

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРЕЭКЛАМПСИИ

**Фетисова И.Н.¹, Панова И.А.¹, Малышкина А.И.¹, Рокотянская Е.А.¹, Ратникова С.Ю.¹,
Смирнова Е.В.¹, Фетисов Н.С.¹, Назарова А.О.¹**

¹ФГБУ "Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иваново, Россия (153045, Иваново, ул. Победы, 20), e-mail:ivniimid@ivnet.ru

Было проведено исследование полиморфизма генов системы гемостаза и генов, контролирующих уровень артериального давления. На базе ФГБУ "Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова" Министерства здравоохранения Российской Федерации было обследовано 50 женщин с преэклампсией и 49 женщин с физиологическим течением беременности. Установлена ассоциация между присутствием в генотипе женщины низкофункциональных аллелей в генах рецепторов 1-ого и 2-ого типов для ангиотензина II (AGTR1 и AGTR2) и эндотелиальной синтазы окиси азота (NOS3) с повышенным риском развития преэклампсии. Выявленные в настоящем исследовании ассоциации могут быть использованы в качестве генетических маркеров предрасположенности к формированию преэклампсии, что позволит своевременно сформировать группу риска и скорректировать лечебно-профилактические мероприятия.

Ключевые слова: преэклампсия, генетика, беременность, полиморфизм

GENETIC ASPECTS OF THE PREECLAMPSIA

**Fetisova I.N.¹, Panova I.A.¹, Malyshkina A.I.¹, Rokotyanskaya E.A.¹, Ratnikova S.Y.¹,
Smirnova E.V.¹, Fetisov N.S.¹, Nazarova A.O.¹**

¹Federal state budgetary institution «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood of a name of V.N. Gorodkov» Ministry of Health of the Russian Federation, Ivanovo, Russia (153045, Ivanovo, street Pobedi, 20), e-mail:ivniimid@ivnet.ru

A study was conducted polymorphism hemostasis system genes and genes controlling blood pressure. On the basis of the FSBI "Ivanovo research Institute of maternity and childhood name C. N. Gorodkov" of the Ministry of health of the Russian Federation examined 50 women with preeclampsia and 49 women with physiological pregnancy. Set the association between the presence of genotype women nizkorentabelnyh alleles in the genes of the receptors of the 1st and 2nd types for angiotensin II (AGTR1 and AGTR2) and endothelial nitric oxide synthase (NOS3) with an increased risk of preeclampsia. Identified in the present study, the association can be used as genetic markers of predisposition to the formation of preeclampsia, which will allow time to form a group of risk and to adjust treatment and preventive measures.

Keywords: preeclampsia, genetic, pregnancy, polymorphism

Преэклампсия (ПЭ) относится к одному из самых тяжелых осложнений в акушерстве, определяя высокие показатели материнской и перинатальной заболеваемости и смертности [4]. Этиология и патогенез ПЭ до конца не изучены. На сегодняшний день существует множество гипотез возникновения данного осложнения беременности, среди которых наиболее актуальной представляется теория, рассматривающая ПЭ как мультифакториальное заболевание, в развитии которого участвует множество генетических и средовых факторов [1-10]. Определение наследственных факторов риска, возможность их выявления до беременности позволит своевременно провести оценку вероятности развития ПЭ и своевременно скорректировать терапию, направленную на предупреждение развития данного осложнения беременности.

К настоящему времени показаны ассоциации с ПЭ более 100 полиморфных вариантов генов (HuGENet.org). Генная сеть заболевания широка и включает, в частности, гены метаболизма, главного комплекса гистосовместимости, липидного обмена, цитокинов и ростовых факторов, системы гемостаза, регуляции функции эндотелия, сосудистой системы и другие. Результаты поиска по данным разных авторов неоднозначны, что может быть связано с различной этнической принадлежностью обследованных, различной методикой определения степени тяжести преэклампсии, а также совокупностью проанализированных аллельных вариантов [1-10].

Цель исследования

Изучение полиморфизма генов, ассоциированных с риском развития артериальной гипертензии и тромбофилии у 50 женщин с преэклампсией и 49 женщин с физиологическим течением беременности.

Материал исследования

В условиях акушерской клиники ФГБУ "Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова" Министерства здравоохранения РФ обследовано 100 беременных женщин в сроке от 20 до 36 недель гестации, которые были разделены на две группы: основную и контрольную. Основную группу составили 50 пациенток с преэклампсией различной степени тяжести. Преэклампсия диагностировалась согласно Клиническим рекомендациям «Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия» (2013).

Контрольную группу составили 49 женщин с неосложненным течением беременности. Группа характеризовалась отсутствием гипертензивных расстройств и протеинурии на всех этапах гестации. Все обследованные являлись жительницами Ивановской области и были русскими по этнической принадлежности. Спектр изученных полиморфизмов представлен в таблице 1.

Таблица 1

Полиморфизмы изученных генов-кандидатов ПЭ

Ген	Локализация гена	Полиморфизм
<i>ADD1</i> (α -аддуктин)	4p16.3	G1378T
<i>AGT</i> (Ангиотензиноген)	1q42-q43	T704C
<i>AGT</i> (Ангиотензиноген)	1q42-q43	C521T
<i>AGTR1</i> (Рецептор ангиотензина II тип 1)	3q21-q25	A1166C
<i>AGTR2</i> (Рецептор ангиотензина II тип 2)	Xq23	G1675A
<i>CYP11B2</i> (Альдостеронсинтаза)	8q21	-344T/C

<i>GNB3</i> (бета 3 субъединица G-белка) – гуанин-связывающий белок		C825T
<i>NOS3</i> (Эндотелиальная синтаза оксида азота)	7q36 NOS3	-786T/C
<i>F2</i> (протромбин, фактор II свертывания крови)	11p11.2	G20210A
<i>F5</i> (фактор V свертывания крови)	1q23	G1691F
<i>F7</i> (фактор VII свертывания крови)	13q34	G10976A
<i>F13A1</i> (фактор XIII свертывания крови)	F13A1	G/T
<i>FGB</i> (фибриноген, фактор I свертывания крови)	4q31.3	-455G/A
<i>PAI-1</i> (серпин 1, антагонист тканевого активатора плазминогена)	7q22.1	-455 5G/4G
<i>ITGA2</i> ($\alpha 2$ интегрин, тромбоцитарный рецептор к коллагену)	5q11.2	C807T
<i>ITGB3</i> (β интегрин, тромбоцитарный рецептор фибриногена)	17q21.32	T1565C

Методы исследования

Выделение тотальной геномной ДНК из 100 мкл цельной венозной крови проводили сорбентным методом с использованием набора «Проба-ГС-Генетика» («ДНК-технология», Россия). Однонуклеотидные полиморфизмы методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием наборов «Кардиогенетика. Тромбофилия» и «Кардиогенетика. Гипертония» («ДНК-технология», Россия).

Статистический анализ проводили с помощью программы StatSoft STATISTICA 6.0. Для сравнения показателей использовали критерий χ^2 . Рассчитывали показатель отношения шансов (OR), приводя 95 % доверительный интервал (95 % CI). Под значимой принимали достоверность $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение

Основная группа и группа контроля были сопоставимы по возрасту, социальной характеристике и акушерско-гинекологическому анамнезу ($p > 0,05$). Средний возраст женщин с ПЭ составил $28,4 \pm 0,7$ лет, в контрольной группе – $29,8 \pm 0,7$ лет. Умеренная ПЭ диагностирована у 68% женщин, тяжелая – у 32%. Большинство обследованных пациенток были служащими, находились в официальном браке, имели среднее образование, состояли на учете в женской консультации с 12 недель. При оценке репродуктивной функции было выявлено, что большинство женщин обеих групп были первородящими ($p > 0,05$). Среди гинекологических заболеваний у обследованных беременных одинаково часто встречались воспалительные процессы органов малого таза ($p > 0,05$). Женщины основной группы по сравнению с контрольной чаще страдали ожирением ($p = 0,01$) и хроническим пиелонефритом

($p=0,05$). Наследственность, отягощенная по гипертонической болезни и сердечно-сосудистым заболеваниям, гипертензивные расстройства при предыдущих беременностях отмечались чаще в группе женщин с преэклампсией по сравнению с контрольной группой ($p=0,001$ в обоих случаях).

Достоверные отличия в генных и генотипических частотах между пациентками обеих групп были получены для полиморфизмов *F5 G1691A*, *F7 G10976A*, *AGTR1 A1166 C*, *AGTR2 G1675A*, *NOS3 -786T/C* (таблица 2).

Таблица 2

Генные и генотипические частоты по полиморфизмам
F5 G1691A, *F7 G10976A*, *AGTR1 A1166>C*, *AGTR2 G1675A*, *NOS3 -786T/C*
у женщин с преэклампсией и женщин с физиологическим течением беременности

Аллель / Генотип	Контроль			ПЭ			p	OR CI-95% (OR min-ORmax)
	n	N	%	n	N	%		
<i>F5 G1691A</i>								
G	94	98	95,92	100	100	100,00	0,041	9,571 (1,094 - 83,755)
A	4	98	4,08	0	100	0,00	0,041	0,104 (0,012 - 0,914)
GG	45	49	91,84	50	50	100,00	0,039	9,989 (1,121 - 89,006)
GA	4	49	8,16	0	50	0,00	0,039	0,1 (0,011 - 0,892)
AA	0	49	0,00	0	50	0,00	1	0,98 (0 - бесконечность)
<i>F7 G10976A</i>								
G	90	96	93,75	86	100	86,00	0,073	0,428 (0,17 - 1,083)
A	6	96	6,25	14	100	14,00	0,073	2,334 (0,924 - 5,898)
GG	42	48	87,50	36	50	72,00	0,057	0,385 (0,144 - 1,029)
GA	6	48	12,50	14	50	28,00	0,057	2,597 (0,972 - 6,942)
AA	0	48	0,00	0	50	0,00	1	0,96 (0 - бесконечность)
<i>AGTR1 A1166 C</i>								
A	50	56	89,29	35	54	64,81	0,003	0,234 (0,093 - 0,593)
C	6	56	10,71	19	54	35,19	0,003	4,268 (1,686 - 10,805)
AA	22	28	78,57	10	27	37,04	0,003	0,173 (0,058 - 0,521)
AC	6	28	21,43	15	27	55,56	0,009	4,292 (1,434 - 12,849)
CC	0	28	0,00	2	27	7,41	0,143	5,588 (0,561 - 55,67)
<i>AGTR2 G1675A</i>								

G	35	52	67,31	15	58	25,86	0,001	0,176 (0,08 - 0,384)
A	17	52	32,69	43	58	74,14	0,001	5,693 (2,604 - 12,446)
GG	14	26	53,85	2	29	6,90	0,001	0,078 (0,021 - 0,289)
GA	7	26	26,92	11	29	37,93	0,389	1,616 (0,547 - 4,775)
AA	5	26	19,23	16	29	55,17	0,006	4,778 (1,56 - 14,63)
NOS3 -786T/C								
T	70	98	71,43	59	100	59,00	0,066	0,58 (0,324 - 1,038)
C	28	98	28,57	41	100	41,00	0,066	1,725 (0,964 - 3,089)
TT	27	49	55,10	16	50	32,00	0,02	0,391 (0,177 - 0,865)
TC	16	49	32,65	27	50	54,00	0,032	2,376 (1,076 - 5,244)
CC	6	49	12,24	7	50	14,00	0,067	1,154 (0,39 - 3,415)

Согласно результатам настоящего исследования, у женщин с ПЭ достоверно чаще, чем у женщин с физиологическим течением беременности, отмечается гетерозиготное носительство мутантного аллеля 10976A в гене проконвертина. Вместе с тем, присутствие в генотипе мутантного аллеля 1691 A в гене пятого фактора свертывания крови было выявлено лишь у четыре беременных контрольной группы (таблица 2).

Как известно, нарушения системы свертывания крови при гестозе являются распространенными осложнениями. В ранних работах внимание исследователей главным образом было направлено на определение частот встречаемости мутантных аллелей в генах факторов свертывания крови *F2* и *F5*.

Большинство авторов отмечает, что патогенетическое влияние данных полиморфизмов на развитие преэклампсии заключается в том, что они ведут к тромбозу, нарушают инвазию трофобласта и трансформируют маточно-плацентарный кровоток в систему с высоким периферическим сопротивлением [2]. Лейденовская мутация гена V фактора (FV Leiden) свертывания крови характеризуется заменой остатка гуанина в положении 1691 гена на остаток аденина (G1691A) и ассоциирована с повышенным риском развития тромбоза. По данным ряда авторов у женщин с Лейденской мутацией обнаруживаются тромбозы в плаценте, что и является причиной повышенного риска гестоза, невынашивания беременности, фетоплацентарной недостаточности, внутриутробной гибели плода, задержки роста плода, отслойки плаценты [10]. Вместе с тем, по другим данным, у женщин из разных этнических групп не всегда выявляются ассоциации Лейденовской мутации с данным осложнением беременности [1]. По мнению Ворожищевой А.Ю. (2014), в европеоидных популяциях однонуклеотидная замена G1691A гена F5 определяет степень тяжести данной патологии. Так, автором при исследовании популяции русских была

установлена ассоциация генотипа GA и аллеля A полиморфного варианта G1691A гена F5 с тяжелой формой ПЭ [1].

Основной физиологической функцией проконвертина (*FVII*) является активация фактора свертывания крови X, который участвует в процессе активации протромбина и его превращения в тромбин. Единичная нуклеотидная замена G10976A в кодирующем участке гена *F7* определяет замену аминокислотного остатка аргинина (Arg) на остаток глутамина (Gln) в позиции 353 первичной структуры белковой молекулы, что приводит к снижению ферментативной активности фактора VII и способствует понижению риска тромбообразования. Таким образом, низкофункциональный аллельный вариант 10976A гена *F7* оказывает протективный эффект относительно риска развития тромбозов.

По нашему мнению, основываясь на результатах настоящего исследования, преждевременно говорить о том, что роль наследственной тромбофилии в генезе ПЭ не подтверждена, поскольку объем проведенных исследований для подобного заключения представляется нам недостаточным как по количеству пациентов, так и по спектру изученных полиморфизмов (не проводилось исследование генов фолатного цикла). Однако, не отрицая значимости тромбофилических осложнений беременности при ПЭ, возможно предположить, что механизм повышенного тромбообразования может быть обусловлен другими генными эффектами, а полученные результаты лишь демонстрируют вариабельность генетической компоненты мультифакториального заболевания, связанную, в частности, с особенностями структуры генофонда популяции.

Нами было выявлено достоверное увеличение частоты встречаемости низкофункциональных вариантов в генах, ассоциированных с развитием артериальной гипертензии (гены рецепторов 1-ого и 2-ого типов для ангиотензина II и ген синтазы окиси азота) у женщин с ПЭ по сравнению с женщинами с физиологическим течением беременности (таблица 2).

Известно, что гормон ангиотензин II вызывает сужение сосудов и является основным регулятором синтеза альдостерона. Конечным результатом такого действия является увеличение объема циркулирующей крови и повышение системного артериального давления. Ангиотензин II взаимодействует с двумя клеточными рецепторами ангиотензина 1-го и 2-го типов, кодируемых, соответственно, генами *AGTR1* и *AGTR2*. Замена аденина (A) на цитозин (C) в позиции 1166 в регуляторной области гена *AGTR1* приводит к усилению его экспрессии. Механизм усиления обусловлен следующим. В ходе синтеза белка-рецептора с некодирующими участками мРНК, транслированной с аллеля *AGTR1* 1166A, по принципу комплементарности взаимодействуют микроРНК miR155, что тормозит процесс трансляции и способствует снижению синтеза белка. С полиморфным аллелем *AGTR1* 1166C микроРНК

связываться не могут, в результате чего увеличивается синтез белкового продукта и изменяется функциональная активность рецепторов [10].

Сердечно-сосудистые эффекты ангиотензина II, опосредованные AT2-рецепторами, противоположны эффектам, обусловленным AT1-рецепторами, то есть взаимодействие ангиотензина II с рецепторами 2-ого типа обуславливает снижение артериального давления. Увеличение количества рецепторов ангиотензина II 2-го типа на поверхности клетки определяется аллелем *AGTR2* 1675G, поскольку он ассоциирован с активацией транскрипции гена. При нуклеотидной замене G1675A в регуляторной области гена негативно меняется характер регуляции экспрессии гена. В результате у носителей данного низкофункционального полиморфизма наблюдается снижение количества рецепторов 2-го типа и частичная потеря ими функции (участие в продукции NO, дилатация сосудов), что и способствует увеличению риска развития артериальной гипертензии. В настоящем исследовании обращает внимание достоверное увеличение гомозиготного носительства данного низкофункционального полиморфизма у женщин с ПЭ по сравнению с женщинами с физиологическим течением беременности. Учитывая тот факт, что ген *AGTR2* локализован в X хромосоме, фенотипическое проявление гетерозиготного носительства аллеля 1675A может быть сглажено вследствие явления аллельного исключения при инактивации в клетке одной из половых хромосом. У гомозигот фенотипический эффект не нивелируется данным явлением, что, вероятно, и определяет значительное увеличение частоты генотипа *AGTR2* 1675A/A в группе женщин с осложненным течением беременности.

В патогенезе преэклампсии большое значение имеет эндотелиальная дисфункция [9], которая проявляется увеличением «чувствительности» сосудистой стенки к прессорным влияниям медиаторов с одновременным уменьшением продукции вазодилататоров, таких как оксид азота (NO). Оксид азота является основным эндотелиальным фактором релаксации, участвующим в поддержании тонуса сосудистой стенки, тромбогенезе. В синтезе NO в эндотелии и, следовательно, в регуляции сосудистого тонуса, кровотока и артериального давления участвует конституциональная эндотелиальная NO-синтаза 3-го типа (NOS3, синоним eNOS) [8].

В настоящее время наиболее активно изучаются 3 аллельных варианта гена эндотелиальной NO-синтазы (NOS3): 4a/4b в 5 интроне, структурная замена 894G>T в 7 экзоне и полиморфизм промоторной области гена – 786T>C. Указанные полиморфизмы являются низкофункциональными, то есть при наличии их в генотипе снижается экспрессия гена NOS3. Уменьшенная продукция эндотелиальной NO-синтазы, в свою очередь, обуславливает снижение концентрации окиси азота в кровяном русле, вследствие чего понижается вазодилатация, что может быть важным механизмом развития артериальной

гипертензии. В литературе имеются данные об ассоциации низкофункциональных вариантов гена эндотелиальной NO-синтетазы с различной акушерской патологией, в основе которой лежат изменения сосудистого тонуса (гестоз, плацентарная недостаточность, СЗРП) [3, 6]. Согласно результатам настоящего исследования у женщин с ПЭ отмечается повышенная частота встречаемости аллеля -786С в гене NOS3 (таблица 2). Наши данные согласуются с результатами ряда авторов, полученными для разных популяций и разных этнических групп, где установлена ассоциация низкофункциональных аллелей гена NOS3 с формированием дисфункции эндотелия у пациенток с артериальной гипертензией [1, 5, 7].

Выводы

Таким образом, наличие полиморфизмов генов-регуляторов сосудистого тонуса (ренин-ангиотензиновой системы и эндотелиальной синтетазы оксида азота), предрасполагающих к гипертензионным осложнениям, существенно повышает риск развития ПЭ. Выявленные в настоящем исследовании ассоциации могут быть использованы в качестве генетических маркеров предрасположенности к формированию преэклампсии, что позволит своевременно сформировать группу риска и скорректировать лечебно-профилактические мероприятия.

Список литературы

1. Ворожищева А.Ю. Генетические факторы развития преэклампсии в популяциях различного этнического происхождения: Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Томск, 2014. – 24 с.
2. Лоскутова Т.А. Определение генных полиморфизмов для оценки риска и профилактики развития преэклампсии у беременных // Вопросы современной медицины: тезисы докл. Международной заочной научно-практической конф. (Новосибирск, 11 февр. 2013г.). – Новосибирск, 2013.
3. Мозговая Е.В. Исследование генетической предрасположенности к гестозу: полиморфизм генов, участвующих в регуляции функции эндотелия // Журнал акушерства и женских болезней. – 2003. – Т. LII, № 2. – С. 25-34.
4. Преэклампсия: рук. / под ред. Г.Т. Сухих, Л.Е. Мурашко. – М.: ГЕОТАР-медиа, 2010. – 576 с.
5. Радьков О.В. Молекулярно-генетические аспекты патогенеза, клиники, профилактики и лечения артериальной гипертонии у беременных. Автореф. дисс. канд. мед. наук. – М., 2012. – 50 с.

6. Спиридонова М.Г., Трифонова Е.А., Фадюшина СВ. и др. Молекулярно-генетический анализ полиморфных маркеров генов, ответственных за функционирование факторов эндотелиальной системы в связи с осложнённым протеканием беременности // Медицинская генетика. – 2007. – Т. 4, № 3. – С. 38-42.
7. Халфорд-Князева И.П. Генетические маркеры прогнозирования преэклампсии. Автореф. дисс. канд. мед. наук. – М., 2013. – 22 с.
8. Arngrimsson R., Hayward C., Nadaud S. Evidence for a familial pregnancy-induced hypertension locus in the eNOS-gene region // Am. J. Hum. Genet. 1997. Vol. 61. P. 354-362.
9. Blaauw J. Abnormal endothelium-dependent microvascular reactivity in recently preeclamptic women // Obstet. Gynecol. – 2005. – Vol. 105. - №3. – P. 626–632.
10. Sethupathy, P., Borel, C., Gagnebin, M., Grant, G. R., Deutsch, S., Elton, T. S., Hatzigeorgiou, A. G., Antonarakis, S. E. Human microRNA-155 on chromosome 21 differentially interacts with its polymorphic target in the AGTR1 3-prime untranslated region: a mechanism for functional single-nucleotide polymorphisms related to phenotypes // Am. J. Hum. Genet. – 2007. – Vol. 81. – P. 405-413.

Рецензенты:

Назаров С.Б., д.м.н., профессор, заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения "Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Иваново;

Борзова Н.Ю., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела акушерства и гинекологии Федерального государственного бюджетного учреждения "Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Иваново.