

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ТРОМБОФИЛИЙ И ФОЛАТНОГО ЦИКЛА У ЖЕНЩИН С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

Толкачева И.А. Кириченко О.Ю.

Медицинская лаборатория ООО "Эксперт", г. Владивосток, Россия

Введение. Тромбофилии – состояния, характеризующиеся склонностью к развитию тромбозов и тромбоемболий кровеносных сосудов различной локализации вследствие нарушений состава и свойств крови. Последствиями тромбофилий являются тромбозы глубоких и поверхностных вен, инфаркт миокарда, инсульт, тромбоемболия легочной артерии, нередко приводящие к летальному исходу.

Развитие тромбоза происходит в результате комбинации средовых и генетических факторов риска. Средовые факторы достаточно широко известны: травма, хирургическое вмешательство, постельный режим, наличие сопутствующей патологии (артериальная гипертензия, варикозное расширение вен нижних конечностей, ряд аутоиммунных заболеваний и др.). К генетическим факторам риска относятся мутации, приводящие к нарушению функций тромбоцитов, белков свертывающей и противосвертывающей систем, а также некоторых ферментных систем, в частности, ферментов метаболизма гомоцистеина.

Исследования последних лет продемонстрировали, что дефекты в генах MTHFR могут приводить к дисфункции эндотелия, к одному из ключевых звеньев патогенеза гестоза. Замена 677C>T в гене метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR связана с образованием термолabileной формы фермента со сниженной на 50% энзиматической активностью. В результате нарушается реметилирование гомоцистеина в метионин, что ведет к накоплению гомоцистеина в организме и повреждению эндотелия. Установлено, что замена 677C>T MTHFR может являться фактором риска развития многих осложнений беременности, включая преждевременную отслойку нормально расположенной плаценты, внутриутробную задержку развития плода, синдром потери плода, рождение ребенка с дефектом нервной трубки и гестоз.

В последнее время все более актуальной и требующей серьезных исследований становится проблема нарушения мужской и женской фертильности, приводящей, в большинстве случаев, к бесплодию и привычному невынашиванию беременности. Среди генетических факторов бесплодия и синдрома потери плода большое значение имеют нарушения фолатного обмена. Мутации в генах, кодирующих ферменты фолатного цикла, в различных сочетаниях друг с другом, а также дополнительными факторами, могут повышать риск развития нарушений репродуктивной функции.

Целью данной работы было изучение частоты полиморфных аллелей генов тромбофилий и метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR C677T, MTHFR A1298C, метио-

нинсинтетазы MTR A2756G, метионинсинтетазы редуктазы MTRR A66G у женщин с невынашиванием беременности.

Материалы и методы. Образцы ДНК получали из крови (46 образцов), используя набор реагентов "Проба Репид Генетика" и протокол для выделения фирмы НПО "ДНК-Технология.(Россия)". Далее на полученных образцах проводили полимеразную цепную реакцию в режиме "реального времени" с использованием комплекта реагентов и протоколов фирмы НПО "ДНК-Технология.(Россия)". Детекция результатов осуществлялась на приборе ДТ-96 производства НПО "ДНК-Технология.(Россия)". Анализ результатов ПЦР обеспечивался программным обеспечением прибора ДТ-96.

Результаты. При анализе образцов выявлено 18 человек (39,1%) – гетерозиготы по полиморфному аллелю MTHFR C677T, гомозиготы MTHFR C677T составили 4 человека (8,6%). Гетерозигот по MTHFR A1298C – 21 (45,6%), гомозигот – 3 человека (6,5%). Полиморфный аллель гена метионинсинтетазы MTR A2756G в гетерозиготном состоянии зарегистрирован в 12 случаях (26%), гомозигот не было. Гетерозигот по полиморфному аллелю MTRR A66G больше – 22 человека (47,8%), гомозигот – 8 образцов – 17,4%.

Тромбофилии: Фибриноген – гетерозиготы – 13 (28,2%), гомозиготы – 2 (4,34%), F2-гетерозигота-1 (2,17%), F7-гетерозигота – 6 (13,04%), F13- гетерозиготы – 11 (23,9%), гомозиготы – 4 (8,6%), ITGA2 – гетерозиготы – 17 (36,9%), гомозиготы – 4 (8,6%), ITGB3- гетерозиготы – 5 (10,8%), гомозиготы – 1 (2,17%)

Сочетание 3-х и более полиморфизмов генов встречалось у 30 (65,2%) женщин с невынашиванием беременности.

Выводы. У женщин с невынашиванием беременности отмечено наличие сочетания функционально неблагоприятных генотипов 66 GG, 677 TT в генах MTRR и MTHFR. Гомозиготы по MTHFR C677T представляют группу риска развития многих осложнений беременности, гестоза. Ведение беременных женщин, решение вопросов использования оральных контрацептивов и гормональной заместительной терапии не может решаться без генетического тестирования пациенток с целью выявления наследственной предрасположенности к тромбозам. Применение молекулярно-биологических методов дает возможность определить значимые факторы, оказывающие влияние на развитие патологического процесса, выявлять патологию на стадии предболезни, осуществлять поиск патогенетически обоснованных методов профилактики и лечения и, тем самым, снижать риск тромботических осложнений.

АССОЦИИЦИЯ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА LEPR С НАРУШЕНИЕМ ФОРМИРОВАНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ

Койгерова Е.С., Миктадова А.В., Машкина Е.В.

Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, Россия

Нарушения функционирования мужской репродуктивной системы, обусловленные генетическими факторами, часто имеют ряд проявлений в детском и подростковом пе-

риодах, раннее выявление которых является важной диагностической задачей.

Существует ряд исследований, результаты которых свидетельствуют о том, что метаболические пути, контролируемые энергетический баланс организма и нормальное формирование и функционирование репродуктивной системы, имеют точки пересечения. (Ghanauey, 2010). Мутации генов лептин-меланокортинового пути, по-видимому, относятся именно к таким точкам пересечения. Поэтому фенотипические эффекты полиморфизмов данных генов стоит рассматривать в контексте обоих указанных метаболических путей.

Целью нашей работы был анализ ассоциации нарушений формирования репродуктивной системы мальчиков в околупубертатный период с наличием в генотипе аллельных вариантов гена рецептора лептина *LEPR*.

Рецептор лептина относится к классу рецепторов цитокинов надсемейства I (Zhang, 2007). Функции лептина осуществляются с помощью связывания со специфическим лептиновым рецептором. Лептин же контролирует массу жировой ткани и участвует в регуляции функций нейроэндокринной и иммунной системы. В последние годы список патологий, связанных с изменением функциональной активности лептин-зависимых сигнальных путей заметно расширился. Появились экспериментальные данные о роли лептина в индукции и регуляции хронических воспалительных процессов и дегенеративных заболеваний, в том числе аутоиммунных патологии, диабета 2-го типа и рака (Gupta, 2011).

Основными и наиболее частыми полиморфизмами гена *LEPR* являются *Gln223Arg* и *Lys109Arg*. Мутации гена рецептора лептина связаны с такими фенотипическими проявлениями как ожирение (Pegusse, 2004), диабет 2-го типа (Park, 2006). Клиническая картина врожденной инактивации рецептора лептина схожа с наблюдаемой у пациентов с дефицитом лептина. Гетерозиготы по мутации гена *LEPR* чаще имеют ожирение, при этом уровень лептина у них коррелирует с индексом массы тела (Петеркова, 2008).

Существуют данные о непрямом влиянии *LEPR* на нейроэндокринную регуляцию репродуктивных функций у млекопитающих. Так, у мышей, имеющих делецию *LEPR* в нейронах переднего мозга, имелись нарушения полового созревания, выразившиеся в блокаде эстрадиол-зависимого

овуляторного всплеска лютеинизирующего гормона, и, в конечном итоге, в бесплодии как у самцов, так и самок (Quennell, 2009). В целом, можно сказать, что влияние *LEPR* на формирование репродуктивной функции является скорее опосредованным, чем прямым и, по-видимому, в значительной степени обусловлено его ролью в нейрогуморальных регуляторных каскадах. Тем не менее, он представляется одним из наиболее эффективных потенциальных маркеров возможных нарушений формирования репродуктивной системы.

Нами был проведен анализ частоты регистрации полиморфизма *Gln223Arg* гена *LEPR* у мальчиков препубертатного возраста с нормальным весом (11 – 12 лет, 72 человека). Было выделено две группы, согласно стадии развития по Таннеру: группа мальчиков с развитием половой системы, соответствующей стадии Таннер 1 (темповая задержка полового развития) - 48 человек и группа мальчиков с развитием половой системы, соответствующей стадии Таннер 2 (контрольная группа) - 24 человека. Материалом для исследования служили образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов периферической крови. Полиморфизм гена исследовали с использованием набора реагентов SNP-экспресс (Литех, Москва).

Как в контрольной группе, так и в группе мальчиков с отставанием в половом развитии преобладают гетерозиготы *Gln223Arg* гена *LEPR* (50,0 % и 54,2 % соответственно). Однако число гомозигот по аллели *223Arg* составило 41,7 % в контрольной группе и 16,7 % в группе с отставанием в половом развитии. Таким образом, выявлены статистически значимые отличия ($P = 0,03$) в частотах генотипов по полиморфизму *Gln223Arg* гена *LEPR* между двумя группами подростков. Выявлены различия и в частоте аллелей: в контрольной группе частота аллели *223Arg* составила 0,667, в группе с темповой задержкой развития – 0,438 ($P = 0,01$ OR (95% CI) = 0,39 (0,19 – 0,8)).

Таким образом, показано, что аллель *223Arg* гена *LEPR* ассоциирована со снижением риска возможного замедления темпов созревания половой системы в околупубертатный период у мальчиков при отсутствии нарушений обмена веществ, сопровождающихся ожирением.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ПРЕДИКТОРОВ ИНВАЗИИ И ИМПЛАНТАЦИИ ТРОФОБЛАСТА ПРИ РЕГРЕССИРУЮЩЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ: ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА АНГИОГЕНЕЗА VEGF-

Демченко Н. С., Третьякова Т. Б., Каюкова А. Е.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Минздрова РФ, г. Екатеринбург, Россия

ВВЕДЕНИЕ

Невынашивание беременности является актуальной и социально значимой проблемой в практике родовспоможения. В течение последнего десятилетия появились новые подходы к диагностике гинекологических заболеваний, на основе изучения молекулярных вариантов комплекса генов, модулирующих риск синдрома невынашивания беременности. Внедрение технологии ПЦР в режиме реального времени сделало методы оценки состояния репродуктивной системы на основе анализа полиморфизма ряда генов более доступными для практического здравоохранения.

Причины прерывания беременности чрезвычайно разнообразны и нередко имеет место сочетание нескольких

этиологических факторов. Важную роль в неблагоприятных исходах беременности играет увеличение проницаемости клеточных мембран и гемодинамические нарушения. Расстройства фетоплацентарного кровообращения инициируются уже на ранних стадиях эмбриогенеза и являются следствием нарушений плацентации и инвазии трофобласта. Это определяет актуальность изучения факторов ангиогенеза в качестве предикторов невынашивания беременности. Значимым фактором фетоплацентарного ангиогенеза, имплантации и инвазии трофобласта является сосудисто-эндотелиальный фактор роста VEGF-A, кодируемый геном VEGF-A. Одной из причин недостаточной продукции сосудисто-эн-