

Медико-генетична діагностика спадкової схильності до невиношування вагітності, репродуктивних втрат

В.П. Міщенко, І.В. Руденко, М.Б. Запорожченко, В.В. Колесникова, С.В. Андреев
Одеський національний медичний університет

На основі аналізу генетичних моделей (генні сітки) генів схильності: колагену 2-го типу (COL2A1 6846C/A), інгібітору активаторів плазміногена-1 (PAI-1 PLANH1), супероксиддисмутази (SOD1 7958 G/A), глутатіон-S-трансферази (GSTM1), N-ацетилтрансферази-2 (NAT2) у 327 жінок показана їхня роль у репродуктивних втратах мультифакторної природи, що асоційовані з акушерсько-перинатальними ускладненнями. При значенні відносної суми балів у середині генної сітки у конкретної жінки більше 1,1 – ризик вродженої схильності розвитку гестаційних ускладнень підвищений, у діапазоні від 0,9 до 1,1 – ризик не виражений, менше 0,9 – ризик мінімальний. Зазначені вище дослідження можуть мати прогностичне значення на етапі планування вагітності та дозволяють спланувати превентивні заходи.

Ключові слова: медико-генетична діагностика, спадкова схильність, невиношування вагітності, репродуктивні втрати.

Невиношування вагітності є патологічним процесом в материнському організмі, що виникає у відповідь на імплантацію та розвиток заплідненої яйцеклітини, яка містить материнську і батьківську генетичну інформацію [2].

У структурі репродуктивних втрат близько 25% складає звичне невиношування. Ризик втрати плода після першого втрьох становить 13–17%, після другого – 36–38%, після третього – 40–45% [4].

Останніми десятиріччями доведено, що однією з основних причин невиношування вагітності на ранніх термінах як мультифакторної патології є різноманітні генетичні фактори (хромосомні обертації, генні мутації, спадкова схильність). Так, самовільний аборт в ранні терміни трактується (Баранов, 2009), як «еволюційний механізм елімінації неповноцінних нащадків». Останнє підкреслює практичне значення визначення генів-кандидатів, асоційованих з ризиком невиношування на етапі передконцепційної підготовки [3].

Мультифакторні захворювання, акушерсько-перинатальні ускладнення проходять детермінацію цілою групою генів. У групі генів-кандидатів, що асоційовані з ризиком невиношування вагітності виявлено гени: колагену 2-го типу (COL2A1 6846C/A), інгібітору активаторів плазміногена-1 (PAI-1 PLANH1), супероксиддисмутази (SOD1 7958 G/A), глутатіон-S-трансферази (GSTM1), N-ацетилтрансферази-2 (NAT2) та інші [1, 3].

Преконцепційна профілактика репродуктивних втрат – це одне з найактуальніших завдань сучасної медицини, яке пояснюється зростанням частоти даної патології. Низький рівень генетичного моніторингу, недостатньо активне прогнозування гестаційних ускладнень – основні складові проблеми невиношування та профілактики акушерсько-перинатальних ускладнень [2, 5].

Ідентифікація функціональних генетичних моделей (генні сітки), що асоційовані з мультифакторними хворобами, акушерсько-перинатальними ускладненнями дозволяють встановити спадкову схильність до певних захворювань і їхнього несприятливого перебігу та запланувати превентивні заходи. Зазначені вище процеси можуть мати прогностичне значення на етапі планування вагітності.

Мета дослідження: на основі аналізу генетичних моделей (генні сітки) генів схильності: колагену 2-го типу (COL2A1 6846C/A), інгібітору активаторів плазміногена-1 (PAI-1 PLANH1), супероксиддисмутази (SOD1 7958 G/A), глутатіон-S-трансферази (GSTM1), N-ацетилтрансферази-2 (NAT2) визначити їхню роль у репродуктивних втратах мультифакторної природи, що асоційовані з акушерсько-перинатальними ускладненнями, та виборі преконцепційної профілактики.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В амбулаторних та стаціонарних умовах проведено обстеження 327 жінок – скринінгове генетичне тестування на наявність проблеми невиношування, ризику розвитку акушерсько-перинатальних ускладнень та його роль у виборі преконцепційної профілактики. Із них тестування проведено під час вагітності у 21 вагітній з неускладненим перебігом вагітності, пологів, післяпологового періоду, що народили здорових дітей (контрольна група I). Тестування у групі II (102 вагітні з ознаками акушерсько-перинатальних ускладнень, яким виконували стандартні лікувально-профілактичні заходи) проведено під час гестації. У групі III (204 жінки, яким за 3–4 міс до запліднення та під час гестації здійснено відпрацьовані та вдосконалені профілактичні заходи щодо акушерсько-перинатальних ускладнень) тестування проведено за 3–4 міс до запліднення.

Формування груп ризику щодо проблеми невиношування та розвитку акушерсько-перинатальних ускладнень проводили з урахуванням наявності першої вагітності, репродуктивних втрат в анамнезі (викидні, мертвородження, анембріонія, антенатальна загибель плода, завмерла вагітність, передчасні пологи тощо), акушерських кровотеч (передчасне відшарування плаценти, кровотечі, що пов'язані з пологами), генетично детермінованих факторів, генетичної схильності виникнення, наявності епігенетичних чинників (якість навколишнього середовища місць мешкання батьків I, II поколінь; фактора незбалансованого харчування; професійних шкідливостей; табакопаління), наявності захворювань та станів, що виникають за участі дисплазії сполучної тканини (Т.Ю. Смольнова, 2003), поліморфізму генів-кандидатів, що асоційовані з ризиком акушерсько-гінекологічної патології, гіповітамінозом вітамінів групи В, заплідненням у зимово-весняний період року на фоні вживання лікарських, гомеопатичних препара-

Частота поліморфізму досліджуваних генів

Генотипи	Групи					
	I, n-21		II, n-102		III, n-204	
	Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%
Поліморфізм гена COL2A1 6846C/A						
C/C	15	71,4	7	6,9*	20	9,8*
A/A	1	4,8	59	57,8*	105	51,5*
C/A	5	23,8	36	35,3	79	38,7
Поліморфізм гена PAI-1 PLANH1 675 5G/4G						
5G/5G	14	66,7	9	8,8*	21	10,3*
4G/4G	1	4,8	67	65,7*	109	53,4*
5G/4G	6	28,6	26	25,5	74	36,3
Поліморфізм гена ферменту SOD1 7958 G/A						
A/A	3	14,3	71	69,6*	84	41,2*
G/G	18	85,7	20	19,6*	41	20,1*
G/A	-	-	11	10,8	79	38,7
Поліморфізм гена ферменту GST m1						
+/+	10	47,6	8	7,8*	57	27,8
0/0	9	42,9	74	72,5*	113	55,6
+/0	2	9,5	20	19,6	34	16,7
Поліморфізм гена ферменту NAT2						
R/R	4	19,0	20	19,6	20	9,8
S/S(S1-481T)	6	28,6	21	20,6	173	84,8*
S/S(S2-590A)	6	28,6	61	59,8*	11	5,4

Примітка: * – $p < 0,01$ по відношенню до контрольної групи.

ратів, БАД, з наявністю ознак ГРВІ у ранні терміни вагітності, перинатальних інфекцій, кров'янистих виділень у ранні (від 0 до 8 тиж) терміни зі статевих шляхів.

Згідно з Наказом МОЗ України № 624 від 03.11.2008 р. прегравідарна підготовка включала:

1. Припинення шкідливих впливів: відмова від паління, вживання алкоголю, виключення впливу факторів шкідливого промислового виробництва, уникнення психоемоційних перевантажень та стресів.

2. Оздоровлення жінки/чоловіка та лікування хронічних захворювань: нормалізація режиму праці та відпочинку, створення сприятливих психоемоційних станів на виробництві та в сім'ї (побуті), раціональне харчування, регулярні фізичні навантаження (ранкова гімнастика, плавання, прогулянки тощо), санація екстрагенітальних вогнищ хронічної інфекції (тонзиліт, гайморит, пієлонефрит), нормалізація маси тіла, вакцинація проти краснухи, гепатиту В.

Підготовка пацієнок з хронічними екстрагенітальними захворюваннями включала:

– при цукровому діабеті – стійка компенсація вуглеводного метаболізму протягом 3 міс до запліднення та призначення фолієвої кислоти в дозі 800 мкг/день за 3 міс до запліднення;

– при артеріальній гіпертензії – підтримання нормотензії, перехід на антигіпертензивні препарати, які дозволені до застосування під час вагітності;

– при гіпотиреозі – корекція замісної терапії L-тироксинам для досягнення еутиреоїдного стану;

– при епілепсії – перехід на протисудомні засоби з меншою негативною дією на плід, збільшення дози фолієвої кислоти до 800 мкг на день за 3 міс до запліднення;

– при вадах серця – радикальне хірургічне лікування за показаннями;

– при хворобах, що потребують постійної антикоагулянтної терапії, – відміна тератогенних кумаринових похідних, призначення гепарину;

– при інших екстрагенітальних захворюваннях – хірургічне лікування, корекція терапії, досягнення ремісії хвороби;

– виявлення та лікування ВІЛ-інфекції.

Визначення генотипів досліджуваних генів проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Встановлення ступеня ризику вродженої схильності розвитку гестаційних ускладнень у конкретної пацієнтки для кожного алеля досліджуваних генів проводили в балах. Наявності умовно нормального алеля відповідало 0 балів, функціонально ослабленого алеля – 1 бал. Потім підраховували суму балів для даної генної сітки і ділили її на число проаналізованих генів (у даному випадку – 5) або генетичних варіантів, якщо у одному гені є більше одного поліморфізму для визначення відносної суми балів, за формулою $Y = m/k$, де m – сума балів усіх індивідуальних генотипів, k – число вивчених генів або генетичних варіантів. Якщо одержане значення відносної суми балів у середині генної сітки більше 1,1, – ризик вродженої схильності розвитку гестаційних ускладнень підвищений, у діапазоні від 0,9 до 1,1 – ризик не виражений, менше 0,9 – ризик мінімальний [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Визначення частоти поліморфізму досліджуваних генів у досліджуваних групах представлено в таблиці.

Колаген 2-го типу – найбільш поширений білок матриксу сполучної тканини. У гені COL2A1 6846C/A ідентифіковано декілька варіантів поліморфізму (C/C, C/A,

A/A), із яких алель A – неповноцінний. Результатом наявності A-алелей є підвищена експресія гена COL2A1, що приводить до появи функціонально неповноцінних гомо-тримерних колагенових волокон. У групі I частота нормальних гомозиготних генотипів C/C складає 15 (71,4%). Гомозиготні поліморфні генотипи A/A у контрольній групі визначені у 1 (4,8%), гетерозиготні C/A – у 5 (23,8%). Показники не виходили за межі популяційних даних для європеїдної раси.

У групі III частота гомозиготних генотипів A/A складала 105 (51,5%) випадків, гомозиготних C/C – 20 (9,8%) ($p < 0,01$), гетерозиготних C/A – 79 (38,7%).

У групі II частота поліморфного гомозиготного генотипу (C/C) складає 7 (6,9%) випадків, гомозиготного генотипу (A/A) – 59 (57,8%) ($p < 0,01$), гетерозиготного генотипу (C/A) – 36 (35,3%) відповідно. Величина співвідношення шансів розвитку акушерсько-перинатальних ускладнень (odds ratio, OR) у групі II складала 1,5 і знаходилась у межах довірчого інтервалу (CI – 0,53–2,69; $P = 0,95$).

Одержані дані підтверджують ризик розвитку акушерсько-перинатальних ускладнень у вагітних групи II як результат порушення процесів колагеноутворення у вигляді недиференційованої дисплазії сполучної тканини внаслідок наявності поліморфізму гена COL2A1 6846C/A та підтверджують існування суттєвого зв'язку поліморфізму гена COL2A1 6846C/A по A/A і C/A-алелям з розвитком невиношування та акушерсько-перинатальних ускладнень.

Інгібітор активаторів плазміногена-1 (Plasminogen Activator Inhibitor-1, PAI-1) перешкоджає фібринолізу і кодується геном PAI-1 PLANH1 675 5G/4G. У носіїв алелей 4G концентрація PAI-1 вище, ніж у носіїв алелей 5G, що призводить до підвищення ризику порушення функцій плаценти і невиношування вагітності.

У групі I частота нормального гомозиготного генотипу 5G/5G складала 14 (66,7%), гомозиготного генотипу 4G/4G – 1 (4,8%), гетерозиготного генотипу 5G/4G – 6 (28,6%). Показники не виходили за межі популяційних даних.

Гомозиготний поліморфний генотип 4G/4G у групі III визначений у 109 (53,4%) випадках, 5G/5G – у 21 (10,3%) ($p < 0,01$), гетерозиготний генотип 5G/4G – у 74 (36,3%).

У групі II частота поліморфного гомозиготного генотипу 4G/4G складає 67 (65,7%) випадків, гомозиготного генотипу 5G/5G – 9 (8,8%) ($p < 0,01$), гетерозиготного генотипу 5G/4G – 26 (25,5%) відповідно.

Величина співвідношення шансів у групі II складала 2,0 і знаходилась у межах довірчого інтервалу (CI) – 0,53–2,69; $P = 0,95$.

Супероксиддисмутаза кодується геном SOD1 7958 G/A, поліморфізм якого представлено гомозиготними алелями G/G, гетерозиготними – G/A, при яких активність СОД1 не виходить за межі популяційних показників, та гомозиготним варіантом A/A, при якому активність СОД1 різко знижується. Поліморфний гомозиготний генотип A/A у групі I зустрічається у 3 (14,3%) спостереженнях, гомозиготний генотип G/G – у 18 (85,7%).

У групі III поліморфний гомозиготний генотип A/A зустрічається у 84 (41,2%) спостережень, G/G – у 20,1%, що достовірно відрізнялася від групи I ($p < 0,01$). Гетерозиготний варіант G/A діагностовано у 79 (38,7%) випадках.

У групі II ознаки поліморфізму генотипу A/A виявляли у 71 (69,6%), генотипу G/G – у 20 (19,6%) ($p < 0,01$), генотипу G/A – у 11 (10,8%). Величина співвідношення шансів у групі II складала 1,6 і знаходилась в межах довірчого інтервалу (CI) – 0,53–2,19; $P = 0,95$. Вищенаведене певною мірою пояснює неспроможність антиоксидантного захисту та ри-

зик виникнення інфекційних процесів у обстежуваного контингенту на генетичному рівні.

Група ферментів II фази детоксикації представлена су-персімейством глутатіон-S-трансфераз (GST), ацетил-трансферазами (NAT).

У пацієнтів із делецією гена ферменту GST μ 1 підвище-на чутливість до ксенобіотиків. Делеція гена призводить до повної втрати функції ферменту. Генетично детермінована активність глутатіонтрансфераз впливає на розвиток різних форм репродуктивних порушень.

У групі I та III частота нормальних гомозиготних алелей +/+ складає 10 (47,6%), 57 (27,8%). Гомозиготні делеційні алелі у контрольній групі визначені у 9 (42,9%), у групі III – у 113 (55,6%) ($p > 0,05$). Дані показники не виходили за межі популяційних даних для європеїдної раси (42,2–52,3%).

У групі II частота делеційних гомозигот (0/0) складає 72,5% ($p < 0,01$). Коефіцієнт OR у групі III дорівнював 2,2, у групі II – 9,6. Шанси розвитку акушерсько-перинатальних ускладнень знаходились в межах довірчого інтервалу (CI) – 0,53–11,9; $P = 0,95$. Одержані дані підтверджують ризик розвитку акушерсько-перинатальних ускладнень як результат порушення процесів метаболізму ксенобіотиків у II фазі детоксикації, внаслідок наявності делеційного геноти-пу глутатіон-S-трансферази m1 (GST m1 0/0) та підтверд-жують наявність суттєвого зв'язку поліморфізму по 0/0 алелях гена GST m1 з наявністю даних ускладнень. Прове-дена передконцепційна підготовка не виключає можливості розвитку ускладнень, але знижує їхню частоту.

N-ацетилтрансфераза-2 належить до ферментів II фази детоксикації ксенобіотиків. У гена, який кодує фермент, визначають алель прискороного метаболізму R/R з відсутністю мутацій, повільно ацетилюючі алелі S2 та S1.

У групі I алель прискороного метаболізму NAT2*4 (R/R) з відсутністю мутацій, що кодує фермент швидкого ацетилювання, склав 19,0%. Мутагенний повільно ацетилюючий гомозиготний алель (S/S) S1 та повільно ацетилюючий гомозиготний алель (S/S) S2 були характерними у 28,6% випадків кожний.

У групі II частота повільно ацетилюючого алеля S2 складала 59,8%, а в групі III частота повільно ацетилюючого алеля S1 – 84,8%. Різниця у показниках достовірна ($p < 0,05$). У групі II коефіцієнт OR для алеля S2 склав 3,1, а у групі III OR для алеля S1 дорівнював 6,5.

ВИСНОВКИ

Таким чином, шанси розвитку гестаційних ускладнень з точки зору наявності поліморфних алелей генів схильності: колагену 2-го типу (COL2A1 6846C/A), інгібітору активаторів плазміногена-1 (PAI-1 PLANH1), супероксид-дисмутази (SOD1 7958 G/A), глутатіон-S-трансферази (GSTm1), N-ацетилтрансферази-2 (NAT2) знаходяться у межах довірчого інтервалу та показана їхня роль у репро-дуктивних втратах мультифакторної природи, що асоційо-вані з акушерсько-перинатальними ускладненнями, та у виборі прекоцепційної профілактики.

Ідентифікація функціональних генетичних моделей (генні сітки), що асоційовані з репродуктивними втратами мультифакторної природи, акушерсько-перинатальними ускладненнями, дозволяють встановити спадкову схиль-ність до певних захворювань. При значенні відносної суми балів у середині генної сітки у конкретної жінки більше 1,1 – ризик вродженої схильності розвитку гестаційних уск-ладнень підвищений, у діапазоні від 0,9 до 1,1 – ризик не виражений, менше 0,9 – ризик мінімальний.

Наведені вище дослідження можуть мати прогностичне значення на етапі планування вагітності та дозволяють спланувати превентивні заходи.

Медико-генетическая диагностика наследственной склонности к невынашиванию беременности, репродуктивных потерь
В.П. Мищенко, И.В. Руденко, М.Б. Запорожченко, В.В. Колесникова, С.В. Андреев

На основе анализа генетических моделей (генные сетки) генов склонности: коллагена 2-го типа (COL2A1 6846C/A), ингибитора активаторов плазминогена-1 (PAI-1 PLANH1), супероксиддисмутазы (SOD1 7958 G/A), глутатион-S-трансферазы (GST μ 1), N-ацетилтрансферазы-2 (NAT2) у 327 женщин показана их роль в репродуктивных потерях мультифакторной природы, которые ассоциированы с акушерско-перинатальными осложнениями. При относительной сумме баллов в середине генной сетки у конкретной женщины более 1,1 – риск врожденной склонности к развитию гестационных осложнений повышен, в диапазоне от 0,9 до 1,1 – риск не выражен, меньше 0,9 – риск минимальный. Приведенные выше исследования могут иметь прогностическое значение на этапе планирования беременности и позволяют наметить превентивные меры.
Ключевые слова: *медико-генетическая диагностика, наследственная склонность, невынашивание беременности, репродуктивные потери.*

Medico-genetic diagnostics of hereditary predisposition to non carry pregnancy, reproductive losses
V.P. Mishchenko, I.V. Rudenko, M.B. Zaporozhchenko, V.V. Kolesnikova, S.V. Andreev

Role is shown on the basis of the analysis of genetical models (gene grids) propensity genes: collagen 2 type (COL2A1 6846C/A), inhibitor of activators plasminogen-1 (PAI-1 PLANH1), superoxydismutasa (SOD1 7958 G/A), glutation-S-transferasa (GST μ 1), N-Acetyl transferasa – 2 (NAT2) in reproductive losses of the multifactor nature, which associating with gestational-perinatal complications at 327 women. The risk of congenital propensity to development gestational complications is raised at a relative score in the middle of a gene grid more than 1,1 at the concrete woman, the risk is not expressed in a range from 0,9 to 1,1, risk is minimum at a relative score less than 0,9. Above specified researches can have prognostic value at a stage of planning of pregnancy and allow to plan preventive measures.
Key words: *medico-genetic diagnostics, hereditary propensity, non carry pregnancy, reproductive losses.*

Сведения об авторах

Мищенко Валентина Павловна – Одесский национальный медицинский университет, 65026, г. Одесса, пер. Валиховский, 2.
 E-mail: mischenko_vasil@i.ua
Руденко Ирина Васильевна – Одесский национальный медицинский университет, 65026, г. Одесса, пер. Валиховский, 2
Запорожченко Марина Борисовна – Одесский национальный медицинский университет, 65026, г. Одесса, пер. Валиховский, 2
Колесникова Виктория Владимировна – Одесский родильный дом №2, 65000, г. Одесса, ул. Старопортофранковская, 24
Андреев Сергей Владимирович – Одесский родильный дом №1, 65000, г. Одесса, пер. Слепнева, 3

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вплив мутації інгібітору активатора плазміногену – I типу та мутації фібриногену В на виношування вагітності / К.В. Воронин, Т.О. Лоскутова, Н.В. Кравченко [та ін.] // Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України. – Київ: Інтермед, 2011. – С. 113–116.
2. Запорожан В.М. Сучані погляди на діагностику гестаційних ускладнень / В.М. Запорожан, В.П. Мищенко, І.В. Руденко // Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України. – К.: Інтермед, 2011. – С. 369–372.
3. Определение наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности. Генетическая карта репродуктивного здоровья: методические рекомендации / В.С. Баранов, Т.Э. Иващенко, А.С. Глотов [и др.]; под ред. В.С. Баранова и Э.К. Файла-мазяна. – СПб.: «Изд-во Н-Л», ООО, 2009. – 68 с.
4. Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности / Сидельникова В.М. – М.: Триада, 2005. – 308 с.
5. Zimmer R.L. The clinical use of genetics and molecular biomarkers: a public health perspectives / R.L. Zimmer // Europ. J. Human Genetics. – 2008. – Vol. 16, Suppl. 2. – P. 7.

Статья поступила в редакцию 02.04.2014