

ЧОРНА Л.Б.✉, МАКУХ Г.В., ЗАСТАВНА Д.В., ПРОКОПЧУК Н.В., ГЕЛЬНЕР Н.В.

ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України»,

Україна, 79000, м. Львів, вул. М. Лисенка, 31а

✉ chorna_l@ukr.net, (097) 383-26-29

ЧАСТОТА СПАДКОВИХ ЧИННИКІВ ТРОМБОФІЛІЇ СЕРЕД ЖІНОК З НАВИКОВИМ НЕВИНОШУВАННЯМ ВАГІТНОСТІ

Мета. Численні дослідження, присвячені проблемі навикового невиношування вагітності (ННВ), показали, що в основі багатьох видів акушерської патології лежить спадкова схильність до тромбофілії, хоча результати досліджень найчастіше суперечливі. Робота присвячена вивченню частоти спадкових чинників тромбофілії у жінок з ННВ. **Методи.** До групи дослідження увійшли 68 жінок з ННВ, у яких в анамнезі було два і більше мимовільних викидні та 120 практично здорових жінок, які народили більше двох здорових дітей. Генетичне тестування проводили методом полімеразної ланцюгової реакції та застосовували метод ПДРФ. **Результати.** Частота гетерозиготних носіїв мутації FV1691 G/A склала 12% серед жінок з ННВ і 4,0% у групі контролю. Встановлено статистично вірогідно вищу частоту мутації FV1691 G/A серед жінок з ННВ та показано зростання ризику ННВ у 3 рази (OR 3, 11, 95% CI 1,02–9,46) за її наявності. Результати показали, що для жінок, носіїв алеля 4G гена PAI-1, ризик ННВ зростає у 2 раз, у порівнянні з носіями 5G алеля. Виявлено статистично вірогідно вищу частоту алеля 677T гена MTHFR серед жінок з ННВ (ВШ – 1,70, ДІ: 1,09–2,67, P= 0,01). **Висновки.** Встановлено, що маркери спадкових тромбофілій – мутація 1691 G/A гена фактора FV згортання крові, алельні варіанти 675 4G гена PAI-1 та 677T гена MTHFR – можуть бути вагомим чинником у структурі спадкової схильності до ННВ.

Ключові слова: генетичні фактори, спадкова тромбофілія, ННВ, молекулярно-генетичне дослідження.

Частота невиношування вагітності на сьогоднішній день складає 15–27% [1]. У близько 2–5% жінок репродуктивного віку діагностують навикове невиношування вагітності (ННВ), яке характеризується двома і більше мимовільними викиднями на ранніх термінах вагітності [2]. За різними даними, причини 30–40% випадків ми-

мовільного завмирання плоду залишаються нез'ясованими навіть після комплексного обстеження, що може бути зумовленим поліетиологічністю патології [3]. Дослідження, присвячені цій проблемі, виявили, що в основі багатьох видів акушерської патології лежить розвиток генералізованої мікроангіопатії, пов'язаної з автоімунними порушеннями, дефектами ангіогенезу й інвазії трофобласта, гіпергомоцистеїнемією і спадковою патологією гемостазу [3].

Серед ряду спадкових факторів тромбофілії, відкритих на сьогоднішній день, важлива роль у структурі ранніх репродуктивних втрат показана для мутацій генів фактора V (FVL, FV1691G/A, rs6025) і фактора II (протромбін, FII 20210G/A, rs1799963) згортання крові, поліморфних варіантів 455G/A (rs1800790) гена фібриногену (FGB), 807 C/T (rs1126643) гена тромбоцитарного рецептора колагену (ITGA2), 1565T/C (rs5918) гена тромбоцитарного рецептора фібриногену (ITGB3), 675 5G/4G (rs1799899) гена інгібітора активатора плазміногену 1 типу (PAI-1). До спадкових маркерів тромбофілії поза каскадом згортання крові відносять поліморфні варіанти 677C/T (rs1801133) та 1298A/C (rs1801131) гена метіленететрагідрофолат редуктази (MTHFR), білкові продукти яких беруть участь у метаболізмі гомоцистеїну.

Однак, результати досліджень найчастіше суперечливі, що, можливо, зумовлено етнічною неоднорідністю і/або клінічної гетерогенністю обстежуваних груп, а також етнічною специфічною спадковою схильністю. У зв'язку з цим виявлення особливостей структури спадкової схильності до ННВ має науковий і практичний інтерес.

Метою роботи було проаналізувати частоту спадкових чинників тромбофілії: FGB 455G/A, FII 20210 G/A, FV 1691G/A, ITGA2 807C/T, ITGB3 1565T/C, PAI-1 5G/4G, MTHFR 677C/T та MTHFR 1298A/C у групі жінок з ННВ.

© ЧОРНА Л.Б., МАКУХ Г.В., ЗАСТАВНА Д.В., ПРОКОПЧУК Н.В., ГЕЛЬНЕР Н.В.

Матеріали і методи

Дослідження проводилося на базі ДУ «Інститут спадкової патології НАМНУ», м. Львів. Матеріалом дослідження слугували зразки венозної крові жінок, які були скеровані у Львівський міжобласний медико-генетичний центр на медико-генетичне консультування з приводу порушення репродуктивної функції, та зразки венозної крові здорових жінок. Усі особи, які брали участь у дослідженні, були мешканцями західноукраїнського регіону та надали інформовану згоду для участі у дослідженні. До групи дослідження увійшли 68 жінок з ННВ, у яких в анамнезі було два і більше мимовільних викидні. У 67% жінок спостерігалися мимовільні викидні та замерлі вагітності I триместру, у 23,5% жінок – викидні II та III триместрів, у 9,5% реєструвалися випадки антенатальної загибелі плода та у 13% жінок відмічалися анембріонії. У 37% жінок кількість невдалих вагітностей коливалася від 3 до 7. Групу контролю склали 120 практично здорових жінок без ускладненого генетичного, акушерського та тромботичного анамнезу, які народили двоє та більше здорових дітей. Вік жінок варіював від 23 до 40 років.

Проводили виділення та очистку ДНК із лейкоцитів периферійної крові методом висолування. На подальших етапах дослідження проводили ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro*, використовуючи метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Використовували олігонуклеотидні праймери, ендонуклеази рестрикції та термостійку Dream Taq Green ДНК полімерази (Thermo scientific, США). Генетичне тестування мутацій та алелів поліморфних локусів проводили методом ПДРФ. Електрофорез проводили у 2,5% агарозному гелі та сканували на УФ – транслюмінаторі. Перевірку статистичних гіпотез та вірогідність відмінностей проводили за допомогою критерію χ^2 на рівні значущості $P < 0,05$ та застосовували точний критерій Фішера. Відносний ризик визначали за величиною відношення шансів (ВШ, 95% довірчий інтервал).

Результати та обговорення

Результати розподілу частот генотипів та алелів досліджуваних спадкових чинників тромбофілії представлено у таблиці.

Аналіз розподілу частот генотипів локусу 455G/A гена *FGB* показав значно вищу частоту генотипу AA – 5,0% у групі жінок з ННВ за йо-

го відсутності у групі контролю. Проте частка гетерозиготних носіїв генотипу GA у дослідній групі була нижчою, ніж у контрольній групі (35% проти 42%), і, як наслідок, аналіз розподілу мінорного A алеля майже співпадав у обох групах – 22% проти 21% відповідно. Дослідження розподілу локусу *FII 20210 G/A* показало, що мутацію 20210 GA гена фактора *FII* згортання крові у гетерозиготному стані виявлено у 6% жінок з ННВ на противагу 1% серед жінок контрольної групи (табл.). Гомозиготних носіїв мутації *FII 20210 G/A* не було виявлено в жодній із груп, що зумовлено досить низькою частотою гомозигот у загальній популяції.

Під час дослідження мутації *1691G/A* гена фактора *V* згортання крові у групі жінок із ННВ виявлено, що 12% осіб були гетерозиготними носіями мутації у порівнянні з 4% осіб контрольної групи I (табл.). У нашому дослідженні не було виявлено гомозиготних носіїв мутації *FV 1691G/A*. У ході обрахунку відношення шансів показано, що наявність у жінки мутації *FVL* у гетерозиготному стані або алеля *FV 1691A* статистично вірогідно збільшує ризик ННВ у 3 рази (ВШ=3,11, ДІ: 1,02 – 9,46). Як видно з таблиці, аналіз розподілу частот генотипів локусу 807C/T гена *ITGA2* у групі жінок з ННВ показав вищу частоту гетерозиготного носійства генотипу СТ – 57%, ніж у групі контролю – 48%. Проте частота генотипу 807 ТТ була значно вищою у контрольній групі і складала 28% на противагу 9% у дослідній групі. Ця відмінність досягла статистично вірогідного значення, що може вказувати на зниження ризику ННВ за наявності генотипу *ITGA2 807 ТТ* ($P=0,04$). Розподіл алелів був таким: 48% у контрольній групі та 38% у дослідній.

За результатами нашого дослідження, генотип СС локусу 1565Т/С гена *ITGB3* траплявся у контрольній групі жінок із частотою 4,0%, тоді як серед жінок з ННВ не був виявлений. Розподіл алелів також показав вищу частоту С алеля у контрольній групі (30%) у порівнянні з дослідною групою (18%). Статистично вірогідних відмінностей у розподілі генотипів та алелів локусу 1565Т/С гена *ITGB3* не було виявлено (табл.).

Під час аналізу розподілу частот алелів і генотипів поліморфного локусу 675 5G/4G гена *PAI-1* виявлено статистично вірогідне підвищення частоти генотипу 4G4G в групі жінок із ННВ (47%) у порівнянні з контрольною групою – 30% (ВШ = 2,80; ДІ: 1,41-5,55, $P=0,002$).

Таблиця. Розподіл частот генотипів та алелів у групі жінок з ННВ та контрольній групі

Досліджувані поліморфні локуси	Генотипи, алелі	Частоти генотипів та алелів, %		Рівень значущості P	ВШ	ДІ (95%)
		Контрольна група n= 120	Жінки з ННВ n=68			
<i>FGB 455G/A</i>	GG	58	60	0,50	1,10	0,45 – 2,66
	GA	42	35	0,32	0,73	0,30 – 1,78
	AA	0	5	-	-	-
	G	79	78	0,49	0,92	0,43 – 1,95
	A	21	22		1,09	0,51 – 2,31
<i>FII 20210 G/A</i>	GG	99	94	0,04*	0,13	0,01 – 1,16
	GA	1	6	0,04*	7,53	0,86 – 65,7
	AA	0	0	-	-	-
	G	99,6	97	0,04*	0,13	0,01 – 1,18
	A	0,4	3		7,33	0,85 – 63,3
<i>FV 1691G/A</i>	GG	96	88	0,04*	0,32	0,11 – 0,99
	GA	4	12	0,04*	3,11	1,02 – 9,46
	AA	0	0	-	-	-
	G	98	94	0,04*	0,34	0,11 – 1,00
	A	2	6		3,11	1,02 – 9,46
<i>ITGA2 807 C/T</i>	CC	24	34	0,27	1,63	0,55 – 4,79
	CT	48	57	0,32	1,41	0,54 – 3,67
	TT	28	9	0,04*	0,27	0,07 – 0,95
	C	52	62	0,07	1,79	0,91 – 3,53
	T	48	38		0,56	0,28 – 1,10
<i>ITGB3 1565 T/C</i>	TT	44	65	0,07	2,33	0,88 – 6,19
	TC	52	35	0,19	0,59	0,23 – 1,52
	CC	4	0	-	-	-
	T	70	82	0,06	2,00	0,91 – 4,41
	C	30	18		0,50	0,23 – 1,10
<i>PAI-1 675 5G/4G</i>	5G5G	27	14	0,02*	0,41	0,17 – 0,95
	5G4G	43	39	0,21	0,72	0,38 – 1,39
	4G4G	30	47	0,002*	2,80	1,41 – 5,55
	5G	48	34	0,0008*	0,46	0,29 – 0,74
	4G	52	66		2,17	1,35 – 3,48
<i>MTHFR 677C/T</i>	CC	53	38	0,05	0,54	0,29 – 0,99
	CT	40	47	0,36	1,33	0,73 – 2,43
	TT	7	15	0,06	2,41	0,90 – 6,45
	C	73	62	0,01*	0,59	0,37 – 0,92
	T	27	38		1,70	1,09 – 2,67
<i>MTHFR 1298A/C</i>	AA	43	52	0,19	1,40	0,74 – 2,65
	AC	45	41	0,37	0,85	0,45 – 1,62
	CC	12	7	0,26	0,58	0,18 – 1,86
	A	66	72	0,14	1,36	0,83 – 2,12
	C	34	28		0,74	0,45 – 1,20

Примітки: n – кількість осіб у групі; P – рівень значущості; ВШ – коефіцієнт відношення шансів; *P < 0,05 – статистично значуща відмінність.

Частота алеля 4G гена *PAI-1* також превалювала серед жінок з ННВ у порівнянні з контрольною групою – 66% проти 52%, відповідно (ВШ = 2,17; ДІ: 1,35-3,48, P=0,0008). Отримані дані вказують, що наявність у жінки генотипу 4G4G підвищує ризик ННВ майже у 3 рази, а наявність 4G алеля гена *PAI-1* – у 2 рази.

Дослідження поліморфного локусу *677C/T* гена *MTHFR* показало зниження частки гомозиготного генотипу *MTHFR 677CC* (38%) та зростання частки гетерозиготного генотипу *MTHFR 677CT* (47%) за рахунок збільшення носійства мінорного T алеля у групі жінок з ННВ. Гомозиготний генотип *MTHFR 677TT* траплявся серед жінок із ННВ у 2 рази частіше, ніж у контрольній групі – 15% проти 7,0%, відповідно (табл.). Упродовж аналізу частоти алелів локусу *MTHFR 677C/T* виявлено, що алель 677T траплявся статистично вірогідно частіше у дослідній групі – 38% у порівнянні з 27% у групі контролю (P=0,01). Встановлено, що наявність алеля 677T у генотипі жінки статистично вірогідно збільшує ризик ННВ майже у 2 рази (ВШ -1,70, ДІ: 1,09 – 2,67, P= 0,01). Дослідження розподілу генотипів локусу *1298A/C* гена *MTHFR* показало збільшення частки генотипу *1298 CC* у контрольній групі – 12%, проти 7,0% серед жінок із ННВ. Розподіл частот генотипів і алелів поліморфного локусу *1298A/C* гена *MTHFR* статистично вірогідно не відрізнявся між дослідною групою та контрольною вибіркою.

Таким чином, дослідження спектра та частоти генетичних локусів, асоційованих із спадковими формами тромбофілії, виявило, що наявність мутації 1691 G/A або алеля *1691A* гена фактора V згортання крові у гетерозиготному стані збільшує ризик ННВ у 3 рази (ВШ=3,11 ДІ: 1,02–9,46). Мутація FV1691 G/A в 90 % випадків є причиною спадкової резистентності до активованого протеїну C (РАПС) і є найбільш частою причиною виникнення первинних тромбофілій. Фактор V у механізмі згортання крові відповідає за конверсію протромбіну в тромбін фактором Ха, за мутації виникає резистентність фактора V, що приводить до генерації тромбіну. Поширеність мутації серед практично здорових осіб у Європі і США коливається від 3 до 8% [4]. Крім того, нами було виявлено зростання частоти гетерозиготних носіїв мутації *20210 G/A* гена фактора II згортання крові серед жінок з ННВ у порівнянні з контрольною групою (6% проти 1%). Ця відмінність досягла рівня статистичної вірогідності (P=0.04), проте обрахунок

відношення шансів не показав вірогідної асоціації. У гетерозиготних носіїв мутації *20210 GA* гена *FII* виявляють на 50% вищий рівень хімічно нормального протромбіну в плазмі крові [5]. Поширеність мутації *FII 20210 G/A* у європейських популяціях становить від 0,7% до 4% (в середньому приблизно 2%) [6].

Мутації в генах факторів *FII 20210 G/A* і *FV 1691 G/A* згортання крові вважаються найбільш частими причинами генетичної схильності до тромбозів і виявляються у 35–40% пацієнтів із рецидивними тромбозами [6].

Одним із найважливіших клітинних ефектів у системі гемостазу є здатність тромбоцитів до адгезії до чужорідних поверхонь та утворення агрегатів. Інтегринові рецептори тромбоцитів беруть участь у процесах адгезії і міжклітинних взаємодіях. Ген *ITGA2* (інтегрин альфа-2) кодує глікопротеїн IIa (GPIIa) та показано, що 807T варіант гена *ITGA2* асоційований із підвищенням щільності рецептора на тромбоциті та збільшенням індукованої колагеном агрегації тромбоцитів [7]. Ключова роль у процесі активації тромбоцитів належить рецепторному комплексу GPIIb/IIIa (фібріногеновий рецептор), який є найбільш чисельним серед усіх рецепторів тромбоцита. Ген *ITGB3* (інтегрин бета-3) кодує тромбоцитарний глікопротеїн IIIa (GPIIIa). Тромбоцити, які несуть C алель поліморфного локусу *1565T/C* гена *ITGB3*, мають більш низький поріг активації, а також більш чутливі до дії деяких антитромботичних агентів [8]. Результати нашого дослідження показали статистично вірогідну відмінність у розподілі частот генотипу 807 TT (P=0,04) гена *ITGA2* у контрольній (28%) та дослідній групах (9%). Такий результат може вказувати на мінорну роль цього генотипу та зниження ризику ННВ за його наявності (ВШ = 0,27; ДІ: 0,07-0,95). Статистично вірогідних відмінностей у розподілі частот генотипів та алелів локусу *1565T/C* гена *ITGB3* не було виявлено.

У нашій роботі встановлено асоціацію ННВ з поліморфним локусом *675 4G/5G* гена *PAI-1*, продукт якого є одним із найважливіших чинників плазмової ланки гемостазу. Показано, що наявність у жінки генотипу 4G4G гена *PAI-1* збільшує ризик ННВ майже у 3 рази (ВШ = 2,80; ДІ: 1,41-5,55), а наявність 4G алеля у 2 рази (ВШ = 2,17; ДІ: 1,35-3,48). *PAI-1* є ключовим регулятором фібринолітичної системи та основним антагоністом тканинного активатора плазміногена (tPA) і уроркінази (uPA), які є активаторами плазміногена. Поліморфний варіант *4G/5G*

інсерція/делеція гуаніну в промоторному регіоні гена *PAI-1* впливає на регуляцію експресії гена *PAI-1* і веде до зростання його синтезу. В експериментах *in vitro* показано, що *4G* алель продукує у шість разів більше mRNA, ніж *5G* алель, при цьому рівень PAI-1 у носіїв *4G/4G* генотипу є вищим приблизно на 25% [9].

Механізми реалізації спадкової тромбофілії за втрати вагітності точно не встановлені. Загальним у механізмі імплантаційних втрат за тромбофілії вважаються надмірна активація згортання крові, дисбаланс у системі згортання крові, ендотеліопатія, локальні геморагії і мікротромби в зоні інвазії бластоцисти. Найімовірніше, саме порушення інвазії лежить в основі імплантаційних втрат за тромбофілії. За даними низки авторів, гетеро- і гомозиготний варіант гена *PAI-1* *4G/5G* пов'язаний із підвищенням експресії PAI-1 в плазмі крові і ендометрії [10, 11]. Високий рівень PAI-1 в ендометрії пов'язують зі зниженням глибини інвазії трофобласта і порушенням імплантації [10]. Припускають, що ростові фактори які відіграють важливу роль в імплантації і неоангіогенезі, моделюють інвазивну здатність трофобласта через систему PAI-1 і матриксних металопротеїназ [11].

За результатами нашої роботи, ННВ, вірогідно, асоційоване з носійством алеля *677T* гена *MTHFR*, наявність якого у жінки збільшує ризик ННВ майже у 2 рази (ВШ -1,70, ДІ: 1,09- 2,67). Таким чином, встановлено, що алель *T* локусу *677C/T* гена *MTHFR* є алелем ризику для виникнення ННВ у жінок.

Генетичні дефекти в системі згортання крові та ферментах фолатного циклу є одним із прикладів синергічної дії мутацій. Поліморфізм генів фолатного циклу, дефіцит вітамінів B6, B12, фолієвої кислоти провокують розвиток гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ), яка є незалежним фактором ризику розвитку тромбофілічних ускладнень. *MTHFR* (метилентетрагідрофолатредуктаза) є ключовим ферментом фолатного циклу, який бере участь у реметилуванні гомотеїну до метіоніну. Поліморфний варіант *677C/T* гена *MTHFR* призводить до заміни в каталітичному домені фермента, що веде до зниження активності фермента на 70% у гомозигот, а у гетерозигот – на 35% [12]. Показано, що наявність алеля *677T* у гомозиготному стані призводить до підвищення рівня гомотеїну в

крові на 20%, особливо на фоні низького вмісту фолатів у плазмі крові [13]. Тромбогенний ефект гомотеїну проявляється через пошкодження клітин ендотелію судин та призводить до ендотеліальної дисфункції, яка відіграє провідну роль у патогенезі і клінічній маніфестації гіперкоагуляції. За ГГЦ спостерігається ендотеліальна дисфункція, яка супроводжується розвитком атерозу судин, десинхронізацією процесів фібринолізу та фібриноутворення, що може сприяти порушенню імплантації, інвазії трофобласта та плацентації.

Підсумовуючи результати дослідження, зауважимо, що в роботі встановлено, що маркери генетичної схильності спадкових тромбофілій алель *1691A* гена *FV*, *4G* алель та *4G4G* генотип гена *PAI-1* та *677T* алель гена *MTHFR* можуть бути вагомими чинниками в етіології ННВ. Отримані нами результати відповідають даним, які були отримані в аналогічних дослідженнях та в попередньо опублікованих нами публікаціях [14–17].

Загальним для всіх тромбофілій є уявлення про те, що механізми порушень закладаються на ранніх етапах розвитку вагітності і реалізуються через порушення мікроциркуляції, гемостазу і патологію судинної стінки. У зв'язку з цим своєчасне виявлення факторів ризику розвитку тромбофілії може мати важливе значення в плані діагностики та підвищення ефективності корекції ускладнень вагітності.

Висновки

1. Серед проаналізованих локусів генів *FGB 455G/A*, *FII 20210 G/A*, *FV 1691G/A*, *ITGA2 807C/T*, *ITGB3 1565T/C*, *PAI-1 5G/4G*, *MTHFR 677C/T* та *MTHFR 1298A/C* асоціацію із ННВ виявлено щодо алелів *FV1691A*, *PAI-1 4G* та *MTHFR 677T*, які можуть бути одним із етіологічних чинників спадкової схильності до ННВ.

2. У групі жінок з ННВ виявлено значне збільшення частоти гетерозиготного носійства мутації *1691 G/A* гена *FV* згортання крові та встановлено зростання ризику ННВ у 3 рази за наявності у генотипі жінки алеля *FV 1691 A*.

3. Ризик ННВ зростає майже у 3 рази за наявності у жінки генотипу *4G4G* гена *PAI-1*, а за наявності *4G* алеля у 2 рази.

4. Із ННВ, вірогідно, асоційоване носійство алеля *677T* гена *MTHFR*, наявність якого у жінки збільшує ризик ННВ майже у 2 рази.

Література

1. Сидельникова В.М. Невынашивание беременности – современный взгляд на проблему. *Акушерство и гинекология*. 2007. № 5. С. 24–27.
2. Branch D.W., Gibson M., Silver R.M. Clinical practice. Recurrent miscarriage *N. Engl. J. Med.* 2010. Vol. 36311. P. 1740–17472.
3. Lund M., Nielsen H.S., Hviid T.V., Steffensen R., Nyboe Andersen A., Christiansen O.B. Hereditary thrombophilia and recurrent pregnancy loss: a retrospective cohort study of pregnancy outcome and obstetric complications. *Hum. Reprod.* 2010. Vol. 25, № 12. P. 2978–2984.
4. Kujovich J.L. Factor V. Leiden thrombophilia. *Genet. Med.* 2011. Vol. 13, № 1. P. 1–16.
5. Poort S.R., Rosendaal F.R., Reitsma P.H. Bertina R.M. A Common Genetic Variation in the 3' Untranslated Region of the Prothrombin Gene Is Associated with Elevated Plasma Prothrombin Levels and Increase in Venous Thrombosis. *Blood.* 1996. Vol. 88, № 10. P. 3698–3703.
6. Rosendaal F.R., Reitsma P.H. Genetics of venous thrombosis. *J. Thromb. Haemost.* 2009. Vol. 7. P. 301–304.
7. Beckerath von N., Koch W., Mehilli J. Buttiger C., Schumig A., Kastrati A. Glycoprotein Ia gene C807T polymorphism and risk for major adverse cardiac events within the first 30 days after coronary artery stenting. *Blood.* 2000. Vol. 95, № 11. P. 3297–3301.
8. Bojesen S.E., Tybjaerg-Hansen A., Nordestgaard B.G. Integrin Я3 Leu33Pro Homozygosity and Risk of Cancer. *JNCI.* 2003. Vol. 95. P. 1150–1157.
9. Burzotta F., Iacoviello L., Di Castelnuovo A., Zamparelli R., D'Orazio A., Amore C., Schiavello R., Donati M.B., Maseri A., Possati G., Andreotti F. 4G/5G PAI-1 promoter polymorphism and acute – phase levels of PAI-1 following coronary by pass surgery: a prospective study. *J. Thromb. Thrombolysis.* 2003. Vol. 16. P. 149–154.
10. Buchholz T., Lohse P., Rogenhofer N., Kosian E., Pihusch R., Thaler C.J. Polymorphisms in the ACE and PAI-1 genes are associated with recurrent spontaneous miscarriages. *Hum Reprod.* 2003. Vol. 18. P. 2473–2477.
11. Inge Ebsch M.W., Thomas Chris M.G., Wetzels Alex M.M., Willemsen Wim N.P., Sweep Fred C.G.J., Steegers-Theunissen Regine P.M. Review of the role of the plasminogen activator system and vascular endothelial growth factor in subfertility. *Fertil Steril.* 2008. Vol. 90. P. 2340–2350.
12. Isotalo P.A., Wells G.A., Donnelly J.G. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutations. *Am. J. Hum. Genet.* 2000. Vol. 67. P. 986–990.
13. Bailey L.B., Gregory J.F. Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and other enzymes: metabolic significance, risks and impact on folate requirement. *J. Nutr.* 1999. № 129. P. 919–922.
14. Fatini C., Conti L., Turillazzi V., Sticchi E., Romagnuolo I., Milanini M.N., Cozzi C., Abbate R., Noci I. Unexplained infertility: association with inherited thrombophilia. *Thromb Res.* 2012. Vol. 129, № 5. e185-8. doi: 10.1016.
15. Coulam C.B., Jeyendran R.S. Thrombophilic gene polymorphisms are risk factors for unexplained infertility. *Fertil Steril.* 2009. Vol. 91. P. 1516–1517. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.07.1782.
16. Safdarian L., Najmi Z., Aleyasin A., Aghahosseini M., Rashidi M., Asadollah S. Recurrent IVF failure and hereditary thrombophilia *Iran J Reprod Med.* 2014. Vol. 12, № 7. P. 467–470.
17. Чорна Л.Б., Макух Г.В., Акопян Г.Р., Заставна Д.В., Прокопчук Н.М. Аналіз поліморфних варіантів генів *MTHFR*, *MTR*, *MTRR* та мутацій генів *FV* та *FII* згортання крові серед жінок з навиковим невиношуванням вагітності. *Журнал Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна. Сер. Біологія.* 2011. Вип. 13, № 947. С. 118–124.

References

1. Sidel'nikova V.M. Nevynashivaniye beremennosti – sovremennyu vzglyad na problemu [Miscarriage of pregnancy – a modern view of the problem]. *Akusherstvo i ginekologiya.* 2007. № 5. S. 24–27.
2. Branch D.W., Gibson M., Silver R.M. Clinical practice. Recurrent miscarriage *N. Engl. J. Med.* 2010. Vol. 36311. P. 1740–17472.
3. Lund M., Nielsen H.S., Hviid T.V., Steffensen R., Nyboe Andersen A., Christiansen O.B. Hereditary thrombophilia and recurrent pregnancy loss: a retrospective cohort study of pregnancy outcome and obstetric complications. *Hum. Reprod.* 2010. Vol. 25, № 12. P. 2978–2984.
4. Kujovich J.L. Factor V. Leiden thrombophilia. *Genet. Med.* 2011. Vol. 13, № 1. P. 1–16.
5. Poort S.R., Rosendaal F.R., Reitsma P.H. Bertina R.M. A Common Genetic Variation in the 3' Untranslated Region of the Prothrombin Gene Is Associated with Elevated Plasma Prothrombin Levels and Increase in Venous Thrombosis. *Blood.* 1996. Vol. 88, № 10. P. 3698–3703.
6. Rosendaal F.R., Reitsma P.H. Genetics of venous thrombosis. *J. Thromb. Haemost.* 2009. Vol. 7. P. 301–304.
7. Beckerath von N., Koch W., Mehilli J. Buttiger C., Schumig A., Kastrati A. Glycoprotein Ia gene C807T polymorphism and risk for major adverse cardiac events within the first 30 days after coronary artery stenting. *Blood.* 2000. Vol. 95, № 11. P. 3297–3301.
8. Bojesen S.E., Tybjaerg-Hansen A., Nordestgaard B.G. Integrin Я3 Leu33Pro Homozygosity and Risk of Cancer. *JNCI.* 2003. Vol. 95. P. 1150–1157.
9. Burzotta F., Iacoviello L., Di Castelnuovo A., Zamparelli R., D'Orazio A., Amore C., Schiavello R., Donati M.B., Maseri A., Possati G., Andreotti F. 4G/5G PAI-1 promoter polymorphism and acute – phase levels of PAI-1 following coronary by pass surgery: a prospective study. *J. Thromb. Thrombolysis.* 2003. Vol. 16. P. 149–154.
10. Buchholz T., Lohse P., Rogenhofer N., Kosian E., Pihusch R., Thaler C.J. Polymorphisms in the ACE and PAI-1 genes are associated with recurrent spontaneous miscarriages. *Hum Reprod.* 2003. Vol. 18. P. 2473–2477.
11. Inge Ebsch M.W., Thomas Chris M.G., Wetzels Alex M.M., Willemsen Wim N.P., Sweep Fred C.G.J., Steegers-Theunissen

- Regine P.M. Review of the role of the plasminogen activator system and vascular endothelial growth factor in subfertility. *Fertil Steril*. 2008. Vol. 90. P. 2340–2350.
12. Isotalo P.A., Wells G.A., Donnelly J.G. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutations. *Am. J. Hum. Genet.* 2000. Vol. 67. P. 986–990.
 13. Bailey L.B., Gregory J.F. Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and other enzymes: metabolic significance, risks and impact on folate requirement. *J. Nutr.* 1999. № 129. P. 919–922.
 14. Fatini C., Conti L., Turillazzi V., Sticchi E., Romagnuolo I., Milanini M.N., Cozzi C., Abbate R., Noci I. Unexplained infertility: association with inherited thrombophilia. *Thromb Res.* 2012. Vol. 129, № 5. e185-8. doi: 10.1016.
 15. Coulam C.B., Jeyendran R.S. Thrombophilic gene polymorphisms are risk factors for unexplained infertility. *Fertil Steril*. 2009. Vol. 91. P. 1516–1517. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.07.1782.
 16. Safdarian L., Najmi Z., Aleyasin A., Aghahosseini M., Rashidi M., Asadollah S. Recurrent IVF failure and hereditary thrombophilia *Iran J Reprod Med.* 2014. Vol. 12, № 7. P. 467–470.
 17. Chorna L.B., Makukh H.V., Akopyan H.R., Zastavna D.V., Prokopchuk N.M. Analiz polimorfnykh variantiv henyv MTHFR, MTR, MTRR ta mutatsiy henyv FV ta FII zhortannya krovi sered zhinok z navykovym nevinoshuvanniam vahitnosti [Analysis of polymorphic variants of *MTHFR*, *MTR*, *MTRR* genes and mutations of *FV* and *FII* genes of blood coagulation in women with a history of miscarriage]. *Zhurnal Kharkivskoho natsionalnoho universytetu im. V.N. Karazina. Ser. Biolohiya.* 2011. Vol. 13, № 947. S. 118–124.

CHORNA L.B., MAKUKH H.V., ZASTAVNA D.V., PROKOPCHUK N.M., HELNER N.V.

SI "Institute of Hereditary Pathology NAMS of Ukraine",

Ukraine, 79008, Lviv, M. Lysenko str., 31a, e-mail: chorna_l@ukr.net

THE FREQUENCY OF GENETIC FACTORS OF THROMBOPHILIA IN WOMEN WITH RECURRENT PREGNANCY LOSSES

Aim. There is growing evidence that recurrent pregnancy losses (RPL) are associated with the presence of inherited thrombophilias but data are inconsistent. The present study aimed to assess the distribution of inherited risk factors of thrombophilia among women with RPL. **Methods.** We studied 68 women with RPL and 120 healthy women of control group, inhabitants of Western Ukraine. In all subjects the detection of genetic factors of thrombophilia were determined by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism method. **Results.** The prevalence of heterozygotes for *FV 1691G/A* among women with RPL and controls were: 12 % versus 4 %, respectively. Women heterozygosity for factor V Leiden was significantly more prevalent in the RPL group than in controls (OR 3.11, 95 % CI 1.02–9.46). Results showed that carriers of *PAI-1 4G* allele have increased odds on more than 2 times in comparison to the carriers of homozygous *5G5G* genotypes. A significant relationship between allele variation 677T of *MTHFR* gene (OR 1.70, 95 % CI 1.09–2.67) and RPL was observed. **Conclusions.** Significance of *1691G/A* mutation of *V* blood coagulation factor gene, alleles variations of 677T of *MTHFR* gene and *4G* of *PAI-1* gene in the structure of predisposition to RPL in group of west Ukrainian women was established.

Keywords: genetic factors, hereditary thrombophilia, molecular genetic testing, RPL.