

Взаимосвязь гипергомоцистеинемии и генетического полиморфизма С-677Т гена метилентетрагидрофолатредуктазы (МТНFR) с хронической артериальной гипертензией у беременных

Чулков В.С.*, Вереина Н.К., Синецын С.П.

Челябинская государственная медицинская академия. Челябинск, Россия

Цель. Изучить частоту полиморфизма С-677Т гена метилентетрагидрофолатредуктазы (МТНFR) и гипергомоцистеинемии (ГГЦ) у беременных с хронической артериальной гипертензией (ХАГ).

Материал и методы. Когортное исследование с проспективной когортой. Беременные были разделены на 2 группы (гр.): гр. I – с ХАГ (n=80), гр. II – без АГ (n=40). Всем пациенткам определялся уровень гомоцистеина (ГЦ) методом иммуноферментного анализа в сроки 9-12 нед., 22-24 нед. и 30-32 нед. Генотипирование полиморфизма С-677Т гена МТНFR проводилось методом полимеразной цепной реакции.

Результаты. У беременных с ХАГ уровень ГЦ оказался выше по сравнению с таковыми без АГ во все триместры беременности и чаще встречались носительство аллеля Т и генотип Т/С. Относительный риск (ОР) преэклампсии при ГГЦ составил – 3,5;

95% ДИ 2,0-5,6; ОР хронической плацентарной недостаточности – 1,2; 95% ДИ 0,9-1,6; ОР синдрома задержки развития плода – 6,4; 95% ДИ 3,1-13,3.

Заключение. Повышение уровня ГЦ, в т.ч. на фоне полиморфизма С-677Т гена МТНFR, можно рассматривать в качестве лабораторного маркера, ассоциированного с осложненным течением беременности у женщин с ХАГ.

Ключевые слова: хроническая артериальная гипертензия беременных, гипергомоцистеинемия, полиморфизм С-677Т гена метилентетрагидрофолатредуктазы.

Поступила 14/07-2011

Кардиоваскулярная терапия и профилактика, 2012; 11(1): 41-44

Hyperhomocysteinemia, C-677T polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene, and chronic arterial hypertension in pregnant women

Chulkov V.S.*, Vereina N.K., Sinityn S.P.

Chelyabinsk State Medical Academy, Chelyabinsk, Russia

Aim. To investigate the prevalence of C-677T polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and hyperhomocysteinemia (HHC) in pregnant women with chronic arterial hypertension (CAH).

Material and methods. This prospective cohort study included two groups: Group I – pregnant women with CAH (n=80), and Group II – pregnant women without AH (n=40). In all participants, homocysteine (HC) levels were assessed using immunoenzymatic method, at 9-12 weeks, 22-24 weeks, and 30-32 weeks. Genotyping of the C-677T polymorphism of MTHFR gene was performed using polymerase chain reaction.

Results. In pregnant women with CAH, HC levels were higher than in women without AH, throughout the pregnancy. Group I also demonstrated

higher prevalence of T allele and T/C genotype. In pregnant women with HHC, relative risk (RR) of pre-eclampsia was 3,5 (95% CI 2,0-5,6), of chronic placental insufficiency - 1,2 (95% CI 0,9-1,6), and of intrauterine growth restriction syndrome - 6,4 (95% CI 3,1-13,3).

Conclusion. HCC, as well as its combination with C-677T polymorphism of MTHFR gene, could be regarded as a biomarker of complicated pregnancy in women with CAH.

Key words: Chronic arterial hypertension in pregnant women, hyperhomocysteinemia, C-677T polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase gene.

Cardiovascular Therapy and Prevention, 2012; 11(1): 41-44

Исследования последних лет убедительно свидетельствуют о роли дисфункции эндотелия (ЭД) в генезе артериальной гипертензии (АГ) и связанных с ней акушерских осложнений (преэклампсия/эклампсия, HELLP-синдром, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты и ряд др.) [3,4]. Одним из факторов, индуцирующим повреждение эндотелия, является гипергомоцистеинемия [1, 2]. Повышение уровня гомоцистеина (ГЦ) может быть обусловлено как приобретен-

ными, так и генетическими дефектами в молекулах ферментов фолатного цикла. Наиболее известна связь гипергомоцистеинемии (ГГЦ) с полиморфизмом С-677Т гена метилентетрагидрофолатредуктазы (МТНFR). Прогностическое значение ГГЦ, в т.ч., генетически обусловленной, у беременных с ХАГ недостаточно изучены.

Цель исследования – изучить частоту полиморфизма С-677Т гена МТНFR и ГГЦ у беременных с хронической АГ (ХАГ).

© Коллектив авторов, 2011

e-mail: vschulkov@rambler.ru

Тел.: (351) 797-68-61, +79226982328

Факс: (351) 253-65-71

[Чулков В.С. (*контактное лицо) – ассистент кафедры внутренних болезней и эндокринологии, Вереина Н.К. – ассистент кафедры внутренних болезней и эндокринологии, Синецын С.П. – заведующий кафедрой].

Материал и методы

Источниковая популяция: беременные, наблюдавшиеся в городском отделе патологии гемостаза на базе МУЗ ГКБ № 11 г. Челябинска за период 2010–2011 гг.

Тип исследования: когортное с проспективной когортой.

Метод выборки: сплошной по мере обращения.

Критерии включения: беременность, подтвержденная тестом на β -хорионический гонадотропин человека, ультразвуковым исследованием; согласие женщины на участие в исследовании.

Критерии исключения: возраст < 18 и > 45 лет; многоплодная беременность; гестационная АГ (впервые возникшая после 20 нед. беременности без протеинурии и исчезающая через 12 нед. после родов); эндокринная патология: сахарный диабет (СД), тиреотоксикоз, гипотиреоз, ожирение (Ож) с индексом массы тела (ИМТ) ≥ 40 кг/м² и др.; хронические заболевания сердечно-сосудистой системы (ССС) (кроме АГ), почек и печени; острые и хронические инфекции в стадии обострения; антифосфолипидный (АФЛ) синдром; геморрагические диатезы; ВИЧ-инфекция; алкоголизм.

За указанный период в соответствии с критериями включения/исключения в исследование включены 120 беременных, которые разделены на 2 группы (гр.): I гр. (n=80) – с ХАГ, II гр. (n=40) – без АГ. Срок начала наблюдения в гр. I – 9 ± 3 нед., в гр. II – 10 ± 2 нед. Диагноз АГ устанавливался при уровнях систолического артериального давления (САД) ≥ 140 мм рт.ст. и/или диастолического АД (ДАД) ≥ 90 мм рт.ст., измеренных, как минимум, двукратно с интервалом не менее 4 ч [3]. Из 80 женщин с АГ у 41 (51,2 %) АГ наблюдалась до беременности, у 39 женщин (48,8 %) – дебютировала во время беременности (до 20 нед.). Таким образом, в соответствии с классификацией ВНОК (2010), исходно во всех случаях имела место ХАГ [3].

Помимо стандартного общеклинического и лабораторно-инструментального исследований всем беременным определялся уровень ГЦ методом иммуноферментного анализа с использованием спектрофотометра “Biogad” и реактивов Axis-Shield (Норвегия) на сроках 9–12 нед., 22–24 нед. и 30–32 нед. Генотипирование полиморфизма С-677Т гена МТНFR проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с помощью реактивов НПФ “ЛИТЕХ” на аппарате “Терцик” (Россия) (55 беременным – в гр. I и 20 беременным – в гр. II).

Статистический анализ данных проводили при помощи пакета статистических программ STATISTICA 6.0 (Stat-Soft, 2001). Использовали критерии Стьюдента, χ^2 с поправкой Йетса. Данные представлены в виде $M \pm \sigma$ (средняя и среднеквадратичное отклонение) – с учетом их нормального распределения. С целью оценки клинической информативности диагностических тестов проводили ROC-анализ с помощью программы MedCalc (9.1.0.1) for Windows. Расчет относительного риска (ОР) с 95 % доверительным интервалом (95 % ДИ) осуществляли с помощью программы EpiInfo (версия 5.16).

Результаты

Средний возраст беременных в гр. I – $29,1 \pm 5,6$ лет, в гр. II – $26,5 \pm 5,1$ лет ($p=0,008$). Среди факторов тромбогенного риска у беременных в гр. I достоверно чаще, чем в гр. II, встречалось Ож –

35 %, n=28 vs 2,5 %, n=1 ($p<0,001$) (таблица 1). По прочим факторам и характеристикам (хронические соматические и гинекологические заболевания, паритет) различия отсутствовали.

Уровни ГЦ по триместрам в обеих гр. представлены в таблице 2. У пациенток с ХАГ уровень ГЦ во все триместры беременности оказался выше по сравнению с таковым у женщин без ХАГ ($p<0,05$). ГГЦ устанавливали при превышении нормативных значений, полученных при обследовании 155 здоровых беременных, по данным [6]: в I триместре $> 5,6$ мкмоль/л, во II триместре $> 4,3$ мкмоль/л, в III триместре $> 3,3$ мкмоль/л [6]. В настоящем исследовании ГГЦ чаще отмечали у беременных с ХАГ во все триместры беременности в сравнении с таковыми без АГ – 74,5 % vs 20 % ($p<0,001$).

Частота различных генотипов и аллелей полиморфизма С-677Т гена МТНFR в гр. сравнения представлена на рисунке 1. У беременных с АГ (n=55) чаще определяли носительство мутантного Т-аллеля и генотип Т/С (гетерозиготная форма), а у беременных без АГ (n=20) – нормальный генотип – С/С.

При корреляционном анализе выявлена прямая зависимость между генотипом Т/С и уровнями ГЦ в I триместре ($r=0,66$, $p<0,05$), во II триместре ($r=0,67$, $p<0,05$) и в III триместре ($r=0,66$, $p<0,05$) беременности. Генотип Т/Т (мутантный) встречался редко в обеих гр.: в гр. I – у 2 беременных, в гр. II – у одной.

Течение беременности у женщин с АГ чаще осложнялось хронической плацентарной недостаточностью – 53,7 %, n=43 vs 17,5 %, n=7 ($p<0,001$), синдромом задержки развития плода – 13,8 %, n=11 при отсутствии в гр. II ($p=0,034$) и преэклампсией – 16,3 %, n=13 при отсутствии в гр. II ($p=0,017$) по сравнению с женщинами без ХАГ.

Относительный риск (ОР) преэклампсии при ГГЦ составил 3,5; 95 %ДИ 2,0–5,6; ОР хронической плацентарной недостаточности – 1,2; 95 %ДИ 0,9–1,6; ОР синдрома задержки развития плода – 6,4; 95 %ДИ 3,1–13,3.

С целью оценки прогностического значения уровня ГЦ проведен ROC-анализ, результаты которого показали, что наиболее значимым показателем, ассоциированным с преэклампсией, явился уровень ГЦ в III триместре $> 5,8$ мкмоль/л – чувствительность 100 %, специфичность 53,3 %, отношение правдоподобия (LR) – 2,14 ($p<0,001$) (таблица 3). У всех женщин, беременность которых осложнилась преэклампсией (n=13), уровень ГЦ в III триместре в среднем составил $7,28 \pm 1,23$ мкмоль/л.

ГГЦ $> 8,2$ мкмоль/л ассоциирована с хронической плацентарной недостаточностью, причем указанный уровень имеет высокую специфичность (95,7 %) и LR позитивного результата – 5,88 ($p=0,07$).

Таблица 1

Частота факторов тромбогенного риска в гр. сравнения

Факторы	Гр. I (n=80)		Гр. II (n=40)		p
	n	%	n	%	
Возраст > 35 лет	16	20	4	10	>0,05
Избыточная масса тела (ИМТ≥25 кг/м ²)	22	27,5	6	15	>0,05
Ож (ИМТ≥30 кг/м ²)	28	35	1	2,5	p<0,001
Курение до беременности	12	15	3	7,5	>0,05
Варикозная болезнь нижних конечностей	4	5	2	5	>0,05
Прием оральных контрацептивов	11	13,8	7	17,5	>0,05

Таблица 2

Уровни ГЦ у беременных в различные триместры гестации (M±σ)

Гр.	Уровень ГЦ, мкмоль/л		
	I триместр (9-12 нед.)	II триместр (22-24 нед.)	III триместр (30-32 нед.)
Гр. I (n=80)	6,82±1,77 *	6,80±2,39 *	6,80±3,15 *
Гр. II (n=40)	5,47±1,33	5,50±1,30	5,09±0,95
* p	p1-2=0,002	p1-2=0,014	p1-2=0,015

Таблица 3

Клиническая информативность ГЦ в отношении прогноза развития преэклампсии у беременных (по результатам ROC-анализа)

Характеристика	Диагностический порог	Чувствительность (%) 95 %ДИ	Специфичность (%) 95 %ДИ	+LR*	-LR	AUC ** 95 %ДИ	p
Преэклампсия	> 5,8 мкмоль/л III триместр	100 (59-100)	53,3 (41,4-64,9)	2,14	0	0,72 (0,6-0,8)	<0,001
Синдром задержки развития плода	ГЦ > 6,5 мкмоль/л III триместр	66,7 (22,3-95,7)	67,1 (55,4-77,5)	2,03	0,5	0,66 (0,55-0,76)	0,23
Хроническая плацентарная недостаточность	ГЦ > 8,2 мкмоль/л III триместр	25 (12,7-41,2)	95,7 (85,5-99,5)	5,88	0,78	0,61 (0,5-0,71)	0,07

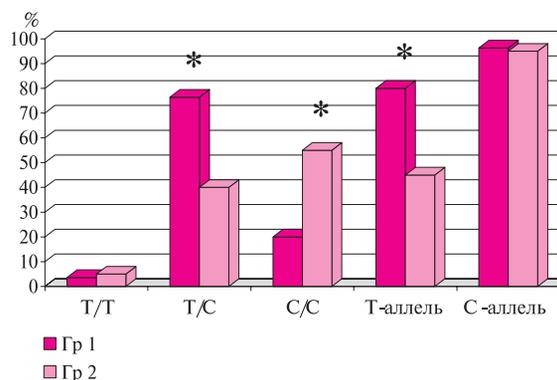
Примечание: * – + LR – положительное отношение правдоподобия; – LR – отрицательное отношение правдоподобия; AUC – площадь под ROC-кривой.

Обсуждение

ГЦ является, с одной стороны, маркером ЭД, с другой стороны, фактором, ассоциированным с протромботическим состоянием гемостаза. Важной причиной повышения уровня ГЦ является генетически детерминированное снижение активности ферментов фолатного цикла (метилентетрагидрофолатредуктаза, метионин синтаза редуктаза, метионин синтаза и др.). В зарубежной литературе существуют единичные исследования, демонстрирующие взаимосвязь генетического полиморфизма C-677T гена MTHFR с АГ у беременных [5]. В представленном исследовании у беременных с ХАГ чаще выявлялось носительство (мутантного) T-аллеля и генотип T/C, а у беременных без АГ – нормальный генотип (C/C). Одновременно у беременных с ХАГ уровень ГЦ оказался выше во все триместры беременности по сравнению с таковым у женщин без АГ. С учетом более частого выявления генетического полиморфизма C-677T гена MTHFR у беременных с ХАГ, критериев исключения (в т.ч. состо-

яний, приводящих к повышению уровня ГЦ), можно полагать, что ГЦ в гр. I была преимущественно наследственно обусловленной.

В отечественной литературе имеются отдельные сообщения о взаимосвязи ГЦ с осложненным



Примечание: * – p<0,05.

Рис. 1 Распределение генотипов C-677T гена MTHFR у беременных в гр. сравнения.

течением беременности [1,2]. Было показано, что уровень ГЦ в крови ≥ 7 мкмоль/л в III триместре беременности может являться прогностическим и дополнительным критерием в оценке степени тяжести преэклампсии [2]. Проведенный ROC-анализ позволил выделить критическое значение ГЦ в III триместре беременности $> 5,8$ мкмоль/л (точка cut-off), как показатель, ассоциированный с развитием преэклампсии. Значение этого показателя оказалось несколько ниже в сравнении с вышеуказанными данными, что может быть связано с более ранним сроком определения уровня ГЦ в крови в настоящем исследовании (30-32 нед.).

Литература

1. Макацария А.Д., Белобородова Е.В., Баймурадова С.М. и др. Гипергомоцистеинемия и осложнения беременности. М.: Триада-Х 2005; 216 с.
2. Мурашко Л.Е., Бадоева З.Т., Бадоева Ф.С. и др. Влияние гипергомоцистеинемии на тяжесть гипертензии у беременных и перинатальные исходы. Акуш гинек 2010; 3: 24-7.
3. Ткачева О.Н., Рунихина Н.К. Артериальная гипертензия у беременных. Антагонисты кальция. М.: ИД МЕДПРАКТИКА-М 2010; 148 с.
4. Трифонова Е.А., Габидулина Т.В., Агаркова Т.А. и др. Гомоцистеин, полиморфизмы гена MTHFR и осложнения беременности. Акуш гинек 2011; 2: 8-13.
5. Kosmas IP, Tatsioni A, Ionnadis JP. Association of C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene with hypertension in pregnancy and preeclampsia: a meta-analysis. J Hypertens 2004; 25 (2): 1655-62.
6. Shmeleva VM, Kapustin SI, Alabieva EA, et al. Prevalence of thrombophilia in women with pregnancy loss and gestational outcome in women with diagnosed thrombophilia following antithrombotic therapy. J Thromb Haemost 2007; 5 (2): W592.

Выводы

У беременных с ХАГ уровень ГЦ оказался выше по сравнению с таковыми без АГ во все триместры беременности.

ГЦ у большинства пациенток в данной гр была генетически обусловленной. У них чаще встречались носительство аллеля Т и генотип Т/С, тогда как у беременных без АГ – нормальный генотип (С/С).

Повышение уровня ГЦ при беременности ассоциировано с развитием преэклампсии (ОР – 3,5; 95 %ДИ 2,0-5,6); хронической плацентарной недостаточности (ОР – 1,2; 95 %ДИ 0,9-1,6); синдромом задержки развития плода (ОР – 6,4; 95 %ДИ 3,1-13,3).