

УДК 618.3-06

DOI 10.52246/1606-8157_2022_27_4_33

ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И КОАГУЛЯЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ У ЖЕНЩИН С УГРОЗОЙ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ И ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ В АНАМНЕЗЕ

А. И. Малышкина^{1,2}, доктор медицинских наук,
Н. В. Батрак^{2*}, кандидат медицинских наук,
Т. П. Жукова¹, доктор медицинских наук,
С. Ю. Ратникова¹, кандидат биологических наук,
М. Д. Потаскалова²,
Т. Ю. Виноградова¹

¹ ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России, 153045, Россия, г. Иваново, ул. Победы, д. 20

² ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России, 153012, Россия, г. Иваново, Шереметевский просп., д. 8.

РЕЗЮМЕ *Цель* – изучить частоту встречаемости полиморфных вариантов генов системы гемостаза у женщин с привычным невынашиванием беременности (ПНБ) в анамнезе, а также сопоставить её с состоянием гемостаза у данной категории пациенток в различные сроки беременности.

Материал и методы. Проведен анализ частоты встречаемости аллельных вариантов генов системы гемостаза у женщин с угрозой прерывания беременности до 22 недель и ПНБ в анамнезе. Определение полиморфизмов генов системы гемостаза осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени и набора реагентов (г. Новосибирск) на приборе iCycleriQS (Bio-Rad). Проводилась оценка системы гемостаза по данным коагулограммы, а также определение уровня гомоцистеина иммунохемилюминесцентным методом на автоматическом анализаторе Immulite 1000 (Siemens).

Результаты и обсуждение. Проведенное исследование показало увеличение частоты встречаемости полиморфных вариантов генов *Serpin C1 (-786)A*, *PROC (-2583)T*, *PAI-1 (-675)4G*, *MTRR (-66)G* у женщин с угрозой прерывания беременности и ПНБ в анамнезе по сравнению с женщинами контрольной группы.

Выявлено статистически значимое увеличение уровня гомоцистеина у женщин с угрозой прерывания беременности и ПНБ в анамнезе по сравнению с группой контроля: во втором триместре соответственно $7,1 \pm 1,7$ мкмоль/л, в контрольной группе – $2,6 \pm 1,3$ мкмоль/л ($p < 0,05$).

Заключение. Результаты исследования свидетельствуют о повышении частоты встречаемости полиморфных вариантов генов *Serpin C1 (-786)A*, *PROC (-2583)T*, *PAI-1 (-675)4G*, *MTRR (-66)G* у пациенток с угрозой прерывания беременности и ПНБ в анамнезе при отсутствии статистически значимых сдвигов в клинической коагулограмме и клинических тромбозов во время настоящей беременности.

Ключевые слова: привычное невынашивание беременности, тромбофилия, полиморфизм генов, гемостаз.

* Ответственный за переписку (corresponding author): batrakn@inbox.ru

Тромбофилия в акушерской практике в последнее десятилетие заняла лидирующие позиции как причина осложнений беременности [1]. Это связано с открытием новых форм тромбофилий и влиянием гиперкоагуляционных нарушений на течение беременности [8, 11, 13, 18].

Исследования, посвященные роли тромбофилии, показали крайне высокую частоту их не только у пациенток с различными тромбоэмболическими осложнениями, но и у женщин с типичными акушерскими расстройствами, такими как ПНБ, преэклампсия, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, задержка роста плода, антенатальная гибель плода [18, 21]. При тромбофилиях создаются условия для нарушения процессов имплантации, плацентации, роста плода, развивается системная эндотелиальная дисфункция, активируется провоспалительный ответ и формируется прокоагуляционный потенциал свертывающей системы крови [4, 14].

Доказано, что в патогенезе акушерской патологии большое значение имеют мутации Лейдена *F5 1691A*, протромбина *F2 20210A*, генетические полиморфизмы антитромбина III, протеина S, протеина C [6], ферментов фолатного цикла *MTHFR 677T*, *MTHFR 1298C*, *MTRR 66G*, *MTR 2756G* [5, 9, 10, 22].

Известно, что мутация Лейдена *F5 1691A* и мутация *F2 20210A* ассоциируются с высоким риском развития тромбозов, системной эндотелиопатии, микротромбозов и инфарктов плаценты, нарушений фетоплацентарного кровотока [21].

Антитромбин III является естественным антикоагулянтом, блокирующим протромбиназу и инактивирующим ряд факторов свертывания крови. Синтез антитромбина III кодируется геном *Serpin C1* [15]. Носительство низкофункционального полиморфного варианта *Serpin C1 (-786)A* этого гена проявляется снижением уровня антитромбина III в крови и возникновением тромбозов, которые приводят к ПНБ, антенатальной гибели плода, тромбофилическим осложнениям при приеме оральных контрацептивов [16].

Протеин С также является естественным антикоагулянтом. Это плазменный гликопротеин, который после активации протеином S расщепляет активированные формы факторов свертывания V и VIII, предотвращая образование сгустка. Синтез протеина С кодируется геном *PROC*. Аллей-

ный вариант *PROC (-2583)T* связан со снижением уровня протеина С, что повышает риск тромбоза и осложнений беременности [17].

Гипергомоцистеинемия также может приводить к патологии сосудистой стенки и тромбообразованию, что негативно влияет на течение беременности. Гипергомоцистеинемия может быть индуцирована рядом факторов: генетическими дефектами ферментов, участвующих в метаболизме гомоцистеина (*MTHFR*, *MTRR*, *MTR*), недостатком в пище витаминов группы В и фолатов, а также внешними токсическими воздействиями (курением, употреблением алкоголя) [2, 7, 18]. Показана связь полиморфизмов генов фолатного цикла с невынашиванием беременности [18–21].

Данных о частоте встречаемости полиморфизмов генов системы гемостаза у женщин с ПНБ в настоящее время недостаточно.

Цель исследования – изучить частоту встречаемости полиморфных вариантов генов системы гемостаза у женщин с ПНБ в анамнезе, а также сопоставить её с состоянием гемостаза у данной категории женщин в различные сроки беременности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе гинекологической клиники и лаборатории клинической биохимии и генетики ФГБУ «НИИ МиД им. В.Н. Городкова» Минздрава России. Основную группу составили 50 женщин с угрозой прерывания беременности в сроке до 22 недель и ПНБ в анамнезе, имеющие две и более потери беременности в анамнезе.

Контрольную группу составили 50 женщин с физиологически протекающей беременностью, наблюдавшихся в женской консультации.

Определение полиморфизмов генов системы гемостаза осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени на приборе *iCycleriQS* (Bio-Rad) с набором реагентов (г. Новосибирск).

Проводилась оценка показателей гемостаза при поступлении в стационар в первом (до 12 недель) и во втором триместрах беременности (13–22 недели) по данным коагулограммы, а также определение содержания гомоцистеина иммунохемилюминесцентным методом на автоматическом анализаторе *Immolute 1000* (Siemens).

Для статистической обработки данных использовали пакет программ «Statistica for Windows 10.0». Количественные величины приведены в виде среднего арифметического (M) и стандартного отклонения (SD). Статистическая значимость различий определялась с помощью параметрического t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования полиморфизмов генов гемостаза в исследуемых группах представлены в таблице 1.

Нами выявлено достоверное увеличение частоты встречаемости полиморфных вариантов генов *Serpin C1* (-786)A, *PROC* (-2583)T, *PAI-1* (-675)4G, *MTRR* (-66)G у женщин с угрозой прерывания беременности и ПНБ в анамнезе.

Также были изучены показатели системы гемостаза в основной и контрольной группах в первом и втором триместрах беременности (табл. 2).

Статистически значимых различий показателей коагулограммы между группами не отмечено.

Таблица 1. Генные и генотипические частоты в генах системы гемостаза у женщин исследуемых групп

Аллель и генотип	Контрольная группа			Основная группа		
	число носителей аллеля/генотипа	число наблюдений (аллели/генотипы)	%	число носителей аллеля/генотипа	число наблюдений (аллели/генотипы)	%
<i>Serpin C1</i> (-786)G	99	100	99	86	100	86**
<i>Serpin C1</i> (-786)A	1	100	1	14	100	14**
<i>Serpin C1</i> (-786)G/G	49	50	98	36	50	72**
<i>Serpin C1</i> (-786)G/A	1	50	2	14	50	28**
<i>Serpin C1</i> (-786)A/A	0	50	0	0	50	0
<i>PROC</i> (-2583)A	99	100	99	78	100	78**
<i>PROC</i> (-2583)T	1	100	1	22	100	22**
<i>PROC</i> (-2583)AA	49	50	98	35	50	70**
<i>PROC</i> (-2583)A/T	1	50	2	8	50	16*
<i>PROC</i> (-2583)T/T	0	50	0	7	50	14*
<i>PAI-1</i> (-675)5G	71	100	71	46	100	46**
<i>PAI-1</i> (-675)4G	29	100	29	54	100	54**
<i>PAI-1</i> (-675)5G/5G	23	50	46	12	50	24 &
<i>PAI-1</i> (-675)5G/4G	25	50	50	22	50	44
<i>PAI-1</i> (-675)4G/4G	2	50	4	16	50	32**
<i>MTRR</i> (-66)A	80	100	80	46	100	46**
<i>MTRR</i> (-66)G	20	100	20	54	100	54**
<i>MTRR</i> (-66)A/A	32	50	64	18	50	36*
<i>MTRR</i> (-66)A/G	16	50	32	10	50	20
<i>MTRR</i> (-66)G/G	2	50	4	22	50	44**

Примечание. * – статистическая значимость различий с контрольной группой, $p < 0,01$; ** – то же, $p < 0,001$; & – то же, $p < 0,05$.

Таблица 2. Показатели коагулограммы у женщин исследуемых групп в первом и втором триместрах беременности

Параметр	M ± SD			
	контрольная группа		основная группа	
	I триместр	II триместр	I триместр	II триместр
Активированное частичное тромбопластиновое время, с	39,2 ± 4,1	35,5 ± 2,1	33,4 ± 2,8	31,1 ± 2,3
Протромбиновый индекс по Квику, %	89,3 ± 4,5	94,5 ± 5,6	95,6 ± 17,1	103,8 ± 10,5
Протромбиновое время, с	11,2 ± 0,6	11,1 ± 0,7	11,5 ± 0,6	10,9 ± 0,6
Тромбиновое время, с	17,3 ± 2,5	17,1 ± 1,5	14,2 ± 1,4	14,3 ± 2,5
Фибриноген, г/л	2,98 ± 0,08	3,08 ± 0,2	3,4 ± 0,7	4,3 ± 0,93
Фибринолитическая активность, %	11,9 ± 2,9	12,2 ± 1,4	12,3 ± 2,3	10,9 ± 2,9
Агрегация тромбоцитов с адреналином, %	55,3 ± 8,8	60,2 ± 5,4	58,7 ± 11,1	59,1 ± 9,8
Гомоцистеин, мкмоль/л	4,1 ± 0,05	2,6 ± 1,3	8,7 ± 3,1*	7,1 ± 1,7*

Примечание. * – статистическая значимость различий с контрольной группой, $p < 0,05$.

В то же время обращает на себя внимание тенденция к укорочению активированного частичного тромбопластинового времени, тромбинового времени, снижению фибринолитической активности, увеличению протромбинового индекса, содержания фибриногена как в первом так и во втором триместрах у женщин основной группы по сравнению с контрольной, что свидетельствует о склонности к гиперкоагуляции у пациенток с угрозой прерывания и ПНБ в анамнезе.

Средний уровень гомоцистеина у женщин основной группы был достоверно выше, чем в контроле, в обеих точках наблюдения.

Гипергомоцистеинемия в последние годы рассматривается как самостоятельный фактор риска развития тромбоза. Повышенный уровень гомоцистеина в плазме может усиливать активность индуцируемой синтазы оксида азота и снижать активность эндотелиальной синтазы оксида азота, что приводит к апоптозу эндотелиальных клеток, активирует тромбоциты и увеличивает адгезию лейкоцитов. Гомоцистеин может также активировать рецептор ангиотензина II 1-го типа, что может усугубить повреждение эндотелия и способствовать сужению сосудов [23].

Известно, что снижение активности естественных антикоагулянтов и усиление коагуляции является вариантом нормы во время беременности, в связи с чем впервые диагностировать какие-либо генетические и гемостазиологические изменения на фоне беременности представляется затруднительным. Однако в случае, когда иные возможные причины ПНБ исключены, целесообразно проведение генетического исследования с определением дефектов генов гемостаза и фолатного обмена, что, возможно, позволит прогнозировать акушерские осложнения и/или тромботические события.

ВЫВОДЫ

1. У пациенток с ПНБ в анамнезе имеет место накопление в генотипе неблагоприятных полиморфных вариантов генов системы гемостаза, вероятно, причастных к нарушению маточно-плацентарного кровообращения и угрозе прерывания беременности.
2. У женщин с ПНБ в анамнезе при возникновении угрозы прерывания беременности во втором триместре выявлено статистически значимое увеличение уровня гомоцистеина при отсутствии статистически значимых сдвигов в клинической коагулограмме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Батрак Н.В., Малышкина А.И. Факторы риска привычного невынашивания беременности. Вестник Ивановской государственной медицинской академии. 2016;4:37-41.
2. Гри Ж.К., Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х., Хамани Н.М. Антифосфолипидный синдром и беременность. Акушерство и гинекология. 2018;10:5-11.
3. Ильина А.Я., Шумилов П.В., Мищенко А.Л., Баринава А.С., Кокая И.Ю., Кашин В.Н., Побединская О.С., Соловьева И.В., Харламова Т.С., Буданцев А.В., Ахалова В.А. Тромбофилия как этиопатогенетический фактор нарушений в системе «Женщина – плод – новорожденный». Акушерство, гинекология и репродукция. 2016;4:21-28.
4. Зубенко В.Б. К вопросу о влиянии тромбофилии на патологию локализации плаценты. Акушерство, гинекология и репродукция. 2018;1:17-22.
5. Киселева А.Н., Бутина Е.В., Зайцева Г.А., Овчиников В.В., Игнатъев С.В., Ярыгин Д.Н., Парамонов И.В. Ассоциация полиморфизма генов F2, F5, F7, F13, FGB, ITGA2, ITGB3, PAI-1, MTHFR, MTR, MTRR с нарушениями репродуктивной функции у женщин. Вятский медицинский вестник. 2017;2:24-29.
6. Венозные осложнения во время беременности и послеродовом периоде. Акушерская тромбоэмболия: Клинические рекомендации. М.; 2021.
7. Корнюшина Е.А. Современные подходы к терапии антифосфолипидного синдрома при беременности (клинический случай). Акушерство и женские болезни. 2018;6:100-105.
8. Краевая Е.Е., Долгушина Н.В. Влияние наследственной и приобретенной тромбофилии на исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий. Акушерство и гинекология. 2019;8:20-25.
9. Крипакова В.В., Золотавина М.Л., Бодовец Г.Л. Изменения показателей системы гемостаза у беременных с тромбофилией. Новые импульсы развития: вопросы научных исследований. 2021;2:20-30.
10. Мамий Д.Д., Татаркова Е.А., Тугуз А.Р., Цикуниб А.А., Сахтарьек З.Н. Полиморфизмы генов фолатного цикла, ассоциированные с угрозой раннего прерывания беременности у жительниц Республики Адыгея. Вестник Адыгейского государственного университета. Серия 4: Естественно-математические и технические науки. 2018;1:212.
11. Менжинская И.В., Ванько Л.В. Антифосфолипидные антитела как диагностические маркеры акушерского антифосфолипидного синдрома. Акушерство и гинекология. 2019;2:5-12.
12. Менжинская И.В., Ванько Л.В. Патологические механизмы развития акушерского антифосфолипидного синдрома. Акушерство и гинекология. 2018;1:5-12.
13. Мирон А.И., Харкевич О.Н. Эффективность метода скрининга тромбофилии у пациенток с привычной потерей беременности. Акушерство, гинекология и репродукция. 2017;3:20-30.
14. Мирон А.И., Харкевич О.Н., Голофаст О.Е., Глуховец И.Б. Особенности гистологического строения трофобласта и ворсин хориона при рецидивирующей потере беременности у пациенток с тромбофилиями. Российский медико-биологический вестник им. Академика И.П. Павлова. 2017;4:621-641.
15. Михайлиди И.А. К вопросу о нарушениях в системе протеин С с разнообразной акушерской патологией в анамнезе у беременных. Акушерство, гинекология и репродукция. 2014;8(3):59-62.
16. Пизова Н.В., Степанова М.В. Тромбофилии, связанные с резистентностью к активированному протеину С: генетические полиморфизмы и инсульт. Неврологический журнал. 2012;6:4-11.
17. Репина М.А., Сумская Г.Ф., Лапина Е.Н., Кузьмина С.Р., Крутецкая Е.А. Особенности течения беременности у женщин с наследственными формами тромбофилии. Журнал акушерства и женских болезней. 2006;LV(2):3-9.
18. Скворцова М.Ю., Прилуцкая С.Г. Современное состояние проблемы привычной потери беременности: дискуссионные вопросы причин и факторов риска, тактика периконцепционного ведения. Гинекология. 2017;2:59-60.
19. Татаркова Е.А., Тугуз А.Р., Цикуниб А.А., Руденко К.А., Муженя Д.В., Смольков И.В., Шумилов Д.С. Влияние полиморфных вариантов генов фолатного цикла на процесс раннего прерывания беременности у жительниц Республики Адыгея. Вестник Адыгейского государственного университета. Серия 4: Естественно-математические и технические науки. 2016;1:176.
20. Третьякова Т.Б., Демченко Н.С. Ассоциация полиморфных маркеров генов метаболизма фолатов с ранними потерями беременности. Акушерство, гинекология и репродукция. 2018;12:42.
21. Фетисова И.Н., Малышкина А.И., Зинченко Р.А., Панова И.А., Фетисов Н.С., Рокотянская Е.А. Прогностическое значение полиморфизма генов системы гемостаза и генов, контролирующих тонус сосудистой стенки у беременных женщин с гипертензивными расстройствами различного генеза: монография. Ярославль: Филигрань; 2022:136.
22. Фетисова И.Н., Малышкина А.И., Фетисов Н.С. Полиморфизм генов фолатного цикла у женщин с невынашиванием беременности. Вестник Ивановской государственной медицинской академии. 2019;1:33-36.
23. Liu S, Sun Z, Chu P, Li H, Ahsan A, Zhou Z, Zhang Z, Sun B, Wu J, Xi Y, Han G, Lin Y, Peng J, Tang Z. EGCG protects against homocysteine-induced human umbilical vein endothelial cells apoptosis by modulating mitochondrial-dependent apoptotic signaling and PI3K/Akt/eNOS signaling pathways. Apoptosis. 2017;22(5):672-680.

THE PECULIARITIES OF GENETIC AND COAGULATION ALTERATIONS IN WOMEN WITH THREAT OF TERMINATION OF PREGNANCY AND HABITUAL MISCARRIAGE IN THE ANAMNESIS

A. I. Malyshkina, N. V. Batrak, T. P. Zhukova, S. Yu. Ratnikova, M. D. Potaskalova, T. Yu. Vinogradova

ABSTRACT Objective – to study the frequency of occurrence of polymorphic genes of hemostasis system in women with habitual miscarriage (HM) in the anamnesis and to compare it with the state of hemostasis in these patients in various terms of pregnancy.

Material and methods. The frequency of occurrence of allelic variants of genes of hemostasis system in women with threat of termination of pregnancy before 22 weeks and HM in the anamnesis was analyzed. The determination of gene polymorphism of hemostasis system was carried out by polymerase chain reaction method (PCR) in real time and by reagent kit (city of Novosibirsk) by iCycleriQS (Bio-Rad) device. Hemostasis system evaluation was performed according to the coagulogram. The determination of homocysteine level by immunohemiluminescent method by Immulite 1000 automatic analyzer (Siemens) was made.

Results and discussion. The study demonstrated the increase of the frequency of occurrence of polymorphic variants of genes *SerpinC1* (-786)A, *PROC* (-2583)T, *PAI-1* (-675)4G, *MTRR* (-66)G in women with threat of termination of pregnancy and HM in the anamnesis in comparison with women from control group.

Statistically significant increase of homocysteine level was revealed in women with threat of termination of pregnancy and HM in the anamnesis in comparison with control group: in the second trimester accordingly $7,1 \pm 1,7$ mkmole/l, in the control group – $2,6 \pm 1,3$ mkmole/l ($p < 0,05$).

Conclusion. The obtained results testified to the increase of the frequency of occurrence of polymorphic variants of genes *SerpinC1* (-786)A, *PROC* (-2583)T, *PAI-1* (-675)4G, *MTRR*(-66) in patients with threat of termination of pregnancy and HM in the anamnesis in the absence of statistically significant shifts in clinical coagulogram and clinical thrombosis during present pregnancy.

Key words: habitual miscarriage, thrombophilia, polymorphism of genes, hemostasis.