

УДК 618.3-008.6:616-097:543.635.4:618.5

© Коллектив авторов, 2013.

АССОЦИАЦИЯ ПЕРВИЧНЫХ ФАКТОРОВ ТРОМБОФИЛИИ С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

К. В. Воронин, Т. А. Лоскутова, Н. В. Давиденко*, Н. В. Крячкова

Кафедра акушерства и гинекологии (зав. – профессор В. А. Потапов), Государственное учреждение «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины»; 49044, Украина, г. Днепропетровск, ул. Дзержинского, 9; E-mail: natali2303dav@yandex.ua

**Коммунальное учреждение «Днепропетровский центр первичной медико-санитарной помощи №3» (гл. врач – О. П. Ральченко); 49040, Украина, г. Днепропетровск, ул. Паникахи, 53.*

ASSOCIATION OF PRIMARY FACTORS OF THROMBOPHILIA WITH MISCARRIAGE
K. V. Voronin, T. A. Loskutova, N. V. Davidenko, N. V. Kryachkova

SUMMARY

The aim of this study was to determine the frequency of mutations in the genes of factor V Leiden G1691A and prothrombin G20210A; polymorphism in the gene of fibrinogen β G455A in women with miscarriage. The study included 104 women (59 women with the syndrome of habitual pregnancy loss and 45 healthy women with physiological pregnancy). A significant association of the mutant allele 1691A of factor V Leiden (OR 6,1, 95% CI: 1,57-23,67) with the loss of pregnancy has been established. A relative risk of miscarriage in the presence of pathological allele 455A of fibrinogen β increases by a factor of 2,49 (DI 95%: 1,19-5,22). No significant associations of miscarriage and G20210A prothrombin gene mutation have been found.

АСОЦІАЦІЯ ПЕРВИННИХ ФАКТОРІВ ТРОМБОФІЛІЇ З НЕВИНОШУВАННЯМ ВАГІТНОСТІ
К. В. Воронін, Т. О. Лоскутова, Н. В. Давиденко*, Н. В. Крячкова

РЕЗЮМЕ

Метою дослідження було визначення частот мутацій в генах фактору V Лейден G1691A і протромбіну G20210A; поліморфізму в гену фібриногену β -G455A у жінок з невиношуванням вагітності. У дослідження було включено 104 жінки (59 жінок з синдромом звичної втрати вагітності і 45 здорових жінок з фізіологічним перебігом вагітності). Виявлено достовірну асоціацію мутантного алеля 1691A фактора V Лейден (ОШ 6,1, 95% ДІ: 1,57-23,67) з втратою вагітності. Відносний ризик розвитку невиношування вагітності при наявності патологічного алеля 455A фібриногена β збільшується в 2,49 рази (ДІ 95%: 1,19-5,22). Достовірних асоціацій невиношування з мутацією гена протромбіну G20210A не виявлено.

Ключевые слова: беременность, невынашивание, тромбофилия, полиморфизм генов, мутация.

Одной из актуальных проблем современного акушерства остается профилактика репродуктивных потерь. Частота невынашивания беременности составляет более 15,0% от общего числа родов [2]. Привычная потеря беременности в структуре невынашивания составляет 5,0-20,0%, а после двух самопроизвольных выкидышей частота прерывания последующей беременности составляет уже 20,0-25,0%, после трех – 30,0-45,0% и наблюдается у 3,0-5,0% супружеских пар [1]. Существующие ранее теории патогенеза многих акушерских осложнений подвергаются пересмотру благодаря открытию первичных форм тромбофилии, генных полиморфизмов, которые могут прямо или косвенно участвовать в патогенезе невынашивания беременности.

Генетически обусловленные аномалии свертывающей системы крови могут быть связаны с недостаточностью ингибиторов коагуляции, фибринолитических факторов и избыточным уровнем прокоагулянтных факторов. Среди множества первичных маркеров тромбофилии, открытых на сегодняшний

день, важная роль в структуре ранних репродуктивных потерь показана для мутаций в генах фактора V Лейден и протромбина; полиморфизма гена фибриногена β -G455A, гена ингибитора активатора плазминогена-1, метилентетрагидрофолатредуктазы.

На начальном, аваскулярном этапе имплантации, который является наиболее уязвимым к действию неблагоприятных факторов (инфекционные агенты, токсины, антитела), важна полноценность системы гемостаза. В условиях наличия тромбофилии и вызванного ими гипофибринолиза происходит десинхронизация локальных процессов фибринолиза и фибринообразования при имплантации. В такой ситуации протеаз, синтезируемых бластоцистой, становится относительно мало, чтобы разрушить экстрацеллюлярный матрикс в эндометрии и внедриться на достаточную глубину. В дальнейшем развивается микротромбообразование и нарушение микроциркуляции, что играет существенную роль в развитии патологии спиральных артерий и акушерских осложнений, связанных с изменением маточно-плацентарного кровообращения.

Целью исследования явилось определение значимости тромбофилических мутаций в развитии невынашивания беременности у женщин с синдромом привычной потери плода.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Было обследовано 104 беременные в первом, втором и третьем триместрах беременности. Исследуемую группу составили 59 беременных с синдромом привычной потери плода. 53 женщины имели в анамнезе прерывания беременности в первом триместре, 6 – во втором и третьем триместрах. Клиническими критериями для постановки диагноза синдрома потери плода (СПП) служили: два и более самопроизвольных выкидыша при сроке гестации 10 недель и более, в том числе замершая беременность, мертворождения, ранняя неонатальная смерть как осложнение преждевременных родов, преэклампсии или плацентарной недостаточности, три и более самопроизвольных выкидыша на преембрионической или ранней эмбрионической стадии, когда исключены анатомические, генетические и гормональные причины невынашивания. Контрольную группу составили 45 соматически здоровых женщин с физиологическим течением беременности и неотягощенным акушерским анамнезом.

Беременные исследуемой группы были старше ($31,4 \pm 1,0$) по возрасту в сравнении с контролем ($25,1 \pm 0,8$, $p < 0,05$). Это связано с тем, что данная беременность наступила после нескольких неудачных беременностей и лечения бесплодия. Так, в группе исследования в среднем данная беременность была третьей (колебалась от второй до четырнадцатой), а ожидаемые роды были первыми у 75,3%. В контрольной группе, наоборот, данная беременность в среднем была первой, а ожидаемые роды были первыми у 71,4% женщин.

По данным анамнеза установлено, что из соматических заболеваний у пациенток исследуемой группы преобладали: заболевания сердечно-сосудистой системы – у 29 (49,2%), варикозная болезнь вен нижних конечностей – у 21 (35,6%), заболевания желудочно-кишечного тракта – у 14 (24,0%), эндокринная патология (патология щитовидной железы) имела место у 14 (24,0%) пациенток. Гинекологический анамнез был осложнен воспалительными заболеваниями в 18,6% случаев, бесплодием – 22,0%,

лейомиомой тела матки – у 9 пациенток (15,3%).

Наследственный анамнез у пациенток исследуемой группы был отягощен: гипертонической болезнью – 39,0% ($K=25,0\%$), заболеваниями сердца – 39,0% ($K=21,0\%$), сахарным диабетом – 30,4% ($K=10,7\%$), сердечно-сосудистыми катастрофами (инсульты, инфаркты) – 13,0% ($K=7,1\%$), варикозной болезнью нижних конечностей – у 35,0%. Перечисленное выше подтверждает наследственную предрасположенность к патологии эндотелия и системы гемостаза у беременных исследуемой группы, которая может проявляться при беременности акушерскими осложнениями.

Исследование генетических полиморфизмов проводили с помощью аллельспецифической полимеразной цепной реакции с последующей детекцией методом электрофореза в 3% агарозном геле. Использовался комплект реагентов «SNP-экспресс» производства НПФ «Литех» (Россия) для определения полиморфизмов в геноме человека: мутация 1691 G→A в гене фактора V Leiden, мутации 20210 G→A в гене протромбина, полиморфизм 455 G→A в гене фибриногена В. Для выделения дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) из лейкоцитов крови использовали реагент «ДНК-экспресс», производство «Литех» (Россия).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась на персональном компьютере. Для вычислений использовали компьютерные программы Microsoft Excel 2010 и Graph Pad Prism 5 for Windows, методы аналитической и вариационной статистики. Правомочность выдвинутых положений оценивали при помощи статистических критериев. t-критерий использовали для сравнения средних значений независимых выборок. Для сравнения непараметрических параметров, частот использовали критерий χ^2 и отношение шансов. Для удобства расчетов каждому генотипу (нормальная гомозигота, гетерозигота и патологическая гомозигота) был присвоен номер 1, 2 и 3 соответственно. За значимый брали уровень достоверности $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение частот мутаций в исследуемой группе представлено в таблице 1. Установлено, что встречаемость мутаций у женщин с невынашиванием беременности была выше по сравнению с контрольной группой (42,4% против 20,0%; $p < 0,05$).

Таблица 1

Анализ генных полиморфизмов у беременных с невынашиванием

Группы исследования	Генотип, %			Аллели, %	
	G/G	G/A	A/A	G	A
FV Лейдена G1691A				G	A
Беременные с невынашиванием (n=59)	77,97	15,25	6,78	85,59	14,41*
Контроль (n=45)	95,56	4,44	0,00	97,78	2,22
Протромбин G20210A				G	A
Беременные с невынашиванием (n=59)	91,53	6,78	1,69	94,92	5,08

Группы исследования	Генотип, %			Аллели, %	
	G/G	G/A	A/A	G	A
Контроль (n=45)	97,78	2,22	0,00	98,89	1,11
Фибриноген β G455A	G/G	G/A	A/A	G	A
Беременные с невынашиванием (n=59)	59,32	28,81	11,86	73,73	26,27*
Контроль (n=45)	77,78	20,00	2,22	87,78	12,22

Примечание: * – достоверное отличие с показателем контрольной группы ($p < 0,05$).

Мутация Лейден чаще встречалась у женщин с потерями беременности: гомозиготная – у 6,78%, гетерозиготная – у 15,25% в сравнении с контролем: гетерозиготная – у 4,44%. Согласуются с нашими результатами данные G. Sarig et al. [4], где мутации были обнаружены у 25,00% и 7,60% соответственно, а также в работе В. Brenner et al. (частота 32,00% и 10,00% соответственно) и в других исследованиях [3, 5]. Мутация в гене протромбина также встречалась чаще в исследуемой группе: гетерозиготная – у 6,78%, гомозиготная – у 1,69%, в контроле встречалась только гетерозиготная форма – у 2,22%. Примерно такое же соотношение частоты встречаемости мутации между контрольной и опытной группами получены в других исследованиях [5]. Однако в нашем случае для обеих мутаций можно говорить только о тенденции к увеличению частоты встречаемости в исследуемой группе, так как различия между контрольной и опытными группами недостоверны ($p > 0,05$).

Сравнение частот аллеля 1691A в гене фактора V Лейден в исследуемых группах выявило достоверно более высокую частоту данного аллеля в группе с невынашиванием, которая в 6,49 раза больше, чем в контрольной группе ($\chi^2 = 7,72$, $p < 0,005$). Относительный риск невынашивания беременности при наличии аллеля 1691A увеличивается в 6,1 раза (ДИ 95%: 1,57-23,67).

При анализе частот генотипов полиморфного варианта 455 G→A гена фибриногена β также не обнаружено достоверных различий между группами. Аллель 455A чаще встречался в группе с невынашиванием беременности – в 2,15 раз чаще, чем в контрольной ($\chi^2 = 5,41$, $p = 0,02$), относительный риск развития невынашивания беременности при наличии патологического аллеля 455A повышается в 2,49 раза (ДИ 95%: 1,19-5,22).

Анализ течения настоящей беременности в исследуемой группе показал, что угроза прерывания беременности имела место в 89,0% случаев ($p < 0,05$). У 16,0% беременность прервалась в сроке до 12 недель, у 4,3% произошел поздний самопроизвольный выкидыш, у 19,4% беременность закончилась преждевременными родами, среди которых у 40,0% – преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, у

20,0% – преэклампсия средней степени тяжести, у 40,0% – преждевременный разрыв плодных оболочек. Рвота беременных была отмечена у 39,0%, а у 52,0% течение осложнилось гестационной анемией. В контрольной группе беременность окончилась срочными родами, угрозу прерывания беременности имели 22,0%, в одном случае была диагностирована задержка внутриутробного развития плода, у 44,0% была отмечена гестационная анемия, у 19,5% – гестационные отеки.

ВЫВОДЫ

1. По результатам проведенного исследования сделаны следующие выводы: гомозиготная и гетерозиготная формы мутации Лейден (6,78% и 15,25% соответственно) встречались у женщин с невынашиванием беременности чаще, в сравнении с контролем. Наличие аллеля 1691A увеличивает относительный риск невынашивания беременности в 6,1 раза (ДИ 95%: 1,57-23,67). Патологический аллель 455A в гене фибриногена β увеличивает относительный риск развития невынашивания беременности в 2,49 раза (ДИ 95%: 1,19-5,22). Мутация в гене протромбина G20210A в исследуемой группе наблюдалась чаще: гетерозиготная – у 6,78% и гомозиготная – у 1,69%, в контроле встречалась только гетерозиготная форма – у 2,22%.

2. По результатам статистического анализа частоты патологических генотипов во всех случаях мы можем говорить только о тенденции к увеличению частоты встречаемости в группе с невынашиванием. При невысокой частоте встречаемости генетических маркеров в случае увеличения исследуемых групп или суммарном анализе аналогичных данных может проявиться достоверность найденных ассоциаций. Это требует дальнейшего исследования в данном направлении, для улучшения тактики ведения и вынашивания беременности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сидельникова В. М. Невынашивание беременности – современный взгляд на проблему / В. М. Сидельникова // Акушерство и гинекология. – 2007. – № 5. – С. 24–27.
2. Сидорова И. С. Невынашивание беременности: нарушение антиоксидантной защиты и ее коррекция / И. С. Сидорова, А. Л. Унанян // Рос-

сийский вестник акушера-гинеколога. – 2009. – № 1. – С. 14–16.

3. Grandone E. Inherited thrombophilia and gestational vascular complications / E. Grandone, M. Margaglione // Best Pract Res Clin Haematol. – 2003. – № 16. – P. 321–332.

4. Thrombophilia is common in women with

idiopathic pregnancy loss and is associated with late pregnancy wastage / G. Sarig, J.S. Younis, R. Hoffman [et al.] // Fertil Steril. – 2002. – № 77. – P. 342–347.

5. Thrombophilic polymorphisms are common in women with fetal loss without apparent cause / B. Brenner, G. Sarig, Z. Weiner [et al.] // Thromb. Haemost. – 1999. – № 82. – P. 6–9.