

На правах рукописи

Таш

**ПАВЛОВА
Кюнна Константиновна**

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ
К ГЕСТОЗУ В ЯКУТСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ**

03.02.07 – генетика

14.01.01 – акушерство и гинекология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Томск – 2011

Работа выполнена в Учреждении Российской академии медицинских наук Научно-исследовательском институте медицинской генетики Сибирского отделения РАМН и Учреждении Российской академии медицинских наук Якутском научном центре комплексных медицинских проблем Сибирского отделения РАМН.

Научные руководители:

доктор биологических наук, профессор
Степанов Вадим Анатольевич

доктор медицинских наук
Филиппова Роза Дмитриевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор
Назаренко Людмила Павловна

доктор медицинских наук
Юрьев Сергей Юрьевич

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Защита состоится ____ 2011 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета ДМ 001.045.01 при Учреждении Российской академии медицинских наук НИИ медицинской генетики Сибирского отделения РАМН по адресу: 634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, д. 10.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Учреждения Российской академии медицинских наук НИИ медицинской генетики Сибирского отделения РАМН (634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, д. 10).

Автореферат разослан ____ 2011 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета
доктор биологических наук, профессор



Кучер А. Н.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы: Одним из немаловажных моментов геномных исследований является выявление ассоциаций полиморфных вариантов генов с развитием различных многофакторных состояний. Среди заболеваний с выраженным генетическим компонентом, развивающихся в ходе беременности, значимое место занимают гестозы. Генетическая составляющая данного заболевания может составлять до 50 % всех факторов, влияющих на развитие гестоза (Cnattingius et al., 2004; Chappel, Morgan, 2006; Roten et al., 2009).

Гестоз является одним из наиболее тяжелых и распространенных осложнений беременности, определяя в значительной мере уровень перинатальной и материнской смертности. Считается, что гестоз – это клиническое проявление неспособности адаптационных механизмов материнского организма адекватно обеспечивать потребности развивающегося плода, обусловленное расстройством общего кровообращения, в основе которого лежат увеличение проницаемости сосудистой стенки и связанные с этим волеимические и гемодинамические нарушения (Сидорова, 2003; Венцковский др., 2005; Айламазян, Зайнулина, 2010). Частота гестоза в различных регионах РФ варьирует от 7 до 22 % (Савельева, Кулаков, 2001; Сидорова, 2003; Серов, 2006; Сидорова и др., 2009). В Республике Саха (Якутия) в структуре заболеваний беременных женщин гестоз стабильно занимает третье место, при этом частота этой патологии колеблется от 19,4 до 22,2 % («Основные показатели состояния здоровья населения по РС (Я) за 2003-2006 гг.»), т.е. в среднем каждая пятая беременная страдает гестозом. По данным Р.Д. Филипповой, частота гестоза в целом по республике ниже, чем в РФ, однако в отдельных районах она значительно превышает средний республиканский уровень и достигает 25,0-33,3 % (Абыйский, Верхоянский, Нюрбинский, Усть-Майский улусы и г. Якутск). В структуре причин материнской смертности гестоз в Якутии составляет 14,3 % (Филиппова, 2007).

В настоящее время общепризнанно, что к генерализованному нарушению микроциркуляции при гестозе приводит системная эндотелиальная дисфункция, которая возникает вследствие иммунологического конфликта между матерью и плодом, нарушения процессов имплантации и плацентации, ишемии плаценты, оксидативного стресса или наличия у беременной предшествующей патологии, характеризующейся эндотелиальной дисфункцией (Сидорова, 2003; Мозговая и др., 2004; Chappel, Morgan, 2006; Айламазян, Зайнулина, 2010). Большинство исследователей пришли к выводу, что не существует единого механизма развития гестозов, а наблюдается сочетанное воздействие этиологических факторов (Радзинский и др., 2001; Сидорова, 2003; Айламазян, Мозговая, 2008; Савельева и др., 2009). Все это дает основание предполагать, что генная сеть этого многофакторного состояния весьма разнообразна, а число генов-кандидатов

значительно. В настоящий момент предложено более 90 генов-кандидатов гестоза (HuGENet.org), это гены, ответственные за формирование сосудистого тонуса, тромбообразующих факторов, участвующих в оксидативном стрессе, функционировании эндотелия и другие гены. Несмотря на видимые успехи по изучению молекулярных механизмов гестоза, следует отметить, что результаты, полученные разными исследователями при анализе генетической предрасположенности к гестозу, зачастую противоречивы для различных этнических групп. Некоторые авторы в качестве основной причины данных противоречий рассматривают вариабельность структуры наследственной компоненты гестоза между различными популяционными выборками, формирующуюся в результате демографической истории популяции (Nakajima et al., 2002; Демин, 2007; Akbar et al., 2009), что указывает на необходимость изучения генов предрасположенности к гестозу с учетом этнической принадлежности.

Низкая численность предковой популяции якутов, расселенность их в течение длительного времени на обширной территории небольшими по численности группами, низкая плотность населения и высокий уровень рождаемости благоприятствовали проявлению эффекта дрейфа генов, который обуславливает высокую степень генетической гомогенности популяции, что позволяет рассматривать якутскую популяцию как уникальную модель для изучения генетической предрасположенности к многофакторным заболеваниям (Пузырев, Назаренко, 2000; Максимова, 2002; Степанов, 2002; Кучер и др., 2007).

Таким образом, актуальность настоящего исследования обусловлена высокой частотой гестоза среди коренного населения Якутии и отсутствием исследований в этой области, а также значимостью поиска новых генетических маркеров, вносящих существенный вклад в патологическое состояние при беременности, с целью как выявления факторов риска акушерских заболеваний, так и выработки тактики их профилактики. В связи с этим комплексный подход в изучении гестоза, заключающийся в выявлении клинических особенностей и наследственной компоненты данного заболевания, анализе вариабельности патогенетически важных количественных признаков для оценки эффектов анализируемых генов развития этой тяжелой патологии, представляет собой научный и практический интерес.

Цель работы:

Изучить структуру генетической предрасположенности по полиморфным маркерам ряда генов-кандидатов подверженности к гестозу и определить их ассоциации с особенностями клинических проявлений, факторами риска, способствующими развитию гестоза у якутов.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать клинические особенности течения гестоза в якутской популяции.
2. Изучить распределение частот аллелей, генотипов и гаплотипов полиморфных вариантов генов-кандидатов *MTHFR* (метилентетрагидрофолатредуктазы), *NOS3* (эндотелиальной синтазы оксида азота), *AGT* (ангиотензиногена), *ACE* (ангиотензинпревращающего фермента), *FV* (фактора V свертывания), *AGT1R* (рецептора ангиотензина II I типа), *PAI-1* (ингибитора тканевого активатора плазминогена I), *LEP* (лептина) при гестозе и в контрольной группе у якутов.
3. Оценить ассоциации выбранных полиморфизмов генов *MTHFR*, *NOS3*, *AGT*, *ACE*, *FV*, *AGT1R*, *PAI-1*, *LEP* с развитием гестоза и его отдельными клиническими формами у якутов.
4. Изучить ассоциации полиморфных вариантов исследуемых генов с качественными, количественными патогенетически значимыми для гестоза признаками и показателями состояния новорожденных.

Научная новизна: Получены новые знания об особенностях структуры генофонда коренного населения Республики Саха (Якутия) по генам *MTHFR*, *NOS3*, *AGT*, *ACE*, *FV*, *AGT1R*, *PAI-1* и *LEP*. Впервые проведен комплексный анализ клинических, параклинических и генетических показателей у пациенток с гестозом и физиологическим течением беременности у якутов. Определены прогностически значимые клинические факторы, играющие роль в развитии гестоза у якутов, описана структура экстрагенитальной патологии у пациенток с гестозом. Впервые показано влияние полиморфных вариантов комплекса генов-кандидатов подверженности к гестозу в зависимости от степени тяжести заболевания и наличия сопутствующей патологии. Выявлены ассоциации определенных аллелей, генотипов и гаплотипов полиморфизмов C691T и G894T гена *NOS3*, маркера -675 4G/5G гена *PAI-1*, C677T гена *MTHFR*, полиморфного варианта G19A гена *LEP* с гестозом у якутов. Впервые показана ассоциация генотипов генов *NOS3*, *PAI-1*, *ACE*, *LEP* с вариабельностью ряда патогенетически значимых для гестоза клинических (индекс массы тела), биохимических параметров (общий белок крови, протромбиновое время, гематокрит) и показателей состояния новорожденных (вес и оценка по шкале Апгар).

Научно-практическая значимость: Новые данные, касающиеся распределения генотипов полиморфизмов изучаемых генов у беременных с гестозом при различных формах заболевания, могут служить основой для дальнейшего изучения молекулярных механизмов

данной патологии. Сведения о роли исследованных клинических, параклинических показателей и экстрагенитальных заболеваний в развитии гестоза, а также о вкладе полиморфных вариантов генов-кандидатов подверженности к гестозу в изменчивость патогенетически значимых при гестозе признаков и развитии клинического полиморфизма заболевания могут быть учтены при формировании группы риска данной патологии и организации профилактических мероприятий.

Положения, выдвигаемые на защиту:

1. Основной особенностью гестоза в якутской популяции является его сочетание с анемией средней и тяжелой степеней. Дополнительными факторами становятся: первые роды в возрастных группах 15-19 и 30-34 года, наличие гестоза в анамнезе, экстрагенитальная патология (вегетососудистая дистония по гипертоническому типу, хронический пиелонефрит, избыточная масса тела, гинекологические заболевания).
2. Аллели и генотипы полиморфных маркеров генов синтазы оксида азота (*NOS3*), ингибитора тканевого активатора плазминогена I (*PAI-1*), лептина (*LEP*) вносят вклад в развитие гестоза. Сочетание генотипов C691C-G894T-4G/4G по генам *NOS3* и *PAI-1* увеличивает риск развития гестоза. Существуют различия в структуре наследственной компоненты подверженности к развитию гестоза в зависимости от степени тяжести и наличия сопутствующей патологии.
3. Гаплотипы 691C-4b-894T и 691T-4b-894G гена *NOS3* и 677T-1298C гена *MTHFR* являются предрасполагающими к развитию гестоза.
4. Аллельные варианты генов *NOS3*, *PAI-1*, *ACE*, *LEP* ассоциированы с рядом значимых для гестоза клинических, биохимических параметров и показателей состояния новорожденных.

Апробация работы: Основные положения работы доложены и обсуждены на научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы медицинской генетики на Крайнем Севере», посвященной 20-летию медико-генетической службы Республики Саха (Якутия) (Якутск, 4-5 июня 2009 г.); на VI Съезде Российского общества медицинских генетиков (Ростов-на-Дону, 1-18 мая 2010 г.); на ежегодной конференции Европейского общества генетиков человека (Амстердам, Нидерланды, 28-31 мая 2011 г.).

Публикации:

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, в том числе 3 – в реферируемых журналах перечня ВАК РФ, рекомендованных для защиты по медицине.

Структура и объем диссертации:

Диссертация изложена на 193 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, четырех глав собственных результатов исследования, выводов, практических рекомендаций и списка литературы из 421 источника, включающих 152 отечественных и 269 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 24 рисунками и 28 таблицами (в том числе в приложении – 4).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В отделении патологии беременности Перинатального центра РБ№1 НЦМ г. Якутска в соответствии с целью исследования был проведен клинический анализ течения и исходов беременности у 346 женщин на сроках от 26 до 40 недель. Все обследуемые были разделены на 2 группы. Группа с гестозом включала 216 пациенток, из них 28 женщин с легким, 92 пациентки со среднетяжелым и 96 пациенток с тяжелым течением гестоза. В работе применяли отечественную классификацию гестоза: гестоз (легкой, средней, тяжелой степеней тяжести), преэклампсия, эклампсия. Оценка степени тяжести гестоза проводили по балльной шкале Гоеске в модификации Г. М. Савельевой. При величине индекса до 7 баллов выставляли диагноз «гестоз легкой степени тяжести», 8–11 баллов – «средней степени тяжести», 12 баллов и более – «тяжелой степени тяжести» (Савельева и др., 2000). Группа пациенток с гестозом была неоднородной не только по степени тяжести гестоза, но и по наличию ранее предшествовавших и сопутствующих фоновых заболеваний. «Чистый» (без сопутствующей патологии) гестоз не был отмечен ни у одной пациентки с осложненным течением беременности. У 216 беременных диагностировали сочетанный гестоз различной степени тяжести на фоне экстрагенитальных заболеваний, таких как вегетососудистая дистония (ВСД) по гипертоническому типу, хронический пиелонефрит, ожирение, метаболический синдром, гипертоническая болезнь. Контрольная группа представлена 130 женщинами с физиологическим течением беременности и родами. Все обследованные индивидуумы по этнической принадлежности относились к якутам.

При сборе клинико-анамнестических данных беременных с гестозом и женщин из контрольной группы изучены акушерско-гинекологический и соматический анамнез. Возраст беременных в обеих группах варьировал от 15 до 44 лет, средний возраст группы с гестозом составил $30,5 \pm 7,69$, в контрольной группе – $32,5 \pm 7,16$ года. По показателю среднего возраста исследуемые группы были сопоставимы.

При проведении исследования для оценки состояния новорожденных нами был произведен ретроспективный анализ 145 историй

новорожденных, беременность которыми протекала с гестозом и 58 новорожденных группы контроля.

Всего изучено 11 полиморфных вариантов 8 кандидатных генов подверженности к гестозу (табл. 1). Генотипирование осуществляли с помощью амплификации соответствующих участков генома методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, описанных в литературе (Jeunemaitre, 1998; Karvonen et al., 1998; Kupferminc et al., 1999; Novoradovsky et al., 1999; Basiak, Smolarz, 2000; Sazci et al., 2004).

Таблица 1

Характеристика исследованных полиморфизмов генов-кандидатов

Ген и его локализация на хромосоме	SNPs	Локализация в гене (по данным базы NSBI)	dbSNP allele	Предковый аллель	Тип мутации
NOS3 7q36	C691T rs3918226	3'-UTR	C/T	C	
	G894T rs1799983	Экзон 7	G/T	G	Несинонимичная замена (298Glu/Asp)
	VNTR4A/B rs не присвоен	4 интрон	A/B		Вариабельность числа 27-членного повтора
MTHFR 1p36.3	C677T rs1801133	5 экзон	C/T	C	Несинонимичная замена (222Val/Ala)
	A1298C rs1801131	8 экзон	A/C	A	Несинонимичная замена (429Ala/Glu)
AGT 1q42-q43	C704T (M235T) rs699	2 экзон	T/C	C	Несинонимичная замена (235Met/Thr)
ACE 17q22-q24	I/D rs1799752	16 интрон	I/D	D	Del/Ins 287 п.о.
FV(Leiden) 1q23	G1691A rs6025	10 экзон	G/A	G	Несинонимичная замена (506Arg /Glu)
PAI-1 7q21.3-q22	4G/5G rs1799889	3'-UTR	4G/5G	5G	Del/Ins в 675 п.о.
AGT1R 3q24	A1166C rs5186	3'-UTR	A/C	A	
LEP 07q31.3	G19A rs2167270	3'-UTR	A/G	G	

Для определения характера распределения полученных данных использовали критерий Колмогорова-Смирнова. При проведении парного сравнения частот аллелей, генотипов и гаплотипов между анализируемыми группами использовали критерий χ^2 с поправкой Йетса. При сравнении количественных показателей применялся непараметри-

ческий критерий Манна-Уитни. Роль генотипов изучаемых полиморфных вариантов генов в вариабельности количественных признаков определяли с помощью критерия Крускала-Уоллиса (Гланц, 1999). Для оценки ассоциаций полиморфных вариантов генов с патологическим фенотипом рассчитывали показатель отношение шансов (OR) и доверительные интервалы (CI) для отношения шансов (95 % CI) (Лакин, 1990; Гланц, 1999). Соответствие распределения частот аллелей и генотипов равновесию Харди-Вайнберга проверяли по критерию χ^2 (Вейр, 1995). Частоты гаплотипов определялись с помощью EM-алгоритма. LD между парами SNPs оценивалось с помощью коэффициента D' , предложенного Левонтином, и коэффициента корреляции r^2 Пирсона. Блочная структура определялась посредством алгоритма «Solid spine LD» (Barret et al., 2005) с заданным порогом $D' \geq 0,8$. Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакетов статистических программ «Statistica 7.0», «ARLEQUIN» и «Haploview 4.0». Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клинические особенности гестоза в якутской популяции

При изучении влияния возрастного фактора на течение беременности, осложненной гестозом, статистически значимые отличия между пациентками с гестозом и контрольной группой наблюдались в возрастных группах 15-19, 25-29 и 30-34 года. В контрольной группе наибольшее количество женщин (44,6 %) были в возрасте от 25 до 29 лет, в то время как пациентки с гестозом встречались чаще в возрастных когортах 15-19 и 30-34 года. Многими авторами возраст роженицы до 18 и старше 30-35 лет рассматривается как фактор риска развития гестоза [Шифман, 2003; Мозговая, Зайнулина, 2008].

При исследовании генеративной функции беременных были получены следующие данные: первородящие статистически значимо чаще (38,8 % против 22,3 %) встречались в группе гестоза. Из них 67,8 % были первобеременные, что еще раз подтверждает преимущественное развитие гестоза у первобеременных. Анализ распределения соотношения первородящих и повторнородящих в различных возрастных группах показал, что первородящие с гестозом чаще встречались в возрастных когортах 15-19 и 30-34 года при сравнении с контрольной группой. В группе с гестозом из 132 повторнородящих женщин в предыдущих беременностях была зафиксирована данная патология (56,8 %). На сегодняшний день наличие гестоза при предыдущей беременности также является известным фактором риска развития гестоза

во многих популяциях [Dawson et al., 2002; Мозговая, Зайнулина, 2008].

Анализ антропометрических данных в сравниваемых группах свидетельствует о существенной роли избыточного веса ($p < 0,00001$) в развитии гестоза в якутской популяции (средний вес у больных гестозом и в контрольной группе – $71,61 \pm 13,42$ кг и $62,77 \pm 8,99$ кг соответственно). Большинство женщин в группе с гестозом страдали избыточной массой тела. Так, ИМТ в группе с гестозом составил $28,73 \pm 5,5$, в то время как в контрольной выборке этот показатель был $24,8 \pm 3,28$ ($p < 0,01$). Было показано, что у беременных с избыточной массой тела риск развития гестоза в несколько раз выше, чем у женщин с нормальной массой [Кан, 2004].

Среди женщин с патологической беременностью отмечались осложнения гестации, являющиеся типичными для гестоза: повышение артериального давления, протеинурия, отеки. Средний уровень САД в группе с гестозом составил $135,98 \pm 18,03$ мм рт.ст., в контрольной группе – $112,12 \pm 8,37$ мм рт.ст. ($p < 0,00001$). Средний уровень ДАД – $87,44 \pm 11,98$ мм рт.ст., в контрольной группе средние значения данных показателей соответствовали $68,69 \pm 7,98$ мм рт.ст. ($p < 0,00001$). В результате исследования беременных, у которых развился гестоз тяжелой степени, выявлено, что средние значения САД ($139,27 \pm 16,72$ мм рт.ст.) статистически значимо отличались от таковых в подгруппе с гестозом легкой и средней степеней тяжести; при физиологически протекавшей беременности средний уровень САД был $112,12 \pm 8,37$ мм рт.ст. ($p < 0,05$). Анализ ДАД показал относительно низкое его значение ($68,69 \pm 7,98$ мм рт.ст.) в группе контроля по сравнению с показателями у беременных, у которых в последствии развился гестоз тяжелой степени – $90,60 \pm 11,40$ мм рт.ст. ($p < 0,05$). При изучении уровня протеинурии также выявлены более высокие показатели в группе с гестозом ($p < 0,05$). Анализ уровня протеинурии в группе с гестозом демонстрирует наличие прямой корреляции уровня белка в моче с тяжестью гестоза.

В рамках данной работы в обследуемых группах были проанализированы частота и структура экстрагенитальных заболеваний. В группе гестозов по сравнению с контрольной группой в 6 раз чаще наблюдались заболевания мочеполовой системы (83,8 %), более чем в 3 раза – сердечно-сосудистая патология (37 %) и нарушения жирового обмена (18,5 %), $p < 0,00001$. Необходимо отметить высокую частоту анемии (54,1 %) в группе с гестозом по сравнению с контролем ($p < 0,00001$), которая в структуре экстрагенитальной патологии беременных занима-

ет третье место после заболеваний мочеполовой системы и гинекологических заболеваний.

В связи с высокой частотой анемии среди беременных с гестозом в якутской популяции подробно изучено влияние анемии на течение гестоза в зависимости от тяжести заболевания. Степень анемии определяли на основании показателя гемоглобина в крови и оценивали по классификации ВОЗ (1993). Частота анемии во всех подгруппах с гестозом значимо не отличалась (54, 48 и 56 % соответственно), тогда как в контрольной группе этот показатель составил 25 %. В подгруппах с легким, среднетяжелым гестозом и в контрольной выборке преобладала легкая форма анемии (71, 80 и 94 % соответственно) и не было отмечено тяжелой анемии, в то время как в подгруппе с тяжелым гестозом более 30 % пациенток имели анемию средней и тяжелой степеней. Тяжелая анемия наблюдалась статистически чаще в подгруппе с тяжелой формой гестоза при сравнении с контрольной группой и подгруппами с легким и среднетяжелым гестозом ($p < 0,05$). Полученные нами результаты согласуются с данными, указывающими на прогрессирование гестоза при выраженной степени анемии [Бегова, 2006].

Таким образом, анализ зависимости развития гестоза в якутской популяции от экстрагенитальной патологии подтвердил, что гестоз чаще развивается у беременных на фоне анемии средней и тяжелой степеней, ВСД по гипертоническому типу, хронического пиелонефрита, нарушения жирового обмена. Развитию гестоза также способствовали гинекологические заболевания.

Осложнения в родах статистически значимо также чаще отмечались в группе с гестозом (67,1 %) по сравнению с контрольной группой (46 %). Оперативное родоразрешение путем операции кесарево сечение было произведено у 46 женщин (31,7 %) среди беременных с гестозом, что более чем в 4 раза превышало таковое в контрольной группе (5 – 8,6 %) ($p < 0,05$). Преждевременные роды отмечались в 26 случаях (17,9 %) в группе с гестозом и у 4 беременных (6,8 %) в контрольной группе ($p < 0,05$). Объем кровопотери в родах был выше в группе с гестозом – $740,48 \pm 384,22$ мл по сравнению с группой контроля – $291,46 \pm 208,53$ мл ($p < 0,05$). Эклампсия развилась у 4 беременных в группе с гестозом, что составило 2,7 %. Все случаи эклампсии наблюдались у первородящих, что сопоставимо с данными литературы [Miguil, 2008].

Проведенный сравнительный анализ перинатальных исходов показал, что среди новорожденных из группы контроля при сравнении с группой беременных с гестозом оказалось меньше маловесных детей (рожденных весом до 2800 г) $p < 0,05$. При сравнительном анализе сред-

ная масса новорожденных в группе с гестозом составила $2819,77 \pm 830,52$ г, рост – $49,32 \pm 4,78$ см, средняя оценка по шкале Апгар – $6,73 \pm 1,25$ балла. В группе контроля средняя масса новорожденных составила $3681,46 \pm 394,46$ г, рост – $53,41 \pm 1,89$ см, оценка по шкале Апгар – $7,82 \pm 0,38$ балла соответственно ($p < 0,00001$).

Оценка лабораторных данных показала, что в клиническом анализе крови беременных группы с гестозом характерны были более выраженная анемия (содержание гемоглобина: $85,30 \pm 37,14$ г/л и $98,72 \pm 26,23$ г/л – в группе контроля соответственно), сниженное количество эритроцитов $3,41 \pm 0,42 \times 10^{12}/л$), ускоренная СОЭ ($45,37 \pm 12,24$ мм/ч) и незначительное повышение лейкоцитов ($9,77 \pm 3,98 \times 10^9/л$). Выявленные различия имели статистическую значимость ($p < 0,05$). Гематокрит в сравниваемых группах был в пределах нормы. В лейкоцитарной формуле был отмечен более высокий уровень сегментоядерных нейтрофилов ($68,37 \pm 9,33$ %) по сравнению с группой контроля ($64,90 \pm 9,58$ %) ($p < 0,05$). Анализ коагулограммы у пациенток с гестозом по сравнению с контрольной группой выявил значимое повышение времени кровотечения по Дьюку ($350,06 \pm 11,47$ сек. и $300,01 \pm 0,12$ сек. соответственно), времени свертывания по Сухареву ($244,49 \pm 60,66$ сек. против $222,92 \pm 54,83$ сек.) и концентрации фибриногена ($4,78 \pm 1,05$ г/л и $4,27 \pm 0,71$ г/л соответственно), $p < 0,01$. Однако показатели ПТВ и тромбоцитов были в пределах референтных значений и статистически значимых различий не выявлено. По остальным (палочкоядерные, лимфоциты, моноциты и эозинофилы) показателям значимых различий при сравнении исследуемых групп не выявлено. В группе с гестозом у всех пациенток по сравнению с контрольной группой отмечалась гипопротеинемия – уровень общего белка в крови составил $56,77 \pm 6,55$ г/л, что статистически отличалось ($p < 0,05$). Относительная плотность мочи в группе гестоза была выше по сравнению с группой контроля ($1016,64 \pm 11,54$ и $1010,44 \pm 5,17$ соответственно) ($p < 0,05$), что является характерным признаком гестоза и свидетельствует о гиповолемии.

Анализ ассоциаций генных полиморфизмов с гестозом

Частоты аллелей и генотипов всех изученных полиморфных вариантов генов *NOS3* (C691T, G894T, VNTR4A/B), *MTHFR* (C677T, A1298C), *AGT* (C704T (M235T)), *ACE* (I/D), *FV* (G1691A), *PAI-1* (4G/5G), *AGT1R* (A1166C), *LEP* (G19A), а также оценка их соответствия равновесию Харди-Вайнберга в исследуемых группах представлены в таблице 2. Распределение генотипов по всем изученным маркерам соответствовало равновесию Харди-Вайнберга, а частоты находились в диапазоне мировых.

Таблица 2

Распределение частот генотипов и аллелей в исследованных группах

Исследуемые полиморфизмы (гены)	Генотипы и аллели	Частоты генотипов и аллелей исследованных полиморфизмов, %				Уровень значимости (p*)	
		Группа с гестозом (N=216)	Контрольная группа (N=130)				
			Сум-марно	Степень тяжести			
Легкая	Сред-няя	Тяже-лая					
1		2	3	4	5	6	7
C677T (MTHFR)	CC	75	82	72	77	67	0,23
	CT	23	18	28	21	32	
	TT	2	0	0	2	1	
	T	13	9	14	13	17	0,10
	p**	0,38				0,34	
A1298C (MTHFR)	AA	37	21	44	35	42	0,39
	AC	46	58	39	49	46	
	CC	17	21	17	16	12	
	C	40	50	37	41	35	0,20
	p**	0,58				0,95	
C704T (AGT)	CC	39	43	38	39	34	0,65
	CT	44	40	49	40	48	
	TT	17	17	13	21	18	
	T	39	37	38	41	42	0,52
	p**	0,34				0,95	
VNTR (NOS3)	AA	1	0	1	0	0	0,47
	AB	8	4	7	11	5	
	BB	91	96	92	99	95	
	A	5	2	5	5	3	0,23
	p**	0,31				1	
C691T (NOS3)	CC	92	86	91	94	98	0,06
	CT	7	10	7	6	2	
	TT	1	4	2	0	0	
	T	5	9	6	3	1	0,009
	p**	0,19				1	
G894T (NOS3)	GG	49	43	54	47	73	p<0,00001
	GT	46	57	30	43	25	
	TT	5	0	16	10	2	
	T	28	29	31	32	15	p<0,00001
	p**	0,14				1	
G1691A (FVL)	AA	0	0	0	0	0	0,43
	AG	0	0	0	0	1	
	GG	100	100	100	100	99	
	G	100	100	100	100	100	0,2
	p**	1				1	

Окончание таблицы 2

1		2	3	4	5	6	7
4G/5G (PAI-1)	4G/4G	52	63	48	53	35	0,002
	4G/5G	41	37	40	41	49	
	5G/5G	8	0	12	6	16	
	4G	72	82	69	73	60	0,0005
	p**	0,84				0,84	
A1166C (AGT1R)	AA	90	85	88	93	90	0,44
	AC	10	15	12	7	9	
	CC	0	0	0	0	1	
	C	5	7	6	4	5	0,85
	p**	0,31				0,31	
I/D (ACE)	II	33	26	39	30	38	0,62
	ID	48	52	43	51	46	
	DD	19	22	18	19	16	
	D	43	48	40	45	39	0,33
	p**	0,80				0,84	
G19A (LEP)	AA	4	4	2	6	2	0,07
	AG	37	32	38	38	29	
	GG	59	64	60	56	69	
	A	23	20	21	25	17	0,034
	p**	0,20				0,59	

Примечание. N – количество индивидов в группе; * – уровень значимости p, полученный при сравнении частот аллелей контрольной группы и группы больных гестозом; ** – уровень значимости, достигнутый при оценке соответствия равновесию Харди-Вайнберга. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия между исследованными группами (p<0,05).

При сравнительном анализе частот генотипов и аллелей по исследуемым генам между группой больных с гестозом и контрольной группой были выявлены приводимые далее статистически значимые различия.

Генотип CC полиморфного варианта C691T гена NOS3 чаще встречался в контрольной группе (98 %) по сравнению с больными легкой формой гестоза (92 %) (p=0,01; OR 0,14, CI: 0,03-0,67). При сравнении частот генотипов подгрупп с разными формами гестоза и контрольной группой была выявлена тенденция к ассоциации генотипа 691CT с легкой формой гестоза (p=0,06; OR=5,08, CI: 0,97-26,63). Частота аллеля 691T была выше в группе с гестозом (p=0,009) и в подгруппах с легкой и среднетяжелой формами по сравнению с группой контроля (p=0,0008; OR=8,40, CI: 1,95-36,26 и p=0,007; OR=5,10, CI: 1,38-18,80 соответственно). Аллель 691T повышает риск развития гестоза в 4 раза (OR=4,42, CI: 1,31-14,97).

По полиморфному варианту G894T гена NOS3 в контрольной группе наблюдалось статистически значимое повышение генотипа 894GG ($\chi^2=18,93$, p<0,00001; OR=0,36, CI: 0,22-0,57), в то время как у

больных со средней и тяжелой формами гестоза чаще встречался генотип 894ТТ ($p=0,0002$; $OR=8,36$, $CI: 2,34-29,81$ и $p=0,0001$; $OR=4,81$, $CI: 1,29-17,90$ соответственно) по сравнению с контрольной группой (табл. 2). В группе с гестозом генотип GT встречался в 1,8 раза чаще, чем в контрольной группе ($\chi^2=18,93$, $p<0,00001$; $OR=2,57$, $CI: 1,59-4,15$). Выявлена ассоциация генотипа 894GT с легкой ($\chi^2=11,78$, $p=0,01$; $OR=4,08$, $CI: 1,75-9,54$) и тяжелой ($\chi^2=18,01$, $p=0,0001$; $OR=2,30$, $CI: 1,31-4,04$) формами гестоза. Показана статистически значимо более высокая частота аллеля 894Т в группе с гестозом, а также в группе женщин с тяжелой по сравнению с легкой, среднетяжелой формами гестоза и контрольной выборкой ($\chi^2=16,20$, $p<0,00001$).

В группе с гестозом было выявлено повышение частоты генотипа 4G/4G полиморфного варианта -675 4G/5G гена *PAI-1*, который встречался в 1,5 раза (52 %) чаще, чем в контроле (35 %) ($\chi^2=12,06$, $p=0,002$; $OR=2,02$, $CI: 1,29-3,16$) (табл. 2). Кроме того, были показаны статистически значимые различия частоты данного генотипа между подгруппами больных с гестозом и группой контроля. Частота генотипа 4G/4G была выше в подгруппах больных с легким ($\chi^2=10,69$, $p=0,005$; $OR=3,26$, $CI: 1,43-7,45$) и тяжелым ($\chi^2=9,65$, $p=0,008$; $OR=2,09$, $CI: 1,22-3,59$) течением гестоза. Аллель 4G ассоциирован со всеми формами гестоза, за исключением среднетяжелой формы ($\chi^2=12,07$, $p=0,0005$; $OR=1,78$, $CI: 1,28-2,46$).

При сравнении частот аллелей и генотипов между группой с гестозом и группой контроля для полиморфного варианта G19A гена *LEP* статистически значимых различий не установлено (табл. 2). Генотип AA в группе больных с гестозом встречался в 2 раза чаще, чем в контрольной группе, хотя данное различие не является статистически значимым. При сравнении частот генотипов и аллелей подгрупп с разными формами гестоза и контрольной группой была обнаружена тенденция к ассоциации генотипа AA ($p=0,074$; $OR=2,82$) и ассоциация аллеля A ($\chi^2=4,48$, $p=0,034$; $OR=1,59$, $CI: 1,01-2,52$) с тяжелой формой гестоза.

По другим изученным полиморфизмам 4a/4b (*NOS3*), C677T, A1298C (*MTHFR*), C704T (*AGT*), I/D (*ACE*), G1691A (*FV*) и A1166C (*AGT1R*) ассоциаций с развитием гестоза у якутов не было выявлено (табл. 2).

Частоты встречаемости сочетания генотипов полиморфных вариантов C691T, G894T гена *NOS3* и -675 4G/5G гена *PAI-1* в группе с гестозом и в контрольной группе представлены в таблице 3. Показано значимое увеличение частоты сочетания генотипов C691C-G894T-4G/4G в группе больных по сравнению с группой контроля (23,33 % и

0,84 % соответственно) (табл. 3). Рассчитанный коэффициент отношения шансов показал, что носительство этого варианта значительно повышает риск развития гестоза (OR=35,91, CI: 4,89-263,80), в то время как комбинация генотипов C691C-G894G-4G/5G и C691C-G894G-5G/5G обладают протективным эффектом (OR=0,53, CI: 0,32-0,87 и OR=0,16, CI: 0,06-0,44 соответственно).

Таблица 3

Частоты встречаемости сочетания генотипов генов *NOS3* (C691T,G894T) и *PAI-1* (4G/5G) в исследуемых группах

Сочетание генотипов (C691T,G894T,4G/5G)	Группа с гестозом, (N=216)	Контрольная группа (N=130)	Уровень значимости (p)
	Процентное соотношение		
CCGT4G/4G	23,33	0,84	p<0,00001
CTGG4G/5G	0,47	0	0,75
CTGT4G/4G	1,42	0,84	0,9
CCTT4G/4G	2,85	0	0,18
CTGT4G/5G	1,42	0	0,42
CTGG4G/4G	1,42	0,84	0,9
CTTT4G/4G	0,47	0	0,75
CCGT5G/5G	5,23	3,36	0,74
CTGT4G/5G	0,95	0	0,57
CCTT4G/5G	1,90	1,68	0,99
CTGT4G/4G	0,95	0,84	0,99
CCGG4G/4G	20,95	30,25	0,079
CCGT4G/5G	13,80	16,80	0,76
CCGG4G/5G	22,38	35,29	0,04
CCGG5G/5G	2,38	13,44	0,0004

Примечание. N – количество индивидов в группе. * – Жирным шрифтом выделены статистически значимые отличия (p<0,05).

Таким образом, полиморфизмы генов *NOS3* (C691T, G894T), ген *PAI-1* (4G/5G), ген *LEP* (G19A) ассоциированы с развитием гестоза у якутов. При анализе распределения сочетаний генотипов полиморфных маркеров генов *NOS3* (C691T,G894T) и *PAI-1* (4G/5G) было продемонстрировано, что носительство варианта C691C-G894T-4G/4G значительно повышает риск развития гестоза, в то время как варианты сочетаний C691C-G894G-4G/5G и C691C-G894G-5G/5G обладают протективным эффектом.

Анализ сцепления полиморфизмов и распределения гаплотипов генов *MTHFR* и *NOS3* в исследованных группах

При анализе структуры неравновесия по сцеплению в гене *NOS3* у пациенток с гестозом установлено тесное сцепление только двух полиморфизмов C691T и VNTR, в то время как в контрольной группе все три исследованных полиморфизма гена *NOS3* входят в состав одного гаплотипического блока и наблюдается сильное сцепление маркера VNTR с полиморфизмами C691T и G894T ($D'=1$, $LOD>2$). Выявлено статистически значимое повышение частоты гаплотипов 691C-4b-894T и 691T-4b-894G в группе с гестозом по сравнению с контрольной группой ($\chi^2=13,38$, $p=0,0003$ и $\chi^2=8,9$, $p=0,003$ соответственно).

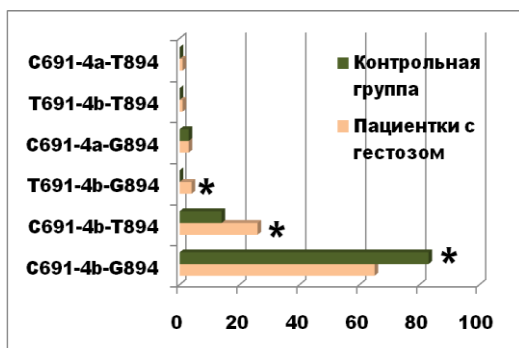


Рис. 1. Распределение частот гаплотипов в группе больных и контрольной группе. * – Статистически значимые различия ($p<0,05$).

Рассчитанный коэффициент отношения шансов показал, что носительство этих гаплотипов значительно повышает риск развития гестоза в якутской популяции ($OR=1,87$, $CI: 1,23-2,87$ и $OR=10,23$, $CI: 1,43-207,53$ соответственно), в то время как гаплотип 691C-4b-894G обладает протективным эффектом ($OR=0,78$, $CI: 0,61-1,00$).

При анализе частот гаплотипов гена *MTHFR* было обнаружено повышение частоты гаплотипа 677T-1298C у больных гестозом по сравнению с контрольной группой ($p=0,0024$). Кроме того, анализ неравновесия по сцеплению между маркерами C677T и A1298C показал тесное сцепление между этими полиморфизмами у больных ($D'=0,91$; LOD балл – 4,46; $r^2=0,08$) и слабую ассоциацию в контрольной группе ($D'=0,53$; LOD балл – 0,8; $r^2=0,03$).

Таким образом, в якутской популяции показана ассоциация с гестозом трех гаплотипов гена *NOS3*: два из которых (691C-4b-894T и 691T-4b-894G) значительно повышают риск развития данной патологии и один (691C-4b-894G) обладает протективным эффектом. При

анализе частот гаплотипов гена *MTHFR* найдена ассоциация с гестозом гаплотипа 677T-1298C.

Анализ ассоциаций с патогенетически значимыми количественными признаками

Обнаружена статистически значимая ассоциация генотипа 4a/4a гена *NOS3* с низкой массой тела новорожденных ($992,00 \pm 812,02$ г) по сравнению с носителями генотипа 4a/4b и 4b/4b ($2433,00 \pm 256,78$ г и $2869,30 \pm 75,72$ г соответственно), также у носителей генотипа 4a/4a отмечено повышение общего белка в сыворотке крови по сравнению с генотипами 4a/4b и 4b/4b. При анализе уровня протромбинового времени (ПТВ) наблюдалась ассоциация генотипов полиморфизма VNTR гена *NOS3* с вариабельностью данного показателя. Хотя средние значения ПТВ для всех генотипов находились в пределах референтных границ, минимальное протромбиновое время было выявлено у носителей генотипа 4b/4b (табл. 4).

Таблица 4

Ассоциация полиморфизма VNTR гена *NOS3* с вариабельностью показателей веса новорожденного, протромбинового времени и общего белка в крови

VNTR (<i>NOS3</i>)	Вес новорожденного, г	ПТВ, сек	Общий белок, г/л
AA	$992,00 \pm 812,02$	$12,70 \pm 8,56^*$	$73,70 \pm 6,35$
AB	$2433,00 \pm 256,78^*$	$13,48 \pm 2,85^*$	$56,43 \pm 2,25^*$
BB	$2869,30 \pm 75,72^*$	$11,98 \pm 0,77$	$56,57 \pm 0,74^*$

Примечание. * – Статистически значимое отличие, полученное при сравнении индивидов с различными генотипами по критерию Манна-Уитни.

Статистически значимая вариабельность ПТВ в зависимости от генотипа была показана также для маркера -675 4G/5G гена *PAI-1*. У носителей генотипа 5G/5G было отмечено удлинение ПТВ по сравнению с генотипами 4G/4G и 4G/5G. Кроме того, для носителей генотипа 5G/5G гена *PAI-1* был отмечен высокий индекс массы тела по сравнению с носителями генотипов 4G/4G и 4G/5G (табл. 5).

Таблица 5

Ассоциация полиморфизма 4G/5G гена *PAI-1* с вариабельностью показателей индекса массы тела и протромбинового времени

-675 4G/5G (<i>PAI-1</i>)	ИМТ, кг/м ²	ПТВ, сек
4G/4G	$27,81 \pm 0,56$	$11,21 \pm 0,98^*$
4G/5G	$29,74 \pm 0,65^*$	$11,40 \pm 1,10^*$

5G/5G	30,40±1,58*	23,80±2,8
-------	-------------	-----------

Примечание. * – Статистически значимое отличие, полученное при сравнении индивидов с различными генотипами по критерию Манна-Уитни.

При анализе исходов родов в группе беременных с гестозом, показано, что у носителей генотипа AA по гену *LEP* G19A статистически значимо чаще рождались дети с более низким весом (1267,50±577,17 г) и с низкой оценкой по шкале Апгар (4,00±0,86 балла) (табл. 6).

Таблица 6

Ассоциация полиморфизма G19A гена *LEP* с вариабельностью показателей веса новорожденного и оценкой по шкале Апгар

G19A (<i>LEP</i>)	Вес новорожденного, г	Оценка по Апгар, баллы
AA	1267,50±577,17	4,00±0,86
AG	2723,12±117,81*	6,58±0,18*
GG	2918,41±96,87*	6,86±0,14*

Примечание. * – Статистически значимое отличие, полученное при сравнении индивидов с различными генотипами по критерию Манна-Уитни.

У беременных с генотипом D/D полиморфизма гена *ACE* отмечается повышение уровня гематокрита до 32,00±0,80 % (рис. 2).

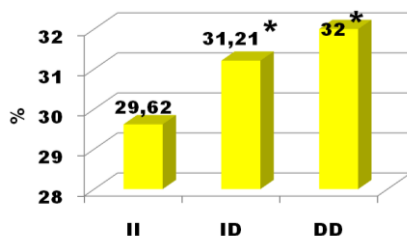


Рис. 2. Вариабельность значения гематокрита в зависимости от генотипа полиморфизма I/D гена *ACE* у беременных с гестозом. * – Статистически значимое отличие, полученное при сравнении индивидов с различными генотипами по критерию Манна-Уитни.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о роли аллельных вариантов генов *NOS3*, *PAI-1*, *ACE*, *LEP* в вариабельности количественных и качественных, патогенетически значимых для гестоза признаков и показателей состояния новорожденных.

В настоящей работе также был проведен анализ ассоциаций исследованных полиморфных маркеров в группах с гестозом с различной

сочетанной патологией. Все обследованные пациентки были разделены на 5 подгрупп в зависимости от наличия фоновых заболеваний: I подгруппу составили пациентки с анемиями (113 человек), ко II подгруппе (85 человек) отнесены женщины с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ), III группу составили 180 пациенток с заболеваниями мочеполовой системы, в IV группу (113 человек) вошли женщины с гинекологическими заболеваниями и в V группу были включены 36 беременных с нарушением жирового обмена.

При анализе частот генотипов и аллелей полиморфизма C691T гена *NOS3* в исследуемых группах наблюдались статистически значимые различия. Так, частота аллеля 691T была выше во всех подгруппах по сравнению с контрольной группой: у больных с развитием гестоза на фоне заболеваний сердечно-сосудистой ($p=0,02$) и мочеполовой ($p=0,008$) систем, гинекологических заболеваний ($p=0,03$) и нарушений жирового обмена ($p=0,02$). У беременных с гестозом на фоне заболеваний мочеполовой системы ($p=0,024$) и нарушений жирового обмена ($p=0,04$) было отмечено повышение частоты гетерозигот и гомозигот по аллелю 691T в сравнении с контрольной группой.

Статистически значимое увеличение частоты как гомозигот 894TT, так и гетерозигот 894GT полиморфизма G894T гена *NOS3* было отмечено в подгруппе с заболеваниями CCC ($p=0,003$), почек ($p=0,0003$) и гинекологическими заболеваниями ($p=0,006$). Аналогичные результаты получены и для аллеля 894T для подгрупп с заболеваниями CCC ($p=0,0006$), мочеполовой системы ($p=0,0002$) и гинекологическими заболеваниями ($p=0,001$).

По полиморфному варианту 4G/5G гена *PAI-1* выявлено повышение частоты генотипа 4G/4G в подгруппах с заболеваниями сердечно-сосудистой ($p=0,004$) и мочеполовой ($p=0,02$) систем. Частота аллеля 4G была выше в подгруппах с заболеваниями CCC ($p=0,0009$) и с заболеваниями почек ($p=0,005$).

По другим изученным полиморфизмам C677T, A1298C (*MTHFR*), C704T (*AGT*), I/D (*ACE*), G1691A (*FV*) и A1166C (*AGT1R*) ассоциаций с развитием гестоза на фоне сочетанной патологии у якутов не найдено. В подгруппе с развитием гестоза на фоне нарушений жирового обмена отмечалось повышение частоты генотипа AA гена *LEP* в 3 раза по сравнению с контрольной группой, однако данные различия не были статистически значимыми. Возможно, это обусловлено небольшим объемом выборки пациентов в данной подгруппе (36 человек), который не позволяет сделать окончательный вывод об ассоциации патологического генотипа AA гена лептина с ожирением.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В основу проведенного исследования вклада изученных генов в формирование предрасположенности к гестозу впервые был положен комплексный подход изучения этой тяжелой патологии беременности у якутов. Он заключался в анализе клинических особенностей течения беременности с гестозом, исхода родов и состояния новорожденных, в поиске ассоциаций генетических маркеров с развитием гестоза и в изучении ассоциации полиморфизма генов с патогенетическими значимыми параметрами гестоза.

Показано, что основной особенностью гестоза в якутской популяции является его сочетание с анемией средней и тяжелой степеней. Дополнительными факторами становятся первая беременность в возрастных группах 15-19 и 30-34 года, гестоз в анамнезе, экстрагениальная патология: вегетососудистая дистония по гипертоническому типу, хронический пиелонефрит, избыточная масса тела и гинекологические заболевания. Анализ лабораторных данных показал, что в клиническом анализе крови беременных с гестозом имела выраженная анемия.

Получены данные о важной роли определенных аллельных вариантов генов *NOS3*, *PAI-1*, *LEP* в развитии гестоза у якутов. Показано, что полиморфные варианты C691T, G894T гена *NOS3*, -675 4G/5G гена *PAI-1* обуславливают общую подверженность к развитию гестоза и вовлечены в разные клинические формы заболевания. Аллель 691T полиморфного варианта C691T гена *NOS3* ассоциирован с гестозом легкой и среднетяжелой форм, для генотипа CT выявлена тенденция к ассоциации с легкой формой гестоза. Генотип 894GT полиморфизма G894T гена *NOS3* ассоциирован с гестозом легкой и тяжелой форм, генотип 894TT - со среднетяжелой и тяжелой формами, а аллель 894T - с гестозом всех степеней тяжести. Показан вклад маркера -675 4G/5G гена *PAI-1* в структуру наследственной предрасположенности к развитию гестоза в якутской популяции: генотип 4G/4G и аллель 4G ассоциированы со всеми формами гестоза, кроме среднетяжелой. Найдены ассоциация аллеля А полиморфного варианта G19A гена *LEP* и тенденция к ассоциации генотипа AA с тяжелым течением гестоза.

Анализ распределения сочетаний генотипов полиморфных маркеров, ассоциированных с гестозом, продемонстрировал, что носительство варианта C691C-G894T-4G/4G значительно повышает риск разви-

тия гестоза, в то время как варианты сочетаний C691C-G894G-4G/5G и C691C-G894G-5G/5G обладают протективным эффектом.

Дополнительным подтверждением полученных ассоциаций генотипов изученных полиморфизмов с развитием гестоза в настоящем исследовании являются данные по взаимосвязи аллельных вариантов генов с патогенетически значимыми для гестоза признаками и показателями состояния новорожденных: у носителей генотипа 4a/4a по гену *NOS3* чаще рождались дети с низкой массой тела, наблюдалось удлинение ПТВ. Для носителей генотипа 4b/4b отмечено повышение уровня общего белка в крови. Для пациенток с гестозом, гомозиготных по аллелю 5G гена *PAI-1*, был отмечен высокий ИМТ и характерно удлинение ПТВ. У больных гестозом с генотипом I/I по гену *ACE* наблюдается снижение гематокрита. Генотип AA гена *LEP* ассоциирован с низкой массой тела новорожденного и со снижением оценки по шкале Апгар.

Показана ассоциация с гестозом трех гаплотипов гена *NOS3*: два из которых (691C-4b-894T и 691T-4b-894G) значительно повышают риск развития данной патологии и один (691C-4b-894G) обладает протективным эффектом. Кроме того с гестозом в якутской популяции ассоциирован гаплотип 677T-1298C гена *MTHFR*.

Найдены ассоциации полиморфизмов C691T, G894T гена *NOS3* и 4G/5G гена *PAI-1* с развитием гестоза на фоне экстрагенитальной патологии: аллель 691T полиморфизма C691T гена *NOS3* вносит вклад в развитие сочетанного гестоза с заболеваниями сердечно-сосудистой и мочеполовой систем, нарушениями жирового обмена и гинекологическими заболеваниями. У гетерозигот и гомозигот по аллелю 691T выявлена ассоциация с гестозом на фоне заболеваний мочеполовой системы и нарушений жирового обмена. Аллель 894T, гетерозиготы и гомозиготы по аллелю 894T полиморфизма G894T гена *NOS3* связаны с развитием гестоза в сочетании с заболеваниями почек, CCC и гинекологическими заболеваниями. Аллель 4G, гомозиготы по аллелю 4G гена *PAI-1* ассоциированы с развитием гестоза на фоне заболеваний почек и CCC.

Выявленные функционально значимые варианты генов, ассоциированные с наследственной предрасположенностью к развитию гестоза в зависимости от степени тяжести и наличия сопутствующей патологии, с патогенетически важными признаками гестоза и показателями состояния новорожденного, дают возможность оценить молекулярные основы патогенеза, выявить роль тех или иных факторов в развитии заболевания и полиморфизма его клинических форм.

ВЫВОДЫ

1. Особенность клинического течения гестоза в якутской популяции выражается в его сочетании с анемией средней и тяжелой степеней. В качестве дополнительных факторов выступают: первые роды в возрастных группах 15-19 и 30-34 года, наличие гестоза в анамнезе, экстрагенитальная патология (вегетососудистая дистония по гипертоническому типу, хронический пиелонефрит, избыточная масса тела, гинекологические заболевания).
2. Установлена функциональная значимость аллельных вариантов генов *NOS3* (полиморфизмы C691T, G894T), *PAI-1* (полиморфизм -675 4G/5G), *LEP* (полиморфный вариант G19A) в развитии гестоза в якутской популяции. Сочетание генотипов C691C-G894T-4G/4G по генам *NOS3*, *PAI-1* значительно увеличивает риск развития гестоза, в то время как варианты сочетаний C691C-G894G-4G/5G и C691C-G894G-5G/5G обладают протективным эффектом.
3. Гаплотипы 691C-4b-894T и 691T-4b-894G, образованные тремя полиморфизмами гена *NOS3* (C691T, VNTR 4a/4b, G894T) и гаплотип 677T-1298C, образованный полиморфизмами C677T и A1298C гена *MTHFR*, являются предрасполагающими к развитию гестоза, а предковый гаплотип 691C-4b-894G обладает протективным эффектом.
4. Выявлена ассоциация определенных аллельных вариантов генов с качественными, количественными патогенетически значимыми для гестоза признаками и показателями состояния новорожденных: полиморфизм 4a/4b гена *NOS3* - с весом новорожденного, с вариабельностью общего белка крови и ПТВ; ген *PAI-1* (4G/5G) связан с индексом массы тела, ПТВ; ген *ACE* (I/D) – с уровнем гематокрита; ген *LEP* (G19A) – с весом новорожденного и оценкой по шкале Апгар.
5. Выявлены различия в структуре наследственной компоненты подверженности к развитию гестоза на фоне сочетанной патологии: гестоз на фоне сердечно-сосудистой патологии ассоциирован с полиморфными вариантами C691T и G894T гена *NOS3* и 4G/5G гена *PAI-1*, гестоз на фоне заболеваний мочеполовой системы с маркерами C691T, G894T гена *NOS3* и 4G/5G гена *PAI-1*, гестоз на фоне гинекологических заболеваний с полиморфизмами гена *NOS3*

(С691Т, G894Т), гестоз на фоне нарушений жирового обмена с аллельным вариантом С691Т гена NOS3.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Павлова К. К.**, Трифонова Е. А., Готовцева Л. В., Павлов Ф. В., Максимова Н. Р., Филиппова Р. Д., Степанов В. А. Клинические особенности гестоза в якутской популяции // Якутский медицинский журнал. 2011. № 2 (34). С. 86-89.
2. Trifonova E., Gabidulina T., **Pavlova K.**, Stepanov V. Association genes for angiogenic factors and hereditary thrombophilia with preeclampsia in Russian and Yakut populations // Eur. J. Hum. Genet. 2011. Abstr. V. 19. Suppl. 2. P. 315.
3. Трифонова Е. А., **Павлова К. К.**, Габидулина Т. В., Агаркова Т. А., Степанов В. А. Роль факторов наследственной тромбофилии в развитии гестоза в якутской и русской популяциях // Вестник Новосибирского государственного университета. 2011. Серия: Биология, клиническая медицина. Т. 9, выпуск 2. С. 265-266.
4. **Павлова К. К.**, Трифонова Е. А., Готовцева Л. В., Максимова Н. Р., Ноговицына А. Н., Степанов В. А. Роль полиморфизмов генов *eNOS*, *ACE* и *MTHFR* в развитии гестоза в якутской популяции // Якутский медицинский журнал. № 3 (31). 2010. С. 28-31.
5. **Павлова К. К.**, Трифонова Е. А., Готовцева Л. В., Степанова В. А. Полиморфизм генов-кандидатов гестоза в якутской популяции // Медицинская генетика: материалы VI Съезда Российского общества медицинских генетиков. Ростов-на-Дону, 2010. С. 136-137.
6. **Павлова К. К.**, Трифонова Е. А., Готовцева Л. В., Степанов В. А. Роль полиморфных вариантов генов, участвующих в регуляции функций эндотелия и сосудистой системы в развитии гестоза в якутской популяции // Современные технологии в акушерстве и гинекологии. Перспективы развития акушерско-гинекологической помощи в рамках концепции развития здравоохранения РФ до 2020 г.: материалы Межрегиональной научно-практической конференции. Якутск, 2010. С. 14-15.

Список сокращений

ИМТ – индекс массы тела

САД – систолическое артериальное давление

ДАД – диастолическое артериальное давление

ПТВ – протромбиновое время

ССС – сердечно-сосудистая система