



© А. С. Глотов¹, Е. С. Вашукова¹,
О. С. Глотов¹, Ю. А. Насыхова¹,
А. М. Мазур², Р. В. Курилов³,
В. М. Пехов², Е. Е. Храмева²,
Т. Э. Иващенко¹, В. С. Баранов¹

УДК 575.17

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОПУЛЯЦИОННЫХ ЧАСТОТ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ГЕСТОЗОМ

¹ФГБУ «НИИ АГ им. Д. О. Отта»
СЗО РАМН, Санкт-Петербург;

²ЗАО «Геноаналитика», Москва;

³Санкт-Петербургский государственный университет

✿ Используя микрочипы высокой плотности, в популяционной выборке проведено исследование полиморфизма > 1,5 тыс. генетических маркеров, ассоциированных с риском развития широкого спектра мультифакториальной патологии. На основании функциональной аннотации генов с помощью биоинформационных ресурсов GFINDer и DAVID из выбранных генетических маркеров выделена группа из 31-го гена, продукты которых задействованы в риске развития гестоза. Установлены популяционные частоты аллелей и генотипов для следующих генов: *ACE*, *ADIPOQ*, *ADRB2*, *ADRB3*, *AGT*, *APOE*, *CRP*, *CTLA4*, *CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2E1*, *EDNRA*, *ESR1*, *ESR2*, *F5*, *HLA-DQA1*, *HSPA1A*, *IL1A*, *IL1RN*, *IL6*, *IL6R*, *LEP*, *LEPR*, *LPL*, *MTHFR*, *NOS3*, *PON1*, *TAP2*, *TGFB1*, *TNFA*, *VEGFA*. Проведенный сравнительный анализ между российской и средневропейской популяционными группами, выявил статистически значимые различия частот аллелей и генотипов для 6 генов: *CYP2D6*, *CTLA4*, *AGT*, *NOS3*, *PON1*, *ADRB2*. Полученные данные свидетельствуют в целом о схожих основах генетического риска сосудистой патологии беременности в российской и европейской популяциях и могут быть использованы при проведении других генетико-эпидемиологических исследований.

✿ **Ключевые слова:** популяционная выборка; патология беременности; гестоз; ассоциация; полиморфизм; микрочипы.

Поступила в редакцию 20.08.2012
Принята к публикации 24.01.2013

ВВЕДЕНИЕ

Изучение генетических основ мультифакторных заболеваний (МФЗ) является одним из ведущих направлений современной медицины. МФЗ являются основной причиной заболеваемости, инвалидизации и преждевременной смертности как в России, так и во всем мире. Особое место среди МФЗ принадлежит сердечно-сосудистой патологии. Около 70 % жителей РФ (более 1,2 млн человек) умирают ежегодно от болезней сердечно-сосудистой системы (Александров, 1997). Эта патология занимает первое место и в структуре материнской смертности, существенно сокращая продолжительность и качество жизни, приводя к увеличению детей с ВПР (Айламазян, Мозговая, 2008).

Одним из наиболее значимых и распространенных заболеваний беременных женщин, основу которого составляют нарушения сосудистой системы матери и плода, является гестоз (преэклампсия) (Dekker et al., 1995; Айламазян, Мозговая, 2008).

Факторы, провоцирующие развитие гестоза у беременных женщин, могут быть как внешними, так и внутренними (Айламазян, Мозговая, 2008). К ним относятся стрессовые ситуации, злоупотребление солью, гипоксия, гиподинамия, ожирение, диабет, алкоголь, тромбофилия, расстройства маточно-плацентарного кровообращения, нарушения иммунологических взаимоотношений между матерью и плодом. Нет сомнения и в важной роли наследственной предрасположенности к развитию гестоза. Общий вклад генетических факторов риска развития гестоза оценивается приблизительно в 55 % (Айламазян, Мозговая, 2008). Имеются многочисленные данные о вкладе полиморфизма индивидуальных генов — регуляторов артериального давления, свертывания крови, эндотелиальной дисфункции, иммунных и ростовых факторов в патогенез гестоза (Баранов, 2009; Баранов, Айламазян, 2009). Эти данные получены в основном с помощью ассоциативных исследований, путем сравнения частот аллелей и генотипов у женщин с гестозом и у беременных женщин без симптомов заболевания.

В последние годы с этой же целью проведено несколько работ с использованием технологии общегеномного скрининга ассоциаций (GWAS), при котором частоты однонуклеотидных вариантов у больных сравнивают с таковыми в контрольной выборке. На сегодняшний день с помощью этой технологии и ассоциативных исследований идентифицированы более 100 генов-кандидатов риска развития патологии беременности, в том числе свыше 70, предрасполагающих к развитию гестоза (Williams, Pipkin, 2011). Используя эти методы, можно выявлять неравновесие по сцеплению между тестируемыми SNP у неродственных индивидуумов с патологией и у соответствующих им по возрасту, полу и другим признакам здоровых субъектов контрольной группы (Горбунова, 2010; Zeller et al., 2012). Существуют и биоинформационные методы поиска генов-кандидатов различной патологии (Колчанов и др., 2008), однако применительно к гестозу данные подходы пока не применялись.

Значение популяционной группы в контексте изучения генетических факторов мультифакториальной патологии трудно переоценить. Именно от её численности и качественных характеристик зависит достоверность и воспроизводимость результатов полногеномного поиска ассоциаций и других исследований. Генетически полно охарактеризованные популяционные группы представляют несомненный интерес для сравнительных популяционных исследований генетического полиморфизма, а также анализа межвозрастной и межполовой динамики частот аллелей и генотипов, которые являются маркерами риска развития целого ряда заболеваний (Калашникова и др., 2006; Кучер и др., 2010).

За небольшим исключением (Баранов, Айламазян, 2009; Александрова и др., 2012) в отечественной и зарубежной литературе практически отсутствуют работы по исследованию популяционной изменчивости полиморфизма генов-кандидатов наследственной предрасположенности к частым осложнениям беременности. Имеющиеся работы чаще всего нацелены либо на поиск генов, ответственных за риск сердечно-сосудистых заболеваний у небеременных, либо подразумевают сравнение межпопуляционных различий по частотам аллелей и генотипов (Пузырев, 2008; Баранов, 2009; Горбунова, 2010; Кучер и др., 2010; Степанов и др., 2011; Трифонова и др., 2012).

Целью же настоящей работы было изучение популяционных частот полиморфизма генов, ассоциированных с риском гестоза. Подобные исследования позволяют более точно оценить вклад генетической компоненты в развитие МФЗ, поскольку каждая популяция обладает собственным генофондом и, соответственно, разными частотами «неблагоприятных» аллелей. Зная эти частоты, можно рассчитать структуру генофонда, провести последующие ассоциативные исследования и выделить наиболее значимые для популяции генетические факторы риска различных болезней.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Создание коллекций образцов ДНК и формирование групп обследования

Нами создана коллекция образцов ДНК доноров — 188 человек Северо-Западного региона ПФ, преимущественно жителей Санкт-Петербурга (ФГУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» ФМБА России и ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗОР АМН). Группу составили 87 мужчин и 101 женщина в возрасте 40 и 48 лет (от 6 до 93 лет).

Выделение ДНК

Образцы ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови фенольным методом, как описано ранее (Маниатис и др., 1984), или в соответствии с методикой Миллер с соавт. (Miller et al., 1988) с некоторыми модификациями.

Анализ образцов ДНК

Анализ образцов ДНК проводили на синтезированных под заказ микроматрицах производства компании Иллюмина. Микроматрицы представляли собой набор синтезированных ДНК-зондов для определения 1690 однонуклеотидных вариантов SNP— (снипов), предлагаемых для анализа полиморфизмов генов частых МФЗ компаний Ген-аналитика (www.i-gene.ru). Анализ проводили согласно протоколу Infinium HD Ultra User Guide (Иллюмина), который включал полногеномную амплификацию образцов ДНК, фрагментацию продуктов амплификации, гибридизацию полученных фрагментов с микроматрицы, отмывку неспецифически связавшейся ДНК, достройку однонуклеотидного флуоресцентного трифосфата, соответствующего анализируемому полиморфизму, усиление флуоресцентного сигнала и сканирование микроматрицы, и расчет выявленных генотипов по соответствующим аллелям в программе GenomeStudio (Иллюмина) (<https://icom.illumina.com/Download/Summary/19AijNawnUir7nVENUUrbg>).

Биоинформационные методы

Для функциональной аннотации генов использованы информационные ресурсы GFINDER и DAVID (Masseroli et al., 2004; Huang et al., 2008). С помощью ресурса GFINDER отбирали все гены, которые согласно аннотации относились к пунктам «preeclampsia» и «hypertension, pregnancy induced».

Методы статистической обработки

Для сравнения исследуемой группы и выборки из открытых баз данных по частотам генотипов и аллелей отдельных генов был использован критерий Фишера (F). Расчеты проводили в среде для статистических вычислений R (www.R-project.org).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведение данного исследования включало следующие этапы:

- популяционный анализ широкого спектра молекулярно-генетических маркеров, с помощью микрочипов высокой плотности;
- функциональную аннотацию списка генов микрочипа с помощью биоинформационных ресурсов;
- анализ популяционных частот аллелей и генотипов аннотированного списка генов и сравнение их с аналогичными данными для европейских популяций.

Для выявления наиболее «значимого списка» маркеров, задействованных в развитии сосудистой патологии у беременных женщин (гестоза), была проведена функциональная аннотация всех генов (маркеров, включенных в биочип) с помощью биоинформационного ресурса GFINDER (<http://www.medinfopoli.polimi.it/GFINDER/>), который включает интегрированную биологическую базу данных и аналитические средства, которые служат для извлечения из больших списков генов (или белков)

ассоциированного с ними биологического смысла — группирование генов по биологическим процессам. Процедура работы с ресурсом предполагает загрузку интересующего списка генов, и дальнейший анализ с помощью одного или нескольких аналитических модулей. В нашем случае в базу данных был загружен список генов ($N = 579$), соответствующих всем SNP ($N = 1690$). В результате функциональной кластеризации программа все гены разделила на группы принадлежности к различным биологическим функциям, различным сигнальным путям заболевания. Используя данные функциональной классификации ресурса GFINDER, для дальнейшего анализа

были взяты SNP в 31-м гене, ассоциированном, согласно данным, заложенным в программу, с риском развития преэклампсии у беременных женщин («preeclampsia»).

С помощью модуля для кластеризации функциональных аннотаций («functional annotation clustering») биоинформационного ресурса DAVID (<http://david.abcc.ncifcrf.gov>) проведена функциональная аннотация уже известных генов-кандидатов (рис. 1). Проведенный анализ ресурсом DAVID позволил выделить 49 кластеров, включающих достаточно разнородные, но частично перекрывающиеся по функциям гены. Это гены, продукты которых регулируют артериальное давление (*ADRB3*,

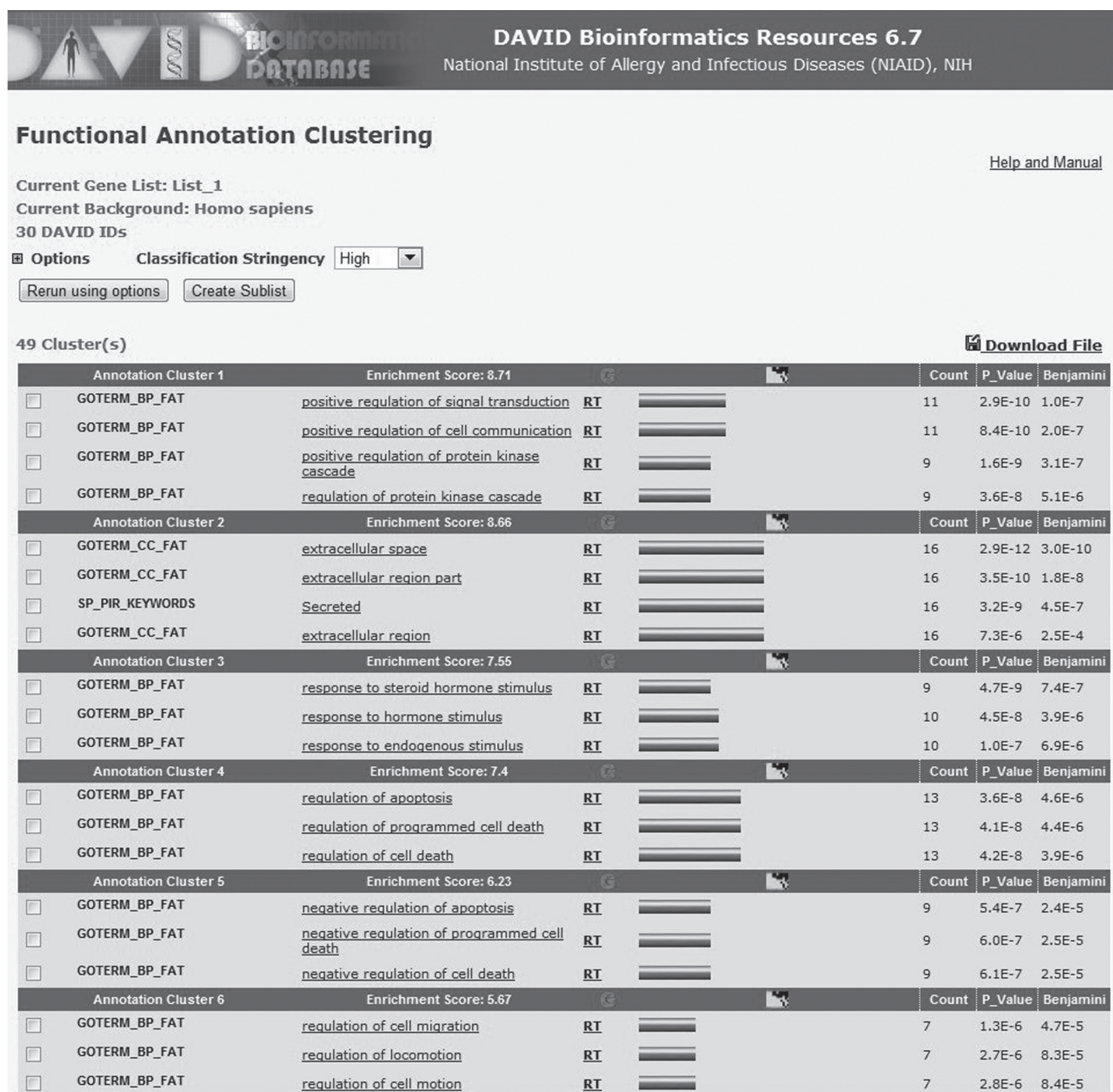


Рис. 1. Результат кластеризации биологических функций продуктов генов с помощью ресурса DAVID

ADRB2, ACE, AGT, NOS3), процессы васкуляризации (*EDNRA, ACE, APOE, AGT, LEPR, VEGFA, NOS3*), киназный каскад (*LEP, ADRB3, ADRB2, IL6, AGT, LEPR, IL6R, ADIPOQ, TGFB1*), процессы апоптоза (*IL6, ESR1, HSPA1A, ESR2, IL6R, TNFA, ADIPOQ, TGFB1, ADRB2, APOE, AGT, VEGFA, NOS3, IL1A*), транспорт холестерина (*LEP, APOE, PON1, ADIPOQ*), клеточную миграцию (*IL6, AGT, VEGFA, IL6R, TGFB1*), овуляцию (*LEP, AGT, LEPR, NOS3*), структуру липопротеиновой частицы (*LPL, APOE, AGT*), миграцию лейкоцитов (*IL6, VEGFA, IL6R*), метаболизм лекарств (*CYP1A1, CYP2D6, CYP2E1*), клеточную миграцию (*IL6, NOS3, IL6R, ESR2, TGFB1*), ионный гомеостаз (*EDNRA, APOE, AGT, ADIPOQ, TGFB1*), связывание ионов (*ACE, CYP1A1, F5, APOE, TAP2, CRP, CYP2D6, ESR1, NOS3, CYP2E1, ESR2*), связывание нуклеотидов (*TAP2, NOS3, HSPA1A*), трансмембранные функции (*EDNRA, ADRB3, ADRB2, ACE, TAP2, LEPR, CTLA4, IL6R, HLA-DQA1*), оксидоредуктазы (*MTHFR, CYP1A1, CYP2D6, NOS3, CYP2E1*), цитоплазматические структуры (*APOE, ESR1, ESR2, TGFB1*), и даже, поведение (*IL6, VEGFA, IL6R, ESR2, TGFB1*).

Наличие большого числа процессов, в которых задействованы продукты генов, имеющие отношение к гестозу, свидетельствует о высокой генетической гетерогенности этого заболевания, подтверждая значимость исследования разных биологических процессов при этой патологии. Важно отметить, что некоторые из вышеперечисленных генов уже ранее были идентифицированы как гены-кандидаты риска развития гестоза, в том числе и в отечественных работах (Баранов, 2009). Однако большинство из них в ассоциативных исследованиях «генотип-фенотип» изучены не были.

Исходя из аннотированного ресурсом GFINDER списка, в изученной группе нами были исследованы частоты генотипов и аллелей генов: *ACE, ADIPOQ, ADRB2, ADRB3, AGT, APOE, CRP, CTLA4, CYP1A1, CYP2D6, CYP2E1, EDNRA, ESR1, ESR2, F5, HLA-DQA1, HSPA1A, IL1A, IL1RN, IL6, IL6R, LEP, LEPR, LPL, MTHFR, NOS3, PON1, TAP2, TGFB1, TNFA, VEGFA* (представлены в таблице 1). Распределение соответствующих генотипов по всем генам, кроме одного маркера (rs1080985) в гене *CYP2D6* ($\chi^2 = 15,1$; $p < 0,01$)

Таблица 1

Частоты генотипов и аллелей генов *ACE, ADIPOQ, ADRB2, ADRB3, AGT, APOE, CRP, CTLA4, CYP1A1, CYP2D6, CYP2E1, EDNRA, ESR1, ESR2, F5, HLA-DQA1, HSPA1A, IL1A, IL1RN, IL6, IL6R, LEP, LEPR, LPL, MTHFR, NOS3, PON1, TAP2, TGFB1, TNFA, VEGFA*

Ген	Номер rs	Частоты аллелей (%)		Частоты генотипов (%)		
<i>ACE</i>	4344 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		47,9	52,1	21,3	53,2	25,5
<i>ADIPOQ</i>	1501299 (A/C)	<i>A</i>	<i>C</i>	A/A	A/C	C/C
		30,9	69,1	10,1	41,5	48,4
	2241766 (A/C)	<i>A</i>	<i>C</i>	A/A	A/C	C/C
		92,8	7,2	86,2	13,3	0,5
	17300539 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		7,4	92,6	1,1	12,8	86,2
<i>ADRB2</i>	1042714 (C/G)	<i>C</i>	<i>G</i>	C/C	C/G	G/G
		41,5	58,5	18,6	45,7	35,6
<i>ADRB3</i>	4994 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		91,0	9,0	82,4	17,0	0,5
<i>AGT</i>	4762 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		15,4	84,6	2,1	26,6	71,3
	5051 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		46,8	53,2	21,3	51,1	27,7
	3889728 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		28,5	71,5	5,9	45,2	48,9
<i>APOE</i>	440446 (C/G)	<i>C</i>	<i>G</i>	C/C	C/G	G/G
		35,6	64,4	12,2	46,8	41,0
<i>CRP</i>	3091244 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		40,7	59,3	16,5	48,4	35,1
	3093059 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		96,0	4,0	92,0	8,0	0,0

Таблица 1 (продолжение)

Ген	Номер rs	Частоты аллелей (%)		Частоты генотипов (%)		
<i>CTLA4</i>	231775 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		51,9	48,1	26,6	50,5	22,9
	733618 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		91,2	8,8	83,5	15,4	1,1
	3087243 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		31,6	68,4	9,6	44,1	46,3
<i>CYP1A1</i>	2606345 (A/C)	<i>A</i>	<i>C</i>	A/A	A/C	C/C
		63,8	36,2	41,5	44,7	13,8
<i>CYP2D6</i>	1080985 (C/G)	<i>C</i>	<i>G</i>	C/C	C/G	G/G
		75,0	25,0	50,0	50,0	0,0
	28371725 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		7,1	92,9	1,6	10,9	87,5
<i>CYP2E1</i>	2070672 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		96,0	4,0	92,6	6,9	0,5
	2070673 (A/T)	<i>A</i>	<i>T</i>	A/A	A/T	T/T
		17,3	82,7	1,1	32,4	66,5
	2070676 (C/G)	<i>C</i>	<i>G</i>	C/C	C/G	G/G
		88,0	12,0	76,6	22,9	0,5
<i>EDNRA</i>	5335 (C/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		12,0	88,0	0,5	22,9	76,6
<i>ESR1</i>	2179922 (A/G)	<i>C</i>	<i>G</i>	C/C	C/G	G/G
		54,0	46,0	31,9	44,1	23,9
	3020314 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		9,0	91,0	1,1	16,0	83,0
	9340799 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		66,0	34,0	43,1	45,7	11,2
<i>ESR2</i>	1271572 (A/C)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		68,6	31,4	44,7	47,9	7,4
	2987983 (A/G)	<i>A</i>	<i>C</i>	A/A	A/C	C/C
		43,6	56,4	17,6	52,1	30,3
<i>F5</i>	6019 (C/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		69,7	30,3	47,9	43,6	8,5
	6025 (A/G)	<i>C</i>	<i>G</i>	C/C	C/G	G/G
		92,8	7,2	86,2	13,3	0,5
<i>HLA-DQA1</i>	2187668 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		2,4	97,6	0,0	4,8	95,2
	9272346 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		55,6	44,4	33,5	44,1	22,3
<i>HSPA1A</i>	1043618 (C/G)	<i>C</i>	<i>G</i>	C/C	C/G	G/G
		63,8	36,2	38,8	50,0	11,2
<i>IL1A</i>	1800587 (A/G)	<i>A</i>	<i>G</i>	A/A	A/G	G/G
		32,4	67,6	11,2	42,6	46,3

Таблица 1 (окончание)

Ген	Номер rs	Частоты аллелей (%)		Частоты генотипов (%)		
<i>IL1RN</i>	419598 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		71,5	28,5	52,1	38,8	9,0
	423904 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		29,0	71,0	9,6	38,8	51,6
<i>IL6</i>	1800795 (C/G)	C	G	C/C	C/G	G/G
		53,5	46,5	29,8	47,3	22,9
	1800797 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		43,9	56,1	18,1	51,6	30,3
	2069832 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		45,7	54,3	21,8	47,9	30,3
<i>IL6R</i>	4845618 (A/C)	A	C	A/A	A/C	C/C
		45,5	54,5	19,7	51,6	28,7
	4845622 (A/C)	A	C	A/A	A/C	C/C
		70,2	29,8	48,4	43,6	8,0
	6684439 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		29,5	70,5	8,0	43,1	48,9
	7529229 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		69,7	30,3	46,8	45,7	7,4
<i>LEP</i>	2167270 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		38,6	61,4	17,6	42,0	40,4
<i>LEPR</i>	6700896 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		46,8	53,2	21,8	50,0	28,2
	8179183 (C/G)	C	G	C/C	C/G	G/G
		14,6	85,4	2,1	25,0	72,9
<i>MTHFR</i>	1801133 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		97,9	2,1	95,7	4,3	0,0
<i>NOS3</i>	1799983 (A/C)	A	C	A/A	A/C	C/C
		21,2	78,8	4,4	33,5	62,1
	2070744 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		66,0	34,0	43,6	44,7	11,7
<i>PON1</i>	662 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		68,9	31,1	50,0	37,8	12,2
	705379 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		37,6	62,4	10,7	53,9	35,4
	705381 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		26,5	73,5	7,8	37,4	54,7
	854560 (A/T)	A	T	A/A	A/T	T/T
		70,5	29,5	51,6	37,8	10,6
<i>TAP2</i>	241448 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		63,8	36,2	41,0	45,7	13,3
<i>TGFB1</i>	4803455 (A/C)	A	C	A/A	A/C	C/C
		47,9	52,1	21,3	53,2	25,5
<i>TNF</i>	1799724 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		11,4	88,6	1,1	20,6	78,3
	1800629 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		11,4	88,6	1,1	20,7	78,2
	1800630 (A/C)	A	C	A/A	A/C	C/C
		15,2	84,8	2,1	26,1	71,8
<i>VEGFA</i>	3025039 (A/G)	A	G	A/A	A/G	G/G
		17,3	82,7	3,2	28,2	68,6

в исследуемой группе соответствовало закону Харди–Вайнберга ($p > 0,05$). Возрастные и гендерные отличия частот аллелей и генотипов данных генов не были выявлены ($p > 0,05$).

Важно, однако, отметить, что сравнительный анализ российской и средневропейской популяции (данные базы NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>) под популяционными идентификаторами: «CEU_GENO_PANEL», «HapMap-CEU», «CAUC1», «PGA-EUROPEAN-PANEL», «AFD_EUR_PANEL») выявил статистически значимые различия в частотах аллелей и генотипов для 6 генов: *CYP2D6*, *CTLA4*, *AGT*, *NOS3*, *PON1*, *ADRB2* ($p < 0,008$) (табл. 2). В российской популяции, по сравнению с европейской, чаще встречался генотип G/G (rs28371725) и генотип C/G (rs1080985) по гену *CYP2D6* (87,5 % и 50,0 % против 56,0 % и 25,8 % соответственно ($p < 0,01$); генотип G/G (rs3087243) по гену *CTLA4* (46,3 % против 28,2 %, соответственно ($p < 0,001$; $df = 2$); генотип A/G (rs3889728) по гену *AGT* (45,2 % против 23,4 % соответственно ($p = 0,01$; $df = 2$); генотип C/C (rs1799983) по гену *NOS3* (62,1 % против 40 % соответственно ($p = 0,01$; $df = 2$); генотип G/G (rs705379) по гену *PON1* (35,4 % против 9,1 % соответственно ($p = 0,01$; $df = 2$); генотип C/G (rs1042714) по гену *ADRB2* (45,7 % против 30,0 % соответственно ($p = 0,005$; $df = 2$).

Ранее маркеры rs28371725 и rs1080985 гена *CYP2D6* в российской популяции не были исследованы.

Частоты полиморфного маркера rs28371725 по гену *CYP2D6* у русских и европейцев оказались различными. Ранее различия по этому полиморфизму были показаны между населением Китая и Европы (Shi et al., 2009). Другой маркер — rs1080985, расположенный в промоторе (–1584C>G) этого гена, ассоциирован с «ультрабыстрым» метаболизмом фермента *CYP2D6*. Наличие аллели G определяет повышенную экспрессию гена *CYP2D6* и, соответственно, продукцию фермента (Dorado et al., 2009). Относительная частота носителей аллели G в отечественной выборке была большей, чем в европейской (48 % против 38 %), однако гомозигот по этой аллели ни одного раза не было зарегистрировано в российской популяции, что возможно указывает на наличие отбора против этого генотипа на ранних стадиях развития.

Маркер rs3087243 гена *CTLA4* был исследован ранее в основном в связи с риском развития аутоиммунных заболеваний. В работе Плагнол с коллегами (Plagnol et al., 2011) показана ассоциация этого маркера с наличием аутоантител при сахарном диабете 1-го типа. Негативный «эффект» связывают с аллелью G и, соответственно, с генотипом G/G (Benmansour et al., 2010). Данная аллель преобладает в российской популяции, что может косвенно указывать на ее отягощенность в связи с риском аутоиммунных заболеваний, которые, в свою очередь, могут провоцировать сосудистую патологию беременности (Соколов и др., 2009).

Таблица 2

Частоты генотипов генов *ADRB2*, *AGT*, *CTLA4*, *CYP2D6*, *NOS3*, *PON1* в популяционной выборке жителей Северо-Западного региона России и средневропейской выборке

Ген	Номер rs	Частоты генотипов (%)						Ссылка на базы данных европейских проектов
		Северо-Западный регион России			Среднеевропейская выборка			
ADRB2	1042714 (C/G)	C/C	C/G	G/G	C/C	C/G	G/G	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_viewTable.cgi?pop=1409
		18,6	45,7	35,6	38,3	30,0	31,7	
AGT	3889728 (A/G)	A/A	A/G	G/G	A/A	A/G	G/G	
		5,9	45,2	48,9	8,3	23,4	68,3	
CTLA4	3087243 (A/G)	A/A	A/G	G/G	A/A	A/G	G/G	
		9,6	44,1	46,3	20,6	51,1	28,2	
NOS3	1799983 (A/C)	A/A	A/C	C/C	A/A	A/C	C/C	
		4,4	33,5	62,1	8,3	51,7	40,0	
CYP2D6	1080985 (C/G)	C/C	C/G	G/G	C/C	C/G	G/G	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_viewTable.cgi?pop=775
		50,0	50,0	0,0	61,3	25,8	12,9	
	28371725 (A/G)	A/A	A/G	G/G	A/A	A/G	G/G	
		1,6	11,2	87,2	6,1	37,9	56,0	
PON1	705379	A/A	A/G	G/G	A/A	A/G	G/G	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_viewTable.cgi?pop=596
	(A/G)	10,7	53,9	35,4	27,3	63,6	9,1	

Проанализированный впервые в российской популяции полиморфизм rs3889728 гена *AGT* напрямую не ассоциирован с патологией. Между тем, данный ген кодирует ангиотензиноген, который участвует в регуляции тонуса сосудов и артериального давления — одного из наиболее важных факторов риска артериальной гипертензии (Баранов, 2009). Найденные в настоящем исследовании отличия частот аллелей по данному полиморфизму между российской и европейской популяциями следует учитывать при дальнейших генетико-эпидемиологических исследованиях.

Маркер rs705379 (–108C>T) гена *PON1* был исследован ранее в основном в связи с эффективностью лечения ишемической болезни сердца некоторыми лекарственными препаратами (Lynch et al., 2012). Показано, что данный полиморфизм может влиять на экспрессию гена *PON1* (Wroghy et al., 2001). Индивиды с генотипом C/C в –108 положении или rs705379G/G имеют более высокую активность фермента. Доля таких индивидов в популяции Северо-Западного региона России больше, чем в европейской. Однако вопрос, о целесообразности тестирования данного маркера для исследования его ассоциации с риском сосудистых осложнений у беременных женщин, остается открытым.

Полиморфизм 894G>T в 7 экзоне гена *NOS3* (маркер rs1799983) приводит к замене глутамина на аспарагин в 298 позиции белка, следствием чего являются уменьшение концентрации окиси азота в кровяном русле, и снижение вазодилатации (Radomski, Moncada, 1997). Согласно нашим данным, полиморфизм гена *NOS3* ассоциирован с гестозом (Малышева и др., 2003). Важно отметить, что именно этот вариант, по нашим результатам, чаще встречается у русских и ассоциирован с преэклампсией. Полученные результаты в целом подчеркивают высокую значимость профилактического исследования данного варианта в группах риска в России.

Маркер rs1042714 гена *ADRB2* также приводит к замене аминокислоты — глутамина на глутамат в 27 положении белка (Gln27Glu), что вызывает изменение количества данных рецепторов (Jalba et al., 2008). β 2-адренорецепторы играют большую роль в патогенезе многих сердечно-сосудистых заболеваний. Полиморфизм данного гена ассоциирован с инфарктом, гипертонией, астмой и эффективностью ее лечения, мигренью и диабетом (Jalba et al., 2008; Schürks et al., 2009). Так же как и в случае полиморфизма гена *NOS3*, носители «неблагоприятного» варианта G/– чаще встречаются среди русских, чем европейцев, указывая на высокую частоту генотипа «риска» в отечественной популяции.

Все гены, для которых были выявлены различия между российской и европейской выборками, пред-

ставлены в разных биологических процессах (метаболических путях). Однако есть и определенные совпадения. Наиболее часто они пересекаются в таких процессах, как апоптоз, регуляция артериального давления (*ADRB2*, *AGT*, *NOS3*) и метаболизм ионов металлов (*CYP2D6*, *PON1*, *NOS3*). Проведенный анализ позволяет считать, что подобные процессы, имеют определенную популяционную дифференциацию по этим маркерам. Поэтому дальнейшие молекулярно-генетические исследования новых маркеров риска гестоза, представляются весьма перспективными.

Работа была поддержана ГК Минобрнауки № 16.512.11.2031 от 14.02.2011» и частично конкурсом 2012 г. «Субсидии молод. ученым, молод. кандидатам наук вузов и академ. институтов, расположен на террит. Санкт-Петербурга, на возмещ. затрат, связ. с осущ. научной, научно-технич. деят-ти, эксперимент. разработок, провед. прикладных научных исслед.» — 34_13-07_205-МКН.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айламазян Э.К., Мозговая Е.В., 2008. Гестоз: теория и практика. М.: МЕДпресс-информ. 272 с.
2. Александров А.А., 1997. Повышенное артериальное давление в детском и подростковом возрасте (ювенильная артериальная гипертензия) // РМЖ. Т. 9. С. 559–565.
3. Александрова Н.В., Донников А.Е., Баев О.Р., Сухих Г.Т., 2012. Генетические факторы риска акушерских осложнений при самопроизвольной беременности и беременности после вспомогательных репродуктивных технологий // Акушерство и гинекология. №. 2. С. 16–23.
4. Баранов В.С. ред., 2009 Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины. СПб.: Изд-во Н-Л. 528 с
5. Баранов В.С., Айламазян Э.К. ред., 2009. Определение наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности. Генетическая карта репродуктивного здоровья: методические рекомендации. СПб.: Изд-во Н-Л. 66 с.
6. Горбунова В.Н., 2010. Генетика и эпигенетика синтропных заболеваний // Экологическая генетика. Т. 8. №. 4. С. 39–43.
7. Калашникова Е.А., Кокаровцева С.Н., Коваленко Т.Ф. и др., 2006. Частоты мутаций в генах фактора V (FV Leiden), протромбина (G20210A) и 5,10-метилентетрагидрофолат-редуктазы (C677 T) у русских // Медицинская генетика. Т. 5. № 7. С. 27–29.
8. Колчанов Н.А., Гончаров С.С., Лихошвай В.А., Иванисенко В.А., 2008. Системная компьютерная биология. Новосибирск: Изд-во СО РАН. 768 с.

9. Кучер А.Н., Бабушкина Н.П., Маркова В.В. и др., 2010. Изменчивость полиморфных вариантов генов-кандидатов заболеваний сердечно-сосудистой системы у представителей четырех этнических групп сибирского региона // Медицинская генетика. №. 5. С. 24–34.
 10. Малышева О.В., Мозговая Е.В., Демин Г.С. и др., 2003. Ассоциация полиморфных аллелей генов *ACE* и *eNOS* с развитием гестозов // Медицинская генетика. №. 2. С. 78–82.
 11. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д., 1984. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 480 с.
 12. Пузырев В.П., 2008. Генетический взгляд на феномен сочетанной патологии у человека // Медицинская генетика. Т. 8. №. 9. С. 3–9.
 13. Соколов Д.И., Лесниция М.В., Селютин А.В. и др., 2009. Роль цитокинов в контроле развития плаценты в норме и при гестозе // Иммунология. № 1. С. 22–27.
 14. Степанов В.А., Балановский О.П., Мельников А.В., и др., 2011. Характеристика популяций Российской Федерации по панели пятнадцати локусов, используемых для ДНК-идентификации и в судебно-медицинской экспертизе // Acta Naturae. Т. 3. № 2. С. 59–71.
 15. Трифонова Е.А., Еремина Е.Р., Урнов Ф.Д., Степанов В.А., 2012. Генетическое разнообразие и структура неравновесия по сцеплению гена *MTHFR* в популяциях Северной Евразии // Acta natura. Т. 4. №. 1(12). С. 55–71.
 16. Benmansour J., Stayoussef M., Al-Jenaidi F.A. et al., 2010. Association of single nucleotide polymorphisms in cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 and susceptibility to autoimmune type 1 diabetes in Tunisians // Clinical and Vaccine Immunology. Vol. 17(9). P. 1473–1477.
 17. Brophy V.H., Jampsa R.L., Clendenning J.B. et al., 2001. Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonase-gene (*PON1*) expression // The American Journal of Human Genetics. Vol. 68(6). P. 1428–1436.
 18. Dekker G.A., de Vries J.I.P., Doelitzsch P.M., 1995. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia // Am.J. Obstet Gynecol. Vol.173. P. 1042–1048.
 19. Dorado P., Peñas-Lledó E.M., de la Rubia A., Llerena A., 2009. Relevance of CYP2D6–1584C>G polymorphism for thioridazine: mesoridazine plasma concentration ratio in psychiatric patients // Pharmacogenomics. Vol. 10(7). P. 1083–1089.
 20. Huang da W., Sherman B. T., Stephens R. et al, 2008. DAVID gene ID conversion tool // Bioinformation. Vol. 2(10). P. 428–430.
 21. Jalba M.S., Rhoads G.G., Demissie K., 2008. Association of codon 16 and codon 27 beta 2-adrenergic receptor gene polymorphisms with obesity: a meta-analysis // Obesity (Silver Spring). Vol. 16(9). P. 2096–2106.
 22. Lynch A.I., Eckfeldt J.H., Davis B.R. et al., 2012. Gene panels to help identify subgroups at high and low risk of coronary heart disease among those randomized to antihypertensive treatment: the GenHAT study // Pharmacogenet Genomics. Vol. 22(5). P. 355–366.
 23. Masseroli M., Martucci D., Pinciroli F., 2004. GFINDER: Genome Function INtegrated Discoverer through dynamic annotation, statistical analysis, and mining // Nucleic Acids Research. Vol. 32. P. 293–300.
 24. Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F., 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells // Nucleic Acids Res. Vol. 16(3). P. 1215.
 25. Plagnol V., Howson J.M., Smyth D.J. et al., 2011. Type 1 Diabetes Genetics Consortium, Bingley P.J., Gough S.C., Todd J.A. Genome-wide association analysis of autoantibody positivity in type 1 diabetes cases // PLoS Genet. Vol. 7 (8). e1002216.
 26. Radomski M.W., Moncada S., 1997. Regulation of vascular homeostasis by nitric oxide // Thromb. Haemost. Vol. 70. P. 36–41
 27. Schürks M., Kurth T., Ridker P.M. et al., 2009. Association between polymorphisms in the beta2-adrenoceptor gene and migraine in women // Headache. Vol. 49 (2). P. 235–244.
 28. Shi Y., Xiang P., Li L., Shen M., 2011. Analysis of 50 SNPs in *CYP2D6*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP3A4* and *CYP1A2* by MALDI-TOF mass spectrometry in Chinese Han population // Forensic Sci. Int. Vol. 207(1–3). P. 183–197.
 29. Williams P.J., Pipkin F.B., 2011. The genetics of pre-eclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy // Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. Vol. 25. N 4. P. 405–417.
 30. Zeller T., Blankenberg S., Diemert P., 2012. Genome-wide association studies in cardiovascular disease — an update 2011 // Clin. Chem. Vol. 58(1). P. 92–103.
 31. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/> Дата обращения: 15.04.2012.
 32. URL: <http://www.R-project.org>. Development Core Team. Дата обращения: 15.04.2012.
- STUDY OF POPULATION FREQUENCIES OF GENES POLYMORPHISM ASSOCIATED WITH PREECLAMPSIA-ASSOCIATED GENES POLYMORPHISM**
- Glotov A.S., Vashukova Ye.S., Glotov O.S., Nasykhova Yu.A., Mazur A.M., Kurilov R.V., Pekhov V.M., Khrameyeva Ye.E., Ivashchenko T.E., Baranov V.S.
- ✳ **SUMMARY:** Using high-density microarrays, we analyzed polymorphism of more than 1500 genetic markers associated with risk of a wide range of multifactorial diseases. Based on functional annotation of genes by bioinformatics resources DAVID and GFINDER we selected a group of 31 genes, whose products are associated with the risk of preeclampsia.

Population frequencies of alleles and genotypes for the following genes: *ACE*, *ADIPOQ*, *ADRB2*, *ADRB3*, *AGT*, *APOE*, *CRP*, *CTLA4*, *CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2E1*, *EDNRA*, *ESR1*, *ESR2*, *F5*, *HLA-DQA1*, *HSPA1A*, *IL1A*, *IL1RN*, *IL6*, *IL6R*, *LEP*, *LEPR*, *LPL*, *MTHFR*, *NOS3*, *PON1*, *TAP2*, *TGFB1*, *TNFA*, *VEGFA* were established. Comparative analysis between the Russian and Central European population groups revealed statistically significant differences in allele and genotype frequencies for 6 genes: *CYP2D6*, *CTLA4*, *AGT*, *NOS3*, *PON1*, *ADRB2*. The data suggest similar basis of genetic risk of vascular diseases in pregnancy in Russian and European populations and may be used for other genetic and epidemiological studies.

✿ **KEY WORDS:** population; pathology of pregnancy; preeclampsia; association; polymorphism; microarrays.

✿ Информация об авторах

Глотов Андрей Сергеевич — к. б. н., старший научный сотрудник, Федеральное бюджетное учреждение Российской академии медицинских наук «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. E-mail: anglotov@mail.ru.

Вашукова Елена Сергеевна — лаборант-исследователь, Федеральное бюджетное учреждение Российской академии медицинских наук «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. E-mail: vi_lena@list.ru

Насыхова Юлия Алмазовна — к. б. н., научный сотрудник, Федеральное бюджетное учреждение Российской академии медицинских наук «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

Глотов Олег Сергеевич — к. б. н., старший научный сотрудник, Федеральное бюджетное учреждение Российской академии медицинских наук «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. E-mail: olglotov@mail.ru.

Мазур Александр Михайлович — к. ф.-м. н., директор по науке ЗАО «Геноаналитика». 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 1, офис 102. E-mail: alexander.mazur@genoanalytica.ru.

Курилов Роман Владимирович — студент, Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9. E-mail: roma.kur@gmail.com

Пехов Василий Михайлович — к. б. н., научный сотрудник ЗАО «Геноаналитика». 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 1, офис 102.

Храмеева Екатерина Евгеньевна — специалист по биоинформатическому анализу данных ЗАО «Геноаналитика». 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 1, офис 102.

Ивашенко Татьяна Эдуардовна — д. б. н., проф., ведущий научный сотрудник, Федеральное бюджетное учреждение Российской академии медицинских наук «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

Баранов Владислав Сергеевич — проф., чл.-корр. РАМН, заведующий лабораторией, Федеральное бюджетное учреждение Российской академии медицинских наук «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. E-mail: baranov@vb2475.spb.edu

Glotov Andrey Sergeyevich — candidate of biological scientist, senior scientist, lab. of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences. 199034, Saint-Petersburg, Mendeleyevskaya line, 3. Russia. E-mail: anglotov@mail.ru.

Vashukova Yelena Sergeyevna — scientist, lab. of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences. 199034, Saint-Petersburg, Mendeleyevskaya line, 3. Russia. E-mail: vi_lena@list.ru

Nasykhova Yuliya Almazovna — scientist, lab. of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences. 199034, Saint-Petersburg, Mendeleyevskaya line, 3. Russia.

Glotov Oleg Sergeyevich — candidate of biological scientist, senior scientist, lab. of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences. 199034, Saint-Petersburg, Mendeleyevskaya line, 3. Russia. E-mail: olglotov@mail.ru.

Mazur Aleksandr Mikhaylovich — PhD, Head of Science department, Genoanalytica CJSC. 119234, Moscow, Leninskie gory, 1-77, office 102. Russia. E-mail: alexander.mazur@genoanalytica.ru.

Kurilov Roman Vladimirovich — student, Faculty of Biology and Soil Sciences, Saint-Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab, 7–9. Russia. E-mail: roma.kur@gmail.com

Pekhov Vasilij Mikhaylovich — PhD, scientist, Genoanalytica CJSC. 119234, Moscow, Leninskie gory, 1-77, office 102. Russia.

Khrameyeva Yekaterina Yevgenyevna — bioinformation analysis, Genoanalytica CJSC. 119234, Moscow, Leninskie gory, 1-77, office 102. Russia.

Ivashchenko Tatyana Eduardovna — professor, doctor of biological sciences, senior scientist, lab. of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences. 199034, Saint-Petersburg, Mendeleyevskaya line, 3. Russia.

Baranov Vladislav Sergeyevich — professor, corresponding member of Russian Academy of Medical Sciences, head of the laboratory, lab. of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences. 199034, Saint-Petersburg, Mendeleyevskaya line, 3. Russia. E-mail: baranov@vb2475.spb.edu