



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 618.3-008.6-036.1

Л.М. ШАРАФЕТДИНОВА¹, А.М. МАЗИТОВА¹, О.А. КРАВЦОВА¹, Л.И. МАЛЬЦЕВА², Е.Ю. ЮПАТОВ²¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18²Казанская государственная медицинская академия, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 36

Ассоциация полиморфизма генов некоторых провоспалительных цитокинов с риском развития преэклампсии

Шарафетдинова Лилия Масхутовна — аспирант кафедры биохимии и биотехнологии, тел. (843) 233-78-31, e-mail: l_sungatullina@mail.ru**Мазитова Александра Маратовна** — студентка кафедры биохимии и биотехнологии, тел. (843) 233-78-31, e-mail: sashamazitova@mail.ru**Кравцова Ольга Александровна** — кандидат биологических наук, доцент, кафедры биохимии и биотехнологии, тел. (843) 233-78-31, e-mail: okravz@yandex.ru**Мальцева Лариса Ивановна** — доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии № 1, тел. +7-905-314-40-51, e-mail: laramalc@mail.ru**Юпатов Евгений Юрьевич** — кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии № 1, тел. +7-917-873-87-21, e-mail: evguenii@yahoo.com

В статье представлены результаты оценки влияния полиморфизма генов провоспалительных цитокинов — ИЛ1 β (rs1143634), ИЛ6 (rs1800795) и ФНО- α (rs1800629) на формирование наследственной предрасположенности к развитию преэклампсии у женщин Республики Татарстан. Исследование проведено у 210 пациенток, 140 из которых имели физиологически протекающую беременность, а 70 — признаки преэклампсии. При оценке уровня провоспалительных цитокинов ИЛ1 β , ИЛ6 и ФНО- α в исследуемых группах статистически значимых различий не обнаружено, кроме того, данные показатели находились в пределах нормальных значений. При анализе вклада в генетическую предрасположенность к преэклампсии полиморфизма генов, кодирующих исследованные цитокины, установлено, что носительницы гетерозиготного генотипа по полиморфному локусу гена ФНО- α имеют повышенный риск развития осложнения беременности (ОШ=1,9118; 95%ДИ 1,2446-2,9366), тогда как по остальным исследованным локусам статистически значимых различий также не обнаружено.

Ключевые слова: преэклампсия, провоспалительные цитокины, полиморфизм генов.

L.M. SHARAPHETDINOVA¹, A.M. MAZITOVA¹, O.A. KRAVTSOVA¹, L.I. MALTSEVA², E.Yu. YUPATOV²¹Kazan (Volga region) Federal University, 18 Kremlevskaya St., Kazan, Russian Federation, 420008²Kazan State Medical Academy, 36 Butlerov St., Kazan, Russian Federation, 420012

Association of polymorphism of genes of several proinflammatory cytokines and the risk of pre-eclampsia

Sharaphetdinova L.M. — postgraduate student of the Department of Biochemistry and Biotechnology, tel. (843) 233-78-31, e-mail: l_sungatullina@mail.ru**Mazitova A.M.** — student of the Department of Biochemistry and Biotechnology, tel. (843) 233-78-31, e-mail: sashamazitova@mail.ru**Kravtsova O.A.** — Cand. Biol. Sc., Associate Professor of the Department of Biochemistry and Biotechnology, tel. (843) 233-78-31, e-mail: okravz@yandex.ru**Maltseva L.I.** — D. Med. Sc., Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology № 1, tel. +7-905-314-40-51, e-mail: laramalc@mail.ru**Yupatov E.Yu.** — Cand. Med. Sc., Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology № 1, tel. +7-917-873-87-21, e-mail: evguenii@yahoo.com

The article presents the results of the assessment of the impact of inflammatory cytokine gene polymorphisms *IL1 β* (*rs1143634*), *IL6* (*rs1800795*) and *TNF- α* (*rs1800629*) on the formation of hereditary predisposition to the development of pre-eclampsia in women of the Republic of Tatarstan. There were studied 210 patients, of which 140 were with uncomplicated pregnancy, and 70 had signs of pre-eclampsia. When assessing the level of proinflammatory cytokines *IL1 β* , *IL* and *TNF- α* the groups studied had no statistically significant differences, in addition, these indicators had normal values. When analyzing the contribution of polymorphism of genes, encoding investigated cytokines, to genetic predisposition to preeclampsia, it was found that women with heterozygous genotype at a polymorphic locus of the gene *TNF- α* have an increased risk of pregnancy complications ($OR=1,9118$; $95\%CI$ at $1.2446-2,9366$), while the rest of the investigated loci had no statistically significant differences.

Key words: preeclampsia, proinflammatory cytokines, polymorphism of genes.

В ряде случаев течение беременности может осложняться различными патологическими состояниями. В настоящее время одним из распространенных осложнений беременности является преэклампсия (5-7% всех беременностей), которая занимает одну из лидирующих позиций в структуре перинатальной заболеваемости и смертности [1]. Эпидемиологические и семейные исследования показывают, что преэклампсия является мультифакторным заболеванием, на развитие которого оказывают влияние такие параметры, как этническая принадлежность, статус плаценты, особенности питания и другие факторы. Предложено несколько механизмов развития преэклампсии, описывающих сложный характер влияния факторов окружающей среды на фоне наследственной предрасположенности, однако до сих пор не выявлены первичные причины ее развития [2]. Известно, по крайней мере, около 100 генов-кандидатов, формирующих генетический риск возникновения преэклампсии, одними из которых являются и гены про- и противовоспалительных цитокинов [3].

В связи с этим целью исследования явился анализ ассоциации полиморфизма генов провоспалительных интерлейкинов — *IL1 β* (+3953 C/T, *rs1143634*), *IL6* (-174C/G, *rs1800795*) и *ФНО- α* (-308 G/A, *rs1800629*) с риском развития преэклампсии в группе женщин, представляющих население Республики Татарстан.

Материалы и методы

Выборка беременных составила 210 женщин г. Казани, средний возраст исследуемых составил 27 ± 5 лет. Контрольную группу составили 140 женщин с физиологическим течением беременности, 70 женщин — с установленной преэклампсией на основании «триады» признаков: повышение артериального давления (АД), протеинурии и наличие отеков. Дополнительными параметрами служило выявление нарушений кровотока при доплерометрии, синдрома задержки развития плода (СЗРП), признаков гипоксии плода по данным КТГ.

В исследуемых группах первая беременность наблюдалась у 47,62%, повторная — у 52,38%, при этом группу первородящих составили 72% женщин, повторнородящих — 28%. Несмотря на нормально протекающую беременность и роды, 5% женщин контрольной группы страдали заболеваниями почек, но показатели АД находились в пределах нормы и составили в среднем 110/68 мм рт.ст. В группе исследуемых с преэклампсией частота заболеваний почек составила 25,7%, ожирением страдали 21,43% женщин. Уровень АД был повышен и составил в среднем 131/88 мм рт.ст.

У всех включенных в исследование женщин проводили определение уровня *IL1 β* , *IL6* и *ФНО- α*

в плазме крови методом ИФА согласно инструкции фирмы-производителя (НПО «ВекторБест», г. Новосибирск). Материалом для генотипирования послужили образцы ДНК, полученные из лейкоцитов венозной крови, выделение которых проводилось с использованием коммерческого набора реактивов «ДНК-экспресс» фирмы «НПФ Литех» (г. Москва).

Анализ полиморфизмов генов осуществляли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием праймеров и зондов производства ООО «СибДНК» (г. Новосибирск) на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad, США). Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программы UNPHASED версии 3.1.5 (программа находится в режиме свободного доступа (<http://homepages.lshtm.ac.uk/frankdudbridge/software/unphased/>)).

Различия между группами по частотам встречаемости аллелей и генотипов исследованных полиморфных локусов оценивали по критерию χ^2 при уровне значимости $p < 0,05$, оценку ассоциаций полиморфизмов генов — на основе расчета отношения шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала (ДИ).

Результаты исследования

Средний уровень провоспалительных цитокинов значимо не отличался между исследованными группами женщин с нормально протекающей беременностью и беременностью, отягощенной преэклампсией, и находился в пределах нормальных значений (табл. 1).

Таблица 1.
Средний уровень провоспалительных цитокинов в исследуемых группах

Уровень цитокина, пг/мл	Неосложненная беременность (n=140)	Беременность, отягощенная преэклампсией (n=70)
<i>IL1β</i>	$3,62\pm 1,74$	$4,42\pm 2,33$
<i>IL6</i>	$5,88\pm 3,11$	$7,78\pm 3,46$
<i>ФНО-α</i>	$6,2\pm 2,25$	$6,5\pm 1,36$

При анализе распределения частот аллелей и генотипов исследованных локусов показано статистически значимое увеличение доли гетерозиготных генотипов полиморфных локусов генов *IL6* и *ФНО- α* в группе женщин, отягощенных преэклампсией ($p < 0,05$), тогда как по полиморфизму гена *IL1 β* статистически значимых различий не обнаружено (табл. 2).

Таблица 2.
Распределение частот генотипов исследуемых маркеров

Генотип	Неосложненная беременность (n=140)	Беременность, осложненная преэклампсией (n=70)	Значение p*
Полиморфизм +3953 С/Т гена ИЛ1β			
СС	0,3786	0,2429	0,1446
СТ	0,5857	0,7142	
ТТ	0,0357	0,0429	
Полиморфизм -174 С/Г гена ИЛ6			
СС	0,35	0,3	0,0284
СГ	0,3786	0,5571	
ГГ	0,2714	0,1429	
Полиморфизм -308 G/A гена ФНО-α			
GG	0,5786	0,3286	0,0025
GA	0,3143	0,5286	
AA	0,1071	0,1428	

*Примечание: * — различия между группами с физиологически нормально протекающей беременностью и осложненной преэклампсией*

Расчеты показателей отношения шансов выявили достоверную ассоциацию с риском развития преэклампсии только для полиморфизма гена ФНО-α (ОШ=1,9118; 95%ДИ 1,2446-2,9366), тогда как для полиморфизма гена ИЛ6, несмотря на показатель ОШ>1, достоверных значений не получено (ОШ=1,1729; 95% ДИ 0,7787-1,7666).

Обсуждение результатов

Преэклампсия является грозным осложнением физиологически протекающей беременности, характеризуется гипертензией и протеинурией после 20-й недели гестации. Показано, что основная роль в развитии преэклампсии принадлежит ишемии плаценты, которая возникает в результате дисбаланса анти- и ангиогенных факторов и эндотелиальной дисфункции [3]. Ведущую роль в реализации механизмов ишемии принадлежит, по результатам исследования Маттера с коллегами, циркулирующей растворимой форме fms-подобной форме тирозинкиназы-1 (sFlt-1, известной так же, как VEGFR1), которая связывает не только эндотелиальный (VEGF), но и плацентарный фактор роста (PlGF). Кроме того, показано, что существует и другой анти-ангиогенный протеин, так называемый эндоглин, который действует в синергизме с sFlt-1 и также может являться одним из потенциальных белков, участвующих в патогенезе преэклампсии [1, 2, 4].

Однако в исследовании, проведенном в 2009 г. было показано, что предпосылки к развитию преэклампсии могут быть выявлены еще в первом триместре на основании дифференциальной экспрессии генов, основную часть из которых составляют гены, белковые продукты которых участвуют в регуляции функций иммунной системы. Авторами сделано предположение, что преэклампсия обусловлена дисрегуляцией иммунной системы «мать-плод», аномальной децидуализацией и, как следствие, нарушением инвазии трофобласта [5]. В ряде исследований у пациенток с преэклампсией обнару-

жена иммунодисрегуляция, которая обусловлена выраженным сдвигом иммунной реакции с Th1-ответа в сторону Th2-пути. В то же время выявлено, что не только Т-хелперы и Т-супрессоры являются основными звеньями регуляции процессов эмбриогенеза, но существует и дополнительный путь регуляции, т.н. Th17, который координируется регуляторными Т-клетками. При этом уровень выработки провоспалительных цитокинов напрямую зависит от уровня трансформирующего фактора роста и ИЛ10 или же регулируется прямым межклеточным взаимодействием [6].

Исследованиями многих авторов установлено, что физиологически протекающая беременность всегда сопровождается воспалительными процессами, при усилении которых возникают предпосылки для развития преэклампсии. При этом основными медиаторами взаимодействия клеток иммунной системы организма матери и плода являются интерлейкины, играющие важную роль в имплантации, росте и развитии эмбриона.

Рядом авторов показано, что цитокины, такие как ФНО-α, интерферон-гамма и некоторые другие, индуцируют апоптоз трофобласта, ограничивают дифференциацию и вторжение трофобласта в спиральные артерии, при этом преобладание провоспалительных цитокинов (TNFα и IL-17α) на фоне высокого уровня противовоспалительных (IL-10 и IL-4) свидетельствует о нарушении процесса физиологической перестройки иммунной системы в иммуносупрессорном направлении ко второму триместру беременности у беременных с синдромом потери плода в анамнезе [7]. При этом в плаценте у женщин с преэклампсией выявлено достоверное увеличение уровня экспрессии генов IL1β, IL10 TNF-α, что может быть ассоциировано с плацентарной недостаточностью и эндотелиальной дисфункцией, хотя прямой корреляции между этими параметрами в данном исследовании обнаружено не было [8].

Однако в данном исследовании увеличения уровня провоспалительных цитокинов не выявлено как в контрольной группе, так и у женщин с диагнозом «преэклампсия» (табл. 1). Возможно, это связано либо с малочисленностью исследованных групп, либо с «недоразвитием» клинических симптомов данной патологии.

В то же время исследования семейных случаев показывают, что предрасположенность к преэклампсии имеет определенную наследственную компоненту. В настоящее время известно, что преэклампсия имеет мультифакторную природу, причем риск развития данного осложнения в 5 и более раз выше при наличии положительного семейного анамнеза. Генетическая природа развития преэклампсии обусловлена взаимодействием более чем сотни генов, полиморфизм каждого из которых может оказывать существенный вклад в наследственную компоненту данного осложнения беременности. Так, при анализе генетического вклада более 700 однонуклеотидных полиморфных локусов в 190 генах в развитие преэклампсии установлена ассоциация с генами COL1A, IL1A, PLAUR, MTHFR, IGF1 IL4R и NOS3 [9].

В то же время, учитывая влияние дисбаланса цитокинов на регуляцию имплантации, роста и развития эмбриона, участие генов, кодирующих выработку определенных цитокинов, могут рассматриваться в качестве генов-кандидатов в формировании предрасположенности к преэклампсии. В данной работе исследована ассоциация полиморфизма генов трех основных провоспалительных цитокинов

— ИЛ1 β , ИЛ6 и ФНО- α , причем полиморфизм ИЛ1 β обусловлен структурной перестройкой (миссенс-мутация для гена ИЛ1 β), тогда как полиморфизм генов ИЛ6 и ФНО- α локализован в промоторной области, что напрямую может быть связано с уровнем экспрессии гена и, следовательно, с уровнем выработки соответствующего цитокина.

Согласно данным, полученным de Lima с соавт., полиморфизм генов ФНО- α и ИЛ6 наряду с генами IFN- γ , IL10, TGF- β 1 ассоциирован с риском развития преэклампсии у женщин из Бразилии [10]. В нашем исследовании установлено, что гетерозиготные носительницы по полиморфизму гена ФНО- α имеют почти в 2 раза повышенный риск развития преэклампсии, та же тенденция наблюдается и для гетерозигот по полиморфизму гена ИЛ6, хотя достоверных отличий обна-

ружено не было. Аналогичные данные получены и для женщин из РФ: у беременных женщин с синдромом потери плода наблюдаются нарушения баланса про-и противовоспалительных цитокинов за счет повышения уровня ИЛ-10, ИЛ-6, ИЛ-17а, TNF α . При этом чаще встречаются гетерозиготы по полиморфным маркерам генов IL-10 (мутация 1, G-1082A), IL-4 (C-589-T), TNF α (G-308A), IL-17f His 161Arg (7488A/G) [7].

Таким образом, проведенные исследования достоверно указывают на роль гетерозиготного носительства по полиморфизму -308GA гена ФНО- α как маркера генетической предрасположенности к преэклампсии, однако данные исследования носят предварительный характер и должны быть продолжены с включением большего числа обследованных и расширением числа генетических маркеров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mutter W.P., Karumanchi S.A. Molecular mechanisms of pre-eclampsia // *Microvascular Research*. — 2008. — Vol. 75. — P. 1-8.
2. Sibai B., Dekker G., Kupferminc M. Pre-eclampsia // *The Lancet*. — 2005. — 365, № 9461. — P. 785-799.
3. Lyle G. Best, Melanie Nadeau, Kylie Davis, Felicia Lamb, Shellee Bercier, Cindy M. Anderson. Genetic variants, immune function and risk of preeclampsia among American Indians // *Am J Reprod Immunol*. — 2012 February. — Vol. 67 (2). — P. 152-159. doi:10.1111/j.1600-0897.2011.01076.x.
4. Young B.C., Levine R.J., Karumanchi S.A. Pathogenesis of pre-eclampsia // *Annu Rev Pathol*. — 2010. — Vol. 5. — P. 173-192.
5. Founds S.A., Conley Y.P., Lyons-Weiler J.F., Jeyabalan A., Hogge W.A., Conrad K.P. Altered global gene expression in first trimester placentas of women destined to develop preeclampsia // *Placenta*. 2009 Jan. — Vol. 30 (1). — P. 15-24.
6. Saito S., Nakashima A., Shima T., Ito M. Th1/Th2/Th17 and Regulatory T-cell Paradigm in Pregnancy // *Am J Reprod Immunol*. — 2010. —

Vol. 63. — P. 601-610. doi: 10.1111/j.1600-0897.2010.00852.x. Epub 2010 Apr 23.

7. Пителимова Л.Н. Особенности аллельного полиморфизма генов интерлейкинов и цитокиновый баланс женщин с невынашиванием беременности // *Акушерство и гинекология*. — 2014. — № 3. — С. 33-38.
8. Rinehart B.K., Terrone D.A., Lagoo-Deenadayalan S., Barber W.H., Hale E.A., Martin J.N.Jr., Bennett W.A. Expression of the placental cytokines tumor necrosis factor alpha, interleukin 1 beta, and interleukin 10 is increased in preeclampsia // *Am J Obstet Gynecol*. — 1999. — Vol. 181. — P. 915-920.
9. Goddard K.A., Tromp G., Romero R. et al. Candidate-gene association study of mothers with pre-eclampsia, and their infants, analyzing 775 SNPs in 190 genes // *Hum Hered*. — 2007. — Vol. 63 (1). — P. 1-16.
10. Pendelowski K.P., Sass N., Torloni M.R., Mattar R., Moron A.F., Franchim C.S. et al. Immunoregulatory gene polymorphisms in women with preeclampsia // *Hypertens Res*. — 2010 Dec 16.

НОВОЕ В МЕДИЦИНЕ. ИНТЕРЕСНЫЕ ФАКТЫ

МЕЛАТОНИН — КЛЮЧ К НОРМАЛЬНОМУ ЗАЧАТИЮ И БЕРЕМЕННОСТИ

Женщины, пытающиеся забеременеть, должны избегать света в ночное время суток. Исследователи из Техасского Университета в Сан-Антонио опубликовали статью о роли уровня мелатонина и циркадных ритмов в репродуктивном здоровье женщины.

Исследователь Рассел Джей Райтер рассказывает: «Мелатонин — это гормон, который вырабатывается шишковидной железой мозга в ответ на темноту. Он крайне важен для зачатия, поскольку защищает яичники от окислительного стресса. Значимость мелатонина повышается в период овуляции. Каждый раз, когда ночью включается свет, уровень мелатонина падает».

Если женщина пытается зачать ребенка, ей необходимо, по крайней мере, восемь часов в день проводить в темноте, передает Live Science. Смена циклов света и темноты должна быть регулярной, чтобы не нарушались биологические часы. Такие условия нужно соблюдать и во время беременности, особенно в последнем ее триместре. Мозг плода также должен получать необходимое количество мелатонина для регуляции своих биологических часов. Исследования, проведенные на животных, показали: нарушения цикла «свет-темнота» повышают риск возникновения синдрома дефицита внимания и гиперактивности или расстройств аутистического спектра.

Для выработки мелатонина важен не сон, а именно темнота. Исследователи рекомендуют женщинам, которые уже беременны, и тем, кто пытается зачать ребенка, убедиться, что в спальне достаточно темно и туда не попадает освещение с улицы. Также следует избегать света, исходящего от экрана телевизора и подсветки различных гаджетов. В крайнем случае, ночное освещение должно быть красным или желтым, но никак не белым или голубым. Тем, кто не может заснуть, важно не включать свет в ночное время суток.

Источник: meddaily.ru