

Т.О. Лоскутова
К.В. Воронін

ГЕННИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ЗАЛЕЖНО ВІД СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ ПРЕЕКЛАМПСІЇ

Дніпропетровська державна медична академія
кафедра акушерства та гінекології
(зав. – д. мед. н., проф. В.О. Потапов)

Ключові слова: преєклампсія, поліморфізм генів, тромбофілія, система гемостазу, ендотелій
Key words: preeclampsia, gene polymorphism, thrombophilia, the system of hemostasis, endothelium

Резюме. Проведено дослідження поліморфізму генів свертвувальної системи, генів, регулюючих рівень артеріального тиску і визначають стан ендотелію у вагітних з різною ступенем тяжкості преєклампсії. Установлено, що тяжка форма преєклампсії пов'язана з наявністю гетерозиготних форм гену протромбіна, фактора Лейдена, фібриногену β , патологічної гомозиготної форми гену протромбіна, метилентетрагідрофолатредуктази, параоксонази 1. Сочетаний поліморфізм аномальних генів був виявлений у 100% жінок з преєклампсією тяжкої ступені, у 89,2% з преєклампсією середньої ступені і у 84,4% з преєклампсією легкої ступені тяжкості. Таким образом, существование сочетанных полиморфизмов оказывает потенцирующий повреждающий эффект и объясняет течение преэклампсии в более тяжелой форме.

Summary. The investigation of gene polymorphisms of coagulation system, genes regulating blood pressure and determining endothelium state in pregnant women with varying degrees of preeclampsia severity was conducted. It was established that severe form of pre-eclampsia is connected with presence of heterozygote forms of prothrombin gene, Leiden factor gene, fibrinogen β gene, pathological homozygote forms of prothrombin gene, methylenetetrahydrofolate reductase gene and paraoxonase 1 gene. Combined polymorphism of abnormal genes was detected in 100% of women with severe preeclampsia, in 89,2% with moderate degree of pre-eclampsia and in 84,4% with mild preeclampsia. Thus, existence of associated polymorphisms causes potentiating damaging effect and explains more severe form of pre-eclampsia.

Вагітність, ускладнена преєклампсією, залишається однією з актуальних проблем сучасного акушерства. Висока частота материнської та перинатальної захворюваності при преєклампсії пояснюється відсутністю точних відомостей про патогенез захворювання, достовірних методів діагностики і, як наслідок, дієвих заходів профілактики [1,3,6]. Існує уявлення про преєклампсію як про мультифакторне захворювання, яке має цілий ряд генів схильності [6,8]. Поліморфізм генів призводить до підвищення ризику розвитку цілого ряду захворювань. Особливість багатоваріантних генів у тому, що патологічні симптоми можуть виникнути за додаткових умов, наприклад, при вагітності. У цей час відомо понад 30 генів-кандидатів, які беруть участь у розвитку преєклампсії [1,2,7]. У виникненні преєклампсії грає роль наявність поліморфізму генів, контролюючих рівень артеріального тиску, генів, що регулюють процеси згортання крові і генів, що визначають стан ендотелію. У число мутацій генів системи гемостазу відносять мутацію V фактору Leiden (FV), мутацію гену протромбіну (Protr), поліморфізм гену інгібітора

активатора плазміногену 1 типу (PAI 1), поліморфізм гену фібриногену β (FG). Такі мутації ініціюють процеси гіперкоагуляції, що порушує інвазію трофобласту і надалі визначає «ендотеліальний феномен» преєклампсії [1,4]. Найбільш важливим і небезпечним є наявність перших двох мутацій, тому що при їх наявності ушкоджуючий ефект виявляється навіть при існуванні однієї патологічної алелі. У контролі рівня артеріального тиску важливу роль відіграє поліморфізм гену ангіотензиногену (AGT). Генетичні варіації гену ангіотензиногену можуть істотно впливати на концентрацію ферменту в плазмі, а відповідно, і на рівень інших компонентів ренін-ангіотензин-альдостеронової системи [4,6]. Мутація детермінує підвищений рівень експресії ангіотензиногену, істотно змінює взаємодію ангіотензиногену з реніном і ангіотензинперетворюючим ферментом (АПФ), що може викликати розвиток преєклампсії у вагітних-носіїв мутації. До поліморфізму, що викликає ендотеліальну дисфункцію, належить поліморфізм гену параоксонази 1 (PON 1) і метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR). Параоксоназа 1 має

антиоксидантні і антиатерогенні властивості, а її знижена каталітична активність призводить до посиленого переокислення ліпідів і пошкодження ендотелію. Виходячи з вищезазначеного, існує висока вірогідність наявності асоціації поліморфізму генів, що залучені в процес регулювання функцій ендотелію, у складний процес розвитку прееклампсії. У зв'язку з цим, метою нашої роботи було вивчення поліморфізму генів згортання, генів, що регулюють рівень артеріального тиску та стан ендотелію у вагітних з прееклампсією, а також їх розподіл залежно від ступеня тяжкості прееклампсії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для реалізації поставленої мети було обстежено 122 жінки в третьому триместрі вагітності. І досліджувану групу склали 37 вагітних з гестаційною артеріальною гіпертензією та прееклампсією легкого ступеня, II групу - 32 вагітні з прееклампсією середнього ступеня. III групу сформували 16 вагітних з прееклампсією важкого ступеня. Контрольну групу (К) сформували 37 здорових вагітних. Вагітні були розподілені по групах на підставі величини артеріального тиску, рівня протеїнурії, додаткових ускладнень і відповідно до клінічного протоколу МОЗ України № 676. У всіх групах методом алейспецифічної полімеразної ланцюгової реакції, з подальшою детекцією методом електрофорезу в 3% агарозному гелі, проводили визначення мутації в гені фактора V Leiden, мутації 20210 G → A в гені протромбіну, поліморфізм 675 5G → 4G в гені PAI-1, поліморфізм у гені фібриногену β 455 G → A, поліморфізм Gln192 → Arg в гені параоксонази 1, поліморфізм 677C → T в гені MTHFR, поліморфізм Met235Thr в гені AGT. Використовували комплект реагентів «SNP-експрес» виробництва НВФ "Літех" (Росія). Геномна ДНК виділялася з лейкоцитів цільної крові за допомогою реагенту "ДНК-експрес-кров" ("Літех" Росія).

Статистичний аналіз проводили за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel 2000 і Graph Pad Prism 5 for Windows. Для порівняння якісних показників використовували критерій χ^2 . Для зручності розрахунків кожному генотипу (нормальна гомозигота, гетерозигота і патологічна гомозигота) був привласнений номер 1, 2 і 3 відповідно. Для порівняння кількісних величин використовували непарний критерій t. За значущий брали рівень достовірності $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вагітні були рівномірно розподілені в групах за віком. У I групі середній вік становив $27,3 \pm 1$,

у II групі - $29,6 \pm 1,1$, в III групі - $25,9 \pm 1,7$ і в контрольній $25,3 \pm 0,8$ року ($p > 0,05$). При аналізі репродуктивного анамнезу було виявлено, що безпліддя було у 18,9% жінок I групи, 6,25% жінок II групи та 12% жінок III групи, синдром звичної втрати плода відзначався у 8,1%, 34,3% і 25% відповідно. Попередні вагітності були ускладнені прееклампсією важкого ступеня у 9,3% жінок II групи, у контрольній групі цього ускладнення вагітності не спостерігалось. Згідно з даними літератури, повторний розвиток прееклампсії у 90% випадків пов'язаний зі спадковими дефектами системи гемостазу [5].

Аналіз результатів такої вагітності показав, що передчасні пологи спостерігалися в 56,3% і 87,5% випадків серед вагітних з прееклампсією середнього та важкого ступеня, саме наявність прееклампсії і відсутність ефекту від її лікування були показанням для індукованих дострокових пологів. Термін розродження в II ($34,1 \pm 0,6$ тижня) і III групах ($33,1 \pm 1,1$) був достовірно нижче ($p < 0,05$), ніж у I ($37,9 \pm 0,3$) і К ($38,2 \pm 0,4$) групах. За способом розродження звертає увагу висока частота оперативних пологів у групах з прееклампсією: у II групі - 56,2%, у III групі - 75%. Показанням до кесаревого розтину була відсутність ефекту від консервативного лікування прееклампсії, наростання явищ прееклампсії за відсутності умов для розродження через природні родові шляхи, гострий дистрес плода. Ваго-зростові характеристики новонароджених у II та III групах були достовірно нижче, ніж у I (3136 ± 81 г і $51,3 \pm 0,4$ см) і К (3429 ± 82 г і $51,9 \pm 0,4$ см) групах і становили 2136 ± 142 г і $45,0 \pm 1,0$ см та 1690 ± 86 г і $42,0 \pm 2,4$ см відповідно ($p < 0,05$ I, K). Оцінка за шкалою Апгар на 1 і 5 хвилини у I групі була $6,5 \pm 0,1$ і $7,6 \pm 0,1$ балу, в II групі $6,2 \pm 0,1$ і $7,4 \pm 0,1$ балу, в III групі $5,8 \pm 0,26$ і $7,3 \pm 0,28$ балу ($p < 0,05$ I, K) і в контрольній групі $6,8 \pm 0,1$ і $7,9 \pm 0,1$. 10,8% новонароджених у I групі, 18,75% у II групі і 50% у III групі мали затримку внутрішньоутробного розвитку плода. У II групі - 37,5%, у III - 62,5%, а в I - 8,1% новонароджених потребували лікування у відділенні інтенсивної терапії і були переведені на другий етап надання допомоги у зв'язку з їх морфо-функціональною незрілістю, у двох випадках у II групі відзначалася антенатальна загибель плода.

При аналізі поліморфізму генів згортання було встановлено, що у вагітних I групи частота поліморфізму гена FG достовірно не відрізняється від контролю, а частота поліморфізмів PAI-1, FV, Protg вище, ніж у контрольній групі, за рахунок наявності гетерозиготних форм. У

вагітних II групи порівняно з контролем знижена кількість нормальних гомозиготних форм гена PAI-1, за рахунок збільшеної кількості гетерозиготних форм і збільшеної кількості мутантних форм гена Protr. У III клінічній групі було відзначено збільшення гетерозиготних форм гена Protr, FV, FG і появу патологічної гомозиготної форми гена Protr. Поява мутантних

форм генів фібриногену, протромбіну, фактора Лейдена, які успадковуються за аутосомно-домінантним типом і виявляють свої патологічні властивості навіть у гетерозиготній формі, може бути однією з причин, що пояснює перебіг преєкламсії у тяжчій формі і більш ранньому її початку.

Таблиця 1

Частота виявлення поліморфізму генів у вагітних залежно від ступеня тяжкості преєкламсії

Групи дослідження		Генні поліморфізми, %						
		PAI-1	FG	Protr	FV	AGT	MTHFR	PON 1
I група	НГ	32,4*	59,5	94,6	89,2	24,4	54,0	43,3
	ГГ	37,8*	29,7	5,4*	10,8*	37,8	27,0	40,5
	ПГ	29,8	10,8	0,0	0,0	37,8	19,0*	16,2
II група	НГ	15,6*	50,0	87,5	93,75	31,25	43,75	37,5
	ГГ	53,1*	40,6	9,3*	6,25	56,25	37,5	31,25
	ПГ	31,3	9,4	3,2*	0,0	12,5	18,75*	31,25*
III група	НГ	37,5	37,5*	37,5*	87,5	12,5	75,0	75,0
	ГГ	25,0	62,5*	50,0*	12,5*	50,0	12,5	12,5
	ПГ	37,5	0,0*	12,5*	0,0*	37,5	12,5	12,5
Контроль	НГ	59,5	73,0	100	97,3	29,7	37,8	59,5
	ГГ	16,2	21,6	0,0	2,7	45,9	54,0	29,7
	ПГ	24,3	5,4	0,0	0,0	24,4	8,2	10,8

Примітка: $p < 0,05$ * достовірні відмінності з показниками контрольної групи. НГ - нормальна гомозигота, ГГ - гетерозигота, ПГ - патологічна гомозигота

При аналізі поліморфізму гена ангіотензиногену не виявлено достовірного збільшення кількості патологічних гомозигот у групах дослідження порівняно з контролем.

Оскільки в основі патологічного процесу, властивого преєкламсії, лежать процеси дисфункції ендотелію, був проведений аналіз поліморфізму генів ендотеліальної системи. Виявлена збільшена кількість поліморфних генів MTHFR у групах дослідження. Поліморфізм гена MTHFR, який є причиною гіпергомоцистеїмії, призводить до пошкодження судинної стінки, збільшуючи її тромбогенний потенціал і потенціюючи ефекти поліморфізму факторів згортання [4,5]. При аналізі поліморфізму гена PON 1 виявлено достовірне збільшення кількості патологічних гомозигот у вагітних II групи. Поліморфізм гена PON 1 призводить до посилення процесів перекисного окислення ліпідів, що призводить до ушкодження ендотелію судин (табл. 1).

Оскільки преєкламсія є багатофакторним захворюванням, в її виникненні відіграє роль не тільки поліморфізм окремих генів, але і їх поєднаний вплив, при якому виявляється потенціювання їх несприятливого впливу. При аналізі розподілу поліморфних варіантів генів у вагітних з різним ступенем преєкламсії було встановлено, що частота зустрічання поєднаних поліморфізмів генів у жінок з преєкламсією тяжкого ступеня становила 100%, при преєкламсії середнього ступеня - 89,2%, при преєкламсії легкого ступеня - 84,4%, а в групі контролю - 75,6%, що перевищує інші подібні дослідження, де оцінювалася наявність лише трьох поліморфізмів (Protr, MTHFR, FV) [2,4,8]. Як аналізовані поєднання були обрані ті поліморфізми, які за даними літератури є найбільш небезпечними [5,6-8]. Це гомозиготні форми поліморфізмів PAI-1 4G/4G, PON 1 Arg192Arg, AGT Thr235Thr, FG 455A/A, гомо- і гетерозиготні поліморфізми в гені MTHFR, Protr, FV. Встановлено, що зі

збільшенням ступеня тяжкості прееклампсії збільшується кількість поєднаних поліморфізмів і, відповідно, збільшується ступінь їх поєданого впливу. Було відзначено переважання трьох і більше поліморфізмів у жінок з ускладненим перебігом вагітності (табл. 2), а наявність чотирьох поліморфізмів найбільш часто зустрічалась у III клінічній групі ($p < 0,05$). При прееклампсії легкого ступеня найбільш часто зустрічалось поєднання двох поліморфізмів, серед яких поліморфізм PAI-1 + AGT, AGT + MTHFR, MTHFR + FG і трьох: PAI-1 + AGT + MTHFR, PON 1 + AGT + MTHFR. Зі збільшенням тяжкості прееклампсії виникають сполучення мутації Лейдена і мутації протромбіну з іншими поліморфізмами. Так при прееклампсії

легкого ступеня мутація FV і один інший поліморфізм були виявлені у 5,6% випадків, при прееклампсії середнього ступеня у 2,8% і у 25% при прееклампсії важкого ступеня. Мутація протромбіну і один інший поліморфізм були відзначені у 5,6% в I групі, 2,8% у II групі і у 25% в III групі. Наявність мутації FV і два інших поліморфізми виявлено у 6,25% при прееклампсії середнього ступеня, а мутації FV і три інших поліморфізми у 12,5% при прееклампсії важкого ступеня. Присутність мутації протромбіну і два інших поліморфізми встановлено у 18,75% в III групі. Найбільш небезпечним є поєднання мутації FV і протромбіну, яке зустрічається у 25% при прееклампсії важкого ступеня, у контрольній групі таких поєднань не спостерігалось.

Таблиця 2

Частота виявлення поєднаних поліморфізмів у вагітних залежно від ступеня тяжкості прееклампсії

Кількість поєднаних поліморфізмів	Групи дослідження, %			
	I	II	III	Контроль
0	10,8	15,6	0,0	24,4
1	43,2	37,5	25,0	48,6
2	32,4	25,0	37,5	21,6
3	10,8	21,9*	37,5*	5,4
4	2,8*	0,0	12,5*	0,0
FV+1 поліморфізм	5,6*	2,8*	12,5*	0,0
FV+2 поліморфізм	0,0	6,25*	0,0	0,0
FV+3 поліморфізм	0,0	0,0	12,5*	0,0
FV+ Protr	2,8*	0,0	25,0*	0,0

Примітка: $p < 0,05$ * достовірні відмінності з показниками контрольної групи

ВИСНОВКИ

1. Перебіг прееклампсії у важкій формі пов'язаний з наявністю гетерозиготних форм гена протромбіну, фактора Лейдена, фібриногена β , патологічної гомозиготної форми гена протромбіну, метилентетрагідрофолатредуктази, параоксонази 1.

2. Поєднаний поліморфізм аномальних генів було виявлено у 100% жінок з прееклампсією

важкого ступеня, у 89,2% з прееклампсією середнього ступеня і у 84,4% з прееклампсією легкого ступеня тяжкості.

3. Існування поєднаних поліморфізмів генів системи гемостазу, ендотелію, регуляторів артеріального тиску здійснює потенціуючий шкідливий вплив та створює умови для перебігу прееклампсії у більш важкій формі

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Айламазян Э.К. Гестоз: теория и практика / Э.К.Айламазян, Е.В.Мостовая. - М.: МЕДпресс-информ, 2008.- 272 с.
 2. Запорожан В.Н. Приобретенные и генетические формы тромбофилий в патогенезе акушерской

патологии / В.Н. Запорожан, В. И. Линников // Интегративная антропология.- 2006.- Т. 8. № 2.- С.3-7.
 3. Кварацхелия Е. Е. Генетическая и приобретенная тромбофилии у пациенток с гипертензивным

синдромом / Е.Е. Кварацхелия // АГ-инфо.- 2006.- №4.- С. 20-21.

4. Макацария А.Д. Профилактика повторных осложнений беременности в условиях тромбофилии / А.Д. Макацария, В.О.Бицадзе.- М.: Триада-Х, 2008. – 152 с.

5. Макацария А.Д. Тромбофилии и противотромботическая терапия в акушерской практике / А.Д. Макацария, В.О.Бицадзе.- М.: Триада-Х, 2003.–904 с.

6. Определение наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности. Генетическая карта репродуктивного

здоровья / В.С. Баранов, Т.Э. Ивашенко, А.С. Готов [и др.]- СПб.: ООО «Издательство Н-Л», 2009.-68 с.

7. Тромбофилии в акушерской практике: методические рекомендации / М.С. Зайнулина, Е.А. Корнюшина, А.С. Готов [и др.]- СПб.: ООО «Издательство Н-Л», 2009.-56 с.

8. Шабанова Н.А. Современные подходы к профилактике тромбоэмболических осложнений при беременности / Н.С. Щабанова, М.С. Зайнулина // Журнал акушерства и женских болезней.-2011.- Т. 60, № 3.- С. 161-169.

