

Молекулярно-генетический анализ полиморфных маркеров генов, ответственных за функционирование факторов эндотелиальной системы в связи с осложненным протеканием беременности*

Спиридонова М.Г.¹, Трифонова Е.А.¹, Фадюшина С.В.¹, Диденко Л.И.¹,
Еремина Е.Р.¹, Минайчева Л.И.¹, Назаренко Л.П.¹, Соколова Т.Ю.², Агаркова Л.А.³,
Габитова Н.А.³, Федоренко О.А.³, Белова Н.Г.³, Степанов В.А.¹, Пузырев В.П.¹

¹ — ГУ НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН, Томск

² — ГУ муниципальное лечебно-профилактическое учреждение родильный дом №3 им. Н. Семашко, Томск

³ — ГУ НИИ акушерства, гинекологии и перинатологии

В рамках исследования полиморфизма генов, ответственных за функционирование отдельных факторов эндотелиальной системы, были изучены частоты аллельных вариантов генов метилентетрагидрофолатредуктазы, ангиотензинконвертирующего фермента и эндотелиальной синтазы оксида азота. Гестоз легкой степени тяжести связан с генетическими маркерами С677Т и А1298С гена МТНFR. Найдены ассоциации полиморфных вариантов С677Т и А1298С гена МТНFR и D-аллеля гена ACE со среднетяжелой и тяжелой формами гестоза. По локусу А1298С наблюдалось повышение частоты мутантного генотипа (СС) в зависимости от степени тяжести заболевания (гестоза).

Введение

В современном мире, несмотря на высокий уровень медицинских технологий, ежегодно 500 тыс. женщин погибают от причин, связанных с беременностью и родами [15]. Вместе с тем, успехи молекулярной биологии, генетики позволяют сегодня с принципиально новых позиций оценивать причины осложнений беременности и вносить коррективы в тактику оказания помощи женщинам, ждущим ребенка. Среди заболеваний с выраженным генетическим компонентом, развивающихся в ходе беременности, важнейшее место занимают гестозы и невынашивание беременности. Одним из тяжелых осложнений гестации является гестоз, частота которого в России составляет 12—20% [1, 5]. Невынашивание беременности — серьезная проблема акушерства и перинатологии. Частота данного заболевания в нашей стране составляет от 10 до 25%, в том числе 5—10% приходится на преждевременные роды [6, 8].

В последнее время в качестве важнейших факторов разнообразных осложнений гестации стали рассматриваться эндотелиальные повреждения и генетические формы тромбофилии [3, 7, 11]. В данной работе исследуется полиморфизм генов, ответственных за функционирование факторов эндотелиальной системы: метилентетрагидрофолатредуктазы, ангиотензинконвертирующего фермента и эндотелиальной синтазы оксида азота. Выявление аллельных вариантов генов-кандидатов, предрасполагающих к развитию эндотелиальной дисфункции и наследственной тромбофилии и, несомненно, играющих роль в патогенезе гестоза и невынашивания беременности, поможет в определении принадлежности к группе риска и послужит эффективной профилактике этих тяжелых патологий.

Материалы и методы

Были изучены частоты аллельных вариантов генов метилентетрагидрофолатредуктазы (*МТНFR*) — два полиморфных варианта: С677Т в экзоне 4 и А1298С в экзоне 7;

эндотелиальной NO-синтазы (*eNOS*) — полиморфизм 4a/4b в интроне 4 (четыре и пять 27-нуклеотидных повторов соответственно); и ангиотензинконвертирующего фермента (*ACE*) — инсерционно-делеционный полиморфизм 287 п.н. в интроне 16.

Обследованы 142 женщины с осложненным протеканием гестации: 74 беременные женщины, проходившие лечение по поводу гестоза, и 68 женщин, имевших в анамнезе невынашивание беременности. Группа пациенток с гестозом была неоднородной как по степени тяжести гестоза, так и по наличию перенесенных и сопутствующих фоновых заболеваний. У 41 пациентки не было отмечено какой-либо сопутствующей патологии («чистый» гестоз). У 33 беременных диагностировали сочетанный гестоз различных степеней тяжести на фоне экстрагенитальных заболеваний: вегетососудистой дистонии по гипертоническому типу, хронического пиелонефрита, ожирения, метаболического синдрома, гипертонической болезни. В работе применяли отечественную классификацию гестоза (водянка беременной, нефропатия легкой, средней, тяжелой степеней, преэклампсия, эклампсия). Оценку степени тяжести гестоза проводили по балльной шкале Гоеске в модификации Г.М. Савельевой. При величине индекса до 7 баллов ставили диагноз *нефропатия легкой степени*, 8—11 баллов — *нефропатия средней тяжести*, 12 баллов и более — *нефропатия тяжелой степени* [2]. Контрольную группу (43 чел.) составили недавно родившие женщины с физиологически протекавшей беременностью.

В группу с невынашиванием беременности вошли 68 женщин, из них 46 чел. — с диагнозом *привычное невынашивание беременности* и 22 чел. — с *невынашиванием беременности неясного генеза*. Пациентки были обследованы для исключения урогенитальных инфекций и хромосомных аномалий. У женщин с невынашиванием беременности методом иммуноферментного анализа было определено содержание гомоцистеина в крови.

* Данная работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантом РГНФ №04-06-00381а

У обследованных индивидуумов была выделена ДНК, проамплифицированы интересующие полиморфные локусы (методом ПЦР) с последующим рестрикционным анализом с помощью специфических эндонуклеаз: *Hinf* I — для полиморфного варианта С677Т и *Mbo* II — для локуса А1298С гена *MTHFR*. Полиморфизм I/D гена *ACE* идентифицировали по двум фрагментам длиной 490 и 190 п.н. Фрагмент 490 п.н. указывал на присутствие полиморфной *Alu*-вставки, а фрагмент 190 п.н. — на ее отсутствие. Полиморфизм по числу 27-членных повторов в интроне 4 гена *NOS3* типировали по фрагментам длиной 420 и 393 п.н. Продукты амплификации и рестрикции анализировали с помощью электрофореза соответственно в 2%-ном агарозном и 8%-ном полиакриламидном гелях, окрашивая бромистым этидием.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакета статистических программ Statistica 6.0. Различие двух сравниваемых величин считалось достоверным при $p > 0,95$. Роль полиморфизма изучаемых генов в вариативности уровня гомоцистеина определяли путем однофакторного дисперсионного анализа.

Результаты

Частоты аллелей и генотипов всех изученных полиморфных вариантов, а также оценка их соответствия равновесию Харди—Вайнберга в исследуемых группах представлены в табл. 1. Частоты аллелей находились в диапазоне мировых значений. Распределение генотипов в большинстве случаев соответствовало равновесию Харди—Вайнберга и не наблюдалось лишь по локусу А1298С.

При сравнительном анализе полиморфизма С677Т выявлено достоверное повышение частоты генотипа ТТ в группе с невынашиванием беременности ($\chi^2=4,1$; $p < 0,05$), в группе женщин с гестозом ($\chi^2=8,39$; $p < 0,05$), в подгруппах с легкой формой, со среднетяжелой и тяжелой формами гестоза ($\chi^2=8,06$ и $5,84$ соответственно) по сравнению с контрольной группой. При попарном сравнении исследуемых групп (табл. 2) частоты аллелей по локусу С677Т гена *MTHFR* значительно различались в группах беременных с гестозом, пациенток с невынашиванием беременности и контрольной группе. При сравнении частот аллелей С и Т варианта С677Т в контрольной группе и подгруппах пациенток с различной степенью тяжести гестоза также наблюдались достоверные различия. В подгруппах как с легкой, так и со среднетяжелой и тяжелой формами гестоза отмечалась более высокая частота аллеля Т.

При анализе частот генотипов полиморфного варианта А1298С гена *MTHFR* в группе беременных с гестозом генотип СС встречался в 2,6 раза чаще, а в группе с невынашиванием беременности — в 2,8 раза чаще, чем в контрольной группе ($\chi^2=4,09$ и $4,72$ соответственно). Максимально высокая частота генотипа СС (42%) отмечалась в подгруппах со среднетяжелой и тяжелой формами гестоза (табл. 1). Сравнение частот аллеля 1298С в исследуемых группах выявило достоверно более высокие частоты данного аллеля в группах с невынашиванием беременности и гестозом. Более высокая частота аллеля С отмечалась в подгруппе женщин со среднетяжелой и тяжелой формами гестоза по сравнению с частотой данного аллеля в подгруппе с легкой формой и в группе контроля.

Таблица 1

Частоты аллелей и генотипов исследуемых полиморфных вариантов

Исследуемые группы и подгруппы	Исследуемый полиморфизм															
	С677Т (<i>MTHFR</i>)				А1298С (<i>MTHFR</i>)				I/D (<i>ACE</i>)				4a/b (<i>NOS3</i>)			
	Частоты генотипов				Частоты генотипов				Частоты генотипов				Частоты генотипов			
	ТТ	СТ	СС	Т	СС	АС	АА	С	DD	ID	II	D	4b/b	4a/b	4a/a	4a
Контрольная группа (n=43)	0	0,33	0,67	0,17	0,09	0,57	0,35	0,36	0,11	0,54	0,35	0,38	0,6	0,33	0,07	0,24
Группа с невынашиванием беременности (n=68)	0,09*	0,54	0,37*	0,3*	0,26*	0,26	0,48*	0,39*	0,16	0,47	0,37	0,4	0,55	0,43	0,02	0,23
Группа с гестозом (n=74)	0,19*	0,35	0,46*	0,37*	0,31*	0,30	0,39*	0,54*	0,29	0,40	0,31	0,49	0,58	0,39	0,03	0,23
Подгруппа с легкой формой гестоза (n=53)	0,19*	0,38	0,43	0,38*	0,17	0,26	0,57	0,3**	0,25	0,37	0,38	0,43*	0,60	0,38	0,02	0,21
Подгруппа со среднетяжелой и тяжелой формами гестоза (n=21)	0,19*	0,33	0,48	0,36*	0,42*	0,29	0,29*	0,57*	0,38*	0,48	0,14*	0,62*	0,52	0,43	0,05	0,26

Примечание. * — достоверность различий частот аллелей и генотипов при сравнении исследуемых групп с контрольной группой ($p < 0,05$); n — количество индивидуумов в группе

Таблица 2

Сравнение исследуемых групп по частоте изучаемых аллелей

Сравниваемые группы и подгруппы	С677Т (<i>MTHFR</i>)	А1298С (<i>MTHFR</i>)	I/D (<i>ACE</i>)	4a/b (<i>NOS3</i>)
Контрольная группа / Группа женщин с невынашиванием беременности	$\chi^2=8,60$ ($p < 0,05$)	$\chi^2=8,13$ ($p < 0,05$)	$\chi^2=0,04$ ($p > 0,05$)	$\chi^2=0,001$ ($p > 0,05$)
Контрольная группа / Группа беременных с гестозом	$\chi^2=9,81$ ($p < 0,05$)	$\chi^2=7,45$ ($p < 0,05$)	$\chi^2=1,91$ ($p > 0,05$)	$\chi^2=0,001$ ($p > 0,05$)
Контрольная группа / Подгруппа женщин с легкой формой гестоза	$\chi^2=9,22$ ($p < 0,05$)	$\chi^2=2,34$ ($p > 0,05$)	$\chi^2=0,86$ ($p > 0,05$)	$\chi^2=0,001$ ($p > 0,05$)
Контрольная группа / Подгруппа женщин со среднетяжелой и тяжелой формами гестоза	$\chi^2=4,71$ ($p < 0,05$)	$\chi^2=16,43$ ($p < 0,05$)	$\chi^2=5,38$ ($p < 0,05$)	$\chi^2=0,001$ ($p > 0,05$)
Подгруппа женщин с легкой формой гестоза / Подгруппа женщин со среднетяжелой и тяжелой формами гестоза	$\chi^2=3,54$ ($p > 0,05$)	$\chi^2=4,83$ ($p < 0,05$)	$\chi^2=4,45$ ($p < 0,05$)	$\chi^2=0,001$ ($p > 0,05$)

Генотип DD гена *ACE* в группе больных гестозом встречался в 2,6 раза чаще (29%), чем в контрольной группе (11%), хотя данное различие не является достоверным. Достоверно более высокая частота генотипа DD наблюдалась в подгруппе со среднетяжелой и тяжелой формами гестоза в сравнении с контрольной группой ($\chi^2=4,82$). Во всех остальных группах частоты генотипов были примерно одинаковы (табл. 1). Сравнительный анализ частоты аллеля D в исследованных группах достоверных различий не выявил.

При сравнительном анализе во всех группах частот генотипов и аллелей по полиморфизму 4a/4b гена *eNOS* значимых различий также не найдено.

По показателю генного разнообразия — PIC (информационное содержание полиморфизма), дающего представление, насколько информативен выбранный маркер, все изученные генетические маркеры (C677T, 1298C, I/D, 4a/4b) оказались умеренно информативными (0,319; 0,331; 0,366; 0,292 соответственно).

По данным дисперсионного анализа, вариабельность уровня общего гомоцистеина в группе женщин с невынашиванием беременности ассоциирована с определенным генотипом по локусу C677T гена *MTHFR* (табл. 3). Содержание общего гомоцистеина в сыворотке крови во всех исследованных группах было в пределах референтных значений (5—15 мкМ/л). Носители генотипа TT имели достоверно наиболее высокий уровень общего гомоцистеина (13,94 мкМ/л), минимальный уровень гомоцистеина наблюдался у гомозигот по аллелю C (6,19 мкМ/л), а гетерозиготы занимают промежуточное положение (9,11 мкМ/л). Взаимосвязи содержания общего гомоцистеина в сыворотке крови с генотипом полиморфного варианта A1298C гена *MTHFR* выявлено не было (табл. 3).

Обсуждение результатов

Наблюдаемое несоответствие равновесию Харди—Вайнберга по локусу 1298 либо может быть обусловлено действием случайных факторов, либо отражать специфику популяционно-генетических процессов в популяции, которая может быть связана как с характеристиками ее генетико-демографической структуры, так и с функциональной значимостью данного локуса — ген *MTHFR* вовлечен в патогенез гестоза, и генетический маркер, сцепленный с этим геном, не может быть селективно нейтральным полиморфизмом. В данном случае несоответствие равновесию Харди—Вайнберга приводит к необходимости более детального рассмотрения частот генотипов в изучаемых группах. Частоты гетерозиготных (CA) генотипов сравнимы во всех группах. Самая низкая частота «мутантного» генотипа CC

наблюдалась в контрольной группе (0,09). С нарастанием тяжести заболевания (гестоза) частота CC увеличивается с 0,17 в группе с легкой формой гестоза до 0,42 в группе с тяжелой формой. Такое распределение частот, вероятно, означает строгую связь мутантного аллеля C1298 с патологией. Результат диктует необходимость более углубленного изучения этого полиморфизма в связи с гестозами.

По результатам нашего исследования гестоз и невынашивание беременности достоверно ассоциировали с мутацией 677T. Более высокая частота аллеля T и генотипа TT наблюдалась во всех исследованных группах по сравнению с контрольной (табл. 1). Мутация 677T представляет интерес в связи с патологическими состояниями, ведущими к накоплению гомоцистеина в организме и повреждению эндотелия сосудов. По данным литературы, по поводу ассоциации полиморфизма C677T гена *MTHFR* с нарушением нормального течения беременности не выявлено достоверных различий по большинству параметров гемостаза между пациентками с гестозом, носителями мутации C677T в гене *MTHFR* по сравнению с женщинами с гестозом, не имеющими этой мутации [24]. Показано, что в 2 раза чаще мутация C677T присутствует в группе женщин с гестозом, при этом гомозиготное состояние по этой мутации при гестозе встречается в 4 раза чаще, чем в контроле. Имеется выраженная тенденция к прямой зависимости частоты встречаемости мутации C677T от тяжести гестоза. Также есть сведения, что у беременных с гестозом значительно чаще, чем у не имевших осложнений, выявляются тромбофилические мутации: G1691A (Leiden) в генетическом локусе для фактора V, G20210A — для протромбина и C677T — для метилентетрафолатредуктазы [18]. Среди жительниц Вашингтона, а также в итальянской популяции не было найдено ассоциации между преэклампсией и полиморфизмом C677T [22]. Сербские ученые показали, что мутация гена *MTHFR* C677T является показателем риска венозного тромбоза в течение беременности и послеродовом периоде [19].

Некоторые авторы полагают, что наследственные тромбофилии могут приводить к привычному невынашиванию, гестозу и отслойке плаценты [11]. Генный полиморфизм вне свертывающего каскада может увеличивать риск тромбоза. Воспаление эндотелиальной выстилки в связи с повышением уровня гомоцистеина ассоциировано с повышением риска как венозного, так и артериального тромбоза. Среди некоторых групп населения полиморфизм, влияющий на обмен гомоцистеина, может встречаться с частотой до 20%. В случае наиболее часто встречающегося полиморфизма C677T *MTHFR* функционирование этого фермента замедляется еще больше вследствие снижения уровня фолиевой кислоты. Су-

Таблица 3

Полиморфные варианты C677T и A1298C гена <i>MTHFR</i> и вариабельность содержания общего гомоцистеина в сыворотке крови пациенток с невынашиванием беременности				
Генотипы		n	Содержание общего гомоцистеина в сыворотке крови, мкМ/л	Границы доверительного интервала
По локусу C677T гена <i>MTHFR</i>	CC	22	6,19±2,70	4,99—7,38
	CT	29	9,11±2,81*	8,04—10,18
	TT	5	13,94±2,68*	10,62—17,26
По локусу A1298C гена <i>MTHFR</i>	AA	14	9,68±4,10	7,31—12,05
	AC	28	7,91±3,01	6,74—9,09
	CC	14	8,06±3,75	5,89—10,23
Примечание. n — количество индивидуумов; F — критерий дисперсионного анализа; * — достоверность различий в сравнении с показателями контрольной группы (p<0,05)				

прессия доступности фолиевой кислоты, наблюдаемая при курении, может еще больше усилить «вредное действие» полиморфизма *MTHFR* на уровень гомоцистеина [15].

Полиморфизм A1298C гена *MTHFR* приводит к замене глутамина на аланин в регуляторном домене фермента, что сопровождается небольшим снижением его активности. В отличие от полиморфизма C677T, гетерозиготность и гомозиготность по мутации A1298C не сопровождаются повышением концентрации общего гомоцистеина в крови. Однако комбинация гетерозиготности аллелей 677T и 1298C сопровождается не только снижением активности фермента, но и повышением концентрации гомоцистеина в плазме и снижением уровня фолата, как это бывает при гомозиготности 677T [21]. В нашем исследовании аллель C полиморфизма A1298C достоверно ассоциировал с гестозом легкой, средней и тяжелой степеней и невынашиванием беременности. В группе беременных с гестозом и в группе с невынашиванием беременности генотип CC встречался чаще, чем в контрольной группе. При сравнении частот аллелей по локусу A1298C во всех группах с осложненным протеканием беременности наблюдались более высокие значения частоты аллеля C (табл. 2). Современные исследования дают основания полагать, что беременные с гестозом в анамнезе, а также при наличии в анамнезе привычного невынашивания или, если у их родственников были инсульты, инфаркты и тромбозы в возрасте до 50 лет, должны обследоваться с целью выявления генетически обусловленных форм тромбофилии, так как это поможет принять правильное решение по поводу фармакологической поддержки беременных или женщин, планирующих беременность. Некоторые авторы рассматривают в качестве возможного патогенетического механизма сосудистых осложнений гестации эндотелиальную дисфункцию, которая является predisposing фактором для развития артериальной гипертензии беременных [4].

Ангиотензинпревращающий фермент является одним из важнейших компонентов ренин-ангиотензиновой системы, осуществляющим конверсию ангиотензина I в ангиотензин II и инактивацию брадикинина, поэтому его роль в прогрессировании эндотелиальной дисфункции и вазоконстрикции несомненна. Данные о связи I/D-полиморфизма гена *ACE* с развитием гестоза противоречивы. Так, в работах китайских авторов показано значительное увеличение частоты аллеля D и генотипа DD у пациенток с гестозом, тогда как группой авторов из Польши выявлено некоторое увеличение частоты аллеля I у таких больных. Не обнаружено ассоциации данного полиморфизма гена *ACE* с поздним токсикозом и у японцев. Столь разноречивые данные, возможно, связаны с нечеткостью диагностических критериев отбора пациентов, межпопуляционными и межрасовыми различиями частот аллелей гена *ACE*. Аллель D преобладает в европейской, белой американской и австралийской популяциях, тогда как у китайцев и американских аборигенов значительно более распространен аллель I [17]. Согласно нашим данным, при анализе полиморфизма I/D гена *ACE* выявляется ассоциация развития тяжелой и среднетяжелой форм гестозов с наличием аллеля D (OR=2,61; 95% CI: 1,14—6,00). Аллель I гена *ACE* не ассоциирован с развитием гестоза и, возможно, даже обладает протективным действием. Известно, что уровень *ACE* в сыворотке у здоровых людей, гомозиготных по D-аллелю, почти в 2 раза выше, чем у гомозигот по I-аллелю и имеет среднее значение у гетерозигот. Во многих исследованиях выявлена ассоциация I/D-полиморфизма локуса *ACE* с различными сердечно-сосудистыми нарушениями: инфарктом

миокарда, гипертрофией левого желудочка, ишемической болезнью сердца, артериальной гипертензией и другими. В то же время артериальная гипертензия является одним из основных клинических симптомов и диагностических критериев гестоза, видимо, это обуславливает корреляцию гестоза с D-аллелем гена *ACE* [14, 16]. Среди патогенетических механизмов гестоза рассматриваются различные нарушения, в том числе эндотелиальная дисфункция, в развитии которой несомненно участие *ACE*. Повышение реактивности сосудов матери вследствие воздействия эндогенных прессорных субстанций может приводить к лабильности артериального давления (АД) и является причиной периферической вазоконстрикции, наблюдаемой при гестозе. Теории развития данной патологии строятся на предположении о нарушении баланса вазодилатирующих простаноидов и других прессорных систем, таких, как эндотелин и ангиотензин II, и наличии рецепторных нарушений с появлением аутоантител — агонистов AT1-рецепторов. Кроме того, наблюдается повреждение продукции NOS, NO-зависимой и независимой вазодилатации. Эндотелиальная дисфункция матери может быть также вызвана повышением уровня цитокинов, дефицитом витаминов и минералов или оксидативным стрессом. Установлено, что состояние беременности приводит к дисбалансу активности циркулирующих антиоксидантов и оксидантов в пользу последних. Может повышаться продукция свободных радикалов. Дисфункция эндотелия может проявляться не только расстройством сосудодвигательной его функции, но и нарушениями в системе гемостаза. Маркерами нарушения функции эндотелия можно считать повышение уровня фактора Виллебранда и тромбомодулина. При изучении уровня этих маркеров у больных артериальной гипертензией выяснилось, что больные с генотипом DD имеют достоверно более высокий их уровень по сравнению с больными с генотипом II [10, 20]. Также беременные, имеющие генотип DD, демонстрировали достоверное увеличение скорости и степени агрегации тромбоцитов по сравнению с женщинами-гетерозиготами по этому полиморфизму [13].

Эндотелиальная NO-синтаза (eNOS) участвует в синтезе оксида азота эндотелием и, следовательно, в регуляции сосудистого тонуса, кровотока и АД. Исследования показали, что генотипу 4b/b соответствует максимальный уровень базального NO, у людей с генотипом 4a/a уровень NO приблизительно в 2 раза ниже, гетерозиготы занимают промежуточное положение [19]. В работах наших соотечественников было продемонстрировано, что у гомозигот 4a/a отмечается более раннее начало и более тяжелое течение гестоза, более раннее появление отеков, протеинурии и гипертензии [13]. Делается предположение, что этот полиморфизм имеет особо важное значение на ранних сроках беременности. По данным зарубежных исследователей, полиморфизм в интроне 4 гена *eNOS* связан с повышенным риском гестоза. Среди пациенток с гестозом у носителей хотя бы одного аллеля 4a отмечалось более высокое АД, а у пациенток, имеющих оба мутантных аллеля, обнаружена связь с более ранним и более тяжелым гестозом. Этот эффект уменьшается по мере увеличения гестационного срока, и, возможно, данный полиморфизм играет максимальную роль только в ранние сроки беременности [12]. В нашей работе не найдено достоверных ассоциаций 4a/b-полиморфного варианта гена *eNOS* с гестозом и невынашиванием беременности (табл. 2). Некоторые авторы указывают на наличие взаимосвязи генотипа 4b/b с тяжелым чистым гестозом (нефропатия III степени и преэклампсия), а генотипа 4a/a — с легкой формой заболевания в сочетании с

артериальной гипертензией. Количество обследованных женщин с гестозом тяжелой степени в данном исследовании невелико (7 чел.), и вполне вероятно, что при увеличении этой категории больных можно выявить достоверные ассоциации с VNTR-полиморфизмом гена *eNOS*.

Наблюдаемое в работе достоверное повышение содержания общего гомоцистеина в сыворотке крови у женщин с невынашиванием беременности по сравнению со здоровыми, а также прямая корреляция значений уровня гомоцистеина с «дозой» аллеля Т в группе с невынашиванием беременности (табл. 3) согласуется с данными метаанализа 10 исследований Nelen с соавторами о повышении риска привычного невынашивания беременности при гипергомоцистеинемии в 3–4 раза, а при гомозиготной форме Т/Т (677Т) *MTHFR* — в 1,4 раза. Эти данные подтверждают значение гипергомоцистеинемии как независимого фактора риска при невынашивании беременности.

Список литературы

1. Аккер Л.В., Варшавский Б.Я., Ельчанинова С.А. и др. Показатели оксидантного и антиоксидантного статуса у беременных с гестозом // Акушерство и гинекология. — 2000. — №4. — С. 17–20.
2. Акушерство / Под ред. Г.М. Савельевой. — М.: Медицина, 2000. — 816 с.
3. Баймурадова С.М., Бицадзе В.О., Матвеева Т.Е. и др. АФС и генетические формы тромбофилии у беременных с гестозами // Акушерство и гинекология. — 2004. — №2. — С. 21–27.
4. Блошинская И.А., Паршина Т.А., Петричко Т.А. и др. Состояние эндотелийзависимой вазодилатации и атромбогенные свойства сосудистого эндотелия при неосложненной беременности у беременных с риском развития гестоза // Сб. научных трудов, посвященный 110-летию кафедры акушерства и гинекологии СГМУ. — Томск: STT, 2002. — С. 126–131.
5. Дегтева С.С. Эпидемиологические аспекты ОПГ-гестозов // Современные проблемы фундаментальной и клинической медицины. — Томск: СибГМУ, 1999. — С. 109–110.
6. Дуда В.И. Патологическое акушерство. — Минск: Вышэйшая школа, 2001. — 502 с.
7. Избранные лекции по акушерству и гинекологии / Под ред. А.Н. Стрижакова. — Ростов н/Д.: Феникс, 2000. — 512 с.
8. Кулаков В.И., Мурашко Л.Е. Преждевременные роды. — М.: Медицина, 2002. — 176 с.
9. Макаров О.В., Озолина Л.А., Шполянская Н.Ю. и др. Роль генетических факторов в развитии тромбофилии в акушерстве и гинекологии // Акушерство и гинекология. — 2000. — №4. — С. 7–9.
10. Малышева О.В., Мозговая Е.В., Демин Г.С. и др. Ассоциация полиморфных аллелей генов *ACE* и *eNOS* с развитием гестозов // Медицинская генетика. — 2003. — Т. 2. — №2. — С. 78–82.
11. Матвеева Т.Е., Бицадзе В.О., Баймурадова С.М. и др. Основные принципы ведения беременности у женщин с синдромом

потери плода и тромбофилией в анамнезе // Акушерство и гинекология. — 2003. — №4. — С. 26–30.

12. Мозговая Е.В., Малышева О.В., Иващенко Т.Э. и др. Полиморфизм генов, участвующих в регуляции функции эндотелия, и его связь с развитием гестоза // Медицинская генетика. — 2003. — Т. 2. — №7. — С. 324–330.

13. Мозговая Е.В., Малышева О.В., Иващенко Т.Э. и др. Эндотелиальная дисфункция при гестозе: патогенез, генетическая предрасположенность, диагностика и профилактика // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. — Новосибирск, 2004. — С. 110–135.

14. Мустафина О.Е., Тхарканова З.Н., Бикмеева А.М. и др. Полиморфизм гена ангиотензинпревращающего фермента и риск мультифакториальных заболеваний // Медицинская генетика. — 2002. — Т. 1. — №5. — С. 212–220.

15. Радзинский В.Е., Иткес А.В., Галина Т.В. и др. Корреляция различных форм гестоза с генотипом по гену *GP11a* β-цепи интегрин // Акушерство и гинекология. — 2001. — №6. — С. 53–57.

16. Рязанов А.С. Клинико-генетические аспекты развития гипертрофии миокарда левого желудочка // Российский кардиологический журнал. — 2003. — №2. — С. 43–47.

17. Шуцкая Ж.В., Егорова О.О., Надь Ю.Г. и др. Влияние инсерционно-делеционного полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента на развитие, прогрессирование и эффективность терапии диабетической нефропатии у больных сахарным диабетом типа 1 // Артериальная гипертензия. — 2004. — Т. 10. — №4. — С. 19–23.

18. Djordjevic V., Rakicevic L.J., Mikovic D. et al. Factor V Leiden, FII G20210A, MTHFR C677T mutations as risk factors for venous thrombosis during pregnancy and puerperium // Vojnosanit Pregl. — 2005. — Vol. 62. — P. 201–205.

19. Driul L., Damante G., D'Elia A. et al. Genetic thrombophilias and uterine artery Doppler velocimetry and preeclampsia // Int. J. Gynaecol. Obstet. — 2005. — Vol. 88. — P. 265–270.

20. Nakai K., Habano W., Fukushima N. et al. Ethnic differences of coronary artery disease-associated SNPs in two Israeli healthy populations using MALDI-TOF mass spectrometry // Gurwitz D. Life Sci. — 2004. — Vol. 75. — P. 1003–1010.

21. Sazci A., Ergul E., Bayulkem K. et al. Association of the C677T and A1298C polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase gene in patients with essential tremor in Turkey // Mov. Disord. — 2004. — Vol. 19. — P. 1472–1476.

22. Stanley-Christian H., Ghidini A., Sacher R. et al. Fetal genotype for specific inherited thrombophilias is not associated with severe preeclampsia // J. Soc. Gynecol. Investig. — 2005. — Vol. 12. — P. 198–201.

23. Wang X., Sim A., Badenhop R. et al. A smoking-dependent risk of coronary artery disease associated with a polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene // Nat. Med. — 1996. — Vol. 2. — P. 41–45.

24. Williams M.A., Sanchez S.E., Zhang C. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase 677 C→T polymorphism and plasma folate in relation to pre-eclampsia risk among Peruvian women // Matern. Fetal Neonatal Med. — 2004. — Vol. 15. — P. 337–344.

Molecular-genetics analysis of the polymorphic markers of the genes involved in endothelial system function in connection with abnormal pregnancy

Spiridonova M.G.¹, Trifonova E.A.¹, Fadushyna S.V.¹, Didenko L.I.¹, Eremina E.R.¹, Minaicheva L.I.¹, Nasarenko L.P.¹, Sokolova T.U.², Agarkova L.A.³, Gabitova N.A.³, Fedorenko O.A.³, Belova N.G.³, Stepanov V.A.¹, Pusyrev V.P.¹

¹ — Institute of Medical Genetics, Tomsk Scientific Center, Siberian Division, Russian Academy of Medical Sciences
Tomsk, 634058, Russia. Fax: (3822) 51-37-44. E-mail: maria.spiridonova@medgenetics.ru

² — N. Semashko Maternity Hospital №3, Tomsk

³ — Institute of Obstetrics, Gynaecology and Perinatology, Tomsk

The frequencies of alleles of genes MTHFR, NOS3 and ACE in the frame of investigation of the polymorphisms of genes involved in endothelial system development were studied. Mild gestosis was to a lesser degree associated with genetic markers C677T and A1298C of MTHFR gene. The associations of C677T and A1298C polymorphisms of MTHFR gene and D-allele of ACE gene with medium and severe gestosis were detected. Increase in frequency of (CC) mutant genotype correlated with the severity of the gestosis.