

ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ESR1 У ЖЕНЩИН С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

Курбанов Б.Б.*¹, Курбанов Д.Д.¹, Ибрагимов З.З.²

DOI: 10.25881/20728255_2021_16_2_58

¹ Ташкентский педиатрический медицинский институт, Ташкент, Республика Узбекистан² Республиканский специализированный Научно-практический Медицинский Центр Гематологии МЗ РУз, Ташкент, Республика Узбекистан**Резюме.** Актуальность: преэклампсия (ПЭ) является основной причиной материнской смертности во всем мире. Одним из генетических факторов риска развития ПЭ может являться полиморфизм гена ESR1.

Целью исследования явилось изучение полиморфизма rs2228480 гена ESR1 у женщин с ПЭ.

Методы исследования: Материалом для исследования служили образцы ДНК пациенток с клинически установленным диагнозом ПЭ. Выделение ДНК из крови и ПЦР-анализ осуществляли наборами реагентов и тест-систем компании «Ампли Прайм Рибо-преп» (ООО «Некст Био», Россия).

Результаты: Сравнение частот генотипов и аллелей полиморфизма гена ESR1 в исследованных группах больных и контроля не выявило статистически значимых различий. В основной группе частота G аллеля полиморфизма 2014G>A гена ESR1 составила 88,3 %, в контрольной группе — 85,7%, что указывало на недостоверную ассоциацию с повышенным риском предрасположенности к преэклампсии ($\chi^2 = 0,31$; $P = 0,28$; OR = 1,26; 95% CI: 0,56-2,89).

Заключение: по предварительным данным наличие аллеля G и гетеро- и гомозиготного генотипов G/A и GG повышает, а выявление аллеля A и генотипа AA понижает риск развития преэклампсии.

Ключевые слова: преэклампсия, полиморфизм, ESR1, генотип G/A и GG, ПЦР-анализ.**Актуальность**

Преэклампсия (ПЭ) является основной причиной материнской смертности во всем мире (2–5%), поражая женщин после 20 недель беременности, и характеризуется повышенным системным сосудистым сопротивлением, снижением объема крови, деструкцией эндотелиальных клеток сосудов и нарушениями гемодинамики почек. ПЭ — это результат тесного взаимодействия генетических компонентов с факторами окружающей среды; однако этиологию ПЭ еще предстоит выяснить.

Одним из генов-кандидатов, которые могут служить фактором риска развития ПЭ, является ген эстрогенового рецептора альфа (ESR1) [2; 3]. Ген рецептора эстрогена α (ESR1) расположен на длинном плече хромосомы 6 (6q25.1) и содержит восемь экзонов [3; 10] (Рис. 1; 2). ESR1 — это активируемый лигандом фактор транскрипции, который может активироваться факторами роста в отсутствие эстрогена [4]. N-конец ESR1 играет критическую роль в активации ESR1-зависимых генов, и любые мутации в этом месте были связаны с высоким кровяным давлением [5; 8]. Некоторые полиморфизмы гена ESR1 связаны с тяжелой и легкой ПЭ, а два наиболее изученных полиморфизма в интроне 1 — это ESR1 PvuII -397T / C (rs2234693) и XbaI -351A / G (rs9340799).**FEATURES OF ESR1 GENE POLYMORPHISM IN WOMEN WITH PREECLAMPSY**Kurbanov B.B.*¹, Kurbanov D.D.¹, Ibragimov Z.Z.²¹ Tashkent Pediatric Medical Institute, Tashkent² Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Hematology, Tashkent**Abstract.** Background: one of the genetic risk factors for the development of preeclampsia may be polymorphism of the ESR1 gene.

The aim of the study was to study the polymorphism of the ESR1 gene in women with preeclampsia.

Research methods: we used a DNA samples of patients with clinically diagnosed preeclampsia. Isolation of DNA from blood and PCR analysis were performed by test systems from Ampli Prime Ribot-prep ("Next Bio", Russia).

Results: comparison of the frequencies of genotypes and alleles of the ESR1 gene polymorphism in the both studied groups did not reveal statistically significant differences. In the main group, the frequency of the G allele of polymorphism of the ESR1 gene was 88.3%, in the control group - 85.7%, which indicated an association with an increased risk of preeclampsia.

Conclusion: the presence of the G allele and the hetero- and homozygous G/A and GG genotypes increases, and the identification of the A allele and the AA genotype decreases the risk of developing preeclampsia.

Keywords: Preeclampsia, polymorphism, ESR1, genotype G / A and GG, PCR analysis.

Установлено, что связь между полиморфизмами ESR1 PvuII -397T / C (rs2234693) и XbaI -351A / G (rs9340799) с риском тяжелой и легкой ПЭ противоречива. Поэтому был проведен метаанализ шести статей (семи исследований), чтобы изучить связь между полиморфизмом ESR1 и риском тяжелой и легкой ПЭ.

Гены ESR1 и ESR2 широко представлены в различных типах ткани, однако имеются некоторые различия в характере их экспрессии.

В состав гена рецептора эстрогена входит 8 экзонов (Рис. 1). Некоторым из данных экзонов уделяется особое значение в гормоночувствительности клетки или ее отсутствию. Различный эффект наблюдается в зависимости от того, взаимодействует ли рецептор с агонистом или антагонистом (антиэстрогеном). Этим можно объяснить избирательность реакции различных тканей на одни и те же модуляторы рецепторов эстрогена.

Данная избирательность эстрогеновых рецепторов (ESR) определяется и тем, вызывают ли упомянутые изменения активизацию и приведение их в состояние «готовности к действию» или же, напротив, неспособность рецептора связываться с коактиваторами. Высвобождение рецептора эстрогена из комплекса с белком теплового шока (hsp90) под влиянием лиганда активизирует его способность взаимодействовать со специфическими ДНК-последовательностями

* e-mail: bkurbanov89@mail.ru



Рис. 1. Геномная локализация гена ESR1 [4].

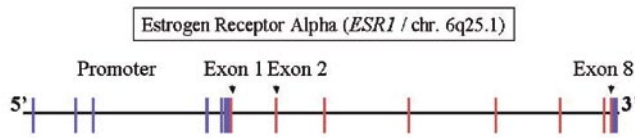


Рис. 2. Ген рецептора эстрогена-α ESR-α [5].

(стероидчувствительными элементами). Связывание hsp90 с ESR, способно влиять на процессы регуляции транскрипции. ESR представляет собой транскрипционный фактор, индуцируемый возникновением в среде эстрогена.

Исследователями была выявлена точечная мутация в гене ESR, приводящая к потере функциональных свойств рецептора эстрогена, что ведет к развитию [6].

Рецепторы эстрогенов (ER) — это группа белков, классифицируемых как ядерные рецепторы и входящие в состав факторов транскрипции, активируемых лигандом. Воздействие эстрогенов на ткани-мишени опосредуется ER [1]. Эстроген является основным эндокринным гормоном, играющим решающую роль на протяжении всей беременности, включая развитие плода, маточно-плацентарный кровоток, имплантацию, регуляцию репродукции и биосинтез прогестерона [2; 3].

Цель исследования: изучение полиморфизма rs2228480 гена эстрогенового рецептора альфа (ESR1) у пациентов с ПЭ.

Материалы и методы

Обследуемая группа состояла из 140 беременных женщин, из которых в основную группу вошли 72 женщины с диагнозом ПЭ, в возрасте 40–65 лет и 68 условно-здоровых беременных женщин (контрольная группа). Исследования проводились в городском родильном комплексе № 6, города Ташкента, а также в Республиканском научно-практическом центре гематологии.

Материалом для исследования служили образцы ДНК пациенток с клинически установленным диагнозом ПЭ.

Выделение ДНК из крови и ПЦР-анализ осуществляли наборами реагентов и тест-систем компании «Ампли Прайм Рибо-преп» (ООО «Некст Био», Россия).

Определение концентрации полученного препарата нуклеиновых кислот в пробах проводили спектрофотометрически на приборе NanoDrop-2000 (NanoDrop Technologies, США).

Тестирование мутации ESR1 проводили на ПЦР-амплификаторе Corbett research (Corbett, Австралия), с использованием тест-системы компании (ООО НПФ «Синтол», Россия) согласно инструкции производителя.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью статистических программ «EpiCalc 2000 Version 1.02».

Результаты

Распространенность частот генотипов GG, GA и AA у преэклампсией, составила 79,2, 18,0 и 2,8%, соответственно, тогда как в контрольной группе — 72,1, 26,4 и 1,5%, соответственно (табл. 1).

Согласно полученным результатам, частота аллеля G и A составляет 85,3 и 14,7%, соответственно (табл. 2). Анализ результатов изучения полиморфизма rs2228480 гена ESR1 показал, что в группе условно-здоровых лиц узбекской национальности не было выявлено значительных отклонений наблюдаемых генотипов от ожидаемых при проверке на соответствие равновесию Харди-Вайнберга (PXВ) ($\chi^2 = 0,207$; $p = 0,649$). При этом, теоретически ожидаемая частота генотипов в контрольной группе составила: GG = 0,72; GA = 0,26; A/A = 0,015; фактически наблюдаемая: GG = 0,727; GA = 0,25; GG = 0,026 (табл. 2).

Полученные данные пациентов с ПЭ также согласуются с законом PXВ, где $\chi^2 = 1,27$ и $p = 0,25$. Ожидаемая частота генотипов в этой группе составила: GG = 0,78; GA = 0,21; A/A = 0,013; наблюдаемая: GG = 0,79; GA = 0,18; A/A = 0,028;

Таким образом, полиморфизм rs2228480 гена ESR1 в популяционной выборке имеет следующие характеристики: частота функционально неблагоприятного аллеля A составляет 15 %, распределение ожидаемых и наблюдаемых генотипов данного полиморфизма соответствует PXВ.

Проведены исследования ассоциативной связи между полиморфизмом rs2228480 гена ESR1 и риском развития ПЭ (табл. 3).

Табл. 1. Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs2228480 гена ESR1 в группах пациентов и контроля

№	Группа	n	Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
			G		A		GG		GA		AA	
			n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1	Контрольная группа	68	116	85,3	20	14,7	49	72,1	18	26,4	1	1,5
2	Преэклампсия	72	127	88,2	17	11,8	57	79,2	13	18,0	2	2,8

Табл. 2. Распределение генотипов полиморфного варианта rs2228480 гена ESR1 в исследуемые группы

Исследуемые группы	Частоты аллелей		HWE	Частота генотипов		
	G	A		G/G	G/A	A/A
Контрольная группа (n = 68)	0,850	0,150	Наблюдаемая	0,721	0,265	0,015
			Ожидаемая	0,727	0,251	0,022
			χ^2	0,004	0,052	0,151
			Σp и $\Sigma \chi^2$	$p = 0,649$; $\chi^2 = 0,207$		
Преэклампсия (n = 72)	0,88	0,12	Наблюдаемая	0,792	0,181	0,028
			Ожидаемая	0,778	0,208	0,013
			χ^2	0,018	0,265	0,990
			Σp и $\Sigma \chi^2$	$p = 0,25$; $\chi^2 = 1,27$		

Табл. 3. Ассоциативная связь между полиморфизмом rs2228480 гена ESR1 и риском развития ПЭ

Исследуемые группы	Аллели и генотипы	Статистическое различие					
		Risk ratio		Odds ratio		χ^2	p-value
		RR	95% CI:	OR	95% CI:		
Преэклампсия (n = 72)	G	1,13	0,78–1,64	1,29	0,64–2,57	0,51	0,23
	A	0,88	0,61–1,27	0,77	0,38–1,56		
	G/G	1,22	0,80–1,85	1,47	0,67–3,22	0,96	0,16
	GA	0,77	0,49–1,22	0,62	0,27–1,39	1,3	0,21
	AA	1,24	0,54–2,8	1,7	0,15–19,5	0,19	0,32

При сравнении частот генотипов и аллелей полиморфизма rs2228480 гена ESR1 в исследованных группах больных и контроля нами не было выявлено статистически значимых различий.

Таким образом, наличие неблагоприятного аллеля G и гомозиготного генотипа G/G достоверно повышает риск развития ОП, а наличие аллеля A и генотипа A/A понижает.

При сравнении частот генотипов и аллелей полиморфизма rs2228480 гена ESR1 в исследованных группах больных и контроля нами не было выявлено статистически значимых различий. В основной группе частота G аллеля полиморфизма 2014G>A гена ESR1 составила 88,3%, в контрольной группе — 85,7%, что также указывало на недостоверную ассоциацию с повышенным риском предрасположенности к преэклампсии ($\chi^2 = 0,31$; P = 0,28; OR = 1,26; 95% CI: 0,56–2,89).

Как известно, по данным исследований, проведенных в китайской популяции экспрессия эстрадиола значительно снижена при преэкламптической беременности, в то время как мы наблюдали значительное увеличение экспрессии СОЭ α у пациенток с ПЭ [11].

Полученные нами данные продемонстрировали незначимость наблюдаемых изменений в частоте выявления исследуемых генотипов в различных группах.

Как уже было упомянуто выше, данные нашего исследования показали тенденцию к увеличению выявления аллеля G и генотипа GG в группах пациенток с ПЭ, что могло бы указывать на наличие риска при выявлении данных генотипических и аллельных вариантов полиморфизма rs2228480 гена ESR1.

В то же время в группах условно-здоровых лиц в контрольной группе была установлена тенденция к преобладанию аллеля A и генотипа AA и GA, что могло бы характеризовать их как протективные.

Однако, незначимость выявленных изменений не позволяет нам сделать подобные выводы. Отсутствие статистической достоверности выявленных изменений может быть объяснено недостаточной численностью исследуемой выборки.

В то же время по данным мета-анализа проведенного Ge Zhao и соавт. (2019) что GG-генотип полиморфизма ESR1 XbaI может быть генетическим фактором риска тяжелой предрасположенности к ПЭ [10].

В то же время отсутствие статистически значимых различий подтверждается и исследованиями Hesham A. El-Beshbishy и соавт. (2015) в популяции саудовских пациенток с ПЭ, у которых не наблюдалось связи между ПЭ и гаплотипами C-G, T-G и C-A полиморфизмов ESR1 [12]. Которые также подтверждают необходимость дальнейших исследования с использованием большой выборки необходимы для понимания и изучения механизма полиморфизма гена ESR 1 при ПЭ.

Следовательно, ограниченное количество исследований и небольшой размер выборки могут не дать достаточной статистической мощности для исследования связи между полиморфизмом ESR1 и риском тяжелой или легкой ПЭ.

Таким образом, нами были получены интересные данные, нуждающиеся в дальнейшем продолжении исследования.

Выводы

Таким образом, по предварительным данным наличие аллеля G и гомозиготного генотипов GG повышает, а выявление аллеля A гетерозигота генотипа GA и генотипа AA понижает риск развития ПЭ.

Рекомендуется проведение дальнейших исследований ассоциации полиморфизма гена ESR 1 с развитием ПЭ, с использованием выборки большего размера.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов (The authors declare no conflict of interest).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Hihl AK, Wahli W. Structure and function of the estrogen receptor. Estrogens and Antiestrogens I. Springer, Berlin, Heidelberg, 1999: 111-126.
- Yaşar P, et al. Molecular mechanism of estrogen-estrogen receptor signaling. Reproductive medicine and biology. 2017; 16(1): 4-20. doi: 10.1002/rmb2.12006.
- Zhao Ge, et al. Association between the estrogen receptor α gene polymorphisms rs2234693 and rs9340799 and severe and mild pre-eclampsia: a meta-analysis. Bioscience reports. 2019; 39(2). doi: 10.1042/BSR20181548.
- Gennari Luigi, et al. Estrogen receptor gene polymorphisms and the genetics of osteoporosis: a HuGE review. American journal of epidemiology. 2005; 161(4): 307-320. doi: 10.1093/aje/kwi055.
- Pakharenko LV, et al. Assessment of estrogen receptor gene polymorphism (t-397c variant) in patients with premenstrual syndrome. Wiadomości Lekarskie. 2020; 73(7): 1505-1509. doi: 10.36740/WLek202007136.
- Morandi A, et al. Estrogen receptor alpha and beta gene polymorphisms are not risk factors for recurrent miscarriage in a Brazilian population. Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis. 2008; 14(2): 180-185. doi: 10.1177/1076029607304093.
- Maruyama A, et al. Association study using single nucleotide polymorphisms in the estrogen receptor β (ESR2) gene for preeclampsia. Hypertension Research. 2004; 27 (12): 903-909. doi: 10.1291/hypres.27.903.
- Zhao Ge, et al. Association between the estrogen receptor α gene polymorphisms rs2234693 and rs9340799 and severe and mild pre-eclampsia: a meta-analysis. Bioscience reports. 2019; 39 (2). doi: 10.1042/BSR20181548.
- Yin G, et al. Differential expression of estradiol and estrogen receptor α in severe preeclamptic pregnancies compared with normal pregnancies. Molecular medicine reports. 2013; 7 (3): 981-985. doi: 10.3892/mmr.2013.1262.
- El-Beshbishy HA, et al. Estrogen receptor alpha (ESR1) gene polymorphisms in pre-eclamptic Saudi patients. Pakistan journal of medical sciences. 2015; 31(4): 880. doi: 10.12669/pjms.314.7541.