

Trombofilia wrodzona jako przyczyna poronień nawracających w I trymestrze ciąży

Inherited thrombophilia as the reason of recurrent miscarriages in the first trimester of pregnancy

Kurzawińska Grażyna¹, Seremak-Mrozikiewicz Agnieszka², Drews Krzysztof¹, Barlik Magdalena², Mrozikiewicz Przemysław M.³

¹ Klinika Perinatologii i Chorób Kobięcych, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

² Studenckie Koło Naukowe w Klinice Perinatologii i Chorób Kobięcych, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

³ GP Pharm Medical Poznań

Streszczenie

Wstęp: Przyczyną poronień nawracających mogą być zaburzenia układu krzepnięcia uwarunkowane wystąpieniem trombofilii nabytej lub wrodzonej.

Cel pracy: Celem pracy była ocena częstości występowania oraz znaczenia obecności polimorfizmów w genach kodujących czynnik V (1691G>A) i czynnik II (20210G>A) krzepnięcia w grupie kobiet z dwoma lub więcej poronieniami w I trymestrze ciąży.

Materiał i metoda: Badania przeprowadzono w grupie 104 kobiet z dwoma lub więcej poronieniami w I trymestrze ciąży oraz 169 kobiet z nieobciążonym wywiadem położniczym, u których potwierdzono obecność co najmniej jednej ciąży donoszonej, zakończonej urodzeniem zdrowego noworodka. Do badań zastosowano reakcję łańcuchową polimerazy oraz metodę polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (PCR/RFLP).

Wyniki: W zakresie polimorfizmu 20210G>A genu protrombiny zaobserwowano zdecydowaną przewagę występowania genotypów zawierających zmutowany allel GA (8,33 vs 1,18% w grupie kontrolnej, $p=0,07$), jak również allele A (4,17 vs 0,59% w grupie kontrolnej, $p=0,07$) w podgrupie kobiet z trzema i więcej poronieniami. Dla polimorfizmu 1691G>A czynnika V zaobserwowano przewagę występowania genotypu GA (12,50 vs 6,51%, $p=0,31$) oraz allele A (6,25 vs 3,25%, $p=0,31$) w grupie kobiet z poronieniami pomiędzy 10 a 13 tygodniem ciąży w porównaniu do grupy kontrolnej. Dla polimorfizmu 20210G>A genu protrombiny zauważono znaczną przewagę występowania genotypu GA (8,70%) u kobiet z poronieniami zarówno we wczesnym, jak i późnym okresie I trymestrze ciąży w porównaniu do grupy kontrolnej (1,18%, $p=0,07$). Częstość występowania zmutowanego allele A wynosiła 4,35% w grupie badanej oraz 0,59% w grupie kontrolnej ($p=0,07$).

Wnioski: W pracy wskazano na możliwy wpływ obydwu analizowanych polimorfizmów 1691G>A genu czynnika V oraz 20210G>A genu protrombiny w mechanizmie poronień nawracających w I trymestrze ciąży oraz na udział polimorfizmu 1691G>A w etiologii poronień nawracających w późnym okresie I trymestrze (10-13 t.c.).

Słowa kluczowe: **poronienia nawracające / czynnik V Leiden / mutacja /
/ protrombina / polimorfizm genetyczny /**

Adres do korespondencji:

Grażyna Kurzawińska
Pracownia Biologii Molekularnej
w Klinice Perinatologii i Chorób Kobięcych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu
60-535 Poznań, ul. Polna 33
tel. 0618419530; fax: 0618474651
e-mail: gene@gpsk.am.poznan.pl

Otrzymano: 02.04.2009
Zaakceptowano do druku: 16.08.2009

Summary

Introduction: It is currently believed that disturbances of maternal clotting system leading to occurrence of thrombotic abnormalities, conditioned by the presence of acquired or inherited thrombophilias, may be an important reason for recurrent abortions. The aim of this study was to investigate frequency and significance of polymorphisms in genes coding for factor V (1691G>A) and factor II (20210G>A) of coagulation cascade in a group of women with two or more miscarriages in the first trimester of pregnancy.

Material and methods: The investigations were conducted in a group of 104 women with anamnesis history of two or more miscarriages in the first trimester of pregnancy and in a group of 169 women with correct obstetrical anamnesis and confirmed presence of at least one pregnancy that resulted in a birth of a healthy child. The analysis was performed by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism (PCR/RFLP).

Results: Investigation of 20210G>A polymorphism of prothrombin gene revealed high overrepresentation of genotype GA (8.33% and 1,18% in the control group, $p=0.07$) and allele A (4.17% and 0,59% in the control group, $p=0.07$) in the subgroup of women with three or more miscarriages.

Investigation of 1691 G>A polymorphism showed preponderance of genotype GA (12.50% vs 6,51% , $p=0.31$) and allele A (6.25% vs 3.25% , $p=0,31$) in a group of women with miscarriages between 10 and 13 week of gestation in comparison to the control group. Investigation of 20210G>A polymorphism showed majority of genotype GA (8.70%) in women with miscarriages in the early as well as in the late period of the first trimester in comparison to the control group (1.18%, $p=0.07$). The frequency of occurrence of mutated allele A was 4.35% and 0.59% in the control group (1.18%, $p=0.07$).

Conclusions: The analysis of obtained results suggests the possible influence of both considered polymorphisms 1691G>A of factor V gene and 20210G>A prothrombin gene on mechanism of recurrent miscarriages in the first trimester of pregnancy and participation of 1691G>A polymorphism in the etiology of recurrent miscarriages during the late period of the first trimester of pregnancy (10-13 week of gestation).

Key words: **recurrent miscarriage / factor V Leiden / mutation / prothrombin / genetic polymorphism /**

Wstęp

Coraz częściej uważa się, że przyczyną poronień nawracających mogą być zmiany zakrzepowe uwarunkowane wystąpieniem trombofilii wrodzonej lub nabytej. Obecnie już w przypadku dwóch lub więcej poronień w jednym związku partnerskim zaleca się poszerzenie diagnostyki w kierunku trombofilii [1]. Do najczęściej opisywanych przyczyn trombofilii wrodzonych mających udział w powikłaniach położniczych należą: czynnik V Leiden (1691G>A) (około 20% powikłań), mutacja 20210G>A (PTM – prothrombin mutation) genu protrombiny (około 10% powikłań) oraz hiperhomocysteinemia. Mniejsze znaczenie mają wrodzone niedobory białek C i S oraz wrodzony niedobór antyprotrombiny III.

Czynnik V krzepnięcia (FV) pełni istotną rolę zarówno w szlaku pro-, jak i antykoagulacyjnym. W swojej zaktywowanej formie czynnik V jest kofaktorem czynnika Xa w kompleksie protrombinazy, która katalizuje przekształcenie protrombiny w trombinę. W formie nieaktywnej FV służy jako kofaktor dla zaktywowanego białka C w regulowaniu aktywności czynnika VIIIa. Przez swoją podwójną rolę czynnik V bywa nazywany białkiem o „janusowej twarzy” [2].

Gen kodujący czynnik V zlokalizowany jest na chromosomie 1. W 1993 roku opisano mechanizm nadkrzepliwości spowodowany opornością czynników krzepnięcia na działanie naturalnego antykoagulanta, jakim jest białko C [3]. Zmiana ta jest spowodowana przez punktową mutację w genie kodującym czynnik V spowodowaną substytucją guaniny adeniną w pozycji nukleotydowej 1691 (czynnik V Leiden), co powoduje zamianę aminokwasu argininy na glutaminę w pozycji 506 łańcucha białkowego czynnika V [4]. Jest to najczęstsza przyczyna trombofilii wrodzonej występująca u 3-7% populacji ogólnej.

Protrombina (FII) jest prekursorem trombiny, która to powoduje rozkład fibrynogenu i powstanie fibryny, głównego składnika skrzepu krwi. Gen kontrolujący syntezę protrombiny zlokalizowany jest na chromosomie 11 (14 eksonów, 13 intronów). Jednonuklotydowa tranzykcja guaniny na adeninę w pozycji 20210 zlokalizowana w części eksonu 14 kodującego obok regionu sekwencji niekodujących mRNA protrombiny powoduje wzrost stężenia protrombiny w surowicy krwi nawet do 20%, co wpływa na umiarkowanie wzmożoną aktywność układu krzepnięcia mogącą prowadzić do zakrzepicy [5, 6].

Do chwili obecnej opisano kilka wariantów allelicznych genu protrombiny, głównie prowadzących do hipo- lub dysprotrombinemii. Polimorfizm 20210G>A tego genu jest drugim z najczęstszych przyczyn występowania wrodzonej trombofilii, wpływającym jednocześnie na występowanie poronień.

Cel pracy

Celem pracy była ocena częstości występowania oraz znaczenia obecności polimorfizmów genów czynnika II oraz V krzepnięcia w grupie kobiet z dwoma lub więcej poronieniami w I trymestrze ciąży.

Materiał i metody

Grupę badaną stanowiły 104 kobiety rasy kaukaskiej z dwoma i więcej poronieniami (średnia wieku 30,15±4,07 lat, zakres 23-40 lat, mediana 30 lat). Wiek ciąży, w którym doszło do poronienia określany był na podstawie daty wystąpienia ostatniej miesiączki, analizy regularności cykli miesięcznych oraz analizy badań ultrasonograficznych wykonywanych u pacjentki. Wykluczono u nich obecność przeciwciał antyfosfolipidowych oraz innych patologii położniczych mogących mieć związek z występowaniem powikłań zakrzepowych i poronień.

Trombophilia wrodzona jako przyczyna poronień nawracających w I trymestrze ciąży.

Grupa kontrolna liczyła 169 zdrowych kobiet (średnia wieku $29,40 \pm 3,56$; mediana 29, zakres wieku 22-41 lat). W grupie tej co najmniej jedna ciąża zakończyła się urodzeniem zdrowego, donoszonego noworodka (średni tydzień zakończenia ciąży $38,95 \pm 1,17$, mediana 39, zakres 37-42 tyg.). Wykluczono kobiety z obciążonym wywiadem w kierunku wystąpienia poronień oraz innych powikłań, które mogą być uwarunkowane zmianami zakrzepowymi (preeklampsja, zahamowanie wewnątrzmacicznego wzrostania płodu, porody przedwczesne, przedwczesne oddzielenie łożyska, zgon płodu).

Częstość występowania polimorfizmów $1691G>A$ genu FV oraz $20210G>A$ genu FII badano z zastosowaniem reakcji łańcuchowej polimerazy/polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (PCR/RFLP - *polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism*). Izolację DNA z leukocytów krwi przeprowadzano za pomocą komercyjnego zestawu QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN Inc., Niemcy). Do amplifikacji fragmentu genu czynnika V zastosowano specyficzne oligonukleotydy oraz warunki reakcji opisane wcześniej [4,5]. Uzyskane produkty wielkości 220 par zasad (pz) dla *FVL* i 345 pz dla *PTM* hydrolizowano enzymami restrykcyjnymi: *FVL* - *MnII* (Eurx, Polska), *PTM* *HindIII* (Fermentas, Litwa). Wielkości otrzymanych fragmentów po hydrolizie były następujące: w przypadku polimorfizmu $1691G>A$ genu czynnika V dla homozygoty *GG* - 116, 67, 37 pz, heterozygoty *GA* 153, 116, 67, 37 pz, homozygoty zmutowanej *AA* 153, 67 pz oraz dla polimorfizmu $20210G>A$

genu protrombiny: homozygoty *GG* 345 pz, heterozygoty *GA* 345, 322, 23 pz, homozygoty zmutowanej *AA* 322, 23 pz.

Do analizy statystycznej wyników częstości występowania genotypów i polimorficznych alleli badanych genów uzyskanych w pracy zastosowano program statystyczny SPSS 14.0 PL dla Windows. Wartości oczekiwane i obserwowane były zgodne z prawem Hardy-Weinberga. Wartość $p < 0,05$ przyjęto za statystycznie istotną.

Wyniki

Analizując obydwie grupy: badaną (104 kobiety) oraz kontrolną (169 kobiet) w zakresie polimorfizmu $20210G>A$ genu protrombiny stwierdzono niewielką przewagę występowania heterozygotycznego genotypu *GA* w grupie kobiet z poronieniami (2,88 vs 1,18, $WR=2,48$, $p=0,284$) oraz przewagę występowania zmutowanego allela *A* (1,44 vs 0,59%, $WR=2,46$, $p=0,28$). Dla polimorfizmu $1691G>A$ częstości występowania genotypów i alleli były porównywalne. U żadnej pacjentki nie stwierdzono występowania zmutowanych homozygot *AA*. (Tabela I).

Następnie grupę badaną 104 kobiety podzielono na dwie podgrupy ze względu na ilość występujących u nich poronień (80 pacjentek z dwoma oraz 24 z trzema lub więcej poronieniami). W zakresie polimorfizmu $20210G>A$ genu protrombiny zaobserwowano zdecydowaną przewagę występowania genotypu *GA* w podgrupie z trzema i więcej poronieniami (8,33 vs 1,18%, $p=0,07$).

Tabela I. Częstość występowania genotypów i alleli polimorfizmów $1691G>A$ czynnika V i $20210G>A$ czynnika II w grupie badanej z poronieniami oraz w grupie kontrolnej.

	Grupa ≥ 2 poronienia (n=104)		Grupa kontrolna (n=169)		WR	95% PU	p
	wartość obserwowana N (%)	wartość oczekiwana (%)	wartość obserwowana N (%)	Wartość oczekiwana (%)			
Czynnik V $1691G>A$							
Genotypy							
GG	97 (93,27)	9338	158 (93,49)	9361	96	0,33-3,04	56
GA	7 (6,73)	651	11 (6,51)	629	104	0,33-3,04	56
AA	0 (0,00)	11	0 (0,00)	10	—	—	
suma	104 (100,00)	10000	169 (100,00)	10000			
Allele							
G	201 (96,63)	—	327 (96,75)	—	96	0,33-2,99	56
A	7 (3,37)	—	11 (3,25)	—	104	0,33-2,98	56
suma	208 (100,00)	—	338 (100,00)	—			
Czynnik II $20210G>A$							
Genotypy							
GG	101 (97,12)	9714	167 (98,82)	9882	40	0,34-3,59	28
GA	3 (2,88)	284	2 (1,18)	117	248	0,28-30,06	28
AA	0 (0,00)	2	0 (0,00)	1		-	
suma	104 (100,00)	10000	169 (100,00)	10000			
Allele							
G	205 (98,56)	—	336 (99,41)	—	40	0,33-3,59	28
A	3 (1,44)	—	2 (0,59)	—	246	0,28-29,62	28
suma	208 (100,00)	—	338 (100,00)	—			

Tabela II. Częstość występowania genotypów i alleli polimorfizmów 1691G>A czynnika V i 20210G>A czynnika II w grupie badanej z dwoma, trzema i więcej oraz grupie kontrolnej.

Czynnik V 1691G>A	Poronienia				Grupa kontrolna (n=169)	
	Grupa 2 poronienia (n=80)		Grupa 3 i 4 poronienia (n=24)			
	wartość obserwowana n (%)	wartość oczekiwana (%)	wartość obserwowana n (%)	wartość oczekiwana (%)	wartość obserwowana n (%)	wartość oczekiwana (%)
Czynnik V 1691G>A						
Genotypy						
GG	74 (92,50)	9264	23 (95,83)	9588	158 (93,49)	9361
GA	6 (7,50)	722	1 (4,17)	408	11 (6,51)	629
AA	0 (0,00)	14	0 (0,00)	4	0 (0,00)	10
suma	80 (100,00)	10000	24 (100,00)	10000	169 (100,00)	10000
Allele						
G	154 (96,25)	-	47 (97,92)	-	327 (96,75)	-
A	6 (3,75)	-	1 (2,08)	-	11 (3,25)	-
suma	160 (100,00)	-	48 (100,00)	-	338 (100,00)	-
Czynnik II 20210G>A						
Genotypy						
GG	79 (98,75)	9875	22 (91,67)	9184	167 (98,82)	9882
GA	1 (1,25)	124	2 (8,33)	799	2 (1,18)	117
AA	0 (0,00)	0	0 (0,00)	17	0 (0,00)	1
suma	80 (100,00)	10000	24 (100,00)	10000	169 (100,00)	10000
Allele						
G	159 (99,38)	-	46 (95,83)	-	336 (99,41)	-
A	1 (0,62)	-	2 (4,17)	-	2 (0,59)	-
suma	160 (100,00)	-	48 (100,00)	-	338 (100,00)	-

Również w częstości pojawiania się allele A w podgrupie kobiet z trzema i więcej poronieniami obserwowano znaczącą przewagę (4,17 vs 0,59% w grupie kontrolnej, $p=0,07$). (Tabela II).

W dalszej analizie grupę 104 pacjentek podzielono na pacjentki, u których występowały poronienia tylko we wczesnym okresie I trymestru ciąży (6-10 tc, 65 osób, podgrupa A), pacjentki, u których występowały poronienia tylko w późnym okresie I trymestru (11-13 t.c., 16 osób, podgrupa B). Wydzielono również podgrupę, w której odnotowano występowanie zarówno poronień we wczesnym, jak i późnym okresie I trymestru (6-13 t.c., 23 osoby, podgrupa C). Dla polimorfizmu 1691G>A zaobserwowano przewagę występowania genotypu GA (12,50 vs 6,51%, $p=0,31$) oraz allele A (6,25 vs 3,25%, $p=0,31$) w grupie kobiet z poronieniami pomiędzy 10 a 13 tygodniem ciąży w porównaniu do grupy kontrolnej. Dla polimorfizmu 20210G>A zauważono znaczną przewagę występowania genotypu GA (8,70%) w podgrupie C, którą tworzyły kobiety z poronieniami zarówno we wczesnym, jak i późnym okresie I trymestru ciąży w porównaniu do grupy kontrolnej (1,18%, $p=0,07$).

Częstość występowania zmutowanego allele A wynosiła odpowiednio 4,35% w podgrupie C oraz 0,59% w grupie kontrolnej zdrowych kobiet ($p=0,07$). (Tabela III).

Porównując całą grupę badaną i kontrolną stwierdzono podobne częstości współwystępowania poszczególnych genotypów dla polimorfizmu 1691G>A genu czynnika V oraz 20210G>A genu protrombiny. (Tabela IV).

Dyskusja

Obecnie większość badań potwierdza zwiększenie ryzyka wystąpienia poronień w II trymestrze oraz ryzyka wewnątrzmacicznego obumarcia płodu w III trymestrze ciąży w obecności mutacji Leiden oraz PTM [7, 8, 9, 10, 11]. Niewiele natomiast badań dotyczy znaczenia tych mutacji w stosunku do poronień w pierwszym trymestrze ciąży [12, 13].

Już w latach 90 XX wieku zaobserwowano, że nosicielki mutacji Leiden mają 29,4% szans na wystąpienie poronienia w porównaniu do 17,4% kobiet z grupy kontrolnej. Zaproponowano również, że pacjentki o genotypie homozygotycznym zmutowanym mają większe ryzyko utraty ciąży w porównaniu do kobiet o genotypie heterozygotycznym [13]. W badaniu dotyczącym 78 kobiet izraelskich z dwoma lub więcej następującymi po sobie niewyjaśnionymi poronieniami w I lub II trymestrze ciąży częstość występowania mutacji Leiden wynosiła odpowiednio 16% u kobiet z nawracającymi poronieniami w I oraz 22% u kobiet

Trombophilia wrodzona jako przyczyna poronień nawracających w I trymestrze ciąży.

Tabela III. Częstość występowania genotypów i alleli polimorfizmów 1691G>A i 20210G>A w badanych podgrupach.

		Grupa ≥ 2 poronienia						Grupa kontrolna (n=169)		
		Podgrupa A (6-10 t.c.) (n=65)		Podgrupa B (11-13 t.c.) (n=16)		Podgrupa C (6-13 t.c.) (n=23)				
		wartości obserwowane n (%)	wartości oczekiwane (%)	wartości obserwowane n (%)	wartości oczekiwane (%)	wartości obserwowane n (%)	wartości oczekiwane (%)			wartości obserwowane n (%)
Czynnik V 1691G>A	Genotypy	GG	60 (92,31)	9245	14 (87,50)	8789	23 (100,00)	100	158 (93,45)	9361
		GA	5 (7,69)	74	2 (12,50)	1172	0 (0,00)	0	11 (6,51)	629
		AA	0 (0,00)	15	0 (0,00)	39	0 (0,00)	0	0 (0,00)	1
		suma	65 (100,00)	100	16 (100,00)	100	23 (100,00)	100	169 (100,00)	100
	Allele	G	125 (96,15)	—	30 (93,75)	—	46 (100,00)	—	327 (96,75)	—
		A	5 (3,85)	—	2 (6,25)	—	0 (0,00)	—	11 (3,25)	—
		suma	130 (100,00)	—	32 (100,00)	—	46 (100,00)	—	338 (100,00)	—
Czynnik II 20210G>A	Genotypy	GG	64 (98,46)	9846	16 (100,00)	100	21 (91,30)	9149	167 (98,82)	9882
		GA	1 (1,54)	153	0 (0,00)	0	2 (8,70)	832	2 (1,18)	117
		AA	0 (0,00)	1	0 (0,00)	0	0 (0,00)	19	0 (0,00)	1
		suma	65 (100,00)	100	16 (100,00)	100	23 (100,00)	100	169 (100,00)	100
	Allele	G	129 (99,23)	—	32 (100,00)	—	44 (95,65)	—	336 (99,41)	—
		A	1 (0,77)	—	0 (0,00)	—	2 (4,35)	—	2 (0,59)	—
		suma	130 (100,00)	—	32 (100,00)	—	46 (100,00)	—	338 (100,00)	—

podgrupa A - poronienia tylko we wczesnym okresie I trymestru (6-10 t.c.)

podgrupa B - poronienia tylko w późnym okresie I trymestru (11-13 t.c.)

podgrupa C - poronień we wczesnym oraz późnym okresie I trymestru (6-13 t.c.)

z co najmniej jednym poronieniem w II trymestrze ciąży vs 6% w grupie kontrolnej [14]. W grupie 84 szwedzkich kobiet z przynajmniej trzema następującymi po sobie niewyjaśnionymi poronieniami w wywiadzie wykazano znacznie częstsze występowanie mutacji Leiden w porównaniu z grupą kontrolną ($p=0,0077$). W grupie 36 pacjentek, u których występowały poronienia pierwotne nosicielkami *FVL* było 10 (27,8%) kobiet (10/36 vs 2/69, $p=0,0003$) [15].

W niniejszej pracy w zakresie polimorfizmu *FF* zaobserwowano częstsze występowanie genotypu heterozygotycznego *GA* w grupie kobiet z poronieniami pomiędzy 10 a 13 t.c. (12,50 vs 6,51%, $p=0,31$, dla allela *A*: 6,25 vs 3,25%, $p=0,31$). Uzyskane w pracy wyniki wskazują na możliwy wpływ mutacji Leiden w mechanizmie poronień nawracających w późnym okresie I trymestru ciąży i są porównywalne z uzyskiwanymi przez innych autorów. Reznikoff-Etiévant i wsp. badali 260 kobiet rasy kaukaskiej, które doświadczyły dwóch lub więcej niewyjaśnionych poronień przed 10 tygodniem ciąży. Częstość występowania mutacji Leiden wynosiła 10,3% w porównaniu do 4,6% w grupie kontrolnej. Autorzy zasugerowali, że mutacja Leiden wpływa znacząco na poronienia nawracające przed 10 t.c. [16].

Pauer i wsp. w grupie 84 niemieckich kobiet z dwoma lub więcej poronieniami (64 w pierwszym trymestrze ciąży i 20 w drugim trymestrze) wyznaczyli obecność mutacji Leiden u 6 z 64 pacjentek z poronieniami w pierwszym trymestrze ciąży oraz 3 z 20 pacjentek z poronieniami w drugim trymestrze ciąży (9,4% vs 15%). Badacze wnioskują, że czynnik V Leiden nie wpływa na wczesne poronienia nawracające, chociaż może mieć wpływ na poronienia późniejsze [17].

Również w metaanalizie przeprowadzonej przez Rai i wsp. (2003), wykazano, że u kobiet nosicielek *FF* w I trymestrze ciąży może następować wzrost częstości występowania poronień dopiero po 10 t.c. Autorzy sugerują, że przed tym okresem *FF* pełni paradoksalnie funkcję ochronną przed poronieniami [18].

Niektóre badania w ogóle nie potwierdzają związku mutacji Leiden z poronieniami nawracającymi. Dizon-Townson i wsp. badali 40 par z trzema lub więcej idiopatycznymi poronieniami (22 kobiety z poronieniami w I trymestrze ciąży, 18 kobiet z poronieniami II trym. ciąży, rasa kaukaska). Żadna z 40 pacjentek nie była nosicielką mutacji Leiden [12].

Szacunkowe, ogólne ryzyko wystąpienia poronień u matek nosicielek genotypu heterozygotycznego polimorfizmu 20210G>A protrombiny wynosi około 2,4 [10] i jest jeszcze bardziej wyraźne (około 3-krotnie) dla późnych poronień [19].

Tabela IV. Współwystępowanie genotypów 1691G>A czynnika V oraz 20210G>A genu protrombiny w grupie badanej kobiet z poronieniami oraz grupie kontrolnej.

			Czynnik V 1691G>A N (%)			Ogółem
			GG	GA	AA	
Poronienia	Czynnik II 20210G>A	GG	95 (91,35)	6 (5,77)	0 (0,00)	101 (97,12)
		GA	2 (1,92)	1 (0,96)	0 (0,00)	3 (2,88)
		AA	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
	suma	97 (93,27)	7 (6,73)	0 (0,00)	104 (100,00)	
Grupa kontrolna	Czynnik II 20210G>A	GG	156 (92,31)	11 (6,51)	0 (0,00)	167 (98,82)
		GA	2 (1,18)	0 (0,00)	0 (0,00)	2 (1,18)
		AA	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
	suma	158 (93,49)	11 (6,51)	0 (0,00)	169 (100,00)	

W badaniu opublikowanym przez Foka i wsp. wskazano, że polimorfizm 20210G>A genu protrombiny ma wpływ na częstość występowania dwóch lub więcej poronień u kobiet greckich (9 vs 2%, $p=0,038$, $WR=4,7$). U 61 kobiet poronienia występowały tylko w I trymestrze ciąży i stwierdzono wśród nich 5 nosicieli mutacji (8,1%), natomiast u 19 kobiet z poronieniami w II trymestrze nosicielkami były 2 pacjentki (10,5%) [11]. Znaczący wpływ *PTM* na ryzyko występowania poronień przed 12 tygodniem ciąży przedstawiają badania w grupie 75 pacjentek z dwoma lub więcej poronieniami następującymi po sobie (6,7% vs 0,8%, $WR=8,53$). Wyniku tego nie można wytłumaczyć tylko umiarkowanym stanem zakrzepowym powodowanym przez mutację 20210G>A i stąd autorzy zaproponowali, że zwiększony poziom protrombiny może dodatkowo wpływać w łożysku na adhezję komórkową, proliferację mięśni gładkich i waskulogenezę [20]. Wpływ *PTM* na częstsze występowanie poronień przed 10 tygodniem ciąży zaobserwowano również w populacji francuskiej. Pośród 260 kobiet z grupy badanej nosicielkami mutacji było 20 kobiet (7,6%), natomiast w grupie kontrolnej 7 z 240 pacjentek (2,9%), $WR=2,7$ [16].

Badania Carpa i wsp. przeprowadzone w dwóch zróżnicowanych etnicznie grupach populacji izraelskiej, wykazały natomiast niższą częstość występowania mutacji 20210G>A w grupie kobiet z trzema lub więcej poronieniami (4,6 vs 6,1%) [21]. Badania Pickering i wsp. obejmujące niejednorodną populację brytyjską kobiet z poronieniami wczesnymi także nie wskazują aby u nosicieli *PTM* występowały częściej poronienia nawracające (3,3% vs 4,5%). Podczas analizy osób tylko rasy kaukaskiej wyniki nie zmieniły się znacząco (3,9 vs 4,2%) [22].

W naszej pracy stwierdzono przewagę występowania genotypu heterozygotycznego *GA* w grupie kobiet z poronieniami w I trymestrze ciąży (2,88 vs 1,18%, przy wysokim współczynniku ryzyka $WR=2,48$, $p=0,284$), ponadto genotyp heterozygotyczny *GA* zdecydowanie częściej wystąpił w grupie kobiet z trzema i więcej poronieniami (8,33 vs 1,25% w grupie kobiet z dwoma poronieniami). Jedna z pacjentek z grupy kobiet z poronieniami była nosicielką obydwu genotypów heterozygotycznych dla polimorfizmów 20210G>A i 1691G>A.

Takiego połączenia dwóch zmutowanych genotypów nie znaleziono w grupie kontrolnej. W pracy Reznikoff- Etievana i wsp. aż 5 z grupy 260 kobiet z poronieniami było nosicielkami podwójnie heterozygotycznego genotypu, który podobnie jak w omawianej pracy, nie występował w grupie kontrolnej (240 kobiet) [16].

Równolegle do innych badań wyjaśniających przyczyny poronień obecnie analizuje się również molekularne mechanizmy prowadzące do poronień nawracających, między innymi udział mutacji Leiden oraz mutacji *PTM* w mechanizmie ich powstawania. Ścisły związek wymienionych wariantów genetycznych został potwierdzony w etiopatogenezie poronień w II trymestrze, jak również późnych strat ciąży w III trymestrze ciąży. Brak jest natomiast analiz w dużych liczenie grupach pacjentek, u których poronienie nastąpiło w I trymestrze ciąży. Niewiele jest także badań dotyczących wpływu polimorfizmów genetycznych na wystąpienie poronień z uwzględnieniem modulującego wpływu czynników środowiskowych. Wyniki przedstawione w niniejszej pracy wpisują się w szereg prac poszukujących udziału wariantów genetycznych związanych ze zwiększonym ryzykiem występowania poronień nawracających i potwierdzają możliwość ich wielogenowego charakteru. Badania nad tym problemem w przyszłości pomogą zidentyfikować geny odpowiedzialne za wystąpienie poronień, wskażą interakcje na poziomie molekularnym, pomogą wypracować odpowiednie metody profilaktyki i leczenia poronień nawracających [23,24,25].

Wnioski

W pracy wskazano na możliwy wpływ obydwu analizowanych polimorfizmów 1691G>A genu czynnika V oraz 20210G>A genu protrombiny w mechanizmie poronień nawracających w I trymestrze ciąży oraz na udział polimorfizmu 1691G>A w etiologii poronień nawracających w późnym okresie I trymestrze (10-13 t.c.).

Trombophilia wrodzona jako przyczyna poronień nawracających w I trymestrze ciąży.

Piśmiennictwo

1. Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego w zakresie wybranych patologii wczesnej ciąży oraz postępowania w ciąży po zapłodnieniu in vitro. *Ginekologia po dyplomie*. Wydanie specjalne. 2008, 208-212.
2. Nicolaes G, Dahlbäck B. Factor V and thrombotic disease: description of a janus-faced protein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002, 22, 530-538.
3. Dahlback B, Hansson C, Islam M, [et al.]. Assignment of gene for coagulation factor V to chromosome 1 in man and to chromosome 13 in rat. *Somat Cell Molec Genet*. 1988, 14, 509-514.
4. Bertina R, Koeleman B, Koster T, [et al.]. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature*. 1994, 369, 64-67.
5. Poort S, Rosendaal F, Reitsma P, [et al.]. A common genetic variation in the 3-prime-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood*. 1996, 88, 3698-703.
6. Ceele H, Bertina R, van Hylckama Vlieg A, [et al.]. Polymorphisms in the prothrombin gene and their association with plasma prothrombin levels. *Thromb Haemost*. 2001, 85, 1066-1070.
7. Preston F, Rosendaal F, Walker I, [et al.]. Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia. *Lancet*. 1996, 348, 913-916.
8. Brenner B, Blumenfeld Z. Thrombophilia and fetal loss. *Blood Rev*. 1997, 11, 72-79.
9. Ridker P, Miletich J, Buring J, [et al.]. Factor V Leiden mutation as a risk factor for recurrent pregnancy loss. *Ann Intern Med*. 1998, 128, 1000-1003.
10. Brenner B, Sarig G, Weiner Z, [et al.]. Thrombophilic polymorphisms are common in women with fetal loss without apparent cause. *Thromb Haemost*. 1999, 82, 6-9.
11. Foka Z, Lambropoulos A, Saravelos H, [et al.]. Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations, but not methylenetetrahydrofolate reductase C677T, are associated with recurrent miscarriages. *Hum Reprod*. 2000, 15, 458-462.
12. Dizon-Townson D, Kinney S, Branch D, [et al.]. The factor V Leiden mutation is not a common cause of recurrent miscarriage. *J Reprod Immunol*. 1997, 34, 217-223.
13. Meinardi J, Middeldorp S, de Kam P, [et al.]. Increased risk for fetal loss in carriers of the factor V Leiden mutation. *Ann Intern Med*. 1999, 130, 736-739.
14. Younis J, Brenner B, Ohel G, [et al.]. Activated protein C resistance and factor V Leiden mutation can be associated with first-as well as second trimester recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol*. 2000, 43, 31-35.
15. Wramsby M, Sten-Linder M, Bremme K. Primary habitual abortions are associated with high frequency of factor V Leiden mutation. *Fertil Steril*. 2000, 74, 987-991.
16. Reznikoff-Etiévant M, Cayol V, Carbonne B, [et al.]. Factor V Leiden and G20210A prothrombin mutations are risk factors for very early recurrent miscarriage. *BJOG*. 2001, 108, 1251-1254.
17. Pauer H, Neesen J, Hinney B. Factor V Leiden and its relevance in patients with recurrent abortions. *Am J Obstet Gynecol*. 1998, 178, 629.
18. Rai R. Is miscarriage a coagulopathy? *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2003, 15, 265-268.
19. Martinelli I, Taioli E, Cetin I, [et al.]. Mutations in coagulation factors in women with unexplained late fetal loss. *N Engl J Med*. 2000, 343, 1015-1018.
20. Pihusch R, Buchholz T, Lohse P, [et al.]. Thrombophilic gene mutations and recurrent spontaneous abortion: prothrombin increases the risk in the first trimester. *Am J Reprod Immunol*. 2001, 46, 124-131.
21. Carp H, Salomon O, Seidman D, [et al.]. Prevalence of genetic markers for thrombophilia in recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod*. 2002, 17, 1633-1637.
22. Pickering W, Marriott K, Regan L. G20210A prothrombin gene mutation: prevalence in a recurrent miscarriage population. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2001, 7, 25-28.
23. Carp H, Dolitzky M, Inbal A. Thrombophilic mutations improves the live birth rate in women with consecutive recurrent miscarriages and hereditary thrombophilia. *J Thromb Haemost*. 2003, 1, 433-438.
24. Lindqvist P, Merlo J. Low molecular weight heparin for repeated pregnancy loss: is it based on solid evidence? *J Thromb Haemost*. 2005, 3, 221-223.
25. Gris J, Marès P. The long and winding road ... towards LMWH for pregnancy loss. *J Thromb Haemost*. 2005, 3, 224-226.



UNIWERSYTET
ZDROWIA KOBIECY

Kobieta współczesna – blaski i cienie

Konferencje naukowo-szkoleniowe

Wykłady:

- Ewa Nowak-Markwitz
- Hormonalna terapia zastępcza, osteoporoza
 - Zaburzenia okresu przekwitania
- Agata Karowicz-Bilińska
- Żywność w ciąży
 - Zapalenia pochwy, biocenoza
- Tomasz Rechberger
- Nietrzymanie moczu - profilaktyka
 - Zaburzenia statyki narządów płciowych
- Marian Szamatowicz
- Niepłodność
 - Antykoncepcja hormonalna
- Marek Spaczyński
- Prowadzenie
 - Ultrasonografia w onkologii ginekologicznej
 - Profilaktyka pierwotna i wtórna raka szyjki macicy
 1. Matka – skrining cytologiczny.
 2. Córka – szczepienie przeciwko HPV
- Romuald Dębski
- Konflikt serologiczny
 - Poród przedwczesny

Warsztaty:

1. Antykoncepcja, zakładanie wkładki
2. Szczepienia HPV
3. Żywność w ciąży

(piątki), 9.00 – 15.00 wykłady, warsztaty

Terminy szkoleń w 2009 roku:

- 6 XI – Toruń
7 XI – Gdańsk
27 XI – Szczecin
28 XI – Zielona Góra
4 XII – Łódź

Terminy szkoleń w 2010 roku
zostaną podane w numerze
10/2009 *Ginekologii Polskiej*

Drael Sp. Jawna

ul. Pelikanów 47/49
02-843 Warszawa
tel./fax 022 8944158; 8944194 ;
6449477 drael@drael.pl