

©Т. О. Лоскутова

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

## МУЛЬТИГЕННІ ТРОМБОФІЛІЇ ПРИ ПРЕЕКЛАМПСІЇ ВАГІТНИХ

МУЛЬТИГЕННІ ТРОМБОФІЛІЇ ПРИ ПРЕЕКЛАМПСІЇ ВАГІТНИХ. З метою вивчення структури й частоти мультигенних форм тромбофілії у вагітних із преєклампсією було обстежено 133 вагітних з преєклампсією різного ступеня тяжкості та 44 здорових вагітних. Методом полімеразної ланцюгової реакції визначали наявність патологічних поліморфізмів у генах тромбофілії (фактор V Leiden 1691 G → A, протромбін 20210 G → A, інгібітор активатора плазміногена 1 типу 5G/4G, фібриногену β 455 G → A), «ендотеліальної дисфункції» (параоксоназа-1 192 Q → R, метилентетрагідрофолатредуктаза 677 C → T) та регулятора артеріального тиску (ангіотензиноген II 235 M → T). Було встановлено, що у розвитку преєклампсії відіграють роль генетично успадковані форми тромбофілії й патологічні генні поліморфізми, які переважно спостерігаються у жінок із преєклампсією, а в структурі превалюють мультигенні форми у 71,88 % з преєклампсією легкого ступеня та 79,7 % з преєклампсією середнього та важкого ступенів. Відзначено, що для преєклампсії легкого ступеня притаманне існування двох патологічних поліморфізмів одночасно, що підвищує ризик її розвитку в 3,4 раза (95 % CI 1,47–7,88). При преєклампсії середнього та важкого ступенів здебільшого наявні три і більше патологічних поліморфізми одночасно (OR=10,51; 95 % CI 2,97–37,26). Відсутність поєднаних патологічних поліморфізмів знижує ризик розвитку преєклампсії середнього та важкого ступеня тяжкості (OR=0,11; 95 % CI 0,04-0,26) й легкого ступеня (OR=0,16; 95 % CI 0,07-0,38).

МУЛЬТИГЕННЫЕ ТРОМБОФИЛИИ ПРИ ПРЕЭКЛАМПСИИ БЕРЕМЕННЫХ. С целью изучения структуры и частоты мутагенных форм тромбофилии у беременных с преэклампсией было обследовано 133 пациентки с преэклампсией различной степени тяжести и 44 здоровых беременных. Методом полимеразной цепной реакции определяли наличие патологических полиморфизмов в генах тромбофилии (фактор V Leiden 1691 G → A, протромбин 20210 G → A, ингибитор активатора плазминогена 1 типа 5G / 4G, фибриногена β 455 G → A), «эндотелиальной дисфункции» (параоксоназа-1 192 Q → R, метилентетрагидрофолатредуктаза 677 C → T) и регулятора артериального давления (ангиотензиноген II 235 M → T). Было установлено, что в развитии преэклампсии играют роль генетические формы тромбофилии и патологические генные полиморфизмы, которые в основном встречаются у женщин с преэклампсией, а в структуре доминируют мультигенные формы в 71,88 % с преэклампсией легкой степени и 79,7 % с преэклампсией средней и тяжелой степеней. Отмечено, что для преэклампсии легкой степени характерно существование двух патологических полиморфизмов одновременно, что повышает риск ее развития в 3,4 раза (95 % CI 1,47–7,88). При преэклампсии средней и тяжелой степеней чаще встречаются три и более патологических полиморфизма одновременно (OR=10,51, 95 % CI 2,97–37,26). Отсутствие сочетанных патологических полиморфизмов снижает риск развития преэклампсии средней, тяжелой (OR=0,11; 95 % CI 0,04–0,26) и легкой степеней тяжести (OR=0,16; 95 % CI 0,07–0,38).

MULTIGENIC THROMBOPHILIA IN PREGNANT WOMAN WITH PREECLAMPSIA. In order to study the structure and frequency of mutagenic forms of thrombophilia in women with pre-eclampsia were examined 133 patients with varying severity of preeclampsia and 44 healthy pregnant women. Polymerase chain reaction was used to determine the presence of pathological polymorphisms in the genes of thrombophilia (factor V Leiden 1691 G → A, prothrombin 20210 G → A, inhibitor plasminogen activator type-1 5G / 4G, fibrinogen β 455 G → A), «endothelial dysfunction» (paraoxosonase-1 192 Q → R, methylenetetrahydrofolate reductase 677 C → T) and a regulator of blood pressure (angiotensinogen II 235 M → T). It was found that in the development of preeclampsia play the role pathologic polymorphisms, which are mainly found in women with pre-eclampsia. In the structure multigene forms of thrombophilia in mild pre-eclampsia predominated – 71.88 % and in pre-eclampsia moderate and severe degree – 79.7 %. It is noted that mild pre-eclampsia is characterized by the existence of two pathological polymorphisms simultaneously (OR 3.4; 95 % CI 1.47–7.88), preeclampsia moderate and severe degree three or more pathological polymorphism simultaneously (OR=10.51; 95 % CI 2.97–37.26). Lack of co-pathologic polymorphisms reduce the risk of development moderate, severe (OR=0.11; 95 % CI 0.04–0.26) and mild (OR=0.16; 95 % CI 0.07–0.38) preeclampsia.

**Ключові слова:** преєклампсія, вагітність, тромбофілії, генетичні поліморфізми, чинники ризику.

**Ключевые слова:** преэклампсия, беременность, тромбофилии, генетические полиморфизмы, факторы риска.

**Key words:** pre-eclampsia, pregnancy, thrombophilia, genetic polymorphisms, risk factors.

**ВСТУП.** За даними ВООЗ, гіпертензивний синдром – це друга, після емболії, причина материнської смертності [1] через недооцінку ступеня тяжкості, несвоєчасне і неадекватне лікуванням, запізніле розродження та розвитку загрозливих для життя ускладнень. За останніми даними, преєклампсія (ПЕ) є багатofакторним захворюванням та має цілий ряд генів схильності, що залучені в складний процес регулювання різноманітних функцій ендотелію [2]. Генетичний компонент може складати до 50 % усіх факторів, що впливають на розвиток захворювання [3].

Докази мультифакторіальної природи ПЕ дозволяють обґрунтувати необхідність розширити спектр аналізованих ДНК-поліморфізмів при встановленні причин розвитку та варіантів перебігу ПЕ. G. Larciprete et al. (2010) визначили, що деякі тромбофілії, а також їх поєднання несуть значно вищий ризик для результатів вагітності [4]. Потрібно зауважити на необхідності додаткового обстеження для пояснення індивідуальних відмінностей у перебігу захворювання та розвитку ускладнень. Незважаючи на результати численних досліджень, що присвячені ви-

вченню набутих та спадкових форм тромбофілії в етіології прееклампсії, відкритими залишаються питання визначення молекулярно-генетичних маркерів гіпертензивних розладів під час вагітності та їх поєднань залежно від ступеня тяжкості прееклампсії.

Мета дослідження – вивчити структуру й частоту мультигенних форм тромбофілії у вагітних із прееклампсією.

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.** Обстежено 177 жінок у третьому триместрі вагітності. Критерієм включення в основну групу дослідження стала наявність гіпертензивних порушень під час вагітності. Групу 1А склали 64 вагітних із гестаційною артеріальною гіпертензією або прееклампсією легкого ступеня. Групу 1В – 69 жінок із прееклампсією середнього або важкого ступеня. Вагітні були поділені по групах на підставі величини артеріального тиску, рівня протеїнурії, додаткових ускладнень і відповідно до клінічного протоколу МОЗ України № 676. Контрольну групу сформували 44 умовно здорові вагітні в третьому триместрі.

У всіх групах методом алелів специфічної полімеразної ланцюгової реакції, з наступною детекцією методом електрофорезу в 3% агарозному гелі, проводили визначення поліморфізмів у генах фактора V Leiden 1691 G → A, протромбіну 20210 G → A, інгібітору активатора плазміно-

гена 1 типу (PAI-1) 5G/4G, фібриногену β 455 G → A (FGB), параоксонази-1 192 Q → R (PON-1), метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR) 677 C → T і поліморфізм 235 M → T у гені ангіотензиногену (AGT). Використовувався комплект реагентів «SNP-експрес» виробництва НВФ «Літех» (Росія). Геномна ДНК виділялась з лейкоцитів цільної крові за допомогою реагенту «ДНК-експрес-кров» («Літех» Росія).

Статистичний аналіз проводили за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel 2000 і GrafPad Prism 5 для Windows. Для порівняння якісних показників використовували критерій χ<sup>2</sup>, а для кількісних – непарний критерій t. Для оцінки ризику впливу прееклампсії на розвиток ускладнень розраховували показник відношення шансів (OR) із значенням 95% довірчого інтервалу (CI). За значимий брали рівень достовірності p < 0,05.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.** Аналіз результатів тестування генів тромбофілії, «ендотеліальної дисфункції» та регуляторів артеріального тиску довів високу частоту патологічних генетичних поліморфізмів у пацієток з ПЕ в обох групах: в 1А групі вони спостерігалися в 1,52 раза частіше (62 (96,87%)), в 1В групі – в 1,5 раза (66 (95,65%)), ніж у контрольній групі – 28 (63,64%) (p < 0,001).

Таблиця 1. Частота виявлення поліморфізмів генів у вагітних із прееклампсією

Групи дослідження	Генотип, n (%)		
	MM	MT	TT
ANG 235 M → T			
1А група (n=64)	24 (37,5)	22 (34,38)	18 (28,13)*
1В група (n=69)	17 (24,6)*	34 (49,3)	18 (26,1)*
Контроль (n=44)	21 (47,73)	19 (43,18)	4 (9,09)
Протромбін 20210 G → A			
1А група (n=64)	61 (95,3)	3 (4,7)	0 (0,0)
1В група (n=69)	53 (76,81)* <sup>1А</sup>	11 (15,94)*	5 (7,25)
Контроль (n=44)	44 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)
Фактор V Leiden 1691 G → A			
1А група (n=64)	56 (87,5)	7 (10,94)	1 (1,56)
1В група (n=69)	50 (72,46)*	19 (27,54)* <sup>1А</sup>	0 (0,0)
Контроль (n=44)	41 (93,18)	3 (6,82)	0 (0,0)
PAI-1 5G/4G			
1А група (n=64)	12 (18,75)*	39 (60,94)*	13 (20,31)
1В група (n=69)	17 (24,64)*	35 (50,72)	17 (24,64)*
Контроль (n=44)	24 (52,6)	17 (38,6)	3 (6,8)
Фібриноген β 455 G → A			
1А група (n=64)	35 (54,69)	23 (35,94)*	6 (9,38)
1В група (n=69)	20 (28,99)*	40 (57,97)* <sup>1А</sup>	9 (13,04)
Контроль (n=44)	33 (75,0)	9 (20,45)	2 (5,54)
MTHFR 677 C → T			
1А група (n=64)	41 (64,06)	16 (25,0)	7 (10,94)
1В група (n=69)	40 (57,97)	20 (28,99)	9 (13,04)*
Контроль (n=44)	31 (70,45)	13 (29,55)	0 (0,0)
Параоксоназа 1 192 Q → R			
1А група (n=64)	31 (48,44)	25 (39,06)*	8 (12,5)
1В група (n=69)	37 (53,62)	19 (27,54)	13 (18,84)
Контроль (n=44)	28 (65,91)	8 (18,18)	7 (15,91)

Примітки:

- \* – різниця показників статистично вірогідна з контролем (p < 0,05);
- 1А – різниця показників статистично вірогідна з 1А групою (p < 0,05).

У вагітних із прееклампсією легкого ступеня превалюють порівняно з контрольною групою такі генотипи ( $p < 0,05$ ): в 3,1 рази 235 ТТ у гені ангіотензиногену II (28,12 %), в 1,76 рази 455 GA в гені фібриногену  $\beta$  (35,94 %), в 1,58 рази 675 5G/4G в гені PAI-1 (60,94 %). Розрахунок показника відношення шансів підтвердив підвищення ризику прееклампсії легкого ступеня при наявності: мутації 235 ТТ в гені ангіотензиногену II в 3,58 рази (95 % CI 1,18–10,9), поліморфізму 455 GA в гені фібриногену  $\beta$  – в 4,26 рази (1,62–10,29), поліморфізму 675 5G/4G в гені PAI-1 – в 2,43 рази (1,12–5,31).

У вагітних з прееклампсією середнього або тяжкого ступеня відзначено, що порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ ) частіше спостерігались: в 2,87 рази гомозиготи 235 ТТ за геном ангіотензиногену II (26,1 %), в 2,83 рази гетерозиготи 455 GA за геном фібриногену  $\beta$  (57,97 %), у 3,61 рази гомозиготи 675 4G/4G за геном PAI-1 (24,64 %), в 4,04 рази гетерозиготи 1691 GA за геном фактора V Leiden (27,54 %). Встановлено підвищення частоти генотипу 677 ТТ гена MTHFR (13,04 %), 20210 GA гена протромбіну (15,94 %) порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ), де дані мутації не спостерігалися. Розрахунок OR показав, що ризик прееклампсії середнього або тяжкого ступеня при мутації 235 ТТ за геном ангіотензиногену II підвищено в 3,23 рази (95 % CI 1,09–9,8), поліморфізму 455 GA в гені фібриногену  $\beta$  – в 5,13 рази (2,17–12,11), поліморфізму 675 4G/4G в гені PAI-1 – в 3,95 рази (1,17–13,36), гетерозиготної мутації 1691 GA в гені фактора V Leiden – в 4,58 рази (1,36–15,3), гетерозиготної мутації 20210 GA гена протромбіну – в 17,05 рази (1,0–304,9).

Отримані дані співпадають з проведеними раніше дослідженнями [6] та дають змогу зробити висновок, що відмінними рисами ПЕ середнього та тяжкого ступенів від ПЕ легкого ступеня є існування здебільшого патогенних поліморфізмів, а саме: підвищення в 2,5 рази частоти мутації 1691 GA в гені фактора V Leiden (OR=3,09; 95 % CI 1,2–7,97), в 1,61 рази 455 GA в гені фібриногену  $\beta$  (4,26; 95 % CI 1,62–10,29), в 2,32 рази частоти поєднань трьох та більше патологічних поліморфізмів у одній вагітній (3,33; 95 % CI 1,52–7,33) та зниження в 1,2 рази частоти гомозигот 20210 GG в гені протромбіну (0,16, 95 % CI 0,4–0,59), що призводить до тяжкого перебігу ПЕ та переважанням виникнення ускладнень при прееклампсії середнього та тяжкого ступенів.

Було визначено, що тільки ПЕ середнього та тяжкого ступенів асоціюється з мутаціями фактора V Leiden та протромбіну 20210 G  $\rightarrow$  A, що узгоджується з даними отриманими G. Mello et al. (2005) [6].

Важливу роль у виникненні ПЕ відіграє не лише поліморфізм окремих генів, але і їх сумісний вплив, при якому виявляється потенціювання їхньої дії [7]. Поєднання патологічних алельних поліморфізмів (гомо- і гетерозиготні мутації

в гені протромбіну 20210 GA, AA, в гені FV Leiden 1691 GA, AA, гомо- і гетерозиготні поліморфізми в гені PAI-1 5G/4G, 4G/4G, в гені FGB 455 GA, AA, монозиготні поліморфізми PON-1 192RR, ANG 235 ТТ, MTHFR 677 ТТ) переважають у жінок з ПЕ тяжкого і середнього ступенів тяжкості в 2,7 рази (79,7 %), при прееклампсії легкого ступеня – в 2,44 рази (71,88 %), ніж у групі контролю ( $p < 0,001$ ). Між групами з ПЕ здебільшого відмінностей не виявлено. Відзначено, що для ПЕ легкого ступеня притаманно одночасне існування двох поліморфізмів, що підвищує ризик її розвитку в 3,4 рази (OR=3,4; 95 % CI 1,47–7,88). При ПЕ середнього та тяжкого ступенів здебільшого наявні три і більше патологічні поліморфізми одночасно, що підвищує ризик її виникнення в 10,51 рази (OR=10,51; 95 % CI 2,97–37,26). Відсутність поєднаних патологічних поліморфізмів знижує ризик розвитку ПЕ середнього ступеня тяжкості (OR=0,11; 95 % CI 0,04–0,26) й ПЕ легкого ступеня тяжкості (OR=0,16; 95 % CI 0,07–0,38). Певного поєднання патологічних поліморфізмів, характерних для вагітних із ПЕ, виявлено не було.

Отже, існування патологічних генних поліморфізмів, які посилюють взаємні ефекти через одні й ті ж механізми, при цьому самі мають менші тромбогенні властивості; поєднання таких форм, при яких задіяні різні механізми виникнення гіпертензивних розладів при вагітності (тромбогенна, ендотеліотоксична, активація ПОЛ, підвищення артеріального тиску), значно збільшує ризик прееклампсії середнього та тяжкого ступенів та має бути враховано при обстеженні вагітних або при плануванні вагітності у жінок з обтяжливим акушерським анамнезом.

**ВИСНОВКИ.** 1. У розвитку прееклампсії відіграють роль генетично успадковані форми тромбофілії й патологічні генні поліморфізми, які переважно спостерігаються у жінок з прееклампсією, а в структурі превалюють мультигенні форми в 71,88 % з ПЕ легкого ступеня та 79,7 % з ПЕ середнього та тяжкого ступенів.

2. Під час прееклампсії легкого ступеня, порівняно зі здоровими вагітними, переважають такі генотипи: 235 ТТ ангіотензиногену II, 455 GA фібриногену  $\beta$ , 675 5G/4G PAI-1, два патологічних поліморфізми в одній вагітній.

3. Для вагітних із прееклампсією середнього та тяжкого ступенів, порівняно зі здоровими вагітними, притаманна наявність генотипів: 235 ТТ ангіотензиногену II, 455 GA фібриногену  $\beta$ , 675 4G/4G PAI-1, 1691 GA фактора V Leiden, мутації 677 ТТ MTHFR та 20210 GA протромбіну, три та більше патологічних поліморфізми в одній вагітній.

**ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ** полягають у розширенні спектра аналізованих генних поліморфізмів, які сприяють розвитку ендотеліальної дисфункції для оптимізації диференційного підходу до ведення вагітних та профілактики прееклампсії, зумовленої тромбофілією.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review / K. S. Khan, D. Wojdyla, L. Say [et al.] // *Lancet*. – 2006. – Vol. 367. – P. 1066–1074.
2. 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 – Х», 2008. – 152 с.
3. Maternal and fetal genetic factors account for most of familial aggregation of preeclampsia: A population-based Swedish cohort study / S. Cnattingius, M. Reilly, Y. Pawitan, P. Lichtenstein // *Am. J. Medical Genetics Part A*. – 2004. – Vol. 130A. – P. 365–371.
4. 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, No. 5. – P. 996–1002.
5. Thrombophilias and adverse pregnancy outcomes: results from the Danish National Birth Cohort / J. A. Lykke, L. A. Bare, J. Olsen [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2012. – Vol. 10, No. 7. – P. 1320–1325.
6. Thrombophilia is significantly associated with severe preeclampsia. Results of a large scale, case-controlled study / G. Mello, E. Paretti, L. Marozio [et al.] // *Hypertension*. – 2005. – Vol. 46. – P. 1270–1274.
7. Perinatal outcome in women with severe pregnancy complications and multiple thrombophilias / M. Kupferminc, E. Rimon, J. Ascher-Landsberg [et al.] // *J. Perinat Med.* – 2004. – Vol. 32, No. 3. – P. 225–227.

Отримано 10.02.16