

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 618.3-06:616.8-009.24

Белокриницкая Т.Е., Фролова Н.И., Страмбовская Н.Н., Колмакова К.А.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И МЕЖГЕННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ, ДИСФУНКЦИЕЙ ЭНДОТЕЛИЯ, НАРУШЕНИЯМИ ГЕМОСТАЗА И ФОЛАТНОГО ОБМЕНА, ПРИ ТЯЖЁЛОЙ ПРЕЭКЛАМПСИИ

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Цель исследования: Проанализировать частоту встречаемости полиморфизмов и комбинаций генов *ADD1-1378G>T*, *AGT-704T>C*, *AGT-521C>T*, *AGTR1-1166A>C*, *AGTR2-1675G>A*, *eNO3-786T>C*, *eNOS3-894G>C*, *FVL-1691G>A*, *FII-20210G>A*, *CYP11B2-304C>T*, *GNB3-825C>T* и оценить их прогностическое значение для риска развития тяжелой преэклампсии.

Материалы и методы. В исследование были включены женщины раннего фертильного возраста (20-35 лет), со спонтанной одноплодной беременностью, отсутствием вредных привычек (курение, прием алкоголя или наркотических средств), экстрагенитальных заболеваний, семейной (мать или сестра) или индивидуальной истории преэклампсии, с индексом массы тела в первом триместре гестации $\leq 35 \text{ кг/м}^2$. Основную группу составили 100 пациенток с тяжелой преэклампсией, контрольную группу – 100 женщин с неосложненной беременностью. Генотипирование проведено методом полимеразной цепной реакции. Анализ результатов включал соответствие закону Харди-Вайнберга, критерий *V*-Крамера, χ^2 -тест, относительный шанс (ОШ) и его 95% доверительный интервал (95% ДИ). Для оценки распределения заявленных полиморфизмов генов и их аллелей использовали общую (χ^2 -тест, $df=2$) и мультипликативную (χ^2 -тест, $df=1$) модели наследования.

Результаты. Выявлена значимая ассоциативная связь между носительством мутантных гомозиготных генотипов *AGTR1-1166CC* ($\chi^2=5,128$; $p=0,024$) и *eNO3-786CC* ($\chi^2=19,780$; $p=0,000$) и развитием тяжелой преэклампсии. Гетерозиготный генотип *FVL-1691GA* был обнаружен в геноме пациенток только в группе тяжелой преэклампсии (2% vs 0%). Установлено синергическое взаимодействие между полиморфными локусами при тяжелой преэклампсии. Комбинации потенциально предиктивных генотипов аллелей полиморфизма рассматриваемых генов у женщин с преэклампсией регистрировались в 8,7 раза чаще (26% vs 3%; $\chi^2=21,34$, $p=0,000$; *V*-Крамера 0,327), что существенно увеличивало риск развития заболевания (ОШ=11,360, 95% ДИ 3,311-38,976).

Заключение. На роль молекулярно-генетических предикторов тяжелой преэклампсии могут претендовать комбинация не менее 2 мутантных аллелей генов-кандидатов на артериальную гипертензию, а также их сочетание с мутантным(и) геном(ами) альфа-аддуцина *ADD1-1378TT*, гуанин связывающего протеина *GNB3-825TT* или цитохрома *P-450 (CYP11B2-304TT)* и гетерозиготным носительством генов тромбофилии *FVL-1691GA* (фактор Лейдена) или *FII-20210GA* (протромбина).

Ключевые слова: полиморфизм генов, межгенные взаимодействия, преэклампсия, артериальная гипертензия, дисфункция эндотелия, гемостаз.

Belokrinitskaya T.E., Frolova N.I., Strambovskaya N.N., Kolmakova K.A.

PREVALENCE AND GENE-GENE INTERACTIONS OF GENE POLYMORPHISM ASSOCIATED WITH ARTERIAL HYPERTENSION, ENDOTHELIAL DYSFUNCTION, DISORDERS OF HEMOSTASIS AND FOLATE METABOLISM IN PATIENTS WITH SEVERE PREECLAMPSIA
Chita State Medical Academy, Chita, Russia

The aim of the research. To assess the association between polymorphisms of *ADD1-1378G>T*, *AGT-704T>C*, *AGT-521C>T*, *AGTR1-1166A>C*, *AGTR2-1675G>A*, *eNO3-786T>C*, *eNOS3-894G>C*, *FVL-1691G>A*, *FII-20210G>A*, *CYP11B2-304C>T*, *GNB3-825C>T* and their combinations among women with severe preeclampsia.

Materials and methods. This study included two groups of Russian young reproductive age women with spontaneous singleton pregnancy: 100 patients with severe preeclampsia and 100 women without preeclampsia (control). Median age of women ranged till 20 to 35 years. All women had not a history of hypertension, autoimmune, metabolic, renal, or cardiac diseases, and family or individual history preeclampsia before this pregnancy. Their body mass index in 1-st trimester of gestation was $\leq 35 \text{ kg/sq.m}$. Genetic poly-

morphisms were studied by polymerase chain reaction with the detection of the amplification product in real time. We have analyzed the frequencies, Hardy-Weinberg equilibrium, V-Kramer test, χ^2 test, odds ratio (OR) and its 95% confidence interval (95% CI). General (χ^2 test, $df=2$) and multiplicative (χ^2 test, $df=1$) models of inheritance were used to assess the presence of gene polymorphisms.

Results. Significant association was found between mutant homozygotes genotypes *AGTR1-1166CC* ($\chi^2=5.128$; $p=0.024$), *eNO3-786CC* ($\chi^2=19.780$; $p=0.000$) and severe preeclampsia. Heterozygous genotype *FVL-1691GA* was detected only in patients of preeclampsia group (2% vs 0%). Synergy between polymorphic loci is established in women with severe preeclampsia. Multiplicative gene-gene interactions were also observed in this study. We found that the risk of severe preeclampsia was higher in patients with combinations of potentially predictive gene polymorphisms (26% vs 3%; $\chi^2=21.34$, $p=0,000$; $OR=11.360$, 95% CI 3.311-38.976).

Conclusion. Our results support that the combination of ≥ 2 mutant alleles of genes-candidate for arterial hypertension or their combination with the mutant gene(s) of *ADD1-1378TT*, *GNB3-825TT* or cytochrome P-450 (*CYP11B2-304TT*) and heterozygous genotypes *FVL-1691GA* or *FII-20210GA* can be considered as a genetic molecular predictor of severe preeclampsia.

Keywords: gene polymorphism, gene-gene interactions, preeclampsia, arterial hypertension, endothelial dysfunction, hemostasis.

В эпоху персонализированной и предиктивной медицины для прогнозирования риска развития гипертензивных осложнений при беременности внимание исследователей привлекают поиски возможной взаимосвязи между полиморфизмом генов альфа-аддуцина, ангиотензиногена, эндотелиальной синтазы окиси азота, гуанин-связывающего протеина GNB3, цитохрома P-450 и возникновением преэклампсии [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7].

Однако мнения современных исследователей по данному вопросу оказались противоречивы и зависели от популяционных особенностей и этнической принадлежности пациентов исследуемых групп [1, 3, 4, 5, 6, 7]. Кроме того, известно, что неаллельные гены могут взаимодействовать между собой, в результате чего при определенных сочетаниях генетических полиморфизмов могут меняться реализуемые ими эффекты [8]. В этом аспекте в настоящее время хорошо изучены аллельные варианты генов гемостаза, ассоциированных с повышенным риском развития тромбофилии [9].

В связи с этим определена **цель нашей работы** – проанализировать частоту встречаемости полиморфизмов и комбинаций генов *ADD1-1378G>T*, *AGT-704T>C*, *AGT-521C>T*, *AGTR1-1166A>C*, *AGTR2-1675G>A*, *eNO3-786T>C*, *eNOS3-894G>C*, *FVL-1691G>A*, *FII-20210G>A*, *CYP11B2-304C>T*, *GNB3-825C>T* и оценить их прогностическое значение для риска развития тяжелой преэклампсии.

Материалы и методы. Данное исследование было одобрено Этическим комитетом Читинской государственной медицинской академии (протокол № 64 от 23 июня 2014 г.) и проводилось на базе ГБУЗ «Забайкальский краевой перинатальный центр» г. Читы (главный врач – Е.Н. Агафонова) в течение 2014-2017 гг. Клиническую группу составили 100 пациенток с тяжелой преэклампсией (группа ПЭ), группу сравнения – 100 женщин с неосложненным течением гестации (контрольная группа) сопоставимых по возрасту, социальному статусу и паритету. Критерии включения в исследование: возраст матери от 20 до 35 лет, спонтанная одноплодная беременность, индекс массы тела ≤ 35 кг/м² в первом триместре гестации, отсутствие вредных привычек (курение, прием алкоголя или наркотических средств), экстрагенитальных заболеваний, семейной (мать или сестра) или индивидуальной истории преэклампсии.

Диагноз тяжёлая преэклампсия ставился согласно критериям, предписанным клиническими рекомендациями «Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия», утвержденными Минздравом России (2013, 2016), на основании наличия таких симптомов как: тяжёлая артериальная гипертензия (систолическое АД более или равно 160 мм рт. ст., диастолическое – более или равно 110 мм рт. ст.), протеинурия более 5 г/л в 24 часовой пробе мочи или > 3 г/л в двух порциях мочи, взятой с интервалом в 6 часов, а также одного или более критериев тяжелой преэклампсии, свидетельствующих о развитии полиорганной недостаточности (HELLP(ELLP)-синдром; ус-

тойчивые головные боли, рвота или другие церебральные или зрительные расстройства; олигурия < 500 мл/сут, повышение уровня креатинина; отек диска зрительного нерва; повышение ферментов АЛАТ, АсАТ, ЛДГ; тромбоцитопения и/или её прогрессирование; боли в эпигастрии/правом верхнем квадранте живота и др. [10].

Генотипирование для выявления интересующих нас полиморфизмов проведено на ДНК, полученной из лейкоцитов периферической крови («Проба-РАПИД генетика», ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Москва). В качестве метода использована полимеразная цепная реакция с детекцией продукта амплификации в режиме реального времени (Амплификатор «ДТ-96», ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Москва) с использованием комплектов реагентов «КардиоГенетика гипертония», «КардиоГенетика тромбофилия», «Генетика метаболизма фолатов» (ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Москва). Генетические исследования выполнены в НИИ Молекулярной медицины Читинской государственной медицинской академии (директор института – профессор Ю.А. Витковский). Частоты генотипов обследованных пациенток проверяли на соответствие закону Харди-Вайнберга.

Качественные данные представлены в виде числа n и % (число больных с данным признаком, процент от их количества в группе) или десятичной доли единицы (P).

Статистическая обработка результатов произведена с помощью пакета программ Statistica 10. Достоверность разницы между двумя средними показателями оценивали по критерию Стьюдента (t); между долями – по критерию χ^2 . Значения считали статистически достоверными при величине $\chi^2 > 3,84$, при $p \leq 0,05$. Силу связи между изучаемым полиморфизмом и частотой преэклампсии оценивали по величине показателя V-Крамера и отношения шансов (ОШ). Доверительные интервалы (ДИ), приводимые в работе, строились для доверительной вероятности $p=95\%$.

Результаты и обсуждение. Средний возраст обследованных варьировал от 20 до 35 лет, не имел значимых различий в сравниваемых группах и составил $31,1 \pm 3,9$ лет (контрольная группа) и $31,5 \pm 3,3$ лет (группа ПЭ, $p > 0,05$).

Альфа-аддуцин стимулирует сборку спектрин-актиновых сетей в цитоскелете клеточной мембраны. Белок был найден в большинстве тканей, в частности, он регулирует внутриклеточную передачу сигнала в клетках почечных канальцев. Замещение триптофана на глицин в аминокислоте номер 460 (полиморфизм Gly460Trp) альфа-субъединицы белка цитоскелета аддуцина увеличивает почечную реабсорбцию натрия и может быть вовлечено в патогенез развития преэклампсии [5, 11].

Нами не установлено ассоциативной связи между полиморфизмом генов альфа-аддуцина и развитием преэклампсии. Среди пациенток с ПЭ частота носительства гетерозиготного (1378GT) и мутантного гомозиготного (1378TT) вариантов гена альфа-аддуцина не имела статистически значимых отличий от таковых у женщин с неосложненным течением беременности ($p\chi^2 > 0,05$). Критерий V-Крамера составил соответственно 0,055 и 0,083 и свидетельствовал о несущественной связи между данными генетическими полиморфизмами и преэклампсией (таблица 1).

Ангиотензиноген является предшественником вазоактивных гормонов ангиотензина I и II. Генетические вариации гена ангиотензиногена (AGT) могут существенно влиять на концентрацию белка в плазме, а соответственно - и на уровень других компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Существует более тридцати полиморфных вариантов гена AGT, из которых наиболее изучены M235T и T174M (AGT-704T>C и AGT-521C>T), детерминирующие повышенный уровень экспрессии ангиотензиногена, что рядом авторов расценивается как фактор риска развития преэклампсии [1, 12.].

У пациенток сравниваемых групп не выявлено статистически значимых различий в частоте генотипов AGT-704T>C и повышенного риска развития преэклампсии при гетерозиготном и мутантном генотипах (слабая сила связи по критерию V-Крамера – 0,100) (таблица 1). Большинство обследованных женщин с ПЭ и неосложненной беременностью имели гетерозиготный вариант полиморфизма AGT-704TC: 55,0% и 45,0% ($p\chi^2 = 0,158$), соответственно. Показатели частоты дикого аллеля C также не имели отличий и составили 0,525 и

0,565, соответственно. В целом распространенность аллеля С гена *AGT-704T>C*, ассоциированного с риском преэклампсии, среди обследованных жительниц Забайкальского края была несколько выше, чем общепопуляционные показатели – 41% [8, 13].

Согласно нашим результатам, вероятность развития преэклампсии при гетерозиготном генотипе *AGT-521CT* была низка (критерий V-Крамера 0,117, ОШ=1,741, 95% ДИ 0,900–3,371). Заслуживает внимания, что у женщин с осложненным течением беременности с наименьшей частотой зарегистрирован мутантный гомозиготный вариант полиморфизма ангиотензиногена *AGT-521TT* 1,0% против 12,0% ($p\chi^2=0,002$) в контрольной группе пациенток. Выявленный факт представляет большой научный интерес и требует дальнейшего изучения, поскольку в настоящее время появились работы, указывающие на взаимосвязь генов ангиотензин-конвертирующих ферментов и женского бесплодия [14].

Показатель распространенности гомозиготного состояния генотипа по мутантному аллелю *AGT-521TT* у женщин с физиологическим течением беременности полностью совпадает с показателями общепопуляционной статистики – 10-12% [13]. Нами не установлено взаимосвязи между распространенностью мутантного аллеля Т у беременных с гипертензивными расстройствами: 0,155 (группа ПЭ) vs 0,215 (группа здоровые, $p\chi^2=0,280$, критерий V-Крамера 0,076 – несущественная связь).

Ген рецептора 1-го типа ангиотензиногена-2 (*AGTR1*) кодирует один из четырех основных рецепторов ангиотензина II, расположенных в эндотелии сосудов и опосредующих все основные сердечно-сосудистые эффекты ангиотензина II. Основная биологическая роль этого гена заключается в регуляции артериального давления. Наибольшее клиническое значение имеет полиморфизм, локализованный в 3'-нетранслирующем регионе гена, приводящий к замене в 1166 позиции А>С (rs5186) и ассоциированный с риском развития артериальной гипертензии [8].

У женщин сравниваемых групп не выявлено статистически значимых отличий в распространенности генотипов *AGTR1-1166AA* и *AGTR1-1166AC* (таблица 1). Среди обследованных с неосложненным течением беременности не идентифицировано носительниц мутантного генотипа *AGTR1-1166CC*, в то время как 5,0% пациенток с ПЭ имели данный генотип ($p\chi^2=0,024$). Нами обнаружено наличие слабой связи между мутантным генотипом *AGTR1-1166CC* и развитием преэклампсии (критерий V-Крамера 0,160). Частота встречаемости мутантного аллеля С в сравниваемых группах не имела статистически значимых различий: 0,205 vs 0,185 ($p\chi^2=0,719$), а критерий V-Крамера 0,025 свидетельствовал об отсутствии связи с данным осложнением беременности.

Нами также не обнаружено отличий в распространенности полиморфизмов *AGTR2-1675G>A* и мутантного аллеля *AGTR2 1675A* у женщин исследуемых групп. Оценка ассоциативных связей не выявила повышенного риска развития преэклампсии у гетерозиготных и мутантных носителей генотипа *AGTR2-1675G>A*.

Таблица 1

Частота генетических полиморфизмов и частота аллелей
в сравниваемых клинических группах

Исследуемые полиморфизмы	Беременные с преэклампсией (n=100)	Здоровые беременные (n=100)	χ^2 ; p	Критерий V Крамера, сила связи	ОШ, 95% ДИ	Стандартная ошибка отношения шансов (S)
Генотипы/частоты аллелей	Абс (%)	Абс (%)				
<i>ADD1-1378G>T</i>						
GG	60 (60,0%)	68 (68,0%)	1,389; 0,239	0,083, несущественная	0,706, 0,395– 1,261	0,296

GT	32 (32,0%)	27 (27,0%)	0,601; 0,439	0,055, несущественная	1,272, 0,692– 2,340	0,311
TT	8 (8,0%)	5 (5,0%)	0,740; 0,390	0,061, несущественная	1,652, 0,521– 5,237	0,589
G	76 (0,760)	81,5 (0,815)	1,81	0,18	0,72, 0,44–1,16	
T	24 (0,240)	18,5 (0,185)			1,39, 0,86–2,25	
AGT-704T>C						
TT	20 (20,0%)	21 (21,0%)	0,031; 0,861	0,012, несущественная	0,940, 0,473– 1,869	0,350
TC	55 (55,0%)	45 (45,0%)	2,000; 0,158	0,100, слабая	1,494, 0,856– 2,608	0,284
CC	25 (25,0%)	34 (34,0%)	1,947; 0,163	0,099, несущественная	0,647, 0,350– 1,195	0,313
T	47,5 (0,475)	43,5 (0,435)	0,65; 0,420	0,060, несущественная	1,18, 0,79–,74	
C	52,5 (0,525)	56,5 (0,565)			0,85, 0,57–1,26	
AGT-521C>T						
CC	70 (70,0%)	69 (69,0%)	0,024; 0,878	0,011, несущественная	1,048, 0,574– 1,914	0,307
CT	29 (29,0%)	19 (19,0%)	2,741; 0,098	0,117, слабая	1,741, 0,900– 3,371	0,337
TT	1 (1,0%)	12 (12,0%)	9,955*; 0,002	0,223, средняя	0,074, 0,009– 0,581	1,051
C	84,5 (0,845)	78,5 (0,785)	1,170; 0,280	0,076, несущественная	1,49, 0,90–2,49	
T	15,5 (0,155)	21,5 (0,215)			0,67, 0,40–1,12	
AGTR1-1166A>C						
AA	64 (64,0%)	63 (63,0%)	0,022; 0,884	0,010, несущественная	1,044, 0,587– 1,857	0,294
AC	31 (31,0%)	37 (37,0%)	0,802; 0,371	0,063, несущественная	0,765, 0,425– 1,376	0,299
CC	5 (5,0%)	0 (0,0%)	5,128*; 0,024	0,160, слабая		
A	79,5 (0,795)	81,5 (0,815)	0,130; 0,719	0,025, несущественная	0,88, 0,54–1,44	
C	20,5 (0,205)	18,5 (0,185)			1,14, 0,69–1,86	
AGTR2-1675G>A						

GG	28 (28,0%)	21 (21,0%)	1,325; 0,250	0,081, несущественная	1,444, 0,754– 2,767	0,332
GA	45 (45,0%)	47 (47,0%)	0,081; 0,777	0,020, несущественная	0,923, 0,529– 1,609	0,284
AA	27 (27,0%)	32 (32,0%)	0,601; 0,439	0,055, несущественная	0,786, 0,427– 1,446	0,311
G	50,5 (0,505)	44,5 (0,445)	0,721; 0,396	0,060, несущественная	1,27, 0,86–1,89	
A	49,5 (0,495)	55,5 (0,555)			0,79, 0,53–1,16	
NO3-894G>C						
GG	62 (62,0%)	63 (63,0%)	0,021; 0,884	0,010, несущественная	0,958, 0,541– 1,699	0,292
GC	32 (32,0%)	33 (33,0%)	0,023; 0,880	0,011, несущественная	0,955, 0,529– 1,727	0,302
CC	6 (6,0%)	4 (4,0%)	0,421; 0,517	0,046, несущественная	1,532, 0,419– 5,603	0,662
G	78,0 (0,780)	79,5 (0,795)	0,121; 0,729	0,025, несущественная	0,91, 0,57–1,48	
C	22,0 (0,220)	20,5 (0,205)			1,09, 0,68–1,77	
NO3-786T>C						
TT	34 (34,0%)	55 (55,0%)	8,928*; 0,003	0,211, средняя	0,421, 0,238– 0,746	0,291
TC	48 (48,0%)	45 (45,0%)	0,181; 0,671	0,030, несущественная	1,128, 0,647– 1,967	0,284
CC	18 (18,0%)	0 (0)	19,780*; 0,000	0,314, средняя		
T	58,0 (0,580)	77,5 (0,775)	8,228*; 0,005	0,203, средняя	0,40, 0,26–0,62	
C	42,0 (0,480)	22,5 (0,225)			2,49, 1,61–3,85	
FVL-1691G>A						
GG	98 (98,0%)	100 (100,0%)	2,020; 0,156	0,101, слабая		
GA	2 (2,0%)	-	2,020; 0,156			
AA	-	-				
G	99,0 (0,990)	100,0 (1,000)	1,005; 0,317	0,071, несущественная	0,20, 0,01–4,15	
A	1,0 (0,010)	0			5,05, 0,24– 105,87	
FII-20210G>A						

GG	94 (94,0%)	96 (96,0%)	0,421; 0,517	0,046, несущественная	0,653, 0,178– 2,387	0,662
GA	6 (6,0%)	4 (4,0%)	0,421; 0,517	0,046, несущественная	1,532, 0,419– 5,603	0,662
AA	-	-				
G	97,0 (0,970)	98,0 (0,980)	0,205; 0,651	0,032, несущественная	0,66, 0,18–2,37	
A	3,0 (0,030)	2,0 (0,020)			1,52, 0,42–5,45	
СУР11В2-304С>Т						
CC	22 (22,0%)	18 (18,0%)	0,500; 0,480	0,050, несущественная	1,285, 0,641– 2,577	0,355
CT	48 (48,0%)	53 (53,0%)	0,500; 0,480	0,050, несущественная	0,687, 0,398– 1,183	0,278
TT	30 (30,0%)	29 (29,0%)	0,024, 0,877	0,011, несущественная	1,049, 0,571– 1,927	0,310
C	46,0 (0,460)	44,5 (0,445)	0,081; 0,777	0,020, несущест- венная	1,06, 0,72–1,58	
T	54,0 (0,540)	55,5 (0,555)			0,94, 0,63–1,40	
GNB3-825С>Т						
CC	55 (55,0%)	46 (46,0%)	1,620; 0,204	0,090, несущественная	1,435, 0,822– 2,503	0,284
CT	39 (39,0%)	50 (50,0%)	2,450; 0,118	0,111, слабая	0,639, 0,365– 1,121	0,286
TT	6 (6,0%)	4 (4,0%)	0,421; 0,517	0,045, несущественная	1,532, 0,419– 5,603	0,662
C	74,5 (0,745)	71 (0,710)	0,62; 0,43	0,045, несущественная	1,19, 0,77–1,85	
T	25,5 (0,255)	29 (0,290)			0,84, 0,54–1,30	

Примечание: * – различия статистически значимы

Активное участие окиси азота (NO) в регуляции сосудистого тонуса, кровотока и артериального давления позволяет рассматривать функционально-значимые полиморфизмы гена eNOS как возможные маркеры риска развития артериальной гипертензии, тяжелой преэклампсии, эклампсии [8].

Исследование полиморфизма eNOS3-894G>C показало, что большинство женщин в обеих группах имели нормальный гомозиготный генотип eNOS3-894GG: 62,0% (группа ПЭ) vs 63,0% (группа неосложненной беременности, $\chi^2=0,884$). В сравниваемых группах не выявлено значимых различий в распространенности гетерозиготного eNOS3-894GC и мутантного eNOS3-894CC генотипов: 32,0% vs 33,0% ($\chi^2=0,880$) и 6,0% vs 4,0% ($\chi^2=0,517$), соответственно. Нами не установлено ассоциативной связи между данными генетическими по-

лиморфизмами и развитием ПЭ при оценке величин критерия V-Крамера, показателей относительного риска и их 95% ДИ.

У женщин сравниваемых групп выявлены статистически значимые отличия в распространенности полиморфизмов $eNO3-786T>C$ и частоте встречаемости мутантных аллелей C (таблица 1). Установлено, у пациенток с ПЭ показатель частоты встречаемости нормального гомозиготного генотипа $eNO3-786TT$ был ниже такового в группе с неосложненным течением гестации: 34,0% vs 55,0% ($p\chi^2=0,003$), значение критерия V-Крамера составило 0,211 и отражало связь средней силы между данными величинами. Мутантный генотип $eNO3-786CC$ был идентифицирован только у пациенток с ПЭ – 18,0% vs 0%. Величина критерия V-Крамера 0,314 свидетельствовала о наличии связи средней силы между генотипом $eNO3-786CC$ и развитием ПЭ. Мутантный аллель C встречался в 2,1 раза чаще у пациенток с преэклампсией: 0,480 vs 0,225 ($p\chi^2=0,005$) и продемонстрировал наличие связи средней силы (критерий V-Крамера 0,203).

Современные мета-анализы не исключают наличие ассоциативной связи преэклампсии с полиморфизмами генов тромбофилии – фактора V Лейдена $FVL-169G>A$ и протромбина $FII-20210G>A$ [15]. В последние годы показано, что в передаче сигналов от множества рецепторов с поверхности клетки важную роль выполняют гуанин - связывающие белки (G-белки), которые экспрессируются во всех клетках организма. Полипептид бета-3 G-белка – это бета-глобула гетеротримерного G-белка, который передает сигнал от рецепторов к внутриклеточным эффекторным белкам. Полиморфизм $GNB3-825C>T$ связывают с прекращением поступления сигналов в ядро клетки и нарушением гуморальной регуляции с последующими многочисленными эффектами в тканях, в том числе с повышением агрегационной активности тромбоцитов, вазоконстрикцией. S.E. Neveen и соавт. (2016) выявили ассоциативную связь полиморфизма гена $GNB3-825C>T$ с эндотелиальной дисфункцией при гипертензивных расстройствах [16].

В небольшом исследовании установлено синергическое взаимодействие между полиморфными локусами $GNB3-825CT$ и $eNOS3-786TC$, тогда как полиморфный locus $NOS3/Glu298Asp$ оказывает независимый эффект в формировании этого заболевания [17] и в случаях преэклампсии остается предметом дискуссий [18].

В настоящее время внимание исследователей привлекают полиморфизмы гена, кодирующего фермент суперсемейства цитохрома P450. Цитохром P450 – это белки, которые катализируют многие реакции, например, цитохром 11b2 локализуется на внутренней мембране митохондрий и участвует в синтезе альдостерона и 18-оксикортизола. Установлено, что полиморфизм C-344T в $CYP11B2$ ассоциирован с возрастающими уровнями альдостерона и, в свою очередь, задержкой натрия и воды в организме. Данный факт делает обоснованным интерес к исследованию данного полиморфизма у пациенток с ПЭ [19].

Не обнаружив значимых взаимосвязей между генами-предикторами артериальной гипертензии и развитием преэклампсии, мы провели исследование генетических полиморфизмов, ассоциированных с тромбофилией, системой цитохрома 11b2 $CYP11B2$ (C344T) и гуанин-связывающего протеина $GNB3$ (C825T).

Среди женщин обеих групп, включенных в исследование, нами не зарегистрировано носителей мутантных генотипов $FVL-1691AA$ или $FII-20210AA$. Гетерозиготные варианты носительства $FVL-1691GA$ выявлены только у пациенток с ПЭ: 2,0% vs 0% в группе с неосложненной гестацией ($p\chi^2=0,156$). Нормальный гомозиготный генотип $FVL-1691GG$ имели 98,0% пациенток с ПЭ и абсолютно все женщины группы контроля. Большая часть пациенток в сравниваемых группах были носителями нормального гомозиготного генотипа $FII-20210GG$ 94,0% и 96,0%, а гетерозиготного генотипа $FII-20210GA$ 6,0% и 4,0%, соответственно ($p\chi^2=0,517$) (таблица 1).

Мы не обнаружили ассоциативной связи полиморфизмов $CYP11B2-304C>T$ и $GNB3-825C>T$ с преэклампсией. Показатели относительного шанса, критерия V-Крамера, установленные нами, не подтвердили, что эти генетические полиморфизмы могут претендовать на роль предикторов преэклампсии, как об этом предположили некоторые исследователи [17, 18].

Однако, исходя из действующего правила эффекта накопления генетических влияний, мы также придерживаемся мнения, что данные генетические полиморфизмы могут выступать в качестве промоторов в реализации полиорганных нарушений и системной эндотелиальной дисфункции, которые присущи преэклампсии [18, 19, 20, 21].

Известно, что важным аспектом прогнозирования вероятности развития перинатальных и акушерских осложнений является сочетание минорных аллелей разных генов [8, 17]. Гомозиготность по одному функционально неполноценному аллелю является фактором повышенного риска осложнений беременности, вместе с тем присутствие двух и более неблагоприятных аллелей полиморфизма различных генов в гетерозиготном состоянии могут увеличить вероятность развития данного осложнения [2, 8, 17].

Исходя из отрицательных результатов исследования полиморфизмов генов-кандидатов на развитие преэклампсии, мы предположили, что, возможно, причиной развития данного осложнения беременности у молодых соматически здоровых пациенток является именно сочетание неблагоприятных аллелей известных и описанных в литературе полиморфизмов. При оценке комбинаций заявленных полиморфизмов и риска развития преэклампсии установлено, что у женщин с ПЭ в геноме довольно часто регистрируются комбинации потенциально предиктивных генотипов аллелей полиморфизма рассматриваемых генов сердечно-сосудистого риска ($\chi^2=21,34$, $p=0,000$; V-Крамера 0,327), что увеличивает риск развития заболевания в 8,7 раза (таблица 2).

С большой частотой нами регистрировались двухлокусные комбинации ($\chi^2=14,198$, $p<0,000$) полиморфизма генов ангиотензин-рениновой системы и гена эндотелиальной синтазы оксида азота: *AGTR2-1675AA + eNOS3-786CC* ($\chi^2=8,333$, $p=0,004$). Трех и четырехлокусные комбинации у женщин с ПЭ встречались реже, однако среди пациенток с нормально протекающей беременностью они не выявлены вовсе. Вероятно, низкие частоты и, следовательно, сложности статистической обработки связаны с небольшими выборками, но обнаруженные, потенциально предиктивные для развития ПЭ комбинации генотипов настраивают на более серьезный подход в изучении ключевых звеньев патогенеза ПЭ, таких как эндотелиальная дисфункция, системный воспалительный ответ, нарушение инвазии цитотрофобласта и др. Примечательно, что эти комплексы в большинстве имели в своем составе полиморфизм генов *AGT*, *AGTR1,2* и *eNOS3*.

Таблица 2

Комбинации полиморфизмов в исследуемых группах беременных и относительный шанс развития преэклампсии

Частота и виды комбинации полиморфизмов	Тяжелая преэклампсия, n=100	Неосложненная беременность, n=100	χ^2, p	Критерий V-Крамера, сила связи	ОШ, 95% ДИ	Стандартная ошибка отношения шансов (S)
	Абс (%)	Абс (%)				
Всего комбинаций	26 (26%)	3 (3%)	21,34*; 0,000	0,327*, средняя	11,360*, 3,311-38,976	0,629
2 гомозиготных варианта минорных аллелей	20 (20%)*	3 (3%)	14,198*; 0,000	0,266* средняя	8,083*, 2,318-28,188	0,637
<i>ADD1-1378TT + AGT-704CC</i>	1 (1,0%)	0				
<i>AGT-704CC + eNOS3-786CC</i>	2 (2,0%)	0				
<i>AGT-704CC + AGTR1-1166CC</i>	1 (1,0%)	0				

<i>AGT-704CC + AGTR2-1675AA</i>	8 (8,0%)	3 (3,0%)	2,405; 0,121	0,110, слабая	2,812, 0,724- 10,924	0,692
<i>AGTR2-1675AA + eNOS3-786CC</i>	8 (8,0%)	0	8,333*; 0,004	0,204, средняя		
2 гомозиготных по минорному аллелю и 1 гетерозиготный вариант	2 (2%)	0				
<i>AGT-704CC + CYP11B2-304TT + FVL-1691GA</i>	1 (1,0%)	0				
<i>AGT-704CC + AGTRI-1166CC + FII-20210GA</i>	1 (1,0%)	0				
3 гомозиготных варианта минорных аллелей	3 (3%)	0	3,046; 0,081	0,123, слабая		
<i>ADD1-1378TT + AGT-704CC + AGT-521TT</i>	1 (1,0%)	0				
<i>AGT-704CC + eNOS3-786CC + GNB3-825TT</i>	1 (1,0%)	0				
<i>AGTRI-1166CC + eNOS3-786CC + eNOS3-894CC</i>	1 (1,0%)	0				
4 гомозиготных варианта минорных аллелей	1 (1%)	0				
<i>AGTRI-1166CC + eNOS3-786CC + CYP11B2-304TT + FVL-1691GA</i>	1 (1,0%)	0				

Примечание: * – различия статистически значимы

Заключение. Полученные нами результаты в целом подтвердили мнение большинства исследователей о том, что не существует определенного полиморфизма генов, детерминирующего развитие преэклампсии [8, 12, 14, 17, 18]. Принципиально важным является выявленное нами присутствие эффекта накопления: реализация преэклампсии имела место при сочетании полиморфизмов, ассоциированных с развитием артериальной гипертензии, тромбофилии, эндотелиальной дисфункции, нарушениями почечной реабсорбции натрия, системы цитохрома и гуанин-связывающего протеина.

Оценивая полученные результаты с позиции выявления молекулярно-генетических предикторов тяжелой преэклампсии, мы заключаем, что важным аспектом прогнозирования является:

- 1) комбинация не менее 2 мутантных аллелей генов-кандидатов на артериальную гипертензию;
- 2) их сочетание с мутантным(и) геном(ами) альфа-аддуцина *ADD1-1378TT*, *GNB3-825TT* или цитохрома P-450 (*CYP11B2-304TT*) и гетерозиготным носительством генов тромбофилии *FVL-1691GA* (фактор Лейдена) или *FII-20210GA* (протромбина).

Литература:

1. Радьков О.В., Калинин М.Н., Заварин В.В. Генотипический анализ полиморфизма M235T гена ангиотензиногена и преэклампсии. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012. 9. 339-341.
2. Фролова Н.И., Белокриницкая Т.Е., Страмбовская Н.Н. Молекулярно-генетические предикторы осложнений беременности у молодых здоровых женщин. Дальневосточный медицинский журнал. 2015. 3. 29-30.

3. Medica I., Kastrin A., Peterlin B. Genetic polymorphisms in vasoactive genes and preeclampsia: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007 Apr;131(2):115-26.
4. Jebbink J., Wolters A., Fernando F., Afink G., van der Post J., Ris-Stalpers C. Molecular genetics of preeclampsia and HELLP syndrome - a review. *Biochim Biophys Acta.* 2012 Dec;1822(12):1960-9. doi: 10.1016/j.bbadis.2012.08.004.
5. Haram K., Mortensen J.H., Nagy B. Genetic aspects of preeclampsia and the HELLP syndrome. *J Pregnancy.* 2014;2014:910751. doi: 10.1155/2014/910751.
6. Liao X., Wang W., Zeng Z., Yang Z., Dai H., Lei Y. Association of alpha-ADD1 Gene and Hypertension Risk: A Meta-Analysis. *Med Sci Monit.* 2015 Jun 4;21:1634-41. doi: 10.12659/MSM.893191.
7. Vamsi U.M., Swapna N., Padma G., Vishnupriya S., Padma T. Haplotype association and synergistic effect of human aldosterone synthase (CYP11B2) gene polymorphisms causing susceptibility to essential hypertension in Indian patients. *Clin Exp Hypertens.* 2016; 38(8): 659-665. doi: 10.1080/10641963.2016.1200595.
8. Баранов В.С., ред. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предикативной медицины. С.-Пб: Н-Л. 2009. 528 с.
9. Момот А.П. Проблема тромбофилии в клинической практике. *Российский журнал детской гематологии и онкологии.* 2015. 1. С. 36-48.
10. Адамян Л.В., Артымук Н.В., Белокриницкая Т.Е., Беломестнов С.Р., Братищев И.В., Вученович Ю.Д., Куликов А.В., Краснополяский В.И., Левит А.Л., Никитина Н.А., Петрухин В.А., Пырегов А.В., Серов В.Н., Сидорова И.С., Филиппов О.С., Ходжаева З.С., Холлин А.М., Шешко Е.Л., Шифман Е.М., Шмаков Р.Г. Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия. Клинические рекомендации (протокол) утв. РОАГ и МЗ РФ 23 сентября 2013, пересмотрен 07 июня 2016 № 15-4/10/2-3484. М.; 2016. 72 с.
11. Pedrinelli R., Dell'Omo G., Penno G., Di Bello V., Pucci L., Fotino C., Lucchesi D., Del Prato S., Dal Fiume C., Barlassina C., Cusi D. Alpha-adducin and angiotensin-converting enzyme polymorphisms in hypertension: evidence for a joint influence on albuminuria. *J Hypertens.* 2006 May;24(5):931-7.
12. Kuśmierska-Urban K., Rytlewski K., Reroń A. Selected polymorphisms of renin-angiotensin system in the pathology of hypertensive disorders of pregnancy. *Ginekol Pol.* 2013 Mar;84(3):214-8.
13. <http://www.pynny.ru/>
14. Al-Mutawa J. Interaction with angiotensin-converting enzyme-encoding gene in female infertility: Insertion and deletion polymorphism studies. *Saudi J Biol Sci.* 2018 Dec;25(8):1617-1621. doi: 10.1016/j.sjbs.2016.06.003.
15. Xi W., Tingting B., Shengnan L., Hong P., Binbin W. Association between Thrombophilia Gene Polymorphisms and Preeclampsia: A Meta-Analysis. *PLoS One.* 2014; 9(6): e100789. doi: 10.1371/journal.pone.0100789
16. Neveen Salah E., Din Hemimi, Amal A. Mansour, Mona Mohamed Abdelsalam. Prediction of the Risk for Essential Hypertension among Carriers of C825T Genetic Polymorphism of G Protein $\beta 3$ (GNB3) Gene. *Biomark Insights.* 2016; 11: 69–75. doi:10.4137/BMI.S38321
17. Заварин В.В., Калинин М.Н., Радьков О.В. Роль межгенных взаимодействий vasoактивных генов в формировании предрасположенности к преэклампсии. *Фундаментальные исследования.* 2011. № 11-1. С. 36-38.
18. Bahado-Singh R., Poon L.C., Yilmaz A., Syngelaki A., Turkoglu O., Kumar P., Kirma J., Allos M., Accurti V., Li J., Zhao P., Graham S.F., Cool D.R., Nicolaides K. Integrated Proteomic and Metabolomic prediction of Term Preeclampsia. *Sci Rep.* 2017 Nov 23;7(1):16189. doi: 10.1038/s41598-017-15882-9.]
19. Moon J.Y., Moon M.H., Kim K.T., Jeong D.H., Kim Y.N., Chung B.C., Choi M.H. Cytochrome P450-mediated metabolic alterations in preeclampsia evaluated by quantitative steroid signatures. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014 Jan;139:182-91. doi: 10.1016/j.jsbmb. 2013.02.014.]

20. Sheppard S.J., Khalil R.A. Risk factors and mediators of the vascular dysfunction associated with hypertension in pregnancy. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2010 Mar;10(1):33-52.
21. Ma L., Fan P., Liu X.H., He G.L., Liu R., Ren R.M., Chen Y.H., Liu Y., Bai H. Interaction between GNB3 C825T and ACE I/D polymorphisms in pre-eclampsia. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2015 Jan;46(1):118-22.[Article in Chinese].

References

1. Radkov O.V., Kalinkin M.N., Zavarin V.V. Genoproteomic analysis of angiotensinogen gene polymorphism M235T and preeclampsia. *Byulleten' ehksperimental'noj biologii i mediciny*. 2012. 9. 339-341. in Russian.
2. Frolova N.I., Belokrinskaya T.E., Strambovskaya N.N. Molecular genetic prediction of pregnancy complications in young healthy women. *Dal'nevostochnyj medicinskij zhurnal*. 2015. 3. 29-30. in Russian.
3. Medica I., Kastrin A., Peterlin B. Genetic polymorphisms in vasoactive genes and preeclampsia: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2007 Apr;131(2):115-26.
4. Jebbink J., Wolters A., Fernando F., Afink G., van der Post J., Ris-Stalpers C. Molecular genetics of preeclampsia and HELLP syndrome - a review. *Biochim Biophys Acta*. 2012 Dec;1822(12):1960-9. doi: 10.1016/j.bbadis.2012.08.004.
5. Haram K., Mortensen J.H., Nagy B. Genetic aspects of preeclampsia and the HELLP syndrome. *J Pregnancy*. 2014;2014:910751. doi: 10.1155/2014/910751.
6. Liao X., Wang W., Zeng Z., Yang Z., Dai H., Lei Y. Association of alpha-ADD1 Gene and Hypertension Risk: A Meta-Analysis. *Med Sci Monit*. 2015 Jun 4;21:1634-41. doi: 10.12659/MSM.893191.
7. Vamsi U.M., Swapna N., Padma G., Vishnupriya S., Padma T. Haplotype association and synergistic effect of human aldosterone synthase (CYP11B2) gene polymorphisms causing susceptibility to essential hypertension in Indian patients. *Clin Exp Hypertens*. 2016; 38(8): 659-665. doi: 10.1080/10641963.2016.1200595.
8. Baranov V.S., edd. *Geneticheskyy passport - the basis of individual and predicative medicine*. S.-Pb.: NL. 2009. 528 p. in Russian.
9. Momot A.P. The problem of thrombophilia in clinical practice. *Rossijskij zhurnal detskoj gematologii i onkologii*. 2015. 1. 36-48. in Russian.
10. Adamyan L.V., Artymuk N.V., Belokrinskaya T.E., Belomestnov S.R., Bratishchev I.V., Vuchonovich Yu.D., Kulikov A.V., Krasnopolsky V.I., Levite A.L., Nikitina N.A., Petrukhin V.A., Pyregov A.V., Serov V.N., Sidorova I.S., Filippov O.S., Hodzhayeva Z.S., Holin A.M., Sheshko E.L., Shifman E.M., Shmakov R.G. Hypertensive disorders during pregnancy, in the labor and postpartum period. Preeclampsia. Eclampsia. Clinical recommendations (protocol). Ministry of Health Service of Russian Federation on September 23, 2013, revised on June 7, 2016 No. 15-4/10/2-3484. M.; 2016. 72 pages. . in Russian.
11. Pedrinelli R., Dell'Omo G., Penno G., Di Bello V., Pucci L., Fotino C., Lucchesi D., Del Prato S., Dal Fiume C., Barlassina C., Cusi D. Alpha-adducin and angiotensin-converting enzyme polymorphisms in hypertension: evidence for a joint influence on albuminuria. *J Hypertens*. 2006 May;24(5):931-7.
12. Kuśmierska-Urban K., Rytlewski K., Reroń A. Selected polymorphisms of renin-angiotensin system in the pathology of hypertensive disorders of pregnancy. *Ginekol Pol*. 2013 Mar;84(3):214-8.
13. <http://www.pynny.ru/>
14. Al-Mutawa J. Interaction with angiotensin-converting enzyme-encoding gene in female infertility: Insertion and deletion polymorphism studies. *Saudi J Biol Sci*. 2018 Dec;25(8):1617-1621. doi: 10.1016/j.sjbs.2016.06.003.
15. Xi W., Tingting B., Shengnan L., Hong P., Binbin W. Association between Thrombophilia Gene Polymorphisms and Preeclampsia: A Meta-Analysis. *PLoS One*. 2014; 9(6): e100789. doi: 10.1371/journal.pone.0100789

16. Neveen Salah E., Din Hemimi, Amal A. Mansour, Mona Mohamed Abdelsalam. Prediction of the Risk for Essential Hypertension among Carriers of C825T Genetic Polymorphism of G Protein β 3 (GNB3) Gene. *Biomark Insights*. 2016; 11: 69–75. doi:10.4137/BMI.S38321
17. Zavarin V.V., Kalinkin M.N., Radkov O.V. Role of gene-gene interactions of vasoactive genes in the formation of predisposition to preeclampsia. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2011. 11-1. С. 36-38. in Russian.
18. Bahado-Singh R., Poon L.C., Yilmaz A., Syngelaki A., Turkoglu O., Kumar P., Kirma J., Allos M., Accurti V., Li J., Zhao P., Graham S.F., Cool D.R., Nicolaides K. Integrated Proteomic and Metabolomic prediction of Term Preeclampsia. *Sci Rep*. 2017 Nov 23;7(1):16189. doi: 10.1038/s41598-017-15882-9.]
19. Moon J.Y., Moon M.H., Kim K.T., Jeong D.H., Kim Y.N., Chung B.C., Choi M.H. Cytochrome P450-mediated metabolic alterations in preeclampsia evaluated by quantitative steroid signatures. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014 Jan;139:182-91. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.02.014.]
20. Sheppard S.J., Khalil R.A. Risk factors and mediators of the vascular dysfunction associated with hypertension in pregnancy. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2010 Mar;10(1):33-52.
21. Ma L., Fan P., Liu X.H., He G.L., Liu R., Ren R.M., Chen Y.H., Liu Y., Bai H. Interaction between GNB3 C825T and ACE I/D polymorphisms in pre-eclampsia. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2015 Jan;46(1):118-22.[Article in Chinese].