

<https://doi.org/10.21682/2311-1267-2021-8-3-50-58>

Особенности течения гестационного процесса при носительстве генотипов *F5L:G(1961)A* и *F2:G(20210)A* и варианты наследования

М.Г. Николаева^{1,2}, Л.А. Строзенко¹, Н.Н. Ясаfoва³, А.П. Момот^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 656038, Барнаул, пр. Ленина, 40; ²Алтайский филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России; Россия, 656024, Барнаул, ул. Ляпидевского, 1; ³КГБУЗ «Краевая клиническая больница»; Россия, 656024, Барнаул, ул. Ляпидевского, 1

Контактные данные: Людмила Анатольевна Строзенко strozen@mail.ru

Цель исследования — установить особенности наследования генотипов *F5L:G(1961)A* и *F2:G(20210)A* и оценить их влияние на течение и исходы беременности.

Материалы и методы. Объектом исследования являлись 70 пар мать—ребенок: 50 женщин, носители мутации *F5L:G(1961)A*, и их дети; 20 пациенток, носительниц мутации *F2:G(20210)A*, и их дети. Дополнительно исследовано 18 семей женщин-носителей мутации фактора V Лейден в 3 поколениях.

Результаты. Носительство генотипов *F5:(1961)GA* и *F2:(20210)GA* внутриутробными плодами ассоциировано с риском развития гестационных осложнений у их матерей, которые в первую очередь реализуются при проявленном материнском лабораторном фенотипе. Определена большая частота встречаемости минорного аллеля *A20210* гена *FII* у детей, чем у старшего поколения ($p = 0,0006$).

Ключевые слова: генотип *F5:(1961)GA*, генотип *F2:(20210)GA*, каноническое распределение, резистентность *Va* фактора к активированному протеину C (APC-R), активность протромбина, гестационные осложнения

Для цитирования: Николаева М.Г., Строзенко Л.А., Ясаfoва Н.Н., Момот А.П. Особенности течения гестационного процесса при носительстве генотипов *F5L:G(1961)A* и *F2:G(20210)A* и варианты наследования. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2021;8(3):50–8.

Features of the course of the gestational process with the carriage of genotypes *F5L:G(1961)A* and *F2:G(20210)A* and inheritance options

M.G. Nikolaeva^{1,2}, L.A. Strozenko¹, N.N. Yasafova³, A.P. Momot^{1,2}

¹Altai State Medical University, Ministry of Health of Russia; 40 Lenin Prosp., Barnaul, 656038, Russia; ²Altai Branch of the National Medical Research Center of Hematology, Ministry of Health of Russia; 1 Lyapidevsky St., Barnaul, 656024, Russia;

³Regional Clinical Hospital; 1 Lyapidevsky St., Barnaul, 656024, Russia

Aim of the study — to establish the features of inheritance of the *F5L:G(1961)A* and *F2:G(20210)A* genotypes and to assess their influence on the course and outcomes of pregnancy.

Materials and methods. The object of the study was 70 mother—child pairs: 50 women, carriers of the *F5L:G(1961)A* mutation, and their children; 20 female patients, carriers of the *F2:G(20210)A* mutation, their children. Additionally, 18 families of women, carriers of the factor V Leiden mutation, in three generations were studied.

Results. Carriage of the *F5:(1961)GA* and *F2:(20210)GA* genotypes in fetuses is associated with the risk of developing gestational complications in their mothers, which are primarily realized when the maternal laboratory phenotype is manifested. A higher frequency of occurrence of the minor allele *A20210* of the *FII* gene was determined in children than in the older generation ($p = 0,0006$).

Key words: genotype *F5:(1961)GA*, genotype *F2:(20210)GA*, canonical distribution, resistance of factor *Va* to activated protein C (APC-R), prothrombin activity, gestational complications

For citation: Nikolaeva M.G., Strozenko L.A., Yasafova N.N., Momot A.P. Features of the course of the gestational process with the carriage of genotypes *F5L:G(1961)A* and *F2:G(20210)A* and inheritance options. Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology 2021;8(3):50–8.

Информация об авторах

М.Г. Николаева: д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии с курсом ДПО АГМУ, старший научный сотрудник Алтайского филиала НМИЦ гематологии, e-mail: nikolmg@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9459-5698>, SPIN-код: 8295-9290

Л.А. Строзенко: д.м.н., профессор, директор Института педиатрии и профессор кафедры пропедевтики детских болезней АГМУ, e-mail: strozen@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8586-1330>, SPIN-код: 4116-1023

Н.Н. Ясаfoва: врач-гематолог КГБУЗ «Краевая клиническая больница», e-mail: jasafova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5568-9122>, SPIN-код: 3881-3932

А.П. Момот: д.м.н., профессор, директор Алтайского филиала НМИЦ гематологии, e-mail: xyzan@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8413-5484>, SPIN-код: 8464-9030

Information about the authors

M.G. Nikolaeva: Dr. of Sci. (Med.), Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology with the course of DPO at Altai State Medical University, Ministry of Health of Russia, Senior Researcher Altai Branch National Medical Research Center of Hematology, Ministry of Health of Russia, e-mail: nikolmg@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9459-5698>, SPIN-code: 8295-9290

L.A. Strozenko: Dr. of Sci. (Med.), Professor, Director of the Institute of Pediatrics and Professor of the Department of Propedeutics of Childhood Diseases at Altai State Medical University, Ministry of Health of Russia, e-mail: strozen@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8586-1330>, SPIN-code: 4116-1023

N.N. Yasafova: Hematologist at the Regional Clinical Hospital, e-mail: jasafova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5568-9122>, SPIN-code: 3881-3932

A.P. Momot: Dr. of Sci. (Med.), Professor, Director of the Altai Branch National Medical Research Center of Hematology, Ministry of Health of Russia, e-mail: xyzan@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8413-5484>, SPIN-code: 8464-9030

Вклад авторов

М.Г. Николаева: разработка дизайна статьи, анализ научного материала, написание текста рукописи, составление резюме

Л.А. Строзенко: анализ полученных данных, обзор публикаций по теме статьи, подготовка списка литературы

Н.Н. Ясафова: анализ полученных данных, подготовка списка литературы

А.П. Момот: идея проекта исследования, научное редактирование статьи

Authors' contributions

M.G. Nikolaeva: development of the design of the article, analysis of scientific material, writing the text of the manuscript, composing a resume

L.A. Strozenko: analysis of the data obtained, review of publications on the topic of the article, preparation of a list of references

N.N. Yasafova: analysis of the data obtained, preparation of a list of references

A.P. Momot: research project idea, scientific editing of the article

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. / **Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки. / **Funding.** The study was performed without external funding.

Введение

Изучение молекулярно-генетических основ многофакторных заболеваний является одной из главных задач предиктивной медицины. Наследственная предрасположенность, обусловленная мутациями генов белков системы гемостаза, играет значительную роль в развитии тромбоз-ассоциированных заболеваний, которые занимают передовое место среди многофакторных нозологий человека [1, 2]. Генетическое исследование предикторов сосудистых осложнений, в частности венозных тромбоэмболий (ВТЭ), позволяет решать вопросы ранней диагностики, своевременного назначения адекватной терапии, дает возможность разработки более эффективных схем первичной профилактики.

Наряду с изучением риска развития ВТЭ последние 20 лет активно исследуется связь мутаций генов белков системы гемостаза, таких как мутация Лейден и мутация гена протромбина, с риском развития гестационных осложнений, определяющих перинатальную заболеваемость и смертность: преэклампсия (ПЭ), задержка роста плода (ЗРП), преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты (ПОНРП) и преждевременные роды (ПР) [3–5]. Имеющаяся доказательная база патогенетически обоснованной профилактики как тромботических, так и гестационных осложнений у носительниц тромбофилических генотипов позволяет избежать фатальных осложнений во время беременности как со стороны матери, так и плода. Но, учитывая, что обе мутации характеризуются аутосомно-доминантным типом наследования, потенциально увеличиваются шансы наследственной передачи аномальных генов новорожденным, приводя к росту популяционной распространенности тромбофилических рисков.

Все вышесказанное делает несомненно актуальным поиск генетических маркеров, предрасполагаю-

щих к тромбозу в детском возрасте, когда существует вероятность прогнозирования сосудистых осложнений на доклиническом уровне, возможность проведения первичной профилактики, и установления факторов, способствующих реализации генетических программ [6].

Представленная работа выполнена в рамках многоцентрового проспективного наблюдательного когортного исследования по вопросу пенетрантности мутации Лейден ($F5L:G(1961)A$) и мутации гена протромбина ($F2:G(20210)A$) на территории России. Проект с 2008 г. реализуется в 4 городах — Барнаул, Новосибирск, Казань и Санкт-Петербург. В 2020 г. исследование поддержано грантом губернатора Алтайского края. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России (протоколы: № 5 от 25.06.2012 и № 6 от 29.06.2020). Все пациенты — участники проекта подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Цель исследования — установить особенности наследования генотипов $F5L:G(1961)A$ и $F2:G(20210)A$ и оценить их влияние на течение и исходы беременности.

Материалы и методы

Материалом для исследования частоты встречаемости генотипов $F5L:G(1961)A$ и $F2:G(20210)A$ послужили образцы ДНК 70 пар мать—ребенок. Выделено 2 группы: 1-ю составили 50 женщин, гетерозиготные носители мутации Лейден, генотип $F5L:G(1961)A$, и их дети, во 2-ю вошли 20 пациенток, гетерозиготные носительницы мутации гена протромбина, генотип $F2:G(20210)A$, и их дети.

Показанием к генетическому тестированию женщин послужили: отягощенный личный тромботический анамнез ($n = 10$ ($F5L:G(1961)A$))

и $n = 3$ ($F2:G(20210)A$)) и отягощенный акушерский анамнез в виде антенатальной гибели плода, ПОНРП и тяжелой (ранней) ПЭ, реализованных в сроки гестации до 34 недель ($n = 40$ ($F5L:G(1961)A$) и $n = 17$ ($F2:G(20210)A$)).

Кроме того, обследовано 18 семей женщин-носителей гетерозиготного полиморфизма гена фактора V Лейден. Всего в семейное исследование включены 27 родителей-женщин: бабушек — 18 (66,7 %), средний возраст — $67,6 \pm 3,9$ года; дедушек — 9 (33,3 %), средний возраст — $70,9 \pm 5,0$ года.

Критерии включения в исследование:

- носительство мутаций у женщин (пробанд): гена протромбина ($F2:G(20210)A$) и мутация Лейден ($F5:G(1691)A$);
- информированное согласие пациенток на дополнительное обследование детей в целях проведения генетического тестирования;
- спонтанная одноплодная беременность, закончившаяся родами;
- дети, рожденные в исходе анализируемых беременностей.

Критерии исключения из исследования:

- декомпенсированная соматическая патология;
- аутоиммунные заболевания, включая антифосфолипидный синдром.

Всем участникам исследования проведено молекулярно-генетическое тестирование носительства исследуемых мутаций. Кроме того, у пробандов и их детей определялась лабораторная проявленность фенотипа в виде резистентности фактора Va к активированному протеину C (APC-R) по нормализованному отношению (НО) — при мутации $F5L:G(1961)A$ и уровень активности протромбина (%) в плазме крови — при мутации $F2:G(21210)A$. Необходимо отметить, что данные по течению и исходам беременностей, а также результаты лабораторных обследований матерей, проведенные в критические сроки гестации, представлены материалами, полученными в период 2010–2015 гг. [7]. Дети, рожденные в результате представленных в работе беременностей, обследованы спустя 7–10 лет (2017–2019 гг.) при получении информированного согласия матери на проведение генетического тестирования ребенка.

Наличие мутации генов $F5L:G(1961)A$ и $F2:G(21210)A$ определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием реактивов фирмы НПО «Литех» (Россия). Материалом для исследования являлась геномная ДНК человека, выделенная из лейкоцитов периферической крови. В основе анализа лежал метод ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием конкурирующих TagMan зондов, комплементарных полиморфной последовательности ДНК. Активность протромбина определялась с использованием дефицитной по фактору II плазмы реагента Тромборель S и автоматического коагулометра BCS XP (Siemens, Германия). APC-R определялась с помощью набора реагентов «Фактор V-PC-тест» (ООО фирма «Технология-Стандарт», Россия) по значению НО.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета статистического программного обеспечения MedCalc Version 17.9.7 (лицензия BU556-P12YT-BBS55-YAH5M-UBE51). Проверка вариационных рядов на нормальность распределения проводили с помощью теста Шапиро–Уилкоксона. Данные лабораторных показателей представлены в виде диаграмм рассеивания с диаграммами размаха («ящик с усами»). На диаграмме размаха представлены: медиана (Me) — середина выборки, изображена в виде маркера на внутренней линии каждого «ящика»; интерквартильный размах — интервал между 25-м и 75-м перцентилями, содержащий «центральные» 50 % наблюдений выборки, представлен на диаграммах в виде «ящика»; перцентили 25-й и 75-й (нижний и верхний квартили), содержащие четверть самых низких и четверть самых высоких значений в выборке, отображены в виде прямых линий («усов»), исходящих из «ящика». Сравнение рядов выполняли с использованием непараметрических методов. Соответствие распределения генотипических частот равновесию Харди–Вайнберга проверяли посредством критерия χ^2 , используя при этом онлайн-калькулятор (<https://www.oege.org/software/hardy-weiberg.shtml>). Состояние генного разнообразия оценивали вычислением индекса D — относительного отклонения наблюдаемой (Ho) гетерозиготности от ожидаемой (He). Критический уровень значимости различий (p) определен как $p < 0,05$.

Результаты

Клиническая характеристика пациенток групп исследования на момент анализируемой беременности, а также течение и исходы гестации без учета генотипа плода по представленным мутациям отражены в табл. 1.

Анализ клинико-анамнестических данных не выявил статистически значимых отличий по соматической патологии и характеру течения беременности в группах носителей мутации Лейден и мутации гена протромбина.

При проведении генетического тестирования детей, рожденных в исходе анализируемых беременностей, определено, что в группе женщин-носителей генотипа $F5L:G(1961)A$ родилось 24 ребенка с гомозиготным генотипом (частый аллель) $F5L(1961)GG$, а с гетерозиготным генотипом $F5L(1961)GA$ — 26 детей. Вместе с тем в группе женщин-носителей $F2:G(20210)A$ тестирование детей показало, что 9 детей имели гомозиготный генотип (частый аллель) $F2:(20210)GG$ и соответственно 11 — гетерозиготный генотип $F2:(20210)GA$.

Частота аллелей и генотипов в изученных генах факторов свертывания крови у детей проверена на соответствие равновесию Харди–Вайнберга, расчет наблюдаемых и ожидаемых генотипов проведен посредством критерия χ^2 с использованием онлайн-калькулятора (<https://www.oege.org/software/hardy-weiberg.shtml>) (табл. 2).

Таблица 1. Клиническая характеристика пациенток групп исследования в зависимости от носительства тромбофилического генотипа
Table 1. Clinical characteristics of patients in the study groups depending on the carriage of the thrombophilic genotype

Анализируемый параметр <i>Analyzed parameter</i>	Мать, генотип <i>Mother, genotype</i> <i>F5L(1961)GA, n = 50</i>		Мать, генотип <i>Mother, genotype</i> <i>F2:(20210)GA, n = 20</i>		<i>p</i>
	Абс. число <i>Abs.</i>	Удельный вес <i>Specific gravity</i>	Абс. число <i>Abs.</i>	Удельный вес <i>Specific gravity</i>	
Возраст пациентки на момент беременности <i>Patient's age at the time of pregnancy</i>	32 ± 2,1		33 ± 2,8		
Соматическая патология <i>Somatic pathology</i>	15	30,0 %	5	25,0 %	0,775
гипертоническая болезнь <i>hypertension</i>	7	14,0 %	3	15,0 %	1,000
Варикозная болезнь нижних конечностей <i>Varicose veins of the lower extremities</i>	5	10,0 %	1	5,0 %	0,666
Тромботические события в личном анамнезе <i>Personal history of thrombotic events</i>	10	20 %	3	15 %	0,775
Избыточная масса тела (индекс массы тела ≥ 25) <i>Overweight (body mass index ≥ 25)</i>	3	6,0 %	1	5,0 %	1,000
Течение анализируемой беременности <i>The course of the analyzed pregnancy</i>					
Благоприятное течение <i>Favorable course</i>	29	58,0 %	15	75,0 %	0,273
Осложнения гестации <i>Complications of gestation</i>	21	42,0 %	5	25,0 %	0,273
тяжелая ПЭ <i>severe preeclampsia</i>	7	14,0 %	1	5,0 %	0,424
ЗРП <i>fetal growth restriction</i>	6	12,0 %	3	15,0 %	1,000
ПОНРП <i>premature detachment of the placenta</i>	8	16,0 %	1	5,0 %	0,272

Таблица 2. Распределение генотипов и аллелей генов факторов свертывания крови у детей

Table 2. Distribution of genotypes and alleles of genes of blood coagulation factors in children

Локус <i>Locus</i>	Генотип <i>Genotype</i>	N.O., %	N.E., %	χ^2 d.f. = 1	Частота аллеля <i>Allele frequency</i>	Ho ± S.E. He ± S.E.	D
<i>F2:G20210A</i> (n = 20)	GG	45,0	52,6	2,877 <i>p</i> = 0,089	<i>G</i> = 0,725 <i>A</i> = 0,275	Ho = 0,550 ± 0,111 He = 0,399 ± 0,111	0,378
	GA	55,0	39,9				
	AA	0	7,5				
<i>F5:G1691A</i> (n = 50)	GG	48,0	54,8	6,172 <i>p</i> = 0,013	<i>G</i> = 0,740 <i>A</i> = 0,260	Ho = 0,520 ± 0,071 He = 0,385 ± 0,069	0,351
	GA	52,0	38,5				
	AA	0	6,7				

Примечание. N.O. — наблюдаемые частоты генотипов; N.E. — ожидаемые частоты генотипов; критерий χ^2 — оценка соответствия равновесию Харди–Вайнберга, число степеней свободы; Ho ± S.E. и He ± S.E. — соответственно наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность с ошибкой; D — относительное отклонение наблюдаемой гетерозиготности от ожидаемой.

Note. N.O. — observed frequencies of genotypes; N.E. — expected frequencies of genotypes; χ^2 — criterion assessment of compliance with the Hardy–Weinberg equilibrium, the number of degrees of freedom; Ho ± S.E. and He ± S.E. — respectively observed and expected heterozygosity with an error; D — the relative deviation of the observed heterozygosity from the expected.

В ходе исследования обнаружено отклонение от канонического распределения Харди–Вайнберга для частоты генотипа *1691GA* гена *F5* ($\chi^2 = 6,172$; $p = 0,013$). Определено, что фактическое распределение гетерозиготного генотипа *1691GA* гена *F5* значимо выше (52,0 %) по сравнению с теоретическим (38,5 %). Из табл. 2 следует, что при высокой частоте гетерозиготного носительства гена *F5* (наблюдаемая частота — N.O.) в дальнейшем в популяции детей возможен рост гомозиготного носительства минорного аллеля гена *F5* — 6,7 % (ожидаемая частота — N.E.).

Проведен анализ частоты встречаемости генотипа *1691GA* гена *F5* и генотипа *20210GA* гена *F5* в семьях женщин из групп включения. Молекулярно-генетическое тестирование проведено 27 родителям. Рас-

пределение генотипов и аллелей генов факторов свертывания крови у старшего поколения представлено в табл. 3.

При изучении распределения генотипов и аллелей гена фактора V и гена фактора II в старшем поколении отклонения от закона Харди–Вайнберга не обнаружено в отличие от младшего поколения (см. табл. 3).

Проведен расчет частоты аллелей полиморфных вариантов генов *F2:G(20210)A* и *F5L:G(1961)A* у детей и старшего поколения.

Выявлено, что минорный аллель *A20210* гена *F2* встречался достоверно чаще у детей (27,5 % против 3,7 %; $p = 0,0006$), чем у старшего поколения. По другим исследованным частотам аллелей в изученных генах достоверных различий не определялось.

Таблица 3. Распределение генотипов и аллелей генов факторов свертывания крови у старшего поколения

Table 3. Distribution of genotypes and alleles of genes of coagulation factors in the older generation

Локус Locus	Генотип Genotype	N.O., %	N.E., %	χ^2 d.f. = 1	Частота аллеля Allele frequency	Ho \pm S.E. He \pm S.E.	D
F2:G20210A (n = 27)	GG	92,6	92,7	0,0399 p = 0,842	G = 0,963 A = 0,037	Ho = 0,074 \pm 0,050 He = 0,071 \pm 0,049	0,0423
	GA	7,4	7,1				
	AA	0	0,2				
F5:G1691A (n = 27)	GG	51,9	57,6	2,7144 p = 0,099	G = 0,760 A = 0,240	Ho = 0,481 \pm 0,096 He = 0,366 \pm 0,093	0,3142
	GA	48,1	36,6				
	AA	0	5,8				

Сравнение частоты встречаемости изученных протромботических полиморфных вариантов генов у детей и старшего поколения продемонстрировано в табл. 4.

Таблица 4. Сравнение частоты встречаемости генотипов протромботических полиморфизмов у детей и старшего поколения

Table 4. Comparison of the frequency of occurrence of genotypes of prothrombotic polymorphisms in children and the older generation

Полиморфизм Polymorphism	Генотипы Genotypes	Дети Children	Старшее поколение Older generation	p
		n = 70 (%)	n = 27 (%)	
Фактор II Factor II n = 20	20210 G/G	9 (45,0)	25 (92,6)	0,0006
	20210 G/A	11 (55,0)	2 (7,4)	0,0006
	20210 A/A	0	0	0
Фактор V Factor V n = 50	1691 G/G	24 (48,0)	14 (51,9)	0,814
	1691 G/A	26 (52,0)	13 (48,1)	0,814
	1691 A/A	0	0	0

Из табл. 4 следует, что гетерозиготный генотип F2:(20210)GA значимо чаще встречался у детей, чем у старшего поколения (55,0 %, против 7,4 %) (p = 0,0006).

Вместе с тем различий в частоте носительства гетерозиготного полиморфизма 1691GA гена F5 в поколениях не обнаружено (см. табл. 4).

В дальнейшем мы проанализировали возможную ассоциативную связь генотипа плода с развитием плацентоопосредованных осложнений беременности. Как видно из рис. 1, при гомозиготном генотипе плода (F5L(1961)GG) течение беременности в 85 % случаев было благоприятным, при генотипе плода F5L(1961)GA риск развития гестационных осложнений увеличился в 4,7 раза (относительный риск (ОР) – 4,87; 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,92–12,36; p = 0,0001).

Анализ риска развития отдельных гестационных осложнений не выявил достоверных различий за исключением ПОНРП. В частности, риск развития ПЭ определен как 6,5 (ОР – 6,5; 95 % ДИ 0,8–50,1; p = 0,0725), ЗРП как 2,2 (ОР – 2,2; 95 % ДИ 0,4–10,8; p = 0,3448). В случае реализации ПОНРП определена достоверная ассоциативная связь с генотипом плода F5:(1961)GA (ОР – 7,6; 95 % ДИ 1,1–57,2; p = 0,0494). ПОНРП в паре мать F5L(1961)GA и ребенок F5L(1961)GA реализовалась в сроке гестации 28–30 нед в 7 наблюдениях. Все новорожденные дети переведены на 2-й этап выхаживания.

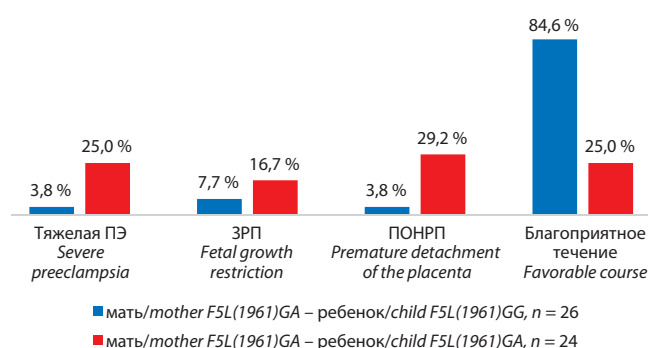


Рис. 1. Течение беременности у пациенток-носительниц генотипа F5L(1961)GA в зависимости от генотипа плода

Fig. 1. The course of pregnancy in female patients, carriers of the F5L(1961)GA genotype depending on the genotype of the fetus

Исследование ассоциативной связи генотипа плода с развитием гестационных осложнений у матерей-носителей генотипа F2:(20210)GA показало, что при гомозиготном генотипе по частому аллелю (F2:(20210)GG) у плода течение беременности в 90,9 % случаев было благоприятным, при гетерозиготном генотипе плода F2:(20210)GA благоприятных исходов беременностей было в 1,6 раза меньше, что не имело статистически значимой разницы (рис. 2).

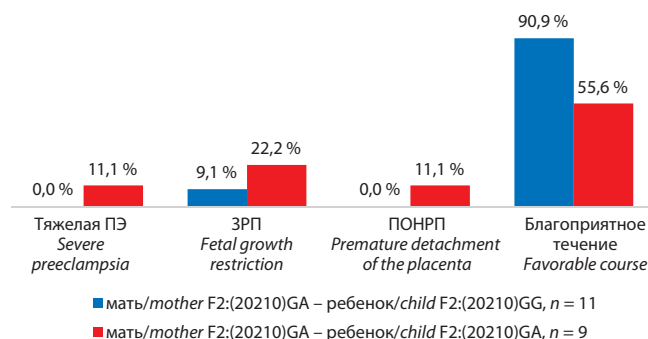


Рис. 2. Течение беременности у пациенток-носительниц мутации F2:(20210)GA в зависимости от генотипа плода

Fig. 2. The course of pregnancy in patients carrying the F2:(20210)GA mutation depending on the genotype of the fetus

Несмотря на отсутствие статистически значимой разницы частоты отдельных плацентоопосредованных осложнений, необходимо отметить, что все пациентки с ЗРП и ПЭ (33,3 %) были родоразрешены досрочно в сроках гестации 30–32 нед, а дети переведены на 2-й этап выхаживания. ПОНРП зарегистрирована в сроке 37 нед беременности, мама и ребенок выписаны домой.

Проанализирована также фенотипическая реализация генотипа $F5:(1961)GA$ в виде APC-R по НО и генотипа $F2:(20210)GA$, представленная активностью протромбина (%) у матерей в зависимости от характера течения беременности, и у рожденных в исходе анализируемых беременностей детей. Всем пациенткам исследование коагулологических показателей проведено во время гестации, в критические сроки становления и функционирования плаценты (рис. 3, 4).

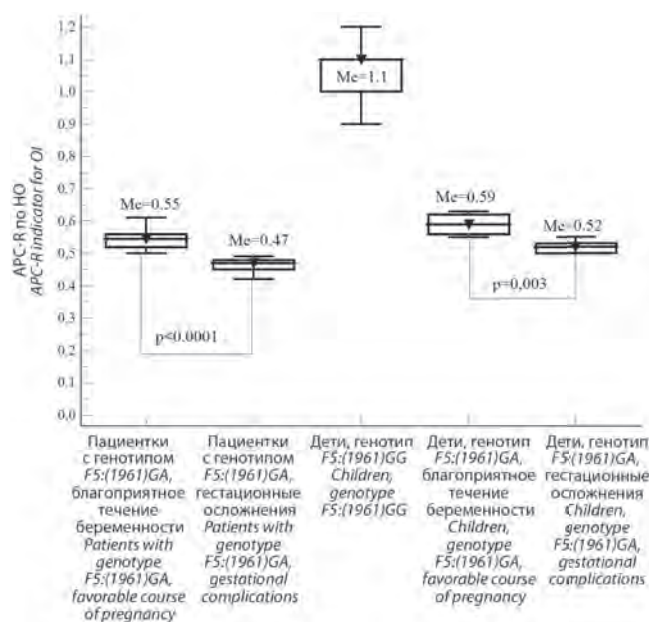


Рис. 3. Показатель APC-R по НО у пациенток (генотип $F5:(1961)GA$) и их детей (7–10 лет) в зависимости от характера течения беременности и наличия патологического аллеля $F5:(1961)A$ у ребенка

Fig. 3. APC-R indicator for OI in patients (genotype $F5:(1961)GA$) and their children (7–10 years old) depending on the nature of the course of pregnancy and the presence of the pathological allele $F5:(1961)A$ in the child

Как видно из рис. 3, Me показателя APC-R по НО у пациенток с гетерозиготным генотипом $F5:(1961)GA$ при патологическом течении беременности была достоверно ниже, чем при благоприятном. APC-R у детей, рожденных при развитии плацентопосредованных осложнений, был также достоверно ниже, чем в группе детей при физиологическом течении беременности.

При анализе активности протромбина у носителей гетерозиготного генотипа $F2:(20210)GA$ определено, что он был значимо выше при развитии гестационных осложнений. Обследование детей, рожденных от анализируемых беременностей, показало, что активность протромбина при осложненном течении беременности была значимо выше, чем при благоприятном, но сопоставима с аналогичным показателем у матерей при физиологическом течении беременности ($p = 0,801$).

Обсуждение

В представленной статье рассматривается наследование генотипов $F5:(1961)GA$ и $F2:(20210)GA$ в поко-

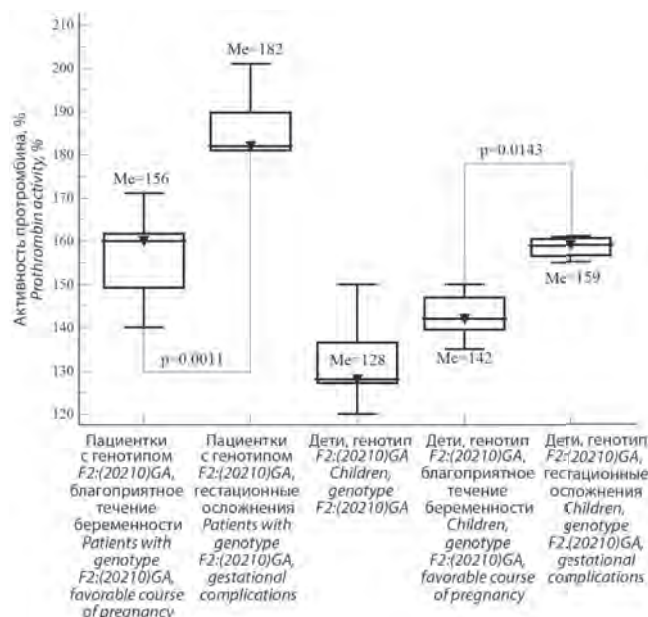


Рис. 4. Показатель активности протромбина (%) у пациенток с генотипом $F2:(20210)GA$ и их детей (7–10 лет) в зависимости от характера течения беременности и наличия патологического аллеля $F2:(20210)A$ у ребенка

Fig. 4. Indicator of prothrombin activity (%) in patients with genotype $F2:(20210)GA$ and their children (7–10 years old) depending on the nature of the course of pregnancy and the presence of pathological allele $F2:(20210)A$ in a child

лениях, а также их клиническая и фенотипическая реализация во время гестации. Получены интересные результаты по каноническому распределению Харди–Вайнберга для частоты генотипа $1691GA$ гена фактора V у детей. Выявлено статистически значимое отклонение ($p = 0,013$). По данным многих авторов, известно, что распространенность гетерозиготного полиморфизма $G1691A$ $F5$ Лейден встречается у 3–5 % европейцев и у 12–15 % кавказоидов [1, 2]. Исследователями установлено, что при носительстве мутантного аллеля A гена $F5$ риск тромбоза возрастает в 3–8 раз, а риск развития инсульта у детей – до 3–5 раз. Причем у европейских детей, перенесших инсульт, лейденская мутация обнаруживалась в 18 % случаев, у американских – в 20,2 % [2, 8], у российских – в 5,2 %, по данным И.Б. Комаровой и соавт. (2018) [9]. Частота наследования протромботических полиморфизмов в 3 поколениях рассмотрена Л.А. Строзенко и соавт. (2015). Выявлено, что генетический полиморфизм $F5$ Лейден, гетерозиготный вариант $1691GA$ встречался с достоверно значимой частотой у подростков 31 % ($p = 0,018$), тогда как в старшем поколении варианта этой мутации обнаружено не было. Данный результат позволил предположить, что это может быть связано с уже состоявшимися фатальными тромботическими событиями у старшего поколения и с возрастанием генетического «груза» в последующих поколениях [8].

При анализе распределения частот аллелей и генотипов в изученных генах факторов свертывания крови обнаружено, что у детей частота минорного аллеля $A20210$ гена $F2$ и гетерозиготный генотип $G20210A$ гена $F2$ встречались достоверно чаще, чем у старше-

го поколения ($p = 0,0006$). Данная закономерность подтверждена результатами многоцентрового исследования, проведенного нашими исследователями [10]. По данным литературы, частота встречаемости гетерозиготной мутации *20210GA* в общей популяции населения Европы не превышает 1–4 % [8, 9]. Наличие данного полиморфизма повышает риск венозных тромбозов в 3 раза, рекуррентных тромботических эпизодов – в 1,4–12 раз и является значимым фактором риска инсультов у детей и лиц молодого возраста [2, 6, 8]. Выявленные в нашем исследовании отклонения от канонического закона Харди–Вайнберга по распределению тромбофилических генов у младшего поколения можно рассматривать как смещение выборки по определенным показателям для реализации функциональной значимости рассматриваемых генотипов, т. е. возможность ранней реализации сосудистых событий у последующих поколений [11, 12]. В ранее проводимых работах авторами было определено, что наличие родственников 1-й и 2-й линии родства, перенесших острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), инфаркт миокарда до 50 лет, было зафиксировано у 30,9 % детей с ОНМК [13]. В исследовании О.А. Львовой и соавт. (2013) отягощенность семейного тромботического анамнеза выявлена у 35,5 % детей с ОНМК [14].

Как известно, отклонение от канонического распределения может быть обусловлено несколькими причинами, включая отбор. Уместно отметить, что в представленной выборке в ряде случаев новорожденные родились глубоко недоношенными и длительное время находились на этапе реабилитации, что определяет активное участие врачей-неонатологов в сохранении жизни новорожденных и исключение влияния естественного отбора. Также необходимо отметить, что все пациентки, включенные в исследование, наблюдались на специализированном приеме и получали патогенетически обоснованную профилактику тромбозов и гестационных осложнений, что, безусловно, способствовало доношиванию беременности до жизнеспособного возраста плода, с одной стороны, но потенциально увеличивало шансы наследственной передачи генов с мутацией новорожденным – с другой. Вместе с тем существует шкала для расчета риска тромбоэмболических осложнений во время беременности, согласно результатам подсчетов по которой определяется длительность использования низкомолекулярных гепаринов (НМГ) для профилактики тромбозов. По данным S.M. Bates (2018), установленный факт принят большинством научных сообществ по изучению тромбозов. Исследователь А.А. Eubanks (2019) рекомендует назначать НМГ для профилактики венозных тромбоэмболических осложнений во время беременности и соглашается с выводом о том, что, несмотря на небольшой абсолютный риск развития тромбозов в популяции беременных, основная неакушерская причина материнской смертности – это тромбоэмболия легочной артерии, а значит, тромбопрофилактика показана.

Важно отметить, что все осложнения беременности, обусловленные нарушением функции плаценты, – мультифакторные. Одной из основных задач настоящего исследования стало определение ассоциативной связи генотипа плода с характером течения беременности. Как известно, ассоциативный анализ служит для выявления связей между переменными. При изучении гестационных осложнений таких ассоциативных связей выявлено уже достаточное количество и, несомненно, будет предложено еще больше. В нашем исследовании определена ассоциативная связь переменной «генотип плода» с переменными «ПЭ» и «ПОНРП». Перед нами не стояло цели определить удельный вес фактора «генотип плода» в много(мульти)факторной модели прогноза развития гестационных осложнений – это задача последующих исследований.

Определено, что при генотипе плода *F5L(1961)GA* риск развития гестационных осложнений увеличивался в 4,7 раза (ОР – 4,87; 95 % ДИ 1,92–12,36; $p = 0,0001$), в основном за счет эпизодов ПОНРП (ОР – 7,6; $p = 0,0494$) в сроке гестации 28–30 нед – состоянии, угрожающем жизни как матери, так и плода. При изучении ассоциативной связи генотипа плода с развитием гестационных осложнений у матерей-носителей *F2:(20210)GA* выявлено, что благоприятных исходов беременностей было в 1,6 раза меньше, если плод был гетерозиготен – генотип *F2:(20210)GA*, но показатель не имел статистически значимой разницы. Данные результаты могут быть объяснены малым размером выборки.

Несомненно, новизной исследования является определение не только ассоциативной связи между патологическим генотипом, клиническая реализация которого происходит в 20 % случаев, а ассоциативная связь между переменными «лабораторно проявленный фенотип детей» и «плацентаопосредованные осложнения». Хочется отметить, что генетическое тестирование на определение полиморфизмов генов, кодирующих физиологические антикоагулянты, не проводится, так как их по каждому белку более 20. Соответственно, проще и эффективнее для принятия практических решений определять фенотипическую проявленность патологических генотипов в виде изменения активности и/или уровня кодируемых белков. Именно эти исследования необходимо экстраполировать на носителей мутации Лейден и мутации в гене протромбина, так как при снижении APC-R и при повышении активности протромбина выше пороговых значений абсолютный риск развития тромбозов увеличивается в десятки раз.

На основании полученных в представленной работе результатов можно предположить, что генотип плода оказывает влияние на становление плаценты, начиная с периода первичной плацентации, а рассматриваемые мутации являются промежуточным механизмом патогенеза плацентаопосредованных осложнений беременности. Как известно, одна из

причин развития гестационных осложнений – это неадекватная инвазия цитотрофобласта в 1-ю и/или 2-ю волну. В том числе и по причине тромбоза сосудов ворсин хориона. По данным А.Н. Дробинской и соавт. (2014), данный морфологический признак типичен для пациенток-носительниц тромбофилий. Академик А.Д. Макацария рассматривает ПОНРП как локальный тромбогеморрагический синдром [15].

На современном уровне развития медицинской науки пока невозможно изменить генетическую программу как матерей, так и их внутриутробных плодов. Возможно изучение фенотипической проявленности тромбофилического генотипа, в том числе в ассоциации с клинической реализацией в виде плацентоопосредованных осложнений. Ранее нами было показано, что у нормозиготных носителей относительно мутации Лейден – генотип *F5L:G(1961)G* – APC-R составляет более 0,80 по НО, а активность протромбина при «диком» генотипе *F2:G(20210)G* – не более 140 % [16]. Также в ранее представленных исследованиях определено, что для развития плацентоопосредованных осложнений беременности характерно снижение APC-R $\leq 0,49$ по НО [17] и повышение активности протромбина в плазме крови выше 180 % [18], т. е. клиническая реализация тромбофилического генотипа определяется его фенотипической проявленностью. Аналогичные результаты получены в представленной работе. Ме APC-R при развитии плацентоопосредованных осложнений определена как 0,47 по НО, а Ме активности протромбина – 182 %. Несмотря на то, что лабораторный фенотип детей (сибсы) носителей генотипов *F5:(1961)GA* и *F2:(20210)GA* изучался через 7–10 лет после обследования матерей, определена следующая закономерность – у детей-носителей генотипа *F5:(1961)GA*, рожденных в результате патологически протекающей беременности, показатель APC-R был значимо ниже, чем при физиологическом течении –

0,52 против 0,59 по НО ($p = 0,003$), при этом не достигнув критического значения 0,49 по НО. Аналогичная закономерность определена при изучении активности протромбина. У детей, рожденных при реализации плацентоопосредованных осложнений, определялась значимо большая активность протромбина – 159 % против 142 % ($p = 0,0143$).

Заключение

Безусловно, небольшая величина выборки, представленная в исследовании, и отсроченный срок обследования детей позволяют только предположить влияние проявленного фенотипа в виде APC-R и активности протромбина у детей с генотипами *F5:(1961)GA* и *F2:(20210)GA* на характер течения беременности. Создание регистра носителей генетических тромбофилий и проведение аналогичных исследований на достаточных по числу когортах позволят осуществлять прогнозирование сосудистых осложнений у детей на доклиническом уровне и определять алгоритм первичной персонифицированной профилактики.

Прослеживается отклонение канонического распределения закона Харди–Вайнберга при наследовании генотипов *F5:(1961)GA* и *F2:(20210)GA* у новорожденных в сторону большей частоты встречаемости, что, вероятно, сопряжено с использованием современных технологий оказания антенатальной и неонатальной помощи.

Носительство генотипов *F5:(1961)GA* и *F2:(20210)GA* внутриутробными плодами ассоциировано с риском развития гестационных осложнений у их матерей, которые в первую очередь реализуются при проявленном лабораторном фенотипе.

Ранняя диагностика данных мутаций у детей и их рациональная диспансеризация позволят сформировать группу риска для снижения вероятности развития тромботических и гестационных осложнений в онтогенезе.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Nowak-Gottl U., Kurnik K., Krumpel A., Stoll M. Thrombophilia in the young. *Haemostaseologie* 2008;28(1-2):16-20. doi: 10.1055/s-0037-1616930.
- Момот А.П. Проблема тромбофилии в клинической практике. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2015;1:36-48. doi: 10.17650/2311-1267-2015-1-36-48. [Momot A.P. The problem of thrombophilia in clinical practice. *Rossiyskiy zhurnal detskoj gematologii i onkologii* = Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology 2015;1:36-48. (In Russ.)].
- Rodger M.A., Walker M.C., Smith G.N., Wells P.S., Ramsay T., Langlois N.J., Carson N., Carrier M., Rennicks White R., Shachkina S., Wen S.W. Is thrombophilia associated with placenta-mediated pregnancy complications? A prospective cohort study. *J Thromb Haemost* 2014;12(4):469-78. doi: 10.1111/jth.13017.
- Shi X., Xie X., Jia Y., Li S. Maternal genetic polymorphisms and unexplained recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Clin Genet* 2017;91(2):265-84. doi: 10.1111/cge.12910.
- Kamali M., Hantoushzadeh S., Borna S., Neamatzadeh H., Mazaheri M., Noori-Shadkam M., Haghighi F. Association between Thrombophilic Genes Polymorphisms and Recurrent Pregnancy Loss Susceptibility in the Iranian Population: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Iran Biomed J* 2018;22(2):78-89. doi: 10.22034/ibj.22.2.78.
- Строзенко Л.А., Гордеев В.В., Лобанов Ю.Ф., Момот А.П., Колесникова М.А., Снигирь О.А. Частота носительства полиморфных вариантов генов факторов свертывания крови у подростков города Барнаула. Сибирское медицинское обозрение 2015;3(93):53-6. doi: 10.20333/25000136-2015-3-53-57. [Strozenko L.A., Gordeev V.V., Lobanov Yu.F., Momot A.P., Kolesnikova M.A., Snigir O.A. Frequency of carriage of polymorphic variants of blood coagulation factor genes in adolescents from the city of Barnaul. *Sibirskoye meditsinskoye obozreniye* = Siberian Medical Review 2015;3(93):53-6. (In Russ.)].
- Момот А.П., Николаева М.Г., Сердюк Г.В., Мамаев А.Н., Романов В.В., Кудинова И.Ю., Белозеров Д.Е., Трухина Д.А., Максимова Н.В., Вахлова Ж.И. Оценка состояния системы гемостаза при физиологически протекающей беременности. Алгоритмы обследования в группах риска. Тромбоз, гемостаз и реология 2019;4(80):80-130. doi: 10.25555/THR.2019.4.0903. [Momot A.P., Nikolaeva M.G., Serdyuk G.V., Mamaev A.N., Romanov V.V., Kudina I.Yu., Belozеров D.E., Trukhina D.A., Maksimova N.V., Vakhlova Zh.I. Assessment of the state of the hemostasis system during physiological pregnancy. Survey algorithms in risk groups. *Tromboz, gemostaz i reologiya* = Thrombosis, Hemostasis and Rheology 2019;4(80):80-130. (In Russ.)].
- Строзенко Л.А., Гордеев В.В., Лобанов Ю.Ф., Момот А.П. Распределение полиморфных вариантов генов факторов свертывания крови и генов фолатного метаболизма у подростков Алтайского края. Российский педиатрический журнал 2015;4(18):19-25. doi: 10.20333/25000136-2015-3-53-57. [Strozenko L.A., Gordeev V.V., Lobanov Yu.F., Momot A.P. Distribution of polymorphic variants of genes of blood coagulation factors and genes of folate metabolism in adolescents of the Altai Territory. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal* = Russian Pediatric Journal 2015;4(18):19-25. (In Russ.)].
- Комарова И.Б., Зыков В.П., Ушакова Л.В. Значимость факторов, ассоциированных с тромбозом, для развития и прогноза артериального ишемического инсульта у детей. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского 2018;97(4):100-9. doi: 10.24110/0031-403X-2018-97-4-100-109. [Komarova I.B., Zykov V.P., Ushakova L.V. The significance of factors associated with thrombosis for the development and prognosis of arterial ischemic stroke in children. *Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo* = Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky 2018;97(4):100-9. (In Russ.)].
- Николаева М.Г., Момот А.П., Мамаев А.Н., Хорев Н.Г., Пасман Н.М., Вагнер Ю.Н., Зайнуллина М.С., Фаткуллин И.Ф., Сиразитдинова М.М., Ясафова Н.Н. Тромботические события при редких формах генетических тромбофилий. Тромбоз, гемостаз и реология 2020;4:87-94. doi: 10.25555/THR.2020.4.0950. [Nikolaeva M.G., Momot A.P., Mamaev A.N., Khorev N.G., Pasman N.M., Wagner Yu.N., Zainulina M.S., Fatkullin I.F., Sirazitdinova M.M., Yasafova N.N. Thrombotic events in rare forms of genetic thrombophilia. *Tromboz, gemostaz i reologiya* = Thrombosis, Hemostasis and Rheology 2020;4:87-94. (In Russ.)].
- Жданова Л.В., Патрушев Л.И., Долгих В.В. Полиморфизм генов, ответственных за тромбофилию, и их влияние на развитие тромбозов в детском возрасте. Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН 2013;4(92):115-8. [Zhdanova L.V., Patrushev L.I., Dolgikh V.V. Polymorphism of genes responsible for thrombophilia and their influence on the development of thrombosis in childhood. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra SO RAMN* = Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences 2013;4(92):115-8. (In Russ.)].
- Malbora B., Özbek N., Avci Z., Verdi H., Alioğlu B., Varan B., Ataç F.B. Role of Thrombophilic Mutations in Childhood Cardiac and Great Vessel Thrombosis. *J Pediatr Sciences* 2014;6:e218. doi: 10.17334/jps.89654.
- Строзенко Л.А., Лобанов Ю.Ф., Колесникова М.А., Рычкова О.А., Цыпкина Л.П., Момот А.П. Факторы риска у детей с острыми нарушениями мозгового кровообращения по ишемическому типу. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского 2020;99(2):163-72. doi: 10.24110/0031-403X-2020-99-2-163-172. [Strozenko L.A., Lobanov Yu.F., Kolesnikova M.A., Rychkova O.A., Tsyvkina L.P., Momot A.P. Risk factors in children with acute cerebrovascular accidents of ischemic type. *Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo* = Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky 2020;99(2):163-72. (In Russ.)].
- Львова О.А., Гусев В.В., Кузнецов Н.Н., Баранов Д.А., Ворошилина Е.С., Парылова Е.А. Наследственные прокоагулянтные и протромботические нарушения как ведущий этиологический фактор ишемических инсультов у детей раннего возраста. Журнал неврологии и психиатрии. Инсульт 2013;9:13-20. doi: 10.21508/1027-4065-2015-60-1-92-108. [Lvova O.A., Gusev V.V., Kuznetsov N.N., Baranov D.A., Voroshilina E.S., Partylova E.A. Hereditary procoagulant and prothrombotic disorders as a leading etiological factor of ischemic strokes in young children. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii. Insul't* = Journal of Neurology and Psychiatry. Stroke 2013;9:13-20. (In Russ.)].
- Быцадзе В.О., Макацария А.Д., Стрижакова А.Н., Червенака Ф.А. Жизнеугрожающие состояния в акушерстве и перинатологии. М.: «Медицинское информационное агентство», 2019. 672 с. [Bitsadze V.O., Makatsaria A.D., Strizhakova A.N., Chervenaka F.A. Life-threatening conditions in obstetrics and perinatology. M.: "Medical Information Agency", 2019. 672 p. (In Russ.)].
- Momot A.P., Semenova N.A., Belozеров D.E., Trukhina D.A., Kudina I.Yu. The dynamics of the hemostatic parameters in physiological pregnancy and after delivery. *J Hematol Blood Transfus Disord* 2016;3(1):1-18. doi: 10.24966/HBTD-2999/100005.
- Николаева М.Г., Момот А.П., Сердюк Г.В., Елыкомов В.А., Момот К.А., Ясафова Н.Н. АПС-резистентность, связанная с мутацией гена фактора V Лейден (генотип GA): клиническая реализация при беременности. Тромбоз, гемостаз и реология 2018;1(73):47-54. doi: 10.25555/THR.2018.1.0823. [Nikolaeva M.G., Momot A.P., Serdyuk G.V., Elykomov V.A., Momot K.A., Yasafova N.N. APC resistance associated with factor V Leiden gene mutation (GA genotype): clinical implementation in pregnancy. *Tromboz, gemostaz i reologiya* = Thrombosis, Hemostasis and Rheology 2018;1(73):47-54. (In Russ.)].
- Nikolaeva M.G., Momot A.P., Zainulina M.S., Yasafova N.N., Taranenko I.A. Pregnancy complications in G20210A mutation carriers associated with high prothrombin activity. *Thrombosis J* 2021;19:41. doi: 10.1186/s12959-021-00289-4.