

В. П. Міщенко, І. В. Руденко, М. Б. Запорожченко,
В. В. Колесникова, С. В. Андреев

ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ТЕРАПІЇ ГЕСТАЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 618.3-06-085-092

В. П. Мищенко, И. В. Руденко, М. Б. Запорожченко, В. В. Колесникова,
С. В. Андреев

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ТЕРАПИИ ГЕСТАЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Цель. На основании изучения полиморфизма генов эндотелиальной NO-синтазы (eNOS3), ингибитора активатора тканевого плазминогена 1-го типа (PAI-1), уровня гомоцистеина оценить риск генетической предрасположенности в баллах в механизмах развития гестационных осложнений и провести патогенетическое обоснование их терапии.

Материалы и методы. У 300 беременных оценен риск генетической предрасположенности в баллах в механизмах развития гестационных осложнений и проведено патогенетическое обоснование их терапии.

Результаты. Мутантный вариант полиморфизма *eNOS3* a/a определен в 67,4 %, PAI-1 4G/4G — в 65,9 % случаев. Концентрация гомоцистеина оказалась в 2,8 раза больше нормы. Степень риска развития гестационных осложнений в группе А была минимальной (< 0,9), в группе В — невыраженной (0,9–1,1), в группе Б — повышенной (> 1,1).

Выводы. Гестационные осложнения относятся к мультифакторным заболеваниям, среди причин развития которых — полиморфизм генов эндотелиальной NO-синтазы, ингибитора активатора тканевого плазминогена 1-го типа, повышение уровня гомоцистеина.

Ключевые слова: гестационные осложнения, патогенез, терапия.

UDC 618.3-06-085-092

V. P. Mishchenko, I. V. Rudenko, M. B. Zaporozhchenko, V. V. Kolesnikova,
S. V. Andreev

PATHOGENETIC SUBSTANTIATION OF GESTATIONAL COMPLICATIONS MANAGEMENT

Aim. Basing on the study of gene polymorphism of endothelial NO-synthase (eNOS3), tissue plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1), homocysteine levels, to assess the risk of genetic predisposition in points in mechanisms of gestational complications development and conduct pathogenetic substantiation of their therapy.

Materials and methods. There was estimated the risk of genetical predisposition in points in development mechanisms of gestational complications and the pathogenetic substantiation of their therapy is made in 300 pregnant women.

Results. Mutant variant of polymorphism *eNOS3* a/a is defined at 67.4%, PAI-1 4G/4G — 65.9 % of cases. Concentration of homocysteine was in 2.8 times higher than norm. Degree of risk of gestational complications development in group A was minimal (< 0.9), in group B — non-pronounced (0.9–1.1), in group B — increased (> 1.1).

Conclusions. Gestational complications belong to multifactorial disease, among causes of which is genetic polymorphism of endothelial NO-synthase, tissue plasminogen activator inhibitor type 1, increased levels of homocysteine.

Key words: gestational complications, pathogenesis, therapy.

Частота гестаційних ускладнень не має тенденції до зниження у всіх країнах світу. Ускладнення перебігу вагітності належать до мультифакторних захворювань. Останні мають детермінацію групами генів. Нормальні гени за несприятливого впливу факторів зовнішнього середовища можуть сприяти розвитку захворювань внаслідок спадкової схильності [4].

Спадкова схильність передбачає передачу нащадкам певних алелів генів. Гени схильності визначають високу ймовірність розвитку конкретного захворювання [10].

В акушерській практиці на особливу увагу заслуговують гени ендотеліальної дисфункції. Ендотеліальна дисфункція є однією з головних ланок патогенетичного механізму розвитку акушерських ускладнень. Прогресування ендотеліальної дисфункції під час вагітності — одна з причин дисметаболических порушень в організмі матері, плода, фетоплацентарному комплексі, що клінічно проявляється дисфункцією плаценти, передчасним відшаруванням плаценти, захворюваннями плода та ін. [6]. Ендотелій є метаболічним органом загальною масою більше 2 кг, довжина моношару ендотеліальних клітин перевищує 7 км [7].

У патогенезі розвитку ендотеліальної дисфункції лежить зниження синтезу оксиду азоту (NO) в ендотеліоцитах. Оксид азоту синтезується у клітинах ендотелію судин, нейронах, тромбоцитах, макрофагах, клітинах мозкового шару надниркових залоз, трофобласта, тканин плаценти, міометрія, у м'язових і еластичних волокнах судин, епітеліальних клітинах нирок тощо. Біологічна активність NO стимулюється метаболітами, включаючи L-аргінін, брадикінін та інші біологічні речовини [3; 8].

Функція ендотелію регулюється численними генами, у тому числі геном ендотеліальної NO-синтази (*eNOS3*), яка забезпечує баланс між процесами вазодилатації та вазоконстрикції. Ген *eNOS3* контролює рівень NO та його функції. Оксид азоту регулює функцію судин, оксидантні процеси, має протизапальний ефект, блокує агрегацію тромбоцитів, зв'язується в судинному ендотелії з Fe^{2+} гемовою частиною оксигемоглобіну з формуванням метгемоглобіну і поглинанням його еритроцитами, у м'язових клітинах судин активує K^+ -канали і пригнічує Ca^{2+} -канали, у результаті чого виникає вазодилатація. Оксид азоту впливає на серцево-судинний гомеостаз, імунний статус, на цитотоксичну активність макрофагів [3; 4; 7].

Інгібітор активаторів плазміногену-1 (PAI-1) кодується геном *PAI-1* PLANH1, у промоторній ділянці якого є зона, що містить послідовність 4 або 5 основ гуаніну — 4G, 5G. Основними видами поліморфізму гена є: 5G/5G, 5G/4G, 4G/4G. Наявність алелів 5G супроводжується меншою активністю щодо продукції PAI-1 та високою активністю перетворення плазміногену в плазмін, ніж алелів 4G. У носіїв алелів 4G концентрація PAI-1 вища, ніж у носіїв алелів 5G, що призводить до підвищення ризику порушення функцій плаценти, невиношування, тромбозу, ожиріння, гіперхолестеринемії, септичних інфекцій, летальності внаслідок гальмування фібринолізу [2; 9].

Гомоцистеїн — незамінна сірковмісна ендогенна амінокислота, структурний елемент протейнів, є продуктом перетворення з метіоніну. Дисфункція метаболічних процесів гомоцистеїну і нестача вітамінів групи В (фолатів) призводять до нагромадження гомоцистеїну в клітинах, міжклітинному просторі, плазмі крові, сприяють ураженню внутрішньої поверхні судин і розвитку системної ендотеліальної дисфункції, гіперкоагуляції. Існують генетично детерміновані (гомозиготні та гетерозиготні форми) і набуті причини гіпергомоцистеїнемії. Гомоцистеїн вільно переходить через фетоплацентарний бар'єр і може здійснювати фетотоксичну дію. Під

час вагітності рівень гомоцистеїну фізіологічно знижується до моменту пологів і в III триместрі становить 3,3 мкмоль/л [1; 9].

Мета роботи: на підставі вивчення поліморфізму генів ендотеліальної NO-синтази (*eNOS3*), інгібітора активатора тканинного плазміногену 1-го типу (*PAI-1*), рівня гомоцистеїну оцінити ризик генетичної схильності в балах у механізмах розвитку гестаційних ускладнень і провести патогенетичне обґрунтування їх терапії.

Матеріали та методи дослідження

Проведено обстеження 300 вагітних, із них 30 вагітних з неускладненим перебігом вагітності, пологів, післяпологового періоду, які народили здорових дітей, утворили контрольну групу А. До групи Б увійшли 135 вагітних з ознаками гестаційних ускладнень, яким проводилися стандартні лікувально-профілактичні заходи, до групи В — 135 жінок, яким за 3–4 міс. до запліднення і під час гестації застосовано розроблені та вдосконалені лікувально-профілактичні заходи щодо зниження частоти і тяжкості акушерсько-перинатальних ускладнень.

Визначення алелів b/b, a/a, b/a ендотеліальної NO-синтази в інтроні 4 (*eNOS3* 4b/4a) і 5G/5G, 5G/4G, 4G/4G фібринолітичної активності *PAI-1* (*PAI-1* PLANH1 675 5G/4G) проводили методом полімеразної ланцюгової реакції.

Розрахунок ступеня ризику спадкової схильності розвитку гестаційних ускладнень для кожного алеля досліджуваних генів проводився в балах. Наявність гомозиготного a/a і 4G/4G поліморфізму генів *eNOS3* і *PAI-1* відповідала 2 балам кожна, гетерозиготних алелів b/a і 5G/4G — 1 балу, гомозиготного b/b і 5G/5G — 0 балам.

Кількісне визначення загального L-гомоцистеїну в людській крові або плазмі проводили тест-системою методом імуноферментного аналізу. Рівень гомоцистеїну 5,6–8,4 мкмоль/л розцінювався як низький, 10,0–15,0 мкмоль/л — середній, 20,0–30,0 мкмоль/л — високий.

Результати дослідження та їх обговорення

Частота поліморфізму гена ендотеліальної NO-синтази в інтроні 4 (*eNOS3*) в контрольній групі А b/b становила 21 (70,0 %), a/a — 3 (10,0 %), a/b — 6 (20,0 %) спостережень (табл. 1).

У крові жінок групи Б мутантний варіант поліморфізму *eNOS3* a/a визначено у 91 (67,4 %), b/b — у 15 (11,1 %) спостереженнях ($p < 0,01$ по відношенню до контрольної групи), b/a — у 29 (21,5 %) випадках.

У групі В частота мутантного варіанта поліморфізму *eNOS3* a/a сягала 90 (66,7 %), b/a — 45 (33,3 %) випадків.

Частота нормального гомозиготного генотипу 5G/5G гена *PAI-1* PLANH1 675 5G/4G у групі А становила 20 (66,7 %), гомозиготного генотипу 4G/4G — 1 (3,3 %), гетерозиготного генотипу 5G/4G — 9 (30,0 %) спостережень.

У групі Б частота поліморфного гомозиготного генотипу 4G/4G гена *PAI-1* PLANH1 675 5G/4G дорівнювала 89 (65,9 %) випадків ($p < 0,01$ щодо контрольної групи), гомозиготного генотипу 5G/5G — 12 (8,9 %), гетерозиготного генотипу 5G/4G — 34 (25,2 %) спостереження.

Таблиця 1

Результати визначення частоти поліморфізму досліджуваних генів, абс. (%)

Гено-тип	Група		
	А, n=30	Б, n=135	В, n=135
Поліморфізм гена <i>eNOS3</i> 4b/4a			
b/b	21 (70,0)	15* (11,1)	—
a/a	3 (10,0)	91* (67,4)	90* (66,7)
b/a	6 (20,0)	29 (21,5)	45 (33,3)
Поліморфізм гена <i>PAI-1</i> PLANH1 675 5G/4G			
5G/5G	20 (66,7)	12* (8,9)	—
4G/4G	1 (3,3)	89* (65,9)	86* (63,7)
5G/4G	9 (30,0)	34 (25,2)	49 (36,3)

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

Таблиця 2

Вміст гомоцистеїну в крові вагітних

Три-мєстр	Група		
	А, n=30	Б, n=135	В, n=135
I	8,4±0,3	18,2±0,3*#	9,1±0,4*
II	7,20±0,28	22,50±0,24*#	11,1±0,4*
III	5,70±0,23	29,10±0,83*#	12,1±0,5*

Примітки:

- * — $p < 0,01$ по відношенню до контрольної групи.
- # — $p < 0,01$ по відношенню до групи В.
- $p < 0,01$ щодо попереднього визначення.

гідробіоптерин, кальцій/кальмодулін). Кофактор флавінаденіндинуклеотид містить вітаміни групи В, низький рівень вітамінів сприяє гіпергомоцистеїнемії.

Грунтуючись на даній схемі, профілактику і лікування гестаційних ускладнень спадкової схильності доповнено призначенням L-аргініну (Тивортин), гепатопротекторів (есенціале, хофітол та ін.), антиоксидантів, дезагрегантів, вітамінів групи В, комплексу мікроелементів (Fe, Ca, Zn), при високому ризику тромбоутворення — антикоагулянтів, білкововмісної дієти (крім випадків з гіпергомоцистеїнемією).

Ефективність запропонованих лікувально-профілактичних заходів оцінено за розрахунком ступеня ризику розвитку гестаційних ускладнень згідно з формулою

Гомозиготний поліморфний генотип 4G/4G гена *PAI-1* PLANH1 675 5G/4G у групі В визначений у 86 (63,7 %) випадках ($p < 0,01$ щодо контрольної групи), гетерозиготний генотип 5G/4G — у 49 (36,3 %).

При фізіологічному перебігу вагітності (контрольна група А) рівень гомоцистеїну мав тенденцію до зниження в процесі гестації, але не виходив за межі референтних величин (табл. 2).

По відношенню до контрольної групи А концентрація гомоцистеїну в крові вагітних групи Б була в 2,8 разу більшою ($p < 0,01$), що розцінювалося як гіпергомоцистеїнемія легкого ступеня тяжкості.

У групі В рівень гомоцистеїну утримувався на верхній межі норми і лише наприкінці III триместру його концентрація перевищувала верхню межу референтних величин. Вміст гомоцистеїну в групі В був в 1,6 разу більшим по відношенню до контрольної групи ($p < 0,01$).

Таким чином, однією з ланок ризику розвитку гестаційних ускладнень є генетично детермінований поліморфізм ендотеліальної NO-синтази й інгібітора активатора тканинного плазміногену 1-го типу, при якому відзначається підвищення рівня гомоцистеїну.

Схематично цей механізм можна представити так: L-аргінін (донатор оксиду азоту) всмоктується в тонкому кишечнику, транспортується в печінку і є субстратом для продукції NO. Синтез NO з L-аргініну забезпечується *eNOS3* з 5 кофакторами (флавінаденіндинуклеотид, флавінмононуклеотид, гем, тетра-

$$\Sigma m / k,$$

де m — сума балів усіх індивідуальних генотипів;

k — кількість вивчених генетичних варіантів [5].

Установлено, що у групі А сума балів була менше 0,9, що відповідало мінімальному ступеню ризику, у групі В — 0,9–1,1 — ступінь ризику невиражений, у групі Б — більше 1,1 — ступінь ризику підвищений. Перспективою подальших розробок з цієї проблеми буде удосконалення передконцепційної профілактики репродуктивних втрат мультифакторної природи.

Висновки

1. Гестаційні ускладнення належать до мультифакторних захворювань, однією з причин розвитку яких є поліморфізм генів ендотеліальної NO-синтази, інгібітора активатора тканинного плазміногену 1-го типу, підвищення рівня гомоцистеїну.

2. Дисметаболізм NO зумовлений порушенням всмоктування L-аргініну в тонкому кишечнику, транспортування його в печінку, порушенням синтезу NO внаслідок зниження активності ендотеліальної NO-синтази і флавінаденіндинуклеотиду, що містить вітаміни групи В. Низький рівень вітамінів сприяє гіпергомоцистеїнемії, порушенню згортання крові, яке залежить від функціонального стану інгібітора активатора тканинного плазміногену 1-го типу.

3. Профілактика та лікування гестаційних ускладнень спадкової схильності повинна включати призначення L-аргініну (Тивортин), гепатопротекторів (есенціале, хофітол та ін.), антиоксидантів, дезагрегантів, вітамінів групи В, комплексу мікроелементів (Fe, Ca, Zn); при високому ризику тромбоутворення — антикоагулянтів, білкововмісної дієти (крім випадків з гіпергомоцистеїнемією).

ЛІТЕРАТУРА

1. *Влияние гипергомоцистеинемии на репродуктивные потери и ее коррекция во время беременности* / А. А. Левина, С. А. Васильев, Н. М. Полозков [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2009. – № 6. – С. 34–37.

2. *Вплив мутації інгібітора активатора плазміногену I типу та мутації фібриногену В на виношування вагітності* / К. В. Воронин, Т. О. Лоскутова, Н. В. Кравченко [та ін.] // Зб. наук. праць Асоціації акушерів-гінекологів України. – К. : Інтермед, 2011. – С. 113–116.

3. *Жабченко И. А.* Роль донаторов оксида азота в комплексе лечебных мероприятий при преэклампсии / И. А. Жабченко, А. Г. Цыпкун, А. М. Жицкий // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15, № 2, ч. 1 (58). – С. 126–132.

4. *Запорожан В. М.* Сучасні погляди на діагностику гестаційних ускладнень / В. М. Запорожан, В. П. Міщенко, І. В. Руденко // Зб. наук. праць Асоціації акушерів-гінекологів України. – К. : Інтермед, 2011. – С. 369–372.

5. *Определение наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности. Генетическая карта репродуктивного здоровья: метод. рекомендации* / сост. : В. С. Баранов, Т. Э. Иващенко, А. С. Глозов [и др.] ; под ред. В. С. Баранова и Э. К. Филамазяна. – СПб. : ООО «Изд-во Н-Л», 2009. – 68 с. : ил. – (Серия Ex libris «Журнал акушерства и женских болезней»).

6. *Павлова Т. В.* Анализ полиморфизма гена эндотелиальной (eNOS) NO-синтазы при развитии гестоза у первородящих женщин / Т. В. Павлова // Материалы международной научно-практической конференции. Казань, 17–18 мая 2010 г. – Казань, 2010. – С. 246–251.

7. Chatterjee A. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation / A. Chatterjee, J. D. Catravas // *Vascul. Pharmacol.* – 2005. – Vol. 49 (4/6). – P. 134–140.
8. *Effect of prolonged oral supplementation with L-arginine in blood pressure and nitric oxide synthesis in preeclampsia* / K. Rytlewski, R. Olszanecki, R. Korbut [et al.] // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2009. – Vol. 35 (1). – P. 32–37.
9. Goodman C. S. Which thrombophilic gene mutations are risk factors for recurrent pregnancy loss? / C. S. Goodman, C. B. Coulam, R. S. Jeyendran // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2006. – Vol. 56, N 4. – P. 230–236.
10. Zimmern R. L. The clinical use of genetics and molecular biomarkers: a public health perspectives / R. L. Zimmern // *Europ. J. Human Genetics.* – 2008. – Vol. 16, Suppl. 2. – P. 7.

REFERENCES

1. Levina A.A., Vasilev S.A., Polozkov N.M. et al. Influence of hyperhomocysteinemia on reproductive losses and its correction during pregnancy. *Gematologia i transfusiologia* 2009; 6: 34-37.
2. Voronin K.V., Loskutova T.O., Kravchenko N.V. et al. *Vplyv mutatsii inhibitora aktyvatora plazminogenu I typu ta mutatsii fibrinogenu B na vunosuvannya vagitnosti. Sbirnyk naukovykh prats Asotsiatsii akusherov-ginekologiv Ukrainy* [Influence of mutation of the inhibitor activator of plasminogen — I type and mutation of fibrinogen B on carrying of the pregnancy] Kiev, Intermed, 2011, p. 113-116.
3. Zhabtchenko I.A., Tsyapkun A.G., Zhitsky A.M. Role of aid donors of oxide of nitrogen in a complex of medical actions at preeclampsia. *Tavrisheskiy medico-biologicheskiy vestnik* 2012; 15 (2); p. 1 (58): 126-132.
4. Zaporozhan V.M., Mishchenko V.P., Rudenko I.V. *Suchasni pohlyady na diahnozyku hestatsiynnykh uskladnen'. Sbirnyk naukovykh prats Asotsiatsii akusherov-ginekologiv Ukrainy* [Contemporary look on diagnostic of the gestatitoin complication], Kiev, Intermed, 2011, p. 369-372.
5. Baranov V.S., Ivashchenko T.E., Glotov A.S. et al.; V. S. Baranov and E. K. Falamazyan (eds.) [Definition of hereditary predisposition to some frequent diseases at pregnancy. A genetical card of reproductive health: methodical recommendations]. SPb. : “Publishing house N-L”, OOO, 2009. 68 p. : illustration (Series Ex libris “Journal of obstetrics and female illnesses”).
6. Pavlova T.V. *Analiz polimorfizma gena endotelialnoi (eNOS) NO-cintazy pro razvittii gestoza u pervorodyashchikh zhenshchin. Materialy mezdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii* [Analys of polymorphism of a gene endothelial (eNOS) NO-syntase at development gestosis at firstbirth women]. Materials of Intern. Scient.-Pract. Conference, Kazan, 2010, p. 246-251.
7. Chatterjee A., Catravas J.D. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. *Vascul. Pharmacol* 2005; 49 (4/6): 134-140.
8. Rytlewski K., Olszanecki R., Korbut R. et al. Effect of prolonged oral supplementation with L-arginine in blood pressure and nitric oxide synthesis in preeclampsia. *Eur. J. Clin. Invest* 2009; 35 (1): 32-37.
9. Goodman C.S., Coulam C.B., Jeyendran R.S. Which thrombophilic gene mutations are risk factors for recurrent pregnancy loss? *Am. J. Reprod. Immunol.* 2006; 56 (4): 230-236.
10. Zimmern R.L. The clinical use of genetics and molecular biomarkers: a public health perspectives. *Europ. J. Human Genetics* 2008; 16, Suppl. 2: 7.

Надійшла 13.08.2014