

УДК 618.36-008-036-07

© В. П. Міщенко, І. В. Руденко, О. В. Волченко, С. В. Лісковський, 2012.

## СУЧАСНІ НАПРЯМКИ ПРОГНОЗУВАННЯ ТА ДІАГНОСТИКИ ПЛАЦЕНТАРНОЇ ДИСФУНКЦІЇ

**В. П. Міщенко, І. В. Руденко, О. В. Волченко, С. В. Лісковський***Кафедра акушерства і гінекології №1 (зав. – професор В. М. Запорожан), Одеський національний медичний університет, м. Одеса.*

### MODERN DIRECTION OF PROGNOSTICATION AND DIAGNOSTICS OF PLACENTA DYSFUNCTION

**V. P. Mischenko, I. V. Rudenko, E. V. Volchenko, S. V. Liskovskiy**

#### SUMMARY

372 pregnant is inspected. eNOS 4 a/a it is certain in the groups of G, A, B, V at 14,0%; 82,8%; 87,1%; 71,6%, total frequency of alel C677T and T677T – at 12,9%; 78,5%; 81,7%; 75,3%, frequency of alel GSTm1 0/0 – at 43,0%; 72,0%; 82,8%; 71,0%, slowly atcetyling homozigot alel NAT2 (S/S) S1 – at 26,9%; 75,3%; 84,9%; 72,0%. A concentration of homocystein in blood of pregnant groups A, B, V in relation to a control group was greater in 1,7; 2,2; 1,6 time, level of folic acid – less in 1,3; 1,6; 1,2 times, cyanocobalamin – in 1,3; 1,4; 1,3 times.

### СОВРЕМЕННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ И ДИАГНОСТИКИ ПЛАЦЕНТАРНОЙ ДИСФУНКЦИИ

**В. П. Мищенко, И. В. Руденко, Е. В. Волченко, С. В. Лисковский**

#### РЕЗЮМЕ

Обследовано 372 беременные. В группах Г, А, Б, В eNOS 4 a/a определено у 14,0%; 82,8%; 87,1%; 71,6%, суммарная частота алелей C677T и T677T – у 12,9%; 78,5%; 81,7%; 75,3%, частота делеционных алелей GSTm1 0/0 – у 43,0%; 72,0%; 82,8%; 71,0%, медленно ацетилирующая гомозиготная алель NAT2 (S/S) S1 – у 26,9%; 75,3%; 84,9%; 72,0%. В группах А, Б, В по отношению к контрольной группе концентрация гомоцистеина в крови беременных была выше в 1,7; 2,2; 1,6 раза, уровень фолиевой кислоты – ниже в 1,3; 1,6; 1,2 раза, цианокобаламина – в 1,3; 1,4; 1,3 раза соответственно.

**Ключові слова: прогнозування, діагностика, плацентарна дисфункція.**

Незважаючи на значні успіхи у вивченні питань, що пов'язані з патологією плаценти, частота та тяжкість цієї патології не має тенденції до зниження.

Розвиток структурних і функціональних змін в плаценті може бути наслідком негативного впливу на гестаційний орган вихідного стану організму матері, батька, наявності у них генетичної схильності до виникнення захворювань, ланцюгами патогенетичного кола яких є дисфункція ендотелію [1, 2].

Ендотелій виділяє ряд вазоактивних медіаторів, які впливають на розвиток та функції судин, в тому числі циркуляцію еритроцитів, тромбоцитів, що впливає на стан згортальної системи крові та сприяє виникненню порушень в судинному руслі матково-плацентарного комплексу [2, 3].

Отже, ендотелій являється компонентом розвитку системних судинних, коагуляційних порушень в організмі вагітної та фетоплацентарного комплексу, до яких можна віднести плацентарну дисфункцію [3, 4].

Метою дослідження було вивчення активності експресії генів ферментів, які відповідають за функцію ендотелію судин.

#### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Для досягнення поставленої мети були обстежені 279 вагітних в термін гестації 31-37 тижнів з верифікованою плацентарною дисфункцією у віці 21-27 років. Обстежувані були поділені на групи: групу А склали 93 вагітні, перебіг вагітності у яких був обтяжений хронічним пієлонефритом в стадії загострення. Група Б об'єднала 93 вагітних з синдромом затримки росту плоду (СЗРП). В групу В увійшло 93 жінки з двійнею. Група порівняння (Г) була представлена 93 жінками з фізіологічним перебігом вагітності.

Всім вагітним проводили загально визнане обстеження, що передбачено Протоколом МОЗ України. За письмовою згодою жінок проведено визначення вмісту у крові фолієвої кислоти, ціанокобаламіна імунохемілюмінесцентним методом. Визначення алелів генів ферментів II фази детоксикації (метаболізму) глутатіон-S-трансферази (GST $\mu$ 1) +/-, +/-, 0/0; N-ацетилтрансферази (NAT2) S1, S2; ендотеліальної NO-синтази (eNOS) a/a, a/v, v/v в інтроні 4; метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR) C677C, C677T, T677T виконували методом полімеразної ланцюгової реакції; гомоцистеїну – імуноферментного аналізу.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Визначення алелей генів ферментів, що відповідають за стан ендотелію судин показало достовірну різницю результатів дослідження за групами. Наявність мутантних форм досліджуваних генів ферментів підтверджувало спадкову схильність до виникнення плацентарної дисфункції. Спадкову схильність можна розглядати як мультифакторне захворювання – результат дії функціонально ослаблених варіантів (алель) множинних генів на фоні неблагоприємних зовнішніх і внутрішніх факторів. Роль кожного генетичного і середовищного фактора різна в кожному конкретному випадку [1].

Важливу роль в цих процесах відіграє утворення вазоактивних речовин, які контролює ендотеліальна синтаза. В гені ендотеліальної синтази (eNOS3) описано 4 поліморфних варіанта: A27C в інтроні 18; G10T в інтроні 23; 4a/b поліморфізм в інтроні 4 і структурний поліморфізм Glu298 Asp в екзоні 7. Поліморфізм в 4-му інтроні представлений 2

алелями: 4b-алель, яка містить 5 фрагментів, що повторюються, 4a-алель, в якому 4 повтори. У гомозигот по алелю 4a рівень нітратів і нітритів в крові достовірно нижче, ніж при алелі 4в. В останньому випадку швидкість продукції оксиду азоту ендотелієм судин швидша [1].

Поліморфізм гена MTHFR C/T є найбільш вивченим. Алель С677Т – результат крапкової мутації, в результаті якої аланін замінений на валін. При цьому нормальна алель – це алель С, мутантний алель – Т. Термолабільний варіант 677Т пов'язаний з порушенням фолатного метаболізму, результатом чого є гіпергомоцистеїнемія і тромбофілія [4].

Визначення поліморфізму генів ендотеліальної синтази, глутатіон-S-трансферази, метиленте трагідролатредуктази, NAT-2 в крові жінок за групами показало, що при плацентарній дисфункції в крові жінок основної групи переважають мутантні форми алелів вказаних генів ферментів (табл. 1).

Таблиця 1

**Результати визначення частоти поліморфізму генів ферментів ендотеліальної NO-синтази, метиленте трагідролатредуктази, глутатіон-S-трансферази M1, NAT2 у обстежених жінок**

Гени	А, n=93		Б, n=93		В, n=93		Г, n=93	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
eNOS3a/a	77	82,8*	81	87,1*	74	71,6*	13	14,0
MTHFR C677T та T677T	73	78,5*	76	81,7*	70	75,3*	12	12,9
GSTm10/0	67	72,0*	77	82,8*	66	71,0*	40	43,0
NAT2 S/S(S1-481T)	70	75,3	79	84,9	67	72,0	25	26,9

Примітка: (p<0,05 по відношенню до контрольної групи)

У контрольній групі Г eNOS4 a/a визначено у 13(14,0%), що не виходило за межі показників популяції (табл. 1).

У вагітних групи А мутантний варіант поліморфізму eNOS 4a/a визначено у 77 (82,8%), у групі Б – у 81 (87,1%), у групі В – у 74 (71,6%) (p<0,05 по відношенню до контрольної групи).

Сумарна частота зустрічаємості алелів С677Т та Т677Т була у групі Г у 12,9% та і не виходила за показники (10,0-12,0%) у європейській популяції.

У групах А, Б, В ознаки поліморфізма виявлені відповідно у 78,5%; 81,7%; 75,3% випадків і були достовірно вищими, ніж у контрольній групі Г (p<0,05).

У групі Г частота делеційних алелів визначена у 40 (43,0%) вагітних і не виходила за межі популяційних даних для європоїдної раси (42,2-52,3%).

У групах А, Б, В частота делеційних гомозигот (0/0) складає 72,0%; 82,8%; 71,0% випадків відповідно. Різниця з контрольною групою достовірна (p<0,05).

Як показали проведені дослідження, у контрольній групі Г повільно ацетилююча гомози-

готна алель (S/S) S1, яка визначається за допомогою фермента рестриктази Kpn 1 у позиції 481 С-Т, у 26,9% випадків.

У групах А, Б, В частота повільно ацетилюючого алеля S1 складала 75,3%; 84,9%; 72,0% відповідно. Різниця у показниках достовірна (p<0,05).

Відомо, що підвищений вміст гомоцистеїну в плазмі є характерним при поразках судинної стінки (артеріальної і венозної). У вагітних гомоцистеїнемія може бути проявом поразок не тільки організму матері, але і всього фетоплацентарного комплексу, в тому числі і плоду, тому доцільним було прослідити динаміку рівня гомоцистеїну у піднаглядних.

Нормальна концентрація гомоцистеїну в плазмі крові складає 5,7-14,0 мкмоль/л. Гіпергомоцистеїнемією вважається стан, за якого рівень гомоцистеїну вище норми: 15,0-30,0 мкмоль/л – це легка ступінь важкості, 31,0-100,0 мкмоль/л – середня і понад 100,0 мкмоль/л – тяжка, виразна ступінь захворювання [5]. Гіпергомоцистеїнемія супроводжується поразками ендотелію судин, стимулює тромбоутворення, що реалізується порушенням процесу плацентарної, розладами фетопла-

центарного кровоплину, результатом чого може бути хронічна гіпоксія плоду, плацентарна дисфункція,

синдром затримки розвитку плоду, антенатальна загибель плоду (табл. 2).

Таблиця 2

**Вміст гомоцистеїну, фолієвої кислоти, ціанокобаламіну у крові досліджуваних жінок**

Показники	Групи			
	А, n=93	Б, n=93	В, n=93	Г, n=93
Гомоцистеїн (мкмоль/л)	14,1±0,4*	18,2±0,3*	13,3±0,4*	8,4±0,3
Фолієва кислота (нг/мл)	7,6±0,4**	6,1±0,2**	8,1±0,4**	10,0±0,5
Ціанокобаламін (пг/мл)	139,0±3,4**	133,2±5,3**	139,5±4,4**	185,7±9,3

Примітки: 1. \*— $p < 0,001$  по відношенню до контрольної групи.

2. \*\*— $p < 0,05$  по відношенню до контрольної групи.

При фізіологічному перебігу вагітності (контрольна група) рівень гомоцистеїну не виходив за межі референтних величин.

У групах А, Б, В по відношенню до контрольної групи концентрація гомоцистеїну у крові вагітних була більшою у 1,7; 2,2; 1,6 рази (різниця суттєва —  $p < 0,001$ ).

Високі концентрації активної форми фолієвої кислоти необхідні для перетворення надлишку амінокислоти гомоцистеїну в метіонін. Кофакторами ферментів метаболічних шляхів метіоніну є вітаміни групи «В» (фолієва кислота, піридоксин, ціанокобаламін, рибофлавін). Фолатний цикл представляє собою складний каскадний процес, який перебігає за участі багатьох ферментів. Основними ферментами є MTHFR, MTRR, MTR, NC. Зниження активності цих ферментів є однією з причин накопичення гомоцистеїну в організмі [1, 3].

У контрольній групі вміст фолієвої кислоти був у межах фізіологічної норми. В групах А, Б, В рівень фолієвої кислоти був достовірно нижчим ( $p < 0,05$ ) по відношенню до групи Г у 1,3; 1,6; 1,2 рази.

Концентрація ціанокобаламіну у вагітних контрольної групи була у межах референтних величин. В групах А, Б, В рівень ціанокобаламіну був нижчим нижньої границі норми, а по відношенню до контрольної групи — у 1,3; 1,4; 1,3 рази відповідно ( $p < 0,05$ ).

#### ВИСНОВКИ

1. Визначення спадкової схильності до виникнення плацентарної дисфункції, як мультифакторної патології, оснований на виявленні поліморфізму генів ендотеліальної синтази, фолатного циклу та має прогностичне, діагностичне значення.

2. Наявність в крові вагітних мутантних форм алелів ендотеліальної синтази, метилентетрагідролатредуктази, глутатіонтрансферази,

ацетилтрансферази може бути прогностичними ознаками виникнення плацентарної дисфункції.

3. Мутантні алелі генів ферментів ендотеліальної синтази, метилентетрагідролатредуктази, глутатіонтрансферази, ацетилтрансферази супроводжуються порушенням реологічних властивостей крові, тромбогенного потенціалу судинної стінки, мікроциркуляторними розладами, що реалізується розвитком дисфункції плаценти.

Подальші дослідження передбачають вивчення етіологічних чинників виникнення плацентарної дисфункції у вагітних з позицій епігенетики з метою визначення алгоритму ведення пацієнток та розробки способів профілактики.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Анализ полиморфизма генов нейрональной (nNOS) и эндотелиальной (eNOS) NO-синтаз при плацентарной недостаточности (ПН) и задержке внутриутробного развития плода / О. Н. Беспалова, О. А. Тарасенко, Т. Э. Ивашенко [и др.] // Журнал акуш. и жен. болезней. — 2006. — Т. LV, № 1. — С. 57–63.

2. Генетическая медицина / В. Н. Запорожан, В. А. Кордон, Ю. И. Бажора [и др.]. — Одесса : Одес. держ. мед. ун-т, 2008. — 432 с.

3. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предективной медицины / под ред. В. С. Баранова. — СПб. : Изд-во Н-Л, 2009. — 528 с.

4. Запорожан В. М. Генетика пухлин жіночих репродуктивних органів / Запорожан В. М., Пересуньмо О. П., Пішак В. П. — Одеса : Одес. держ. мед. ун-т, 2004. — 332 с.

5. Макацария А. Д. Антифосфолипидный синдром, генетические тромбофилии в патогенезе основных форм акушерской патологии / А. Д. Макацария, В. О. Бицадзе // Российский мед. журнал. — 2006. — Спецвып. — С. 2–11.