

УДК 618.29:618.3-06:616.8-009.24-036.3-092.12

Е.П. ГНАТКО<sup>1</sup>, Е.И. ТУРОС<sup>2</sup>, Н.В. БРЕЗИЦКАЯ<sup>2</sup>, БЕН АМОР МАРИАМ<sup>1</sup><sup>1</sup>Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца<sup>1</sup>,<sup>2</sup>ГУ «Институт гигиены и медицинской экологии им. А.Н. Марзеева НАМНУ», г. Киев, Украина

## АКУШЕРСКИЕ И ПЕРИНАТАЛЬНЫЕ ИСХОДЫ БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ ГЕНЕТИЧЕСКОМ РИСКЕ РАЗВИТИЯ ПРЕЭКЛАМПСИИ



Гнатко Е.П.

Несмотря на значительные успехи фундаментальной и клинической медицины, преэклампсия все еще является грозным осложнением беременности, обуславливая значительную долю неблагоприятных материнских и перинатальных исходов.

**Цель исследования.** Изучить взаимосвязь клинических и молекулярно-генетических факторов с акушерскими и перинатальными исходами у беременных с преэклампсией различной степени тяжести для обоснования прогностических возможностей развития преэклампсии.

**Материал и методы.** Обследовано 114 беременных с преэклампсией различной степени тяжести: 27 (23,7%) – легкой, 37 (32,5%) – средней и 50 (43,9%) – тяжелой. Контрольную группу составили 32 здоровые женщины, обследованные в те же сроки физиологически протекавшей беременности. Кроме необходимых клинико-лабораторных исследований у всех беременных было изучены гены ферментов фолатного цикла (MTHFR C677T, MTRR II e22Met (66a-g) и факторов свертывания (F5 G1691A, F2 G20210A). Для установления полиморфных вариантов генов была использована полимеразная цепная реакция в реальном времени (Real-Time PCR), при которой используются флуоресцентно меченые реагенты с регистрацией данных на мониторе компьютера прибора «CFX96» фирмы BioRad (USA).

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что наличие у женщин таких маркеров наследственной тромбофилии, как аллельный вариант C677T гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), маркер G20210A гена протромбина (FII), полиморфизм G1691A гена пятого фактора свертывающей системы крови (FV) встречается в различных ассоциациях у женщин с преэклампсией. Анализ исходов беременности у пациенток с генетическим риском развития преэклампсии показал, что генетический фактор возникновения данного осложнения чаще реализуется при развитии средней и тяжелой степени преэклампсии с развитием неблагоприятных акушерских и перинатальных исходов. Показатели молекулярно-генетического исследования полиморфизма фолатного обмена и гемостаза могут служить маркерами для выделения женщин групп риска по развитию преэклампсии и ее осложнений.

**Выводы.** Изученные показатели молекулярно-генетического анализа совпадают с результатами клинического наблюдения и отражают возможности их использования в плане прогноза течения преэклампсии. Риск преэклампсии при генетическом факторе чаще реализуется через развитие средней и тяжелой степени тяжести, что может служить маркером риска тяжести осложнения беременности и неблагоприятных исходов для матери, плода и новорожденного

**Ключевые слова:** преэклампсия, генотип, фолатный обмен, тромбофилии, акушерские, перинатальные исходы беременности.

**Для ссылки:** Гнатко Е.П., Турос Е.И., Брезицкая Н.В., Бен Амор М. Акушерские и перинатальные исходы беременности при генетическом риске развития преэклампсии // Журн. Медицина. – 2015, – №1 (151). – С. 37-40

**П**реэклампсия и ее осложнения занимают одно из ведущих мест в структуре причин материнской и перинатальной смертности. Частота преэклампсии практически не снижается и составляет от 7-20% среди беременных [1, 2, 3]. Несмотря на успехи, достигнутые в проблеме преэклампсии, значительное число неблагоприятных исходов для матери и плода связывается с трудностями ранней диагностики и недостаточно разработанными возможностями прогнозирования.

Неудовлетворительные результаты исходов беременности, родов и перинатальных показателей, обуславливающих

целый ряд медико-социальных проблем, могли бы быть снижены при наличии эффективных методов прогнозирования и, по возможности, успешной профилактики и лечения преэклампсии.

Несмотря на многие попытки исследователей разработать эффективный критерий прогноза, успешных вариантов на сегодня не установлено, что дает основание для дальнейших поисков. Исходя из современных представлений о патофизиологических механизмах преэклампсии исследователями выделена группа генов, нарушение структуры и функционирования которых может вносить

**Контакты:** Гнатко Елена Петровна – д.м.н., профессор, зав. кафедрой акушерства и гинекологии №2 Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца. Тел. +380(067) 995 22 27, e-mail: e\_gnatko@ukr.net

**Contact:** Gnatko Elena Petrovna, Full Professor, Doctor of Medical Sciences, the Head of Obstetrics and Gynecology Department No. 2 of A. A. Bogomoletz National Medical University. Tel. +380(067) 995 22 27, e-mail: e\_gnatko@ukr.net

вклад в развитие преэклампсии [2, 4]. Среди них полиморфизм в гене коагуляционного фактора, фолатного цикла, тромбоцитарного звена, а также генов, ассоциированных с артериальной гипертензией и эндотелиальной дисфункцией [2, 5, 6]. Для прогнозирования развития преэклампсии и ее осложнений актуальной является оценка ассоциации различных молекулярно-генетических и клинических факторов с акушерскими и перинатальными исходами беременности у женщин с преэклампсией различной степени тяжести.

Цель исследования – изучить взаимосвязь клинических и молекулярно-генетических факторов с акушерскими и перинатальными исходами у беременных с преэклампсией различной степени тяжести для обоснования прогностических возможностей развития преэклампсии.

**Материал и методы**

В рамках данной работы обследованы в третьем триместре 114 женщин с беременностью, осложненной преэклампсией различной степени тяжести: 27 (23,7%) – легкой, 37 (32,5%) – средней и 50 (43,9%) – тяжелой. Контрольную группу составили 32 здоровые женщины, обследованные в те же сроки физиологически протекавшей беременности.

Группы были сопоставимы по возрасту, сроку беременности, наличию экстрагенитальной патологии.

Оценку степени тяжести преэклампсии проводили в соответствии с параметрами артериального давления (АД) и протеинурии, а также результатов дополнительных клинико-лабораторных показателей: концентрации мочево́й кислоты, мочевины, креатинина, числа тромбоцитов, коагулограммы, согласно протоколу МЗ Украины [7].

Кроме необходимых клинико-лабораторных исследований у всех беременных после получения информированного согласия был проведен забор крови для изучения генов ферментов фолатного цикла (MTHFR C677T, MTRR II e22Met (66a-g) и факторов свертывания (F5 G1691A, F2 G20210A).

Для установления полиморфных вариантов генов была использована полимеразная цепная реакция в реальном времени (Real-Time PCR), при которой используются флуоресцентно меченые реагенты с регистрацией данных на мониторе компьютера прибора «CFX96» фирмы BioRad (USA).

Выделение ДНК проводили из замороженной цельной венозной крови сорбентным методом с использованием набора «ДНК-сорб В» (Ампли Сенс®, Росія). Для амплификации фрагментов генов факторов свертывания (F5 G1691A, F2 G20210A) и генов ферментов фолатного цикла (MTHFR C677T, MTRR II e22Met (66a-g)) использовали диагностические наборы для определения полиморфизмов в геноме человека методом полимеразной цепной реакции «SNP-Экспересс-SHOT» ТОВ НВФ «Литех» (г. Москва). Детекция продуктов амплификации осуществлялась на аппарате «CFX96» фирмы BioRad (США) автоматически в режиме реального времени.

По завершению беременности проводилась оценка акушерского и перинатального исхода.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакета статистических программ «Statistica 7.0». Различие двух сравниваемых величин считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение**

Средний возраст беременных с легкой степенью преэклампсии составил  $28,5 \pm 0,72$ , средней –  $26,5 \pm 0,57$ , тяжелой –  $28,5 \pm 1,08$  года, что не имело достоверной разницы по сравнению с контролем ( $26,5 \pm 2,10$ ,  $p < 0,05$ ).

Среди обследованных пациенток с преэклампсией первобеременных было 42 (36,84%), повторнобеременных – 72 (63,16%). В контрольной группе соответственно 14 (43,75%) и 18 (56,30%). В таблице 1 представлены данные о соотношении перво- и повторнобеременных среди пациенток контрольной группы и пациенток с различной степенью тяжести преэклампсии.

Среди беременных с преэклампсией 39 (34,2%) женщин имели в анамнезе нарушения менструальной функции, 25 (21,9%) – воспалительные заболевания половых органов, 7 (6,1%) – доброкачественные опухоли половых органов, 5 (4,4%) – бесплодие. Из соматической патологии хронические заболевания мочевыводящих путей отмечали 14 (12,3%) беременных, заболевания желудочно-кишечного тракта – 8 (7,0%) пациенток.

Предыдущие беременности закончились у пациенток с преэклампсией родами у 25 (34,7%), абортми – 11 (15,3%), родами и абортми – 36 (50,0%); в контрольной группе – соответственно 9 (50,0%), 2 (11,1%) и 7 (38,9%).

Осложненное течение предыдущих беременностей (угроза прерывания, анемия, угроза преждевременных родов, преэклампсия, гестационный пиелонефрит, плацентарная дисфункция, дистресс плода) отмечено у 41 (56,9%) повторнорождающей пациентки с преэклампсией и у 1 (5,6%) – в контрольной группе. Среди пациенток с преэклампсией осложнения в родах (преждевременное излитие околоплодных вод, аномалии родовой деятельности, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, гипотония матки) имели 37 (60,6%) пациенток, у 27 (44,3%) проведено оперативное родоразрешение (кесарево сечение, акушерские щипцы, вакуум-экстракция).

Преэклампсия в предыдущей беременности отмечена у 6 (8,3%) женщин, причем как единственное осложнение беременности, так и в сочетании с анемией, плацентарной дисфункцией, дистрессом плода.

Данная беременность наступила у 4 (7,2%) пациенток в результате вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

Таким образом, анамнестические данные свидетельствовали о наличии клинических факторов риска развития преэклампсии при данной беременности.

**Таблица 1 – Количество перво- и повторнобеременных среди обследованных беременных (абс., %)**

	Контроль n-32	Преэклампсия, степени тяжести		
		легкая n-27	средняя n-37	тяжелая n-50
Первобеременные	14 (43,75%)	10 (37,04%)	13 (35,14%)	19 (38,0%)
Повторнобеременные	18 (56,30%)	17 (62,96%)	24 (64,86%)	31 (62,0%)

У всех беременных с преэклампсией были выявлены мутации по исследуемым генам фолатного цикла и гемостаза. Большинство пациенток с преэклампсией имели сочетание нескольких мутаций: по 2 имели 14,0%, по 3 – 71,1%, по 1 – 14,0%. Наличие 4-х вариантов ассоциаций отмечено у 14,0%. Сле-

дует отметить, что при преэклампсии тяжелой степени характерным было сочетание полиморфного локуса 677ТТ гена МТНFR, G1691А гена FV и G20210А гена FII. Одиночные мутации отмечены у 28,0% женщин с преэклампсией и среди них варианты гомо- и гетерозигот полиморфизма A66G гена MTRR.

При сравнительном анализе частот генотипов по полиморфизмам G1691А гена FV и G20210А гена FII достоверной разницы между контрольной группой и группой беременных с преэклампсией не установлено, но отмечено, что гетерозиготное состояние гена FII в 1,3 раза чаще встречалось у женщин с преэклампсией. Следует отметить высокую частоту встречаемости у беременных обеих групп Лейденской мутации, что может свидетельствовать о высоком риске тромбообразования во время беременности.

Анализ полиморфизма исследуемых генов в зависимости от степени тяжести преэклампсии показал, что при легкой степени гетерозиготное состояние гена МТНFR локуса С677Т встречалось в 2 раза чаще, чем гомозиготное. При средней степени тяжести гетеро- и гомозиготное состояние отмечено с одинаковой частотой, а при тяжелой степени гетерозиготное состояние отмечено чаще в 4,5 раза.

При сравнительном анализе частот генотипов по полиморфизму G1691А гена FV отмечено, что при легкой степени в 1,5 раза реже, чем при средней и тяжелой степени, встречался данный полиморфизм. Частота генотипа по полиморфизму G20210А гена FII достоверной разницы в зависимости от степени тяжести преэклампсии не имела, но отмечено, что при легкой степени встречалось только гетерозиготное состояние гена FII, в то время как при средней и тяжелой степени с одинаковой частотой отмечено гетеро- и гомозиготное состояние данного гена.

Полученные данные свидетельствуют о наличии генетического риска развития преэклампсии и ее осложнений.

Для оценки реализации данного риска проведен анализ клинических и молекулярно-генетических факторов с акушерскими и перинатальными исходами у беременных с преэклампсией. Среди беременных с преэклампсией осложнения данной беременности отмечены у 73 (64,0%) пациенток, в контрольной группе – у 1 (3,1%). Характер и частота осложнений беременности у обследованных пациенток представлены в таблице 2.

Как свидетельствуют полученные данные, частота осложнений беременности увеличивается со степенью тяжести преэклампсии. При средней и тяжелой степени наиболее частыми были такие осложнения, как анемия бе-

Таблица 2 – Осложнения беременности у обследованных пациенток в зависимости от степени тяжести преэклампсии, (абс,%)

Осложнения беременности	Преэклампсия			Контроль, n-32
	легкая ст., n-27	средняя ст., n-37	тяжелая ст., n-50	
Угроза прерывания	1 (3,7%)	4 (10,8%)	5 (10,0%)	-
Анемия	3 (11,1%)	7 (18,9%)	11 (22,0%)	1 (3,1%)
Гестационный пиелонефрит	1 (3,7%)	3 (8,1%)	4 (8,0%)	-
Плацентарная дисфункция	2 (7,5%)	6 (16,2%)	8 (16,0%)	-
Дистресс плода	-	4 (10,8%)	5 (10,0%)	-
Угроза преждевременных родов	-	4 (10,8%)	5 (10,0%)	-

ременных, плацентарная недостаточность, дистресс плода и угроза преждевременных родов.

Среди беременных с генетическим риском развития преэклампсии средняя величина кровопотери в родах была достоверно больше, чем в контроле (соответственно 456,7±2,1 и 306,6 мл, p< 0,05), преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты отмечена в 2 раза чаще у женщин с преэклампсией, имеющих генетический риск по изученным полиморфизмам, коагулопатические кровотечения – в 2,8 раза, массивные акушерские кровопотери – в 2,3 раза. Анализ исходов родов у беременных с преэклампсией в зависимости от степени тяжести подтвердил клинические наблюдения, в которых тяжесть преэклампсии соотносилась с количеством и тяжестью осложнений.

Анализ перинатальных исходов показал зависимость неблагоприятных исходов (дистресс плода, низкая оценка по шкале Апгар, росто-весовые показатели) от тяжести преэклампсии, характера осложнений беременности и родов, что, прежде всего, обусловлено развитием плацентарной дисфункции при преэклампсии.

**Выводы**

Таким образом, выделенные показатели молекулярно-генетического анализа совпадают с результатами клинического наблюдения и отражают возможности их использования в плане прогноза течения преэклампсии. Следует отметить, что риск преэклампсии при генетическом факторе чаще реализуется через развитие средней и тяжелой степени тяжести, что может служить надежным маркером риска грозного осложнения беременности и неблагоприятных исходов для матери, плода и новорожденного.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

- 1 Айламазян Э.К. Гестоз: теория и практика. / Айламазян Э.К. Мозговая Е.В. – М.: МЕДпресс-информ., 2008. – 207 с.
- 2 Лоскутова Т.О. Ефективність прогнозування преєклампсії у вагітних / Т.О. Лоскутова // Медичні перспективи. – 2014. – Том XIX, №1. – С.101-106
- 3 Chappell LC Adverse perinatal outcomes and risk factors for preeclampsia in women with chronic hypertension: a prospective study/ LC Chappell, S. Enye, P. Seed // Hypertension. – 2008. – N51. – P. 1002-9
- 4 Бицадзе В.О. Тромбофилия как важнейшее звено патогенеза осложнений беременности. / В.О. Бицадзе, А.Д. Макацария, Д.Х. Хизроева // Практическая медицина. – 2012. – №5. – С. 22-29

5 Трифонова Е.А. Гомоцистеин, полиморфизмы гена MTHFR и осложнения беременности / Е.А. Трифонова, Т.В. Габидулина, Т.А. Агаркова, Н.А. Габитова, В.А. Степанов // *Акушерство и гинекология*. – 2011. – №2. – С. 8–15

6 Kjellberg U. Factor V Leiden mutation and pregnancy-related complications / U. Kjellberg, M. van Rooijen, K. Bremme // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2010. – Vol. 203. – P. 1–8

7 Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги: Наказ від 31.12.2004 р. / Міністерство охорони здоров'я України. – К., 2004. – №676

**Т Ұ Ж Ы Р Ы М**

**Е.П. ГНАТКО<sup>1</sup>, Е.И. ТУРОС<sup>2</sup>, Н.В. БРЕЗИЦКАЯ<sup>2</sup>, БЕН АМОР МАРИАМ<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>А.А. Богомолец атындағы Ұлттық медицина университеті,

<sup>2</sup>«УУМФА А.Н. Марзеев атындағы Гигиена және медициналық экология институты» ММ, Киев қ., Украина

**ПРЕЭКЛАМПСИЯНЫҢ ДАМУЫНЫҢ ГЕНЕТИКАЛЫҚ ҚАУІПІ КЕЗІНДЕГІ ЖҮКТІЛІКТІҢ АКУШЕРЛІК ЖӘНЕ ПЕРИНАТАЛДЫ НӘТИЖЕЛЕРІ**

Іргелі және клиникалық медицинаның айтарлықтай жетістіктеріне қарамастан, преэклампсия әлі де жағымсыз аналық және перинаталды нәтижелердің айтарлықтай үлесіне себепші бола отырып, жүктіліктің қауіпті асқынуы болып табылады.

**Зерттеудің мақсаты.** Преэклампсияның дамуының болжамды мүмкіндіктерін негіздеу үшін, преэклампсияның түрлі ауырлық деңгейіндегі жүкті әйелдердің акушерлік және перинаталды нәтижелерінің клиникалық және молекулярлы-генетикалық факторларының өзара байланысын зерттеу.

**Материал және әдістері.** Преэклампсияның түрлі ауырлық деңгейіндегі 114 жүкті әйелдер тексерілді: 27(23,7%) – жеңіл, 37(32,5%) – орташа және 50(43,9%) – ауыр. Бақылау тобын жүктіліктің физиологиялық өтуінің сондай мерзімдерінде тексерілген 32 дені сау әйел құрады. Қажетті клиникалық-зертханалық зерттеулерден басқа, барлық жүкті әйелдердің фолаттық цикл ферменттерінің гендері (MTHFR C677T, MTRR II e22Met (66a-g) және ұю факторлары (F5 G1691A, F2 G20210A) зерттелді. Гендердің полиморфты нұсқаларын анықтау үшін шынайы уақыттағы (Real-Time PCR) полимеразды тізбекті реакция пайдаланылды, ол кезде BioRad (USA) фирмасының «CFX96» аспабы компьютерінің мониторында деректерді тіркей отырып, флуоресцентті белгіленген реагенттер қолданылады.

**Нәтижелері және талқылауы.** Әйелдерде метилентетрагидрофолатредуктаза (MTHFR) генінің аллельді нұсқасы, протромбин (FII) генінің G20210A маркері, қанның ұйыту жүйесінің (FV) бесінші факторы генінің полиморфизмі G1691A тәрізді тұқым қуалайтын тромбофилия маркерлерінің болуы әртүрлі ассоциацияларда преэклампсиясы бар әйелдерде кездесетіндігі анықталды. Преэклампсияның дамуының генетикалық қауіпі бар емделушілердің жүктілік нәтижелерін талдауы, берілген асқынудың туындауының генетикалық факторы жағымсыз акушерлік және перинаталды нәтижелердің дамуымен преэклампсияның орташа және ауыр деңгейлерінің дамуы кезінде жиі жүзеге асатындығын көрсетті. Фолаттық алмасу полиморфизмі және гемостаздың молекулярлық-генетикалық зерттеулерінің көрсеткіштері преэклампсияның дамуы және оның асқынулары бойынша қауіп топтарындағы әйелдерді анықтау үшін маркерлер қызметін атқара алады.

**Қорытындылар.** Молекулярлық-генетикалық талдаудың зерттелген көрсеткіштері клиникалық бақылаулар нәтижелерімен сәйкес келеді, және оларды преэклампсияның өтуін болжау тұрғысынан пайдалану мүмкіндігін көрсетеді. Генетикалық фактор кезіндегі преэклампсия қауіпі, көбінесе ауырлықтың орташа және ауыр деңгейі арқылы орындалады, бұл жүктілік асқынуларының және ана, ұрық және жаңа туған нәресте үшін жағымсыз салдардың ауырлық қауіпі маркерінің қызметін атқаруы мүмкін.

**Негізгі сөздер:** преэклампсия, генотип, фолаттық алмасу, тромбофилиялар, жүктіліктің акушерлік, перинаталды нәтижелері.

**S U M M A R Y**

**E.P. GNATKO<sup>1</sup>, E.I. TUROS<sup>2</sup>, N.V. BREZITSKAYA<sup>2</sup>, BEN AMOR MARIAM<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> National Medical University n.a. A.A. Bogomolets,

<sup>2</sup>SI "AN Marzeyev Institute for Hygiene and Medical Ecology of AMS", Kiev c., Ukraine

**OBSTETRIC AND PERINATAL OUTCOMES OF PREGNANCY AT GENETIC RISK OF PRE-ECLAMPSIA**

Despite the significant progress in basic and clinical medicine, pre-eclampsia is still a severe complication of pregnancy, causing significant rates of adverse maternal and perinatal outcomes.

**Objective.** To study the relationship of clinical and molecular genetic factors in obstetric and perinatal outcomes in pregnant women with preeclampsia of various severity to justify the predictive capability of preeclampsia development.

**Material and methods.** 114 pregnant women with preeclampsia of various severity: 27 (23.7%) with mild course, 37 (32.5%) with moderate course and 50 (43.9%) with severe course of disease were investigated. The control group consisted of 32 healthy women investigated in the same terms of physiological pregnancy. In addition to the necessary clinical and laboratory investigations folate cycle enzyme genes (MTHFR C677T, MTRR II e22Met (66a-g) and coagulation factors (F5 G1691A, F2 G20210A) were studied in all pregnant women. The real time polymerase chain reaction (Real-Time PCR) with fluorescently labeled reagents which register spatial information on computer monitor of CFX96 device produced by BioRad (USA) was used to establish the polymorphic variants of genes.

**Results and discussion.** The hereditary thrombophilia markers in women such as allelic variant C677T methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR), G20210A prothrombin (FII) gene marker, G1691A gene polymorphism of the fifth clotting factor (FV) were found in various associations in women with preeclampsia. Analysis of the pregnancy outcomes in patients with the genetic risk of pre-eclampsia development showed that genetic factors of this complication are often manifested through the development of moderate and severe pre-eclampsia with adverse obstetric and perinatal outcomes. A molecular genetic study of polymorphism of folate metabolism and hemostasis can serve as a marker to detect women at risk of development of pre-eclampsia and its complications.

**Conclusions.** The molecular genetic values analyzed are consistent with the clinical observations and reflect the possibility of their use in terms of preeclampsia prognosis. The risk of preeclampsia with genetic factors is often manifested through the development of moderate and severe disease, which may serve as a marker of the severity of the risk of pregnancy complications and adverse outcomes for the mother, fetus and newborn.

**Key words:** preeclampsia, genotype, folate metabolism, thrombophilia, obstetric and perinatal outcomes of pregnancy.

Статья поступила в редакцию 27.01.2015 г.