

**Е. В. Мозговая**

Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН, Санкт-Петербург

**ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ГЕСТОЗУ: ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ**

■ Изучен полиморфизм генов, участвующих в регуляции функции эндотелия — PLAT, PAI-1, ACE, eNOS и TNF- $\alpha$  у 122 беременных с чистым и сочетанным гестозом различной степени тяжести и у 73 здоровых родильниц. Выявлено, что мутантные генотипы исследованных генов связаны с более выраженными клинико-лабораторными показателями тяжести гестоза и наибольшим повышением уровня маркеров эндотелиальной дисфункции. Отмечено, что частота мутантных генов и аллелей варьирует в зависимости от степени тяжести гестоза и наличия фоновых заболеваний, характеризующихся наличием эндотелиальной дисфункции. Полученные данные подтверждают мнение, что гестоз является мультифакториальным заболеванием с несколькими, возможно самостоятельными, путями развития. Исследование полиморфизма генов, регулирующих функцию эндотелия, способствует заблаговременному выявлению группы риска по развитию гестоза.

■ **Ключевые слова:** полиморфизм генов, гестоз, эндотелиальная дисфункция

Несмотря на наблюдающееся в последнее десятилетие снижение в России абсолютного числа родов, частота гестоза из года в год увеличивается и достигает 16–21 % [1]. Это обусловлено в первую очередь отсутствием точных знаний о патогенезе заболевания и, как следствие, отсутствием ранних и достоверных диагностических критериев, без которых невозможно осуществить действенные меры по профилактике.

На сегодняшний день известно, что ключевым звеном патогенеза гестоза, определяющим его клинические проявления, является эндотелиальная дисфункция, в результате которой эндотелиальные клетки утрачивают свою ответную реакцию, продуцируют избыток прокоагулянтов и вазоконстрикторов [4, 8]. Предполагается, что существует две различных причины возникновения заболевания в пределах синдрома гестоза [18]. Эти две причины могут быть охарактеризованы как плацентарная, генез которой — результат прежде всего сниженной плацентарной перфузии, и материнская, при которой клинический синдром проявляется прежде всего вследствие существующих до беременности нарушений функции эндотелия у матери. Генетическая предрасположенность к гестозу отмечалась исследователями с давних времен, и на сегодняшний день очевидно, что гестоз является мультифакториальным заболеванием и имеет целый ряд генов предрасположенности [7]. Генетический полиморфизм, присущий человеку, приводит к определенным вариациям в структуре белков и тем самым формирует биохимическую индивидуальность каждой личности [2]. Особенность многих вариантных генов в том, что они могут долгое время никак себя не проявлять. Патологические симптомы могут возникнуть при неблагоприятных условиях, а также при беременности.

Исходя из современных представлений о патогенезе гестоза, высока вероятность наличия ассоциации с гестозом совокупности полиморфизмов генов, вовлеченных в сложный процесс регулирования многообразных функций эндотелия.

От состояния эндотелия зависит регулирование системы фибринолиза, определяемое в первую очередь балансом между активатором плазминогена тканевого типа (t-PA) и его основным ингибитором I (PAI-1), поскольку оба эти фермента продуцируются эндотелиальными клетками. Повреждение эндотелия проявляется торможением фибринолиза, поэтому t-PA и PAI-1 являются значимыми маркерами эндотелиальной дисфункции. Полиморфизм в гене t-PA — PLAT представляет собой делецию или инсерцию Alu-повтора в интроне 8. Отмечены увеличение уровня t-PA при повышении частоты I-аллелей и положительная ассоциация между I-аллелем и сердечно-сосудистыми заболеваниями [22].

Ген PAI-1 имеет базовый полиморфизм инсерция/делеция, обычно называемый 4G/5G [10]. Клинические исследования показали наличие связи между 4G/5G полиморфизмом и активностью PAI-1 плазмы; отмечено, что аллель 4G связан с более высокими уровнями PAI-1 [9]. Отмечено, что у беременных с акушерскими осложнениями (тяжелая преэклампсия, отслойка плаценты, СЗРП и мертворождение) генетические расстройства фибринолиза обусловлены геном PAI-1, при этом мутация 4G/4G связана с увеличен-

ным риском тромбоза [9, 11]. Исследование 4G/5G полиморфизма гена PAI-1 у беременных с гестозом показало достоверное увеличение генотипа 4G/4G и аллеля 4G по сравнению с контролем и подтвердило мнение, что генотип 4G/4G является фактором риска для развития гестоза [24].

Ангиотензинпревращающий фермент (АСЕ) является одним из важнейших компонентов ренин-ангиотензиновой системы, осуществляющий конверсию ангиотензина I в ангиотензин II — сильнейший вазоконстриктор. Кроме того, АСЕ осуществляет инактивацию брадикинина, являющегося стимулятором выделения эндотелием NO. Поэтому его роль в прогрессировании эндотелиальной дисфункции и вазоконстрикции несомненна. Выявлена роль полиморфизма гена АСЕ в генезе артериальной гипертензии и других заболеваний сердечно-сосудистой системы [3]. В интроне 16 гена АСЕ либо присутствует (Insertion, I), либо отсутствует (Deletion, D) фрагмент ДНК, состоящий из 287 пар оснований. Отмечается выраженная связь полиморфизма АСЕ с развитием гестоза, при этом генотип I/I является маркером сниженного риска, а D/D — повышенного для развития гестоза [26]. Однако другие исследователи выявили связь полиморфизма АСЕ с развитием холестатического гепатоза беременных, но не гестоза [12].

Оксид азота (NO) — эндотелиальный фактор релаксации — играет важную роль в регуляции тонуса кровеносных сосудов и тромбогенеза. Однако данные относительно продукции оксида азота при гестозе спорны; в различных исследованиях она отмечена как сниженная, нормальная или повышенная [19, 25]. Эндотелиальная NO-синтаза (eNOS) участвует в синтезе NO эндотелием и, следовательно, в регуляции сосудистого тонуса, кровотока и артериального давления [14], что позволило предположить наличие связи полиморфизма гена eNOS с развитием гестоза. Полиморфизм в 4 интроне гена eNOS имеет два аллеля, 4a и 4b. Отмечено, что этот полиморфизм связан с повышенным риском гестоза [21]. Аллель 4a связан с высоким риском развития гестоза, среди пациентов с гестозом у носителей хотя бы одного аллеля 4a отмечалось более высокое АД [20]. У пациентов, имеющих оба мутантных аллеля, обнаружена связь с более ранним и более тяжелым гестозом. Этот эффект уменьшается по мере увеличения гестационного срока, и, возможно, данный полиморфизм играет максимальную роль в ранние сроки беременности [5].

Провоспалительные цитокины играют важную роль в процессе гиперкоагуляции [17], нарушениях регуляции сосудистого тонуса и формирова-

нии синдрома эндотелиальной дисфункции [13]. При эндотелиальной дисфункции многими авторами отмечается значительное повышение уровня TNF- $\alpha$  как одного из самых агрессивных провоспалительных цитокинов. TNF- $\alpha$  способствует повышению генерации свободных радикалов, может стать причиной интенсификации процессов инактивации оксида азота и апоптоза в эндотелии [6]. Данные о наличии связи полиморфизма гена TNF- $\alpha$  с уровнем TNF- $\alpha$  в крови и с развитием эндотелиальной дисфункции, в том числе при гестозе, — крайне немногочисленны [23]. В некоторых исследованиях не было обнаружено какой-либо значимой ассоциации частоты вариантов генотипов TNF- $\alpha$  с тяжелым гестозом [16]. Тем не менее другие авторы отмечают существенную связь между гаплотипом TNF- $\alpha$ , гестозом и HELLP-синдромом [15].

Цель данного исследования — изучение ассоциации полиморфизмов генов PLAT, PAI-1, eNOS, АСЕ и TNF- $\alpha$ , участвующих в регуляции функции эндотелия, с развитием гестоза.

## Материалы и методы

Обследовано 122 беременных с гестозом и 73 нормотензивных родильницы, не имевших выявленной соматической патологии (контрольная группа), находившихся под наблюдением в Институте акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта.

Группа пациенток с гестозом была неоднородной как по степени тяжести гестоза, так и по наличию ранее предшествовавших фоновых заболеваний. У 46 беременных не было отмечено какой-либо сопутствующей патологии («чистый» гестоз), из них у 31 беременной имел место легкий гестоз (нефропатия I–II), у 15 — тяжелый гестоз (нефропатия III и преэклампсия). У 76 пациенток отмечен сочетанный гестоз различной степени тяжести: на фоне артериальной гипертензии (у 27 — на фоне ВСД по гипертоническому типу и у 22 — на фоне гипертонической болезни), на фоне заболеваний почек (у 15), на фоне сахарного диабета (у 19).

Помимо общепринятых клинико-лабораторных данных (данные анамнеза, клинические характеристики, клинический и биохимический анализы крови, коагулограмма, анализы мочи, УЗИ плода и доплерометрия и маточно-плацентарного кровотока) у пациенток исследована агрегационная активность тромбоцитов и уровень маркеров эндотелиальной дисфункции: t-AP и PAI-1, адгезивных молекул CD11 $\beta$ /CD18 и провоспалительных цитокинов, фактора Виллебранда и десквамированных циркулирующих эндотелиоцитов. Произведено исследование по-

лиморфизмов 6 вышеуказанных генов у всех обследованных женщин.

Молекулярно-биологическое исследование полиморфных аллелей генов производилось методом полимеразной цепной реакции. Образцы ДНК получены стандартным способом из лимфоцитов крови. Для амплификации использован программируемый термоциклер Perkin-Elmer Cetus (USA). После амплификации продукты ПЦР подвергались расщеплению с помощью специфических эндонуклеаз. Продукты реакции анализированы в 7,0 % полиакриламидном геле с последующей окраской этидиумбромидом и визуализацией в проходящем УФ свете.

Агрегация тромбоцитов проводилась методом фотометрирования плазмы с использованием АДФ в качестве индуктора агрегации. Определение количества (%) адгезивных молекул семейства интегринов CD11 $\beta$ /CD18 на нейтрофилах, моноцитах и лимфоцитах проводилось методом проточной цитометрии. Определение количества цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-8), t-PA и PAI-1, а также фВБ производилось методом иммуноферментного анализа. Количество эндотелиоцитов подсчитывалось в камере Горяева после центрифугирования плазмы и осаждения тромбоцитов с помощью АДФ.

Результаты исследования обработаны методом вариационной статистики с оценкой достоверности по критерию Стьюдента *t*. При сравнении частот генотипов использовали стандартный критерий  $\chi^2$ . Относительный риск (OR — Relative Risk) развития заболевания при определенном

генотипе рассчитывали по стандартной формуле:  $OR = a/b-d/c$ , где *a* и *b* — количество больных, имеющих и не имеющих мутантный генотип соответственно; *c* и *d* — количество человек в контрольной группе, имеющих и не имеющих мутантный генотип соответственно. Рассматривали значения  $OR > 1$  как фактор риска развития данной патологии, а  $OR < 1$  как предохраняющий фактор.

## Результаты исследования

**1. Ассоциация полиморфизма гена PLAT с гестозом.** У беременных с гестозом, гомозигот I/I по гену PLAT, отмечалось более раннее появление отеков и артериальной гипертензии, наибольшая прибавка веса за время беременности, повышенные коагуляционного потенциала и агрегационной активности тромбоцитов. Достоверно более низкий уровень t-PA у гомозигот I/I коррелировал с уровнями других маркеров эндотелиальной дисфункции — повышенным содержанием в плазме PAI-1, фактора Виллебранда, десквамированных эндотелиоцитов (табл. 1).

У беременных с чистым гестозом не отмечено увеличения частоты гомозигот I/I по сравнению с общим количеством беременных с гестозом и контролем, тогда как при сочетанном гестозе частота генотипа I/I возрастала. В группе беременных с сочетанным гестозом на фоне артериальной гипертензии, исследованных на полиморфизм гена PLAT, отмечено значительное возрастание частоты генотипа I/I (с 9,5 % в контроле до 17,7 %),

Таблица 1

Ассоциация полиморфизма гена PAI-1 с клиническими показателями у беременных с гестозом

Показатель клинического обследования	Вариант генотипа		
	I/I (n=14)	D/D (n=57)	I/D (n=48)
Прибавка веса, кг	13,7 ± 3,9	11,7 ± 3,8*	12,0 ± 3,7
Срок появления отеков, нед	26,4 ± 5,2	30,1 ± 4,9*	30,0 ± 5,4*
Срок появления гипертензии, нед	24,1 ± 6,9	26,6 ± 7,0*	28,6 ± 7,3*
Протромбиновый индекс, %	110,3 ± 6,2	103 ± 6,5**	106,2 ± 8,9
Индекс АЧТВ, ед.	0,94 ± 0,09	1,04 ± 0,1*	1,01 ± 0,14
Фибринолиз, мин	19,03 ± 3,77	14,53 ± 4,23*	16,15 ± 4,6
Фибриноген, г/л	0,45 ± 0,87	3,71 ± 0,93**	3,63 ± 0,95*
Степень агрегации (АДФ 2 нг/мл), %	58,43 ± 10,3	49,0 ± 10,6**	53,19 ± 13,6
Степень агрегации (АДФ 0,2 нг/мл), %	20,37 ± 9,9	12,62 ± 9,3*	12,51 ± 9,8**
Уровень t-PA плазмы	1,64 ± 1,62	2,9 ± 1,61**	2,9 ± 1,59**
Уровень PAI-1 плазмы	261 ± 36,4	245 ± 36,0*	268 ± 32,0
Фактор Виллебранда, %	206,1 ± 66,2	140,1 ± 58,3*	160,0 ± 89,9
Количество эндотелиоцитов, 10 <sup>4</sup> /л	7,7 ± 4,59	14,0 ± 4,4*	11,0 ± 3,9*

\* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  по сравнению с генотипом I/I.

$\chi^2 = 1,76$ ; OR = 1,76. В данной подгруппе у беременных, имевших гестоз на фоне артериальной гипертензии легкой степени (ВСД по гипертоническому типу), наблюдалась существенная тенденция к увеличению частоты генотипа I/I по мере увеличения степени тяжести гестоза. При тяжелом гестозе на фоне ВСД по гипертоническому типу (нефропатия II–III и преэклампсия, 12 пациентов), частота генотипа I/I составила 27,2 % (за счет снижения % гетерозигот), в два раза превышала таковую при сочетанном гестозе в целом и почти в три раза — по сравнению с контролем, однако достоверных различий нами не получено ввиду малочисленности подгруппы ( $\chi^2 = 2,95$ ; OR = 3,54;  $p = 0,5$ ). У беременных с нарушением углеводного обмена не наблюдалось перераспределения частот генотипов и аллелей в полиморфизме гена PLAT по сравнению с контролем; наиболее выраженные отличия по сравнению с контролем наблюдались у беременных с гестозом на фоне гестационного сахарного диабета, при котором частота гомозигот I/I составила 33,3 % ( $\chi^2 = 4,22$ ; OR = 3,14;  $p = 0,25$ ), а частота аллеля I — 58,3 % ( $\chi^2 = 3,04$ ;  $p = 0,25$ ).

**2. Ассоциация полиморфизма гена PAI-1 с гестозом.** У беременных с генотипом 4G/4G отмечалась тенденция к более раннему появлению повышения артериального давления и к более высоким

цифрам АД, особенно в родах. Кроме того, у гомозигот 4G/4G имело место значительное увеличение резистентности в маточно-плацентарном кровообращении и гипотрофии плода (по данным УЗИ). При наличии генотипа 4G/4G у беременных с гестозом выявлена наибольшая гиперкоагуляция и агрегационная активность тромбоцитов, а также значительное снижение уровня t-PA и повышение PAI-1 по сравнению с гетерозиготами и гомозиготами 5G/5G. Выраженные различия наблюдались после проведения антикоагулянтной терапии: гомозиготы 4G/4G более резистентны к корригирующему воздействию, имеют достоверно более низкий уровень t-PA и повышенный PAI-1 и фактора Виллебранда (табл. 2).

Было отмечено, что при чистом гестозе частота генотипа 4G/4G выше по сравнению с контролем (48,8 % по сравнению с 28,7 %),  $\chi^2 = 5,25$ ; OR = 2,36;  $p < 0,25$  — за счет уменьшения частоты гетерозигот и генотипа 5G/5G, тогда как при сочетанном гестозе частота генотипа 4G/4G была выше, чем в контроле, но ниже, чем в общей группе беременных с гестозом. Наибольшее увеличение частоты генотипа 4G/4G (до 50 %) наблюдалось при тяжелом гестозе на фоне гипертонической болезни 2–3 стадии ( $\chi^2 = 3,21$ ; OR = 1,44;  $p < 0,5$ ). Значительное увеличение частоты гомозигот 4G/4G наблюдалось при гестозе на фоне

Таблица 2

Ассоциация полиморфизма гена PAI-1 с клиническими показателями у беременных с гестозом

Показатель	Вариант генотипа		
	4G/4G (n=51)	4G/5G (n=55)	5G/5G (n=15)
Срок гипертензии, нед	26,8 ± 8,4	27,6 ± 7,4	27,8 ± 6,9
Максимальное АД в родах, мм рт. ст.	140,4/91,9 ± 13,1/8,3	137,8/87,5 ± 12,6/9,5	136,8/87,3 ± 10,0/6,7
СДО пуповины, ед.	3,23 ± 0,33	2,84 ± 0,51	2,51 ± 0,28**
СДО правой мат. артерии, ед.	2,82 ± 0,51	2,31 ± 0,46*	2,5 ± 0,6
СДО левой мат. артерии, ед.	2,71 ± 0,3	2,67 ± 0,48	2,4 ± 0,26*
Гипотрофия плода, нед	0,92 ± 0,4	0,56 ± 0,32	0*
Протромбиновый индекс, %	106,0 ± 7,2	103,9 ± 8,0	103,3 ± 7,5
Время образования сгустка, мин	4,41 ± 0,41	4,71 ± 0,39*	4,50 ± 0,40
Степень агрегации (АДФ 2 нг/мл), %	61,91 ± 16,15	53,69 ± 15,85*	57,15 ± 14,69
Скорость агрегации (АДФ 2 нг/мл), %/мин	47,03 ± 14,20	42,11 ± 13,99*	44,41 ± 14,95
Степень агрегации (АДФ 0,2 нг/мл), %	21,92 ± 8,40	15,17 ± 7,93*	15,40 ± 8,67**
Скорость агрегации (АДФ 0,2 нг/мл), %	31,42 ± 14,05	26,13 ± 13,83*	20,20 ± 14,21**
Уровень t-PA плазмы	2,2 ± 2,05	3,25 ± 1,85	3,9 ± 2,19*
Уровень t-PA плазмы после лечения НМГ	4,84 ± 2,07	6,17 ± 2,15*	7,83 ± 2,4**
Уровень PAI-1 плазмы	244,5 ± 36,5	268,45 ± 38,1*	249,2 ± 41,2
Уровень PAI-1 плазмы после лечения НМГ	202,9 ± 35,4	194 ± 35,6*	149,1 ± 31,6**
Фактор Виллебранда, %	189,27 ± 74,07	123,03 ± 67,28*	81,83 ± 65,52**
Количество эндотелиоцитов, 10 <sup>4</sup> /л	15,7 ± 6,29	13,5 ± 5,7	10,57 ± 4,1

\* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  по сравнению с генотипом 4G/4G.

заболеваний почек, а при тяжелом гестозе на фоне заболеваний почек у всех беременных с гестозом (4 пациентки) имел место генотип 4G/4G ( $\chi^2 = 8,78$ ;  $p < 0,05$ ). Таким образом, делеция 4G в промоторе гена PAI-1 является предрасполагающим фактором к развитию гестоза у беременных, при этом наибольший риск наблюдается у беременных с чистым гестозом, а также с сочетанным гестозом на фоне заболеваний почек, несколько меньший — на фоне АГ и сахарного диабета беременных (см. рис. 1).

**3. Ассоциация полиморфизма гена ACE с гестозом.** При оценке анамнестических данных и клинических симптомов заболевания в общей группе беременных с гестозом — существенных различий в зависимости от полиморфизма гена АПФ не выявлено, кроме изменений в некоторых параметрах системы гемостаза. У пациенток с генотипом D/D отмечено достоверное увеличение скорости и степени агрегации тромбоцитов по сравнению с беременными, имеющими генотип I/I. Полиморфизм гена ACE не имеет ассоциации с показателями системы фибринолиза, тем не менее у гомозигот D/D значительно повышены уровень фактора Виллебранда, эндотелиоцитов и TNF- $\alpha$ . При чистых формах гестоза выявлена взаимосвязь полиморфизма ACE не только с агрегационной активностью тромбоцитов и вышеозначенными маркерами эндотелиальной дисфункции, но и с уровнем адгезивных молекул. У беременных с гестозом на фоне гипертонической болезни отмечено, что для генотипа D/D характерна большая масса тела и степень ожирения, большая прибавка веса за беременность. Уровни систолического и диастолического АД существенно не различались в зависимости от генотипа, но у гомозигот D/D отмечена достоверно большая потребность в клофелине. Беременные с генотипом D/D имели сниженную скорость и степень агрегации тромбоцитов и по-

вышенный уровень всех маркеров эндотелиальной дисфункции адгезивных молекул крови (табл. 3).

Выявлено, что при легком чистом гестозе (нефропатии I–II степени) имеется достоверное увеличение частоты генотипа D/D с 38,3 до 55,8 % ( $\chi^2 = 9,18$ ; OR = 2,04;  $p < 0,05$ ), тогда как при тяжелых формах чистого гестоза (нефропатия III — преэклампсия) отмечено уменьшение частоты гомозигот DD по сравнению с контролем.

У беременных с гестозом на фоне ВСД по гипертоническому типу отмечено значительное уменьшение гомозигот D/D (28,5 %) и гетерозигот I/D (42,8 %) по сравнению с контролем ( $\chi^2 = 4,76$ ;  $p < 0,25$ ), что свидетельствует о снижении риска сосудистых осложнений со стороны полиморфизма гена АПФ (OR = 0,64). У беременных с выраженной артериальной гипертензией, соответствующей ГБ 2-3 степени, отмечено повышение частоты генотипа D/D (50 %) за счет уменьшения процента гетерозигот I/D (37,5 %) по сравнению с контролем ( $\chi^2 = 1,29$ ) с соответствующим повышением степени риска (OR = 1,6). Наиболее заметные различия отмечены при тяжелом гестозе, при степени тяжести, соответствующей нефропатии II и выше. При тяжелом гестозе на фоне ГБ протекторный генотип I/I отсутствует, а частота генотипа D/D достигает 54,5 % ( $\chi^2 = 1,87$ ; OR = 1,9). Заметное повышение частоты генотипа D/D отмечено и у беременных с гестозом на фоне сахарного диабета 2 типа (рис. 2).

**4. Ассоциация полиморфизма гена eNOS с гестозом.** У беременных с гестозом, имеющих генотип 4a/4a, отмечается достоверно более раннее появление отеков, протеинурии и гипертензии; отмечена достоверно наибольшая суточная доза клофелина — основного гипотензивного средства, используемого в акушерстве для длительной коррекции гипертензии. Кроме того, у беременных с гестозом и генотипом 4a/4a гена eNOS отмечен достоверно

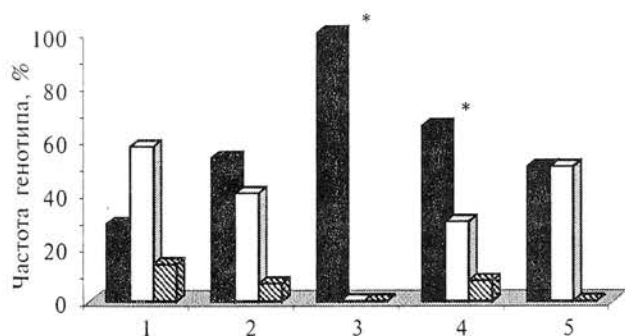


Рис. 1. Распределение частоты генотипов и аллелей гена PAI-1 у беременных с гестозом

■ Генотип 4G/4G □ Генотип 4G/5G ▨ Генотип 5G/5G

■ Аллель 4G □ Аллель 5G

1 — контроль; 2 — беременные с чистым тяжелым гестозом (нефропатия II и выше); 3 — беременные с тяжелым гестозом на фоне заболевания почек; 4 — беременные с гестозом на фоне инфекции нижних МВП; 5 — беременные с тяжелым гестозом на фоне ГБ;

\* —  $p < 0,05$  по сравнению с контролем

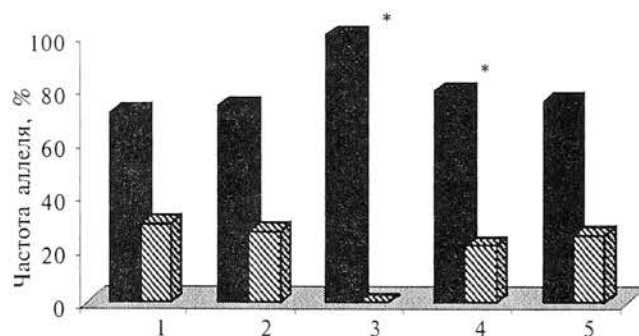


Таблица 3

Ассоциация полиморфизма гена ACE с клиническими показателями у беременных с гестозом

Показатель	Вариант генотипа		
	I/I (n = 25)	I/D (n = 51)	D/D (n = 46)
Время образования сгустка, мин	5,03 ± 0,43	4,44 ± 0,87	4,43 ± 0,54*
Фибриноген, г/л	3,52 ± 0,54	4,08 ± 0,96	3,86 ± 0,85
Степень агрегации (АДФ2 нг/мл), %	50,07 ± 6,28	50,53 ± 9,97	53,66 ± 6,4*
Степень агрегации (АДФ0, нг/мл), %	11,3 ± 2,77	15,11 ± 2,24*	13,02 ± 2,6
Скорость агрегации (АДФ2 нг/мл), %	30,2 ± 8,9	34,71 ± 9,34	37,77 ± 9,6*
Фактор Виллебранда, %	82,21 ± 30,97	144,65 ± 45,39	180,9 ± 56,29*
Количество эндотелиоцитов, 10 <sup>4</sup> /л	7,0 ± 3,9	12,17 ± 4,9	12,2 ± 4,6*
Уровень TNF-α плазмы	98,75 ± 52,5	277,1 ± 79,42**	403,0 ± 183,71**, ***
<i>Чистый гестоз</i>			
	(n = 10)	(n = 14)	(n = 21)
Адгезивные молекулы:			
нейтрофилов	90,6 ± 1,8	38,16 ± 12,08**	38,0 ± 2,2**
моноцитов	94,8 ± 1,7	55,5 ± 7,1**	54,1 ± 1,8**
лимфоцитов	9,1 ± 2,5	4,6 ± 1,3*	4,7 ± 1,4*
<i>Гестоз на фоне ГБ</i>			
	(n = 4)	(n = 8)	(n = 11)
Адгезивные молекулы:			
нейтрофилов	28,36 ± 2,73	41,4 ± 2,0**	55,87 ± 8,95**
моноцитов	55,8 ± 10,92	55,65 ± 5,55	68,0 ± 10,68**
лимфоцитов	4,73 ± 0,70	4,25 ± 0,55	5,5 ± 0,61*, ***

\*—  $p < 0,05$  по сравнению с генотипом I/I; \*\*—  $p < 0,01$  по сравнению с генотипом I/I; \*\*\*—  $p < 0,01$  по сравнению с генотипом I/D.

более низкий уровень общего белка крови и количества тромбоцитов. Гомозиготы 4a/4a имеют резистентность показателей t-РА и PAI-1 к антикоагулянтной терапии, более высокое содержание десквамированных эндотелиоцитов, худший исход

родов для новорожденного. В то же время у гетерозигот 4a/4b также определяется более выраженная эндотелиальная дисфункция по целому ряду показателей по сравнению с гомозиготами 4b/4b (табл. 4).

В нашем исследовании не выявлено ассоциа-

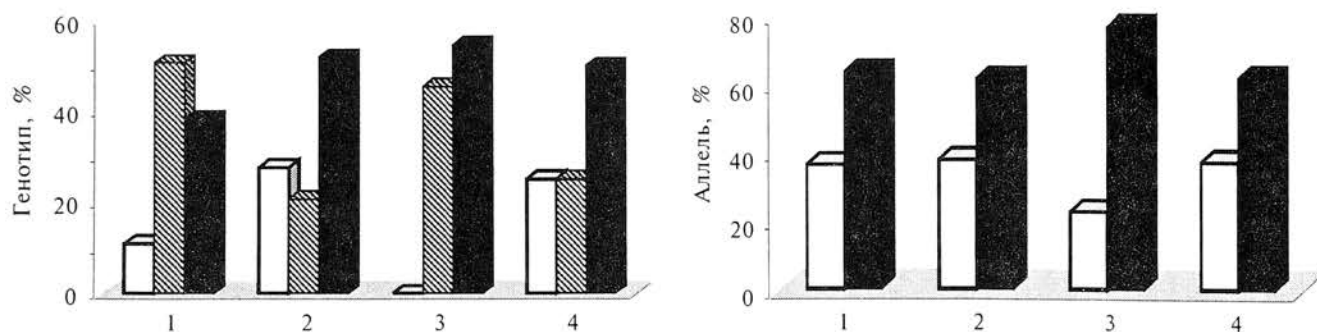


Рис. 2. Наиболее значимые проявления I/D полиморфизма гена АПФ при гестозе

■ Генотип I/I □ Генотип I/D ▣ Генотип D/D ■ Аллель I □ Аллель D  
1 — контроль; 2 — И-II чистая; 3 — И-II на фоне ГБ; 4 — гестоз на фоне

Таблица 4

Ассоциация полиморфизма гена eNOS с клиническими показателями у беременных с гестозом

Показатель	Вариант генотипа		
	4b/4b (n=46)	4b/4a (n=24)	4a/4a (n=3)
Срок появления отеков, нед	30,67 ± 4,9	28,7 ± 4,6	22,3 ± 4,2*, ***
Срок протеинурии, нед	32,2 ± 5,8	31,7 ± 6,2	23,0 ± 6,4*, ***
Протеинурия, г/л	0,66 ± 1,61	0,46 ± 1,58	2,28 ± 1,65*, ***
Срок гипертензии, нед	28,1 ± 5,3	26,4 ± 4,8*	14,7 ± 3,7*, ***
Суточная доза клофелина, мкг	0,24 ± 0,16	0,23 ± 0,14	0,45 ± 0,15*, ***
Общий белок крови, г /л	64,34 ± 4,99	64,54 ± 5,39	58,53 ± 5,15*, ***
Количество тромбоцитов, 10 <sup>9</sup> /л	277,1 ± 82,7	252,3 ± 71,2	132,0 ± 76,3*, ***
Фибриноген, г/л	4,05 ± 0,85	3,68 ± 0,67	4,62 ± 0,73***
Уровень t-PA плазмы	3,17 ± 2,06	2,21 ± 1,89	2,08 ± 1,94
Уровень t-PA плазмы после лечения НМГ	7,09 ± 1,56****	4,85 ± 1,85*, ****	3,35 ± 1,82*, ***
Уровень PAI-1 плазмы	250,4 ± 42,1	271,3 ± 33,4	268,4 ± 42,4
Уровень PAI-1 плазмы после лечения НМГ	159,4 ± 35,4****	217,2 ± 36,6**, ****	229,1 ± 31,6*, ***
Фактор Виллебранда, %	156,97 ± 66,59	168,76 ± 75,9	173,88 ± 67,2
Количество эндотелиоцитов, 10 <sup>4</sup> /л	10,7 ± 3,5	14,4 ± 6,4	17,6 ± 4,1*
Срок родоразрешения, нед	36,99 ± 2,6	37,35 ± 2,7	32,65 ± 2,9*, ***

\* —  $p < 0,05$  по сравнению с генотипом 4b/4b; \*\* —  $p < 0,01$  по сравнению с генотипом 4b/4b; \*\*\* —  $p < 0,05$  по сравнению с генотипом 4a/4a; \*\*\*\* —  $p < 0,01$  по сравнению с показателями до лечения.

ции полиморфизма 4a/4b гена eNOS с чистым гестозом. При сочетанном гестозе отмечалось перераспределение генотипов в сторону увеличения частоты гомозигот аллеля 4a (3,9 %) и гетерозигот 4a/4b (38,1 %) за счет снижения гомозигот 4b (57,8 %),  $\chi^2 = 0,6$ ; OR для генотипа 4a/4a = 1,46; OR для генотипа 4a/4b = 1,26. Наибольшая частота генотипа 4a/4a отмечена у беременных с нефропатией I на фоне ВСД по гипертоническому типу — 11,1 % ( $\chi^2 = 4,87$ ; OR = 4,38;  $p < 0,25$ ), в меньшей степени — при сахарном диабете I типа. При нефропатии II степени и выше на фоне ВСД по гипертоническому типу генотип 4a/4a отсутствовал, однако имелось значительное увеличение частоты гетерозигот 4a/4b по сравнению с контро-

лем — до 58,3 % ( $\chi^2 = 2,9$  OR<sup>1</sup> = 2,8  $p < 0,5$ ). Повышение частоты генотипа 4a/4b отмечено при сочетанном гестозе на фоне сахарного диабета беременных, тяжелом гестозе на фоне ВСД по гипертоническому типу и легком гестозе на фоне ГБ. У беременных с гестозом на фоне заболеваний почек и тяжелым гестозом на фоне ГБ — присутствует только генотип 4b/4b (рис. 3).

**5. Ассоциация полиморфизма гена TNF- $\alpha$  с гестозом.** При гестозе у гетерозигот (-238)A/G отмечалась наибольшая прибавка веса, более раннее появление гипертензии, повышенная агрегационная активность тромбоцитов и увеличение уровня многих маркеров эндотелиальной дисфункции по сравнению с гомозиготами (-238)G/G; (гомозигот-

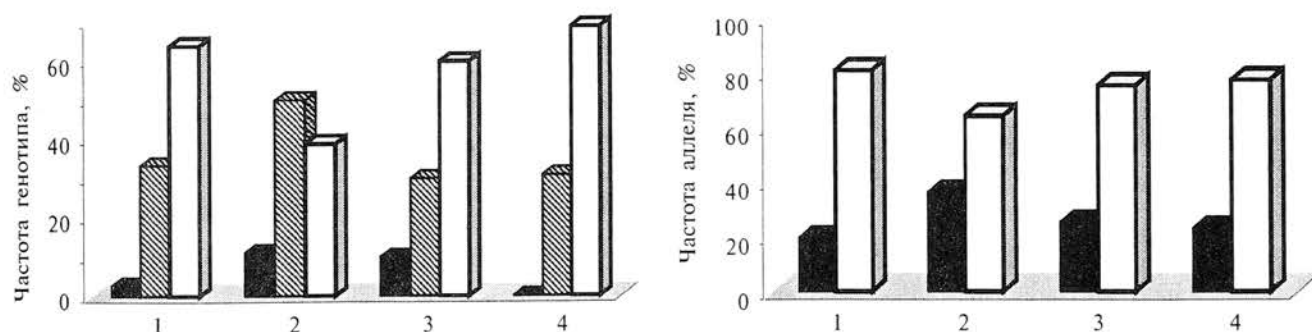


Рис. 3. Проявление 4a/4b полиморфизма гена eNOS при гестозе в зависимости от фоновых заболеваний

■ Генотип 4a/4a ■ Генотип 4a/4b □ Генотип 4b/4b ■ Аллель 4a □ Аллель 4b  
1 — контроль; 2 — Н I-II на фоне ВСД; 3 — гестоз на фоне СЛД; 4 — гестоз на фоне болезни почек

Ассоциация полиморфизма гена TNF- $\alpha$  с клиническими показателями у беременных с гестозом

Показатель	Вариант генотипа	
	Генотип (-238)G/G (n=101)	Генотип (-238)A/G (n=16)
Прибавка веса, кг	11,67 $\pm$ 4,15	14,53 $\pm$ 4,36*
Срок появления гипертензии, нед	27,95 $\pm$ 10,21	22,19 $\pm$ 9,88*
Время образования сгустка, мин	4,65 $\pm$ 0,58	3,18 $\pm$ 0,75**
Степень агрегации tr. (АДФ2 нг/мл), %	56,45 $\pm$ 17,85	69,85 $\pm$ 18,65*
Степень агрегации (АДФ2 нг/мл), % после терапии НМГ	49,97 $\pm$ 17,82***	65,67 $\pm$ 19,04*
Уровень t-PA плазмы	2,94 $\pm$ 2,13	2,03 $\pm$ 1,91
Уровень PAI-1 плазмы	188,2 $\pm$ 44,9	235,7 $\pm$ 39,8*
Фактор Виллебранда, %	148,96 $\pm$ 72,15	198,78 $\pm$ 69,33*
Количество эндотелиоцитов, 10 <sup>4</sup> /л	10,4 $\pm$ 5,13	14,5 $\pm$ 4,79*
Адгезивные молекулы:		
нейтрофилов	54,49 $\pm$ 17,2	67,92 $\pm$ 11,04
моноцитов	66,81 $\pm$ 8,74	73,55 $\pm$ 9,31*
лимфоцитов	5,1 $\pm$ 0,83	5,78 $\pm$ 0,79*
Уровень TNF- $\alpha$ плазмы	220,27 $\pm$ 83,7	233,43 $\pm$ 88,17
Уровень ИI-8 плазмы	94,17 $\pm$ 47,85	113,28 $\pm$ 59,44

\* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  по сравнению с генотипом (-238)G/G; \*\*\* —  $p < 0,01$  по сравнению с данными до лечения.

ты (-238)A/A в исследуемых группах не отмечены). Результаты представлены в табл. 5.

При оценке взаимосвязи данного полиморфизма со степенью тяжести чистого гестоза выявлено, что у беременных с нефропатией I степени частота гетерозигот выше, чем в контрольной группе — соответственно 11,2 % по сравнению с 7,5 % (OR = 1,46;  $\chi^2 = 0,011$ ), а при тяжелом гестозе (нефропатии II и выше) гетерозиготы (-238)A/G полностью отсутствуют. При сочетанном гестозе на фоне артериальной гипертензии отмечено значительное возрастание частоты гетерозигот на фоне ВСД по гипертоническому типу, при этом для легкого гестоза (нефропатия I степени) было характерно более значимое, достоверное увеличение частоты генотипа (-238)A/G до 36,3 % ( $\chi^2 =$

= 8,53; OR = 6,38;  $p < 0,05$ ) по сравнению с более тяжелыми формами гестоза. У беременных с сочетанным гестозом на фоне заболевания почек отмечено значительное увеличение частоты генотипа (-238)A/G, причем достоверное, до 50 %, — в случаях легкого гестоза ( $\chi^2 = 9,97$ ; OR = 11,2  $p < 0,05$ ), тогда как все 4 беременные с тяжелым гестозом (более нефропатии II степени) на фоне почечной патологии имели генотип (-238)G/G. Наиболее значимые из полученных результатов представлены в рис. 4.

### Обсуждение результатов

Изучение полиморфизма генов — кандидатов, предрасполагающих к развитию эндотелиальной

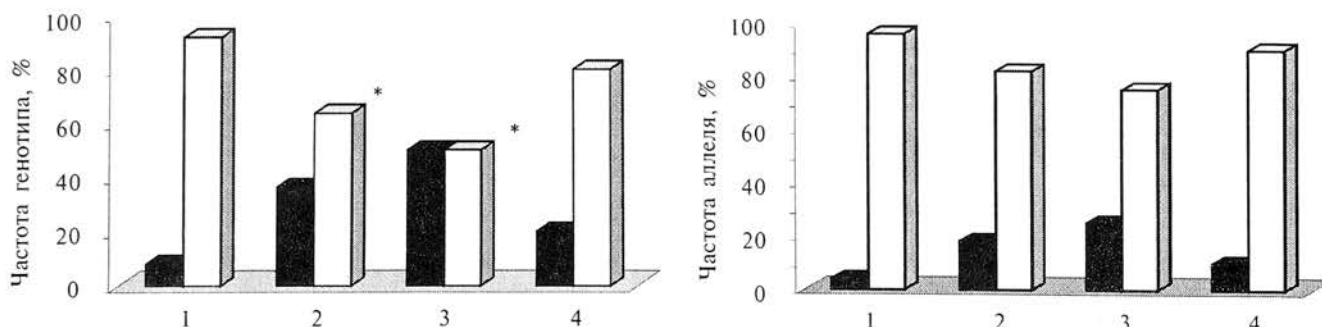


Рис. 4. Достоверное перераспределение полиморфизма (-238) A/G гена TNF- $\alpha$  у беременных с гестозом

■ Генотип (-238)A/G □ Генотип (-238)G/G

■ Аллель (-238)A □ Аллель (-238)G

1 — контроль; 2 — Н I и ВСД по гипертоническому типу; 3 — гестоз и болезни почек; 4 — гестоз и СД беременных; \* —  $p < 0,05$



дисфункции и в частности к развитию гестоза, выявило взаимосвязь клинико-лабораторных показателей, характеризующих тяжесть гестоза, с увеличением уровня маркеров эндотелиальной дисфункции и наличием мутантных генотипов. При этом нами отмечено перераспределение частоты мутантных аллелей и генотипов у беременных с гестозом в зависимости от тяжести самого гестоза, а также от наличия и выраженности сочетанной патологии.

В целом при гестозе имеется незначительное увеличение мутантных генотипов I/I гена PLAT, (-238)A/G гена TNF- $\alpha$ , 4a/4b гена eNOS. Более выраженное перераспределение в сторону увеличения частоты мутантных генов отмечено для генотипа 4G/4G гена PAI-1.

При сочетанном гестозе отмечена гораздо большая частота мутантных генотипов — I/I гена PLAT, (-238)A/G гена TNF- $\alpha$  и 4a/4b гена eNOS. Отмечено также повышение частоты генотипа 4a/4a гена eNOS.

Частота мутантных генотипов PLAT, PAI-1, eNOS и TNF- $\alpha$  еще более высока у беременных с тяжелым гестозом на фоне ВСД по гипертоническому типу. Однако максимальная частота этих генотипов наблюдается у беременных с легким гестозом на фоне ВСД по гипертоническому типу. Таким образом, можно заключить, что у беременных с сочетанным нетяжелым гестозом на фоне функциональных фоновых нарушений гемодинамики полиморфизм генов, принимающих участие в регуляции функции эндотелия, играет значительную роль.

Аналогичная картина наблюдается и у беременных с гестозом на фоне почечной патологии, однако для сочетанного гестоза на фоне заболеваний почек характерно в первую очередь достоверное увеличение мутантного генотипа гена TNF- $\alpha$ . Наличие такого генотипа очевидно указывает на выраженную предрасположенность к развитию воспалительных нарушений в мочеполовой системе и, как следствие, — увеличенный риск развития сочетанного гестоза.

При гестозе на фоне гипертонической болезни отмечена возрастающая частота мутантного генотипа D/D гена ACE. При этом для легкого гестоза характерна также значительная частота генотипа 4a/4a гена eNOS. Очевидно, для сочетанного легкого гестоза на фоне ранее имевшихся выраженных нарушений микроциркуляции характерны как патогенетические черты, общие с предыдущими подгруппами, так и дополнительные факторы, в частности, более значимые изменения в ренин-ангиотензиновой системе и дисбалансе оксида азота, обусловленные полиморфизмом генов ACE и eNOS. При тяжелом гестозе на фоне ГБ достаточно высокая частота мутантных генотипов генов PAI-1 и ACE

позволяет их считать серьезными кандидатами в гены предрасположенности к тяжелому гестозу.

При чистом гестозе, без выявленных фоновых заболеваний, картина распределения мутантных генотипов выглядит иначе. При легком гестозе (нефропатия I степени) наблюдается увеличение частоты полиморфизмов всех исследованных генов, участвующих в регуляции функции эндотелия, в том числе увеличенная частота D/D генотипа гена АПФ, не проявляющаяся при легком сочетанном гестозе. Для чистого тяжелого гестоза характерно достаточно значимое увеличение частоты генотипов 4G/4G гена PAI-1 и D/I гена ACE.

Наши данные о распределении частоты мутантных генотипов при гестозе убедительно показывают, что гестоз представляет собой синдром, в состав которого входят различные патологические состояния, объединенные сходными клиническими проявлениями, но имеющими различные пути развития. Очевидно, что имеется отчетливая взаимосвязь полиморфизма генов PLAT, PAI и особенно TNF- $\alpha$  с предшествующей беременностью эндотелиальной дисфункцией фоновых заболеваний, а также с нарушением функции эндотелия при «чистой» нефропатии I степени. Возможно, нефропатия I служит первым клиническим проявлением той хронической эндотелиальной дисфункции, которая возникает у большей части пациенток впоследствии, и которая сохраняется даже через несколько лет после родоразрешения [18].

При чистом тяжелом гестозе количество и частота мутантных генотипов генов, регулирующих функцию эндотелия, значительно меньше, чем при гестозе в целом. По-видимому, генетическая предрасположенность к чистым тяжелым гестозам в первую очередь связана (помимо предрасположенности к эндотелиальной дисфункции) с особенностями материнско-эмбриональных взаимодействий генов, что требует дальнейшего изучения.

Тем не менее очевидно, что генетическое тестирование пациенток для определения совокупности полиморфизмов генов, участвующих в регуляции функции эндотелия, уже сейчас позволяет выявить повышенную степень риска развития гестоза у будущей матери.

## Литература

1. Айламазян Э. К. Неотложная помощь при экстремальных состояниях в акушерской практике. — 3-е изд. — СПб., «Издательство Н-Л» 2002. — 281 с. с ил.
2. Баранов В. С., Баранова Е. В., Иващенко Т. Э. и др. Генотип человека и гены «предрасположенности». (Введение в предиктивную медицину). — СПб., «Интермедика», 2000 — 272 с.

3. *Елисева Ю. Е.* Ангиотензин-превращающий фермент, его физиологическая роль//В-сы мед. химии. — 2001. — № 1. — С. 43–54.
4. *Супряга О. М.* Роль эндотелиальной дисфункции в генезе гипертензивных состояний у беременных//Акуш. Гин. — 1995. — № 6. — С. 5–9.
5. *Bashford M. T., Michael T., Hefler L. et al.* Angiotensinogen and endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms among Hispanic patients with preeclampsia//Am J. Obstet Gynecol. — 2001;184. — P. 1345–51.
6. *Buttke T. M., Sandstrom P. A.* Oxidative stress as a mediator of apoptosis//Immunol. Today. — 15 (1994). — P. 7–10.
7. *Cooper D. W., Brennecke S. P., Wilton A. N.* Genetics of preeclampsia//Hypertens. Preg. — 1993;12. — P. 1–23.
8. *Dekker G. A., Sibai B. M.* Etiology and pathogenesis of preeclampsia: Current concepts//Am J Obstet Gynecol. — 1998;179. — P. 1359–75.
9. *Eriksson P., Kallin B., van't Hooft F. M. et al.* Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction//Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1995.— Vol. 92. — P. 1851–1855.
10. *Folio M., Ginsburg D.* Structure and expression of the human gene encoding plasminogen activator inhibitor, PAI-1//Gene. — 1989; 84. — P. 447–453.
11. *Glueck C. J., Phillips H., Cameron D. et al.* The 4G/4G polymorphism of the hypofibrinolytic PAI-1 gene: An independent risk factor for serious pregnancy complications//Metabolism. — 49 (2000). — P. 845–852.
12. *Jaana T. M., Heiskanen M. M., Pirskanen M. J. et al.* Insertion-deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is associated with obstetric cholestasis but not with preeclampsia//Am J Obstet Gynecol. — 2001;185. — P. 600–3.
13. *Katz S. D., Rao R., Berman J. et al.* Pathophysiological correlates of increased serum tumor necrosis factor in patients with congestive heart failure. Relation to nitric oxide-dependent vasodilation in the forearm circulation//Circulation. — 90 (1994). — P. 12–16.
14. *Knowles R. G., Moncada S.* Nitric oxide synthases in mammals// Biochem J. — 1994; 298. — P. 249–58.
15. *Lachmeijer A. M., Crusius J. B., Pals G, Dekker G. A., Arngfrimsson R, ten Kate L. P.* Polymorphisms in the tumor necrosis factor and lymphotoxin-alpha gene region and preeclampsia//Obstet Gynecol. — 2001; 98. — P. 612–9.
16. *Livingston J. C., Park V., Barton J. R., Elfering S., Haddad B., Mabie W. C., et al.* Lack of association of severe preeclampsia with maternal and fetal mutant alleles for tumor necrosis factor alpha and lymphotoxin alpha genes and plasma tumor necrosis factor alpha levels//Am J. Obstet Gynecol. — 2001;184. — P. 1273–7.
17. *Matsumori A., Yamada T., Suzuki H. et al.* Increased circulating cytokines in patients with myocarditis and cardiomyopathy//Brit. Heart J. — 72 (1994). — P. 561–566.
18. *Ness R. B., Roberts J. M.* Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: A hypothesis and its implications//Am J. Obstet Gynecol. — 1996;175. — P. 1365–70.
19. *Nishikawa S, Miyamoto A, Yamamoto H, Ohshika H, Kudo R* The relationship between serum nitrate and endothelin-1 concentrations in preeclampsia//Life Sci. — 2000, Aug 11; 67( 12). — P. 1447–54.
20. *Soebbing D, Dorman K, Gregg A. R.* A NOS3 polymorphism is associated with preeclampsia//Am J. Obstet Gynecol. — 1999;180 (1 Pt 2): S18.
21. *Tempfer C., Soebbing D., Dorman K., Gregg A. R.* A NOS3 polymorphism is associated with preeclampsia//Am J. Obstet Gynecol. — 1999;180 (1 Pt 2): S18.
22. *Tuddenham E. G. D., Cooper D.N.* The Molecular Genetics of Haemostasis and its Inherited Disorders. — Oxford Monographs on Medical Genetics N 25. «Oxford University Press». 1994. — 585 p.
23. *Wilson A. G., Symons J. A. et al.* Effects of a polymorphism in the human TNF- $\alpha$  promoter on transcriptional activation//PNAS. — 1997. — Vol. 94. — P. 3195–3199.
24. *Yamada N., Arinami T., Yamakawa-Kobayashi K. et al.* The 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene is associated with severe preeclampsia// J. Hum. Genet. — 45 (3), 2000. — P. 138–41.
25. *Zhao Y., Zhang W., Wang L.* [Changes of plasma nitric oxide and endothelin levels in normal pregnant women and pregnancy induced hypertension]// Zhonghua Yi Xue Za Zhi. — 1998 Jun; 78 (6). — P. 457–9.
26. *Zhou N., Yu P., Chen J. et al.* [Detection of insertion/deletion polymorphism of angiotensin converting enzyme gene in preeclampsia]//Chinese. — Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi. — 1999, Feb 10;16 (1). — P. 29–31.

RESEARCH OF GENETIC PREDISPOSITION TO GESTOSIS: POLYMORPHISM OF GENES, PARTICIPATING IN VASOREGULATION OF FUNCTIONS ENDOTHELIUM

Mozgovaja E. V.

■ **Key words:** pregnancy, polymorphism of genes, endothelium dysfunction, gestosis