

УДК 616-005.6:575.224:618.3-06-009.24

СПЕКТР ГЕНЕТИЧЕСКИХ ТРОМБОФИЛИЙ У БЕРЕМЕННЫХ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ ПРЕЭКЛАМПСИИ

¹Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул²Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, г. Санкт-Петербург³Алтайский краевой клинический перинатальный центр, г. БарнаулБелинина А.А.^{1,3}, Мозговая Е.В.², Ремнёва О.В.^{1,3}

Целью данной работы явилось выявление вариантов и частоты встречаемости генетических протромбогенных полиморфизмов у пациенток – жительниц Алтайского края в зависимости от степени тяжести преэклампсии (ПЭ). У 312 пациенток, которые ретроспективно были разделены на три группы в зависимости от наличия и степени тяжести ПЭ, исследован аллельный полиморфизм генов (фактора V Лейдена, протромбина FII, MTHFR, PAI-I), кодирующих различные звенья системы гемостаза. В группу 1 вошли 118 пациенток, беременность которых осложнилась тяжелой ПЭ, в группу 2 – 94 пациентки, беременность которых осложнилась умеренной ПЭ, в группу 3 – 100 пациенток, не имевших такового диагноза. Выявлено, что у пациенток с ПЭ, независимо от степени ее тяжести, достоверно чаще определялись комбинированные протромбогенные дефекты – гомозиготные варианты в генах MTHFR, FV и PAI-I по сравнению с женщинами, не имевшими данного акушерского осложнения. Сочетание трех полиморфных аллелей встречалось только у беременных с тяжелой ПЭ.

Ключевые слова: преэклампсия, тромбофилия, генетические протромбогенные полиморфизмы.

The aim of this work was to identify variants and frequency of occurrence of genetic prothrombotic polymorphisms in female patients – residents of Altai Krai depending on the severity of preeclampsia (PE). We studied allelic polymorphism of genes (Factor V Leiden, prothrombin FII, MTHFR, PAI-I) encoding different links of the hemostasis system in 312 patients who were retrospectively divided into three groups depending on the presence and severity of PE. Group 1 included 118 patients whose pregnancy was complicated by severe PE, group 2 – 94 patients whose pregnancy was complicated by moderate PE, group 3 – 100 patients who did not have such diagnosis. It was revealed that in patients with PE, regardless of its severity, combined prothrombotic defects – homozygous variants in the genes MTHFR, FV, and PAI-I were found reliably more often compared to women who did not have this obstetric complication. The combination of three polymorphic alleles was only found in pregnant women with severe PE.

Key words: preeclampsia, thrombophilia, genetic prothrombotic polymorphisms.

Преэклампсия (ПЭ) – одно из самых грозных и загадочных осложнений беременности – играет значимую роль в реализации неблагоприятных материнских и перинатальных исходов [1, 2]. Тромбофилия как состояние повышенной склонности к тромбообразованию многогранна, а ее связь с ПЭ является бесспорным фактом [3, 4, 5, 6]. Присутствие в организме матери генетической и/или приобретенной тромбофилии может быть причиной дефектной имплантации плодного яйца, недостаточной глубины инвазии трофобласта, неполноценной плацентации и, как следствие, эндотелиопатии и нарушения формирования плаценты [4, 5, 7]. В патогенезе ПЭ наиболее важным представляется мультифакториальный генез и полиморфизм генетических форм тромбофилии, когда имеет место сочетание двух или нескольких дефектов гемостаза. Сегодня накоплены значительные клинические данные, позволяющие выделить в популяции врожденные дефекты тромбогенного риска, наиболее значимыми из которых в развитии ПЭ считаются протромбин II (1–4%),

мутация Leiden (3–6%), MTHFR (15–40%) и ингибитор активатора плазминогена 1 типа (5–8%) [8–13]. Изучение таких форм является крайне важным для практики. В частности, при гипергомоцистеинемии и FV Leiden мутации риск тромботических осложнений возрастает в 10–20 раз [3, 9, 11].

Целью нашего исследования явилось выявление вариантов и частоты встречаемости генетических протромбогенных полиморфизмов у пациенток – жительниц Алтайского края в зависимости от степени тяжести преэклампсии.

Материалы и методы

Нами были обследованы 312 пациенток, которые были родоразрешены в краевом клиническом перинатальном центре. Они ретроспективно были разделены на три группы в зависимости от наличия и степени тяжести ПЭ. Группу 1 составили 118 пациенток, беременность которых осложнилась тяжелой ПЭ, в группу 2 вошли 94 пациентки, беременность которых осложнилась умеренной ПЭ, группа

3 была сформирована лотерейным методом и представлена 100 женщинами, не имевшими данного акушерского осложнения.

Все пациентки были обследованы в лаборатории иммунологии КГБУЗ «Диагностический центр Алтайского края» на протромбогенные ДНК- полиморфизмы: ген фактора V Лейден (Arg 506 Gln), ген протромбина фактора II (20210 G/A), ген ингибитора активатора плазминогена I типа SERPINE1- PAI-I (675 4G/5G) и полиморфизм генов, кодирующих фолатный цикл – МТ-ГФР (С677/Т). Материалом для исследования являлась геномная ДНК человека, выделяемая из лейкоцитов периферической крови. При молекулярно-генетическом тестировании использовалась универсальная система выявления точечных мутаций в геноме человека методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с аллель-специфичными праймерами, в состав которой входит комплект реагентов «SNP-экспресс» (производитель – научно-производственная фирма «Литекс», г. Москва).

Статистический анализ данных проводился по общепринятым методам вариационной статистики при помощи пакета программ прикладной статистики Microsoft Excel 2010, SigmaPlot. Категориальные переменные представлены в виде относительных частот или четырехпольных таблиц. Для их сравнения применяли непараметрический критерий χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность, точный

критерий Фишера (при сумме частот <40 и/или наличии малых частот <5). Производилась поправка на множественность сравнений Бонферрони. Уровень статистической значимости при проверке нулевой гипотезы принимали соответствующий $p < 0,05$.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России. Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного нами генетического тестирования протромбогенные полиморфизмы чаще выявлялись у пациенток, имеющих тяжелую ПЭ, по отношению к пациенткам с умеренной ПЭ и без таковой: 78,8%, 60,6% и 54,0% в группах 1, 2, 3 соответственно ($p_{1-2}=0,015$; $p_{1-3}<0,001$).

Гомозиготный вариант генетических полиморфизмов преобладал у женщин, беременность которых осложнилась ПЭ, независимо от степени ее тяжести (51,1%, 54,5% в группах 1 и 2 соответственно против 25,0% в группе 3; $p < 0,001$), а гетерозиготный – у женщин, не имеющих данного акушерского осложнения (75,0% в группе 3 против 43,8% и 45,4% в группах 1 и 2 соответственно; $p < 0,001$).

Частота встречаемости вариантов сочетания протромбогенных генетических аномалий представлена в таблице 1.

Таблица 1

Частота встречаемости сочетания протромбогенных полиморфизмов у беременных исследуемых групп

Варианты сочетания протромбогенных полиморфизмов	Группа 1 n=118		Группа 2 n=94		Группа 3 n=100		P
	1		2		3		
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
Сочетание полиморфизмов гомозигота/гомозигота	29	24,5	17	18,0	5	5,0	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}=0,000$ $p_{2-3}=0,004$
Сочетание полиморфизмов гомозигота/гетерозигота	12	10,1	5	5,3	0	0	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}>0,05$
Сочетание полиморфизмов гетерозигота/гетерозигота	25	21,2	9	9,6	9	9,0	$p_{1-2}=0,01$ $p_{1-3}=0,01$ $p_{2-3}>0,05$
– 2 межгенных дефекта	46	38,9	31	32,9	14	7,0	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}=0,000$ $p_{2-3}=0,000$
– 3 межгенных дефекта	8	6,8	0	0	0	0	$p_{1-2}=0,01$ $p_{1-3}=0,01$ $p_{2-3}>0,05$

Как видно из таблицы 1, варианты комбинаций патологических аллелей в гомозиготном состоянии определялись достоверно чаще в группах пациенток, беременность которых ос-

ложнилась ПЭ. Комбинации полиморфизмов гетеро/гетерозигот и гомо/гетерозигот преобладали в группе женщин с тяжелой ПЭ по сравнению с женщинами группы 3. Два межгенных

дефекта чаще выявлялись у женщин, имеющих ПЭ, независимо от степени ее тяжести ($p < 0,001$), а три межгенных дефекта были только у женщин группы 1 – в 6,7% случаев ($p = 0,01$).

Частота встречаемости и спектр полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла у беременных представлены в таблице 2.

Таблица 2

Частота встречаемости и спектр полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла у беременных исследуемых групп

Ген/генотип	Группа 1 n=118		Группа 2 n=94		Группа 3 n=100		P
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
Одиночные варианты полиморфизмов							
FV (G1691A), из них:	4	3,39	0	0	0	0	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
Гетерозигота (G/A)	2	1,69	0	0	0	0	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
гомозигота, редкий аллель (A/A)	2	1,69	0	0	0	0	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
F2 (20210 G/A), из них:	1	0,85	1	1,06	1	1	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
Гетерозигота (G/A)	1	0,85	0	0	1	1	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
гомозигота, редкий аллель (A/A)	0	0	1	1,06	0	0	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
PAI- I (-675 4G/5G), из них:	19	16,1	12	12,7	25	25,00	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} = 0,02$
Гетерозигота (5G/4G)	4	3,39	6	6,38	19	19,00	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} = 0,000$ $p_{2-3} = 0,007$
гомозигота, редкий аллель (4G/4G)	15	12,71	6	6,38	6	6,00	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
MTHFR(C677/T), из них:	15	12,71	13	13,8	14	14,00	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
Гетерозигота (C/T)	6	5,08	11	11,7	13	13,00	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} = 0,03$ $p_{2-3} > 0,05$
гомозигота, редкий аллель (T/T)	9	7,63	2	2,13	1	1,00	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
Комбинированные варианты полиморфизмов							
PAI-I 675 (4G/4G) гомозигота / MTHFR C677T (T/T) гомозигота	29	24,58	17	18,08	5	5,0	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} = 0,000$ $p_{2-3} = 0,004$

Ген/генотип	Группа 1 n=118		Группа 2 n=94		Группа 3 n=100		P
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
PAI-I 675 (4G/4G) гомозигота / MTHFR(C677/T) гетерозигота (C/T)	5	4,24	5	5,32	0	0	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}=0,04$ $p_{2-3}=0,02$
PAI-I 675 (4G/4G) гомозигота / FV (Arg 506 Gln) гетерозигота (G/A)	1	0,85	0	0	0	0	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}>0,05$ $p_{2-3}>0,05$
PAI-I (675 4G/5G) гетерозигота (5G/4G) / FV (Arg 506 Gln) гетерозигота (G/A)	4	3,89	0	0	0	0	$p_{1-2}=0,051$ $p_{1-3}=0,050$ $p_{2-3}>0,05$
PAI-I (675 4G/5G) гетерозигота (5G/4G) / MTHFR(C677/T) гетерозигота (C/T)	13	11,02	9	9,57	9	9,0	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}>0,05$ $p_{2-3}>0,05$
PAI-I (675 4G/5G) гетерозигота (5G/4G) / гомозигота, редкий аллель (T/T) MTHFR(C677/T)	6	5,08	0	0	0	0	$p_{1-2}=0,02$ $p_{1-3}=0,02$ $p_{2-3}>0,05$
PAI-I (-675 4G/5G) гетерозигота (5G/4G) / MTHFR(C677/T) гетерозигота (C/T) / FV (Arg 506 Gln) гетерозигота (G/A)	6	5,08	0	0	0	0	$p_{1-2}=0,02$ $p_{1-3}=0,02$ $p_{2-3}>0,05$
PAI-I (-675 4G/5G) гетерозигота (5G/4G) / MTHFR(C677/T) гетерозигота (C/T) / F2 (20210 G/A) гетерозигота (G/A)	2	1,69	0	0	0	0	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}>0,05$ $p_{2-3}>0,05$

Проведенный нами развернутый анализ частоты встречаемости и спектра полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатно-цикла показал, что у беременных группы 3 изолированный дефект в гене PAI-I (гетерозигота (5G/4G)) встречался чаще, чем у женщин, беременность которых осложнилась ПЭ, независимо от степени ее тяжести ($p_{1-3}<0,001$; $p_{2-3}=0,007$). Как видно из таблицы 2, дефект в гене MTHFR(C677/T, гетерозигота C/T) в группе 3 выявлялся в 2,5 раза чаще, чем у женщин, беременность которых осложнилась тяжелой ПЭ ($p=0,03$). При анализе частоты комбинированных вариантов полиморфизмов было выявлено, что у женщин, беременность которых осложнилась ПЭ, наиболее часто определялось сочетание «PAI-I 675 (4G/4G)/MTHFR(C677/T)» по отношению к женщинам группы 3 ($p<0,05$), причем сочетание гомозиготных вариантов было наивысшим (24,6%) в группе 1 ($p<0,001$). Сочетание с мутацией Лейдена FV трех и двух полиморфных аллелей (PAI-I/FV/MTHFR и PAI-I/FV) также чаще выявлялось у женщин, беременность которых осложнилась тяжелой ПЭ ($p=0,02$).

Суммируя полученные данные, можно отметить, что у пациенток, беременность которых осложнилась ПЭ, независимо от степени ее тяже-

сти, по сравнению с беременными, не имеющими такого осложнения, достоверно чаще определялись комбинированные протромбогенные дефекты – гомозиготные варианты в генах MTHFR, FV и PAI-I. Сочетание трех полиморфных аллелей встречалось только у женщин, беременность которых осложнилась тяжелой преэклампсией.

Заключение

Таким образом, у пациенток, беременность которых осложнилась преэклампсией, достоверно чаще определяются комбинации тромбогенных дефектов – гомозиготные варианты в генах MTHFR, FV и PAI-I, причем частота сочетаний гомозиготных вариантов PAI-I/MTHFR у женщин с тяжелой преэклампсией встречается в каждом четвертом случае. Сочетание трех полиморфных аллелей выявляется только у беременных с тяжелой преэклампсией (6,8%). Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности обследования беременных группы высокого риска развития ПЭ на наличие генетических форм **тромбофилии** – носительство тромбогенных ДНК-полиморфизмов (FV (G1691A), F2 (20210 G/A), MTHFR(C677/T), PAI-I (-675 4G/5G)) с прегравидарного этапа. Для более точной идентификации групп акушерского и перинатального риска после

проведенного обследования этим пациентам необходима **консультация гематолога**, включающая оценку лабораторных показателей и коррекцию выявленных нарушений.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы:

1. Ержан З.Е., Раева Р.М., Мошкалова Г.Н. и др. Тяжелая преэклампсия – актуальная проблема современного акушерства (обзор литературы). Вестник КазНМУ. 2013; 4(1): 33-35.
2. Айламазян Э.К., Мозговая Е.В. Гестоз: теория и практика. Москва: МЕДпресс-информ. 2008: 272.
3. Андреева М.Д. Вопросы патогенеза и профилактики повторных репродуктивных потерь у пациенток с тромбофилией (материнская, фетальная). Диссертация ... доктора медицинских наук. Краснодар. 2015: 246.
4. Глотов А.С., Вашукова Е.С., Зайнулина М.С. Подходы к диагностике и профилактике осложнений у беременных с наследственными формами тромбофилии. Лабораторная служба. 2014; 1: 23-28.
5. Долгушина В.Ф., Вереина Н.К. Генетические и приобретенные факторы риска тромбозов у женщин с акушерской патологией в анамнезе. Акушерство и гинекология. 2011; 3: 27-31.
6. Bennett S.A., Bagot C.N., Arya R. Pregnancy loss and thrombophilia: the elusive link. A/OG. 2012; 157 (5): 529-542.
7. Садекова О.Н., Князева И.П., Яровая Е.Б. Роль системных нарушений в формировании гестационных осложнений и их генетическая составляющая. Акушерство и гинекология. 2012; 4-2: 21-28.
8. Акуленко Л.В., Цахилова С.Г., Дзансолова А.В. Роль полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы в этиологии и патогенезе преэклампсии. Проблемы репродукции. 2015; 1: 8-11.
9. Трифонова Е.А., Габидулина Т.В., Агаркова Т.А. Гомоцистеин, полиморфизмы гена MTHFR и осложнения беременности. Акушерство и гинекология. 2011; 2: 8–15.
10. Bergen N.E., Jaddoe V.W., Timmermans S. et al. Homocysteine and folate concentrations in early pregnancy and the risk of adverse pregnancy outcomes: the Generation R Study. Br. J. Obstet. Gynaecol. 2012; 119 (6): 739 -751.

11. Jacobsen A.F. Risk of venous thrombosis in pregnancy among carriers of the factor V Leiden and the prothrombin gene G20210A. J. of Thrombosis and Haemostasis. 2010; 8: 2443-2449.

12. Morgan J.A., Bombell S., McGuire W. Association of plasminogen activator inhibitor-type 1 (-675 4G/5G) polymorphism with preeclampsia: systematic review. PLoS One. 2013; 8(2): 34.

13. Zhou A., Dekker G.A., Lumbers E.R. et al. The association of AGTR2 polymorphisms with preeclampsia and uterine artery bilateral notching is modulated by maternal BMI. Placenta. 2013; 34 (1): 75-81.

Контактные данные

Автор, ответственный за переписку: Белинина Антонина Анатольевна, к.м.н., заместитель главного врача по клинико-экспертной работе Алтайского краевого клинического перинатального центра «ДАР», ассистент кафедры акушерства и гинекологии с курсом ДПО Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.
656045, г. Барнаул, ул. Фомина, 154.
Тел.: (3852) 566946.
E-mail: antonina_belinina@mail.ru

Информация об авторах

Мозговая Елена Витальевна, д.м.н., доцент, заведующая отделом акушерства и перинатологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, профессор кафедры акушерства, гинекологии и репродуктологии медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета, г. Санкт-Петербург.
199034, г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3.
Тел.: (812) 3289833.
E-mail: elmozg@mail.ru

Ремнёва Ольга Васильевна, д.м.н., доцент, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии с курсом ДПО Алтайского государственного медицинского университета, врач акушер-гинеколог Алтайского краевого клинического перинатального центра «ДАР», г. Барнаул.
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40.
Тел.: (3852) 566888.
E-mail: rolmed@yandex.ru