

Literature

1. Belokrinitskaya T.E., Zagorodnaya E.D., Liga V.F. Clinical protocols of obstetric and gynecologic aid approved by Transbaikal kray Ministry of Healthcare 8.10.2012. Part I. – Chita, 2012. – P. 224.
2. Belokrinitskaya T.E., Shapovalov K.G., Liga V.F. Clinical protocols of obstetric and gynecologic aid approved by Transbaikal kray Ministry of Healthcare 8.10.2012. Part II. – Chita, 2014. – P. 200.
3. Hypertension during pregnancy, labor and postpartum period. Preeclampsia, eclampsia. Federal clinical protocol approved by Ministry of Healthcare of Russian Federation 23.09.2013 №15-4/10/2-7138. – Moscow, 2013. – P. 61.
4. Kukarkaya I.I. Monitoring the near miss: sharing the experience // Status Praesens. – 2014. – № 4 (21). – P. 9-17.
5. Prophylaxis, treatment and response protocol in the cases of obstetrical hemorrhages. Clinical recommendations (Protocol) approved by Ministry of Healthcare of Russian Federation. May 27, 2014. №15-4/10/2-3792. – M., 2014. – P. 23.
6. Surina M.N., Zelenina E.M., Artimuk N.V. Near miss and maternal mortality in Kemerovo region // Mother and child in Kuzbass. – 2013. – № 1 (52). – P. 3-7.
7. Almerie Y., Almerie M.Q., Matar H.E., et al. Obstetric near miss and maternal mortality in university hospital, Damascus, Syria: a retrospective study // BMC Pregnancy Childbirth. – 2010. – Vol. 10. – P. 65.
8. Pattinson R.C., Hall M. Near misses: a useful adjunct to maternal death enquiries // Br Med Bull. – 2003. – Vol. 67. – P. 231-243.
9. Say L., Souza J.P., Pattinson R.C. WHO working group on Maternal Mortality and Morbidity classifications. Maternal near miss-towards a standard tool for monitoring quality of maternal health care // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. – 2009. – Vol. 23 (3). – P. 287-296.
10. Souza J.P., Cecatti J.G., Haddad S.M., et al. The WHO maternal near-miss approach and the maternal severity index model (msi): tools for assessing the management of severe maternal morbidity // PloS One. – 2012. – Vol. 7 (8). – P. 1371.

Координаты для связи с авторами: Белокриницкая Татьяна Евгеньевна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой акушерства и гинекологии педиатрического факультета, ФПК и ППС ЧГМА, e-mail: tanbell24@mail.ru; Иозефсон Сергей Абрамович – д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета, ФПК и ППС ЧГМА, e-mail: iozefsons@mail.ru; Лига Валентина Фёдоровна – консультант по акушерству и гинекологии Министерства здравоохранения Забайкальского края; Анохова Людмила Ильинична – канд. мед. наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета, ФПК и ППС ЧГМА; Белозерцева Евгения Петровна – канд. мед. наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета, ФПК и ППС ЧГМА; Хавень Татьяна Васильевна – заместитель главного врача по акушерству и гинекологии ГУЗ «Краевая клиническая больница» г. Читы; Голыгин Евгений Владимирович – зав. отделением оперативной гинекологии ГУЗ «Краевая клиническая больница» г. Читы.



УДК 612.60575.2:613.99-07:618.3-06

Н.И. Фролова, Т.Е. Белокриницкая, Н.Н. Страмбовская

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ОСЛОЖНЕНИЙ БЕРЕМЕННОСТИ У МОЛОДЫХ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН

Читинская государственная медицинская академия,
672090, ул. Горького, 39а, тел. 8-(3022)-32-00-85, e-mail: pochta@medacadem.chita.ru, г. Чита

Резюме

Изучены частотные характеристики полиморфизма генов (*FVL-169G>A*, *FII-20210G>A*, *AGTRI-1166A>C*, *NO3-894G>C*, *MTHFR-677C>T*, *MTHFR-1298A>C*, *MTRR-66A>G*), ассоциированных с риском акушерских и перинатальных осложнений, у 130 молодых здоровых женщин, планирующих беременность. Генотипы *FVL-1691AA* и *FII-20210AA* не выявлены. Число пациенток-носителей генотипов *MTHFR-677TT* (5,4 %) и *MTHFR-1298CC* (11,5 %) не отличалось от показателей в общей популяции. Частота генотипов *AGTRI-1166CC* (7,7 %), *FVL-1691GA* (0,8 %), *FII-20210GA* (1,5 %), *NO3-894CC* (10,0 %) была ниже, а *MTRR-66GG* регистрировался чаще, чем в популяции (31 % против 15-25 %). Заключение: прекоцепционное исследование молекулярно-генетических предикторов тромбозов, артериальной гипертензии и гипергомоцистеинемии должно проводиться избирательно, при наличии отягощенного индивидуального и/или семейного анамнеза.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, осложнения беременности, прекоцепционный скрининг.

Summary

The frequency characteristics of gene polymorphisms (*FVL-169G>A*, *FII-20210G>A*, *AGTRI-1166A>C*, *NO3-894G>C*, *MTHFR-677C>T*, *MTHFR-1298A>C*, *MTRR-66A>G*) associated with the risk of obstetric and perinatal complications were studied. This examination was conducted in 130 planned-pregnancy healthy young women. Mutant homozygous with *FVL-1691AA* и *FII-20210AA* genotypes were not identified in those women. The number of *MTHFR-677TT* (5 %) and *MTHFR-1298CC* (12 %) genotypes carriers did not differ from those in the general population. The frequencies of the occurrence of the heterozygous *FVL-1691GA* (0,8 %) genotype; mutant genotypes *FII-20210GA* (1,5 %), *AGTRI-1166CC* (7,7 %), *NO3-894CC* (10,0 %), associated with the risk of pregnancy complications were very low in those women. The frequency of mutant genotype *MTRR-66GG* was higher in the women surveyed than in the general population (31 % vs 15-25 %). We concluded that selective thrombophilia, arterial hypertension and hyperhomocysteinemia gene screening based on prior personal and/or family history of arterial hypertension, pregnancy complications or venous thromboembolism was more cost-effective than a universal preconception screening in all planning pregnancy women.

Key words: gene polymorphism, pregnancy complications, preconception screening.

Выявление молекулярно-генетических предикторов заболеваний служит базисом для развития персонализированной (индивидуальной) медицины. В этом аспекте большой научно-практический интерес представляют исследования генетического полиморфизма. Метаанализ проспективных когортных исследований свидетельствует о наличии взаимосвязи между полиморфными вариантами генов фактора V Лейдена (*FVL-1691G>A*) и протромбина (*FII-20210G>A*) матери и такими осложнениями беременности, как невынашивание, задержка роста плода, преэклампсия/эклампсия и преждевременная отслойка плаценты [6, 7, 11, 13, 14]. Обнаружена взаимосвязь между мутантными аллелями полиморфизма генов ангиотензиногена *AGTRI-1166A>C*, и эндотелиальной синтазы окиси азота *NO3-894G>C* с возникновением преэклампсии [3, 5, 10].

Многочисленными исследованиями доказано, что полиморфизм генов метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR-677C>T* и *MTHFR-1298A>C*) и редуктазы метионинсинтазы (*MTRR-66A>G*) ассоциирован с дефектами развития нервной трубки, сердечно-сосудистой системы плода; невынашиванием, плацентарной недостаточностью; задержкой развития и/или антенатальной гибелью плода; преэклампсией, преждевременной отслойкой нормально расположенной плаценты и рядом других акушерских и перинатальных проблем [1, 12, 13, 15].

В связи с этим целью нашей работы явилось изучение распространенности заявленных молекулярно-генетических предикторов осложнений гестации у молодых здоровых жительниц Забайкалья, планирующих беременность.

Материалы и методы

На этапе прекоцепционной подготовки было проведено генотипирование 130 здоровых коренных жительниц Забайкальского края в возрасте от 19 до 29 лет (средний возраст составил $24,6 \pm 3,8$ года), которые не имели в прошлом беременностей, семейного или индивидуального анамнеза артериальной гипертензии, тромбозов и/или тромбоэмболий. Все пациентки дали добровольное информированное согласие на проведение генетического картирования и обработку полученных результатов.

Исследование генетического полиморфизма фактора V Лейдена (*FVL-1691G>A*), протромбина (*FII-20210G>A*), эндотелиальной синтазы оксида азота (*NO3-894G>C*), рецептора 1-го типа ангиотензиногена-2 (*AGTRI-1166A>C*), метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR-677C>T*; *MTHFR-1298A>C*) и редуктазы метионинсинтазы (*MTRR-66A>G*) проведено на ДНК, полученной из лейкоцитов периферической крови («Проба-РАПИД генетика», ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Москва). В качестве метода использована полимеразная цепная реакция с детекцией продукта амплификации в режиме реального времени (Амплификатор «ДТ-96») с использованием комплектов реагентов «КардиоГенетика тромбophilia», «КардиоГенетика Гипертония», «Генетика метаболизма фолатов» (ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Москва) [8].

Качественные данные представлены в виде числа n и % (число пациенток – носителей данного аллеля и процент от их количества в группе исследуемых) или десятичной доли единицы (P). Выявленные генотипы проверяли на соответствие закону Харди-Вайнберга. Межгрупповые различия по качественным бинарным признакам оценивали по критерию χ^2 с помощью программы Statistica 6.0 («StatSoft»). Значения считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$, при величине $\chi^2 > 3,84$.

Результаты и обсуждение

В ходе работы обнаружены все искомые аллельные варианты в гомо- и гетерозиготном состоянии, распределение генотипов которых соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (HWE, $p > 0,05$). В когорте здоровых молодых женщин нами не обнаружено гомозиготное состояние генотипа по мутантному аллелю *FVL-1691G>A* и *FII-20210G>A* (популяционные показатели для женщин в Забайкалье – 2,7 % и 2,2 %, соответственно [2]). Частота *FVL-1691GG* и *FVL-1691GA* составила: 99,2 % (129/130) и 0,8 % (1/130) соответственно. Среди обследуемых 98,5 % (128/130) были гомозиготными (20210GG), а 1,5 % (2/130) гетерозиготными (20210GA) носителями полиморфизма *FII-20210G>A* (таблица). Таким образом, частота гетерозиготного носительства варианта *FVL-1691GA* 0,8 % и *FII-20210GA* 1,5 %, ассоциированных с риском

тромбозов, в обследованной когорте пациенток была в 3 раза меньше, чем популяционные показатели в Забайкалье – 2,5 % и 4,5 %, соответственно ($p < 0,05$) [2].

Таблица

Частота аллелей и генотипов изучаемого генетического полиморфизма у молодых женщин, планирующих беременность (n=130)

Исследуемые полиморфизмы	Частота генотипов, абс. (%)			Частота аллелей, P	
	GG	GA	AA	G	A
<i>FVL-1691G>A</i>	129 (99,2)	1 (0,8)	0	0,996	0,004
<i>FII-20210G>A</i>	128 (98,5)	2 (1,5)	0	0,992	0,008
<i>AGTRI-1166A>C</i>	93 (71,5)	27 (20,8)	10 (7,7)	0,819	0,181
<i>NO3-894G>C</i>	75 (57,7)	42 (32,3)	13 (10,0)	0,739	0,261
<i>MTHFR-677C>T</i>	70 (53,8)	53 (40,8)	7 (5,4)	0,76	0,24
<i>MTHFR-1298A>C</i>	60 (46,2)	55 (42,3)	15 (11,5)	0,68	0,32
<i>MTRR-66A>G</i>	36 (27,7)	53 (40,8)	41 (31,5)	0,49	0,51

1166A-аллель гена рецептора 1-го типа ангиотензиногена-2 в гомо- либо гетерозиготном состоянии идентифицирован у 120 из 130 (92,3 %) пациенток. Частота встречаемости нормального генотипа *AGTRI-1166AA* составила 71,5 % (93/130), гетерозиготного генотипа *AGTRI-1166AC* – 20,8 % (27/130). Гомозиготных носительниц по мутантному аллелю *AGTRI-1166CC*, ассоциированному с артериальной гипертензией, выявлено лишь 7,7 % (10/130), что статистически значимо отличается от показателя в европейских популяциях 21,5 % ($p < 0,05$) [9].

Активное участие окиси азота (NO) в регуляции сосудистого тонуса, кровотока и артериального давления позволяет рассматривать функционально-значимые полиморфизмы гена *eNOS* как возможные маркеры риска развития артериальной гипертензии, тяжелой преэклампсии, эклампсии [1, 5, 9]. Преконцепционный скрининг на носительство полиморфизма гена *NO3-894G>C* показал, что 90 % (117/130) молодых здоровых женщин имели нормальный гомозиготный (894GG) или гетерозиготный (894GC) генотип заявленного полиморфизма эндотелиальной синтазы окиси азота. Распространенность нормального генотипа 894GG составила 57,7 % (75/130), гетерозиготного генотипа 894GC – 32,3 % (42/130). Гомозиготных носительниц по мутантному аллелю 894CC, связанного с риском артериальной гипертензии, идентифицировано

значительно меньше 10,0 % (13/130), чем в европеоидных популяциях (30-40 %, $p < 0,05$) [1, 9].

Важным аспектом прогнозирования вероятности развития перинтальных и акушерских осложнений признано наличие генетических полиморфизмов, ассоциированных с нарушением метилирования ДНК вследствие дефицита ферментов фолатного цикла [1, 12]. Сопоставляя полученные нами результаты с данными современной популяционной генетики, следует заключить, что в целом частота встречаемости гомозиготных мутантных генотипов *MTHFR-677TT* и *MTHFR-1298CC* полиморфизма гена *MTHFR* (5,4 и 11,5 % соответственно) у здоровых молодых коренных жительниц Забайкальского края не имеет значимых отличий от соответствующих частот мировых общепопуляционных показателей [1, 9, 15]. Отличительной чертой распределения генотипов среди представительниц Забайкальского края является преобладание носительниц нормального генотипа *MTHFR-677CC* (53,8 %), в то время как доминирующим в популяции является *MTHFR-677CT* (56,0 %) [1, 9].

Мутантный вариант генотипа *MTRR-66GG* в целевой исследуемой группе зарегистрирован в 31,5 %, что в 1,3-2,1 раза превышает популяционные показатели (15-25 %) [1, 9]. При этом сохраняется общая закономерность: гетерозиготный генотип *MTRR-66AG* является преобладающим (у жительниц Забайкалья – 40,8 %, в популяции – 40-50 %).

Отсутствие мутантных гомозиготных генотипов *FVL-1691AA* и *FII-20210AA*, меньшие, чем в популяции, показатели встречаемости гетерозиготных генотипов *FVL-1691GA* (0,8 %) и *FII-20210GA* (1,5 %), ассоциированных с осложнениями беременности; мутантных генотипов *AGTRI-1166CC* (7,7 %) и *NO3-894CC* (10,0 %), связанных с риском артериальной гипертензии, позволяют заключить, что преконцепционное обследование пациенток на молекулярно-генетические предикторы тромбофилии и артериальной гипертензии должны проводиться избирательно – при наличии индивидуального и/или семейного анамнеза артериальной гипертензии, преэклампсии, эклампсии и/или венозных тромбозов/тромбоэмболий.

Повышенная частота распространенности мутантного генотипа *MTRR-66GG* (31 %) не является основанием для рутинного скрининга здоровых женщин, планирующих беременность, – это нецелесообразно и экономически необосновано. Для снижения рисков аномалий развития плода и осложнений гестации показано применение препаратов фолиевой кислоты, начиная с этапа преконцепционной подготовки и в течение I триместра гестации [4].

Литература

1. Баранов В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предикативной медицины. – СПб.: Н-Л, 2009. – 528 с.
2. Богданов И.Г. и др. Распространенность мутации *FVL* (Лейден) на территории Забайкалья // Дальневосточный медицинский журнал. – 2007. – № 1. – С. 33-34.
3. Глогов А.С. и др. Полиморфизм генов ренин-ангиотензиновой системы и риск развития сосудистой пато-

логии у беременных женщин с гестозом // Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. – № 3. – С. 61-68.

4. Приказ МЗ РФ № 572н от 12 ноября 2012 года «Порядок оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)». – Режим доступа http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_160715/ (12 февраля 2015 г.).

5. Benedetto C. Synergistic effect of renin-angiotensin system and nitric oxide synthase genes polymorphisms in pre-eclampsia // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2007. – Vol. 86, № 6. – P. 678-82.
6. Bradley L.A. Can Factor V Leiden and prothrombin G20210A testing in women with recurrent pregnancy loss result in improved pregnancy outcomes?: Results from a targeted evidence-based review // *Genet Med.* – 2012. – № 14 (1). – P. 39-50.
7. Helgadottir L.B. The association of inherited thrombophilia and intrauterine fetal death: a case-control study // *Blood Coagul Fibrinolysis.* – 2011. – № 22 (8). – P. 651-656.
8. http://dna-technology.ru/instr-equ/instr_reagents/ (30 октября 2014).
9. <http://www.snpedia.com/index.php/SNPedia> (30 октября 2014).
10. Kuśmierska-Urban K. Selected polymorphisms of renin-angiotensin system in the pathology of hypertensive disorders of pregnancy // *Ginekol. Pol.* – 2013. – № 84 (3). – P. 214-218.
11. Rodger M.A. The association of factor V Leiden and prothrombin gene mutation and placenta-mediated pregnancy complications: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies // *PLoS Med.* – 2010. – № 7 (6). – Режим доступа: <http://www.plosmedicine.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pmed.1000292> (30 октября 2014).
12. Seremak-Mrozikiewicz A. The significance of folate metabolism in complications of pregnant women // *Ginekol. Pol.* – 2013. – № 84 (5). – P. 377-384.
13. Slezak R. The role of 1691G>A (Leiden) mutation in Factor V gene, 20210G>A in prothrombin gene and 677C>T in MTHFR gene in etiology of early pregnancy loss // *Ginekol. Pol.* 2011 Jun;82(6):446-50. [Article in Polish].
14. Vavrinkova B. Thrombophilic mutation by women with serious pregnancy complications // *Ceska Gynekol.* – 2012. – № 77 (2). – P. 171-4 [Article in Czech].
15. Zhang T. Genetic variants in the folate pathway and the risk of neural tube defects: a meta-analysis of the published literature // *PLoS One.* 2013. 8(4):e59570. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3617174/> (12 февраля 2015 г.).

Literature

1. Baranov V.S. Genetic passport – basis of individual and predicative medicine. – SPb.: N-L, 2009. – P. 528.
2. Bogdanov I.G. Prevalence of FVL (Leiden) mutation on the territory of Transbaikal region // *Far Eastern medical journal.* – 2007. – № 1. – P. 33-34.
3. Glotov A.A. Polymorphism of renin-angiotensin aldosterone system genes and risk of development of cardiovascular pathology in pregnant woman with gestosis // *Journal of obstetrics and gynecologic diseases.* – 2012. – № 3. – P. 61-68.
4. Order of Ministry of Healthcare of Russian Federation № 572n dated November 12, 2012 «Arrangement of medical aid administering in the field of obstetrics and gynecology (for exclusion of assisted reproductive technologies)» http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_160715/ (February 12, 2015).
5. Benedetto, C. Synergistic effect of renin-angiotensin system and nitric oxide synthase genes polymorphisms in pre-eclampsia // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2007; 86 (6): 678-82.
6. Bradley, L.A. Can Factor V Leiden and prothrombin G20210A testing in women with recurrent pregnancy loss result in improved pregnancy outcomes?: Results from a targeted evidence-based review // *Genet Med.* – 2012. – № 14 (1). – P. 39-50.
7. Helgadottir, LB. The association of inherited thrombophilia and intrauterine fetal death: a case-control study // *Blood Coagul Fibrinolysis.* – 2011. – № 22 (8). –P. 651-6.
8. [http://dna-technology.ru/instr-equ/instr_reagents.](http://dna-technology.ru/instr-equ/instr_reagents/)
9. [http://www.snpedia.com/index.php/SNPedia.](http://www.snpedia.com/index.php/SNPedia)
10. Kuśmierska-Urban K. Selected polymorphisms of renin-angiotensin system in the pathology of hypertensive disorders of pregnancy // *Ginekol. Pol.* – 2013. – № 84 (3). – P. 214-18.
11. Rodger, M.A. The association of factor V Leiden and prothrombin gene mutation and placenta-mediated pregnancy complications: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies / M.A. Rodger, M.T. Betancourt, P. Clark [et al.] // *PLoS Med.* 2010; 7 (6): e1000292. – <http://www.plosmedicine.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pmed.1000292> (30 October 2014).
12. Seremak-Mrozikiewicz A. The significance of folate metabolism in complications of pregnant women // *Ginekol. Pol.* – 2013. – № 84 (5). – P. 377-384.
13. Slezak R. The role of 1691G>A (Leiden) mutation in Factor V gene, 20210G>A in prothrombin gene and 677C>T in MTHFR gene in etiology of early pregnancy loss // *Ginekol. Pol.* – 2011. – № 82 (6). – P. 446-50. [Article in Polish].
14. Vavrinkova B. Thrombophilic mutation by women with serious pregnancy complications // *Ceska Gynekol.* – 2012. – № 77 (2). – P. 171-4. [Article in Czech].
15. Zhang T. Genetic variants in the folate pathway and the risk of neural tube defects: a meta-analysis of the published literature // *PLoS One.* 2013. 8(4):e59570. – [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3617174.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3617174/)

Координаты для связи с авторами: Фролова Наталья Ивановна – канд. мед. наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета, ФПК и ППС ЧГМА, тел. +7-924-388-60-06, e-mail: taasyaa@mail.ru; Белокрыницкая Татьяна Евгеньевна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой акушерства и гинекологии педиатрического факультета, ФПК и ППС ЧГМА, тел. +7-914-469-32-25, e-mail: tanbell24@mail.ru; Страмбовская Наталья Николаевна – канд. мед. наук, доцент, зав. лабораторией молекулярной генетики НИИ молекулярной медицины, e-mail: strambovskaaya@yandex.ru.