Роль регуляторных участков гена *SYDE1* в формировании наследственной предрасположенности к преэклампсии

Сереброва В.Н.¹, Трифонова Е.А.¹, Ворожищева А.Ю.², Степанов В.А.¹

¹ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

Научно-исследовательский институт медицинской генетики,

Россия, 634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10;

² ГАУЗ Кемеровской области «Новокузнецкая городская клиническая больница №1»,

Россия, 654057, г. Новокузнецк, пр. Бардина, д. 28.

Преэклампсия (ПЭ) – одно из наиболее тяжелых гипертензивных расстройств беременности, этиология и патогенез которого остаются на сегодняшний день плохо изученными. Поскольку ключевая роль в этиопатогенезе ПЭ отводится плацентарной ткани, изучение вариабельности уровня экспрессии генов в плаценте и механизмов регуляции данных изменений являются перспективными направлениями. Цель исследования – охарактеризовать генетическую архитектуру ПЭ по системе регуляторных однонуклеотидных полиморфизмов (rSNP) нового гена-кандидата *SYDE1*, выявленного впервые по результатам анализа транскриптома плацентарной ткани. В работе было изучено два наиболее значимых rSNP гена *SYDE1* (rs56153523, rs8109071). Исследование проводилось в трех этнических группах: буряты, русские, якуты. Результаты проведенного исследования демонстрируют ассоциацию rSNP гена *SYDE1* с развитием ПЭ в выборках бурятов (rs56153523) и русских (rs56153523, rs8109071).

Ключевые слова: преэклампсия, регуляторный однонуклеотидный полиморфный вариант (rSNP), ген *SYDE1*.

Для цитирования: Сереброва В.Н., Трифонова Е.А., Ворожищева А.Ю., Степанов В.А. Роль регуляторных участков гена *SYDE1* в формировании наследственной предрасположенности к преэклампсии. *Медицинская генетика* 2019; 18(1): 35-38

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.01.35-38

Автор для корреспонденции. Сереброва Виктория Николаевна, **e-mail:** vika.serebrova@medgenetics.ru.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 18-44-700007).

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 12.10.2018

The role of *SYDE1* gene regulatory sites in development predisposition to preeclampsia

Serebrova V.N.¹, Trifonova E.A.¹, Vorozhischeva A.Yu.², Stepanov V.A.¹

¹Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences,

Nab. Ushaiki, 10, Tomsk, 634050, Russia;

²The government owned autonomous health-care institution of Kemerovo Oblast «Novokuznetsk municipal clinical hospital № 1»,

Bardin Ave, 28, Novokuznetsk, 654057, Russia.

Preeclampsia (PE) is one of the most serious hypertensive pregnancy disorders, which etiology and pathogenesis is remained poorly understood. Since a key role in the etiopathogenesis of PE is given to the placental tissue, the study of the gene expression variability in the placental tissue and of the regulatory mechanisms of these changes is a promising approach. The purpose of this research was to characterize of the genetic architecture of PE on the basis of regulatory polymorphic variants (rSNPs) of the new *SYDE1* candidate gene, identified for the first time by the results of the transcriptome analysis in placental tissue. In this work, we analyzed the two most significant rSNPs of the *SYDE1* gene (rs56153523, rs8109071). The study was conducted in three ethnic groups: Buryats, Russians, Yakuts. We have detected associations of the rSNPs of *SYDE1* gene with the development of preeclampsia in ethnic groups Buryat (rs56153523) and Russian (rs56153523, rs8109071).

Keywords: preeclampsia, regulatory single-nucleotide polymorphisms (rSNPs), *SYDE1* gene.

For citation: Serebrova V.N., Trifonova E.A., Vorozhischeva A.Yu., Stepanov V.A. The role of *SYDE1* gene regulatory sites in development predisposition to preeclampsia. *Medical genetics* 2019; 18(1): 35-38 (in Russian).

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.01.35-38

Corresponding author. Serebrova Victoria Nicolaevna, **e-mail:** vika.serebrova@medgenetics.ru

Funding. The work was financially supported by the Russian Foundation for Basic Research (Project № 18-44-700007).

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Accepted: 12.10.2018

Введение

Преэклампсия (ПЭ) — одно из наиболее тяжелых гипертензивных расстройств беременности и рассматривается как основной фактор риска материнской и перинатальной заболеваемости и смертности. Высокая частота возникновения ПЭ (от 7 до 22%) наряду с отсутствием в настоящее время предсказательных биомаркеров и эффективной фармакологической терапии является причиной все большего внимания исследователей, направленного на изучение молекулярных механизмов данной патологии беременности [1, 2, 3].

В связи с ключевой ролью плаценты в этиопатогенезе ПЭ наиболее перспективным направлением является изучение вариабельности уровня экспрессии генов в плацентарной ткани при ПЭ и физиологической беременности [4, 5]. Наряду с этим интерес представляет изучение регуляторных однонуклеотидных полиморфизмов (rSNP), которые располагаются в регуляторных последовательностях генов и относятся к наименее изученной функционально значимой группе однонуклеотидных полиморфных вариантов (SNP), поскольку они могут играть значимую роль в развитии различных патологических состояний путем изменения уровня экспрессии кандидатных генов [6, 7].

В настоящем исследовании проведено изучение генетической компоненты ПЭ по rSNP гена *SYDE1* (Synapse Defective Rho GTPase Homolog 1), который является новым геном-кандидатом ПЭ и был выявлен впервые при анализе транскриптома плацентарной ткани [5, 8]. Исследуемый ген представляет особый интерес, поскольку известно, что белок SYDE1 (белок, активирующий GTP-азу, гомолог 1) способствует клеточной миграции, инвазии и ремоделированию цитоскелета, кроме того, участвует в развитии плаценты, а также способен стимулировать миграцию клеток трофобласта [9], что, вероятно, отражает его вовлеченность в этиопатогенез ПЭ.

Цель исследования — изучить роль наиболее значимых rSNP нового гена-кандидата *SYDE1* в формировании наследственной предрасположенности к развитию ПЭ.

Материалы и методы

В настоящем исследовании было проанализировано 1269 образцов ДНК женщин из трех этнических выборок: буряты из г. Улан-Удэ (N = 344 чел.), русские из г. Томска (N = 498 чел.), якуты из г. Якутска (N = 427 чел.). В группу больных ПЭ включена 551 пациентка с умеренной и тяжелой степенью ПЭ (буряты

N = 139 чел., русские N = 195 чел., якуты N = 217 чел.). В состав контрольной группы включены 718 женщин (буряты N = 205 чел., русские N = 303 чел., якуты N = 210 чел.) с физиологично протекавшими беременностью и родами, а также 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 rSNP исследуемого гена проводили с использованием on-line ресурса «RegulomeDB» [10], всего было выявлено 17 rSNP. Для выбора наиболее значимых rSNP использовали значения «score» равные 1 и 2, определяющие степень доказательности регуляторного потенциала каждого полиморфного варианта гена *SYDE1*. Такому критерию соответствовало только 3 rSNP: rs56153523, rs8109071, rs71168574. В дальнейшем анализ включены 2 rSNP с частотой редкого аллеля более 5% (в популяциях из проекта «1000 геномов»): rs56153523 и rs8109071. Генотипирование осуществляли методом MALDI-TOF масс-спектрометрии на масс-спектрометре «MassARRAY Analyzer 4» («Sequenom», США) [11], последовательности праймеров доступны по запросу у авторов.

Соответствие распределения частот аллелей и генотипов равновесию Харди-Вайнберга определяли с использованием точного теста Фишера. Для сравнения частот аллелей и генотипов между исследуемыми группами использовали критерий χ^2 Пирсона. Для оценки ассоциации rSNP с развитием ПЭ вычисляли отношение шансов (OR) и его 95%-ный доверительный интервал (95% CI).

Экспериментальные исследования проведены на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» (НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ). Проведение настоящего исследования одобрено Комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Результаты исследования

В исследуемых этнических выборках rs56153523 и rs8109071 гена *SYDE1* оказались полиморфными, не было выявлено отклонений от равновесия Харди-Вайнберга. В таблице представлено распределение частот аллелей изученных rSNP в выборках бурятов, русских и якутов.

Статистически значимая ассоциация с развитием ПЭ для rs56153523 была выявлена в выборках бурятов

Таблица. Распределения частот (%) аллелей rSNP гена SYDE1 в исследуемых группах

rSNP	Значение «score»	Локализация в гене*	Аллели	Обследованные группы					
				Буряты		Русские		Якуты	
				К	ПЭ	К	ПЭ	К	ПЭ
rs56153523	2b	Интрон	С/Т	45	64	59	71	48	44
rs8109071	2b	Интрон	С/Г	53	50	75	60	41	41

Примечание. Значение «score» базы данных «RegulomeDB», характеризует степень доказательности регуляторности SNP, обозначено цифровыми и буквенными символами (регуляторные свойства уменьшаются с увеличением цифрового значения и в алфавитном порядке). Полужирным шрифтом выделены предковые аллели. К – группа контроля, ПЭ – группа больных ПЭ. * – сборка генома GRCh38.p7.

и русских. Так, в выборке бурятов наблюдалось значимое повышение частоты генотипа CC ($p = 2 \times 10^{-5}$, OR = 2,58; CI:1,59-4,19) и аллеля С ($p = 2 \times 10^{-6}$, OR = 2,16; CI:1,57-2,98) и снижение частоты генотипа TT ($p = 2 \times 10^{-5}$, OR = 0,34; CI:0,19-0,61) и аллеля Т ($p = 2 \times 10^{-6}$, OR = 0,46; CI:0,34-0,64) в группе больных ПЭ. В выборке русских с ПЭ обнаружено статистически значимое повышение частоты встречаемости генотипа CC ($p = 0,0007$, OR = 1,73; CI:1,16-2,57) и аллеля С ($p = 0,0002$, OR = 1,74; CI:1,30-2,34) и снижение частоты встречаемости генотипа TT ($p = 0,0007$, OR = 0,33; CI:0,18-0,64) и аллеля Т ($p = 0,0002$, OR = 0,57; CI:0,43-0,77) в сравнении с группой с физиологично протекающей беременностью.

Для rs8109071 выявлена статистически значимая ассоциация с развитием ПЭ у русских. Показано значимое повышение частоты генотипа GG ($p = 3 \times 10^{-5}$, OR = 3,92, CI:1,92-7,98) и аллеля G ($p = 8 \times 10^{-6}$, OR = 1,98, CI:1,46-2,67) в группе больных ПЭ, в то же время генотип CC ($p = 3 \times 10^{-5}$, OR = 0,50, CI:0,33-0,74) и аллель С ($p = 8 \times 10^{-6}$, OR = 0,51, CI:0,37-0,68) статистически значимо чаще встречался в контрольной группе, что указывает на их протективные свойства.

В выборке якутов не было выявлено статистически значимых различий для изученных rSNP при сравнении больных ПЭ и группы контроля.

Обсуждение

Продукт гена SYDE1 принадлежит семейству Rho GTP-аз, которые играют важную роль в регуляции внутриклеточной динамики актина, апоптозе, экспрессии генов и пролиферации клеток. Показано, что белок SYDE1 стимулирует миграцию клеток трофобласта и вовлечен в развитие плаценты [9], что, вероятно, играет значимую роль в этиопатогенезе ПЭ. Примечательно, что для данной патологии беременности характерно увеличение уровня экспрессии гена SYDE1 в пла-

центарной ткани [5, 8], в то время как снижение экспрессии данного гена связано с внутриутробной задержкой роста плода.

Регуляторный полиморфный вариант rs56153523 располагается в сайте связывания с транскрипционным репрессором ZNF263 (Zinc Finger Protein 263 — белок цинковых пальцев 263), тогда как rs8109071 расположен в сайте связывания с транскрипционным фактором CEBPB (CCAAT/Enhancer Binding Protein Beta — CCAAT/Энхансер, связывающий белок бета), который способен ингибировать инвазию трофобласта [12, 13]. Можно предположить, что rs56153523 и rs8109071 вовлечены в этиопатогенез ПЭ на стадии формирования плаценты. Так, вероятно, носительство генотипа CC регуляторного полиморфного варианта rs56153523 может приводить посредством транскрипционного фактора ZNF263 к недостаточному уровню экспрессии гена SYDE1, необходимого для нормальной плацентации. В то же время, взаимодействие регуляторного полиморфного варианта rs8109071 (в случае носительства генотипа GG) и транскрипционного фактора CEBPB, вероятно, приводит к нарушению инвазии трофобласта в условиях гипоксии. Данные предположения, несомненно, требуют подтверждения дальнейшими исследованиями с использованием методов функциональной геномики.

Результаты проведенного исследования демонстрируют значимую ассоциацию двух rSNP гена SYDE1 с развитием ПЭ в выборках бурятов (rs56153523) и русских (rs56153523, rs8109071) и отсутствие ассоциации изученных rSNP с ПЭ в выборке якутов. Полученные в настоящей работе результаты могут свидетельствовать о важной роли двух наиболее значимых на сегодняшний день rSNP гена SYDE1 в формировании наследственной подверженности к развитию ПЭ, что, вероятно, может быть реализовано посредством изменения уровня экспрессии данного гена в плацентарной ткани.

Список литературы

1. Адамян Л.В., Артымук Н.В., Башмакова Н.В., и др. Клинические рекомендации «Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия». М., 2016. 72 с.
2. Tannetta D., Sargent I. Placental disease and the maternal syndrome of preeclampsia: missing links? *Curr. Hypertens. Rep.* 2013;15(6): 590-599.
3. Boeldt D.S., Bird I.M. Vascular adaptation in pregnancy and endothelial dysfunction in preeclampsia. *J. Endocrinol.* 2017; 232(1): R27-R44.
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 Е.А., Габидулина Т.В., Ершов Н.И., и др. Характеристика транскриптома плацентарной ткани у женщин с физиологической беременностью и преэклампсией. *Acta Naturae* 2014; 6(2): 77-90.
6. Антонцева Е.В., Брызгалов Л.О., Матвеева М.Ю., и др. Поиск регуляторных SNPs, связанных с развитием рака толстой кишки, в генах APC и MLH1. *Вавиловский журнал генетики и селекции* 2011; 15(4): 644-652.
7. Jones B.L., Swallow D.M. The impact of cis-acting polymorphisms on the human phenotype. *Hugo J.* 2011; 5(1-4): 13-23.
8. Winn V.D., Gormley M., Fisher S.J. The Impact of Preeclampsia on Gene Expression at the Maternal-Fetal Interface. *Pregnancy Hypertens.* 2011; 1(1): 100-108.
9. Lo H.F., Tsai C.Y., Chen C.P., et al. Association of dysfunctional synapse defective 1 (SYDE1) with restricted fetal growth - SYDE1 regulates placental cell migration and invasion. *J.Pathol.* 2017; 241(3): 324-336.
10. Boyle A.P., Hong E.L., Hariharan M., et al. Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB. *Genome Res.* 2012; 22(9): 1790-1797.
11. Степанов В.А., Трифонова Е.А. 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.
12. Zhuang B., Luo X., Rao H., et al. Oxidative stress-induced C/EBP β inhibits β -catenin signaling molecule involving in the pathology of preeclampsia. *Placenta* 2015; 36(8): 839-46.
13. Radde J., Löning T., Bamberger A.M. Expression pattern of the CCAAT/enhancer-binding protein C/EBP-beta in gestational trophoblastic disease. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 2004; 23(4): 373-377.

References

1. Adamyan L.V., Artymuk N.V., Bashmakova N.V. et al. Klinicheskie rekomendacii «Gipertenzivnye rasstrojstva vo vremya beremennosti v rodah i poslerodovom periode. Preehklampsiya. Ehklampsiya» [Clinical recommendations «Hypertensive disorders during pregnancy, during labor and the postpartum period. Pre-eclampsia. Eclampsia»]. М., 2016. 72. (In Russ.)
2. Tannetta D., Sargent I. Placental disease and the maternal syndrome of preeclampsia: missing links? *Curr. Hypertens. Rep.* 2013;15(6): 590-599.
3. Boeldt D.S., Bird I.M. Vascular adaptation in pregnancy and endothelial dysfunction in preeclampsia. *J. Endocrinol.* 2017; 232(1): R27-R44.
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. Trifonova E.A., Gabidulina T.V., Ershov N.I., Serebrova V.N., Vorozhishcheva A.Yu., Stepanov V.A. Analysis of the placental tissue transcriptome of normal and preeclampsia complicated pregnancies. *Acta Naturae* 2014; 6(2): 71-83.
6. Antontseva E.V., Bryizgalov L.O., Matveeva M.Yu., Kashina E.V., Cherdintseva N.V., Merkulova T.I. Poisk regulatornykh SNPs, svyazannykh s razvitiem raka tolstoy kishki, v genah *ARS* i *MLH1* [Search for regulatory SNPs associated with colon cancer in the *APC* and *MLH1* genes] *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selekcii* [Vavilov Journal of Genetics and Breeding] 2011; 15(4): 644-652. (In Russ.)
7. Jones B.L., Swallow D.M. The impact of cis-acting polymorphisms on the human phenotype. *Hugo J.* 2011; 5(1-4): 13-23.
8. Winn V.D., Gormley M., Fisher S.J. The Impact of Preeclampsia on Gene Expression at the Maternal-Fetal Interface. *Pregnancy Hypertens.* 2011; 1(1): 100-108.
9. Lo H.F., Tsai C.Y., Chen C.P., et al. Association of dysfunctional synapse defective 1 (SYDE1) with restricted fetal growth - SYDE1 regulates placental cell migration and invasion. *J.Pathol.* 2017; 241(3): 324-336.
10. Boyle A.P., Hong E.L., Hariharan M., et al. Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB. *Genome Res.* 2012; 22(9): 1790-1797.
11. Stepanov V.A., Trifonova E.A. Multiplex SNP genotyping by MALDI-TOF mass spectrometry: Frequencies of 56 immune response gene SNPs in human populations. *Molecular Biology* 2013; 47(6): 852-862.
12. Zhuang B., Luo X., Rao H., et al. Oxidative stress-induced C/EBP β inhibits β -catenin signaling molecule involving in the pathology of preeclampsia. *Placenta* 2015; 36(8): 839-46.
13. Radde J., Löning T., Bamberger A.M. Expression pattern of the CCAAT/enhancer-binding protein C/EBP-beta in gestational trophoblastic disease. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 2004; 23(4): 373-377.