

Ковалев В.В., Третьякова Т.Б., Дерябина Е.Г., Путилова Т.А., Мазуров А.Д.

Гипертензивные осложнения беременности у пациенток с гестационным сахарным диабетом на основе анализа полиморфизмов генов-регуляторов артериального давления

ФГБУ НИИ ОММ «Минздравсоцразвития РФ» г. Екатеринбург

V.V. Kovalev, T. B. Tretyakova, E.G. Deryabina, T.A. Putilova, A.D. Mazurov

The hypertension disorders in women with diabetes mellitus association of genes polymorphisms

Резюме

Основной целью исследования было изучение ассоциации полиморфизмов генов-регуляторов артериального давления с гипертензивными осложнениями беременности у пациенток с гестационным сахарным диабетом. Обследовано 118 женщин репродуктивного возраста (21-41 год). Первую группу составили 68 женщины с гестационной гипертензией и гестационным сахарным диабетом. Вторую группу составили 50 женщин с гестационным сахарным диабетом, но без гестационной гипертензии. Проведено молекулярно-генетическое исследование полиморфизмов генов-регуляторов артериального давления методом ПЦР в «реальном времени». Проведенные исследования позволили выявить статистически значимое отличие в распределении генотипов аллеля 704C, 521C гена AGT, аллеля 1166C гена AGTR1, аллеля 786C гена NOS3 в основной группе.

Ключевые слова: генетический полиморфизм генов RAS, гестационный сахарный диабет, артериальная гипертензия

Summary

The purpose of research is to analyze association of genes polymorphisms that control blood pressure complicated in women with diabetes mellitus. Have been studied 118 women of reproductive age (23-41 years old). The 1 group is 68 hypertension genesis women with diabetes mellitus. The 2 group is 50 women with diabetes mellitus. The molecular – genetic studies of genes polymorphisms that control blood pressure have been analyzed by PCR "real time". It has been founded statistically significant heir frequency of the 704C, 521 C allele's genotypes of the AGT gene, of the 1166 C allele's genotypes of the AGTR1 gene, of the 786 C allele's genotypes of the NOS3 gene in the studied group.

Key words: gene's polymorphism of RAS, diabetes mellitus, hypertension

Введение

Одной из актуальных проблем современного акушерства является проблема артериальной гипертензии (АГ), ассоциированной с беременностью, особенно в рамках преэклампсии (ПЭ).

По данным литературы, ПЭ возникает у 11-16% беременных и занимает 3-е место в структуре материнской смертности [1,2].

Летальность от ПЭ и ее осложнений в 2001г. составила 17,7%, в 2002г.-15,6%, в 2003г.-13%, в 2004г.-15,1%, в 2005г.-12,7% [3].

По данным литературы, гестационная гипертензия (ГГ) или ПЭ при гестационном сахарном диабете (ГСД) развивается в 13,3% случаев, причем, у половины пациенток формируется ПЭ средней и тяжелой степени [4].

Существуют данные, свидетельствующие о наличии генетической предрасположенности к развитию ПЭ. По данным литературы ПЭ встречается чаще у кровных родственников женщин, перенесших это осложнение [5].

Однако до сих пор окончательно не решен вопрос, чьи гены – материнские или эмбриональные предрасполагают к этой патологии [6].

На сегодняшний день описаны несколько групп генов, ассоциированных с развитием ПЭ. К ним относятся следующие генные сети: [6].

1. Гены ренин-ангиотензиновой и брадикининовой систем (REN, AGT, ACE, AGTR1, AGTR2, BRR2);
2. Гены свертывания крови и фибринолиза (F2, F5, F7, FG, PAII, PLAT, ITGB3);
3. Гены эндотелия сосудов (NOS3; EDN1, EDNA,

EDRNB);

4. Гены метаболизма гомоцистена (MTHFR, MTRR, CBS) и т.д.

Значимую роль в развитии гестационной гипертензии (ГГ) и ПЭ играет состояние ренин-ангиотензиновой системы (РАС). Поэтому полиморфные варианты нескольких генов РАС и их определенная комбинация в генотипе в сочетании с воздействием факторов внешней среды могут рассматриваться в качестве возможных причин, определяющих степень выраженности гипертензивных расстройств на фоне ГСД [7,8].

Своевременное выявление неблагоприятных аллелей генов, патологический эффект которых реализуется при неблагоприятных факторах окружающей среды, позволит по новому взглянуть на патофизиологические механизмы возникновения гипертензии, ассоциированной беременностью, в т.ч. в рамках ПЭ.

Цель работы - изучение ассоциации полиморфизма генов-регуляторов артериального давления с гипертензивными осложнениями беременности у пациенток с ГСД.

Материал и методы

Проведено проспективное сравнительное когортное исследование. Обследовано 118 беременных с ГСД, наблюдавшихся в 2010-2011гг. в ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России (г.Екатеринбург). Из числа обследованных женщин были выделены две группы:

1 группа - 68 женщин с ГСД и ГГ. Критерии включения: ГГ, диагностированная после 20 недель беременности (изолированная или в рамках ПЭ) и ГСД.

2 группа - 50 женщин с ГСД без ГГ. Критерии включения: ГСД.

Критерии исключения из исследуемых групп: прегестационный сахарный диабет, хроническая артериальная гипертензия, тяжелая экстрагенитальная патология, многоплодная беременность.

Между сравниваемыми группами не было статистически значимой разницы по возрасту, социальному положению, характеру и степени тяжести экстрагенитальной патологии. Все пациентки были консультированы эндокринологом и терапевтом. Диагноз ГСД был верифицирован в соответствии с рекомендациями ВОЗ 1999 г [9].

Критериями диагностики гестационной гипертензии является: диагностированная после 20 недель у женщин, имеющих нормальное артериальное давление в анамнезе, определение повышенного диастолического давления (90 мм.рт.ст) и систолического давления (выше 140 мм.рт.ст) при трех последовательных неярких измерениях с интервалом четыре часа [10].

Всем женщинам было проведено молекулярно-генетическое исследование методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Была изучена распространенность в исследуемых группах семи полиморфных вариантов пяти генов, ответственных за регуляцию компонентов РАС и развитие «эндотелиальной дисфункции»: 704 Т>С и 521 С>Т в гене AGT (ангиотензиногена); 1166 А>С в гене AGTR1

(рецептора 1 типа к ангиотензинуII); 1675 G>А в гене AGTR2 (рецептора 2-го типа к ангиотензину II); 825 С>Т в гене GNB3 (GNB3-β3-субъединицы G-белка); 786 Т>С и 894 G>Т в гене NOS3 (эндотелиальной NO-синтазы).

Выбор полиморфных вариантов выполнен на основании следующих критериев:

1) Согласно данным литературы, они являются функционально значимыми.

2) Ассоциация с риском развития АГ была установлена ранее в других популяциях [11].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программы Statistica 6.0. Соотношение генотипов в сравниваемых группах определялись методом χ^2 . Силу ассоциации оценивали в значениях показателя соотношения шансов (odds ratio, OR) [12]. Значение OR и 95%-ный доверительный интервал (95% CI) вычисляли с помощью программы «Calculator for confidence intervals or odds ratio» [12]. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Тест на соответствие распределения генотипов закону Харди-Вайнберга в обеих выборках проводили с помощью критерия χ^2 ($p > 0,05$).

Результаты и обсуждение

Результаты сравнительного анализа распределения частот генотипов полиморфных локусов: 704Т>С и 521С>Т гена AGT, 1166А>С гена AGTR1, 1675G>А гена AGTR2, 825С>Т гена GNB3 и 786Т>С и 894G>Т гена NOS3 между обследуемыми группами представлены в таблице 1.

Получены статистически достоверные отличия распределения полиморфных локусов: 704 Т>С и 521 С>Т гена AGT в первой группе, где наиболее часто встречался генотип AGT: 704TC (57% против 28%; $p=0,001$, OR=3,46, CI=1,58-7,56) и 521CT (45% против 18%; $p=0,001$, OR=3,82, CI=1,61-9,07).

При анализе распределения частот генотипов по полиморфизму 1166 А>С в гене AGTR1 установлено, что во второй группе достоверно чаще встречался генотип 1166 AA (72% против 53%; $p=0,018$, OR=0,44, CI=0,20-0,95), а в первой группе достоверно преобладала суммарная частота генотипов, содержащих аллель 1166 С (AC+CC; 47% против 28%; $p=0,018$, OR=2,29, CI=1,05-4,98).

Также получены статистически достоверные отличия в распределении генотипов по полиморфным локусам: 786Т>С гена NOS3, в первой группе, где наиболее часто преобладала суммарная частота генотипов, содержащих аллель 786 С (TC+CC; 84% против 64%; $p=0,007$, OR=2,91, CI=1,23-6,93).

Других статистически значимых различий частот генотипов в исследуемых группах по полиморфным маркерам изучаемых генов в проведенном исследовании выявить не удалось.

Влияние генотипа на риск развития гестационной гипертензии оценивалось по доминантной модели, т.е. при наличии хотя бы одного вариантного аллеля по сравнению с нормальной гомозиготой.

Таблица 1. Распределение частот генотипов полиморфных маркеров генов-регуляторов артериального давления в исследуемых группах

Полиморфизм	Генотип	1 группа (n=68)		2 группа (n=50)		P	OR CI-95% (ORmin - Rmax)
		абс.	%	абс.	%		
AGT 704 T>C	TT	11	16	21	42	p=0,001	0,27 (0,11 - 0,63)
	TC	39	57	14	28	p=0,001	3,46 (1,58 - 7,56)
	CC	18	26	15	30	p=0,680	0,84 (0,37 - 1,89)
	TC+CC	57	84	29	58	p=0,001	3,75 (1,59 - 8,83)
AGT 521 C>T	CC	35	51	39	78	p=0,001	0,30 (0,13 - 0,68)
	CT	31	45	9	18	p=0,001	3,82 (1,61 - 9,07)
	TT	2	3	2	4	p=0,378	0,73 (0,10 - 5,35)
AGTR1 1166 A>C	CT+TT	33	48	11	22	p=0,002	3,34 (1,47 - 7,60)
	AA	36	53	36	72	p=0,018	0,44 (0,20 - 0,95)
	AC	23	34	12	24	p=0,126	1,62 (0,71 - 3,68)
	CC	9	13	2	4	p=0,045	3,66 (0,75 - 7,75)
AGTR2 1675 G>A	AC+CC	32	47	14	28	p=0,018	2,29 (1,05-4,98)
	GG	13	19	13	26	p=0,189	0,67 (0,28 - 1,61)
	GA	38	56	29	58	p=0,410	0,92 (0,44 - 1,92)
	AA	17	25	8	16	p=0,120	1,75 (0,69 - 4,45)
GNB3 825 C>T	GA+AA	55	81	37	74	p=0,380	1,49 (0,62 - 3,56)
	CC	33	48	29	58	p=0,156	0,68 (0,33 - 1,43)
	CT	27	39	17	34	p=0,265	1,28 (0,60 - 2,73)
	TT	8	11	4	8	p=0,254	1,53 (0,43 - 5,41)
NOS3 786 T>C	CT+TT	35	51	21	42	p=0,156	1,46 (0,70 - 3,06)
	TT	11	16	18	36	p=0,007	0,34 (0,14-0,82)
	TC	36	53	19	38	p=0,039	1,95 (0,93-4,10)
	CC	21	31	13	26	p=0,343	1,19 (0,52-2,69)
NOS3 894 G>T	TC+CC	57	84	32	64	p=0,007	2,91 (1,23- 6,93)
	GG	33	48	28	56	p=0,213	0,74 (0,36-1,54)
	GT	33	48	19	38	p=0,129	1,54 (0,73-3,23)
	TT	2	3	3	6	p=0,210	0,47 (0,08-2,95)
	GT+TT	35	51	22	44	p=0,213	1,35 (0,65-2,81)

Результаты исследования показали, что риск развития гестационной гипертензии достоверно повышался примерно в 3,5 раза при носительстве вариантной аллели 704 C гена AGT, как в гомозиготном, так и в гетерозиготном состоянии и при суммарной частоте генотипов, содержащих аллель C (TC+CC; p=0,001, OR=3,75, CI=1,59-8,83).

Аналогичные результаты были получены и при анализе влияния генотипа по полиморфному локусу 521C>T гена AGT на развитие гестационной гипертензии, согласно коэффициенту соотношения шансов: при носительстве хотя бы одной вариантной аллели 521 T в генотипе, риск развития гестационной гипертензии увеличен в 3,8 раза (p=0,001, OR=3,82, CI=1,61-9,07), а суммарная частота генотипов, содержащих аллель T, повышает шанс развития гестационной гипертензии в 3,3 раза (CT+TT; p=0,002, OR=3,34, CI=1,47-7,60).

Влияние на развитие гестационной гипертензии вариантного аллеля 1166 C гена AGTR1, подчиняется доминантной модели наследования, т.к., в первой группе достоверно чаще встречались суммарная частота генотипа 1166 AC+CC (p=0,018, OR=2,29, CI=1,05-4,98), а в группе сравнения преобладали количество альтернативных генотипов 1166 AA (p=0,018, OR=0,44, CI=0,20-0,95).

Аналогичные результаты были получены при анализе влияния генотипа по полиморфному локусу 786TC гена NOS3. У женщин в первой группе достоверно чаще встречался генотип содержащий аллель C (786 TC + CC; p=0,007, OR=2,91, CI=1,23-6,93).

Выводы

1. Частота генотипов содержащих «низкофункциональные» аллели в полиморфных локусах: AGT:704T>C, 521C>T, AGTR1 1166A>C, NOS3: 786T>C, достоверно чаще имеет место у женщин с гестационной гипертензией.

2. Достоверные результаты прогностического влияния аллелей указанных генов, на развитие гестационной гипертензии, были получены при доминантной модели наследования.

3. Обнаруженные тенденции при сравнительном анализе исследуемых групп требуют подтверждения на генеральных выборках. ■

В.В.Ковалев – д.м.н., проф., директор ФГБУ НИИ ОММ «Минздравсоцразвития РФ» г. Екатеринбург;
Т.Б.Третьякова – к.м.н., старший научный сотрудник отдела генетических исследований ФГБУ НИИ ОММ «Минздравсоцразвития РФ» г. Екатеринбург;
Е.Г.Дерябина – д.м.н., ведущий научный сотрудник отделения антенатальной охраны плода, ФГБУ НИИ ОММ «Минздравсоцразвития РФ» г. Екатеринбург;
Т.А.Путилова – врач акушер-гинеколог, очный аспирант ФГБУ НИИ ОММ «Минздравсоцразвития РФ» г. Екатеринбург;
А.Д.Мазуров – внештатный консультант ФГБУ НИИ ОММ «Минздравсоцразвития РФ» г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку - Путилова Т.А., e-mail: zpranyushkin@mail.ru, тел. 9089254467

Литература:

1. Kembell C., Lutz K. Акушерство от десяти учителей. М.: 2004; 464.
2. Mattar F., Sibai В.М. Eclampsia-risk factors for maternal morbidity. *Amer J Obstetrics and Gynecology*. 2000; 108: 307-12.
3. Макаров И.О., Шеманаева Т.В., Гасанова С.Р. Значение эндотелиоза в развитии гестоза. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2010; 10: 16. 4. Бурмукулова Ф.Ф., Петрухин В.А., Куликов И.А., Котов Ю.Б. Гестационный сахарный диабет: факторы риска, контроль гликемии и профилактика диабетической фетопатии. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2007; 3: 47.
5. Arngrimsson R, Bjornsson S, Geirsson R.T., Bjornsson H., Walker I.I. Snaedal G. Genetic and familial predisposition to eclampsia and pre-eclampsia in a defined population. *Br. J. Obstetrics and Gynaecology*. 1990; 97(9): 762-769.
6. Малышева О.В., Мозговая Е.В., Демин Г.С., Иващенко Т.Э., Баранов В.С. Ассоциация полиморфных аллелей генов ACE и eNOS с развитием гестозов. *Журнал Медицинская генетика*. 2003; 2: 78-82.
7. Jeunemaitre X. Genetic polymorphism in the renin-angiotensin system. *Therapia*. 2000; 53(3): 271-277.
8. Bai H., Liu X., Liu R. et al. Angiotensinogen and angiotensin-I converting enzyme gene variations in Chinese pregnancy induced hypertension. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue bao*. 2002; 2: 233-237.
9. Национальное руководство по эндокринологии 2007г.
10. Верткин А.Л., Мурашко Л.Е., Ткачева О.Н., Тумбаев И.В. Артериальная гипертензия беременных: механизмы формирования, профилактика, подходы к лечению. *Российский кардиологический журнал*. 2003; 6: 59-65.
11. Баранов В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. Н-Л, 2009; 528.
12. Hutchon D.I.R. Calculator for confidence intervals odds ratio unmatched case study; [http:// www.hutchon/ConfidOR.htm](http://www.hutchon/ConfidOR.htm)