

**ИЗУЧЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ И ХАРАКТЕРИСТИК
ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК, КАК МАРКЕРА
ПРЕЭКЛАМПСИИ И ГЕСТАЦИОННОЙ
АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ НА РАННИХ
СТАДИЯХ БЕРЕМЕННОСТИ**

Определения

Преэклампсия - патологическое состояние, возникающее во второй половине беременности (после 20-й недели), характеризующееся артериальной гипертензией (АГ) $\geq 140/90$ мм рт. ст. в сочетании с протеинурией ($\geq 0,3$ г/сут) и отеками.

Показатели, характерные для гестационной артериальной гипертензии - систолическое давление ≥ 140 мм.рт.ст. и/или диастолическое давление ≥ 90 мм.рт.ст.



Актуальные исследования вкДНК при беременности

- Исследования вкДНК плода проводят для определения анеуплоидий, трисомий, эндокринных и неврологических нарушений плода
- Повышение концентраций фетальной вкДНК в плазме матери с первого триместра указывает на высокую вероятность развития преэклампсии на поздних сроках беременности.

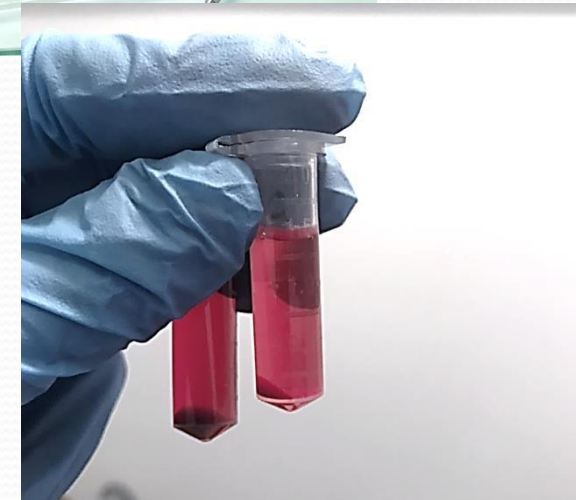
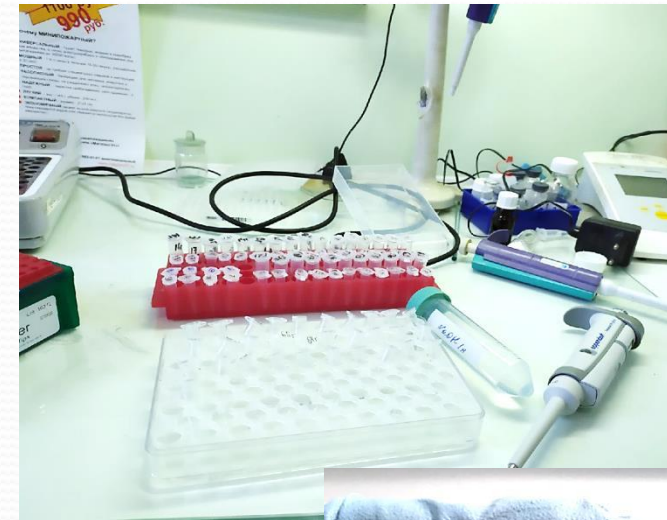


Рис 1, 2. Работа с пробами

Значение количества геномных рибосомных повторов

Количество копий рибосомных генов, уровень их метилирования и уровень повреждения рДНК определяют эффективность биогенеза рибосом, что влияет на уровень биосинтеза белка в организме и является одной из характеристик адаптационных возможностей человека

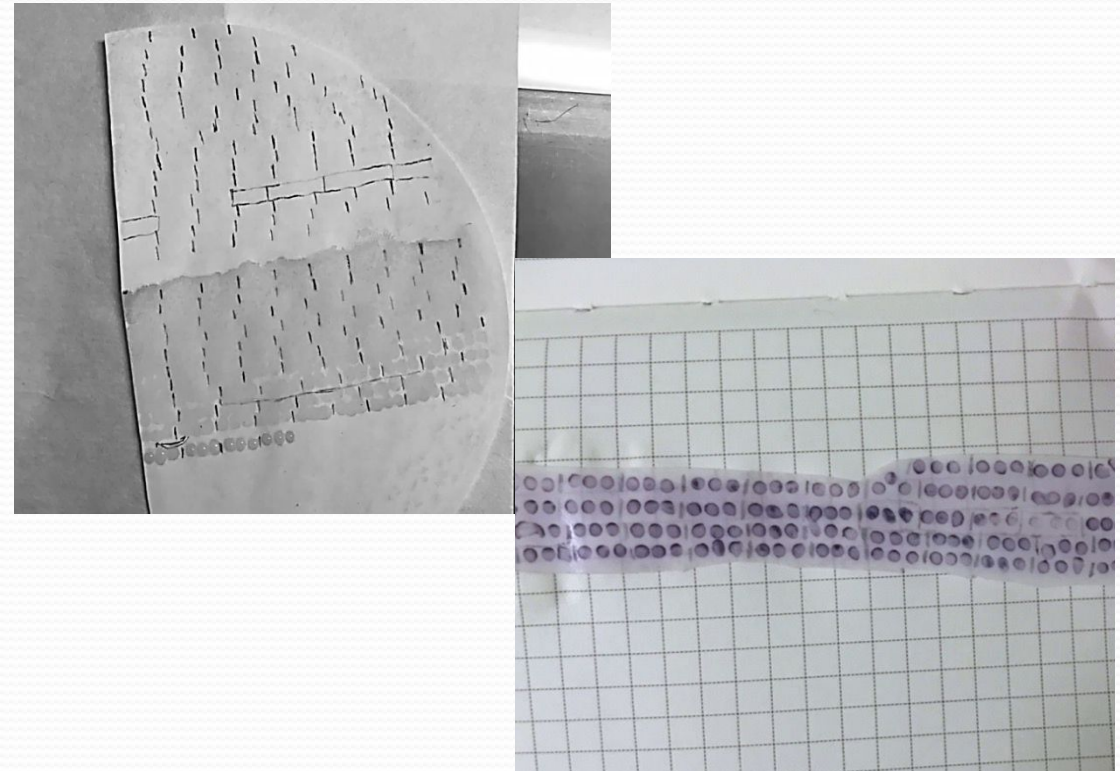


Рис 3, 4. Этапы нерадиактивной дот-гибридизации с олигонуклеотидами

Значение количества геномных рибосомных повторов

Изменение транскрипции рДНК и нарушения структуры и функции ядрышек ассоциированы с заболеваниями, характеризующимися высоким уровнем окислительного стресса



Рис 5. Этап нерадиактивной дот-гибридизации с олигонуклеотидами

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 исследования

Определить количество рибосомных повторов в геномной и внеклеточной ДНК в группе беременных женщин с нормально протекающей беременностью, и в группе беременных женщин с беременностью, осложненной преэклампсией или гестационной артериальной гипертензией

Задачи исследования:

- Определение концентраций геномной и внеклеточной ДНК.
- Определение количества рибосомных повторов в геномной и внеклеточной ДНК.
- Проведение количественной нерадиактивной дот-гибридизации с олигонуклеотидами.
- Измерение количества концентраций геномной и внеклеточной ДНК при помощи методов флуориметрии (ribogreen Invitrogen) и спектрофотометрии.

Клинические характеристики беременных женщин, принявших участие в исследовании

В исследовании принимали участие 30 женщин с нормально протекающей беременностью и 49 пациенток с осложненной беременностью и клиническим диагнозом: преэклампсия умеренной и тяжелой степени, гестационная артериальная гипертензия.

	Контроль	Группа с осложнениями беременности
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
Ст. гипотр. плода	0	0,7±0,1
Беременность < 35 нед.	1 из 30	23 из 49

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.



Рис 6. Этап метода спектрофотометрии

Количество рибосомных повторов в геномной и внеклеточной ДНК

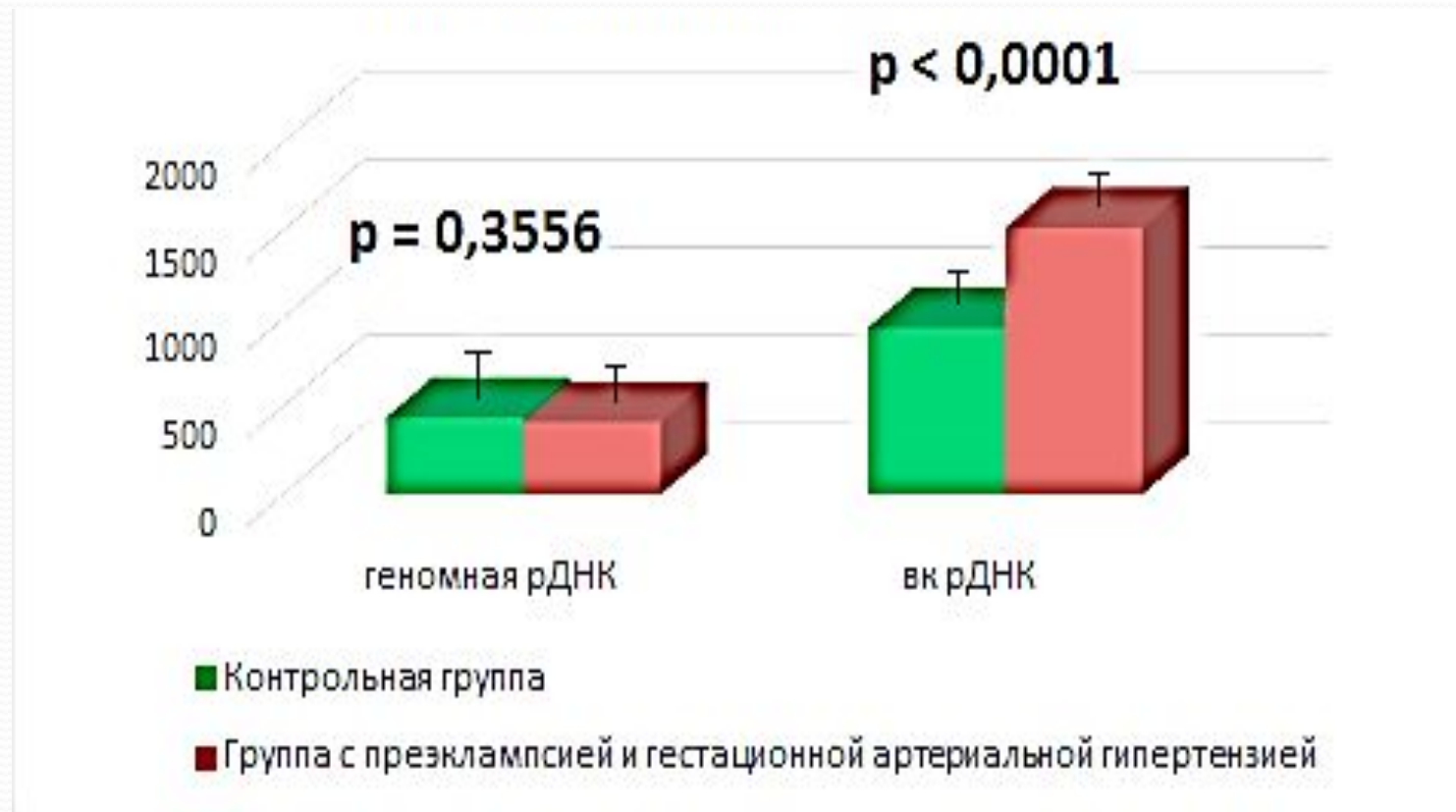


Рис 7. Количество рибосомных повторов в геномной и внеклеточной ДНК

Концентрация внеклеточной ДНК нг/мл



Рис 8. Концентрация внеклеточной ДНК, нг/мл

Выводы

- При патологии беременности, сопровождающейся повышением артериального давления, отеками и нефропатией происходит повышение концентрации вкДНК и изменение ее характеристик.
- Повышается количество рибосомных повторов в составе вкДНК.
- 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.



Рис 9. Этап нерадиактивной дот-гибридизации с олигонуклеотидами



Рис 10. Анализ проб

Работа была подготовлена под руководством сотрудников лаборатории молекулярной биологии ФГБНУ «МГНЦ»

Спасибо за внимание!