормально протекающей беременностью (контрольная группа) и 49 пациенток с осложненной беременностью и клиническим диагнозом: преэклампсия умеренной и тяжелой степени, гестационная артериальная гипертензия.



	Контроль	Исследуемая группа
Возраст	32,0 ± 0,9	32,6 ± 0,8
САД	116,5 ± 1,3	139,9 ± 1,6
ДАД	73,5 ± 1,5	87,7 ± 1,4
Отеки (степень)	0,1 ± 0,1	1,8 ± 0,1
Белок в моче	0,1 ± 0,0	1,0 ± 0,2
Вес плода после рождения	3485,4 ± 88,3	2896,9 ± 152,9
Степень гипотрофированности плода	0	0,7 ± 0,1
Беременность < 35 нед.	1 из 30	23 из 49

Результаты

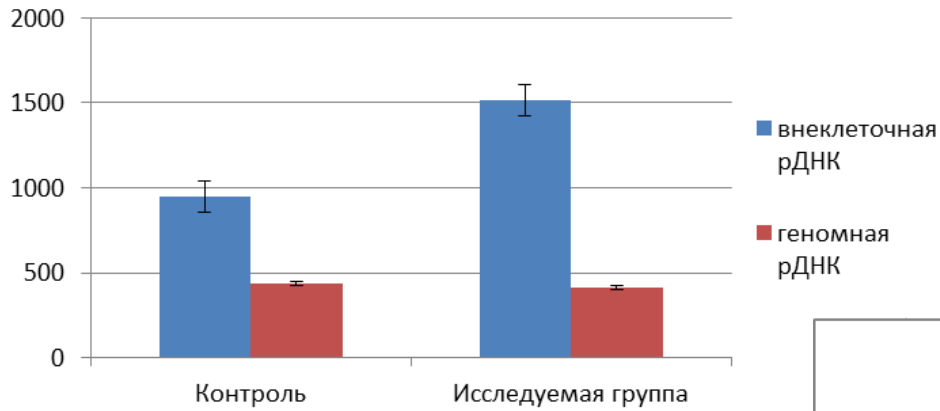
Сравнительная таблица данных, полученных в эксперименте:

Концентрации, нг/мл	Контроль	Исследуемая группа	p
Вк рДНК	947,87±91,68	1516,14±49,65	<0,0001
Геном. рДНК	438,66±12,68	413,90±17,00	0,3556
ВкДНК	387,55±69,01	1133,45±321,23	0,0018

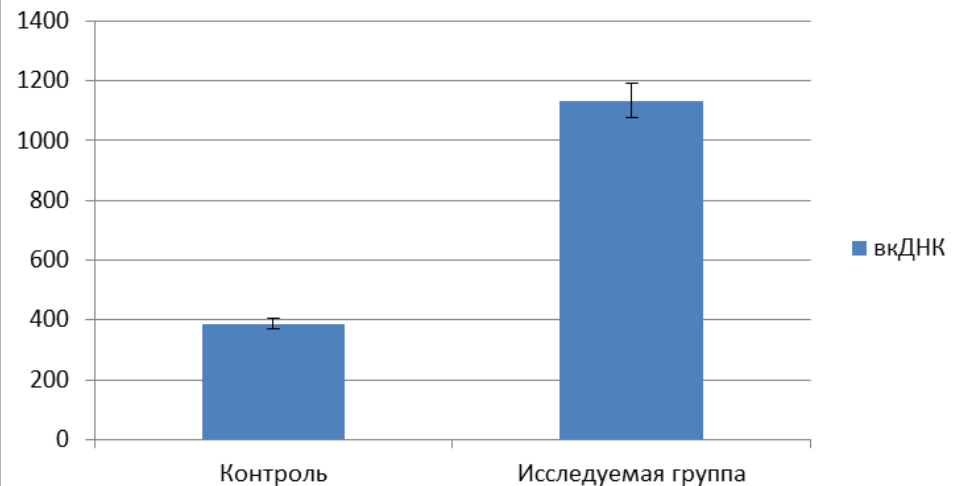


Результаты

**Количество рибосомных повторов
в вкДНК и гДНК, нг/мл**



Концентрация вкДНК, нг/мл



Выводы

- Количество рибосомных повторов в вкДНК матери может служить маркером развития патологий беременности, таких как преэклампсия и гестационная артериальная гипертензия.
- Оба заболевания сопровождаются массивным отмиранием клеток в течение длительного времени, о чем свидетельствует накопление большого количества рибосомных повторов в плазме женщин, участвующих в исследовании.
- Полученные данные могут быть полезны при разработке методов скрининга патологии беременности на ранних сроках гестации.

Личный вклад

- Определение количества рибосомных повторов в геномной ДНК клеток крови женщин, участвующих в исследовании.
- Определение количества рибосомных повторов во внеклеточной ДНК образцов плазм беременных женщин.
- Анализ литературы.



Работа выполнена под руководством сотрудников
лаборатории молекулярной биологии ФГБНУ «МГНЦ»

Спасибо за внимание!



Источники информации

- Акушерство: Учебник / Савельева Г. М. и др., 2020
- Руководство по практическим занятиям по акушерству / под ред. Радзинского В.Е. и др., 2010
- Ustyantseva I.M. (2007) Apoptosis and inflammatory response
- Galeazzi et al., 2003
- Козлов В.А. Свободная внеклеточная ДНК в норме и при патологии. Медицинская иммунология. 2013.
- Speransky A. I., Kostyuk S. V., Kalashnikova E. A., Veiko N. N (2016)
- Ungvari, 2011
- El Messaoudi et al., 2013; Chiu and Lo, 2013; Tsui and Lo, 2012; Lo, 2013
- Tsui et al., 2012; Hill et al., 2012
- Lo, 2013; Lo and Chiu et al., 2012; Tsui et al., 2012; Hahn et al., 2009
- Tsui et al., 2012
- Sharma et al., 2011; Sayres et al., 2011
- Roszkowski et al., 2014; Ermakov et al., 2013
- Lee et al., 2011, Hallgren et al., 2014, Ershova, 2019
- Kostyuk S.V. (2007) The role of extracellular DNA in the functional activity of the human genome.
- Choi, J.J., Reich, C.F., and Pisetsky D.S., Immunology, 2005.
- Klinman, D., Ylt, A., Beaucage, S., Conover, J., and Krieg, A., Immunology, 1996.
- Aida, Y. and Pabst, M., Immunol. Methods, 1990.
- Veiko, N.N., Kostyuk, S.V., Ermakov, A.V., Kalashnikova, E.A., Ryazantseva, T.A., and Speranskii, A.I., Byull. Eksper. Biol. Med., 2007.
- Krieg, A.M. (1996) 'Lymphocyte activation by CpG dinucleotide motifs in prokaryotic DNA', Trends in Microbiology.
- Sanjuan, M., Rao, N., Lai, K.T., Gu, Y., Sun, S., Fuchs, A., FungLeung, W.P., Colonna, M., and Karlsson, L., J. Cell Biol., 2006.
- Тунаева Н.О, Абрамова З.И. Внеклеточная ДНК в кровотоке человека. 2007.
- Bishoff F.Z., Dang D., Horne C., Marquez-Do D., Brincley W.R., Levis D.E. Fetal DNA in maternal plasma circulates as apoptotic bodies: elucidations of structural nature of fetal DNA for non-invasive prenatal genetic diagnosis // Am. J. Hum. Genet. 2003.
- Н.О. Тунаева, З.И. Абрамова, Д.М. Мустафина «Внеклеточная ДНК в кровотоке человека. II. Биологическая роль внеклеточной ДНК» 2008
- Ермаков, А.В. «Фрагменты внеклеточной ДНК из среды культивирования лимфоцитов человека, облученных в малых дозах, запускают развитие окислительного стресса и адаптивного ответа в необлученных лимфоцитах – свидетелях», 2008
- Дерффель, 1994
- Вейко Н.Н. и соавт., 2003
- Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия. Клинические рекомендации (протокол лечения), 2016.
- «HELLP-синдром». Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х., 2014
- «Преэклампсия и ангиогенные факторы. Соотношение sFit-1/PlGF для диагностики преэклампсии», В.С. Петросян, 2014