

УДК 616-005.6:575.224:618.3-06-009.24

## СПЕКТР ГЕНЕТИЧЕСКИХ ТРОМБОФИЛИЙ У БЕРЕМЕННЫХ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ ПРЕЭКЛАМПСИИ

<sup>1</sup>Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, г. Санкт-Петербург<sup>3</sup>Алтайский краевой клинический перинатальный центр, г. БарнаулБелинина А.А.<sup>1,3</sup>, Мозговая Е.В.<sup>2</sup>, Ремнёва О.В.<sup>1,3</sup>

*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 тромбозного 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  $\chi^2$  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.	%	
<b>Одиночные варианты полиморфизмов</b>							
<b>FV (G1691A), из них:</b>	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	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
<b>F2 (20210 G/A), из них:</b>	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	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
<b>PAI- I (-675 4G/5G), из них:</b>	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	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
<b>MTHFR(C677/T), из них:</b>	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	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
<b>Комбинированные варианты полиморфизмов</b>							
<b>PAI-I 675 (4G/4G) гомозигота / MTHFR C677T (T/T) гомозигота</b>	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