

Związek polimorfizmu $Arg^{353}Gln$ czynnika VII krzepnięcia z poronieniami nawracającymi

The connection between $Arg^{353}Gln$ polymorphism of coagulation factor VII and recurrent miscarriages

Seremak-Mrozikiewicz Agnieszka¹, Drews Krzysztof¹, Kurzawińska Grażyna¹, Barlik Magdalena², Mrozikiewicz Przemysław M.³

¹ Klinika Perinatologii i Chorób Kobięcych, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

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

³ Instytut Roślin i Przetworów Zielarskich w Poznaniu

Streszczenie

Wstęp: W ostatnich latach zwrócono uwagę na możliwe znaczenia zmian aktywności czynnika VII w etiopatologii poronień nawracających. Aktywność czynnika VII może być w znaczący sposób modyfikowana przez polimorfizmy genetyczne.

Cel pracy: Celem pracy była ocena częstości występowania polimorfizmu genetycznego $Arg^{353}Gln$ genu czynnika VII krzepnięcia oraz znaczenie obecności allele Gln^{353} w grupie kobiet, u których wystąpiły dwa i więcej poronienia w pierwszym trymestrze ciąży.

Materiał i metody: W pracy analizowano grupy: 104 kobiet (średnia wieku $30,15 \pm 4,07$ lat), u których wystąpiły dwa lub więcej poronienia w I trymestrze ciąży, pomiędzy 6 a 13 t.c. oraz 163 zdrowych kobiet (średnia wieku $29,40 \pm 3,56$ lat), u których w wywiadzie potwierdzono obecność co najmniej jednej ciąży zakończonej urodzeniem zdrowego, donoszonego noworodka. Częstość występowania genotypów analizowano za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy oraz metody polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (PCR/RFLP).

Wyniki: W grupie kobiet z poronieniami obserwowano dużą częstość występowania genotypu homozygotycznego Arg^{353}/Arg^{353} (82,69 vs 74,85%) oraz małą częstość występowania heterozygotycznego genotypu Arg^{353}/Gln^{353} (17,31 vs 25,15%) w porównaniu do grupy kontrolnej. Częstość występowania zmutowanego allele Gln^{353} była mniejsza w grupie kobiet z poronieniami (8,65 vs 12,58%, ns). Obserwowana częstość występowania zmutowanego allele Gln^{353} w grupie kontrolnej (12,58%) była zgodna z częstością obserwowaną dla rasy kaukaskiej przez innych autorów. Zarówno w podgrupie kobiet z dwoma (80 kobiet) oraz trzema i więcej poronieniami (24 kobiety) częstość występowania genotypu heterozygotycznego Arg^{353}/Gln^{353} była niższa w porównaniu do grupy kontrolnej i wynosiła odpowiednio 16,25% oraz 20,83% (grupa kontrolna 25,15%, ns). Zaobserwowano niższą częstość występowania genotypu heterozygotycznego Arg^{353}/Gln^{353} w podgrupie kobiet z poronieniami we wczesnym (6-9 t.c.) okresie I trymestru (13,85 vs 25,15%, $p=0,04$).

Adres do korespondencji:

Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz
Klinika Perinatologii i Chorób Kobięcych, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu
ul. Polna 33, 60-535 Poznań
tel: 0048 61 84 19 613, fax: 0048 61 84 74 651
e-mail: asm@data.pl

Otrzymano: 01.09.2008

Zaakceptowano do druku: 03.11.2008

Seremak-Mrozikiewicz A, et al.

Wnioski: Na podstawie przeprowadzonych badań sugerować można słaby związek polimorfizmu Arg³⁵³/Gln³⁵³ genu czynnika VII z częstością występowania poronień nawracających. Wskazana jednak większa częstość występowania allele Gln³⁵³ w grupie kontrolnej zdrowych kobiet sugeruje jego protekcyjny wpływ w stosunku do występowania zmian zakrzepowych i poronień nawracających. Interesującym jest fakt wyraźnie mniejszej częstości występowania genotypu heterozygotycznego Arg³⁵³/Gln³⁵³ w poronieniach dokonanych we wczesnym okresie I trymestru, co sugerować może również potencjalnie duże znaczenie obecności allele Gln³⁵³ w tym właśnie okresie ciąży.

Słowa kluczowe: **poronienia nawracające / VII czynnik krzepnięcia / polimorfizm genetyczny /**

Summary

Introduction: In recent years much attention has been paid to the possibly significant role of the activity differences of factor VII (FVII) in the etiology of recurrent miscarriages.

Objectives: The aim of study was to evaluate the frequency of Arg353Gln genetic polymorphism of coagulation factor VII and the role of presence of Gln353 allele in the group of women with two or more spontaneous abortions in the first trimester of pregnancy.

Material and methods: 104 women (average age 30.15±4.07 years), with two or more spontaneous abortions in the first trimester (between 6 and 13 weeks of gestation) of pregnancy, and 163 healthy women (average age 29.40±3.56 years), with at least one pregnancy which had ended with the delivery of a healthy newborn, have been analyzed. The frequency of genotypes has been determined by means of polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism (PCR/RFLP) methods.

Results: In the group of recurrent miscarriages, higher frequency of homozygotic Arg353/Arg353 genotype (82.69 vs 74.85%) and lower frequency of heterozygotic Arg353/Gln353 (17.31 vs 25.15%) genotype have been noted, comparing to the control group. Frequency of mutated Gln353 allele was lower in the group of spontaneous abortions (8.65 vs. 12.58%, ns). Observed frequency of mutated Gln353 allele in the control group (12.58%) was compatible with the frequency for Caucasian observed by other authors. In the subgroup of women with two (80 women), three or more abortions (24 women), the frequency of heterozygous genotype Arg353/Gln353 was lower if compared to the controls (16.25% and 20.83%, respectively) (controls 25.15%, ns). Lower frequency of heterozygous genotype Arg353/Gln353 in the subgroup of women with abortions in the early (6-9 week of gestation) period of the first trimester (13.85 vs 25.15%, p=0.04) has been observed.

Conclusion: Research and investigation which have been carried out suggest a weak connection of Arg353Gln polymorphism of coagulation factor VII with the frequency of recurrent miscarriages. However, higher frequency of Gln353 allele in the control group of healthy women suggests its protective role in coagulation changes and recurrent miscarriages. A visibly lower frequency of heterozygous genotype Arg353/Gln353 in the miscarriages in the early period of the first trimester, which might suggest potentially great protective significance of Gln353 allele presence in this period of pregnancy, remains an interesting fact.

Key words: **recurrent miscarriages / coagulation factor VII / genetic polymorphism /**

Wstęp

Genetyczne uwarunkowania zaburzeń hemostazy są jedną z przyczyn poronień nawracających (RM – *recurrent miscarriages*). Najczęstsze i najlepiej udokumentowane to przedłużona aktywność czynnika V Leiden (1691G>A), wzrost stężenia protrombiny (20210G>A) oraz zaburzenia termolabilności enzymu reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (677C>T). Stosunkowo rzadziej w populacji ogólnej spotykane są niedobór białka S, białka C oraz antytrombiny III.

Wszystkie wymienione powyżej zmiany są przyczyną nadmiernego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego i mogą prowadzić do utraty ciąży lub nieprawidłowego jej przebiegu [1, 2]. Zdecydowanie mniej badań dotyczy możliwego znaczenia zmian aktywności czynnika VII w etiopatologii poronień nawracających [3, 4].

Czynnik VII (prokonwertyna, 406 aminokwasów, ciężar molekularny 50kDa) jest glikoproteiną zależną od witaminy K, syntetyzowaną w wątrobie i wydzielaną do krwi w postaci pojedynczego łańcucha nieaktywnego zymogenu. Następnie czynnik VII jest przekształcany w aktywną postać (VIIa) poprzez cięcie pojedynczego wiązania Arg152-Ile153. W kaskadzie krzepnięcia czynnik VIIa inicjuje aktywację zewnątrzpodochodnego toru w kaskadzie krzepnięcia dzięki wiązaniu z czynnikiem tkankowym (TF – *tissue factor*) i aktywacji czynnika X, z którymi następnie tworzy kompleks VIIa-TF-Xa [5].

Gen kodujący czynnik VII znajduje się na chromosomie 13 (krótkie ramię 13q34, długość 12,8 kilo par zasad, 9 eksonów) [6]. Obserwuje się homologię w budowie czynnika VII, IX, X oraz białka C, co sugeruje wspólne ich pochodzenie i następczą duplikację genów.

Związek polimorfizmu *Arg³⁵³Gln* czynnika VII krzepnięcia z poronieniami nawracającymi.

Region kodujący czynnik VII składa się ze 1398 par zasad i koduje 38-aminokwasowy odcinek kierujący oraz 406-aminokwasowy odcinek właściwy czynnika VII. Gen czynnika VII charakteryzuje się dużą polimorficznością. Większość z opisanych wariantów genetycznych wiąże się z niedoborem czynnika VII i jest przyczyną nadmiernych krwawień u pacjentów. Opisano jednak kilka polimorfizmów mających wpływ na zmiany w aktywności i stężeniu czynnika VII w surowicy, zmieniające ryzyko występowania zmian zakrzepowych [7]. Największe znaczenie przypisuje się funkcjonalnemu polimorfizmowi powodującemu zamianę aminokwasu arginy na glutaminę w pozycji 353 łańcucha białkowego czynnika VII (*Arg353Gln*, *R³⁵³Q*).

Liczne badania w zakresie kardiologii wykazały, że u osobników hetero- i homozygotycznych, będących nosicielami zmutowanych alleli *Gln³⁵³* odnotowuje się obniżoną aktywność VIIc (*coagulant activity*) oraz stężenie VIIag (*antigen concentration*) czynnika VII, co wiąże się z redukcją ryzyka wystąpienia chorób naczyniowych i zawału serca w porównaniu do osób, u których stwierdza się obecność allela *Arg³⁵³* [8, 9, 10, 11].

Wyjaśnia się to spadkiem nasilenia kaskady krzepnięcia i możliwym obniżeniem ryzyka wystąpienia powikłań zakrzepowych. W polimorfizmie *Arg³⁵³Gln* wskazuje się przede wszystkim na znaczenie funkcjonalne występowania zmutowanego allela *Gln³⁵³*, który wykazuje „*gene-dose efekt*” – w obecności jednego zmutowanego allela obserwuje się redukcję aktywności czynnika VII o 21%, natomiast przy obecności dwóch alleli (genotyp homozygotyczny) spadek aktywności jest jeszcze większy i wynosi 36%.

Odnotowano również analogiczny, chociaż zdecydowanie mniej wyraźny, wpływ allela *Gln³⁵³* na stężenie czynnika VII [9]. Osobnicy z genotypem homozygotycznym *Arg³⁵³/Arg³⁵³* wykazują prawidłowy poziom i aktywność czynnika VII. Przy zwiększeniu poziomu czynnika VII w przebiegu ciąży, brak protekcyjnego efektu przeciwzakrzepowego jaki wiąże się z obecnością allela *Gln³⁵³* i/lub nałożenie się wpływu czynników środowiskowych powoduje wzrost stężenia i aktywności czynnika VII, co w sumie prowadzić może do niepomyślnego przebiegu ciąży.

Cel pracy

Celem pracy była ocena częstości występowania polimorfizmu genetycznego *Arg³⁵³Gln* genu czynnika VII krzepnięcia oraz znaczenie obecności allela *Gln³⁵³* w grupie kobiet, u których wystąpiły dwa i więcej poronienia w pierwszym tryestrze ciąży.

Materiał i metody

Grupę badaną stanowiły 104 kobiety (średnia wieku 30,15±4,07 lat, zakres 23-40 lat, mediana 30 lat), u których wystąpiły dwa lub więcej poronienia w I tryestrze ciąży, pomiędzy 6 a 13 t.c. Poronienie rozpoznawano jako wydalenie z jamy macicy jaja płodowego i zakończenie ciąży przed 22 tyg. czasu jej trwania.

Wiek ciążowy, w którym nastąpiło poronienie określano na podstawie daty ostatniej miesiączki, regularności cykli miesięcznych oraz badań ultrasonograficznych przeprowadzanych uprzednio u pacjentki.

U wszystkich pacjentek z tej grupy wykluczono obecność chorób internistycznych, żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej, innych przyczyn poronień (genetyczne, hormonalne, nieprawidłowości budowy macicy) oraz potwierdzono brak obecności przeciwciał antyfosfolipidowych.

W pracy analizowano również częstość występowania badanego polimorfizmu *Arg³⁵³Gln* dzieląc badaną grupę pacjentek z poronieniami na podgrupy: kobiet z dwoma poronieniami (80 osób) oraz z trzema i więcej poronieniami (24 kobiety), jak również ze względu na tydzień ciąży, w którym wystąpiło poronienie (poronieniami występującymi we wczesnym (od 6 do 9 t.c.) oraz późnym (od 10 do 13 t.c.) okresie I tryestru ciąży).

W grupie kontrolnej znalazły się 163 zdrowe kobiety (średnia wieku 29,40±3,56 lat, zakres 22-41 lat, mediana 29 lat), u których w wywiadzie potwierdzono obecność co najmniej jednej ciąży zakończonej urodzeniem zdrowego, donoszonego noworodka. U wszystkich kobiet z grupy badanej i kontrolnej analizowano także wartości ciśnienia tętniczego oraz wskaźnika masy ciała (BMI – *body mass index*) według standardowego wzoru (BMI: 21,10±2,37 vs 21,48±3,22 kg/m², RR skurczowe: 111,11±11,19 vs 111,33±10,98 mmHg oraz RR rozkurczowe: 68,27±7,56 vs 69,64±8,50 mmHg). Różnice pomiędzy grupami nie były statystycznie istotne. Pacjentki z obydwu grup należały do rasy kaukaskiej i były narodowości polskiej. Zostały poinformowane o celu oraz zakresie badań i wyraziły na nie pisemną zgodę. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej UM w Poznaniu nr 1082/07.

Częstość występowania genotypów analizowano za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy oraz metody polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (PCR/RFLP). Do oznaczania polimorfizmów genetycznych pobierano około 3-4ml krwi z żyły odłokciowej do probówek S-Monovette (Sarstedt, Niemcy) zawierających żel K2E. Izolację DNA z leukocytów przeprowadzano z zastosowaniem komercyjnego zestawu do izolacji QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN Inc., Niemcy). W celu przeprowadzenia reakcji PCR przygotowywano 25ng genomowego DNA, 2,5μl buforu 10 x Taq Bufor z (NH₄)₂SO₄ (Fermentas, Litwa), 2,5mM MgCl₂ (Fermentas, Litwa), 0,25 mM dNTP (GeneCraft, Niemcy), 0,45μM startera F i R (TiBMolBiol, Polska) o następującej sekwencji F 5'-GGG AGA CTC CCC AAA TAT CAC-3' oraz R 5'-ACG CAG CCT TGG CTT TCT CTC-3' [12] oraz 1U Taq polimerazy (Fermentas, Litwa). Objętość końcowa reakcji PCR wynosiła 25μl. Reakcję przeprowadzano w następujących warunkach: denaturacja wstępna przez 3 minuty w temp. 95°C, następnie 30 cykli obejmujących denaturację właściwą 30 sek. w temp. 94°C, wiązanie starterów 30 sek. w temp. 62°C, syntezę 30 sek. w temp. 72°C, po których następowała synteza końcowa 10 min. w temp. 72°C. Reakcję przeprowadzano używając termocyklera Dyad DNA Engine, (Bio-Rad, USA). Uzyskany produkt PCR wielkości 312 par zasad poddawano trawieniu enzymem restrykcyjnym *MspI* (5'C/CGG3').

Do hydrolizy restrykcyjnej pobrano 19μl uzyskanego we wcześniejszej reakcji PCR produktu, 2,5μl buforu 1 x Medium Bufor (EURx, Polska), 2,5μl sterylnej wody oraz 1μl enzymu *MspI* (EURx, Polska). Inkubowano mieszaninę w temperaturze 37°C w cieplarni (Memmert, Niemcy), a następnie inaktywowano enzym 20 minut w 65°C.

Seremak-Mrozikiewicz A, et al.

Po dodaniu buforu obciążającego nakładano próbki na 2% żel agarozowy (TiBMolBiol, Polska). Elektroforezę prowadzono w buforze 1 x TBE przy napięciu 200V przez 2 godziny i uzyskane wyniki dokumentowano za pomocą systemu UVI-KS4000/Image PC (Syngen Biotech, USA). Po trawieniu uzyskiwano następujące fragmenty dla poszczególnych genotypów: homozygota Arg^{353}/Arg^{353} 206, 67, 39 par zasad (pz), heterozygota Arg^{353}/Gln^{353} 273, 206, 67, 39 pz, homozygota Gln^{353}/Gln^{353} 273, 39 pz.

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu programu SPSS v. 13.5. Za statystycznie istotne przyjęto wartości p równe lub mniejsze od 0,05.

Wyniki

W grupie kobiet z poronieniami zaobserwowano większą częstość występowania homozygotycznego genotypu Arg^{353}/Arg^{353} w porównaniu do grupy kontrolnej (82,69 vs 74,85%, WR=1,61, ns) oraz mniejszą częstość występowania genotypów heterozygotycznych Arg^{353}/Gln^{353} (17,31%) w porównaniu do grupy kontrolnej (25,15%, WR=0,62, ns). Częstość obserwowanych genotypów pozostawała zgodna z częstościami wyznaczonymi na podstawie prawa Hardy-Weinberga. Również częstość występowania zmutowanego allele Gln^{353} była mniejsza w grupie kobiet z dwoma i więcej poronieniami w porównaniu do grupy kontrolnej (8,65 vs 12,58%, WR=0,66, ns). (Tabela I).

Obserwowana częstość występowania zmutowanego allele Gln^{353} w grupie kontrolnej (12,58%) była zgodna z częstością obserwowaną dla rasy kaukaskiej przez innych autorów [13].

Zarówno w podgrupie kobiet z dwoma (80 kobiet) oraz z trzema i więcej poronieniami (24 kobiety) częstość występowania genotypu heterozygotycznego Arg^{353}/Gln^{353} była niższa w porównaniu do grupy kontrolnej i wynosiła odpowiednio 16,25% oraz 20,83% (grupa kontrolna 25,15%). Różnice te były stosunkowo duże, ale statystycznie nieistotne. (Tabela II).

Analizując podgrupę kobiet z poronieniami występującymi we wczesnym (od 6 do 9 t.c.) oraz późnym (od 10 do 13 t.c.) okresie I trymestru ciąży zaobserwowano niższą częstość występowania genotypu heterozygotycznego Arg^{353}/Gln^{353} w podgrupie kobiet z poronieniami we wczesnym okresie I trymestru (13,85 vs 25,15%, WR=0,47, $p=0,04$).

Natomiast wyższą częstość występowania genotypu homozygotycznego Arg^{353}/Arg^{353} zarówno w podgrupie kobiet z poronieniami we wczesnym (86,15 vs 74,85%, WR=2,1, $p=0,04$), późnym (75,00 vs 74,85%, ns), jak i w podgrupie, w której obserwowano występowanie poronień we wczesnym i późnym okresie I trymestru (78,26 vs 74,85%, ns) w porównaniu do grupy kontrolnej. (Tabela III).

Tabela I. Częstość występowania genotypów i alleli polimorfizmu $Arg^{353}Gln$ genu czynnika VII u kobiet z dwoma i więcej poronieniami oraz w grupie kontrolnej.

Genotypy	Poronienia: 2 i więcej n=104		Grupa kontrolna n=163		W.R.	95%P.U.	p
	Wartość obserwowana n (%)	Wartość oczekiwana (%)	Wartość obserwowana n (%)	Wartość oczekiwana (%)			
Arg^{353}/Arg^{353}	86 (82,69)	83,45	122 (74,85)	76,43	1,61	0,83-3,18	0,086
Arg^{353}/Gln^{353}	18 (17,31)	15,80	41 (25,15)	21,99	0,62	0,31-1,19	0,086
Gln^{353}/Gln^{353}	0 (0,00)	0,75	0 (0,00)	1,58	-	-	-
Suma	104 (100,00)	100,00	163 (100,00)	100,00	-	-	-
Allele							
Arg^{353}	190 (91,35)	-	285 (87,42)	-	1,51	0,82-2,89	0,101
Gln^{353}	18 (8,65)	-	41 (12,58)	-	0,66	0,35-1,21	0,101
Suma	208 (100,00)	-	326 (100,00)	-	-	-	-

Tabela II. Częstość występowania genotypów polimorfizmu $Arg^{353}Gln$ genu czynnika VII w podgrupie z dwoma oraz trzema i więcej poronieniami.

Genotypy	2 poronienia n (%)	Poronienia: 3 i więcej n (%)	Grupa kontrolna n (%)
Arg^{353}/Arg^{353}	67 (83,75)	19 (79,17)	122 (74,85)
Arg^{353}/Gln^{353}	13 (16,25)	5 (20,83)	41 (25,15)
Gln^{353}/Gln^{353}	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
Suma	80 (100,00)	24 (100,00)	163 (100,00)

Związek polimorfizmu *Arg³⁵³Gln* czynnika VII krzepnięcia z poronieniami nawracającymi.**Tabela III.** Częstość występowania genotypów polimorfizmu *Arg³⁵³Gln* genu czynnika VII w podgrupie kobiet z poronieniami we wczesnym, późnym oraz wczesnym i późnym okresie I trymestru ciąży.

Genotypy	Wczesny okres I trym. (6-9 tydz.) n (%)	Późny okres I trym. (10-13 tydz.) n (%)	Wczesny i późny okres (6-13 tydz.) n (%)	Grupa kontrolna n (%)
<i>Arg³⁵³/Arg³⁵³</i>	56 (86,15)*	12 (75,00)	18 (78,26)	122 (74,85)
<i>Arg³⁵³/Gln³⁵³</i>	9 (13,85)**	4 (25,00)	5 (21,74)	41 (25,15)
<i>Gln³⁵³/Gln³⁵³</i>	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
Suma	65 (100,00)	16 (100,00)	23 (100,00)	163 (100,00)

*WR = 2,1, $p = 0,04$ w porównaniu do grupy kontrolnej** WR = 0,47, $p = 0,04$ w porównaniu do grupy kontrolnej

Dyskusja

Czynnik VII zajmuje centralną pozycję w sekwencji kaskady krzepnięcia i wspólnie z czynnikiem tkankowym (TF) odgrywa dużą rolę w aktywacji zewnątrzpo pochodnego toru krzepnięcia i tworzeniu się skrzepu po uprzednim uszkodzeniu ciągłości ściany naczynia i tkanki. Z tego punktu widzenia kompleks FVII-TF może być jednocześnie włączony w szlak patofizjologiczny prowadzący do powstawania chorób sercowo-naczyniowych, stąd czynnik VII jest proponowanym markerem ryzyka wystąpienia choroby wieńcowej i zawału serca [14] i zarówno aktywność, jak i stężenie czynnika VII mają wartość predykcyjną mówiącą o ryzyku wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych [8, 15]. Badania genetyczne wskazują, że w populacji ogólnej prawie 1/3 międzyosobniczych różnic w aktywności (VIIc) i stężeniu (VIIag) czynnika VII może być uwarunkowana obecnością różnych wariantów allelicznych tego genu. W dużym stopniu ze zmiennością w stężeniu i aktywności koagulacyjnej koreluje polimorfizm *Arg³⁵³Gln* genu czynnika VII. Substytucja *Arg³⁵³Gln* wpływa na zmianę konformacji proteiny w czasie syntezy czynnika VII w wątrobie i prawdopodobnie może wywierać również wpływ na jego katabolizm. Nosiciele genotypu *Gln³⁵³/Gln³⁵³* mają około 20-25% niższą aktywność oraz stężenie czynnika VII [14] i wykazują znacząco niższe ryzyko wystąpienia zawału serca pomimo ciężkiej, udokumentowanej angiograficznie, aterosklerozy naczyń wieńcowych [5]. Natomiast u osób z genotypem typu dzikiego *Arg³⁵³/Arg³⁵³* wskazuje się na silną korelację aktywności czynnika VIIc z poziomem cholesterolu i triglicerydów oraz zwiększone ryzyko wystąpienia zakrzepicy i zawału serca i [8]. Częstość występowania zmutowanego allele *Gln³⁵³* w rasie białej wynosi 0,12 [13], w rasie żółtej 0,25 do 0,29 [16] a w populacji Afroamerykanów 0,11 [17].

Wpływ czynnika VII na powstawanie powikłań w przebiegu ciąży jest przedmiotem badań ostatnich lat. Stosunkowo dużo analiz dotyczy kobiet ciężarnych z niedoborem czynnika VII, u których w przebiegu ciąży, porodu lub połoгу obserwuje się nadmierne krwawienia [18]. Niedobór czynnika VII może być uwarunkowany obecnością wielu mutacji w genie czynnika VII. Ponieważ w przebiegu ciąży następuje wzrost prawie wszystkich czynników krzepnięcia, a szczególnie VII, VIII, X, XII, XIII i fibrynogenu, stąd u nosicieli genotypów heterozygotycznych podwyższenie poziomu czynnika VII w ciąży jest wystarczające do utrzymania prawidłowej hemostazy.

Obfitym krwotokiem zagrożone są natomiast kobiety nosicielki zmutowanych genotypów homozygotycznych [18, 19, 20, 21, 22]. W tej grupie kobiet obserwuje się także występowanie nadmiernego krwawienia w przypadku wystąpienia poronienia. W niektórych publikacjach podkreślane jest też współistnienie niedoboru czynnika VII z deficytem innych czynników krzepnięcia jako przyczyna utraty ciąży lub innych komplikacji w jej przebiegu [23].

Niewiele badań dotyczy udziału zmian w aktywności podwyższonego czynnika VII i wynikającej z tego gotowości prozakrzepowej w powstawaniu powikłań w czasie ciąży. Dobrze udokumentowane wyniki dotyczące tego problemu przedstawiono w pracy Millera i wsp. (2005), gdzie w grupie 96 kobiet z nawracającymi utratami ciąży (65 kobiet z 3 i więcej poronieniami nawracającymi oraz 31 kobiet z utratami ciąży w drugim i trzecim trymestrze ciąży) oraz w grupie kontrolnej kobiet z wcześniejszymi żywymi urodzeniami (81 osób) badano aktywność czynnika VII (FVIIc). Aktywność ta była statystycznie istotnie wyższa w grupie kobiet z utratami ciąży 13,8% vs 2,5%, $p = 0,012$. Jednocześnie w pracy tej analizowano polimorfizm *-402G>A* w odcinku promotorowym genu czynnika VII. Częstość występowania genotypów nie różniła się w grupie badanej i kontrolnej, natomiast odnotowano różnicę pomiędzy częstością występowania tego polimorfizmu u kobiet z podwyższonym poziomem czynnika VIIc (79%) w porównaniu do kobiet z prawidłowym poziomem czynnika VIIc (43%) [3].

W pracy Nelsona i wsp. (2001) badano związek pomiędzy czynnikami wpływającymi na hemostazę a występowaniem poronień samoistnych. W grupie badanej 134 kobiet z poronieniami samoistnymi potwierdzono mniejsze stężenie czynnika VIIag (3,1 vs 3,7%) oraz wskazano, że stężenie czynnika VIIag poniżej 94% prawidłowego stężenia powoduje 3-krotny wzrost ryzyka wystąpienia poronienia [4].

W niniejszej pracy analizie poddano dużą grupę 104 pacjentek z obciążonym wywiadem w kierunku występowania dwóch i więcej poronień w I trymestrze ciąży. W grupie tej wykazano niższą częstość występowania heterozygotycznego genotypu *Arg³⁵³/Gln³⁵³* (17,31 vs 25,15% w grupie kontrolnej) oraz allele *Gln³⁵³* (8,65 vs 12,58%), którego obecność koreluje ze zmniejszoną aktywnością czynnika VIIc i wpływa na zmniejszenie ryzyka występowania powikłań zakrzepowych. Obserwowane różnice nie były jednak statystycznie istotne, co sugeruje jedynie niewielki wpływ ochronny allele *Gln³⁵³*

w stosunku do rozwoju zmian patofizjologicznych w krążeniu maciczo-łożyskowym u kobiet z poronieniami. Niewątpliwie ciekawą obserwacją jest mniejsza częstość pojawiania się allele *Gln*³⁵³ zarówno w podgrupie z dwoma oraz trzema i więcej poronieniami w stosunku do grupy kontrolnej. Jeszcze wyraźniejsza jest różnica (statystycznie istotne) frekwencji allele *Gln*³⁵³ obserwowana pomiędzy grupą kobiet z poronieniami we wczesnym okresie I trymestru ciąży a grupą kontrolną. Ponieważ jest to pierwsza praca analizująca znaczenie tego polimorfizmu w patomechanizmie poronień niewątpliwie potrzebne są dalsze badania potwierdzające te obserwacje. W nielicznych, cytowanych powyżej pracach, analizowano przede wszystkim związek poronień z aktywnością i stężeniem czynnika VII w surowicy krwi [3, 4].

Natomiast badania epidemiologiczne ściśle wskazują, iż obydwa czynniki – czynnik VII krzepnięcia oraz czynnik tkankowy TF – pozostają pod wpływem zarówno czynników genetycznych, jak i czynników środowiskowych, mimo iż zależności te do tej pory pozostają stosunkowo niejasne. Poziom czynnika VII we krwi zależy od wieku, płci, ale również od wpływów czynników dietetycznych na masę ciała (wpływ środowiska), wskaźnika BMI masy ciała, poziomu lipidów w surowicy, co warunkuje osobniczą różnorodność w populacji [24]. Szczególnie silną korelację obserwuje się pomiędzy poziomem czynnika VII a stężeniem cholesterolu i triglicerydów w surowicy krwi [25].

Wnioski

Podsumowując, na podstawie przeprowadzonych badań sugerować można słaby związek polimorfizmu *Arg*³⁵³/*Gln*³⁵³ genu czynnika VII z częstością występowania poronień nawracających. Wskazana jednak większa częstość występowania allele *Gln*³⁵³ w grupie kontrolnej zdrowych kobiet sugeruje jego protekcyjny wpływ w stosunku do występowania zmian zakrzepowych i poronień nawracających. Interesującym jest fakt wyraźnie mniejszej częstości występowania genotypu heterozygotycznego *Arg*³⁵³/*Gln*³⁵³ w poronieniach dokonanych we wczesnym okresie I trymestru, co sugerować może również potencjalnie duże znaczenie ochronne obecności allele *Gln*³⁵³ w tym właśnie okresie ciąży.

Ze względu jednak na stosunkowo mało znany efekt ochronny czynnika VII przy obecności allele *Gln*³⁵³ przed rozwojem powikłań prozakrzepowych, potrzebne są dalsze badania obejmujące większą liczbę pacjentów, ściśle analizujące stężenie i aktywność czynnika VII, jak również wpływ czynników środowiskowych na występowanie powikłań w przebiegu ciąży.

Piśmiennictwo

- Middeldorp S. Pregnancy failure and heritable thrombophilia. *Semin Hematol.* 2007, 44, 93-97.
- Dawood F, Mountford R, Farquharson R, [et al.]. Genetic polymorphisms on the factor V gene in women with recurrent miscarriage and acquired APCR. *Hum Reprod.* 2007, 22, 2546-2553.
- Miller C, De Staercke C, Benson J, [et al.]. Elevated factor VII as a risk factor for recurrent fetal loss. Relationship to factor VII gene polymorphisms. *Thromb Haemost.* 2005, 93, 1089-1094.
- Nelson D, Ness R, Grisso J, [et al.]. Influence of hemostatic factors on spontaneous abortion. *Am J Perinatol.* 2001, 18, 195-201.
- Girelli D, Russo C, Ferraresi P, [et al.]. Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease. *N Eng J Med.* 2000, 343, 774-780.
- O'Hara P, Grant F, Haldeman B, [et al.]. Nucleotide sequence of the gene coding for human factor VII, a vitamin K-dependent protein participating in blood coagulation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1987; 84: 5158-5162.
- Hunault M, Arbini A, Lopaciuk S, [et al.]. The Arg353Gln polymorphism reduces the level of coagulation factor VII: in vivo and in vitro studies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997, 17, 2825-2829.
- Iacoviello L, Di Castelnuovo A, De Knijff P, [et al.]. Polymorphisms in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction. *N Eng J Med.* 1998, 338, 79-85.
- Mrozikiewicz P, Cascorbi I, Ziemer S, [et al.]. Reduced procedural risk for coronary catheter interventions in carriers of the coagulation factor VII-Gln353 gene. *J Am Coll Cardiol.* 2000, 36, 1520-1525.
- Petrovic D, Zorc M, Keber I, [et al.]. Joint effect of G1691A factor V point mutation and the risk of premature coronary artery disease. *Ann Genet.* 2001, 44, 33-36.
- Salazar-Sanchez L, Chaves L, Cartin M, [et al.]. Common polymorphisms and cardiovascular factors in patients with myocardial infarction of Costa Rica. *Rev Biol Trop.* 2006, 54, 1-11.
- Green F, Kelleher C, Wilkes H, [et al.]. A common genetic polymorphism associated with lower coagulation factor VII levels in healthy individuals. *Arterioscler Thromb.* 1991, 11, 540-546.
- Heywood D, Carter A, Catto A, [et al.]. Polymorphisms of the factor VII gene and circulating FVII: C levels in relation to acute cerebrovascular disease and poststroke mortality. *Stroke.* 1997, 28, 816-821.
- Junker R, Heinrich J, Schulte H, [et al.]. Coagulation factor VII and the risk of coronary heart disease in healthy men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997, 17, 1539-1544.
- Campo G, Valginigli M, Ferraresi P, [et al.]. Tissue factor and coagulation factor VII levels during acute myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006, 26, 2800-2806.
- Kain K, Catto AJ, Young J, [et al.]. Coagulation factor VII activity, Arg/Gln353 polymorphism and features of insulin resistance in first-degree-relatives of South Asian Patients with stroke. *Thromb Haemost* 2002, 88, 954-960.
- Austin H, Hooper W, Lally C, [et al.]. Venous thrombosis in relation to fibrinogen and factor VII genes among African-Americans. *J Clin Epidemiol.* 2000, 53, 997-1001.
- Kulkarni A, Lee C, Kadir R. Pregnancy in women with congenital factor VII deficiency. *Haemophilia.* 2006, 12, 413-416.
- Mota L, Ghosh K, Shetty S. Second trimester antenatal diagnosis in rare coagulation factor deficiencies. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2007, 29, 137-139.
- Pehlivanov B, Milchev N, Kroumov G. Factor VII deficiency and its treatment in delivery with recombinant factor VII. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004, 116, 237-238.
- De Leo V, Ditto A, Morgante G, [et al.]. Prophylactic therapy in a pregnant woman with severe factor VII deficiency. *Gynecol Obstet Invest.* 2000, 50, 275-277.
- Rizk D, Castella A, Shaheen H, [et al.]. Factor VII deficiency detected in pregnancy: a case report. *Am J Perinatol.* 1999, 16, 223-226.
- Vora S, Shetty S, Ghosh K. Coagulation factor deficiency as a cause of recurrent fetal loss: a red herring. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2007, 18, 571-574.
- Di Castelnuovo A, D'Orazio A, Amore C, [et al.]. Genetic modulation of coagulation factor VII plasma levels: contribution of different polymorphisms and gender-related effects. *Thromb Haemost.* 1998, 80, 592-597.
- Green D, Chamberlain M, Ruth K, [et al.]. Factor VII, cholesterol, and triglycerides. The CARDIA study. Coronary Artery Risk Development in Young Adults Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997, 17, 51-55.

*Praca finansowana ze środków pieniężnych grantu
KBN N 407 048 32I2054.*