



УДК 618.3-008.6-06:575:616-098

Т. О. Лоскутова

Вплив спадкових і набутих форм гіпергомоцистеїнемії на розвиток ускладнень при преєклампсії

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Ключові слова: преєклампсія, гіпергомоцистеїнемія, поліморфізм генів, ускладнення.

Актуальність роботи зумовлена високою частотою преєклампсії та тяжкістю супутніх ускладнень. З метою визначення ролі поліморфізму гена MTHFR і гіпергомоцистеїнемії у розвитку акушерських і перинатальних ускладнень при преєклампсії у 133 вагітних вивчили концентрацію гомоцистеїну та виконали аналіз на наявність поліморфізму гена MTHFR 677 C→T. Встановили, що ймовірність акушерських і перинатальних ускладнень у вагітних із преєклампсією значно збільшена при гіпергомоцистеїнемії. Відносний ризик розвитку ускладнень, якщо концентрація гомоцистеїну перевищує 15 мкмоль/л, збільшений у 2,31 раза (95% ДІ 1,5–3,5). Однією з причин збільшення концентрації гомоцистеїну в сироватці крові є мутація MTHFR 677TT. Патологічний алель 677T у групі із преєклампсією та ускладненнями виявляють в 1,78 раза частіше, він збільшує відносний ризик розвитку ускладнень в 1,63 раза (95% ДІ 1,18–2,3).

Влияние наследственных и приобретенных форм гипергомоцистеинемии на развитие осложнений при преэклампсии

Т. А. Лоскутова

Актуальность работы обусловлена высокой частотой преэклампсии и тяжестью сопутствующих осложнений. С целью определения роли полиморфизма гена MTHFR и гипергомоцистеинемии в развитии акушерских и перинатальных осложнений при преэклампсии у 133 беременных изучили концентрацию гомоцистеина и провели анализ на наличие полиморфизма гена MTHFR 677 C→T. Установлено, что вероятность акушерских и перинатальных осложнений у беременных с преэклампсией значительно увеличена при гипергомоцистеинемии. Относительный риск развития осложнений при концентрации гомоцистеина больше чем 15 мкмоль/л увеличен в 2,31 раза (95% ДИ 1,5–3,5). Одна из причин увеличения концентрации гомоцистеина в сыворотке крови – мутация MTHFR 677TT. Патологический аллель 677T в группе с преэклампсией и осложнениями отмечают в 1,78 раза чаще, он увеличивает относительный риск развития осложнений в 1,63 раза (95% ДИ 1,18–2,3).

Ключевые слова: преэклампсия, гипергомоцистеинемия, полиморфизм генов, осложнения.*Запорожский медицинский журнал. – 2014. – №5 (86). – С. 74–77*

Impact of genetic and acquired forms of hyperhomocysteinemia on development of complications in preeclampsia

Т. О. Лоскутова

Aim. High frequency of preeclampsia and the severity of associated complications make this problem actual. In order to determine the role of MTHFR gene polymorphisms and hyperhomocysteinemia in the development of obstetric and perinatal complications in preeclampsia, 133 pregnant women have been examined in terms of homocysteine concentration and analyzed for the presence of MTHFR 677 C→T gene polymorphisms.

Methods and results. It has been established that the probability of obstetric and perinatal complications in pregnant women with preeclampsia is significantly increased in the presence of hyperhomocysteinemia.

Conclusion. One of the reasons for the increased homocysteine concentration in the blood serum is mutation of MTHFR 677TT.

Key words: Preeclampsia, Hyperhomocysteinemia, Genetic Polymorphism, Complications.*Zaporozhye medical journal 2014; №5 (86): 74–77*

Протягом тривалого часу преєклампсія (ПЕ) залишається однією з основних причин материнської та перинатальної захворюваності і смертності. Головну загрозу становлять пов'язані із преєклампсією ускладнення: передчасне відшарування нормально розташованої плаценти (ПВНРП), передчасні пологи, кровотечі, порушення мозкового кровообігу, відшарування сітківки, еклампсія. Серед ускладнень необхідно виділити прогресуючу плацентарну дисфункцію, затримку розвитку плода (ЗРП), дистрес плода та його антенатальну загибель (АЗП). Проте не кожен випадок ПЕ супроводжується названими ускладненнями, тобто відзначають і відносно сприятливий перебіг захворювання. Є докази існування двох різновидів ПЕ: ранньої та пізньої [5]. Рання супроводжується порушенням плацентадії, збільшенням маркерів ендотеліальної дисфункції, раннім початком, тяжким перебігом, розвитком ускладнень; завершується індукованими передчасними пологами. Пізня

пов'язана з «материнським внеском»: метаболічний синдром, гіпертонічна хвороба, рідко супроводжується ЗРП; має відносно сприятливий перебіг [5].

Нині досліджують роль мутацій метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR)677 C→T і гіпергомоцистеїнемії в патогенезі основних акушерських ускладнень [1,2,4,8] у зв'язку з їхнім ендотеліотоксичним і тромбофілічним впливом. Аутоокислення гомоцистеїну стимулює продукцію активних форм кисню, включаючи супероксид аніони, перекис водню й гідроксильні радикали, що активують перекисне окислення ліпідів і пошкоджує мембрану ендотеліальних клітин. Крім того, гомоцистеїн активує V фактор системи згортання крові, знижує вироблення тромбомодуліну, пригнічує вироблення гепаран-сульфату. Доведено, що гомоцистеїн викликає прозапальні зміни ендотелію, чинить проліферативну дію на гладку мускулатуру і збільшує вироблення колагену. Гіперкоагуляція пов'язана з підвищенням



утворенням тканинного фактора, активацією тромбоцитів і синтезом тромбоксану [8]. Гомоцистеїн (ГЦ) індукує апоптоз клітин трофобласта і значно знижує вироблення хоріонічного гонадотропіну, що може бути причиною розвитку акушерських ускладнень, пов'язаних із порушенням імплантації [1].

Дані щодо розподілу патологічних генних поліморфізмів у жінок із ПЕ різняться. У дослідженні М.Г. Спірідонової та співавт. (2007) відзначено: мутацію МТНFR 677 ТТ удвічі частіше виявляють у жінок із прееклампсією. Автори встановили також пряму залежність між наявністю мутації МТНFR і тяжкістю прееклампсії [3]. Опубліковані відомості про те, що частота гетеро- і гомозиготних мутацій МТНFR у жінок із легкою, середньою та тяжкою прееклампсією в анамнезі однакова, але найвищу концентрацію гомоцистеїну виявили у пацієток із тяжкою ПЕ в анамнезі [1,6].

Є також дані, що свідчать: рівень ГЦ не залежить від наявності мутантної форми МТНFR 677ТТ, але рівень гомоцистеїну вище у жінок із прееклампсією, ніж при неускладненому перебігу вагітності [4,7]. Дослідження генних поліморфізмів МТНFR і рівня гомоцистеїну у вагітних із ПЕ мають деякі розбіжності, але загалом обґрунтовують дію збільшеного рівня гомоцистеїну у крові на розвиток ендотеліальної дисфункції.

Мета роботи

Визначити роль поліморфізму гена МТНFR та гіпергомоцистеїнемії в розвитку акушерських і перинатальних ускладнень при ПЕ.

Пацієнти і методи дослідження

Здійснили проспективне когортне дослідження, котре охоплювало 133 жінки у другій половині вагітності. Критерій залучення в дослідження – наявність ПЕ відповідно до наказу МОЗ України № 676. Основну (О) групу дослідження сформували 46 жінок із ПЕ та ускладненнями з боку матері або плода. Як ускладнення розглядали передчасне відшарування нормально розташованої плаценти (4 жінки – 8,7%), еклампсію (1 – 2,17%), HELLP-синдром (1 – 2,17%), ЗРП (23 – 50,0%), АЗП (6 – 13,04%), дистрес плода під час вагітності (21 пацієнтка – 45,65%). Групу порівняння (П) становили 87 вагітних із ПЕ, які не мали ускладнень.

Поліморфізм гена МТНFR 677 С→Т дослідили за допомогою алейспецифічної полімеразної ланцюгової реакції з наступною детекцією методом електрофорезу в 3% агарозному гелі. Використовували комплект реагентів «SNP-експрес» (НВФ «Літех», Російська Федерація). Для аналізу використовували ДНК із лейкоцитів крові, яку виділяли за допомогою реагенту «ДНК-експрес-кров» (НВФ «Літех», Російська Федерація). Концентрацію гомоцистеїну у плазмі крові визначали імуноферментним методом, використовуючи реактиви Axis® «Axis-Shield AS» (Норвегія) на приладі «Stat-Fax» (США). Концентрацію гомоцистеїну визначали у 20 жінок О групи (43,5%) та 30 осіб групи П (34,5%).

Статистично результати опрацювали на персональному комп'ютері. Для обчислень використали комп'ютерну

програму Graph Pad Prism. Для порівняння груп використовували дисперсійний аналіз, непарний t-тест, тест Манна – Уїтні, критерій χ^2 із перетворенням таблиць спряженості та поправкою Йейтса, точний критерій Фішера. Для зручності розрахунків кожному генотипу (нормальна гомозигота, гетерозигота і патологічна гомозигота) привласнювали номер – 1, 2 і 3 відповідно. Для визначення статистичних зв'язків розраховували критерій рангової кореляції (r). Основним для всіх розрахунків уважали рівень вірогідності $p < 0,05$. Для оцінювання зв'язку розраховували відносний ризик (RR – relative risk) і показник відношення шансів (OR – odds ratio). Для кожного з показників розраховували 95% довірчий інтервал (ДІ).

Результати та їх обговорення

Середній вік жінок і розподіл за віковими категоріями між групами практично не відрізнявся: в О групі – $26,98 \pm 0,9$ року, у групі П – $28,98 \pm 0,65$ року ($p > 0,05$).

Аналіз репродуктивної функції засвідчив: кількість жінок із пологами в анамнезі та середня кількість пологів у однієї жінки у групі з акушерськими ускладненнями була меншою, ніж у групі без ускладнень. Відповідно, кількість первісток у О групі вірогідно більша 35 (76,09%), ніж у групі порівняння 44 (50,57%) ($p < 0,05$, OR=3,1; 95% ДІ 1,4–6,9, RR=1,5, 95% ДІ 1,16–1,96). ПЕ однаково часто ускладнювала акушерський анамнез у групах дослідження.

Середній строк початку ПЕ в О групі ($29,02 \pm 0,55$ тижня), що в 1,19 раза менше, ніж у групі П ($34,45 \pm 0,25$ тижня) ($p < 0,001$) (рис. 1). Тривалість існування ПЕ у групі з ускладненнями ($4,48 \pm 0,47$ тижня) більша в 1,7 раза, ніж у групі П ($2,63 \pm 0,18$ тижня, $p < 0,001$). З'ясували, що дебют прееклампсії в термін 28 тижнів гестації або раніше збільшує відносний ризик розвитку ускладнень у 34,04 раза ($p < 0,001$, RR=34,04, 95% ДІ 4,69–247,1), а тривалість існування ПЕ більша ніж 5 тижнів збільшує відносний ризик розвитку ускладнень у 3,57 раза (95 % ДІ 1,73–7,38).

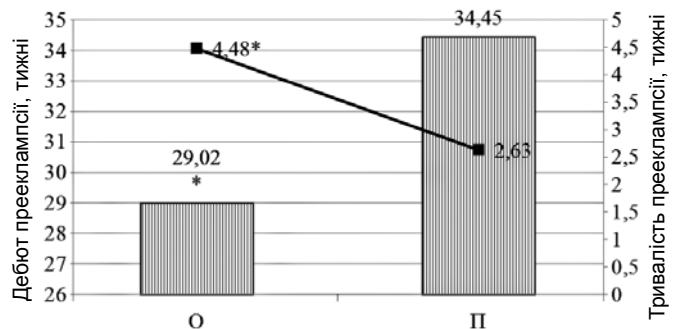


Рис. 1. Середній термін початку і тривалість прееклампсії у вагітних.

Примітка: * – різниця показників статистично вірогідна ($p < 0,05$).

Середній гестаційний вік на момент пологів у О групі ($33,50 \pm 0,57$) був на 3,44 тижня менше, ніж у групі порівняння ($36,94 \pm 0,27$, $p < 0,001$). Це пов'язано з тяжкістю прееклампсії та розвитком ускладнень, що потребувало дострокових пологів. В основній групі прееклампсією легкого ступеня мали 7 (15,22%) жінок; це менше, ніж у



групі порівняння (57 – 65,52%, $p < 0,001$; $OR = 0,09$; 95% ДІ 0,04–0,25). У групі з ускладненнями прееклампсією середнього або важкого ступеня мали 39 (84,78%) жінок, що більше, ніж у групі П – 30 (34,48%) ($p < 0,001$; $OR = 10,59$; 95% ДІ 4,23–26,5, $RR = 2,46$, 95% ДІ 1,79–3,37). Набряки різного ступеня вираженості відзначили у більшості жінок обох груп: у 41 (89,13%) особи О групи, 69 (79,31%) групи П ($p > 0,05$).

Аналіз рівня гомоцистеїну виявив істотні відмінності між групами. В О групі ($n = 20$) рівень гомоцистеїну був у 1,23 раза більше ($19,41 \pm 1,42$ мкмоль/л), ніж у групі П ($n = 30$) ($15,72 \pm 0,98$ мкмоль/л) ($p < 0,05$). Крім того, в О групі у більшій кількості жінок рівень гомоцистеїну перевищував значення 15 мкмоль/л – 15 (75%) у порівнянні з групою П – 8 (26,67%) ($OR = 4,78$, 95% ДІ 1,84–12,4, $p = 0,002$). Однією з причин збільшеного рівня гомоцистеїну є мутація МТНFR. Це підтверджується кореляційним зв'язком ($r = 0,344$, $p = 0,015$), який ми визначили. Відносний ризик розвитку ускладнень, якщо рівень гомоцистеїну перевищує 15 мкмоль/л, в О групі вищий у 2,31 раза у порівнянні з групою П (95% ДІ 1,5–3,5). Гіпергомоцистеїнемія корелює з розвитком ускладнень, про що свідчить прямий кореляційний зв'язок ($r = 0,302$, $p = 0,03$).

Аналіз частот алелів і генотипів МТНFR 677 С→Т показав зниження частоти нормального генотипу СС в О групі (табл. 1). Його частота знижена в 1,5 раза, порівнюючи з групою П ($p < 0,05$, $OR = 0,38$, 95% ДІ 0,18–0,79; $RR = 0,54$, 95% ДІ 0,34–0,86). Кількість гетерозигот 677 СТ МТНFR, патологічних гомозигот 677 ТТ між групами дослідження вірогідно не відрізнялась. Порівнюючи частоти алелів С і Т визначили, що алель Т у групі із прееклампсією та ускладненнями трапляється в 1,78 раза частіше, ніж у групі без ускладнень ($p < 0,05$, $OR = 2,22$; 95% ДІ 1,26–3,88). Це збільшує відносний ризик розвитку ускладнень у 1,63 раза (95% ДІ 1,18–2,3).

Таблиця 1

Частота генотипів та алелів МТНFR 677С→Т у вагітних, n (P%)

Групи дослідження	Генотип			Алелі	
	СС	СТ	ТТ	677С	677Т
О (n=46)	21(45,65)*	17(36,96)	8(17,39)	59(64,13)*	33(35,87)*
П (n=87)	60(68,97)	19(21,84)	8(9,2)	139(79,89)	35(20,11)

Примітка: * – різниця показників статистично вірогідна з групою П ($p < 0,05$).

Несприятливий вплив мутації МТНFR на розвиток ускладнень пояснюємо порушеннями в системі гемостазу: підвищення агрегації, адгезії тромбоцитів, згортаючих властивостей крові. Це призводить до порушення мікроциркуляції в матково-плацентарній системі. Тромбофілічний вплив поліморфізму, який досліджували, підтверджує

Список літератури

1. Влияние гипергомоцистеинемии на тяжесть гипертензии у беременных и перинатальные исходы / Л.Е. Мурашко, Ф.С. Бадоева, З.Т. Бадоева Л.З. Файзуллин // Акушерство и гинекология. – 2010. – № 3. – С. 24–27.

прямий кореляційний зв'язок між концентрацією Д-дімеру та мутацією МТНFR 677 ТТ, що дорівнює 0,250 ($p < 0,01$).

Попередні дослідження [2] показали, що алельні варіанти 677 СТ (39,3%) і 677 ТТ (17,8%) траплялись частіше у плацентах жінок із ПЕ, ніж у контрольній групі (42,5% і 5% відповідно). Відомо, що каталітична активність цих варіантів становить відповідно 65% і 30% каталітичної активності при генотипі 677 СС. Крім того, при прееклампсії носії 677 ТТ генотипу мають знижений рівень фолатів і підвищений рівень ГЦ. Гіпергомоцистеїнемія збільшує ризик пошкодження судин плаценти у 2,28 раза, мутація МТНFR 677 ТТ – в 3,29 раза, а комбінація цих чинників – у 3,4 раза [7].

Спадкова причина ендотеліальної дисфункції (мутації МТНFR) – чинник, що підтримує та посилює знижену перфузію плаценти внаслідок її тромбування. На ранніх етапах це призводить до розвитку дистресу плода, ЗРП, вресіт – до ПВНПП, АЗП. Між поліморфізмом гена МТНFR 677 С→Т і розвитком ускладнень, кількісними характеристиками стану плода встановили кореляційний зв'язок (табл. 2).

Таблиця 2

Аналіз взаємозв'язків поліморфізму гена МТНFR677 С→Т із розвитком ускладнень і характеристиками стану плода (коефіцієнти кореляції Спірмена)

Показники	МТНFR 677 С→Т	Р
Розвиток ускладнень (ні – 0, так – 1)	0,225*	0,009
Вага новонародженого, кг	-0,185*	0,038
Зріст новонародженого, см	-0,131	0,143
Оцінка за шкалою Апгар на 1 хв, бали	-0,076	0,39
Оцінка за шкалою Апгар на 5 хв, бали	-0,08	0,39
Індекс резистентності артерії пуповини	0,22	0,121
Систолю-діастолічне співвідношення артерії пуповини	0,228	0,108
Оцінка децелерацій, бали	-0,267*	0,007
Сумарна оцінка КТГ, бали	-0,115	0,205

Примітка: * – оцінювання статистичної значущості коефіцієнта кореляції ($p < 0,05$).

Висновки

Імовірність акушерських і перинатальних ускладнень у вагітних із ПЕ значно збільшена при гіпергомоцистеїнемії.

Однією із причин збільшеної концентрації гомоцистеїну в сироватці крові є мутація МТНFR 677ТТ.

Носії алелю Т мають збільшений відносний ризик розвитку ускладнень в 1,63 раза (95% ДІ 1,18–2,3).

Перспективи подальших досліджень полягають у розробці прогностичного алгоритму для визначення ризику розвитку прееклампсії та пов'язаних із нею ускладнень у вагітних із мутацією МТНFR та при гіпергомоцистеїнемії.

2. Марценюк О.П. Фолат-залежні процеси у плаценті людини: роль фолієвої кислоти, гомоцистеїну та поліморфізму ген аметилентетрагідрофолатредуктази : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня к.біол.н. : спец. 03.00.04 «Молекулярна біологія» / О.П. Марценюк. – К., 2010. – 20 с.



3. Молекулярно-генетический анализ полиморфных маркеров генов, ответственных за функционирование факторов эндотелиальной системы в связи с осложненным протеканием беременности / М.Г. Спиридонова, Е.А. Трифонова, С.В. Фадюшина и др. // Медицинская генетика. – 2007. – Т. 6. – № 7. – С. 38–42.
 4. Мурашко Л.Е. Содержание гомоцистеина, фолатов и витамина В12 в крови беременных с преэклампсией / Л.Е. Мурашко, Л.З. Файзуллин, Ф.С. Бадоева // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 4. – С. 22–25.
 5. Ходжаева З.С. Ранняя и поздняя преэклампсия: парадигмы патобиологии и клиническая практика / З.С. Ходжаева, А.М. Холин, Е.М. Вихляева // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 10. – С. 4–11.
 6. Homocysteine induces trophoblast cell death with apoptotic features / N. DiSimone, N. Maggiano, D. Caliandro et al. // Biol. Reprod. – 2003. – Vol. 69. – № 4. – P. 1129–1134.
 7. Khosrowbeygi A. Circulating levels of homocysteine in preeclamptic women / A. Khosrowbeygi, H. Ahmadvand // Bangladesh Med. Res. Counc. Bull. – 2011. – Vol. 7. – № 3. – P. 106–109.
 8. Makedos G. Homocysteine, folic acid and B12 serum levels in pregnancy complicated with preeclampsia / G. Makedos, A. Papanicolaou, A. Hitoglou // Arch. Gynecol. Obstet. – 2007. – Vol. 275. – № 2. – P. 121–124.
- References**
1. Murashko, L. Ye., Badoyeva, Z. T., Badoyeva, F. S., Faizullin, L. Z. (2010). Vliyaniye gipergomocisteinemii na tyazhest' gipertenzii u beremennykh i perinatal'nye iskhody [Impact of hyperhomocystinemia on the severity of hypertension in pregnant women and on perinatal outcomes]. *Akusherstvo i ginekologiya*, 3, 24–27. [in Russian].
 2. Martseniuk, A. P. (2010) *Folat-zalezni protsesy u platsenti liudyny: rol foliievoi kysloty, homotsysteinu ta polimorfizmu hena metylenetetrahidrolatreduktazy* (Avtoref. dis... kand. biol. nauk). [Folate-dependent processes in human placenta: the role of folate, homocysteine and polymorphism methylenetetrahydrofolate reductase] (Extended abstract of candidate's thesis). Kyiv. [in Ukrainian].
 3. Spiridonova, M. G., Trifonova, E. A., Fadushyna, S. V., Didenko, L. I., Eremina, E. R., Minaicheva, L. I., et al. (2007) Molekulyarno-geneticheskij analiz polimorfnykh markerov genov, otvetstvennykh za funkcionirovaniye faktorov endotelial'noj sistemy v svyazi s oslozhnennym protekaniem beremennosti [Molecular-genetics analysis of the polymorphic markers of the genes involved in endothelial system function in connection with abnormal pregnancy]. *Medicinskaya genetika*, 6(7), 38–42. [in Russian].
 4. Murashko, L. E., Faizullin, L. Z., Badoyeva, F. S. (2012). Soderzhanie gomocisteina, folatov i vitamina B12 v krovi beremennykh s pree'klampsiej [Levels of Homocysteine, Folate, and Vitamin B₁₂ in the blood of pregnant women with preeclampsia]. *Akusherstvo i ginekologiya*, 4, 22–25. [in Russian].
 5. Khodzhaeva, Z. S., Kholin, A. M., Vikhlyayeva, E. M. (2013). Rannyya i pozdnyaya pree'klampsiya: paradigmy patobiologii i klinicheskaya praktika [Early and late preeclampsia: pathobiology paradigms and clinical practice]. *Akusherstvo i ginekologiya*, 10, 4–11. [in Russian].
 6. Di Simone, N., Maggiano, N., Caliandro, D., Riccardi, P., Evangelista, A., Carducci, B., & Caruso, A. (2003) Homocysteine induces trophoblast cell death with apoptotic features. *Biol Reprod*, 69, 1129–1134. doi: <http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod.103.015800>.
 7. Khosrowbeygi, A., & Ahmadvand, H. (2011). Circulating levels of homocysteine in preeclamptic women. *Bangladesh Medical Research Council Bulletin*, 37(3), 106–109.
 8. Makedos, G., Papanicolaou, A., Hitoglou, A., Kalogiannidis, I., Makedos, A., Vrazioti, V., & Goutzioulis, M. (2007). Homocysteine, folic acid and B12 serum levels in pregnancy complicated with preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet*. 275(2), 121–124. doi: 10.1007/s00404-006-0223-2.

Відомості про автора:

Лоскутова Т.О., к. мед. н., доцент каф. акушерства та гінекології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»,
E-mail: Loskutovata@gmail.com.

Поступила в редакцію 14.09.2014 г.