

УДК 612.60575.2:613.99-07:618.3-06

ПРЕКОНЦЕПЦИОННЫЙ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ МОЛОДЫХ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН НА ПРЕДИКЦИЮ ОСЛОЖНЕНИЙ БЕРЕМЕННОСТИ

© 2014 Н.И. Фролова, Т.Е. Белокриницкая, Н.Н. Страмбовская

Читинская государственная медицинская академия

Поступила в редакцию 15.11.2014

Изучены частотные характеристики полиморфизмов генов (*FVL-169G>A*, *FII-20210G>A*, *AGTRI-1166A>C*, *NO3-894G>C*), ассоциированных с риском тромбофилии, гипертензии и осложнениями гестации, у 130 молодых здоровых женщин, планирующих беременность. В ходе исследования *FVL-1691AA* и *FII-20210AA* не выявлены, а частота *FVL-1691GA* (0,8%), *FII-20210GA* (1,5%), *NO3-894CC* (10,0%) была ниже ($p < 0,05$) или равна *AGTRI-1166CC* (7,7%) общепопуляционной. Вывод: преконцепционное исследование молекулярно-генетических предикторов тромбофилии и артериальной гипертензии должно проводиться избирательно, при наличии отягощенного индивидуального и/или семейного анамнеза.

Ключевые слова: *генетический полиморфизм*, *FVL-1691G>A*, *FII-20210G>A*, *AGTRI-1166A>C*, *NO3-894G>C*, *преконцепционная подготовка*

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 *FVL-1691G>A* и *FII-20210G>A* матери и такими осложнениями беременности, как невынашивание, задержка роста плода, преэклампсия/эклампсия и преждевременная отслойка плаценты [6-8, 12-15]. Обнаружена взаимосвязь между мутантными аллелями полиморфизма генов ангиотензиногена *AGTRI-1166A>C*, и эндотелиальной синтазы окиси азота *NO3-894G>C* с возникновением преэклампсии [3-5, 11].

Цель работы: изучение распространенности молекулярно-генетических предикторов тромбофилии и артериальной гипертензии у молодых здоровых женщин, планирующих беременность.

Фролова Наталья Ивановна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии факультета повышения квалификации. E-mail: taasyaa@mail.ru

Белокриницкая Татьяна Евгеньевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии факультета повышения квалификации. E-mail: tanbell24@mail.ru

Страмбовская Наталья Николаевна, кандидат медицинских наук, доцент, заведующая лабораторией молекулярной генетики НИИ молекулярной медицины. E-mail: strambovskaaya@yandex.ru

Материалы и методы. На этапе преконцепционной подготовки было проведено генотипирование 130 здоровых женщин 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 тромбоемболий. 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*) 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 тромбофилия», «КардиоГенетика Гипертония» (ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Москва) [9]. 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 исследования и их 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. Распространенность аллелей 1691A и 1691G полиморфизма *FVL-1691G>A* была 0,996 и 0,004, соответственно. Среди исследуемых 98,5% (128/130) были гомозиготными (20210GG), а 1,5% (2/130) гетерозиготными (20210GA) носителями полиморфизма *FII-20210G>A*. Показатели частоты аллелей 20210A и 20210G полиморфизма *FII-20210G>A* составили 0,992 и 0,008, соответственно (табл. 1). 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].

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 [2, 6], выявлено лишь 7,7% (10/130), что статистически значимо отличается от показателя в европейских популяциях 21,5% ($p < 0,05$) [10].

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, 4, 5]. 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). В целом в исследуемой когорте частота встречаемости аллеля С полиморфизма *NO3-894G>C* была в 2,8 раза меньше, чем аллеля G (0,261 и 0,739, соответственно), а мутантные гомозиготы с генотипом *NOS3-894CC* идентифицировались кратно реже (10%), чем в европеоидных популяциях (30-40%, $p < 0,05$) [1, 10].

Таблица 1. 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-1166 A>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

Выводы: отсутствие мутантных гомозиготных генотипов *FVL G1691A* и *FII G20210A*, 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 артери-

альной 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.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Баранов, В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. – СПб.: Н-Л, 2009. 528 с.
2. Богданов, И.Г. Распространенность мутации FVL (Лейден) на территории Забайкалья // И.Г. Богданов, А.С. Богданова, Н.А. Миронова и др. / Дальневосточный медицинский вестник. 2007. № 1. С. 33-34.
3. Глотов, А.С. Полиморфизм генов ренин-ангиотензиновой системы и риск развития сосудистой патологии у беременных женщин с гестозом // А.С. Глотов, Е.С. Ващукова, М.Д. Канаева и др. / Журнал акушерства и женских болезней. 2012. № 3. С. 61-68.
4. Долгушина, В.Ф. Акушерские осложнения при различных формах артериальной гипертензии у беременных / В.Ф. Долгушина, В.С. Чулков, Н.К. Верейна, С.П. Синицын // Акушерство и гинекология. 2013. №10. С. 33-39.
5. Benedetto, C. Synergistic effect of renin-angiotensin system and nitric oxide synthase genes polymorphisms in pre-eclampsia / C. Benedetto, L. Marozio, G. Ciccone et al. // Acta Obstet. Gynecol. Scand. 2007. Vol. 86 (6). P. 678-682.
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 / L.A. Bradley, G.E. Palomaki, J. Bienstock et al. // Genet Med. 2012 Jan. V. 14(1). P. 39-50.
7. Habibovic, Z. Effects of inherited thrombophilia in women with recurrent pregnancy loss / Z. Habibovic, B. Zeybek, C. Sanhal et al. // Clin. Exp. Obstet. Gynecol. 2011. V. 38(4). P. 347-350.
8. Helgadottir, L.B. The association of inherited thrombophilia and intrauterine fetal death: a case-control study / L.B. Helgadottir, F.E. Skjeldestad, A.F. Jacobsen et al. // Blood Coagul. Fibrinolysis. 2011. V. 22(8). P. 651-656.
9. http://dna-technology.ru/instr-equ/instr_reagents/ (Дата доступа 30 октября 2014).
10. <http://www.snpedia.com/index.php/SNPedia> (Дата доступа 30 октября 2014).
11. Kuśmierska-Urban, K. Selected polymorphisms of renin-angiotensin system in the pathology of hypertensive disorders of pregnancy / K. Kuśmierska-Urban, K. Rytlewski, A. Reroń // Ginekol. Pol. 2013. V. 84 (3). P. 214-218.
12. 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. V. 7 (6). e1000292. Режим доступа: <http://www.plosmedicine.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pmed.1000292> (30 октября 2014).
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 / R. Slezak, L. Laczmański, P. Karpiński, D. Reszczyńska-Slezak // Ginekol. Pol. 2011 Jun. V. 82(6). P. 446-450. [Article in Polish].
14. Pasińska, M. Molecular diagnostic tests for thrombophilia in patients referred to genetic counseling clinic because due to recurrent pregnancy failure. One center's experience / M. Pasińska, K. Soszyńska, A. Runge et al. // Ginekol. Pol. 2012. V. 83 (3). P. 178-182.
15. Vavrinková, B. Thrombophilic mutation by women with serious pregnancy complications / B. Vavrinková, T. Binder, I. Hadacová et al. / Ceska Gynekol. 2012 Apr. V. 77(2). P. 171-174. [Article in Czech].

PRECONCEPTIONAL MOLECULAR AND GENETIC SCREENING OF YOUNG HEALTHY WOMEN ON PREDICTION OF PREGNANCY COMPLICATIONS

© 2014 N.I. Frolova, T.E. Belokrinitskaya, N.N. Strambovskaya

Chita State Medical Academy

Frequency characteristics of genes polymorphisms (*FVL-169G>A*, *FII-20210G>A*, *AGTR1-1166A>C*, *NO3-894G>C*, associated with risk of thrombophilia, hypertension and gestation complications, at 130 young healthy women planning pregnancy are studied. During the research *FVL-1691AA* и *FII-20210AA* aren't revealed, and frequency *FVL-1691GA* (0,8%), *FII-20210GA* (1,5%), *NO3-894CC* (10,0%) was lower ($p<0,05$) or *AGTR1-1166CC* (7,7%) of the all-population is equal. Conclusion: preconceptional research of molecular and genetic predictors of a thrombophilia and arterial hypertension has to be carried out selectively, in the presence of the burdened individual and/or family anamnesis.

Key words: *genetic polymorphism*, *FVL-1691G>A*, *FII-20210G>A*, *AGTR1-1166A>C*, *NO3-894G>C*, *preconceptional care*

Nataliya Frolova, Candidate of Medicine, Assistant at the Department of Obstetrics and Gynecology at the Professional Development Faculty. E-mail: taasyaa@mail.ru; Tatiana Belokrinitskaya, Doctor of Medicine, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology at the Professional Development Faculty. E-mail: tanbell24@mail.ru; Natalia Strambovskaya, Candidate of Medicine, Associate Professor, Chief of the Molecular Genetics Laboratory at the Molecular Medicine Scientific Research Institute. E-mail: strambovskaya@yandex.ru