
УДК 618.39-085:616-008

Дубоссарская З.М., Дука Ю.М.
Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины,
Днепропетровск, Украина

Dubossarskaya Z., Duca Y.
Dnepropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine, Dnepropetrovsk, Ukraine

Роль эндотелина-1 и полиморфизма гена эндотелина-1 в структуре невынашивания беременности и возникновения перинатальных потерь

Role endotelin-1 and polymorphism of a gene endotelin-1 in structure of loss of pregnancy and emergence of perinatal losses

Резюме

В статье рассматриваются вопросы влияния уровней эндотелина-1 и наличия полиморфизма гена эндотелина-1 на особенности гестационного процесса, а также степень участия данных маркеров в структуре перинатальных потерь.

Ключевые слова: беременность, невынашивание, эндотелин-1, полиморфизм гена эндотелина-1, эндотелиальная дисфункция.

Resume

In article questions of influence of levels endotelin-1 and existence of polymorphism of a gene endotelin-1 on features of gestational process, and also extent of participation of these markers in structure of perinatal losses are considered.

Keywords: pregnancy, pregnancy losses, endotelin-1, polymorphism of a gene endotelin-1, dysfunction of endotelia.

Резюме

У статті розглядаються питання впливу рівнів ендотеліну-1 і наявності поліморфізму гена ендотеліну-1 на особливості гестаційного процесу, а також міру участі цих маркерів в структурі перинатальних втрат.

Ключові слова: вагітність, невиношування, ендотелін-1, поліморфізм гену ендотеліну-1, ендотеліальна дисфункція.

■ ВВЕДЕНИЕ

Патологические изменения эндотелия приводят к нарушению регуляции сосудистого тонуса, тромборезистентности сосудистой стенки, адгезии лейкоцитов и проницаемости сосудов, что ведет к декомпенсации плацентной дисфункции, которая клинически проявляется антенатальной гибелью плода, синдромом задержки внутриутробного роста плода, преждевременной отслойкой нормально расположенной плаценты [1, 2].

Эндотелин-1 (ЭТ-1) – пептид эндотелиального происхождения, которому свойственны мощные вазоконстрикторный и митогенный эффект. По силе вазоконстрикторного эффекта эндотелин-1 преобладает над норадреналином в 100 раз, а над ангиотензином-2 – в 10 раз. Роль эндотелина-1 в развитии гестоза была установлена с помощью многочисленных экспериментальных моделей. Он появляется в больших количествах в плазме при заболеваниях, которые сопровождаются поражением эндотелия и коагулопатией. При гестозе уровень эндотелина-1 в плазме в 2–3 раза выше, чем при неосложненной беременности. Синтез эндотелина-1 активируется под действием гипоксии и оксидантного стресса. В плаценте предшественник эндотелина-1 синтезируется в эндотелиальных клетках ворсин, но не трофобласта. Однако источником повышенной генерации ЭТ-1 является не плацента, а эндотелиальные клетки материнского организма, которые поддались системной активации [3, 5, 6].

Уровень ЭТ-1 при гестозе значительно возрастает только на поздних сроках гестации. Вероятнее всего, увеличение продукции эндотелина не является ключевой причиной эндотелиальной дисфункции, а создает условия для прогресса патологического процесса – то есть, даже базальный уровень эндотелина-1 усиливает действие других вазоконстрикторов. Более того, эндотелин-1 является мощным констриктором маточного и почечного сосудистого ложа [3, 4].

Учитывая вышесказанное, необходимо не просто рутинно проводить скрининговое исследование уровня эндотелина-1 в сыворотке крови, но для адекватной оценки риска развития эндотелиальной дисфункции оценивать полиморфизм гена эндотелина-1, который кодирует выработку сывороточного маркера.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ выявления полиморфизма гена эндотелина-1 и его корреляции с уровнем эндотелина-1 в плазме крови, а также влияния полученных показателей на течение гестации у беременных женщин.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для достижения поставленной цели были обследованы 168 женщин с угрозой невынашивания беременности в возрасте от 20 до 41 года (средний возраст – $30,8 \pm 0,4$ года), которые находились на стационарном лечении в отделении медицины плода и патологии ранних сроков беременности коммунального учреждения «Днепропетровский областной перинатальный центр со стационаром» ДОС.

114 (67,86%) беременных женщин с угрозой невынашивания беременности на фоне избыточной массы тела составили основную группу

Жировая ткань является источником маркеров воспаления, непосредственно принимает участие в процессах воспаления и, таким образом, создает благоприятный фон для возникновения эндотелиальной дисфункции.

исследования. Группу сравнения составили 54 (32,14%) беременные женщины с аналогичными симптомами, у которых индекс массы тела (ИМТ) не превышал нормативные значения.

Средний возраст беременных в основной группе составил $31,3 \pm 0,5$ (ДИ 95%: 30,1–31,9) года, в группе сравнения – $30,4 \pm 0,6$ (ДИ 95%: 29,2–31,6) года ($p=0,478$ между группами по t-критерию). Средний гестационный возраст на момент взятия на учет составил $9,36 \pm 0,60$ (ДИ 95%: 8,18–10,54) недель и $8,44 \pm 0,70$ (ДИ 95%: 7,03–9,86) недель, соответственно по группам ($p=0,358$ по t-критерию). Таким образом, по данным показателям выделенные клинические группы были статистически сравнимыми ($p>0,05$).

Избыточную массу тела имели 48 (42,1%) женщин основной группы, ожирение I степени – 55 (48,2%), II–III степени – 11 (9,7%) беременных, средний ИМТ – $30,47 \pm 0,32$ (ДИ 95%: 29,83–31,11) кг/м². У женщин группы сравнения ИМТ в среднем составлял $21,29 \pm 0,24$ (ДИ 95%: 20,8–21,78) кг/м² ($p<0,001$ между группами по t-критерию).

Беременные были включены в группу сравнения и исследования на основании наличия у них симптомов угрозы прерывания беременности, которые регламентированы Приказом МЗ Украины № 624 от 03.11.2008 г.

Кроме исследований, которые рекомендованы Приказами МЗ Украины № 417 «Методичні рекомендації щодо організації надання амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги» от 15.07.2011 г. и № 624 «Невиношування вагітності» от 03.11.2008 г., в расширенном объеме, по индивидуальному согласию женщины, у 94 пациенток (60 женщин основной клинической группы и 34 женщины из группы сравнения) проводили исследование мутации гена эндотелина-1-21 (полиморфизм Lys198Asn) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Использовался комплект реагентов «SNP-экспресс» производства НПФ «Литех» (Россия). Геномная ДНК выделялась из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь» (НПФ «Литех», Россия). Для удобства расчетов каждый генотип (гомозигота по аллели 1 (нормальная гомозигота), гетерозигота и гомозигота по аллели 2 (патологическая гомозигота)) кодировали цифрами 0, 1, 2 соответственно. У 93 исследуемых женщин – 59 (51,8%) и 34 (63,0%) пациенток основной группы и группы сравнения, определяли уровень эндотелина-1 твердофазным методом с помощью реагентов производства «Biomedica» Medizinprodukte GmbH&Co KG (Австрия).

Статистическую обработку материалов исследования проводили с использованием методов биостатистики [7], реализованных в пакете программ Statistica v.6.1®. Результаты для количественных признаков, распределение которых отвечало нормальному закону по критерию Колмогорова – Смирнова, представлены в виде количества наблюдений (n), средней арифметической (M), стандартного отклонения ($\pm m$), 95%-го доверительного интервала для средней (ДИ 95%), в других случаях использовали медиану (Me) и интерквартильный разбег [25%; 75%]. Сравнение статистических характеристик в разных группах проводилось с использованием параметрических и непараметрических критериев (с учетом закона распределения): проверка равенства дисперсий – по критериям Фишера (F) и Левена (Levene Test); достоверность

отличий средних – по критериям Стьюдента (t) и Манна – Уитни (U), относительных показателей – по критерию χ^2 -квадрат Пирсона (c^2), в том числе с поправкой Йетса (Yates). Для оценки взаимосвязи между признаками выполнялся корреляционный анализ с расчетом коэффициентов ранговой корреляции Спирмена (r). Критическое значение уровня значимости (p) принималось $\leq 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Паритет беременности не выявил достоверных отличий: 2,0 [1,0; 4,0] беременностей в основной группе против 2,0 [1,0; 3,0] беременностей в группе сравнения ($p=0,463$ по U-критерию). Однако паритет будущих родов выявил достоверные отличия – 1,0 [1,0; 2,0] против 1,0 [1,0; 1,0] соответственно ($p=0,034$ по U-критерию). У женщин с избыточным весом этот показатель колебался от 0 до 9 родов (коэффициент вариации $S=78,1\%$), в то время как при нормальном ИМТ вариация составляла 40,8% (от 1 до 3 родов), $p<0,01$ за критериями F и L. Данный факт объяснялся наличием первичного невынашивания у 37 (32,5%) и 17 (31,5%) женщин обеих клинических групп ($p=0,899$ за критерием c^2), из которых у 12 (32,4%) и у 3 (17,6%) пациенток соответственно первичное невынашивание беременности сочеталось с привычным невынашиванием беременности ($p=0,260$ за c^2).

Результаты исследования полиморфизма гена эндотелина-1 (полиморфизм Lys198Asn) приведены в табл. 1.

Анализ частот определенных аллелей и генотипов выявил мутации в гене эндотелина-1 у женщин обеих клинических групп. Однако лишь у женщин с избыточным весом определено наличие патологической гомозиготы в 6 (10,0%) случаях ($p=0,030$ за c^2 с поправкой Yates). Выявление такой мутации ассоциировалось с развитием гипертензивных нарушений во время беременности в анамнезе у всех этих женщин. У двух из них в анамнезе имело место указание на преждевременную отслойку нормально расположенной плаценты – в одном случае в 26 недель, с последующим кесаревым сечением в этом сроке и гибелью плода, и в сроке 32 недели, когда удалось извлечь живой плод. Гетерозиготных форм, напротив, было выявлено вдвое больше в группе сравнения – 14 (41,2%) случаев против 13 (21,7%) в основной группе ($p=0,045$ за c^2). Это ассоциировалось с наличием угрозы прерывания беременности с малых сроков гестации в 100% случаев, с привычным невынашиванием – в 3 (23,1%) случаях у женщин основной группы и у 8 (57,1%) женщин группы сравнения ($p=0,072$ за c^2). Антенатальна гибель плода

Таблица 1

Характеристика выявленных полиморфизмов гена эндотелина-1

Полиморфизм	Результат	Клинические группы		p между группами и по χ^2
		основная (n=60)	сравнения (n=34)	
Lys198Asn	0 – нормальная гомозигота	41 (68,3%)	20 (58,8%)	0,037
	1 – гетерозигота	13 (21,7%)	14 (41,2%)	
	2 – патологичная гомозигота	6 (10,0%)	–	

в сроке 36 недель гестации наблюдалась в одном случае (7,7%) с гетерозиготным носительством мутации в основной группе и у 2 (14,3%) женщин группы сравнения в анамнезе. В анамнезе имело место рождение ребенка с пороком развития сердца у одной женщины с гетерозиготной мутацией гена в основной группе. Ребенок погиб на 6-е сут. после рождения. Выкидыши в позднем сроке имели место в прошлом у 3 (23,1%) женщин основной группы и у 4 (28,6%) – группы сравнения ($p=0,745$ за χ^2).

При определении уровня эндотелина-1 в крови беременной были определены следующие особенности. Уровень эндотелина-1 у женщин основной группы колебался в пределах от 0,65 pmol/ml до 9,19 pmol/ml и в среднем составил 1,37 [0,96; 1,80] pmol/ml с коэффициентом вариации $C=94,3\%$ (табл. 2). У женщин группы сравнения показатели выглядели следующим образом: уровень эндотелина-1 колебался в пределах 0,57–9,72 pmol/ml, в среднем составил 1,60 [0,93; 2,80] pmol/ml, $C=80,6\%$ (табл. 3). Достоверных отличий между группами ни по средним уровням эндотелина-1, ни по их высокой вариабельности не выявлено ($p=0,185$ за U-критерием, $p=0,538$ за критерием L).

Уровни эндотелина-1 при различных мутациях гена эндотелина-1 в обеих клинических группах приведены в табл. 2 и 3.

Следует отметить наличие прямой корреляционной связи между уровнем эндотелина-1 в сыворотке крови женщин с нормальным весом тела и выявлением гетерозиготного генома при ПЦЛ диагностике ($r=0,49$, $p=0,003$). Уровень эндотелина-1 при этом возрастал в 1,5 раза ($p=0,005$ за U-критерием). В то же время, у женщин с избыточным весом подобная тенденция не выявлена ($r=-0,10$, $p=0,451$). К тому же, при выявлении патологической аллели уровень эндотелина-1 в сыворотке крови таких женщин достоверно снижается ($p<0,05$), что нуждается в последующих углубленных исследованиях.

Таблица 2
Уровень эндотелина-1 (pmol/ml) в сыворотке крови у женщин основной группы

Мутация эндотелина-1	Статистические характеристики				p между геномами по U-критерию
	n	min–max	Me [25%; 75%]	C, %	
Всего	59	0,65–9,19	1,36 [0,96; 1,80]	94,3	$p_{0-1}=0,535$ $p_{0-2}=0,049$ $p_{1-2}=0,034$
0 – нормальная гомозигота	40	0,65–9,19	1,38 [0,95; 1,79]	101,9	
1 – гетерозигота	13	0,89–3,23	1,43 [1,12; 2,33]	45,1	
2 – патологическая гомозигота	6	0,83–1,19	0,96 [0,87; 1,14]	15,8	

Таблица 3
Уровень эндотелина-1 (pmol/ml) в сыворотке крови женщин группы сравнения

Мутация эндотелина-1	Статистические характеристики				p между геномами по U-критерию
	n	min–max	Me [25%; 75%]	C, %	
Всего	34	0,57–9,72	1,60 [0,93; 2,80]	80,6	$p_{0-1}=0,005$
0 – нормальная гомозигота	20	0,57–9,72	1,06 [0,87; 2,10]	110,7	
1 – гетерозигота	14	1,45–4,83	2,63 [1,59; 3,10]	40,4	

■ ВЫВОДЫ

1. Угроза прерывания беременности, гипертензивные нарушения, плацентарная дисфункция и, как следствие этого, перинатальные потери связаны с повышением уровня эндотелина-1 в сыворотке крови беременной, который является прогностическим маркером.
2. Прегравидарное исследование генного полиморфизма, уровня эндотелина-1 в крови женщины, снижение веса тела накануне запланированной беременности и мониторинг его набора во время беременности будет способствовать улучшению течения гестации и снижению риска перинатальных осложнений и потерь.

■ ЛИТЕРАТУРА

1. Zajnulina M.S. (2013) Puti snizheniya materinskoj i perinatal'noj smertnosti pri narushenii sistemy gemostaza [The way of reducing maternal and perinatal mortality in women with hemostatic system disturbances]. *Medicinskij akademicheskij zhurnal*, vol. 13, no 1, pp. 73–82.
2. Igitova M.B., Vorob'eva E.N., Gol'cova N.P., Selivanov E.V. (2008) Kliniko-diagnosticheskoe znachenie opredeleniya markera kardiovaskulyarnoj patologii pri oslozhnennom techenii rannih srokov beremennosti [Clinical-diagnostic significance of the cardiovascular pathology diagnosis in a complicated course of pregnancy at early terms]. *Sibirskij medicinskij zhurnal*, vol. 23, no 3, pp. 156–157.
3. Makacariya A.D., Bicadze V.O., Bajmuradova S.M., Akin'shina S.V., Panfilova O.Yu., Mishhenko A.L., Perederyaeva E.B., Pshenichnikova T.B., Hizroeva D.H. (2010) *Sistemnye sindromy v akushersko-ginekologicheskoj praktike* [System syndromes in obstetric-gynecology practice]. Moscow: MIA. (in Russian).
4. Makacariya A.D., Bicadze V.O. (2008) *Profilaktika povtornyh oslozhnenij beremennosti v usloviyah trombofilii* [Prevention of recurrent pregnancy complications in terms of thrombophilia]. Moscow: Triada-H. (in Russian).
5. Martynyuk T.V., Nakonechnikov S.V., Chazova I.E. (2009) Antagonisty receptorov e'ndotelija pri legochnoj arterial'noj gipertenzii: vchera, segodnya, zavtra [Endothelium Receptor antagonists in pulmonary arterial hypertension: yesterday, today and tomorrow]. *Rossijskij kardiologicheskij zhurnal*, no 4 (78), pp. 62–70.
6. Kapustin R.V., Arzhanova O.N., Sokolov D.I., Chepanov S.V., Sel'kov S.A. (2013) Ocenka urovnya koncentracii e'ndotelina-1 i sICAM-1 v plazme krovi u beremennyh s gestacionnym saharnym diabetom [Estimation of the endothelin-1 concentration and sICAM-1 in plasma of pregnant women with gestational diabetes]. *Akusherstvo i ginekologiya*, no 5, pp. 36–41.
7. Rebrova O.Yu. (2002) *Statisticheskij analiz medicinskih dannyh. Primenenie paketa prikladnyh programm STATISTICA* [Statistical analysis of medical data. The use of the software package STATISTICA]. Moscow: Media Sfera. (in Russian).

Поступила в редакцию 11.07.2014
 Контакты: rduka@ukr.net