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

МИКРОЦИРКУЛЯЦИЯ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ ПРИ ГЕСТОЗЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИНСЕРЦИОННО-ДЕЛЕЦИОННОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА

ГОУ ВПО «Тверская государственная медицинская академия»

Проблема гестоза связана с его неблагоприятным влиянием на здоровье матери, плода и новорожденного, однако патогенез этого осложнения беременности изучен недостаточно. Периферическая вазодилатация и ангиогенез являются важнейшими компонентами физиологической адаптации к беременности [1]. Однако в условиях формирования гестоза в ответ на локальную ишемию плаценты, связанную с аномальной инвазией ворсин хориона, запускается механизм системного нарушения функции эндотелия. Прогрессирование эндотелиальной дисфункции поддерживается провоспалительными цитокинами, продуктами оксидативного стресса и активацией тромбоцитов [1, 2].

Тканевая перфузия находится под влиянием циркулирующих и тканевых компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) [3]. При физиологической беременности концентрация всех факторов РААС увеличивается, и только активность ангиотензин-превращающего (АПФ) фермента уменьшается. Вместе с тем нормальной гестации сопутствует снижение тканевой чувствительности к прессорным влияниям компонентов РААС, тогда как нарушение рецепции лежит в основе гипертензивных расстройств у беременных [3, 4]. Установлена генетическая неоднородность РААС, так, выявлена ассоциация инсерционно-делеционного полиморфизма гена АПФ с возникновением гестоза [5, 6]. Однако в этой связи остается неясным, влияет ли этот полиморфизм на особенности микроциркуляции кожи и проявление эндотелиальной дисфункции при осложнении беременности гестационной гипертензией.

Цель исследования заключается в изучении состояния микроциркуляции и функции эндотелия у беременных с гестозом в зависимости от инсерционно-делеционного полиморфизма гена АПФ.

Материал и методы исследования. Обследовано 98 беременных, из которых 64 больных гестозом: с ранним началом (до 34-й недели) этого осложнения беременности — 41 женщина и 23 пациентки с поздним (после 34-й недели). Контрольную группу составили 34 здоровых беременных. Беременными подписано информированное согласие на проводимое обследование, одобренное этическим комитетом Тверской государственной медицинской академии. Критериями исключения были возраст моложе 20 лет, многоплодная беременность, хроническая артериальная гипертензия, симптоматическая гипертензия, сахарный диабет, отказ от проводимого исследования. Всем беременным проведено суточное мониторирование артериального давления (АД).

Для оценки скоростных показателей кровотока использовали постоянно-волновую высокочастотную ультразвуковую доплерографию с помощью прибора «Минимакс-Допплер-К» (ООО «СП-Минимакс», Санкт-Петербург, РФ), снабженного датчиком с частотой излучения 25 МГц. Исследование проводилось в области ногтевого валика

среднего пальца кисти. Анализировали V_s — максимальную систолическую скорость кровотока по кривой максимальной скорости (см/сек). Для оценки эндотелий-зависимой вазодилатации использовалась ишемическая проба. Для этого на плечо накладывалась манжетка манометра, в которой нагнеталось давление до момента исчезновения спектра кровотока на мониторе аппарата. Компрессия плечевой артерии продолжалась 3 минуты. Запись доплерограммы после декомпрессии выполнялась через 30 секунд, 1, 2, 3, 4 и 5 минут.

Для типирования инсерционно-делеционного (I/D) полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента (АПФ, ACE) выделение тотальной геномной ДНК пациенток из 100 мкл цельной венозной крови, стабилизированной ЭДТА, проводили сорбентным методом с использованием набора “Diatom DNA Prep 100” (ООО «Лаборатория “Изоген”», РФ). I/D полиморфизм Alu-повтора в 16 интроне (rs4340) гена ACE типировали методом анализа полиморфизма длин амплификационных фрагментов с помощью набора реагентов «АмплиКит-АСЕ» (ООО «АмплиКит», Санкт-Петербург, РФ) с детекцией в агарозном геле. Активность АПФ в плазме крови определяли иммуноферментным методом (“BCM Diagnostics”, США).

Статистическая обработка материала выполнена с помощью пакета SPSS 16.0 for Windows (SPSS Inc., США). Распределение генотипов проверяли на соответствие закону Харди-Вайнберга. Частота генотипов и аллелей оценена критерием χ^2 . Данные лабораторных исследований представлены в виде $M \pm \sigma$. Для оценки статистической значимости различий применен дисперсионный анализ с последующим проведением множественных сравнений, включавшим критерии Даннета для равных и неравных дисперсий. Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Срок беременности к моменту родов у больных был меньше, чем в контроле, что связано с необходимостью досрочного родоразрешения у некоторых пациенток по причине прогрессирования симптомов гестоза (табл. 1).

Таблица 1. Клиническая характеристика групп здоровых беременных и больных гестозом ($M \pm m$)

Показатель	Здоровые, (n = 34)	Больные, (n = 64)	p
Возраст, лет	26,7±4,2	29,3±6,7	0,5
Индекс массы тела, кг/м ²	27,1±3,2	29,5±2,5	0,08
Срок родоразрешения, недель	39,4±1,2	33,2±3,8	0,03
Вес новорожденного, грамм	3640±370	2120±460	0,002
Среднесуточное САД, мм рт. ст.	106,23±4,05	131,43±3,86	0,002
Среднесуточное ДАД, мм рт. ст.	64,38±1,7	80,22±4,15	0,004
Суточный ритм АД нарушен / не нарушен, %	26,4/73,6	64,1/35,9	0,001

Примечание. САД — систолическое артериальное давление; ДАД — диастолическое артериальное давление.

Вместе с тем, задержка внутриутробного развития плода в сочетании с недоношенностью обусловили низкую массу тела детей, родившихся от больных матерей. Индекс массы тела, как до беременности, так и перед родами достоверно не отличался между группами, несмотря на то, что большинство исследователей относят избыточную мас-

су тела к факторам риска гестационной гипертензии [7]. Видимо это связано с тем, что большинство больных имели раннее начало гестоза, когда в патогенезе гипертензии преобладают плацентарные нарушения над метаболическими. С этим обстоятельством, по нашему мнению, связаны и значительные среднесуточные показатели АД при относительно умеренном преобладании пациенток с его нарушенным суточным ритмом.

В табл. 2 представлены результаты линейных скоростей кровотока и значений эндотелий-зависимой вазодилатации у здоровых и больных гестозом. Показатели эндотелий-зависимой вазодилатации при проведении ишемической пробы у здоровых беременных были выше, чем при гестозе ($p < 0,05$), а время достижения фоновых скоростей кровотока в постишемическом периоде составило в среднем 4 минуты. Подобные свойства, характеризующие реактивную гиперемии, связаны с высокой активностью сосудорасширяющих стимулов на фоне депрессии вазоконстрикторов кожных сосудов при нормальной гестации [8].

Таблица 2. Значения линейной скорости кровотока (см/с) у здоровых и больных гестозом беременных при ишемической пробе ($M \pm \sigma$)

Группа пациенток	Время						
	Фон	30 секунд	1 минута	2 минуты	3 минуты	4 минуты	5 минут
Здоровые, (n = 34)	20,07±2,7	24,18±5,6*	22,87±4,3*	22,19±2,2*	20,84±4,1*	19,26±2,8	18,93±4,2
Больные, (n = 64)	18,79±4,2	20,24±2,9	20,07±2,3	18,11±1,7	17,88±2,7	17,63±4,4	17,91±3,7

* — различие по данному показателю между здоровыми больными статистически значимо ($p < 0,05$).

Фоновые скорости тканевой перфузии при гестозе достоверно не различались от таковых у здоровых беременных. Напротив, показатели эндотелий-зависимой вазодилатации и линейной скорости кровотока на 30-й секунде, 1-й, 2-й и 3-й минутах пост-ишемического периода у больных гестозом оказались достоверно ниже при сравнении со здоровыми беременными ($p < 0,05$). Вместе с тем, продолжительность гиперемии среди больных оказалась вдвое меньшей при сравнении с группой контроля и составила 2 минуты. Видимо, в данном случае играет роль повышенная чувствительность эндотелия сосудов при гестозе к вазопрессорам, таким как нейропептиды, ангиотензин II, эндотелин-1, которые активнее, чем у здоровых беременных, вызывают ответную вазоконстрикцию, сокращая время реактивной гиперемии [8, 9, 10]. Уменьшение значений эндотелий-зависимой вазодилатации микрососудов кожи при гестозе в условиях ишемической пробы, по нашему мнению, является проявлением эндотелиальной дисфункции. Однако, существуют сведения, что увеличение вазодилатации, напротив, относится к предикторам эндотелиальных нарушений, предшествующих гестозу и сопутствующим ему, а также увеличивающих риск развития сердечно-сосудистых заболеваний после родов [11].

Распределение частот генотипов и аллелей у здоровых беременных и при гестозе для I/D полиморфизма гена ACE соответствовало закону Харди-Вайнберга. Частота генотипов и аллелей изучаемого полиморфного маркера в группах достоверно не различалась. Генотип DD отмечен у 8 (23,5%) здоровых беременных и среди 18 (28,1%) больных гестозом, генотип ID — у 15 (44,1%) и 32 (50,0%), тогда как генотип II — среди 11 (32,4%) и 14 (21,9%) соответственно. Аллель D отмечен у 31 (45,6%) беременной контрольной группы

и у 68 (53,1%) пациенток с гестозом, а аллель I у 37 (54,4%) и 60 (46,9%) соответственно. Возможно, полученные нами результаты связаны с малочисленностью изучаемых подгрупп, тогда как более однозначные выводы можно сделать при статистически достаточном увеличении числа обследованных. По результатам исследований, проведенных в больших популяционных группах, установлена строгая зависимость между I/D полиморфизмом ACE и гестозом, так, носители DD генотипа этого полиморфного маркера составляют группу риска по возникновению этого осложнения беременности [6, 12]. Однако Galão A. O. et al. [13] не находят различий по данному полиморфному маркеру у здоровых беременных и больных гестозом.

Активность АПФ в плазме крови и фенотипические показатели функции эндотелия в зависимости от I/D полиморфизма гена ACE представлены в табл. 3. Активность АПФ у здоровых беременных в подгруппе носителей DD генотипа была выше при сравнении с гетерозиготным вариантом и II гомозиготами ($p < 0,05$). Однако это не повлияло на эндотелий-зависимую вазодилатацию, которая в подгруппах генотипов I/D полиморфного маркера гена ACE статистически значимо не различалась. Вместе с тем, у здоровых небеременных женщин отмечается высокая корреляция между активностью АПФ и функцией эндотелия [14]. Видимо, во время нормальной беременности определяющим является доминирование нейрогенных и циркулирующих депрессорных влияний на регуляцию кровообращения в коже при уменьшенной чувствительности сосудов к вазопрессорам [8].

Таблица 3. Активность ангиотензин-превращающего фермента и эндотелий-зависимая вазодилатация сосудов кожи в зависимости от I/D полиморфизма гена ACE у здоровых и больных беременных ($M \pm \sigma$)

Группа пациенток		Генотип		
		II	ID	DD
Активность АПФ, Ед/л	Здоровые, (n = 34)	22,6±4,1	31,2±3,5	56,1±8,3*
	Больные, (n = 64)	23,4±2,1	39,6±4,4	65,2±7,4*
Эндотелий-зависимая вазодилатация, %	Здоровые, (n = 34)	20,6±2,1	22,5±3,3	20,1±1,9
	Больные, (n = 64)	14,5±2,4	14,8±2,2	9,3±1,7 **

* — различие по данному показателю между DD генотипом и другими генотипами в обеих группах статистически значимо ($p < 0,05$), — различие по данному показателю между здоровыми и больными статистически значимо ($p < 0,05$); ** — различие по данному показателю между генотипом DD и другими генотипами больных статистически значимо ($p < 0,05$); АПФ — ангиотензин-превращающий фермент.

Распределение активности АПФ в подгруппах генотипов I/D полиморфного маркера гена ACE у больных гестозом соответствовало группе контроля. Вместе с тем активность этого фермента статистически значимо превысила показатели, полученные у здоровых беременных, в группе гетерозигот и среди носителей DD генотипа. Считается, что активность АПФ в ряде случаев является лимитирующей для всей РААС, причем преимущественно в условиях формирования гипертензивных расстройств у беременных [3, 14]. Кроме того, носители DD генотипа среди больных гестозом показали наименьшие значе-

ния эндотелий-зависимой вазодилатации в сосудах кожи при сравнении с подгруппами других генотипов и здоровыми беременными ($p < 0,05$). В последнее время установлено, что нарушение функции РААС при гестозе связано с образованием аутоиммунных антител к рецепторам ангиотензина II, модулирующим активность последних при сравнении с нормальным лигандом [4]. Поэтому, видимо, при формировании эндотелиальной дисфункции абсолютное увеличение активности АПФ не всегда является определяющим, а дополняет аутоиммунный процесс. Кроме того, необходимо учесть, что реактивная кожная гиперемия является нейрогенной реакцией, опосредованно запускающей каскад синтеза оксида азота эндотелием сосудов [9, 15]. С другой стороны, артериальную гипертензию у беременных сопровождает состояние симпатической гиперактивности [16]. Учитывая синергизм вегетативной нервной системы и РААС, можно предположить, что тканевая чувствительность к прессорным факторам при гестозе оказывается более выраженной и проявляется нарушением функции эндотелия. Таким образом, I/D полиморфизм гена ACE влияет на особенности микроциркуляции и формирование эндотелиальной дисфункции при гестозе.

Таким образом,

1. Нарушение функции эндотелия у больных гестозом проявляется снижением показателей эндотелий-зависимой вазодилатации и продолжительности времени реактивной гиперемии.
2. Наибольшая активность АПФ отмечается у носителей генотипа DD полиморфизма I/D гена ACE.
3. Активность АПФ при гестозе выше, чем у здоровых беременных, однако зависит от генотипа полиморфного маркера I/D гена ACE.
4. Выраженность эндотелиальной дисфункции у больных гестозом зависит от I/D полиморфизма гена ACE, где наиболее низкие значения эндотелий-зависимой вазодилатации установлены у носителей DD генотипа.

Литература

1. Humar R., Zimmerliand L., Battegay E. Angiogenesis and hypertension: an update // J. Human Hypertension. 2009. Vol. 23. P.773–782.
2. Hibbard J. U., Korcarz C. E., Nendaz G. G. et al. The arterial system in pre-eclampsia and chronic hypertension with superimposed pre-eclampsia // BJOG. 2005. Vol. 112, № 7. P.897–903.
3. Anton L., Brosnihan K. B. Systemic and uteroplacental renin–angiotensin system in normal and pre-eclamptic pregnancies // Ther. Adv. Cardiovasc. Dis. 2008. Vol. 2, № 5. P.349–362.
4. Herse F., Dechend R., Harsem N. K. et al. Dysregulation of the circulating and tissue-based renin-angiotensin system in preeclampsia // Hypertension. 2007. Vol. 49. P.604–611.
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. Vol. 21, № 8. P.1313–1319.
6. Misković B., Sertić J., Stavljenić-Rukavina A. et al. Association of angiotensin-converting enzyme insertion-deletion polymorphism with preeclampsia // Coll. Antropol. 2008. Vol. 32, № 2. P.339–43.
7. Magnusson E. B., Vatten L. J., Lund-Nilsen T. I. et al. Prepregnancy cardiovascular risk factors as predictors of pre-eclampsia: population based cohort study // BMJ. 2007. Vol. 335. P.978–987.
8. 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. Vol. 50. P.603–609.

9. *Lindstedt I. H., Edvinsson M. L., Edvinsson L.* et al. Reduced responsiveness of cutaneous microcirculation in essential hypertension—a pilot study // *Blood Press*. 2006. Vol. 15, № 5. P. 275–280.
10. *Блощинская И. А., Петричко Т. А., Давидович И. М.* Вазорегулирующая функция сосудистого эндотелия при физиологической беременности и гестозе // *Ж. акуш. и жен. болезн.* 2003. Т. LII, № 1. С. 26–32.
11. *Blaauw J., Graaff R., van Pampus M. G.* et al. Abnormal endothelium-dependent microvascular reactivity in recently preeclamptic women // *Obstet. Gynecol.* 2005. Vol. 105, № 3. P. 626–632.
12. *Kaur R., Jain V., Khuller M.* et al. Association of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism with pregnancy-induced hypertension // *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.* 2005. Vol. 84, № 10. P. 929–933.
13. *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. Vol. 191, № 3. P. 821–824.
14. *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. Vol. 33. P. 1164–1168.
15. *Debbabi H., Bonnin Ph., Ducluzeau P. H.* et al. Noninvasive assessment of endothelial function in the skin microcirculation // *American Journal of Hypertension*. 2010. Vol. 23. P. 541–546.
16. *Fischer T., Schobel H. P., Frank H.* et al. Pregnancy-induced sympathetic overactivity: a precursor of preeclampsia // *Eur. J. Clin. Invest.* 2004. Vol. 34. P. 443–448.

Статья поступила в редакцию 10 февраля 2011 г.