**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «УРАЛЬСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИСТИТУТ ОХРАНЫ**

**МАТЕРИНСТВА И МЛАДЕНЧЕСТВА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**На правах рукописи**

**ДЕМЧЕНКО Надежда Сергеевна**

**ОЦЕНКА РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА И АНГИОГЕНЕЗА ПРИ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ**

**14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика**

**Диссертация на соискание учёной степени кандидата медицинских наук**

**Научный руководитель: доктор медицинских наук, Заслуженный врач России, профессор Башмакова Надежда Васильевна**

**Екатеринбург – 2015**

**2**

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ…………………………………………… …4**

**ВВЕДЕНИЕ………………………………………………………………………...…5**

**Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ……………………………… ………..……14**

**1.1. Роль метаболизма фолатов и полиморфизма генов обмена гомоцистеина**

**в патогенезе невынашивания беременности………………………… ….14**

**1.1.1. Метаболический путь фолата……… ……………………..……..….17**

**1.1.2. Полиморфизм отдельных генов и метаболизм фолиевой кислоты…..…19 1.1.2.1. Полиморфные варианты гена метилентетрагидрофолатредуктазы**

**(MTHFR)……………………………………………………………..…19 1.1.2.2. Полиморфизм генов метионин-синтазы (MTR) и**

**метионин-синтазы редуктазы (MTRR)……….…………………..….21**

**1.1.3. Обзор работ по изучению распространенности полиморфизма**

**генов фолатного цикла на материале абортусов………………….……...22**

**1.2. Роль сосудисто-эндотелиального фактора роста и полиморфизма его**

**гена в патогенезе невынашивания беременности…………….………..….…25**

**1.2.1. Современные представления об этиологии и патогенезе невынашивания беременности……………….………….………..………25**

**1.2.2. Семейство белков сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF)...26**

**1.2.3. Рецепторы белков семейства VEGF………..………………..…………....28**

**1.2.4. Роль VEGF-A и его рецепторов в эмбриогенезе……..…………..………29**

**Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ……………...…….33**

**2.1. Объем и структура материалов, дизайн исследования…… …………....33**

**2.2. Методы исследования…………………………………………...……..…… 36**

**2.2.1. Молекулярно-генетические методы исследования..… 36**

**2.2.2. Цитогенетические методы исследования………………………………….39**

**2.2.3. Методы патоморфологического исследования……………………… 42**

**2.2.4. Методы статистического анализа………………………………………….45 Глава 3. ЛАБОРАТОРНЫЕ ФАКТОРЫ РИСКА НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ**

**БЕРЕМЕННОСТИ…...…………………………………………… …49**

**2**

**3**

**3.1. Молекулярно-генетические маркеры системы метаболизма фолата**

**(MTHFR 677С>Т, MTHFR 1298A>C, MTRR 66A>G, MTR 2756A>G)……..49**

**3.1.1. Молекулярно-генетическое исследование частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфных вариантов 677С>Т и 1298 A>C гена MTHFR в исследуемых группах……………………………..………49**

**3.1.2. Молекулярно-генетическое исследование частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфных вариантов MTRR 66 A>G, MTR 2756 A>G………………………………………….………....…… 61**

**3.1.3. Молекулярно-генетическое исследование сочетанного наследования полиморфных вариантов генов метаболизма фолата (MTHFR 677С>Т, MTHFR 1298 A>C, MTRR 66 A>G, MTR 2756A>G) …………………....77**

**3.2. Молекулярно-генетическое исследование частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфных вариантов 936 C>T, -634 G>C гена сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF-А).……………….……..81**

**3.3. Результаты морфологического исследования абортного материала случаев неразвивающейся беременности……………………………………………..95**

**3.3.1. Морфофункциональная характеристика маточно-плацентарной**

**области…………………………………………………...…………………96**

**3.3.2. Морфофункциональная характеристика ворсин хориона………...… 97**

**3.4. Цитогенетическое исследование продуктов зачатия случаев**

**неразвивающейся беременности………..…………………...………….…103 Глава 4. АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ...…………..…..…..109**

**4.1. Анализ цитогенетического исследования продуктов зачатия случаев неразвивающейся беременности………..……………….……………………109**

**4.2. Анализ патоморфологического исследования продуктов зачатия случаев неразвивающейся беременности……………...………………………………115**

**4.3. Анализ молекулярно-генетического исследования маркеров системы метаболизма фолата (MTHFR 677С>Т, MTHFR 1298 A>C, MTRR 66 A>G, MTR 2756 A>G)…….…………...…………………………...118**

**4.3.1. Анализ частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфных**

**3**

**вариантов 677С>Т и 1298 А>С гена MTHFR в исследуемых**

**группах 118**

**4.3.2. Анализ частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов MTRR 66 A>G, MTR 2756 A>G в исследуемых группах 121**

**4.3.3. Анализ сочетанного наследования полиморфных вариантов генов метаболизма фолата (MTHFR 677С>Т, MTHFR 1298А>С,**

**MTRR 66A>G, MTR 2756A>G) 124**

**4.4. Анализ частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфных**

**вариантов 936 С>Т, -634 G>C гена сосудисто-эндотелиального фактора**

**роста (VEGF-А) 127**

**Глава 5. АЛГОРИТМ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РИСКА**

**НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ.………………..…….129 ЗАКЛЮЧЕНИЕ………………………...…………………………………………138 ВЫВОДЫ…….……………………………………………………………...……..142 ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ……………………………..……...….144 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ……………………………………………..………...146**

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Практические рекомендации разработаны для врачей клинической лабораторной диагностики и лабораторной генетики, акушеров – гинекологов для применения в практике акушерско-гинекологических стационаров и женских консультаций.

1. Для женщин без случаев невынашивания беременности в анамнезе для

определения риска неразвивающейся беременности на этапе прегравидарной

подготовки рекомендуем генотипирование по полиморфизму -634 G>C гена

VEGF-А. Относительный риск развития гиповаскуляризации или

аваскуляризации ворсин хориона и, как следствие, формирование

неразвивающейся беременности составляет 1,87 при наличии у женщины

генотипа -634 CC или -634 GC гена VEGF-А (OR=1,87, CL95% 1,02-3,44,

p=0,04), (рис.3).

2. Проведение комплексного цитогенетического и морфологического

исследования плодного материала неразвивающейся беременности и анализ

результатов позволяет определить причину гибели плода. Наличие летальных

аномалий кариотипа плода будет являться основной причиной его гибели. Для

женщин, имеющих в анамнезе случай неразвивающейся беременности без

хромосомной патологии плода, для определения риска неразвивающейся

беременности на этапе прегравидарной подготовки рекомендуем применение

разработанного алгоритма лабораторного обследования для прогноза риска

повторного случая неразвивающейся беременности. Данный алгоритм включает

анализ данных акушерско-гинекологического анамнеза, результатов

гистологического исследования абортного материала предыдущего случая

неразвивающейся беременности до 12 недель гестации, результатов

генотипирования полиморфных вариантов генов фолатного цикла и сосудисто-

эндотелиального фактора роста супругов.

Использование правила прогноза позволит определить супружескую пару в группу повышенного риска формирования фето-плацентарной дисфункции и

144

145

разработать комплекс целенаправленных мер профилактики нарушений формирования фето-плацентарного кровообращения, сформировать правильную тактику ведения будущей беременности с целью снижения перинатальных осложнений и потерь