

Т. О. Лоскутова

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

РОЛЬ СПАДКОВОЇ ТРОМБОФІЛІЇ У РОЗВИТКУ УСКЛАДНЕНЬ ВАГІТНОСТІ

Актуальність дослідження обумовлена тим, що серед захворювань з генетичною схильністю і які розвиваються в ході вагітності, найважливіше місце займають прееклампсія і невиношування вагітності. Зазначені захворювання зустрічаються в 2–8% і 15–20% випадків всіх вагітностей відповідно.

Мета дослідження. Виявлення особливостей розподілу поліморфних варіантів генів системи гемостазу та фібринолізу, ендотеліальної дисфункції та «регулятора» артеріального тиску в залежності від різних клінічних форм ускладненого перебігу вагітності.

Матеріали та методи. Проведено дослідження поліморфізму генів факторів згортання крові та фібринолізу (5G/4G інгібітору активатора плазміногену 1 типа (PAI-1), -455 G→A фібриногену β), ендотеліальної дисфункції (192 Q→R параоксонази 1 (PON-1), 677 C→T метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR)) та регулятора артеріального тиску (поліморфізм 235 M→T гена ангіотензиногену (AGT)) у вагітних з ускладненнями вагітності (прееклампсією – 133 пацієнтки та звичним невиношуванням вагітності – 109 жінок). Група контролю сформована із 78 умовно здорових вагітних з необтяжливим анамнезом та перебігом вагітності.

Результати і обговорення. На підставі отриманих даних встановлено, що поліморфізм в генах системи гемостазу та ендотеліальної дисфункції створює несприятливий фон для розвитку вагітності. Генотипи 677TT гена MTHFR, 4G/4G PAI-1, 235 TT гена ангіотензиногену II вносять значний внесок у розвиток прееклампсії. У розвитку звичного невиношування вагітності грають роль генотипи 677TT гена MTHFR, 4G/4G PAI-1, -455 AA фібриногену β. Перші ефекти існуючої тромбофілії проявляються дефектами імплантації, недостатньою інвазією трофобласта та розвитком звичного невиношування вагітності. У випадку, якщо вагітність прогресує, то наслідком недостатньої імплантації є розвиток ендотеліопатії і прееклампсії.

Висновки. Виявлені особливості розподілу генних поліморфізмів при прееклампсії і звичному невиношування вагітності мають бути враховані при розробці патогенетично обґрунтованих заходів профілактики гестаційних ускладнень у вагітних групи ризику.

Ключові слова: прееклампсія, звичне невиношування вагітності, поліморфізм генів, тромбофілія, група ризику.

Ускладнення вагітності, згідно з доповіддю дослідницької групи ВООЗ, є однією з причин материнської та перинатальної захворюваності та смертності. Отримані дані про молекулярні механізми розвитку акушерських ускладнень дозволяють розглядати їх як багатофакторний стан, розвиток якого визначається взаємодією певних спадкових і середовищних факторів. Численні дослідження, присвячені цій проблемі, показали, що в основі багатьох видів акушерської патології лежить розвиток генералізованої мікроангіопатії та тромбофілії, пов'язаних з аутоімунними порушеннями, дефектами ангіогенезу та інвазії трофобласту, спадковою патологією гемостазу [1–3, 6, 9]. Серед захворювань з генетичною схильністю, що розвиваються в ході вагітності, найважливіше місце займають прееклампсія (ПЕ) і невиношування вагітності [6, 8], які зустрічаються, за даними ВООЗ, в 2–8% і 15–20% випадків всіх вагітностей відповідно. Таким чином, прогнозування розвитку, рання діагностика та профілактика вищевказаних ускладнень гестації мають важливе медико-

соціальне значення.

В останнє десятиліття пильну увагу звернено до проблеми спадкової тромбофілії як причини патологічних процесів, що ведуть до ускладненого перебігу вагітності. За даними ряду авторів роль тромбофілії в структурі причин патології вагітності складає від 40 до 80% [6, 11, 12]. Серед безлічі спадкових маркерів тромбофілії, відкритих на сьогоднішній день, важлива роль у структурі ранніх репродуктивних втрат та акушерських ускладнень показана для мутацій в генах фактора V Leiden (1691G → A) і протромбіну (20210G → A), одонуклеотидний поліморфізм (SNP) -455G → A гену фібриногену (FGB), алельного варіанту -675 5G → 4G гену інгібітору активатора плазміногену 1 типу (PAI-1) і поліморфізму 677 C → T гену метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR). Однак, необхідно зазначити, що результати досліджень, присвячених цій проблемі, часто суперечливі, що, можливо, зумовлено етнічною неоднорідністю та/або клінічною гетерогенністю обстежуваних груп хворих, нечисленністю вибірок, некоректним підбором

контрольної групи, а також етнічної специфічності спадкової схильності до захворювання. У зв'язку з цим, метою дослідження стало виявлення особливостей розподілу поліморфних генів системи гемостазу та фібринолізу, ендотеліальної дисфункції та «регулятора» артеріального тиску в залежності від різних клінічних форм ускладненого перебігу вагітності.

Матеріали і методи

В рамках даної роботи обстежені 242 жінки з ускладненим перебігом вагітності (133 пацієнтки з ПЕ і 109 жінки зі звичним невиношуванням вагітності). Група пацієнток з ПЕ була неоднорідною за ступенем тяжкості ПЕ. Прееклампсію легкого ступеня мали 64 вагітні, середнього та тяжкого – 69 жінок. Діагноз ПЕ був визначений на підставі величини артеріального тиску, рівня протеїнурії, додаткових ускладнень і відповідно з клінічним протоколом МОЗ України № 676. Групу зі звичним невиношуванням вагітності склали 109 жінок. Для постановки діагнозу звичного невиношування вагітності послуговувались наказом МОЗ України № 624 від 03.11.2008 року [3], а саме: дві або більше вагітності поспіль, що закінчились викиднем. Контрольну групу (78 осіб) склали умовно здорові вагітних з необтяжливим анамнезом та перебігом вагітності. Критеріями відбору вагітних жінок в дану групу була відсутність в анамнезі тромбозів, хронічних та інфекційних захворювань, акушерської патології.

Дослідження генетичних поліморфізмів проводили за допомогою алейспецифічної полімеразної ланцюгової реакції, з подальшою детекцією методом електрофорезу в 3% агарозному гелі. Визначали генетичні поліморфізми факторів згортання крові та фібринолізу (5G/4G інгібітора активатора плазміногену 1 типа (PAI-1), -455 G→A фібриногену β), ендотеліальної дисфункції (192 Q→R параоксонази 1 (PON-1), 677 C→T MTHFR) та регулятора артеріального тиску (поліморфізм 235 M→T в гені ангіотензиногену (AGT)) для чого використовували комплект реагентів «SNP-експрес» виробництва НВФ «Літех» (Росія).

Статистичну обробку результатів дослідження проводили на персональному комп'ютері. Для обчислень використовували комп'ютерні програми Microsoft Excel 2010 і Graph Pad Prism для «Windows». Застосовували методи параметричної та непараметричної статистики. Нормальність розподілу кількісних ознак оцінювалась за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Для порівняння досліджуваних груп використовувались непарний t-тест, критерій χ^2 з перетворенням таблиць спряженості та поправкою Йетса. Розраховували відношення шансів (OR – odds ratio) із 95% довірчим інтервалом (CI). Основним для всіх розрахунків вважали рівень достовірності $p < 0,05$ [7, 10].

Результати та обговорення

При аналізі розподілу частот алелей і генотипів вивчених поліморфізмів було виявлено статистично значуще підвищення частоти генотипу 677TT гену MTHFR в групі жінок з ПЕ (12%) у порівнянні з контрольною групою – 0% ($p < 0,001$) (табл. 1). Частота алеля 677T гену MTHFR також превалювала у вагітних з ПЕ в порівнянні контрольною групою (OR=2,2; CI: 1,2–3,7). Крім того, в дослідженні була показана асоціація поліморфного варіанту -675 4G/5G гену PAI-1 з розвитком ПЕ. У групі пацієнток з ПЕ генотип 4G/4G і алель 4G зустрічався статистично значимо частіше, ніж у вибірці жінок з фізіологічним перебігом вагітності (для генотипу 4G/4G OR=4,2, CI 1,6–11,5; для алеля 4G OR=2,9, CI 1,9–4,5). Аналіз розподілу поліморфного варіанту гену -455 G → A фібриногену β в групі вагітних з ПЕ в порівнянні з контролем показав, що генотип -455 AA однаково часто зустрічався в обох групах ($p > 0,05$). Поліморфізм гену параоксонази 1 192 Q → R не має вірогідного впливу на розвиток ПЕ ($p > 0,05$), проте у носіїв гомозиготи 192 QQ шанси розвитку ПЕ менше (OR=0,47; CI: 0,29–0,84).

У контролі рівня АТ важливу роль відіграє поліморфізм в гені ангіотензиногену II 235 M → T. Генетичні варіації в гені ангіотензиногену можуть істотно впливати на концентрацію ферменту в плазмі, а відповідно, і на рівень інших компонентів ренін-ангіотензин-альдостеронової системи. Мутація детермінує збільшену експресію ангіотензиногену, істотно змінює взаємодію ангіотензиногену з ренином і АПФ, які можуть викликати розвиток прееклампсії у вагітних – носіїв мутації. Нами було показано, що генотип 235 TT гену ангіотензиногену II і алель 235T роблять значний вплив на розвиток ПЕ (OR=4,4; CI: 1,8–11,1 і OR=2,1; CI: 1,4–3,3).

Нами була встановлена асоціація зі звичним невиношуванням для маркера С677Т гену MTHFR: у групі хворих відзначалося статистично значуще підвищення частоти генотипу TT (12%) і алеля Т (25,6%) у порівнянні з цими показниками у жінок з фізіологічною вагітністю (0,0% і 13,5% відповідно, $p < 0,001$). Визначення асоціації поліморфного варіанту -675 4G / 5G гену PAI-1 з розвитком ПНБ показало, що у групі пацієнток зі ЗНВ генотип 4G / 4G і алель 4G зустрічався статистично значимо частіше, ніж у вибірці жінок з фізіологічним перебігом вагітності (для генотипу 4G / 4G OR=6,9, CI 2,6–18,6; для алеля 4G OR=3,9, CI 2,5–6,2). Аналіз розподілу поліморфного варіанту гену -455 G → A фібриногену β в групі вагітних зі ЗНВ у порівнянні з контролем показав, що генотип -455 AA і алель -455A превалювали в групі з ПНБ (для генотипу -455AA OR=8,2, CI 2, 4–28,3; для алеля -455A OR=4,7, CI 2,8–7,9). Аналіз поліморфних варіантів генів PON1 192 Q → R і ANG II 235 M →

Розподіл частот алелей і генотипів в досліджуваних групах, n (%)

Досліджувані поліморфізми	Генотипи і алелі	Частоти генотипів та алелів досліджуваних поліморфізмів, %		
		контрольна група, n=78	ПЕ, n=133	ЗНВ, n=109
4G/5G PAI-I	4G/4G	5 (6,4)	30 (22,6)*	35 (32,1)*
	5G/4G	30 (38,5)	74 (55,6)*	56 (51,4)
	5G/5G	43 (55,1)	29 (21,8)*	18 (16,5)*
	4G	40 (25,6)	134 (50,4)*	126 (57,8)*
	5G	116 (74,4)	132 (49,6)*	92 (42,2)*
Фібриноген β -455 G→A	-455 AA	3 (3,80)	15 (11,3)	27 (24,8)**
	-455 GA	17 (21,8)	63 (47,4)*	44 (40,4)*
	-455 GG	58 (74,40)	55 (41,4)*	38 (34,9)*
	-455 A	23 (14,7)	93 (35,0)*	98 (45,0)*
	-455 G	133 (85,3)	173 (65,0)*	120 (55,0)*
MTHFR 677 C→T	677 TT	0 (0,0)	16 (12,0)*	21 (19,3)*
	677 CT	21 (26,9)	36 (27,1)	48 (44,0)*
	677 CC	57 (73,1)	81 (60,9)	40 (36,7)*
	677 T	21 (13,5)	68 (25,6)*	90 (41,3)*
	677 C	135 (86,5)	198 (74,4)*	128 (58,7)*
PON-1 192 Q→R	192 RR	9 (11,5)	21 (15,8)	8 (7,3)
	192 QR	15 (19,2)	44 (33,1)	30 (27,6)
	192 QQ	54 (69,2)	68 (51,1)*	71 (65,1)
	192 R	33 (21,2)	86 (32,3)*	46 (21,1)
	192 Q	123 (78,8)	180 (67,7)*	172 (78,9)
Ангіотензиноген II 235 M→T	235 TT	6 (7,6)	36 (27,1)*	16 (14,7)**
	235 MT	36 (46,2)	56 (42,1)	59 (54,1)
	235 MM	36 (46,2)	41 (30,8)*	34 (31,2)*
	235 T	48 (30,8)	128 (48,1)*	91 (41,7)
	235 M	108 (69,2)	138 (51,9)*	127 (58,3)

Примітки: * – різниця показників статистично вірогідна з К групою ($p < 0,05$);

** – різниця показників статистично вірогідна між групами з ПЕ та ЗНВ ($p < 0,05$)

Т не виявив достовірних відмінностей між групою з ПНВ і контрольною групою ($p > 0,05$).

На підставі отриманих даних, можна припустити, що поліморфізм в генах системи гемостазу та ендотеліальної дисфункції створює несприятливий фон для розвитку вагітності. Це пов'язано з тим, що відбувається десинхронізація локальних процесів фібринолізу і фібриноутворення при імплантації. У цьому випадку протеїназ, синтезованих бластоцистою, стає відносно недостатньо, щоб зруйнувати матрикс в ендометрії і впровадитися на достатню глибину, що призводить до неповноцінної інвазії трофобласту [6, 8, 9]. Перелічені зміни можуть призвести до розвитку в одних випадках переривання вагітності, в інших до розвитку ПЕ. Перші ефекти існуючої тромбофілії проявляються дефектами імплантації, недостатньою інвазією трофобласту та ЗНВ, якщо вагітність прогресує, то наслідком неповноцінної імплантації є розвиток ендотеліопатії

і, як наслідок – прееклампсія. Порівняння розподілу аналізованих поліморфізмів між групами з ускладненнями вагітності також виявило деякі відмінності. Аналіз розподілу поліморфного варіанту гену -455 G → A фібриногену β в групі вагітних зі ЗНВ у порівнянні з групою з ПЕ показав, що генотип -455 AA і алель -455A превалювали в групі зі ЗНВ (для генотипу – 455AA OR=8,2, CI 2,4–28,3; для алеля -455A OR=4,7, CI 2,8–7,9). Для групи вагітних з ПЕ було притаманна більша кількість носіїв патологічної гомозиготи 235 TT гену ANG II в порівнянні з групою зі ЗНВ (OR=2,2, CI 1,1–4,1, $p=0,03$).

Таким чином, при існуючих підходах до лікування ускладнень вагітності терапія проводиться при появі клінічної симптоматики і носить симптоматичний характер, в той час, як основна причина захворювання (порушення імплантації) формується набагато раніше. Терапія ускладнень вагітності не може бути успішною доки замість

етіопатогенетичної терапії застосовується симптоматичне лікування. Для адекватної етіопатогенетичної профілактики жінки, що мають патологічні поліморфізми генів системи гемостазу, ендотеліальної дисфункції та «регуляторів» артеріального тиску формують групу ризику розвитку ускладнень вагітності та мають бути визначені ще на прекоцепційному етапі та отримувати патогенетичну терапію як можна раніше.

Висновки

1. В роботі виявлені особливості розподілу генних поліморфізмів при основних ускладнен-

нях вагітності: прееклампсії і звичному невиношування вагітності.

2. Результати проведеного дослідження дозволяють припустити, що генотипи 677ТТ гену МТНFR, 4G/4G PAI-1, 235 ТТ гену ангіотензиногену II вносять значний внесок у розвиток прееклампсії. У розвитку звичного невиношування вагітності відіграють роль генотипи 677ТТ гену МТНFR, 4G/4G PAI-1, -455 AA фібриногену β. Дані особливості поліморфізму генів системи гемостазу, фібринолізу і ендотеліальної дисфункції повинні бути враховані при розробці патогенетично обґрунтованих заходів профілактики гестаційних ускладнень.

Список літератури

1. Веропотвелян Н.П. Наследственные тромбофилии у женщин со спорадическими и привычными репродуктивными потерями в первом триместре беременности // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2014. – № 1. – С. 64–72.
2. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / Под. ред. В. С. Баранова. – СПб.: «Из-во Н-Л», 2009. – 528 с.
3. Определение наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности: методические рекомендации / В. С. Баранов, Т. Э. Иващенко, А. С. Глотов [и др.]; под ред. В. С. Баранова и Э. К. Айламазяна. – СПб.: «Из-во Н-Л», 2009. – 68 с.
4. Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги : Наказ від 03.11.2008 р. / Міністерство охорони здоров'я України. – К., 2008. – № 624.
5. Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги: Наказ від 31.12.2004 р. / Міністерство охорони здоров'я України. – К., 2004. – № 676.
6. Профилактика повторных осложнений беременности в условиях тромбофилии: Руководство для врачей / А. Д. Макацария, В. О. Бицадзе, С. М. Баймурадова, Е. Б. Передеряева [и др.] – М.: «Триада – X», 2008. – 152 с.
7. Риски и их оценка в медико-биологических исследованиях: метод. рекомендации / С. А. Максимов, С. Ф. Зинчук, Е. А. Давыдова, В. Г. Зинчук. – Кемерово, 2010. – 28 с.
8. Роль молекулярно-генетических факторов тромбофилии в развитии прееклампсии у женщин восточного региона Украины / В. К. Чайка, Е. Н. Носенко, Б. Мертил [и др.] // Тавр. мед.-биол. вестник. – 2010. – Т. 148, № 3. – С. 222–224.
9. Роль мутаций в генах FII, FV и МТНFR у пациенток с привычным невынашиванием / М. Б. Шаманова, И. К. Гоголевская, Е. Г. Лебедева, М. А. Курцер // Проблемы репродукции. – 2009. – №. 1. – С. 104–107.
10. Турчин В. Н. Теория вероятностей и математическая статистика. Основные понятия, примеры и задачи / В. Н. Турчин. – Днепропетровск: ИМА-ПРЕСС, 2012. – 576 с.
11. Double inherited thrombophilias and adverse pregnancy outcomes: fashion or science? / G. Larciprete, F. Rossi, T. Deaibess [et al.] // J. Obstet. Gynaecol. Res.-2010. – Vol. 36, N 5. – P. 996–1002.
12. The association of idiopathic recurrent early pregnancy loss with polymorphisms in folic acid metabolism-related genes/ Y. Cao, Z. Zhang, Y. Zheng [et al.] // Genes and nutrition. – 2014. – Т. 9, № 3. – С. 1–8.

Стаття надійшла до редакції 24.02.2015 р.

Т. А. Лоскутова

Государственное учреждение «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»

РОЛЬ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ТРОМБОФИЛИИ В РАЗВИТИИ ОСЛОЖНЕНИЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Актуальность исследования обусловлена тем, что среди заболеваний с генетической предрасположенностью, развивающихся в ходе беременности, важнейшее место занимают прееклампсия и невынашивание беременности, которые встречаются в 2–8% и 15–20% случаев всех беременностей соответственно.

Материалы и методы. Проведено исследование полиморфизма генов факторов свертывания крови и фибринолиза (5G/4G ингибитора активатора плазминогена 1 типа (РАИ-1), -455 G → А фибриногена β), эндотеліальної дисфункції (192 Q → R параоксоназы 1 (PON-1), 677 C → Т метилентетрагідрофолатредуктазы (МТНFR)) і регулятора артеріального тиску (поліморфізм 235 М → Т гена ангіотензиногена II (AGT)) у вагітних з ускладненнями вагітності (прееклампсією – 133

пациентки и привычным невынашиванием беременности – 109 женщин). Группа контроля сформирована из 78 условно здоровых беременных с неотягощенным анамнезом и течением беременности.

Результаты и обсуждение. На основании полученных данных установлено, что полиморфизм в генах системы гемостаза и эндотелиальной дисфункции создает неблагоприятный фон для развития беременности. Генотипы 677 ТТ гена МТНFR, 4G/4G PAI-1, 235 ТТ гена ангиотензиногена II вносят значительный вклад в развитие преэклампсии. В развитии привычного невынашивания беременности играют роль генотипы 677ТТ гена МТНFR, 4G/4G PAI-1, -455 AA фибриногена β. Первые эффекты существующей тромбофилии проявляются дефектами имплантации, недостаточной инвазией трофобласта и развитием привычного невынашивания беременности. В случае, если беременность прогрессирует, то следствием недостаточной имплантации является развитие эндотелиопатии и преэклампсии.

Выводы. Выявленные особенности распределения генных полиморфизмов при преэклампсии и привычном невынашивании беременности, должны быть учтены при разработке патогенетически обоснованных мер профилактики гестационных осложнений у беременных группы риска.

Ключевые слова: преэклампсия, привычное невынашивание беременности, полиморфизм генов, тромбофилия, группа риска.

T. O. Loskutova

State Institution “Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine”

ROLE OF HEREDITARY THROMBOPHILIA IN THE DEVELOPMENT OF COMPLICATIONS DURING PREGNANCY

Relevance of the study due to the fact that among the diseases with a genetic predisposition, developing during pregnancy, the most important place is occupied by pre-eclampsia and miscarriage, which occur in 2–8% and 15–20% of all pregnancies, respectively.

The purpose of the study. Identify features of the distribution of polymorphic variants of genes of hemostasis and fibrinolysis, endothelial dysfunction and “regulator” of blood pressure according to the different clinical forms of complicated pregnancy.

Materials and methods. The study of gene polymorphism of coagulation factors and fibrinolysis (5G / 4G plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1), -455 G → A fibrinogen β), endothelial dysfunction (192 Q → R paraoxonase 1 (PON-1), 677 C → T methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)) and a regulator of blood pressure (235 polymorphism M → T gene angiotensinogen II (AGT)) in pregnant women with complications of pregnancy (pre-eclampsia – 133 patients and recurrent miscarriage – 109 women). The control group is formed of 78 apparently healthy pregnant women without a history and a history of pregnancy.

The results of the study. It was found that polymorphisms in genes of hemostasis and endothelial dysfunction create an unfavorable environment for the development of pregnancy. Genotypes 677ТТ gene МТНFR, 4G / 4G PAI-1 and 235 ТТ angiotensinogen II made a significant contribution to the development of preeclampsia. In the development of recurrent miscarriage play the role of gene genotypes 677ТТ МТНFR, 4G / 4G PAI-1 and -455 AA fibrinogen β. The first effects of the existing thrombophilia manifest with defects of implantation, inadequate trophoblast invasion and the development of recurrent miscarriage. If the pregnancy is progressing, the result of a lack of implantation is the development of endotheliopathy and preeclampsia.

Conclusions. Identified features of the distribution of gene polymorphisms in preeclampsia and recurrent miscarriage should be included in the development of pathogenetic preventive measures of gestational complications in pregnant women from risk group.

Keywords: preeclampsia, recurrent miscarriage, genetic polymorphism, thrombophilia, risk group.