

Роль регуляторных участков гена *CORO2A* в формировании наследственной предрасположенности к преэклампсии

Сереброва В.Н.^{1*}, Трифонова Е.А.^{1,2}, Степанов В.А.^{1,2}

¹ — НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ, Томск; * vika.serebrova@medgenetics.ru

² — Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск

Полиморфные варианты, располагающиеся в регуляторных последовательностях генов (rSNPs) играют значимую роль в развитии различных патологических состояний человека, изменяя уровень экспрессии кандидатных генов. Цель исследования — изучение генетической компоненты преэклампсии (ПЭ) по системе регуляторных полиморфных вариантов нового гена-кандидата *CORO2A*. В представленной работе изучено пять rSNPs. Исследование проводилось в различных этнических группах (русские, якуты, буряты). Полученные данные показали ассоциацию с развитием ПЭ двух rSNPs гена *CORO2A*: rs10985257 и rs735111. Результаты исследования могут свидетельствовать о значимой роли rSNPs нового гена-кандидата *CORO2A* в формировании вариабельности уровня экспрессии в плацентарной ткани при ПЭ и физиологично протекающей беременности.

Ключевые слова: преэклампсия, rSNPs, ассоциативное исследование, популяции человека, плацента, транскриптом

The role of *CORO2A* gene regulatory sites in development predisposition to preeclampsia

Serebrova V.N.^{1*}, Trifonova E.A.^{1,2}, Stepanov V.A.^{1,2}

¹ — Research Institute of Medical Genetics, Tomsk NRCM, Tomsk, Russia; * vika.serebrova@medgenetics.ru

² — National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

Regulatory single nucleotide polymorphisms (rSNPs) play a significant role in the development of human pathology by altering the level of candidate genes expression. The purpose of this research was to study preeclampsia (PE) genetics components via the regulatory polymorphic variants of the new *CORO2A* candidate gene. In this work we analyzed five rSNPs. Three ethnic group have been studied (Yakut, Russian, Buryat). We have detected significant associations of PE with 2 rSNPs in *CORO2A* gene: rs10985257 and rs735111. The results of this study provide evidence of a significant role of the new *CORO2A* candidate gene in development of variability of placental tissue expression level in PE and in normal pregnancy.

Keywords: preeclampsia, association study, Russian population, regulatory single-nucleotide polymorphisms (rSNPs), placenta, transcriptome

Введение

Преэклампсия (ПЭ) признана одним из наиболее тяжелых осложнений беременности, а также основным фактором риска материнской и перинатальной заболеваемости и смертности. Частота ПЭ составляет 7—22% и диагностируется в 70% случаев гипертензивных расстройств беременных [1, 2]. Согласно наиболее признанной гипотезе, основной причиной развития ПЭ является нарушение процессов формирования плаценты в ранние сроки гестации вследствие нарушения ремоделирования спиральных артерий [3].

В связи с ведущей ролью плаценты в этиопатогенезе ПЭ, одним из наиболее перспективных подходов для характеристики молекулярных механизмов данной патологии является изучение вариабельности уровня экспрессии генов плацентарной ткани и механизмов их регуляции. На сегодняшний день проведено более 20 исследований транскриптома плацентарной ткани, которые выявили ряд новых генов-кандидатов ПЭ в различных этнических выборках [4], включая наше предыдущее исследование [5]. При-

мечательно, что полиморфные варианты, располагающиеся в регуляторных последовательностях генов (rSNPs) влияют на регуляцию экспрессии гена, как на транскрипционном, так и посттранскрипционном уровне [6, 7]. Несмотря на то, что rSNPs относятся к наименее изученной функционально значимой группе однонуклеотидных полиморфных вариантов (SNPs), результаты ряда исследований свидетельствуют об их значимой роли в развитии различных патологических состояний человека [7].

Цель исследования — охарактеризовать генетическую компоненту ПЭ по системе регуляторных полиморфных вариантов нового гена-кандидата *CORO2A*, который показал дифференциальную экспрессию в плацентарной ткани при ПЭ и физиологически протекающей беременности [5, 8].

Материалы и методы

В исследование включено 1148 женщин, принадлежащих к трем этническим выборкам: якуты из г. Якутска (ПЭ = 210 чел., контроль = 210 чел.), буряты из

г.Улан-Удэ (ПЭ = 140 чел., контроль = 220 чел.), русские из г.Томска (ПЭ = 158 чел., контроль = 210 чел.). Диагноз *преэклампсия* установлен врачами-акушерами в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). Группа больных с ПЭ включала пациенток с умеренной и тяжелой степенью ПЭ. Контрольная группа представлена женщинами с физиологичной беременностью и родами, отсутствием неблагоприятного акушерского анамнеза. Материал был собран на базе МАУЗ «Родильный дом № 4» и ОГАУЗ «Областной перинатальный центр» г.Томска, Перинатального центра РБ № 4 г.Якутска и ГБУЗ «Республиканский перинатальный центр» г.Улан-Удэ.

Поиск наиболее значимых rSNPs гена *CORO2A* проводили при помощи он-лайн ресурса «RegulomeDB». Критерием отбора служили значения «score» равные 1, 2 и 3, характеризующие степень доказательности регуляторности каждого полиморфного варианта исследуемого гена. В результате было выявлено 38 rSNPs, из них 24 rSNPs оказались полиморфными (частота редкого аллеля более 5% по результатам проекта «1000 геномов»). Для дальнейшего анализа были выбраны 5 rSNP, которые вошли в состав мультиплекса (табл. 1). Генотипирование проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии, как описано ранее [9], последовательности праймеров доступны по запросу у авторов.

Соответствие распределения частот аллелей и генотипов равновесию Харди—Вайнберга (PXB) проверяли

по критерию χ^2 . Парное сравнение частот аллелей и генотипов между исследуемыми группами проводили с помощью критерия χ^2 с поправкой Йейтса или точного критерия Фишера. Для оценки ассоциированности rSNP с ПЭ вычисляли отношение шансов (OR) и его 95%-ный доверительный интервал (95% CI).

Проведение настоящего исследования одобрено Комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ медицинской генетики».

Результаты исследования

В обследованных этнических выборках из 5 исследуемых rSNPs гена *CORO2A* полиморфными оказались все, за исключением rs78486797. Отклонение от PXB было выявлено для двух rSNPs (rs2231656, rs10985257) в группе больных ПЭ русских, что может быть связано со спецификой популяционно-генетических процессов или с функциональной значимостью данных rSNPs. В табл. 2 представлено распределение частот аллелей изученных rSNPs в исследуемых группах.

В выборке русских при сравнении группы больных ПЭ и контрольной группы статистически значимые различия выявлены для rs10985257. Показано значимое повышение частоты генотипа AC ($p = 0,0005$, OR = 3,33; CI:1,28—8,68) и аллеля C ($p = 0,000009$, OR = 6,06; CI:2,50—14,73) в группе больных ПЭ, в то же время, статистически значимое повышение частоты генотипа AA

Характеристика исследуемых rSNP гена *CORO2A*

Таблица 1

rSNPs	Значение "score"	Аллели	Предковый аллель	Локализация в гене
rs10985257	3a	A/C	A	Инtron
rs2231656	3a	C/T	T	Инtron
rs56916178	2b	C/T	T	Инtron
rs735111	1f	A/G	G	Экзон
rs78486797	2b	G/T	G	Вблизи 5'-UTR

Примечание. Значение «score» базы данных «RegulomeDB», характеризующее степень доказательности регуляторности SNPs, обозначено цифровыми и буквенными символами; наибольшими регуляторными свойствами обладают rSNPs со значением «score» равным 1a (регуляторные свойства уменьшаются с увеличением цифрового значения и в алфавитном порядке). Локализация rSNPs в гене определена согласно данным базы «NSBI».

Распределение частот (%) аллелей rSNP в исследуемых группах

Таблица 2

rSNPs	Предковый аллель	Обследованные группы					
		ПЭ			Контроль		
		Буряты	Русские	Якуты	Буряты	Русские	Якуты
rs10985257	A	94	84	93	89	97	97
rs2231656	T	12	4	3	11	2	3
rs56916178	T	92	91	92	89	87	94
rs735111	G	82	88	82	78	85	87
rs78486797	G	100	100	100	100	99	100

(OR = 0,20; CI:0,08—0,50) и аллеля А (OR = 0,16; CI:0,07—0,40) в группе контроля указывает на их протективные свойства.

В якутской популяции ассоциацию с развитием ПЭ показали два rSNPs: rs10985257 и rs735111. Для rs10985257 при ПЭ характерно статистически значимое повышение частоты встречаемости аллеля С ($p = 0,03$, OR = 2,38; CI:1,07—5,30) и снижение частоты встречаемости аллеля А (OR = 0,42; CI:0,19—0,94) по сравнению с физиологичной беременностью. Статистически значимое повышение частоты встречаемости аллеля А ($p = 0,04$, OR = 1,49; CI:1,02—2,19) в группе больных ПЭ показано для rs735111, в то же время аллель G (OR = 0,67; CI:0,46—0,98) статистически значимо чаще встречался в группе контроля, что свидетельствует о его протективных свойствах.

В этнической выборке бурят не было установлено статистически значимых различий при сравнении группы больных ПЭ и контрольной группы.

Обсуждение

В представленной работе с целью охарактеризовать генетическую компоненту ПЭ по системе регуляторных полиморфных вариантов нового гена-кандидата *CORO2A* был проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов пяти rSNPs. Полученные данные свидетельствуют об ассоциации с ПЭ двух rSNPs: rs10985257 в выборках русских и якутов; rs735111 в выборке якутов.

Новый ген-кандидат ПЭ — *CORO2A* — впервые был выявлен благодаря анализу транскриптома плацентарной ткани. Функции исследуемого гена не определены однозначно, кроме того, в литературе отсутствуют данные о роли его SNPs в развитии ПЭ. В настоящее время известно, что продукт гена коронин 2А относится к семейству актин-связывающих белков, и выполняет важные функции, связанные с клеточной подвижностью, мембранным транспортом, трансдукцией межклеточных сигналов. Результаты недавнего исследования показали *CORO2A*-актин-зависимый механизм дерепрессии генов воспалительного ответа [10]. Посредством данного механизма коронин 2А осуществляет дереессию Toll-подобных рецепторов генов-мишеней в макрофагах, что приводит к формированию воспалительного ответа и, вероятно, способствует развитию ПЭ. Примечательно, что по результатам анализа транскриптома

плацентарной ткани для ПЭ характерно повышение уровня экспрессии гена *CORO2A* [5, 8].

Полученные в нашей работе данные показали значимую ассоциацию двух rSNPs гена *CORO2A* с развитием ПЭ в этнических группах русских и якутов, что может свидетельствовать о важной роли rSNPs в формировании вариабельности уровня экспрессии плацентарной ткани при ПЭ и физиологичной беременности. Для более углубленного понимания молекулярных процессов, происходящих в плацентарной ткани, и установлению роли выявленных нами rSNPs в механизмах регуляции вариабельности уровня экспрессии, необходимо в дальнейшем провести анализ основных биологических процессов, в которые вовлечен исследуемый ген, а также расширить для изучения список rSNPs.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 14-04-01467).

Список литературы

1. Айламазян ЭК, Мозговая ЕВ. Гестоз: теория и практика. — М.: МЕДпресс-Информ. 2008.
2. Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin. Perinatol.* 2009;33(3):130-137.
3. Steegers E, Daddelen P, Duvekot J, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2010;376:631-644.
4. Louwen F, Muschol-Steinmetz C, Reinhard J, et al. A lesson for cancer research: placental microarray gene analysis in preeclampsia. *Oncotarget.* 2012;3(8):759-773.
5. Трифонова ЕА, Габидулина ТВ, Ершов НИ, и др. Характеристика транскриптома плацентарной ткани у женщин с физиологической беременностью и преэклампсией. *Acta Naturae.* 2014;6(2):77-90.
6. Антонцева ЕВ, Брызгалов ЛО, Матвеева МЮ, и др. Поиск регуляторных SNPs, связанных с развитием рак
7. Jones BL, Swallow DM. The impact of cis-acting polymorphisms on the human phenotype. *Hugo J.* 2011;5(1-4):13-23.
8. Luust M, Mundal SB, Johnson MP, et al. A transcriptional profile of the decidua in preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2011;204(1):84.e1-84.e27.
9. Степанов ВА, Трифонова ЕА. Мультиплексное генотипирование однонуклеотидных полиморфных маркеров методом масс-спектрометрии MALDI-TOF: частоты 56 SNP в генах иммунного ответа в популяциях человека. *Молекулярная биология.* 2013;47(6):976-986.
10. Huang W, Ghisletti S, Saijo K. Coronin 2A mediates actin-dependent de-repression of inflammatory response genes. *Nature.* 2011; 470(7334):414-418.