

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ОБМЕНА С УРОВНЕМ ГОМОЦИСТЕИНА У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

Гриневич Т.Н., Ляликов С.А.

Гродненский государственный медицинский университет
Кафедра клинической лабораторной диагностики и иммунологии

В структуре привычного невынашивания беременности (ПНБ) важное место занимают наследственные и приобретенные тромбофилии, одной из причин которых является гипергомоцистеинемия (ГГЦ) [1]. Гомоцистеин (ГЦ) образуется из метионина путем трансметиленовых реакций. Одним из ключевых ферментов в метаболическом пути превращения ГЦ является метилентетрагидрофолатредуктаза (MTHFR). Нарушения этого фермента приводят к избыточному накоплению ГЦ в плазме крови – гипергомоцистеинемии. В возникновении ГГЦ в сочетании с дефицитом фолатов практическое значение имеют две мутации гена MTHFR – C677T и A1298C [1].

Целью данного исследования являлось изучение связи между уровнем ГЦ в плазме крови и полиморфизмом генов фолатного обмена у женщин с ПНБ.

Материал и методы. Нами было обследовано 128 женщин с привычным невынашиванием беременности. Возраст наблюдаемых женщин составил от 22 до 46 лет, медиана (Me) – 30,0 лет, нижняя квартиль (Q25) – 26,0, верхняя квартиль (Q75) – 32,0 года. Критериями включения в исследование были привычное невынашивание беременности, т. е. наличие в анамнезе женщины подряд трех и более самопроизвольных прерываний беременности в сроках до 22 недель. Критериями исключения из исследования явились соматические и гинекологические заболевания, влияющие на репродуктивную функцию. Контрольную группу составили 34 женщины с двумя и более физиологическими родами в анамнезе, не имеющие клинических проявлений повышенного тромбообразования. У женщин этой группы был известен благоприятный акушерский анамнез, отсутствие самопроизвольных выкидышей и других акушерских осложнений. Возраст женщин контрольной группы составил от 24 до 48 лет, Me – 37,2 года, Q25 – 28,0 лет, Q75 – 42,0 года.

У всех женщин основной и контрольной групп методом ПЦР исследовали полиморфизм гена MTHFR (C677T и A1298C) с использованием реагентов фирмы «Литех» (Россия) согласно инструкции по применению. Детекцию продуктов амплификации проводили в режиме реального времени на амплификаторе Rotor-Gene 6000/Q. По результатам анализа давали три типа заключений: гомозигота по нормальной аллели; гетерозигота и гомозигота по патологической аллели. Анализ осуществляется по кривым накопления фо-

нового сигнала от каждого образца. Для работы с набором «SNP-экспресс-SHOT» использовались каналы HEX/Yellow и FAM/Green. Исследование концентрации гомоцистеина в плазме крови проводили на иммуноферментном анализаторе фирмы Architect (Abbot Laboratories S.A.). Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q).

Результаты и обсуждение. Полиморфизм гена MTHFR C677T у женщин с ПНБ имел место в 48,8% процентах случаев (у 60 пациенток), в контрольной группе – в 41,2%. Частота гомозигот по T-аллелю гена MTHFR в группе женщин с ПНБ составила 8,4% и не отличалась от частоты встречаемости в контрольной группе (8,8%, 95%ДИ 0,7-18,3). Частота генотипов C/T и C/C составила 40,2% и 51,4% соответственно в группе женщин с ПНБ против 32,4% (95%ДИ 16,7-48,1) и 58,8% (95%ДИ 42,3-75,3) в контрольной группе. Полиморфный вариант гена MTHFR (A1298C) выявлен у 66 женщин (51,6%) с ПНБ, причем гомозиготное носительство C/C определялась в 12,1% случаев, гетерозиготное (A/C) – в 46,7%, благоприятное гомозиготное (A/A) – в 41,2%. В контрольной группе частота встречаемости варианта A1298C составила 50,0% (C/C 8,8% (95%ДИ 0,7-18,3), A/C – 41,2% (95%ДИ 24,7-57,7) и A/A – 50% (95%ДИ 33,2-66,8) соответственно (различия частот статистически недостоверны)). Таким образом, частоты встречаемости исследуемых вариантов гена MTHFR C677T и A1298C у женщин с ПНБ находились в диапазоне частот, определяемых в контрольной группе.

У 23 (40,3%) пациенток с ПНБ выявлены комбинации двух неблагоприятных генотипов по мутациям фолатного цикла. Примечательно, что в ходе исследования в гене MTHFR ни у одной женщины нами не было обнаружено одновременно двух гомозиготных полиморфных вариантов гена MTHFR (T/T C677T и C/C A1298C). Последнее можно объяснить тем, что эти замены C677T и A1298C произошли независимо друг от друга на разных хромосомах. Возможно также, что индивидуумы, несущие замены в обеих позициях на одной хромосоме, нежизнеспособны. Такие аномальные генотипы наблюдали P. Isotalo и соавт. в своей работе на абортивном плодном материале [2].

У 13 женщин с ПНБ с различными полиморфизмами гена MTHFR определяли уровень общего гомоцистеина в плазме крови. В одном случае уровень гомоцистеина у небеременной женщины превысил верхнюю границу нормы и составил 17,0 мкмоль/л. У этой пациентки было выявлено два гетерозиготных варианта генов MTHFR C677T и A1298C. Во всех остальных случаях уровень гомоцистеина находился в пределах референтных значений (4,44-13,56 мкмоль/л) и составлял 5,48 (4,39-8,36) мкмоль/л. Причем, во всех

случаях у женщин встречался только один вариант полиморфизма гена MTHFR (гетерозиготный или гомозиготный). По современным данным уровень ГЦ в крови более 10 мкмоль/л уже считается независимым фактором риска тромбоваскулярной болезни [3]. В нашем исследовании гомоцистеинемия равная или более 10 мкмоль/л тоже не наблюдалась, за исключением случая указанного выше.

Анализ уровня гомоцистеина в зависимости от генотипа показал: у 7 женщин с гетерозиготным носительством аллеля С677Т или А1298С в гене MTHFR уровень ГЦ составил 6,03(4,7-8,36) мкмоль/л, у 6 женщин с гомозиготным носительством аллеля С677Т или А1298С в гене MTHFR уровень ГЦ составил 4,4(3,39-5,81) мкмоль/л. Тем самым, мы не нашли связи между «дозой» патологических аллелей Т и С гена MTHFR и уровнем ГЦ в крови у женщин с ПНБ. Возможно, это связано с недостаточно репрезентативной выборкой пациентов.

Анализ уровня гомоцистеина у беременных и небеременных показал: в группе беременных уровень ГЦ составил 5,7 (4,39-8,36) мкмоль/л, незначительно превысив уровень ГЦ в группе небеременных 5,37 (4,67-5,81) мкмоль/л. Следует отметить, что уровень гомоцистеина снижается на 50–60% от исходного во время физиологической беременности [1]. Однако вопрос о референтных значениях уровня ГЦ в разные trimestры беременности до настоящего времени остается не решенным.

Вывод.

Распространённость полиморфных вариантов гена MTHFR у женщин с ПНБ находится в диапазоне генотипов контрольной группы. Не выявлено связи изолированного гетерозиготного или гомозиготного носительства генов MTHFR с гипергомоцистеинемией. Однако сочетание гетерозиготных генотипов (С/Т С677Т и А/С А1298С) исследованных генов может ассоциироваться с повышенным уровнем гомоцистеина.

Литература

1. Макацария А.Д. Гипергомоцистеинемия и осложнения беременности / А.Д. Макацария [и др.] ; под общ. ред. А.Д. Макацария. – Москва: «Триада-Х», 2005. – 216 с.
2. Isotalo P.A. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolatereductase genetic polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutations. / P.A. Isotalo [et al.] // Am J HumGenet– 2000.Vol. 67.– P. 986-990.
3. Родионов, Р.Н. Современные представления о гипергомоцистеинемии как факторе риска сердечно-сосудистых заболеваний / Р.Н. Родионов, С.Р. Лентц // Артериальная гипертензия. – 2008. – Т. 14. – № 1. – С.110–115.