

РОЛЬ МЕЖГЕННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В ФОРМИРОВАНИИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ПРЕЭКЛАМПСИИ

© 2024 г. А. А. Бабовская¹*, Е. А. Трифонова¹, В. Н. Сереброва¹, В. А. Степанов¹

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского национального
исследовательского медицинского центра, Томск, 634050 Россия

*e-mail: anastasia.babovskaya@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 27.12.2023 г.

После доработки 06.02.2024 г.

Принята к публикации 20.03.2024 г.

Выявление наследственной основы преэклампсии остается актуальным направлением для медицинской генетики. Несмотря на многочисленные попытки поиска главных предопределяющих факторов, до настоящего времени не сформулировано общепринятых гипотез патогенеза этого осложнения беременности ввиду многофакторной природы рассматриваемой патологии. Одним из прогрессивных подходов к изучению сложных заболеваний является модельный анализ ген-генных взаимодействий, позволяющий выделять из большого массива факторов те сочетания генотипов, которые могут определять высокий или низкий риск предрасположенности в рамках рассматриваемой патологии. В представленной работе анализ межгенных взаимодействий применен для создания модели, прогнозирующей риск тяжелого течения преэклампсии, получены ключевые сочетания генов, предрасполагающие к развитию преэклампсии в русской популяции. Впервые был продемонстрирован прогностический потенциал сочетаний локусов rs3774298 *BCL6* и rs2071045 *LEP* в отношении развития тяжелой формы исследуемой патологии (OR = 2,97). Дополнительно установлено, что полиморфный вариант rs3774298 гена *BCL6* локализуется в функционально активном регионе генома, расположенном в сайте связывания транскрипционного фактора *CTCF*, который может функционировать как активатор транскрипции, так и репрессор, что подчеркивает роль регуляторных систем клетки в механизмах формирования и течения преэклампсии.

Ключевые слова: преэклампсия, SNP×SNP взаимодействия, межгенные взаимодействия, однонуклеотидные полиморфные варианты, плацента.

DOI: 10.31857/S0016675824080081 **EDN:** BFLNHI

Характеристика наследственной природы полигенных заболеваний человека остается актуальным направлением медицинской генетики. Большой интерес обусловлен прежде всего их широким распространением — среди всех наследственных болезней доля многофакторных заболеваний (МФЗ) составляет около 90% всех случаев, что делает их изучение высокосignификантным для общества [1].

Одним из характерных примеров такого заболевания с многофакторной природой является преэклампсия (ПЭ)— тяжелое гестационное осложнение, определяющее около 5% материнской и перинатальной заболеваемости и смертности во всем мире. Преэклампсия — это мультисистемное осложнение течения беременности, характеризующееся наличием артериальной гипертензии с началом протеинурии после 20-й недели беременности, приводящее к маточно-плацентарной дисфункции.

Выявление наследственной основы преэклампсии по-прежнему остается актуальным направлением, существенный вклад в которое также внесли российские научные коллективы, всесторонне изучающие различные группы генов-кандидатов, биологические продукты которых вовлечены в патогенез данного осложнения беременности [2–5]. Так, на сегодняшний день в мире проведен ряд полногеномных ассоциативных исследований (GWAS) по преэклампсии, выявивших основные гены подверженности заболеванию, часть которых была также успешно реплицирована в качестве кандидатных и на российских выборках [3, 6].

Однако, несмотря на многочисленные попытки поиска главных предопределяющих факторов, до настоящего времени не сформулировано общепринятых гипотез патогенеза этого осложнения беременности. Одной из причин этого является

сочетание ряда факторов, обуславливающих возникновение клинически гетерогенных форм заболевания. Так, например, носительство тех или иных аллельных сочетаний генов может определять тяжесть заболевания, различные клинические проявления, что также осложняет установление единой картины и приводит к возникновению разных этиопатогенетических концепций. В дополнение к классическим методам ассоциативного анализа и анализа блоков сцепления для комплексной оценки все чаще исследователи прибегают к подходам модельного анализа эпистатических взаимодействий генов [1]. Для анализа межгенных взаимодействий было предложено множество методов, большинство из которых основано на моделях статистической регрессии и машинного обучения. Так, широкое распространение получила группа методов, основанных на подходе многофакторного уменьшения размерности (Multifactor Dimensionality Reduction – MDR). Оригинальный метод MDR был впервые описан Ritchie et al. [7] для экспериментов вида “случай – контроль”. Основная идея метода состоит в том, чтобы уменьшить количество анализируемых параметров путем объединения генотипов ряда SNP в модели с последующим разделением полученных сочетаний на группы высокого и низкого риска для последующего детального анализа роли таких сочетаний в патогенезе заболевания.

Целью настоящего исследования является анализ ген-генных взаимодействий полиморфных вариантов плацентарных генов в контексте детерминации риска развития преэклампсии в русской популяции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В обследовании приняли участие 298 женщин с физиологической беременностью и 192 женщины с клинически диагностированной преэклампсией разной степени тяжести (умеренная, $n = 114$ и тяжелая, $n = 78$). Настоящая работа продолжает исследования, проводимые в НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, посвященные поиску ассоциаций ряда плацентарных генов с риском развития ПЭ [8], и сконцентрирована на анализе межгенных взаимодействий по 83 локусам изученных ранее 18 плацентарных генов (*SIGLEC6*, *NDRG1*, *RDH13*, *NRIP1*, *LEP*, *BCL6*, *BHLHE40*, *PLIN2*, *CORO2A*, *GPT2*, *CCSAP*, *RDH13*, *SYDE1*, *LRP2BP*, *ZNF175*, *NRIP1*, *LYN*, *RAC2*). Полный перечень изученных в настоящей работе SNP доступен по запросу у автора. Необходимо отметить, что представленные гены в предыдущем исследовании продемонстрировали дифференциальную экспрессию в плацентарной ткани женщин с ПЭ и с физиологическим течением беременности [9]. Кроме того, была показана ассоциация SNP некоторых из этих

локусов с развитием ПЭ [8, 10]. Для моделирования ген-генных взаимодействий использовали программное обеспечение Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) [11]. В программе MDR с помощью многократного перекрестного пересчета вводимых данных выбиралась модель межгенного взаимодействия, позволяющая с наиболее высокой точностью и с наименьшей ошибкой определить повышенный или пониженный риск развития заболевания. Оптимальной считалась модель с воспроизводимостью не менее девяти из десяти тестов кросс-валидации и чувствительностью не менее 70%. Верификацию значимости выявленных комбинаций генотипов с развитием ПЭ в обследованных группах осуществляли по критерию χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ:

Характеристика моделей межгенных взаимодействий полиморфных локусов плацентарных генов

В настоящей работе построение моделей ген-генных взаимодействий однонуклеотидных вариантов генов подверженности ПЭ проводилось в общей группе, а также отдельных подгруппах, как для тяжелой, так и для умеренной степени тяжести. Так, при анализе ген-генных взаимодействий в подгруппе с умеренной формой ПЭ не было установлено достоверно значимых моделей, которые бы прошли проверку в перекрестном тестировании, тогда как для подгруппы с тяжелой формой заболевания была получена одна оптимальная прогностически значимая модель, состоящая из двух локусов (табл. 1). Согласно анализу MDR, выбранная модель включала локусы rs3774298 и rs2071045 генов *BCL6* и *LEP*, обладала чувствительностью 71.8%, точностью предсказания 64.7%, специфичностью 71.5% при коэффициенте перекрестной проверки 9/10 непротиворечивых тестов кросс-валидации ($p < 0.0001$) (табл. 1). Анализ межгенных взаимодействий в когорте всех обследованных женщин определил аналогичное сочетание локусов как оптимальную предсказательную модель, которая, однако, характеризовалась меньшими коэффициентами перекрестной проверки (8/10), точностью предсказания 60.1%, специфичностью 40.6% и большей чувствительностью, что, по-видимому, является следствием увеличения численности тестируемой группы больных против контроля и носит технический характер, поэтому дальнейший анализ будет приведен для модели, полученной в подгруппе с тяжелой степенью ПЭ.

Анализ распределения генотипов в группах больных и здоровых женщин выявил комбинации генотипов повышенного и пониженного риска развития ПЭ. Силу ассоциации выражали в значениях

Таблица 1. Характеристика моделей межгенных взаимодействий исследуемых полиморфных локусов

№	Модель ген-генных взаимодействий	Тренировочная сбалансированная точность (%)	Тестируемая сбалансированная точность (%)	Чувствительность модели (%)	Специфичность модели (%)	Отношение шансов (95% доверительный интервал)	Критерий χ^2 (p -уровень)	Коэффициент кросс-валидации
Модель ген–генных взаимодействий для подгруппы с умеренной степенью тяжести ПЭ								
1	Двухлокусная модель rs1056947 <i>NR1P1</i> , rs2071045 <i>LEP</i>	67.82	52.64	75.44	57.72	4.1927 (2.5829–6.806)	36.2907 ($p < 0.0001$)	2/10
2	Трехлокусная модель rs3774298 <i>BCL6</i> , rs6982669 <i>LYN</i> , rs2071045 <i>LEP</i>	74.75	55.55	74.56	73.15	7.9871 (4.8772–13.08)	78,1918 ($p < 0.0001$)	4/10
3	Четырехлокусная модель rs3774298 <i>BCL6</i> , rs2719229 <i>LYN</i> , rs6982669 <i>LYN</i> , rs2071045 <i>LEP</i>	82.04	58.45	92.98	68.79	29.207 (13.6691–62.4069)	126.0093 ($p < 0.0001$)	4/10
Модель ген–генных взаимодействий для подгруппы с тяжелой степенью тяжести ПЭ								
1	Двухлокусная модель rs3774298 <i>BCL6</i> , rs2071045 <i>LEP</i>	71.84	64.78	71.79	71.48	6.3786 (3.667–11.0954)	49.3871 ($p < 0.0001$)	9/10
2	Трехлокусная модель rs3774298 <i>BCL6</i> , rs2719229 <i>LYN</i> , rs2071045 <i>LEP</i>	79.37	64.05	76.92	79.87	13.2222 (7.271–24.0446)	91.7495 ($p < 0.0001$)	4/10
3	Четырехлокусная модель rs3774298 <i>BCL6</i> , rs113968629 <i>PLIN2</i> , rs2124910 <i>SIGLEC6</i> , rs2071045 <i>LEP</i>	86.5	60.08	88.46	82.55	36.2692 (17.0245–77.2684)	142.8352 ($p < 0.0001$)	3/10
Модель ген–генных взаимодействий для общей группы								
1	Двухлокусная модель rs3774298 <i>BCL6</i> , rs2071045 <i>LEP</i>	67.37	60.14	93.75	40.6	10.2542 (5.4699–19.2233)	69.6866 ($p < 0.0001$)	8/10
2	Трехлокусная модель rs3774298 <i>BCL6</i> , rs6982669 <i>LYN</i> , rs2071045 <i>LEP</i>	74.75	64.8	78.65	70.13	8.6487 (5.6539–13.2298)	111.1852 ($p < 0.0001$)	7/10
3	Четырехлокусная модель rs3774298 <i>BCL6</i> , rs10985257 <i>CORO2A</i> , rs6982669 <i>LYN</i> , rs2071045 <i>LEP</i>	81.33	65.49	76.56	84.23	17.4454 (11.0498–27.5428)	180.424 ($p < 0.0001$)	3/10

Таблица 2. Сочетания генотипов, полученные в рамках двухлокусной модели (rs3774298 *BCL6*, rs2071045 *LEP*)

Комбинации генотипов rs3774298 <i>BCL6</i> , rs2071045 <i>LEP</i>	Группа с тяжелой формой ПЭ (<i>n</i> = 78), %	Контрольная группа (<i>n</i> = 298), %	Группа предрасположенности (согласно алгоритму MDR)*	Критерий χ^2	<i>p</i> -уровень
<i>CT-CC</i>	0	2.01	0	0.548	0.46
<i>CC-CC</i>	0	0.67	0	0.023	0.879
<i>CC-CT</i>	2.56	4.03	0	0.063	0.803
<i>CT-CT</i>	8.97	11.41	0	0.123	0.727
<i>CT-TT</i>	15.38	19.46	0	0.278	0.599
<i>TT-TT</i>	17.95	16.44	1	0.01	0.921
<i>TT-CT</i>	11.54	7.72	1	0.568	0.452
<i>CC-TT*</i>	8.97	3.02	1	4.783	0.029
<i>TT-CC</i>	1.28	0.36	1	0.02	0.887

Примечание. *n* — количество индивидов в группе. В таблице не приведены варианты сочетаний, включающих пропуски одного из генотипов; * 0 — группа пониженного риска, 1 — группа повышенного риска.

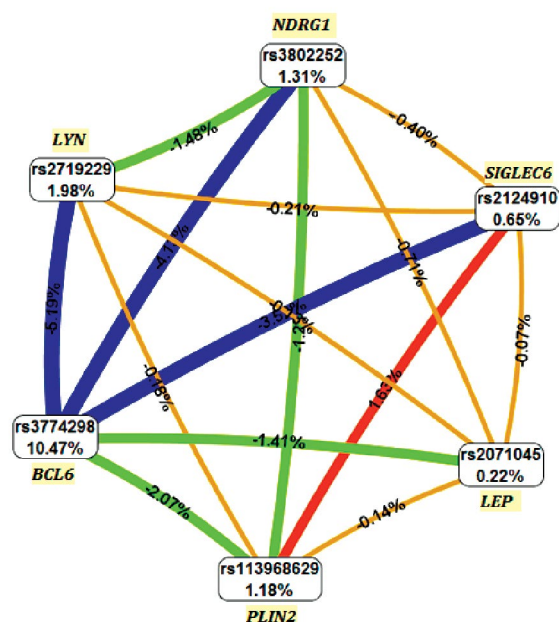


Рис. 1. Радиальный график на основе энтропии (Fruchterman – Rheingold), отражающий межгенные взаимодействия для фенотипа тяжелой формы ПЭ. Значения энтропии в ячейках отдельных факторов (локусов) указывают на основные независимые эффекты, тогда как значения энтропии, отмеченные на линиях, соединяющих два фактора, представляют эффект взаимодействия пары локусов [8]. Характер взаимодействия между генами характеризуется цветом линии: красный — выраженный синергизм, оранжевый — умеренный синергизм, синий и зеленый — антагонизм, коричневый — аддитивное взаимодействие. Сила и направленность взаимодействия выражены в % энтропии.

При этом для данной модели статистическая значимость была показана только для одного сочетания генотипов *CC* варианта rs3774298 гена *BCL6* и *TT* варианта rs2071045 гена *LEP* (табл. 2) при OR = 2.97, 95%CI 1.073–8.23. Примечательно, что ранее уже была установлена ассоциация маркера rs2071045 с развитием тяжелой формы ПЭ, но у пациенток якутской популяции [12].

отношения шансов (OR) с 95%-ным доверительным интервалом (95%CI). Ассоциацию расценивали как отрицательную при OR < 1 (“фактор устойчивости”), положительную при OR > 1 (“фактор риска”) и отсутствие ассоциации при OR = 1. Так, предрасполагающими (группа 1 в табл. 2) для формирования тяжелой формы ПЭ явились сочетания генотипов *TT-TT*, *TT-CT*, ***CC-TT****, *TT-CC* генов *BCL6* (rs3774298) и *LEP* (rs2071045) соответственно.

На рис. 1 представлена схема, визуализирующая характер и силу ген-генных взаимодействий для всех вариантов генов, входящих в модели для тяжелой формы ПЭ (без учета коэффициента кросс-валидации). Для построения представленной схемы использовался метод энтропического моделирования. Показатель энтропии (%) указывает силу влияния отдельных генотипов и их сочетаний на реализацию клинического фенотипа,

наибольшее влияние имеют показатели с максимальным уровнем энтропии. [13, 14]. Согласно схеме Fruchterman – Rheingold, из шести анализируемых полиморфизмов rs3802252 (*NDRG1*), rs2719229 (*LYN*), rs113968629 (*PLIN2*), rs2124910 (*SIGLEC6*), rs3774298 (*BCL6*), rs2071045 (*LEP*) наибольшим предсказательным потенциалом обладает полиморфизм *BCL6*, вклад которого объясняет 10.47% энтропии. Вероятно, роль rs3774298 гена *BCL6* в развитии предрасположенности к ПЭ среди исследуемых маркеров является максимальной. Известно, что исследуемый полиморфный локус rs3774298 гена *BCL6* локализован в функционально активном регионе генома. Так, согласно HaploReg v4.2 (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>), в клетках периферической крови, а также в плацентарной ткани, участок ДНК, в котором расположен исследуемый вариант, выполняет функции энхансера или промотора транскрипции. Данный участок также находится в сайте связывания фактора транскрипции CTCF, который может функционировать как активатор транскрипции, репрессор или белок-инсулятор, блокируя связь между энхансерами и промоторами [15]. Необходимо отметить, что по некоторым данным фактор CTCF регулирует клеточную популяцию

трофобласта путем ингибирования процессов миграции и пролиферации [16, 17]. В свою очередь, нарушение работы CTCF будет способствовать снижению численности клеток трофобласта, что приведет к неполноценному ремоделированию сосудов и развитию плацентарной дисфункции [17]. Регуляторный потенциал варианта rs3774298 гена *BCL6* также отмечается по данным RegulomeDBv2.2 (<https://regulomedb.org/regulome-search>), где изученному локусу присвоен ранг 1f, которому соответствует то, что вариант проявляет функции eQTL (влияет на экспрессию) и находится в сайте связывания транскрипционных факторов.

В рамках рассматриваемой модели также интересно проследить связи между локусами изученных генов. Установлено, что характер взаимодействия между локусами rs3774298 *BCL6* и rs2071045 *LEP* – умеренно антагонистический (–1.41% энтропии). Для полиморфного варианта rs3774298 гена *BCL6* характерен преимущественно антагонистический тип взаимодействий, тогда как вариант rs2071045 гена *LEP* демонстрирует в основном аддитивный характер взаимосвязей с другими генными вариантами, вошедшими в модели (rs3802252 (*NDRG1*), rs2719229 (*LYN*), rs113968629 (*PLIN2*), rs2124910

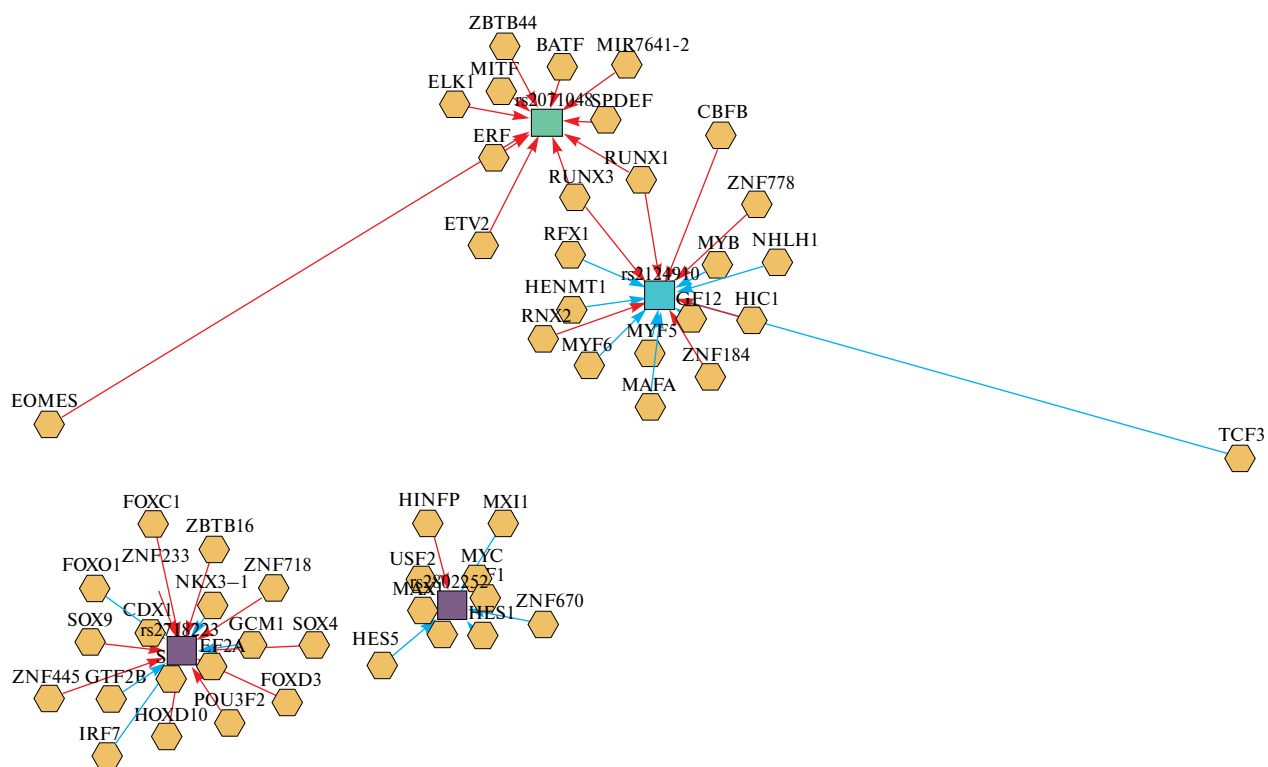


Рис. 2. Сеть POLYMPACT представляет собой взаимодействие вариант – ген, где узлы — это варианты или гены, а ребра — это характер отношений между вариантами и генами. В случае, когда направление ребра идет от гена к варианту, имеет место указание на сайт связывания гена/ТФ. Направление от варианта к гену указывает на вероятное влияние варианта на транскрипционную активность гена (eQTL).

(*SIGLEC6*)), построенными для тяжелой формы ПЭ.

*Функциональный анализ генов, входящих
в модели подверженности к преэклампсии*

Для изучения функциональных связей между изучаемыми вариантами шести генов, входящих в модели MDR, дополнительно применяли сетевой анализ в онлайн-ресурсе Polympract (<https://bcglib.cibio.unitn.it/polympract/>). Примечательно, что из пяти изученных SNP (в данном ресурсе не представлено данных для rs3774298 гена *BCL6*) только варианты генов *LEP* и *SIGLEC6* локализованы в сайтах связывания общих факторов транскрипции (рис. 2). Согласно проведенному анализу установлено, что определенные аллельные варианты маркеров rs2124910 и rs2071045 способствуют увеличению показателей связывания RUNX1 и RUNX3, факторов транскрипции, которые известны как гены-супрессоры опухоли и изучались при широком спектре эпителиальных и мезенхимальных новообразований. RUNX1 контролирует молекулярные и клеточные механизмы, опосредующие процессы ангиогенеза, дифференцировки трофобласта и, как следствие, ремоделирование сосудов матки, которые являются важными этапами развития плаценты [9]. RUNX3 играет решающую роль в регуляции инвазии, миграции и пролиферации злокачественных клеток. Также показано, что высокая экспрессия *RUNX3* в пограничных тканях между матерью и плодом способствует процессам инвазии трофобласта и имплантации эмбриона [18, 19]. Поскольку нарушение инвазии клеток трофобласта является ключевым патогенетическим фактором развития ПЭ, вероятно, rs2124910 гена *SIGLEC6* и rs2071045 гена *LEP* могут принимать участие в формировании подверженности ПЭ посредством регуляции сигнальных путей, связанных с транскрипционными факторами RUNX1 и RUNX3. Стоит отметить, что при анализе регуляторного потенциала исследуемых полиморфизмов генов *LEP* и *SIGLEC6* в базах HaploReg v4.2 и RegulomeDB v2.2 интронный вариант rs2071045 не продемонстрировал связи с регуляторными участками генома, тогда как участок rs2124910 является eQTL (ранг 1f) и проявляет функции энхансера транскрипции.

Поскольку имеется мало сведений о ключевой роли изученных нами полиморфных вариантов генов rs3774298 *BCL6* и rs2071045 *LEP* в патогенезе ПЭ, были охарактеризованы сами гены и связанные с ними процессы, нарушение работы которых может приводить к развитию дисфункции эндотелия. Анализ функциональной активности и сетевых взаимодействий генов, образующих лучшую прогностическую модель ПЭ, выявил, что данные гены могут играть значительную роль в молекулярных механизмах рассматриваемой патологии

за счет различных патофизиологических процессов. Многочисленные исследования транскриптома плаценты и его изменений во время беременности у человека показали, что *BCL6* в норме высоко экспрессируется в плаценте, а гиперэкспрессия этого локуса связана с такими заболеваниями как ПЭ и эндометриоз [10, 13, 20]. Ряд исследований показывает, что *BCL6* важен для пролиферации, выживания, дифференцировки, миграции и инвазии клеток трофобласта. Ген *BCL6* высоко экспрессируется в клетках цитотрофобласта в первом триместре [21], и его экспрессия значительно падает во втором триместре [22], что свидетельствует о важности данного гена для роста трофобласта на ранних этапах развития плаценты. Показано, что *BCL6* aberrантно активируется при преэклампсии и эндометриозе за счет различных механизмов, таких как изменения в транскрипции генов и трансляции мРНК, а также посредством посттранскрипционных модификаций [23]. ПЭ характеризуется возникновением ряда процессов, таких как окисление, гипоксия и воспаление, в ответ на которые активируются механизмы реагирования на стресс [24, 25]. Так, активация белков теплового шока HSP90 в ответ на воспаление может приводить к гиперэкспрессии *BCL6*, поскольку HSP90 является основным регулятором, стабилизирующим и активирующим *BCL6* [26–28]. Также экспрессия *BCL6* может проходить опосредованно через белки семейства HSP, активность которых увеличивают провоспалительные цитокины, такие как фактор некроза опухоли альфа (TNF α) и IL8 [29]. *BCL6* также может регулироваться за счет посттрансляционных модификаций, таких как фосфорилирование митоген-активируемой протеинкиназой (MAPK) и ацетилирование белком, связывающим цАМФ, которые, как сообщается, нарушаются при ПЭ [30, 31].

В свою очередь, лептин важен для функционирования различных системных процессов, играя роль в метаболизме липидов, чувствительности к инсулину, ангиогенезе, росте костей и хрящей, иммунитете, воспалительной реакции, начале полового созревания, фертильности, репродуктивной функции, развитии плаценты, беременности, а также во внутриутробном развитии плода [32]. Лептин имеет решающее значение для развития и функционирования плаценты. Он регулирует образование бластоцисты и играет критическую роль в имплантации и плацентации, где за его счет происходят индукция выработки хорионического гонадотропина человека в клетках трофобласта и модуляция пролиферации, синтеза белка, инвазии и апоптоза в плацентарных клетках [33, 34]. Лептин, помимо его роли в метаболических процессах организма, в высоких концентрациях способен вызывать окислительное повреждение эндотелиоцитов и отложение солей кальция в сосудистой стенке.

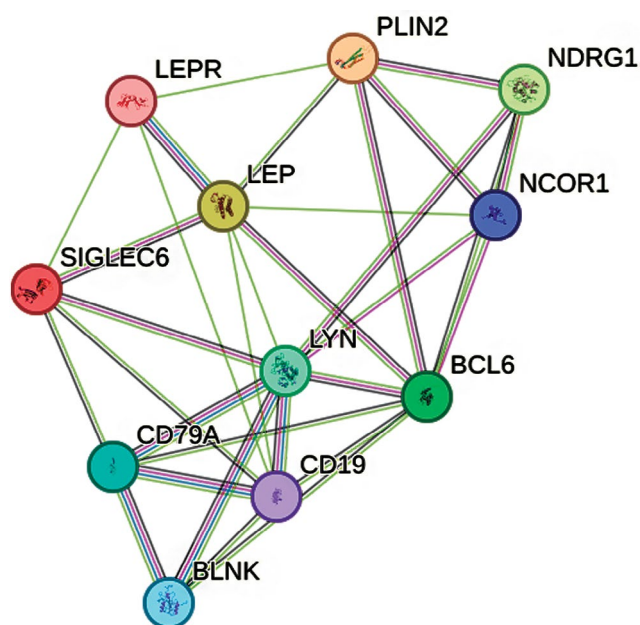


Рис. 3. Сеть белок-белковых взаимодействий генов, ассоциированных с развитием ПЭ у русских. Белки представлены на рисунке в виде кругов, цвет линии между которыми указывает на категорию доказательства белок-белковых взаимодействий: желтый — литературные данные (“text mining”), черный — согласно анализу коэкспрессии генов, фиолетовый — результаты экспериментальных работ, голубой — свидетельства, полученные из баз данных, розовый — совокупные доказательства.

Эти изменения приводят к нарушению структуры сосудистой стенки, снижению ее эластичности и могут способствовать развитию атеросклероза. За счет сужения кровеносных сосудов нарушается их способность расслабляться, что приводит к эндотелиальной дисфункции. Кроме того, лептин можно отнести к семейству провоспалительных цитокинов за счет его участия в созревании Т-лимфоцитов, поддержании пула NK-клеток, хемоаттракции и активации нейтрофилов, которые являются основными эффекторными клетками в децидуальной оболочке.

Несмотря на большое количество сообщений о роли вышеобозначенных генов в патогенетике ПЭ, взаимодействие этих генов впервые обнаружено в настоящей работе. Интересным представляется, что в экспериментах не доказана прямая связь белковых продуктов генов *BCL6* и *LEP*, однако при моделировании состояния гипоксии и ишемии в сочетании с гиперэкспрессией *BCL6* на клеточной культуре трофобласта BeWo было зафиксировано изменение уровней экспрессии 11 генов, в частности значительное увеличение экспрессии *LEP* и *FLT1* по сравнению с нормоксическим контролем [35]. Согласно онлайн-базе

STRING DB (рис. 3), взаимодействие белков данных генов осуществляется также и опосредованно через киназу LYN, роль которой в патогенезе ПЭ не установлена, хотя и есть сообщения о ее возможной кандидатной способности в отношении этого осложнения беременности [36–38], а также транскрипционный фактор, кодируемый геном *NCOR1*, функционирующий преимущественно как репрессор, для которого показана ассоциация с развитием гиперплазии эндометрия [39]. Также известно, что работа NCOR1 регулируется молекулами экзосомной микроРНК miRNA-199a-5p, для которой была установлена гиперэкспрессия в случаях тяжелой формы ПЭ [40–42]. За последние 10 лет накопилось много данных о роли микроРНК в механизмах развития ПЭ. Изменение уровня экспрессии микроРНК обнаружено как для легкой, так и для тяжелой формы ПЭ. В основном эти молекулы регулируют работу генов, связанных с сигнальными путями, задействованными в процессах иммунной защиты, ангиогенеза, пролиферации и инвазии трофобласта — фундаментальных процессах развития плаценты [43, 44]. Примечательно, что в настоящей работе обращает на себя внимание значительное участие факторов транскрипции и молекул микроРНК при анализе полиморфных маркеров генов, продемонстрировавших потенциал в прогнозировании тяжелой формы ПЭ в мультилокусном анализе генных взаимодействий. Вероятно, этот факт указывает на большое значение транскрипционных и посттранскрипционных регуляторных систем клеток в молекулярных механизмах ПЭ.

Проведенный анализ межгенных взаимодействий позволил выявить ключевые сочетания генов, предрасполагающие к развитию преэклампсии в русской популяции. Так, сочетание локусов rs3774298 *BCL6* и rs2071045 *LEP* впервые в настоящем исследовании было определено как наилучшая прогностическая модель для тяжелой формы преэклампсии (OR = 2,97). Следует отметить, что, несмотря на отношение шансов, данная модель не показала валидности при тестировании ее на выборке женщин с умеренной степенью тяжести преэклампсии, что снижает ее прогностический потенциал в диагностике. Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что основополагающими в развитии умеренной формы заболевания являются другие сочетания генов, не вошедшие в исследование; также это может демонстрировать, что межгенные взаимодействия обуславливают преимущественно тяжелое течение заболевания, тогда как развитие умеренной ПЭ связано с рядом иных факторов, не включающих генные взаимосвязи. Анализ функциональной активности генов *BCL6* и *LEP* позволил установить, что они, участвуя в различных патофизиологических процессах, имеют решающее значение в

развитии плаценты, осуществлении физиологических механизмов в эндометрии, а нарушения в регуляции и активности данных генов тесно связаны с патогенезом ПЭ, эндометриоза и рядом других гестационных осложнений [23]. Полученные нами результаты также указывают на значительную роль транскрипционных и посттранскрипционных регуляторных систем клеток в молекулярных механизмах подверженности ПЭ. Так, согласно HaploReg v4.2 участок rs3774298 гена *BCL6* находится в сайте связывания транскрипционного фактора CTCF и выполняет функции энхансера или промотора транскрипции. Анализ генов в Polympact установил, что rs2124910 гена *SIGLEC6* и rs2071045 гена *LEP* локализованы в сайтах связывания общих факторов транскрипции RUNX1 и RUNX3 и могут принимать участие в формировании подверженности ПЭ посредством регуляции сигнальных путей, связанных с ними. Приведенные данные подчеркивают, что роль генетических факторов в развитии ПЭ является сложной и малоизученной и необходимы дальнейшие исследования в этом направлении с привлечением независимых выборок для сравнения и подтверждения выявленных в работе связей и закономерностей, а также для уточнения механизмов, с помощью которых идентифицированные гены могут влиять на возникновение и течение преэклампсии.

Исследование выполнено за счет средств Государственного задания по теме ФНИ № 122020200083-8.

Настоящее исследование прошло экспертизу комитета по биомедицинской этике Научно-исследовательского института медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр» (протокол № 4 от 25.11.2019).

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам Институционального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие. Все обследованные — совершеннолетние.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Lvovs D., Фаворова О.О., Фаворов А.В.* Полигенный подход к исследованиям полигенных заболеваний // *Acta Naturae*. 2012. Т. 4. № 3. С. 62–75.
2. *Абрамова М.Ю.* Генетические маркеры тяжелого течения преэклампсии // *Науч. рез. биомед. исследований*. 2022. Т. 8. № 3. С. 305–316.
3. *Абрамова М.Ю., Пономаренко И.В., Орлова В.С. и др.* Полиморфный локус rs1799945 гена HFE определяет риск развития тяжелого течения преэклампсии // *Гинекология*. 2023. Т. 25. № 2. С. 234–238. <https://doi.org/10.26442/20795696.2023.2.202062>.
4. *Решетников Е.А.* Полиморфизм rs34845949 гена SASH1 ассоциирован с риском развития преэклампсии // *Науч. рез. биомед. исследований*. 2021. Т. 7. № 1. С. 44–55. <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-4>
5. *Сереброва В.Н., Трифонова Е.А., Степанов В.А.* Эволюционно-генетический анализ роли регуляторных участков гена *CORO2A* в формировании наследственной предрасположенности к преэклампсии у русских и якутов // *Науч. рез. биомед. исследований*. 2018. Т. 4. № 3. С. 38–48.
6. *Абрамова М.Ю., Чурносоев М.И.* Генетические исследования преэклампсии // *Рос. вестник акушера-гинеколога*. 2022. Т. 22. № 6. С. 27–34. <https://doi.org/10.17116/rosakush20222206127>
7. *Ritchie M.D., Hahn L.W., Roodi N. et al.* Multifactor-dimensionality reduction reveals high-order interactions among estrogen-metabolism genes in sporadic breast cancer // *Am. J. Hum. Genet.* 2001. V. 69. № 1. P. 138–147. <https://doi.org/10.1086/321276>
8. *Сереброва В.Н., Трифонова Е.А., Габидулина Т.В. и др.* Выявление новых маркеров предрасположенности к преэклампсии путем анализа регуляторных участков генов, дифференциально экспрессирующихся в плацентарной ткани // *Мол. биология*. 2016. Т. 50. № 5. С. 870–879. <https://doi.org/10.7868/S0026898416050165>
9. *Трифопова Е.А., Габидулина Т.В., Ершов Н.И. и др.* Характеристика транскриптома плацентарной ткани у женщин с физиологической беременностью и преэклампсией // *Acta Naturae* (русскоязычная версия). 2014. Т. 6. № 2(21). С. 77–90. <https://doi.org/10.32607/20758251-2014-6-2-71-83>
10. *Trifonova E.A., Gabidulina T., Serebrova V.N., Stepanov V.A.* Association study of differentially expressed genes regulatory SNPs and preeclampsia: Results of a pilot study in Russia // *Europ. J. Hum. Genet.* 2015. V. 23. № S1. P. 69.
11. *Motsinger A.A., Ritchie M.D.* Multifactor dimensionality reduction: An analysis strategy for modelling and detecting gene-gene interactions in human genetics and pharmacogenomics studies // *Human Genomics*. 2006. V. 2. № 5. P. 318–328. <https://doi.org/10.1186/1479-7364-2-5-318>
12. *Ворожжищева А.Ю.* Генетические факторы развития преэклампсии в популяциях различного этнического происхождения: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Томск: 2014. 24 с.

13. *Hu T., Sinnott-Armstrong N.A., Kiralis J.W. et al.* Characterizing genetic interactions in human disease association studies using statistical epistasis networks // *BMC bioinformatics*. 2011. V. 12. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-364>
14. *Pośpiech E., Ligęza J., Wilk W. et al.* Variants of *SCARB1* and *VDR* involved in complex genetic interactions may be implicated in the genetic susceptibility to clear cell renal cell carcinoma // *BioMed Res. Int.* 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/860405>
15. *Kim S., Yu N.K., Kaang B.K.* CTCF as a multifunctional protein in genome regulation and gene expression // *Experim. Mol. Medicine*. 2015. V. 47. e166. <https://doi.org/10.1038/emm.2015.33>
16. *Jeong D.S., Kim M.H., Lee J.Y.* Depletion of CTCF disrupts PSG gene expression in the human trophoblast cell line Swan 71 // *FEBS Open Bio*. 2021. V. 11. № 3. P. 804–812. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.13087>
17. *Chen Q., Jiang S., Liu H. et al.* Association of lncRNA SH3PXD2A-AS1 with preeclampsia and its function in invasion and migration of placental trophoblast cells // *Cell Death Dis.* 2020. V. 11. № 7. P. 583. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-02796-0>
18. *Kannan A., Beal J.R., Neff A.M. et al.* Runx1 regulates critical factors that control uterine angiogenesis and trophoblast differentiation during placental development // *PNAS Nexus*. 2023. V. 2. № 7. <https://doi.org/10.1093/pnasnexus/pgad215>
19. *Sakuma A., Fukamachi H., Ito K., et al.* Loss of Runx3 affects ovulation and estrogen-induced endometrial cell proliferation in female mice // *Mol. Reprod. Dev.* 2008. V. 75. P. 1653–1661.
20. *Enquobahrie D.A., Meller M., Rice K. et al.* Differential placental gene expression in preeclampsia // *Am. J. Obstetrics and Gynecology*. 2008. V. 199. № 5. P. 566.e1. – 566.e11. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2008.04.020>
21. *Ritter A., Roth S., Kreis N.N. et al.* Primary cilia in trophoblastic cells: Potential involvement in preeclampsia // *Hypertension*. 2020. V. 76. № 5. P. 1491–1505. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15433>
22. *Prater M., Hamilton R.S., Wa Yung H. et al.* RNA-Seq reveals changes in human placental metabolism, transport and endocrinology across the first-second trimester transition // *Biol. Open*. 2021. V. 10. № 6. P. bio058222.
23. *Louwen F., Kreis N.N., Ritter A. et al.* BCL6, a key oncogene, in the placenta, pre-eclampsia and endometriosis // *Hum. Reprod. Update*. 2022. V. 28. № 6. P. 890–909. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmac027>
24. *Phan R.T., Saito M., Kitagawa Y. et al.* Genotoxic stress regulates expression of the proto-oncogene Bcl6 in germinal center B cells // *Nat. Immunol.* 2007. V. 8. № 10. P. 1132–1139. <https://doi.org/10.1038/ni1508>
25. *Fernando T.M., Marullo R., PeraGresely B. et al.* BCL6 evolved to enable stress tolerance in vertebrates and is broadly required by cancer cells to adapt to stress // *Cancer Discov.* 2019. V. 9. № 5. P. 662–679. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-17-1444>
26. *Cardenas M.G., Oswald E., Yu W. et al.* The expanding role of the BCL6 oncoprotein as a cancer therapeutic target // *Clin. Cancer Res.* 2017. V. 23. P. 885–893.
27. *Padmini E., Uthra V., Lavanya S.* Effect of HSP70 and 90 in modulation of JNK, ERK expression in preeclamptic placental endothelial cell // *Cell Biochem. Biophys.* 2012. V. 64. P. 187–195.
28. *Ren Z., Gao Y., Gao Y. et al.* Distinct placental molecular processes associated with early-onset and late-onset preeclampsia // *Theranostics*. 2021. V. 11. P. 5028–5044.
29. *Jee B., Dhar R., Singh S., Karmakar S.* Heat shock proteins and their role in pregnancy: Redefining the function of “Old Rum in a New Bottle” // *Front. Cell Dev. Biol.* 2021. V. 9. P. 648463.
30. *Qi H., Yao C., Xing J., Qin Y.* Hypoxia-induced GPR4 suppresses trophoblast cell migration and proliferation through the MAPK signaling pathway // *Reprod. Toxicol.* 2021. V. 99. P. 1–8.
31. *Sadeghi H., Esmkhani S., Pirjani R. et al.* CREB-binding protein (CREBBP) and preeclampsia: A new promising target gene // *Mol. Biol. Rep.* 2021. V. 48. P. 2117–2122.
32. *DeKnegt V.E., Hedley P.L., Kanters J.K. et al.* The role of leptin in fetal growth during pre-eclampsia // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 9. <https://doi.org/10.3390/ijms22094569>
33. *Pérez-Pérez A., Toro A., Vilariño-García T. et al.* Leptin action in normal and pathological pregnancies // *J. Cell. Mol. Med.* 2017. V. 22. P. 716–727. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13369>
34. *Schanton M., Maymó J.L., Pérez-Pérez A. et al.* Involvement of leptin in the molecular physiology of the placenta // *Reproduction*. 2018. V. 155. P. R1–R12. <https://doi.org/10.1530/REP-17-0512>
35. *Than N.G., Romero R., Tarca A.L. et al.* Integrated systems biology approach identifies novel maternal and placental pathways of pre-eclampsia // *Front. Immunology*. 2018. V. 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01661>
36. *Tejera E., Bernardes J., Rebelo I.* Preeclampsia: A bioinformatics approach through protein–protein interaction networks analysis // *BMC Syst. Biology*. 2012. V. 6. P. 97. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-6-97>
37. *Kaartokallio T., Cervera A., Kyllönen A. et al.* Gene expression profiling of preeclamptic placentae by RNA sequencing // *Sci. Reports*. 2015. V. 5. <https://doi.org/10.1038/srep14107>

38. *Tejera E., Bernardes J., Rebelo I.* Co-expression network analysis and genetic algorithms for gene prioritization in preeclampsia // *BMC Med. Genomics*. 2013. V. 6. P. 51.
<https://doi.org/10.1186/1755-8794-6-51>
39. *Kashima H., Horiuchi A., Uchikawa J. et al.* Up-regulation of nuclear receptor corepressor (NCoR) in progesterone-induced growth suppression of endometrial hyperplasia and carcinoma // *Anticancer Res*. 2009. V. 29. № 4. P. 1023–1029.
40. *Maldonado E., Morales-Pison S., Urbina F. et al.* Role of the mediator complex and microRNAs in breast cancer etiology // *Genes*. 2022. V. 13. № 2. P. 234.
<https://doi.org/10.3390/genes13020234>
41. *Chen Z., Wu M., Huang H. et al.* Plasma exosomal miR-199a-5p derived from preeclampsia with severe features impairs endothelial cell function via targeting SIRT1 // *Reproductive Sci*. 2022. V. 29. № 12. P. 3413–3424.
<https://doi.org/10.1007/s43032-022-00977-0>
42. *Mei Z., Huang B., Zhang Y. et al.* Histone deacetylase 6 negatively regulated microRNA-199a-5p induces the occurrence of preeclampsia by targeting VEGFA in vitro // *Biomed. & Pharmacotherapy*. 2019. V. 114.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108805>
43. *Ning W., Wu B., Chen Y. et al.* Role of microRNAs regulating trophoblast cell function in the pathogenesis of preeclampsia (Review) // *Experim. and Therapeutic Med*. 2022. V. 25. № 1. P. 50.
<https://doi.org/10.3892/etm.2022.11749>
44. *Laganà A.S., Vitale S.G., Sapia F. et al.* miRNA expression for early diagnosis of preeclampsia onset: hope or hype? // *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine*. 2018. V. 31. № 6. P. 817–821.
<https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1296426>

The Role of Gene-Gene Interactions in the Formation of Predisposition to Preeclampsia

A. A. Babovskaya¹, *, E. A. Trifonova¹, V. N. Serebrova¹, V. A. Stepanov¹

¹Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center
of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634050 Russia

*e-mail: anastasia.babovskaya@medgenetics.ru

Identification of the hereditary basis of preeclampsia remains a relevant area for medical genetics. Despite numerous attempts to search for the main predetermining factors due to the multifactorial nature of the preeclampsia no generally accepted hypotheses for the pathogenesis of this pregnancy complication. One of the progressive approaches to the study of complex diseases is a analysis of gene-gene interactions which makes it possible to isolate from a large array of combinations factors that can determine a high or low risk of predisposition within the pathology under consideration. In the presented work the analysis of gene-gene interactions was used to create a model that predicts the risk of severe preeclampsia and find key combinations of genes predisposing to the development of preeclampsia in the Russian population were obtained. For the first time was demonstrated the prognostic potential of combinations of the rs3774298 *BCL6* and rs2071045 *LEP* loci in the development of a severe form of preeclampsia (OR = 2.97). Additionally it was found that the rs3774298 polymorphic variant of the *BCL6* gene is localized in a functionally active region of the genome, located in the binding site of the transcription factor CTCF, which can function as both a transcription activator and a repressor. That emphasizes the role of cell regulatory systems in the mechanisms of the formation and course of preeclampsia.

Keywords: preeclampsia, SNP×SNP interactions, gene-gene interactions, single nucleotide polymorphisms, placenta.