

АКУШЕРСТВО І ГІНЕКОЛОГІЯ

УДК 618.3-008.6-037

Т.О. Лоскутова

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

ВИЗНАЧЕННЯ РИЗИКУ РОЗВИТКУ ПРЕЕКЛАМПСІЇ, ЗУМОВЛЕНОЇ ТРОМБОФІЛІЄЮ

Робота присвячена розробці способів прогнозування розвитку преєклампсії, зумовленої тромбофілією, для визначення вагітних групи ризику. Було обстежено 177 жінок в III триместрі вагітності, з них 133 з преєклампсією різного ступеня тяжкості і 44 з неускладненим перебігом вагітності. Обґрунтовано способи прогнозування розвитку преєклампсії, що засновані на дослідженні стану системи гемостазу, визначенні генних поліморфізмів: PAI-1 (675 5G/4G), фібриногену β (455 G \rightarrow A), ангіотензиногену II (235 M \rightarrow T); рівня антитіл до β_2 глікопротеїну-1 та коефіцієнта атерогенності. Запропоновані способи дозволяють визначити сукупний внесок кожного з маркерів і ймовірність розвитку преєклампсії.

Ключові слова: вагітність, преєклампсія, тромбофілія, поліморфізм генів, прогнозування, група ризику.

Преєклампсія є однією з найважливіших проблем сучасного акушерства. Це пов'язане з високою частотою даної патології вагітності (2–8%), що не має тенденції до зниження. Існує ряд факторів, які значно збільшують ризик розвитку преєклампсії у вагітних. Це плацентарна ішемія, імунна дезадаптація, підвищений вміст ліпопротеїнів низької щільності, оксидативний стрес [1, 2]. Крім того, до розвитку преєклампсії залучений ряд генів схильності, які регулюють різноманітні функції ендотелію. Генетичний компонент може складати до 50% усіх факторів, що впливають на розвиток захворювання [1, 3]. Останнім часом дискутується роль антифосфоліпідного синдрому і генетичних форм тромбофілії (мутації в генах фактора V Leiden, протромбіну 20210 G \rightarrow A, метилентетрагідрофолатредуктази 677 C \rightarrow T (MTHFR), поліморфізм 455 G \rightarrow A гена фібриногену β (FGB) і 4G/5G гена інгібітора активатора плазміногену 1-го типу (PAI-1)) в патогенезі преєклампсії [1, 4–6]. Перераховані фактори впливають у сукупності і зазвичай справляють потенціюючий ефект на перебіг вагітності.

Пошук маркерів, які асоціюються з розвитком преєклампсії, важливий для розумін-

ня патогенезу, лікування та профілактики захворювання. Існуючі способи прогнозування преєклампсії у вагітних з патологічними генними поліморфізмами [1, 5] не дозволяють визначити ймовірність розвитку преєклампсії і, крім того, врахувати можливість сукупного впливу факторів ризику.

Метою дослідження була розробка способів прогнозування розвитку преєклампсії, обумовленої тромбофілією для визначення вагітних групи ризику.

Матеріал і методи. Було обстежено 177 вагітних, серед яких 133 жінки сформували дослідну групу дослідження. Критерієм включення до групи була наявність преєклампсії, ступінь тяжкості якої оцінювали згідно з Наказом МОЗ України від 31.12.04 № 676 [3]. Першу дослідну групу сформували 64 вагітні з гестаційною артеріальною гіпертензією або преєклампсією легкого ступеня, 2-гу – 69 вагітних з преєклампсією середнього або важкого ступеня тяжкості. Контрольну (3-тю) групу склали 44 вагітні в III триместрі з фізіологічним перебігом вагітності.

Визначення D-димеру в плазмі крові проводили на підставі імунотурбодиметричного аналізу за допомогою латекс-тесту Tina-quant

а D-Dimer (Roche Diagnostics, США) на системі Roche/Hitachi Cobas c 6000.

Дослідження генетичних поліморфізмів проводили шляхом алейлспецифічної полімеразної ланцюгової реакції з подальшою детекцією методом електрофорезу в 3%-вому агарозному гелі. Використовували комплект реагентів SNP-експрес виробництва НВФ «Літех» (Росія) для визначення генетичних поліморфізмів факторів згортання крові і фібринолізу (1691 G→A фактора V Leiden, 20210 G→A протромбіну, 675 5G/4G PAI-1, 455 G→A FGB), ендотеліальної дисфункції (192 Q→R параоксонази 1 (PON-1), 677 C→T MTHFR та регулятора артеріального тиску (235 M→T ангіотензиногену II (AGT)).

Визначення сумарних антитіл класів IgM і IgG до β_2 глікопротеїну I (ГПІ) проводили методом непрямого твердофазного імуоферментного аналізу (ELISA) у сироватці крові за допомогою реагентів виробництва Orgentec Diagnostica GmbH (Німеччина). Кількість антитіл класів IgM, IgG, IgA до β_2 ГПІ вважається підвищеною, якщо перевищує 8 Од/мл.

Визначення концентрації загального холестерину (ЗХС), холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ХС ЛПВЩ), холестерину ліпопротеїнів низької щільності (ХС ЛПНЩ), тригліцеридів (ТГ) у плазмі крові проводили в автоматичному режимі на аналізаторі Biochemistry Analyzer 88 з використанням реактивів «Біо-Ла-Тест» (Lachema-Pliva, Чехія). Коефіцієнт атерогенності (КА) розраховували за формулою $КА = (ЗХС - ХС ЛПВЩ) / ХС ЛПВЩ$.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили із використанням критеріїв Шапіро–Уїлка, Колмогорова–Смирнова, Манна–Уїтні, Фішера, χ^2 з поправкою Єйтса, непарного t-тесту. Для побудови математичних моделей прогнозу застосовували метод максимальної правдоподібності. Для оцінки зв'язку між впливом і результатом проводили оцінювання відносного ризику (RR – relative risk) та відношення шансів (OR – odds ratio) з розрахунком 95%-вого довірчого інтервалу (ДІ) [7].

Результати та їх обговорення. Встановлено, що у вагітних з прееклампсією легкого ступеня превалюють такі генотипи ($p_k < 0,05$): 235 TT в гені ANG II в 3,1 раза (28,12 %); 455 GA в гені фібриногену β в 1,76 раза (35,94 %); 675 5G/4G в гені PAI-1 в 1,58 раза (60,94 %).

Розрахунок показника OR підтвердив підвищення ризику прееклампсії легкого ступеня за наявності: мутації 235 TT в гені ANG II в 3,58 раза (95%-вий ДІ 1,18–10,9), поліморфізму 455 GA в гені фібриногену β в 4,26 раза (1,62–10,29), поліморфізму 675 5G/4G в гені PAI-1 в 2,43 раза (1,12–5,31).

У вагітних 2-ї групи збільшились наступні генотипи порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$): 235 TT ANG II в 2,87 раза (26,09 %); 455GA FGB в 2,83 раза (57,97 %); 675 4G/4G PAI-1 в 3,61 раза (24,64 %); 1691 GA фактора V Leiden в 4,04 раза (27,54 %); 677 TT MTHFR (13,04 %), 20210 GA протромбіну (15,94 %). Розрахунок OR показав, що ризик прееклампсії середнього або важкого ступеня тяжкості при мутації 235 TT по гену ANG II підвищено в 3,23 раза (95%-вий ДІ 1,09–9,8), поліморфізму 455 GA в гені FGB – в 5,13 раза (2,17–12,11), поліморфізму 675 4G/4G в гені PAI-1 – в 3,95 раза (1,17–13,36), гетерозиготної мутації 1691 GA в гені FVL – в 4,58 раза (1,36–15,3), гетерозиготної мутації 20210 GA гена протромбіну – в 17,05 раза (1,0–304,9).

Було визначено, що відмінними рисами прееклампсії середнього або важкого ступеня тяжкості від прееклампсії легкого ступеня є існування здебільшого патогенних поліморфізмів, а саме підвищення в 2,5 раза частоти мутації 1691 GA в гені фактора V Leiden (OR=3,09, 95%-вий ДІ 1,2–7,97), в 1,61 раза 455GA в гені фібриногену β (OR=4,26; 95%-вий ДІ 1,62–10,29) та зниження в 1,2 раза частоти гомозигот 20210 GG в гені протромбіну (OR=0,16, 95%-вий ДІ 0,4–0,59), в 2,32 раза частоти поєднань трьох і більше патологічних поліморфізмів у однієї вагітної (OR=3,33; 95%-вий ДІ 1,52–7,33), що призводить до більш тяжкого перебігу прееклампсії та переважання виникнення ускладнень.

Визначено, що для прееклампсії легкого ступеня притаманне підвищення кількості антитіл до β_2 ГПІ в 1,3 раза [(5,25±0,3) Од/мл проти (4,02±0,23) Од/мл, $p_k < 0,05$]. Для прееклампсії середнього або важкого ступеня характерно ($p_k < 0,05$): підвищення кількості антитіл до β_2 ГПІ в 1,62 раза [(6,52±0,46) Од/мл проти (4,02±0,23) Од/мл]. Між рівнем антитіл до β_2 ГПІ та ступенем тяжкості прееклампсії встановлено прямий кореляційний зв'язок ($r=0,326$; $p < 0,001$). Аналіз показників ліпідного обміну довів, що КА переважає в 1-й групі

(3,71±0,12) в 1,14 раза, у 2-й групі (3,99±0,16) в 1,29 раза над вмістом у контрольній групі (3,16±0,15; $p<0,05$).

Аналіз початку прееклампсії та ускладнень гестації дозволив встановити, що для прееклампсії середнього або важкого ступеня (2-га група жінок) характерний ранній дебют (до 28-го тижня включно), який було констатовано в 3,7 раза частіше, ніж у жінок 1-ї групи ($p<0,05$; OR=4,2; 95%-вий ДІ 1,4–12,5). Дистрес плода під час вагітності було діагностовано у 26,09 % жінок 2-ї групи, що в 5,73 раза переважає їх кількість у контрольній групі (4,55 %, $p<0,05$, OR=6,11; 95%-вий ДІ 1,53–24,3) та в 5,56 раза таку в 1-й групі (4,69 %, $p<0,05$, OR=6,31; 95%-вий ДІ 1,89–20,98). ЗРП в 2-й групі (23,2 %) реєстрували в 2,97 раза частіше, ніж у 1-й (7,81 %, $p<0,05$, OR=3,34; 95%-вий ДІ 1,19–9,38) та контрольній (0,0 %, $p<0,05$, OR=27,45; 95%-вий ДІ 1,6–470,49) групах.

Середній термін розродження вагітних з прееклампсією в 1,03 раза менше [(37,53±0,32) тижня, $p<0,05$], передчасних пологів (17,19 %) більше ($p<0,05$), пологів у строк (81,25 %) в 1,23 раза менше ($p<0,05$), середня маса новонароджених [(3099±79,47) г] в 1,11 раза менше ($p<0,05$), зріст [(50,98±0,44) см] в 1,02 раза менше ($p<0,05$); оцінка за шкалою Апгар на 1-й хвилині [(6,57±0,09) балів] у 1,06, а на 5-й хвилині [(7,64±0,08) балів] у 1,04 рази менше ($p<0,05$), ніж у групі з фізіологічним перебігом вагітності.

В групі з прееклампсією середнього або важкого ступеня тяжкості порівняно з контрольною групою середній термін розродження [(34,01±0,32) тижня] в 1,14 раза менше ($p<0,001$), частота передчасних пологів більше [(75,36 %, $p<0,001$), пологів у строк в 4,06 раза менше (24,64 %, $p<0,001$), оперативних розроджень в 1,77 раза більше (52,17 %, $p<0,05$), середня маса новонароджених [(1905±92,82) г] в 1,81 раза менше ($p<0,001$), зріст [(44,17±0,71) см] в 1,18 раза менше ($p<0,001$); оцінка за шкалою Апгар на 1-й хвилині [(5,53±0,24) балів] у 1,26 раза менше ($p<0,001$), на 5-й хвилині [(6,55±0,27) балів] у 1,22 раза менше ($p<0,001$). Перинатальні втрати склали 144,9 %, а основними несприятливими перинатальними наслідками були в 4,41 раза частіша затримка розвитку плода (27,54 %, $p<0,001$), гіпоксично-ішемічні ураження ЦНС (34,78 %, $p<0,001$), синдром дихальних розладів (28,99 %,

$p<0,001$), анемія (27,54 %, $p<0,001$), кон'югаційна жовтуха (11,59 %, $p<0,05$), недоношеність, народження дітей з низькою та екстремально низькою масою тіла.

Отже, необхідно виділяти два види гіпертензивних розладів під час вагітності: перший – це прееклампсія середнього або тяжкого ступеня, яка рано розпочинається та супроводжується загрозливими для життя матері та дитини ускладненнями, другий – це легка прееклампсія, у пізні терміни вагітності та без супутніх ускладнень. В розвитку цих, різних за терміном і перебігом, видів гіпертензивних розладів лежать різні етіологічні і патофізіологічні зміни. Розвиток прееклампсії на фоні існування спадкових видів тромбофілії пов'язаний з більш важким перебігом, раннім початком та розвитком загрозливих для життя матері і плода ускладнень.

Отримані дані підтвердили актуальність дослідження, дозволили визначити прогностичні маркери та створити математичні моделі для розрахунку імовірності розвитку прееклампсії [8, 9]. Як прогностичні критерії для першого способу прогнозування розвитку прееклампсії запропоновано розглядати: концентрацію D-димеру, поліморфізми в геномі людини: 675 5G/4G в гені PAI-1, поліморфізм 455 G→A FIB; рівень антитіл до β_2 ГПІ та значення КА [9]. Застосувавши метод максимальної правдоподібності, розрахували функцію ризику, що мала вигляд

$$y = -11,74 + 6,25x_D + 0,80x_{KA} + 1,08x_{PAI} + 1,25x_{FIB} + 0,49x_{A\beta_2}, \quad (1)$$

де x_D – концентрація D-димеру; x_{KA} – значення коефіцієнта атерогенності; $x_{A\beta_2}$ – кількість антитіл до β_2 глікопротеїну 1; x_{PAI} – значення PAI-1, x_{FGB} – значення FGB. Значення x_{PAI} дорівнює 1, якщо ген нормальний; 2, якщо алейний поліморфізм гетерозиготний, та 3, якщо мутантний (патологічний) ген у гомозиготному стані; аналогічно x_{FGB} має значення 1, 2 і 3.

Ймовірність розвитку прееклампсії у вагітної розраховується за формулою

$$P(y) = P(x_D, x_{KA}, x_{PAI}, x_{FIB}, x_{A\beta_2}) = 1/(1 + \exp\{-y\}) = 1/(1 + \exp\{-(-11,74 + 6,25x_D + 0,80x_{KA} + 1,08x_{PAI} + 1,25x_{FIB} + 0,49x_{A\beta_2})\}). \quad (2)$$

Графік функції $P(y) = 1/(1 + \exp\{-y\})$ (формула 2) наведено на рис. 1. Значення $P(0,765) = 0,683$ трактуємо як критичне, при перевищенні якого вагітну потрібно відносити до групи високого ризику розвитку прееклампсії. Чутли-

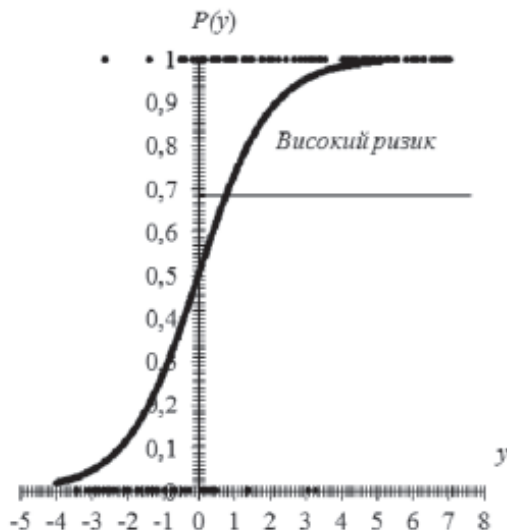


Рис. 1. Визначення ймовірності $P(y)$ розвитку преєклампсії від значення y функції ризику. Формула (2)

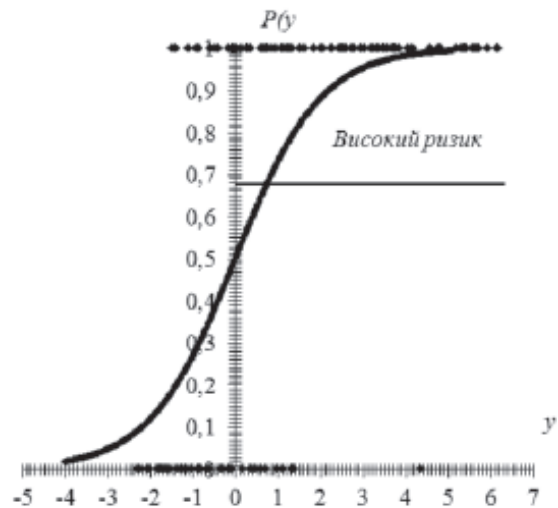


Рис. 2. Розрахунок ймовірності $P(y)$ розвитку преєклампсії для вагітних з ГХ від значення y функції ризику. Формула (4)

вість запропонованої моделі становить 82,5 % (95%-вий ДІ 74,2–88,9 %), специфічність – 90,9 % (95%-вий ДІ 78,3–97,5 %). Значення статистики Hosmer-Lemeshow, що характеризує ступінь ухилення між прогнозованим числом і спостережуваним, становить 7,99; критичне значення статистики дорівнює 12,59 ($p < 0,05$), що свідчить про відповідність моделі реальним даним.

Для вагітних з гіпертонічною хворобою доцільно використовувати спосіб прогнозування розвитку преєклампсії, при якому враховуються результати визначення алельного поліморфізму генів $ANG\ II\ 235\ M \rightarrow T$, $PAI-1\ 5G/4G$, рівень антитіл до β_2 ГПІ, концентрація D-димеру [9]. Використовуючи метод максимальної правдоподібності, розраховали функцію ризику, що мала вигляд

$$y = -7,00 + 5,69x_D + 0,93x_{PAI} + 0,35x_{ANG} + 0,42x_{At\beta_2} \quad (3)$$

Ймовірність розвитку преєклампсії розраховується за формулою

$$P(y) = P(x_D, x_{At\beta_2}, x_{PAI}, x_{ANG}) = 1 / (1 + \exp\{-y\}) = 1 / (1 + \exp\{-(-7,00 + 5,69x_D + 0,93x_{PAI} + 0,35x_{ANG} + 0,42x_{At\beta_2})\}) \quad (4)$$

Графік функції $P(y) = 1 / (1 + \exp\{-y\})$ (формула 4) наведено на рис. 2. Значення $P(0,722) = 0,673$ трактуємо як критичне, при перевищенні якого вагітну потрібно відносити до групи високого ризику розвитку преєклампсії.

Чутливість запропонованої моделі становить 79,8 % (95%-вий ДІ 71,3–86,8 %), специфічність – 86,4 % (95%-вий ДІ 72,6–94,8 %).

Значення статистики Hosmer-Lemeshow дорівнює 3,2 (критичне значення статистики дорівнює 12,59, $p < 0,05$).

Запропоновані нами прогностичні моделі дають змогу оцінити не лише внесок поліморфних варіантів генів тромбофілії, але й ступінь гіперкоагуляції, рівень антитіл до β_2 ГПІ-1, дисбаланс обміну ліпідів і підвищену кількість атерогенних фракцій, а також ймовірність розвитку преєклампсії для даної вагітної і, як наслідок, визначити ймовірність вагітної опинитися в групі ризику. Використання запропонованих нами способів прогнозу дає змогу поняттю «високий або низький ризик» набути кількісної характеристики.

Висновки

1. Розвиток преєклампсії середнього і тяжкого ступеня здебільшого асоціюється з наявністю патологічних генних поліморфізмів, мультигенних, набутих і комбінованих форм тромбофілії, ніж преєклампсії легкого ступеня, що має бути враховано при визначенні тяжкості преєклампсії.

2. Патогенетично обґрунтовані способи прогнозування розвитку преєклампсії, що засновані на дослідженні стану системи гемостазу та визначенні генних поліморфізмів: $PAI-1\ (675\ 5G/4G)$, фібриногену $\beta\ (455\ G \rightarrow A)$, ангіотензиногену $II\ (235\ M \rightarrow T)$, рівня антитіл до β_2 глікопротеїну-1 та коефіцієнта атерогенності, дають змогу визначати ймовірність розвитку преєк-

ламписі з урахуванням сукупного внеску кожного з маркерів та мають чутливість 82,5 % (95%-вий ДІ 74,2–88,9 %) і 79,8 % (95%-вий ДІ 71,3–86,8 %), специфічність – 90,9 % (95%-вий ДІ 78,3–97,5 %) і 86,4 % (95%-вий ДІ 72,6–94,8 %).

Література

1. Определение наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности: методические рекомендации / В.С. Баранов, Т.Э. Ивашенко, А.С. Глотов и др.; под ред. В.С. Баранова, Э.К. Айламазяна. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. – 68 с.
2. Pathophysiology of hypertension in preeclampsia: a lesson in integrative physiology / A.C. Palei, F.T. Spradley, J.P. Warrington, et al. // Acta. Physiol. – 2013. – Vol. 208, № 4. – P. 224–233.
3. Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги : Наказ від 31.12.2004 р. № 676 / МОЗ України. – К., 2004.
4. Макацария А.Д. Тромбофилии и противотромботическая терапия в акушерской практике / А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе. – М.: Триада Х, 2003. – 904 с.
5. Роль молекулярно-генетических факторов тромбофилии в развитии преэклампсии у женщин восточного региона Украины / В.К. Чайка, Е.Н. Носенко, Б. Мертил и др. // Таврич. мед.-биол. вестник. – 2010. – Т. 148, № 3. – С. 222–224.
6. Relationship between thrombophilic disorders and type of severe early hypertensive disorders of pregnancy / W. Ganzevoort, A. Rep, J.I. DeVries, et al. // Hypertens. Pregnancy. – 2007. – Vol. 26, № 4. – P. 433–445.
7. Турчин В.Н. Теория вероятностей и математическая статистика. Основные понятия, примеры и задачи / В.Н. Турчин. – Днепропетровск: ИМА-ПРЕСС, 2012. – 576 с.
8. Лоскутова Т.А. Оценка частоты развития гипертензивных нарушений у беременных / Т.А. Лоскутова, В.Н. Турчин // Врач-аспирант. – 2013. – № 5.2 (60). – С. 349–356.
9. Лоскутова Т.О. Ефективність прогнозування преєклампсії у вагітних / Т.О. Лоскутова // Медичні перспективи. – 2014. – Т. XIX, № 1. – С. 101–107.

Т.А. Лоскутова

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РИСКА РАЗВИТИЯ ПРЕЭКЛАМПСИИ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ ТРОМБОФИЛИЕЙ

Работа посвящена разработке способов прогнозирования развития преэклампсии, обусловленной тромбофилией для определения беременных группы риска. Обследовано 177 женщин в III триместре беременности, из них 133 с преэклампсией различной степени тяжести и 44 с неосложненным течением беременности. Обоснованы способы прогнозирования развития преэклампсии, которые основаны на исследовании состояния системы гемостаза, определении генных полиморфизмов: PAI-1 (675 5G/4G), фибриногена β (455 G→A), ангиотензиногена II (235 M→T); уровня антител к β_2 гликопротеину-1 и коэффициента атерогенности. Предложенные способы позволяют определить совокупный вклад каждого из маркеров и вероятность развития преэклампсии.

Ключевые слова: беременность, преэклампсия, тромбофилия, полиморфизм генов, группа риска.

Т.О. Loskutova

DETERMINATION RISK OF DEVELOPING PREECLAMPSIA CAUSED BY THROMBOPHILIA

The work is devoted to developing methods for forecasting the development of preeclampsia caused by thrombophilia to determine pregnancy at risk. Were surveyed 177 women in the III trimester of pregnancy: 133 women with preeclampsia varying severity and 44 with uncomplicated pregnancy. Proved ways to predict the development of pre-eclampsia, which are based on a study of the hemostatic system, determining gene polymorphisms: PAI-1 (675 5G / 4G), fibrinogen β (455 G→A), angiotensinogen II (235 M→T); level of antibodies to β_2 glycoprotein-1 and the value atherogenic factor. The proposed methods take into account the cumulative contribution of each of the markers and allow to determine the likelihood of developing preeclampsia.

Key words: pregnancy, preeclampsia, thrombophilia, gene polymorphism, prognosis, risk group.

Поступила 16.02.15