

Ассоциация инсерционно-делеционного полиморфизма гена *ACE* с факторами циркулирующего отдела ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и функцией эндотелия микрососудов кожи при формировании гестоза

Радьков О.В., Калинин М.Н., Заварин В.В.

Association of insertion deletion polymorphism of the *ACE* gene with factors of circulating rennin-angiotensin-aldosterone system and endothelial function of skin microvassals in preeclampsia

Radkov O.V., Kalinkin M.N., Zavarin V.V.

Тверская государственная медицинская академия, г. Тверь

© Радьков О.В., Калинин М.Н., Заварин В.В.

Изучена ассоциация инсерционно-делеционного (*I/D*) полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента *ACE* (АПФ) с активностью АПФ, ренина в плазме крови и функцией эндотелия микрососудов кожи при гестозе. Носительство *DD*-генотипа полиморфизма *I/D* гена *ACE* при гестозе связано с наименьшей активностью ренина плазмы и эндотелийзависимой вазодилатацией, а наибольшая активность АПФ с аллелем *D*.

Ключевые слова: гестоз, эндотелиальная дисфункция, ангиотензинпревращающий фермент, ренин, полиморфизм генов.

The association of angiotensin-converting enzyme (*ACE*) insertion/deletion (*I/D*) gene polymorphism with plasma *ACE*, renin activity and endothelial function of skin microvassals were studied. Preeclamptic patients with the *DD* genotype of *ACE I/D* gene polymorphism have lowest plasma renin activity level and endothelium-dependent vasodilatation, *D* allele carriers have highest plasma *ACE* activity.

Key words: preeclampsia, endothelial dysfunction, angiotensin-converting enzyme, renin, gene polymorphism.

УДК 616.8-009.24-02:618.3:575.174.015.3:577.175.852

Введение

Гестоз является уникальным заболеванием у беременных с недостаточно изученным патогенезом и связан с крайне неблагоприятными перинатальными и акушерскими исходами. В ответ на локальную ишемию плаценты при аномальной инвазии ворсин хориона запускается механизм системного нарушения функции эндотелия — основного фактора формирования гестоза [1, 2]. Тканевая перфузия находится под влиянием циркулирующих и тканевых компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) [4]. При физиологической беременности уровни ренина и альдостерона прогрессивно увеличиваются при

незначительном снижении активности ангиотензинпревращающего фермента (АПФ, *ACE*). Нормальной гестации сопутствует уменьшение тканевой чувствительности к прессорным влияниям ангиотензина II, а нарушение этого механизма лежит в основе эндотелиальной дисфункции [3, 4, 6]. Установлено, что инсерционно-делеционный (*I/D*) полиморфизм гена *ACE* ассоциирован с риском возникновения гестоза, однако эти закономерности зависят от этнического состава популяции [9, 11, 14]. Количественные признаки фенотипов РААС, патогенетически значимых для гестоза, находятся под влиянием молекулярных вариантов генов [5, 7]. Однако остается неясным, как влияет *I/D*-полиморфизм гена *ACE* на уровень факторов цирку-

лирующего отдела РААС и проявление эндотелиальной дисфункции при осложнении беременности гестозом в популяции русских, проживающих на территории Тверской области.

Цель исследования — изучение ассоциации I/D-полиморфизма гена ACE с факторами циркулирующего отдела РААС и функцией эндотелия микрососудов кожи, патогенетически значимыми для формирования гестоза.

Материал и методы

Обследовано 196 беременных из популяции русских, проживающих в Тверской области, из которых 124 — больные гестозом и 72 — здоровые беременные (контрольная группа). Пациентки дали информированное письменное согласие на участие в исследовании, одобренное этическим комитетом Тверской государственной медицинской академии (г. Тверь). Срок гестации 28—38 нед. Средний возраст в группах ($27,6 \pm 4,3$) и ($25,7 \pm 3,5$) года соответственно ($p = 0,63$). Среднесуточное систолическое артериальное давление (АД) при гестозе составило ($132,5 \pm 2,7$) и ($109,8 \pm 3,5$) мм рт. ст. ($p = 0,04$), а среднесуточное диастолическое АД — ($81,1 \pm 1,99$) и ($65,4 \pm 0,9$) мм рт. ст. ($p = 0,03$) у больных и здоровых беременных соответственно.

Для оценки скоростных показателей кровотока в микрососудах кожи использовали постоянно-волновую высокочастотную ультразвуковую доплерографию с помощью прибора «Минимакс-Допплер-К» (ООО «СП-Минимакс», Россия). Анализировали показатель V_s — максимальную систолическую скорость кровотока по кривой максимальной скорости. Для оценки эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) использовали ишемическую пробу [2].

Для типирования полиморфизма I/D гена ACE выделение тотальной геномной ДНК пациенток из

100 мкл цельной венозной крови проводили сорбентным методом с использованием набора Diatom DNA Prep 100 (ООО «Лаборатория „Изоген“», Россия). I/D-полиморфизм Alu-повтора в 16-м интроне (rs4340) гена ACE типировали методом анализа полиморфизма длин амплификационных фрагментов с помощью набора реагентов «АмплиКит-АСЕ» (ООО «АмплиКит», Россия) с детекцией в агарозном геле. Активность АПФ и ренина в плазме крови определяли иммуноферментным методом.

Распределение генотипов проверяли на соответствие равновесию Харди—Вайнберга с помощью критерия χ^2 . Различия по частоте аллелей и генотипов между группами оценены критерием χ^2 . Риск развития гестоза выражен отношением шансов (ОШ) с 95%-м доверительным интервалом (ДИ). Статистическая значимость различий между группами по средним показателям для непрерывных переменных оценивалась при помощи t -критерия Стьюдента или однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим проведением множественных сравнений, включающих критерии Даннета для равных и неравных дисперсий. Уровень статистической значимости различий установлен при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Распределение генотипов полиморфизма I/D гена ACE соответствовало закону Харди—Вайнберга (в группе контроля $\chi^2 = 3,20$; $df = 1$; $p = 0,07$, среди больных $\chi^2 = 0,04$; $df = 1$; $p = 0,85$). Исследована ассоциация аллелей и генотипов изучаемого полиморфизма с гестозом (табл. 1). При расчете доминантной модели наследования (генотип II против генотипов с аллелем D) выяснено, что аллель D полиморфизма I/D гена ACE ассоциирован с гестозом, а генотип II связан со снижением риска этого осложнения беременности.

Таблица 1

Частота генотипов и аллелей полиморфизма I/D гена ACE у здоровых и больных гестозом беременных

Показатель	Здоровые, % (абс.)	Больные, % (абс.)	Критерий χ^2	p	ОШ (95%-й ДИ)
Генотип II	27 (37,5)	29 (23,4)	5,87, $df = 2$	0,05	0,51 (0,27—0,96)
Генотип ID	25 (34,7)	63 (50,8)			1,94 (1,07—3,54)
Генотип DD	20 (27,8)	32 (25,8)			0,90 (0,47—1,74)
Аллель I	79 (54,9)	121 (48,8)	1,34, $df = 1$	0,25	0,78 (0,52—1,18)
Аллель D	65 (45,1)	127 (51,2)			1,28 (0,84—1,93)
Генотип II	27 (37,5)	29 (23,4)	4,45, $df = 1$	0,04	0,51 (0,27—0,96)

Генотип ID+DD	45 (62,5)	95 (76,6)		1,97 (1,04—3,70)
Генотип II+ID	52 (72,2)	92 (74,2)	0,09, $df=1$	1,11 (0,57—2,13)
Генотип DD	20 (27,8)	32 (25,8)	0,76	0,90 (0,47—1,74)

Вместе с тем исследования, проведенные в больших популяциях, установили строгую зависимость между носительством генотипа DD изучаемого полиморфизма и возникновением гестоза [11, 14]. Однако не все авторы подтверждают связь полиморфизма I/D гена ACE и риском гестоза, что может быть связано с этническим составом популяции [9].

Наибольшая активность АПФ у здоровых беременных ассоциирована с генотипом DD, а наименьшие значения отмечены у носителей генотипа II при промежуточных показателях у гетерозигот (генотип ID) (табл. 2).

Активность АПФ возрастает при гестозе, а в подгруппах генотипов ID и DD ее значения статистически значимо превысили показатели, полученные в контрольной группе ($p < 0,05$). Характер распределения показателей активности АПФ в подгруппах генотипов I/D полиморфизма гена ACE при гестозе характеризовался ассоциацией первого с аллелем D. Активность АПФ в условиях гестоза является лимитирующей для всей РААС и прямо влияет на концентрацию ангиотензина II [4]. Вместе с тем при гестозе образуются аутоиммунные антитела к рецепторам ангиотензина II с большей аффинностью к последним по сравнению с нормальным лигандом. В этой связи аутоиммунный процесс дополняет увеличение уровней АПФ и ангиотензина II при формировании эндотелиальной дисфункции [10, 16].

Активность ренина у здоровых беременных во всех подгруппах генотипов I/D-полиморфизма гена ACE была выше, чем у больных гестозом ($p < 0,05$). Считается, что активность ренина в течение нормальной беременности прогрессивно увеличивается, обеспечивая гестационную адаптацию гемодинамики [12].

Активность ренина у больных гестозом снижается, причем наибольшее уменьшение активности этого фактора ассоциировано с генотипом DD полиморфизма I/D гена ACE ($p < 0,05$). Несмотря на то что при гестозе отмечается депрессия активности ренина плазмы, в плацентарной ткани экспрессия его гена возрастает при реципрокном торможении активности циркулирующего отдела РААС [4, 15]. Установленная

зависимость между активностью ренина и АПФ с I/D-полиморфизмом гена ACE может быть связана с уровнем ангиотензина II в плазме крови. Концентрация последнего является основным тормозящим фактором циркулирующего отдела РААС, а уменьшение активности ренина ассоциируется со снижением скоростных характеристик кровотока в маточных артериях [12].

Показатели ЭЗВД при проведении ишемической пробы у здоровых беременных были выше, чем при гестозе, а время достижения фоновых скоростей кровотока в постишемическом периоде составило в среднем 4 мин ($p < 0,05$) (табл. 3). Подобные свойства, характеризующие реактивную гиперемия, связаны с высокой активностью нейрогенных и циркулирующих сосудорасширяющих стимулов на фоне уменьшенной чувствительности кожных сосудов к вазопрессорам при нормальной гестации [2, 6]. Различий показателей тканевой перфузии между подгруппами генотипов I/D-полиморфизма гена ACE среди здоровых беременных не установлено. Вместе с тем у здоровых небеременных женщин отмечается выраженная зависимость между активностью АПФ и функцией эндотелия [7].

Фоновые скорости в микрососудах кожи при гестозе достоверно не различались от таковых у здоровых беременных. Напротив, показатели линейной скорости кровотока на 30-й с, 1, 2 и 3-й мин постишемического периода и ЭЗВД во всех подгруппах генотипов полиморфизма I/D гена ACE у больных гестозом оказались достоверно ниже при сравнении со здоровыми беременными ($p < 0,05$). Вместе с тем продолжительность гиперемии среди больных оказалась вдвое меньше при сравнении с группой контроля и составила 2 мин ($p < 0,05$). Видимо, в данном случае играет роль повышенная чувствительность эндотелия сосудов к вазопрессорам, которые активнее, чем у здоровых беременных, вызывают ответную вазоконстрикцию, сокращая время реактивной гиперемии [6, 8, 13]. Кроме того, носители DD-генотипа среди больных гестозом показали наименьшие значения ЭЗВД в микрососудах кожи при сравнении с подгруппами других генотипов поли-

морфизма I/D гена ACE ($p < 0,05$). Известно, что носительство генотипа DD, изучаемого полиморфного маркера, ассоциировано также со снижением пуль-

сационных индексов и в маточно-плацентарных сосудах, что является важнейшим пусковым механизмом развития гестоза [14].

Таблица 2

Активность факторов циркулирующего отдела РААС в зависимости от полиморфизма I/D гена ACE у здоровых и больных гестозом беременных ($M \pm \sigma$)

Показатель	Генотип здоровых			Генотип больных		
	II	ID	DD	II	ID	DD
АПФ, Ед/л	22,6 ± 4,1	31,1 ± 3,1	46,1 ± 8,3**	23,4 ± 2,1	38,6 ± 4,4*.#	57,2 ± 7,4*.#
Ренин, нг/(мл · ч)	4,1 ± 1,3	3,4 ± 1,5	2,2 ± 0,9	2,0 ± 1,1*	1,8 ± 0,4*	1,3 ± 0,5*.**

Примечание. Здесь и в табл. 3: * — $p < 0,05$ между здоровыми и больными; ** — между генотипом DD и генотипами с аллелем I; # — между генотипами с аллелем D и генотипом II.

Таблица 3

Значения линейной скорости кровотока и показателей ЭЗВД в микрососудах кожи при ишемической пробе у здоровых и больных гестозом беременных ($M \pm \sigma$)

Время	Генотип здоровых			Генотип больных		
	II	ID	DD	II	ID	DD
Фон, см/с	21,1 ± 1,9	19,8 ± 2,5	20,05 ± 2,7	17,2 ± 3,5	18,8 ± 4,2	17,3 ± 3,2
30 с, см/с	25,4 ± 3,4	23,9 ± 2,6	24,1 ± 1,6	19,5 ± 3,1*	20,2 ± 2,9*	18,9 ± 2,6*
1 мин, см/с	23,6 ± 2,5	23,8 ± 3,3	22,8 ± 4,3	19,2 ± 1,2*	20,07 ± 2,3*	18,4 ± 1,5*
2 мин, см/с	22,0 ± 4,1	22,3 ± 1,9	22,1 ± 2,2	17,1 ± 2,3*	18,1 ± 1,7*	17,1 ± 1,9*
3 мин, см/с	22,2 ± 3,7	21,6 ± 3,5	20,8 ± 2,1	17,6 ± 1,9*	17,8 ± 2,5*	16,7 ± 1,1*
4 мин, см/с	20,8 ± 2,9	19,2 ± 2,2	20,2 ± 1,8	17,1 ± 2,3	17,6 ± 2,4	17,5 ± 3,5
5 мин, см/с	20,4 ± 4,8	20,2 ± 2,7	19,9 ± 4,2	16,4 ± 2,4	17,9 ± 3,7	17,8 ± 1,2
ЭЗВД, %	20,6 ± 2,1	20,7 ± 2,7	20,1 ± 1,9	14,1 ± 2,2*	14,6 ± 1,9*	9,3 ± 2,7*.**

Заключение

Таким образом, носительство аллеля D полиморфизма I/D гена ACE ассоциировано с развитием гестоза, а генотип II является протективным в отношении этого осложнения беременности в популяции русских, проживающих на территории Тверской области, что, возможно, требует подтверждения в более обширной популяционной выборке. Вместе с тем связь количественных признаков факторов циркулирующего отдела РААС и функции эндотелия микрососудов кожи с полиморфизмом I/D гена ACE позволяют утверждать о его важной роли в патогенезе гестоза. Так как супрессия активности ренина и редукция ЭЗВД ассоциированы с генотипом DD, а наибольшая активность АПФ с «аллелем риска» изучаемого полиморфизма.

Однако нужно отметить, что при беременности значительную роль в регуляции системного кровообращения играет тканевой плацентарный отдел РААС, поэтому взаимоотношения обоих отделов этой системы в патогенезе гестоза требуют дальнейшего изучения.

Литература

1. Блощинская И.А., Петричко Т.А., Давидович И.М. Вазорегулирующая функция сосудистого эндотелия при физиологической беременности и гестозе // Журн. акушерства и жен. болезней. 2003. Т. LII, № 1. С. 26—32.
2. Радьков О.В., Калинин М.Н., Заварин В.В. Влияние полиморфизма генов цитокинов на формирование дисфункции эндотелия при гестозе // Цитокины и воспаление. 2010. Т. 9, № 3. С. 15—18.
3. Anim-Nyame N., Sooranna S.R., Johnson M.R. et al. A longitudinal study of resting peripheral blood flow in normal pregnancy and pregnancies complicated by chronic hypertension and pre-eclampsia // Cardiovascular Research. 2001. V. 50. P. 603—609.
4. Anton L., Brosnihan K.B. Systemic and uteroplacental renin-angiotensin system in normal and pre-eclamptic pregnancies // Ther. Adv. Cardiovasc. Dis. 2008. V. 2, № 5. P. 349—362.
5. Arcaro G., Solini A., Monauni T. et al. ACE genotype and endothelium-dependent vasodilation of conduit arteries and forearm microcirculation in humans // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2001. V. 21, № 8. P. 1313—1319.
6. Blaauw J., Graaff R., van Pampus M.G. et al. Abnormal endothelium-dependent microvascular reactivity in recently preeclamptic women // Obstet. Gynecol. 2005. V. 105, № 3. P. 626—632.

7. Butler R., Morris A.D., Burchell B. et al. DD angiotensin-converting enzyme gene polymorphism is associated with endothelial dysfunction in normal humans // Hypertension. 1999. V. 33. P. 1164—1168.
8. Debbabi H., Bonnin Ph., Ducluzeau P.H. et al. Noninvasive assessment of endothelial function in the skin microcirculation // Amer. J. of Hypertension. 2010. V. 23. P. 541—546.
9. Galão A.O., de Souza L.H., da Costa B.E. et al. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in preeclampsia and normal pregnancy // Am. J. Obstet. Gynecol. 2004. V. 191, № 3. P. 821—824.
10. Herse F., Dechend R., Harsem N.K. et al. Dysregulation of the circulating and tissue-based renin-angiotensin system in preeclampsia // Hypertension. 2007. V. 49. P. 604—611.
11. Kaur R., Jain V., Khuller M. et al. Association of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism with pregnancy-induced hypertension // Acta. Obstet. Gynecol. Scand. 2005. V. 84, № 10. P. 929—933.
12. Kim E.H., Lim J.H., Kim Y.H. Park Y.W. The Relationship between aldosterone to renin ratio and RI value of the uterine artery in the preeclamptic patient vs. normal pregnancy // Yonsei. Med. J. 2008. V. 49, № 1. P. 138—143.
13. Lindstedt I.H., Edvinsson M.L., Edvinsson L. et al. Reduced responsiveness of cutaneous microcirculation in essential hypertension — a pilot study // Blood Press. 2006. V. 15, № 5. P. 275—280.
14. Mello G., Parretti E., Gensini F. et al. Maternal-fetal flow, negative events, and preeclampsia: role of ACE I/D polymorphism // Hypertension. 2003. V. 41. P. 932—937.
15. Misković B., Sertić J., Stavljenić-Rukavina A. et al. Association of angiotensin-converting enzyme insertion-deletion polymorphism with preeclampsia // Coll. Antropol. 2008. V. 32, № 2. P. 339—343.
16. Xia Y., Zhou C.C., Ramin S.M. Kellems R.E. Angiotensin receptors, autoimmunity and preeclampsia // J. Immunol. 2007. V. 179. P. 3391—3395.

Поступила в редакцию 11.01.2011 г.

Утверждена к печати 01.04.2011 г.

Сведения об авторах

О.В. Радьков — канд. мед. наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии ТГМА (г. Тверь).

М.Н. Калинин — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патологической физиологии ТГМА (г. Тверь).

В.В. Заварин — канд. мед. наук, доцент кафедры патологической физиологии ТГМА (г. Тверь).

Для корреспонденции

Радьков Олег Валентинович, тел.: 8 (4822) 32-17-79, 8-910-931-3930, e-mail: unag@mail.ru.