

УДК 618.36:616.8-009.24-07

В. Г. Марічереда, канд. мед. наук, доц.

РОЛЬ АДИПОЦИТОКИНО-ЗАЛЕЖНИХ МЕХАНІЗМІВ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ВАГІТНИХ ЖІНОК У РОЗВИТКУ ПРЕЕКЛАМПСІЇ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 618.36:616.8-009.24-07

В. Г. Марічереда

РОЛЬ АДИПОЦИТОКИНО-ЗАВИСИМЫХ МЕХАНИЗМОВ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН В РАЗВИТИИ ПРЕЭКЛАМПСИИ

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Триггерными факторами преэклампсии (ПЭ) считают редукцию инвазии трофобласта и рудиментарное ремоделирование сосудов, промоуторами которых могут выступать адипоцитокнины-антагонисты — адипонектин и лептин. Проведено количественное определение экспрессии генов этих белков и их рецепторов в плацентах женщин с тяжелой ПЭ (n=24) и здоровых беременных (n=27) в третьем триместре, непосредственно после родов. Выявлено повышение экспрессии гена лептина и одного из рецепторов адипонектина в группе ПЭ при исследовании с помощью биочипов (Affymetrics) и ПЦР в реальном масштабе времени.

Не выявлено корреляции между уровнем экспрессии генов и массой новорожденных, массой плаценты. Полученные результаты позволяют рекомендовать иммуногенетически обоснованную профилактику ПЭ на прекоцепционном этапе и ранних сроках беременности.

Ключевые слова: преэклампсия, экспрессия генов, лептин, адипонектин, эндотелиальная дисфункция.

UDC 618.36:616.8-009.24-07

V. G. Marichereda

THE ROLE OF ADIPOCYTOKIN-DEPENDANT WAYS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PREGNANT PATIENTS IN PREECLAMPSIA ORIGIN

The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

In PE cytotrophoblasts invasion is often imperfect, and vascular remodeling is rudimentary. We conducted analysis of gene expression in placental samples from women with PE (n=24) and control group (n=27) in third trimester. Using the Affymetrix GeneChip platform, and statistical significance set, it was settled that some genes were differentially expressed in PE. Quantitative PCR was used to validate the expression patterns of a subset of the genes. *LEP* and *ADIOR1* placental expression was overregulated in spontaneous PE. The presence of weak correlation was deduced between the level of expression of *LEP* and body mass index in PE.

These data concerning adipocytokine-dependent endothelial dysfunction may provide new insights into the pathogenesis of PE and immune-genetic background for PE prophylaxis at preconception stage and early terms of pregnancy.

Key words: preeclampsia, gene expression, leptin, adiponektin, endothelial dysfunction.

Серед безлічі чинників, які супроводжують перебіг вагітності, адипоцитокіни — лептин і адипонектин, що виробляються жировою тканиною і вважаються регуляторами енергетичного балансу, сьогодні розглядаються як важливі фактори регуляції стану та розвитку плаценти і плода [1–5]. Відомо, що під час вагітності, як і при ожирінні, рівень адипонектину знижується обернено пропорційно терміну вагітності, а рівні лептину в материнській сироватці крові підвищуються приблизно в два-три рази [6]. Втім, на фоні преєклампсії (ПЕ) виявлено парадоксальне під-

вищення концентрації адипонектину в материнській плазмі крові [7]. Плацента — це додаткове джерело адипоцитокінів під час вагітності [8], у зв'язку з чим, з практичної точки зору, важливим є визначення можливої асоціації плацентарної гіперекспресії відповідних генів і генів їх рецепторів із розвитком ПЕ. Зміна експресії генів, які кодують адипонектин (*ADPN*), лептин (*LEP*) та їх рецептори (*ADIPOR1*, *ADIPOR2*, *LEPRA*, *LEPRB*, *LEPRC*, *LEPRD*), може впливати на ангиогенез, процеси, що пов'язані з формуванням трофобласта і, відповідно, сприяти розвитку ПЕ. Дані про

зміну цих генів неповні, вони потребують подальшого вивчення, зокрема, при такому розповсюдженню в акушерстві захворюванні, як ПЕ [9–11], яку розцінюють як серйозне порушення серцево-судинної системи, схоже за проявами з метаболічним синдромом [2–4].

Мета дослідження: з'ясувати можливий внесок генетичних чинників ендотеліальної дисфункції в розвиток ПЕ шляхом порівняння профілю експресії генів у плацентах жінок із тяжкою ПЕ та в плацентах жінок з нормальною вагітністю; виявити рандомізуючі фактори, притаманні ПЕ; дослідити генетичні, клінічні, клініко-лабораторні відмінності для подальшого їх використання у прогнозуванні, діагностиці та індивідуалізованому моніторингу вагітних групи ризику.

Матеріали та методи дослідження

Обстеженню підлягали вагітні жінки із встановленою тяжкою ПЕ (основна група, $n=24$) і вагітні жінки без патології (контрольна група, $n=27$) у третьому триместрі. У всіх жінок вивчали анамнез, проводили загальноприйнятні клініко-лабораторні дослідження та інструментальні обстеження. Діагноз ПЕ визначався на підставі діагностичних критеріїв, згідно з клінічними і лабораторними даними [12]. Для оцінки стану та розвитку плода проводили УЗД з доплерометрією кровотоку фетоплацентарного комплексу, кардіотокографію.

Експресію генів лептину *LEP*, адипонектину *ADPN*, генів рецепторів лептину *LEPRA*, *LEPRB*, *LEPRC*, *LEPRD* і генів рецепторів адипонектину *ADIPOR1*, *ADIPOR2* у плацентарній тканині визначали з використанням технології ДНК-мікрочипів (Affymetrix). Біологічний матеріал для цього дослідження отримували шляхом біопсії плаценти під час кесаревого розтину і безпосередньо після пологів, біоптати (приблизно 2 см²) негайно заморожували. Обробку й аналіз даних генетичної експресії здійснювали за допомогою пакетів програм GeneChip Expression Analysis software (Affymetrix) [13]. Методом кількісної полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) оцінювали результати дослідження мікрочипів. Отримані дані порівнювали за допомогою t-критерію Стьюдента ($P<0,05$).

Результати дослідження та їх обговорення

Середні показники основних діагностичних клінічних критеріїв, таких як систолічний тиск (основна група ($158,30\pm 0,67$) мм рт. ст.; контрольна група ($113,78\pm 1,17$) мм рт. ст.), діастолічний тиск (основна група ($96,45\pm 1,17$) мм рт. ст.; контрольна група ($71,48\pm 0,86$) мм рт. ст.) були вірогідно різними ($P<0,001$). Середній рівень добової протеїнурії сягав ($3,65\pm 0,18$) г/л у групі ПЕ і ($1,4\pm 0,6$) г/л в контрольній групі ($P<0,001$). У групі ПЕ також вірогідно визначалася тромбоцито-

пенія — ($215,0\pm 9,3$)·10⁹/л порівняно з контрольною групою — ($277,0\pm 8,9$)·10⁹/л ($P<0,001$). При аналізі клінічних показників обстежуваних груп не було знайдено вірогідних розбіжностей між такими параметрами, як вік вагітних і паритет. За показником індексу маси тіла (ІМТ) групи відрізнялися вірогідно ($P<0,05$) (таблиця). Статистично вірогідні відмінності зареєстровані також у таких категоріях: термін гестації на час пологів, маса новонародженого при народженні та стан новонародженого за шкалою Апгар (на 5-й хвилині). При аналізі результатів вагітності та пологів у групі ПЕ виявлені випадки тяжких ускладнень вагітності у вигляді синдрому затримки внутрішньоутробного розвитку (ЗВУР) ($n=5$; 21 %) і плацентарної дисфункції ($n=17$; 71 %), поєднання синдрому ЗВУР і плацентарної дисфункції ($n=4$; 16,7 %). Звертає на себе увагу той факт, що в групі ПЕ зареєстровано переважно більшість першороділей та значно більший рівень екстрагенітальних захворювань.

Аналіз профілю генетичної експресії генів у плацентах виявив зміни експресії *LEP*, *ADPN*, *ADIPOR1* у групі ПЕ порівняно з контрольною (рис. 1). У реальному масштабі часу ПЛР було виконано для контролю кількісного визначення змін, виявлених при дослідженні біочипів, відносно зазначених генів. Кількісні значення відповідали результатам визначення експресії за допомогою ДНК-мікрочипів. Рівень плацентарної експресії генів *LEP*, *ADIPOR1* був значно вищий у жінок з ПЕ (див. рис. 1). Середній рівень експресії *LEP* у плаценті був в 3,4 разу вищим у групі ПЕ ($P<0,05$), середній рівень експресії *ADIPOR1* у групі ПЕ утричі перевищував показники групи

Таблиця

Клініко-анамнестичні показники вагітних обстежуваних груп

Показники	Основна група (ПЕ), $n=24$	Контрольна група (фізіологічна вагітність), $n=27$	P
Вік матері, роки	30,0±3,3	28,0±5,3	—
Індекс маси тіла матері	27,00±2,12	24,0±2,7	<0,05
Паритет	3,37±3,34	3,02±3,13	<0,001
Термін пологів, тижні гестації	33,0±0,6	37,0±0,5	
Маса дитини при народженні, г	2330,0±8,7	3275,0±11,6	<0,001
Оцінка за шкалою Апгар і на 5-й хвилині, бали	6,42±0,31	8,13±0,15	<0,001
Першороділлі, %	68,04	40	—
Екстрагенітальна патологія, %	69,1	51,1	—

Першороділлі, %

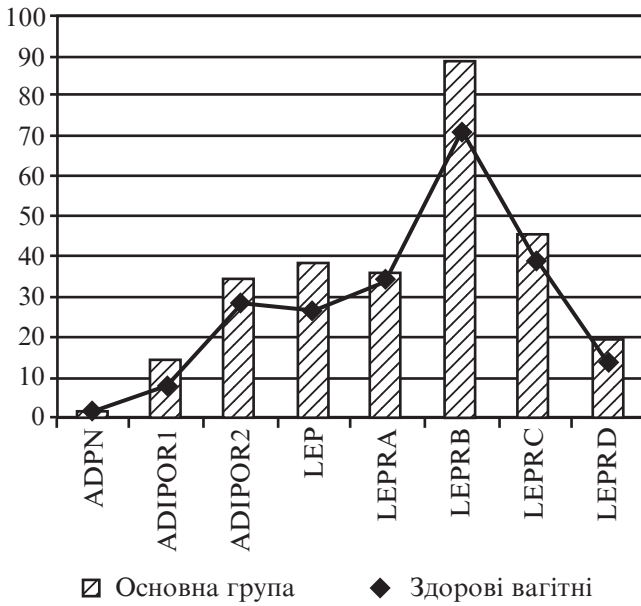


Рис. 1. Середня інтенсивність сигналу генів лептину (*LEP*), адипонектину (*ADPN*) та їх рецепторів (*ADIPOR1*, *ADIPOR2*, *LEPRA*, *LEPRB*, *LEPRC*, *LEPRD*) у плацентах жінок із преєклампсією і фізіологічною вагітністю

здорових вагітних ($P < 0,001$) (рис. 2). Значних змін експресії генів *ADPN*, *ADIPOR2*, *LEPRA*, *LEPRB*, *LEPRC*, *LEPRD* не виявлено. Рівень експресії *ADPN* був низьким у всіх вивчених зразках, проте у групі контролю експресія *ADPN* не визначалася взагалі.

При порівнянні даних генетичної експресії та клініко-лабораторних показників виявлена слабка кореляція між рівнем експресії *LEP* і рівнем гіпертензії у вагітних ($r = 0,44$), у групі контролю цей показник значно нижчий ($r = 0,078$). Також виявлено зворотну слабку кореляцію між показника-

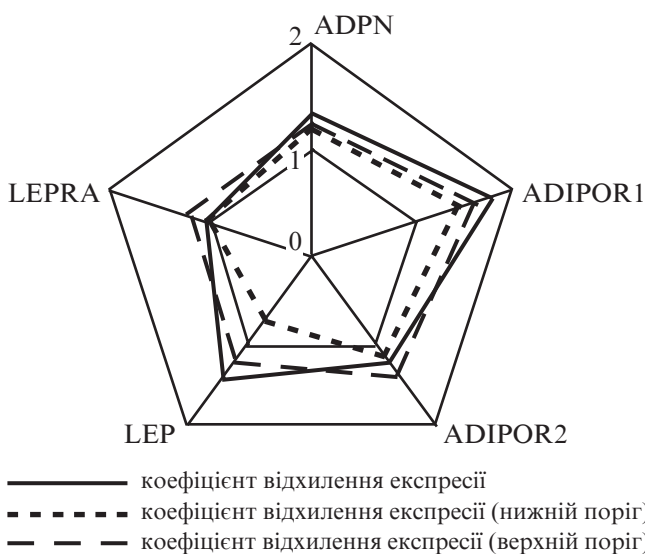


Рис. 2. Коефіцієнт відхилення середньої інтенсивності сигналу експресії генів лептину, адипонектину та їх рецепторів у плацентах жінок із преєклампсією і фізіологічною вагітністю

ми генетичної експресії та ІМТ ($r = -0,48$, $P < 0,01$), що збігається з даними літератури. Втім, не виявлено передбачуваної кореляції між рівнем експресії генів і масою новонароджених ($r = 0,005$), а також масою плаценти ($r = 0,002$), на що вказують результати деяких інших досліджень [6; 7]. Вірогідної кореляції між рівнем генетичної експресії зазначених генів та ускладнень вагітності у вигляді синдрому ЗВУР і плацентарної дисфункції не визначено.

Отже, у проведеному дослідженні виявлено наявність експресії генів лептину, адипонектину та їх рецепторів у плаценті. Це означає, що адипоцитокіни дійсно можуть брати участь у розвитку плацентарної судинної сітки, враховуючи те, що адипонектин є інгібітором, а лептин — стимулятором ангиогенезу. Гіперекспресія *ADIPOR1* може бути маркером дизрегуляції плацентарного ангиогенезу, що призводить до порушення васкуляризації плацентарного ложа у відповідь на гіпоксичний стрес [14]. Можна припустити, що адипонектин і його рецептори можуть здійснювати контррегуляторні механізми, спрямовані на зниження ендотеліальних ушкоджень і інсулінорезистентності, які виявляються при ПЕ (рис. 3).

У групі ПЕ експресія гена *LEP* у плаценті була підвищеною, але експресія генів його рецепторів не відрізнялася від даних контрольної групи. Відомо, що при стані селективної лептинорезистентності активується перекисне окиснення вільних жирних кислот, що може посилювати розвиток інсулінорезистентності, ендотеліальної дисфункції та оксидантного стресу. Відомо, що ПЕ супроводжується зниженням насичення кисню у плаценті, а в дослідженнях *in vitro* встановлено, що посилення продукції лептину, що індукується гіпоксією, не оберігає трофобласт від інтенсифікації апоптозу [15]. Втім, відсутність відповідного підвищення експресії генів рецепторів лептину може відображати один з адаптаційних механізмів вагітності на тлі ендотеліальної дисфункції.

Згідно з отриманими результатами, можна припустити, що адипонектин і лептин можуть взаємодіяти як фактори росту, що спочатку пригнічують, а потім активують ріст клітин. Це припущення підтверджують дослідження, які демонструють антипроліферативний ефект адипонектину, залученого в активацію апоптозу і пригнічення клітинного циклу [16; 17]. У дослідженнях з клітинними культурами адипонектин, як одна з сигнальних молекул, індукує редукцію клітин трофобласта, імовірно, шляхом активації сигнальних шляхів за допомогою MAPK (mitogen-activated protein kinase) та PI3K (phosphoinositide-3-kinase), реалізуючи, таким чином, механізм контролю проліферації клітин трофобласта. У проведеному нами дослідженні встановлено, що експресія *ADIPOR1* значно збільшена у групі ПЕ, що робить можливою активацію апоптозу клітин трофобласта за допомогою адипо-

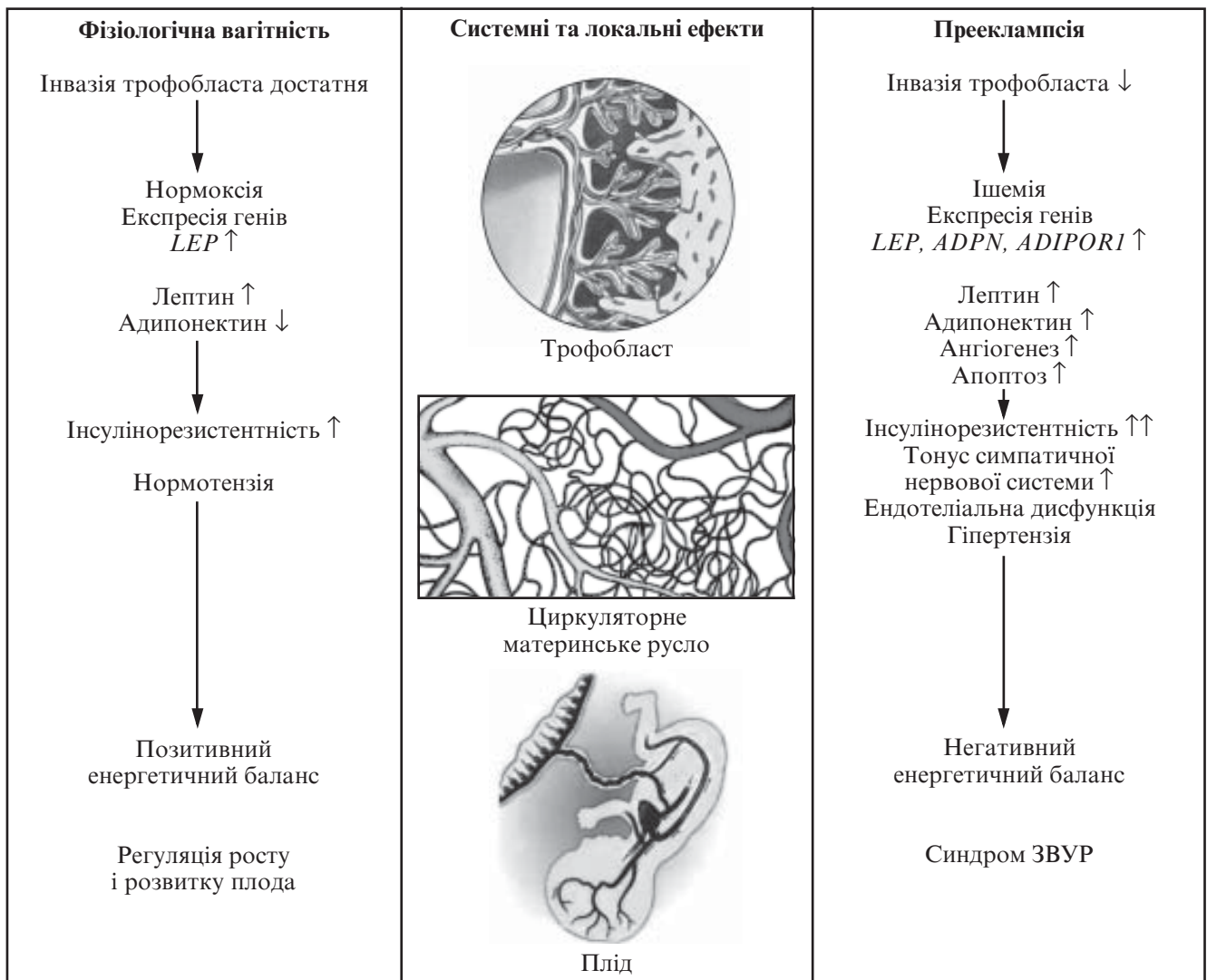


Рис. 3. Схема системного та локального впливу адипоцитокінів під час фізіологічної вагітності та преeklampсії

нектину, що підтверджують дані інших досліджень при ПЕ [16–18].

Отримані дані свідчать про те, що експресія генів лептину й адипонектину змінена в плаценті на тлі тяжкої ПЕ (див. рис. 3). Зміна експресії генів плацентарних адипоцитокінів при тяжкій ПЕ може впливати на ангіогенез, регуляцію плацентарного кровообігу, плацентарну функцію й ендотеліальну дисфункцію. Медіатором плацентарного апоптозу, що індукується високим рівнем адипонектину в материнській сироватці крові в умовах тяжкої ПЕ, може бути рецептор *ADIPOR1*. Представлений механізм адипоцитокіно-залежної ендотеліальної дисфункції є однією з ланок розвитку ПЕ.

Висновки

1. Рівень експресії генів лептину *LEP* і рецептора адипонектину *ADIPOR1* підвищений у плацентах групи вагітних з ПЕ порівняно з контрольною групою.

2. Незначне підвищення експресії гена *ADPN* знайдено в плацентах основної групи вагітних з

ПЕ, істотних змін експресії генів рецептора адипонектину *ADIPOR2* і чотирьох варіантів генів рецепторів лептину не виявлено.

3. Встановлена кореляція між експресією генів лептину *LEP* і рецептора адипонектину *ADIPOR1* та ІМТ і рівнем артеріального тиску в групі ПЕ ($r=0,44$; $r=-0,48$). Це свідчить про те, що дизрегуляція продукції адипоцитокінів та їх рецепторів є суттєвою складовою у формуванні метаболічного синдрому при розвитку ПЕ.

4. Зміни профілю генетичної експресії в плацентах основної групи асоціюються із розвитком ендотеліальної дисфункції і запуском патологічних процесів у трофобласті, що реалізується згодом клінічними проявами ПЕ.

5. Визначення впливу адипоцитокінової ланки ендотеліальної дисфункції на розвиток преeklampсії дозволяє запропонувати імуногенетично обґрунтовану профілактику ПЕ шляхом лікування метаболічних зрушень на етапі підготовки до вагітності та лікування гіпоксичних станів трофобласта на ранніх термінах вагітності в групі ризику.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Гестозы* / Б. М. Венцковский, В. Н. Запорожан, А. Я. Сенчук, Б. Г. Скачко. – М. : МИА, 2005. – 462 с.
2. *Молекулярна епідеміологія* / В. М. Запорожан, Ю. І. Бажора, В. Й. Кресюн [та ін.]; за ред. В. М. Запорожана. – Одеса : Одес. держ. мед. ун-т, 2010. – 316 с.
3. *Грищенко В. И.* Современный взгляд на патогенез и лечение преэклампсии / В. И. Грищенко, О. П. Липко // *Современные аспекты здоровья женщины.* – 2008. – № 2 (11). – С. 4–7.
4. *Moriarty P. M.* Association of ApoE and HDL-C with cardiovascular and cerebrovascular disease: potential benefits of LDL-apheresis therapy / P. M. Moriarty // *Clinical Lipidology.* – 2009, Jun. – Vol. 4, N 3. – P. 311–329.
5. *Longitudinal analysis of maternal plasma leptin concentrations during normal pregnancy and pre-eclampsia* / N. Anim-Nyame, S. R. Sooranna, P. J. Steer, M. R. Johnson // *Hum. Reprod.* – 2000. – N 15. – P. 2033–2036.
6. *Huda S. S.* Lipoprotein metabolism and vascular complications in pregnancy / S. S. Huda, N. Sattar, D. J. Freeman // *Clinical Lipidology.* – 2009. – N 4. – P. 91–102.
7. *Paradoxical Elevation in Adiponectin Concentrations in Women With Preeclampsia* / J. E. Ramsay, N. Jamieson, I. A. Greer, N. Sattar // *Hypertension.* – 2003, Sept 29. – Vol. 42. – P. 89189–89194.
8. *Augmentation of leptin and hypoxia-inducible factor 1 mRNAs in the pre-eclamptic placenta* / S. Iwagaki, Y. Yokoyama, L. Tang [et al.] // *Gynecol. Endocrinol.* – 2004. – N 18. – P. 263–268.
9. *Menzaghi C.* Genetic Influences of Adiponectin on Insulin Resistance, Type 2 Diabetes, and Cardiovascular Disease / C. Menzaghi, V. Trischitta, A. Doria // *Diabetes.* – 2007. – Vol. 56, N 5. – P. 1198–1209.
10. *Leptin expression in placental and fetal tissues: does leptin have a functional role?* / N. Hoggard, P. Haggarty, L. Thomas, R. G. Lea // *Biochem. Soc. Trans.* – 2001. – N 29. – P. 57–63.
11. *Placental Insufficiency: Programming of Leptin Secretion, Blood Pressure, and Postnatal Growth in Two Generations of Sprague-Dawley Rats* / C. M. Anderson, F. Lopez, A. Sandeen, L. Johnson // *Biol. Res. Nurs.* – 2009, January 1. – Vol. 10 (3). – P. 284–291.
12. *Гіпертензивні розлади під час вагітності: Клінічний протокол.* Наказ МОЗ України від 31.12.2004 р. № 676. – К., 2004.
13. *Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics* / R. C. Gentleman, V. J. Carey, D. M. Bates [et al.] // *Genome Biol.* – 2004. – N 5 (10). – P. 80.
14. *Shibata E.* Powers Soluble fms-Like Tyrosine Kinase 1 Is Increased in Preeclampsia But Not in Normotensive Pregnancies with Small-for-Gestational-Age Neonates: Relationship to Circulating Placental Growth Factor / E. Shibata, A. Rajakumar, W. Robert // *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* – 2004. – N 3. – P. 1955.
15. *Hypoxia-induced leptin production in human trophoblasts does not protect from apoptosis* / U. Meibner, R. Spranger, M. Lehner [et al.] // *European Journal of Endocrinology.* – 2005. – Vol. 153, Issue 3. – P. 455–461.
16. *Benaitreau D.* Effects of adiponectin on human trophoblast invasion / D. Benaitreau, E. D. Santos, M. C. Leneuve // *Journal of Endocrinology.* – 2010. – Vol. 45. – P. 207–210.
17. *Antiproliferative Effects of Adiponectin on Human Trophoblastic Cell Lines JEG-3 and BeWo.* / D. Benaitreau, M.-N. Dieudonne, E. D. Santos [et al.] // *Biol. Reprod.* – 2009. – Vol. 80, N 6. – P. 1107–1114.
18. *Maternal serum adiponectin multimers in preeclampsia* / S. Mazaki-Tovi, R. Romero, E. Vaisbuch [et al.] // *Journal of Perinatal Medicine.* – 2009. – Vol. 37, N 4. – P. 349–363.