

Потапов Н.Н., Ковалев В.В., Ворошилина Е.С.

## Оценка роли полиморфизмов генов-регуляторов сосудистого тонуса в генезе неразвивающейся беременности

ГБОУ ВПО УГМА, МФЦ «Гармония», г. Екатеринбург

*Potapov N.N., Kovalev V.V., Voroshilina E.S.*

### Evaluation of the role polymorphisms of genes regulators of vascular tone in the genesis of missed abortion

#### Резюме

В исследование вошли 246 женщин с уточненной регрессирующей беременностью, из них выделено 59 женщин с неясным генезом неразвивающейся беременности, которые составили основную группу исследования. Контрольную группу составили 73 женщины с физиологически протекающей беременностью и благополучными перинатальными исходами. Всем женщинам первой и второй группы проводилось молекулярно-генетическое исследование полиморфизмов генов: NOS3: T-786C и NOS3: G894T. Анализ полученных данных показал, что патологические полиморфизмы генов NOS3: T-786C и NOS3: G894T встречаются чаще у женщин с неразвивающейся беременностью неясного генеза.

**Ключевые слова:** неразвивающаяся беременность, генные полиморфизмы, эндотелиальный оксид азота

#### Summary

The study included 246 women with missed abortion, including 59 women with unexplained missed abortion, which constitute the study group. The control group - a 73 women with physiological pregnancy and prosperous perinatal outcomes. All women of the first and second group performed the molecular genetic study of gene polymorphisms: NOS3: T-786C and NOS3: G894T. Analysis of the data showed that pathological polymorphisms NOS3: T-786C and NOS3: G894T are more common in women with missed abortion of unknown origin.

**Keywords:** missed abortion, genetic polymorphisms, endothelial nitric oxide

#### Введение

Одним из приоритетных направлений современного здравоохранения является охрана репродуктивного потенциала женщины. Проблема невынашивания беременности посвящены широкомасштабные научные исследования как в отечественном, так и зарубежном здравоохранении. Это связано с тем, что в структуре репродуктивных потерь неразвивающаяся беременность составляет 10-15% от всех желанных беременностей [1].

Причины неразвивающейся беременности многочисленны и, как правило, комплексны, полиэтиологичны. Наибольшее значение имеют следующие факторы: хромосомные аномалии, иммунологические факторы, эндокринные заболевания, аномалии и опухоли матки, тромбофилия, инфекционный фактор, а также экзогенные воздействия на организм женщины и плода [2]. В клинической практике часто бывает трудно и даже порой невозможно установить конкретный фактор, приведший к данной патологии, так как этому мешают организационная невозможность проведения соответствующих

исследований хориона и статуса здоровья женщины в целом. Кроме того, даже проведенное глубокое комплексное обследование не всегда проясняет причину неразвивающейся беременности у данной женщины.

Поэтому особенно важным является поиск маркеров, которые позволят выделить группу риска особо подверженных неблагоприятному исходу беременности и, соответственно, своевременно предпринять профилактические меры.

На сегодняшний день достаточно много данных о важной роли микроциркуляторных и тромботических осложнений в патогенезе осложненного течения беременности. Эндотелиальная выстилка сосудов регулирует местные процессы гемостаза, пролиферации, миграции клеток крови в сосудистую стенку и, наконец, сосудистый тонус. [3]

При этом слабо изучен вклад полиморфизмов генов, оказывающих влияние на дисфункцию эндотелия сосудов.

Эндотелиальная NO-синтаза (eNOS) участвует в синтезе оксида азота (NO) эндотелием и, следовательно, в регуляции сосудистого тонуса, кровотока и артериаль-

ного давления, поскольку оксид азота является мощным сосудорасширяющим агентом. Снижение активности NOS3 может играть существенную роль в патогенезе регрессирующей беременности. NO угнетает пролиферацию гладкомышечных клеток, а также обладает протекторным эффектом в отношении агрегации тромбоцитов и ингибирует адгезию лейкоцитов к эндотелию.

Патологические аллели полиморфизмов генов NOS3: T-786C и NOS3: G894T приводят к снижению его активности NOS3, что является причиной снижения синтеза и высвобождения оксида азота и дисфункции эндотелия.

*Целью* настоящего исследования было изучение роли полиморфных аллелей генов NOS3: T-786C и NOS3: G894T в генезе неразвивающейся беременности с установленной этиологией.

## Материалы и методы

Исследование проведено на базе МФЦ Гармония г. Екатеринбург.

Набор материала проведен по принципу сравнительного когортного проспективного исследования. Проводилась ультразвуковая верификация неразвивающейся беременности трансвагинальным датчиком. В обследованной вошли 246 женщин с уточненной регрессирующей беременностью, данным пациентам после клинико-лабораторного обследования проведено прерывание беременности путем мануальной вакуум-аспирации содержимого полости матки под внутривенным наркозом. Ворсинки хориона подвергались цитогенетическому исследованию, элементы плодного яйца гистологическому исследованию. Из дальнейшего исследования были исключены пациенты с очевидной причиной неразвивающейся беременности: 125 женщин с выявленными хромосомными мутациями в ворсинах хориона, 28 женщин с экссудативными формами воспаления при гистологическом исследовании (предполагаемый инфекционный фактор), 6 женщин с проявлениями ОРВИ при беременности, 2 женщины с ВПР матки: двурогая матка, 11 женщин с опухолями матки и/или яичников, 4 женщины с эндокринопатией, влияющей на течение беременности, а также 11 женщин с неудавшимся карiotипированием ворсин хориона. Таким образом выделено 59 женщин с неясным генезом неразвивающейся беременности - они составили опытную группу для изучения влияния роли полиморфизмов. Вторую группу составили 73 женщины с физиологически протекающей беременностью и благополучными перинатальными исходами без привычного невынашивания в анамнезе. Всем женщинам первой и второй группы проводилось молекулярно-генетическое исследование следующих полиморфизмов генов: NOS3: T-786C и NOS3: G894T.

Материал для молекулярно-генетического исследования получали путем соскоба эпителия слизистой влагалища стерильным одноразовым зондом. Полученный материал подвергался ПЦР-амплификации в режиме реального времени с использованием реагентов и протоколов фирмы НПО «ДНК-Технология» (РФ) на приборе

ДТ-96 той же фирмы. Обработка результатов проводилась с учетом контроля взятия материала в полуавтоматическом режиме с помощью штатного программного обеспечения прибора ДТ-96.

Статистический анализ результатов проводили с использованием электронных таблиц статистической программы STATISTICA 7.0. Для оценки критерия значимости в двух независимых группах, представленных непараметрическими ранговыми величинами, использовали критерий Х2 (Хи - квадрат). Для групп, представленных параметрическими величинами, использовали t-тест Стьюдента. Значение  $P < 0,05$  считали достоверным.

## Результаты и обсуждение

При анализе клинико-анамнестических данных достоверных различий по числу беременностей и родов у женщин основной и контрольной групп не отмечено ( $P > 0,05$ ).

Средний возраст обследуемых женщин в основной и контрольной группах достоверно не различался. В основной группе он варьировал от 18 до 41 года и составил  $29,6 \pm 5,2$  года. В контрольной группе он был несколько выше  $31,2 \pm 6,8$  года и колебался от 19 до 42 лет, однако достоверной разницы выявлено не было  $t = -1,77$ ;  $p = 0,078$ .

Социальный статус, регион проживания, национальная принадлежность женщин в обеих группах были идентичными. По соматическому статусу группы также существенно не различались, поскольку женщины со значимыми экстрагенитальными заболеваниями исключены из исследования.

Наблюдаемое распределение частоты встречаемости генотипов промотора в группе обследованных больных и группе контроля соответствовало равновесию Харди-Вейнберга (табл. 1).

Математическая обработка полученных результатов показала, что встречаемость варианта СС промотора в положении 786 у женщин с регрессирующей беременностью неясного генеза была достоверно выше, чем у женщин с физиологически протекающей беременностью - 0,186 и 0,068 соответственно ( $P < 0,05$ ). При этом гетерозиготный вариант СТ выявлялся чаще, а гомозиготный «дикий» вариант ТТ реже в 1 группе, но различия были недостоверны (табл. 1). Распространенность патологического аллеля С у женщин 1 группы достоверно выше, чем у женщин 2 группы - 0,398 и 0,267 соответственно ( $P < 0,05$ ).

Встречаемость гомозиготных вариантов GG и TT гена NOS3: G894T у пациентов 1 и 2 группы достоверно не отличались, однако отмечена более высокая частота нормальной гомозиготы GG у женщин 2 группы и патологической гомозиготы TT у пациентов 1 группы.

Распространенность гетерозиготного генотипа GT достоверно выше у женщин 1 группы - 0,39 против 0,219 во 2 группе ( $P < 0,05$ ).

Аллели G и T представлены примерно одинаково в обеих группах.

Установленные нами закономерности позволяют предположить роль патологических полиморфизмов

Таблица 1. Распределение частоты аллелей и полиморфизмов изучаемых генов

Группа	NOS3: T-786C			NOS3: G894T		
	Генотип/аллель	Частота	Chi-square $\chi^2$	Генотип/аллель	Частота	Chi-square $\chi^2$
1 группа (неразвив. беременность) N=59	ТТ, n=23	0,39	0,098	GG, n=32	0,542	0,39
	СТ, n=25	0,424	0,76	GT, n=23	0,39	*0,033
	СС, n=11	0,186	*0,039	ТТ, n=4	0,068	0,091
	Аллель Т	0,602	*0,024	Аллель G	0,737	0,49
	Аллель С	0,398	*0,024	Аллель Т	0,263	0,49
2 группа (физиологическая беременность) N=73	ТТ, n=39	0,534	0,098	GG, n=45	0,616	0,39
	СТ, n=29	0,397	0,76	GT, n=16	0,219	*0,033
	СС, n=5	0,069	*0,039	ТТ, n=12	0,165	0,091
	Аллель Т	0,733	*0,024	Аллель G	0,726	0,49
	Аллель С	0,267	*0,024	Аллель Т	0,274	0,49

\* P, Chi-square  $\chi^2$  (df=1)

гена NOS3 в генезе неразвивающейся беременности, что объясняется подавлением и/или снижением активности эндотелиальной NO - синтазы. Это может вести к развитию каскада патологических процессов, нарушающих механизмы децидуальной трансформации эндометрия, а также препятствующих становлению нормальной микроциркуляции в ворсинах хориона, исходом чего является неразвивающаяся беременность.

Поскольку изучаемые полиморфизмы NOS3: T-786C и NOS3: G894T тесно связаны с тромбофилическими состояниями и хорионцитотоксическим эффектом гомоцистеина, представляется целесообразным дальнейший анализ роли изученных генетических полиморфизмов вкупе с генетическими маркерами тромбофилий и полиморфизмами генов, регулирующих фолатный цикл.

## Выводы

1. Патологические полиморфизмы генов NOS3:

T-786C и NOS3: G894T встречаются чаще у женщин с неразвивающейся беременностью неясного генеза.

2. Генотип CC NOS3: T-786C и GT NOS3: G894T является фактором риска неразвивающейся беременности

3. Носительницы сочетаний патологических полиморфизмов генов NOS3: T-786C и NOS3: G894T на этапе прегравидарной подготовки позволит целесообразно включать в группу высокого риска невынашивания по типу неразвивающейся беременности. ■

*Потапов Н.Н., акушер-гинеколог, Ковалев В.В., проф. д.м.н., Ворошилина Е.С., к.м.н., ГБОУ ВПО УГМА Екатеринбург, МФЦ «Гармония», г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку - Потапов Николай Николаевич, 620109, г. Екатеринбург, ул. Ретина, 1, e-mail: poniknik@gmail.com, тел. +7-905-807-5111*

## Литература:

1. Серова О.Ф., Милованов А.П. Основные патоморфологические причины неразвивающейся беременности и обоснование прегравидарной терапии женщин. Акушерство и гинекология 2001; 3: 19-23.
2. Глуховец В.И., Глуховец Н.Г. Патоморфологическая диагностика ранних самопроизвольных выкидышей. СПб., 1999:96.
3. Amoroso G., van-Veldhuisen D.J., Tio R., Mariani M. Pathophysiology of vascular endothelium and circulating platelets: implications for coronary revascularisation and treatment. Int.J.Cardiol. 2001. Vol. 79(2-3): 265-275
4. Кравченко Н.А., Ярмыш Н.В. Биохимические и молекулярно-генетические механизмы регуляции синтеза оксида азота эндотелиальной NO-синтазой в норме и при сердечно-сосудистой патологии. Укр. терапевт. журн. 2007. № 1: 82-89.
5. Rossi G.P., Taddei S., Virdis A. et al. The T-786C and Glu298Asp polymorphisms of the endothelial nitric oxide gene affect the forearm blood flow responses of Caucasian hypertensive patients. J. Amer. Coll. Cardiology. 2003. Vol. 41: 938-945.
6. Kalina A., Alwazir F., Volf P. [et al.]. Relationship between diastolic function by TDI and angiotensin convertin enzyme I/D, angiotensin II type 1 receptor A1166C and endothelial nitric oxide synthase G894T gene polymorphisms in hypertension / J. Hypertension. 2007. Vol. 25 (suppl 2): 17-77.