

РОЛЬ КЛИНИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ПРИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДАХ

Л.В. Саркисова, Курбанова З.Ш.,

Бухарский государственный медицинский институт.

✓ Резюме,

Преждевременные роды (ПР) являются одной из основных проблем современного акушерства во всем мире, по данным ВОЗ ежегодно рождается 11 миллионов (9,6%) недоношенных новорожденных. Основными коммуникативными молекулами иммунной системы являются интерлейкины, но именно поэтому изучение, и главное - интерпретация их уровней в сыворотке крови представляют большие трудности. Отсутствуют общепринятые нормы этих уровней не только для беременных женщин, но и в популяции вообще. Более того, сама возможность установления этих норм вызывает сомнения, т.к. сывороточные уровни интерлейкинов даже у одного человека в течение нескольких дней могут различаться на порядки.

Ключевые слова: Преждевременные роды, перинатальная смертность, послеродового неонатального периода, раннего неонатального периода, интерлейкины, перинатальные исходы, экстрагенитальная патология, в сыворотке крови, многоплодная беременность, преждевременное излитие околоплодных вод, иммуно-патогенеза, генетические полиморфизмы IL-10.

MUDDATDAN OLDIN TUG'ILGANLARDA MOLEKULAR-GENETIK FAKTLARNING ROLI.

Sarkisova L.V., Kurbanova Z.Sh.,

Buxoro davlat tibbiyot instituti.

✓ Resyume,

Muddatdan oldin tug'ilish, (PR) dunyo bo'ylab zamonaviy akusherlikning asosiy muammolaridan biridir, JSST ma'lumotlariga ko'ra, har yili 11 million (9,6%) erta tug'ilgan chaqaloqlar dunyoga keladi. Immunitet tizimining asosiy kommunikativ molekulari interleykinlardir, ammo shuning uchun o'rganish va eng muhimi, qon zardobida ularning darajasini izohlash juda qiyin. Ushbu darajadagi nafaqat homilador ayollar, balki keng aholi uchun ham qabul qilingan me'yorlar mavjud emas. Bundan tashqari, ushbu standartlarni o'rnatish ehtimoli shubhali, chunki hatto bitta odamda ham bir necha kun davomida interleykinlarning zardob darajasi kattalik buyurtmasiga ko'ra farq qilishi mumkin.

Kalit so'zlar: erta tug'ilish, perinatal o'lim, tug'ruqdan keyingi davrdagi neonatal davr, erta neonatal davr, interleykinlar, perinatal natijalar, ekstragenital patologiya, qon zardobi, ko'p homiladorlik, amniotik suyuqlikning muddatidan oldin chiqishi, immuno-patogenezi, IL-10 genetik polimorfizmi.

ROLE OF CLINICAL AND MOLECULAR GENETIC FACTORS IN PREMATURE BIRTH

Sarkisova L.V., Kurbanova Z.Sh.,

Bukhara State Medical institute.

✓ Resume,

Preterm birth (PR) is one of the main problems of modern obstetrics worldwide, according to WHO, 11 million (9.6%) premature babies are born annually. The main communicative molecules of the immune system are interleukins, but that is why studying, and most importantly, interpreting their levels in blood serum is very difficult. There are no generally accepted norms of these levels not only for pregnant women, but also in the general population. Moreover, the very possibility of establishing these standards is doubtful, because serum levels of interleukins even in one person for several days can vary by orders of magnitude.

Key words: Preterm delivery, perinatal mortality, postpartum neonatal period, early neonatal period, interleukins, perinatal outcomes, extragenital pathology, in blood serum, multiple pregnancy, premature amniotic fluid outflow, immuno-pathogenesis, IL-10 genetic polymorphisms.

Актуальность

Преждевременные роды (ПР) являются одной из основных проблем современного акушерства во всем мире, по данным ВОЗ ежегодно рождается 11 миллионов (9,6%) недоношенных новорожденных. Основными коммуникативными молекулами иммунной системы являются интерлейкины, но именно поэтому изучение, и главное - интерпретация их уровней в сыворотке крови представляют большие трудности. Отсутствуют общепринятые нормы этих уровней не только для беременных женщин, но и в популяции вообще. Более того, сама возможность установления этих

норм вызывает сомнения, т.к. сывороточные уровни интерлейкинов даже у одного человека в течение нескольких дней могут различаться на порядки. И это вполне естественно, поскольку основным местом действия этих коммуникативных молекул являются органы иммунной системы, и в сыворотке мы видим лишь транзиторные уровни вещества. Исходя из выше сказанного, мы считаем более перспективным изучение не сияминутных, по сути транзиторных уровней интерлейкинов в сыворотке крови, а определение полиморфизмов их генов, которые определяют количество и функциональную полноценность молекул в течении всей жизни. При изучении иммуно-па-

тогенеза преждевременных родов особый интерес вызвали генетические полиморфизмы IL-10 (G 1082 A, C 592 A, C 819 T), который во многом определяет соотношение активностей Т-цитотоксической и В-клеточной системы иммунитета. ПР являются "большим акушерским синдромом" с вовлечением отцовских, материнских, плодовых и эпигенетических факторов (P. Santulli, 2015). Исследования последних лет показали, что предрасположенность к развитию ПР может быть обусловлена взаимодействием средовых и генетических факторов риска (P. Santulli, 2015). Генетический вклад матери в развитие ПР описан многими исследователями (Scutiero G., Ianonne P., 2017; C. Bushimschi, 2015; P. Santulli, 2015). В генетических ассоциативных исследованиях, организованных по типу случай-контроль, оцениваются единичные однонуклеотидные замены (SNP) в генах, связанных с различными патогенетическими механизмами, вовлеченными в процесс спонтанных преждевременных родов (Scutiero G., Ianonne P., 2017; C. Bushimschi, 2015; P. Santulli, 2015). Одним из важнейших факторов, традиционно относящихся к средовым воздействиям, является инфекционно-воспалительный фактор, обуславливающий около 30% всех случаев спонтанных

преждевременных родов (P. Santulli, 2015). Результаты многочисленных исследований, проводимых в разных странах, свидетельствуют о большой генетической гетерогенности разных популяций, что необходимо учитывать при анализе генотипическо-фенотипических ассоциаций. С одной стороны, частота встречаемости определенных генотипов отличается у женщин разных этнических групп, а с другой стороны показано, что один и тот же аллель может быть ассоциирован с противоположными биомолекулярными эффектами у женщин разных этнических групп (Liang L.F., 2017; R. Menon, 2015; Mihalas B.P., 2017).

Цель исследования: изучение клинических и молекулярно-генетических факторов и влияния полиморфизма генов ADRB2 и цитокинов на длительность протонирования беременности.

Материал и методы

Данное исследование проводилось в двух направлениях: первое-исследование "случай-контроль" у женщин с активными с преждевременными родами, второе - молекулярно-генетическое исследование в условиях острого токолиза (рис.1).

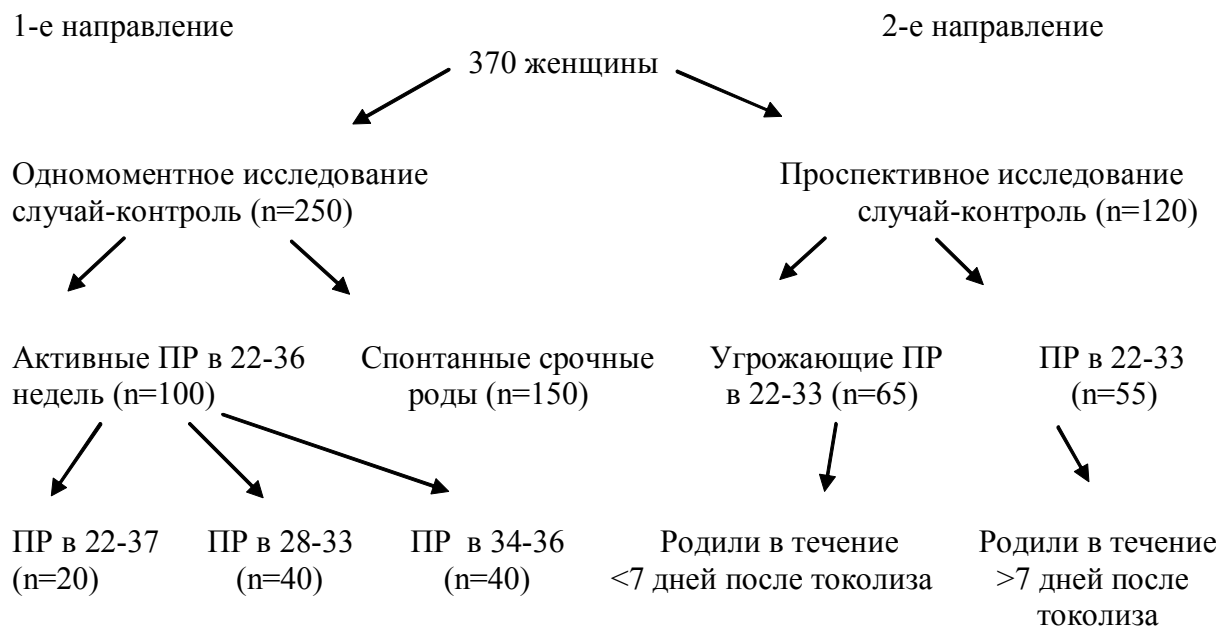


Рис. 1. Дизайн проведенного исследования.

Критериями включения в оба исследования служили спонтанная родовая деятельность, одноплодная беременность, информированное согласие женщины на участие в исследовании, дополнительными критериями для группы угрожающих ПР были наличие регулярных (хотя бы 2 в течение 15-20 мин) схваток, укорочение шейки матки менее 2,5 см или открытие маточного зева менее 2-3 см. Критерия исключения также были одинаковыми: многоплодная беременность, беременность после ВРТ, задержка роста плода, пороки развития репродуктивной системы у матери, значимые пороки развития у плода, преэклампсия легкой и тяжелой степени тяжести, частичная/тотальная отслойка плаценты, преждевременный разрыв плодных оболочек, пациентки на иммуносупрессивной терапии, острое инфекционное заболева-

ние или активация хронической инфекции с подъемом температуры выше 37,5°C, сахарный диабет, тяжелые экстрагенитальные заболевания. Дополнительными критериями для группы угрожающих ПР были противопоказания к назначению гексопреналина сульфата. У всех женщин подробно изучены особенности семейного анамнеза и собственного анамнеза с акцентом на наличие ПР, социального статуса, исходной клинической характеристики беременной женщины, особенностей течения беременности и срока родов. Всем пациенткам, включенным в исследование, сразу после родов был проведен забор венозной крови в вакуумную пробирку, содержащую ЭДТА в качестве антикоагулянта для генотипирования методом ПЦР с анализом кривых плавления. Был изучен полиморфизм следующих генов: IL6, TNF, VEGFA,

IL10, IL1B, IL1R1, IL18, BSG, ADRB2. В работе были применены следующие методы обработки данных: критерий Шапиро-Уилка для проверки на нормальность распределения, критерий для таблиц сопряженности признаков 2×2 и 2×3 , сравнительный анализ переменных с помощью параметрического Т-критерия Стьюдента или непараметрического критерия Манна-Уитни для несвязанных; расчет отношения шансов (при анализе бинарных признаков). Для автоматизации статистической обработки использовали статистический пакет Statistica 8 for Windows 8.0.

Результат и обсуждение

Согласно полученным результатам, младший репродуктивный возраст наиболее часто ассоциировался с ранними ПР ($p < 0,01$), а поздний репродуктивный возраст - с поздними ПР ($p < 0,01$). Кроме того, статистически значимыми факторами, ассоциированными с ПР, являлось: отсутствие мужа ($p < 0,01$), а нахождение в гражданском браке не было статистически значимым фактором риска ПР. Низкий уровень образования также явился статистически значимым фактором для очень ранних и ранних преждевременных родов ($p < 0,01$). ПР в анамнезе статистически значимо чаще были у женщин во всех подгруппах преждевременных родов по сравнению с группой контроля ($p < 0,01$), что согласуется с литературными данными (Das T.M., 2016; Perkins A.T., 2017). Позднее начало, длительное становление и большая длительность менструального цикла статистически значимо чаще встречались у пациенток из группы ПР, что косвенно указывает на первичность гормонального дисбаланса, который, в свою очередь, является одним из доказанных факторов риска преждевременных родов (Ipr. Marisa, 2016). Аборт и самопроизвольный выкидыш в анамнезе являются достоверными факторами риска ПР, что согласуется с данными литературы (Haghighian H.K. 2015). Анализ перенесенной гинекологической патологии обследованных женщин позволил выявить статистически значимые признаки для женщин в группах очень ранних и ранних преждевременных родов: хронический эндометрит и сальпингоофорит, наличие микоплазменной и уреоплазменной инфекции в значимом титре ($> 10^5$). Кроме того, в группах женщин, родивших до 34 недель, статистически значимо чаще имели место операции на матке и придатках. Осложнения беременности, оказывающие статистически значимое влияние на срок родов по данным нашего исследования, явились курение во время беременности, инфекционные осложнения в I триместре (ОРЗ и уреоплазмоз), угроза прерывания беременности независимо от срока, истмико-цервикальная недостаточность. Инфекционные осложнения первого триместра ассоциированы с развитием очень ранних преждевременных родов. Помимо выявления клинико-анамнестических факторов, ассоциированных с ПР, в рамках первого направления исследования мы провели генетическое обследование и сравнили частоту встречаемости полиморфизма генов у

женщин с ПР и со своевременными родами. Наиболее четкая ассоциативная связь была выявлена между полиморфизмом IL18:-137 ОС ПР. При анализе распределения генотипов полиморфизма IL18:-137 G>C аллель С чаще присутствовал в генотипе пациенток, родивших преждевременно, генотипическая частота составила 40% против 28% в группе контроля ($p = 0,03$). Согласно аутосомно-доминантной модели наследования наличие генотипов G/C и G/C ассоциировано с преждевременными родами ($OK = 2,96$ (1,28-6,85), $p = 0,009$). Аллель С гена IL18:-137 G>C преобладал при ранних ПР - 41%, при родах после 34 недель его генотипическая частота была несколько ниже - 37%, тогда как при очень ранних ПР она составляла лишь 23%, что отражает различный вклад данного полиморфизма в развитие ПР в зависимости от срока беременности. В отдельную группу нами были выделены женщины, с очень ранними (до 28 недель беременности) ПР, для которых характерны наиболее неблагоприятные перинатальные исходы. Наиболее четкая ассоциативная связь с очень ранними ПР обнаружена у полиморфизмов генов IL1R1: -15858 C>T, IL6:-174C>Si IL10:-592A>C. В нашем исследовании было выявлено, что аллель С гена ILR1, увеличением срока беременности (80% при очень ранних ПР против 60% при родах после 28 недель, $p = 0,04$). Распределение генотипов поддерживает эту тенденцию: генотип G/C встречается при очень ранних ПР в 60% случаев, при ранних ПР - в 36,7%, а при поздних ПР - лишь в 26,7% случаев. Таким образом, влияние аллеля С на развитие преждевременных родов обратно пропорционально сроку беременности. При сравнении очень ранних ПР с группой женщин, родивших после 28 недель, обнаружено статистически значимое повышение генотипической частоты аллеля -174G гена IL6 (77% против 59%, $p = 0,05$). Та же тенденция распространялась на частоту генотипа G/G: при очень ранних ПР он встречался в 53,3%, а при ПР после 28 недель - лишь в 31% случаев. Аллель G полиморфизма гена IL6:-174 G>C был ассоциирован с очень ранними ПР. Соответственно, аллель С IL6:-174 G>C играл протективную роль в плане ПР. Согласно аутосомно-доминантной модели генотипы A/A и A/C полиморфизма IL10:-592 A>C также были ассоциированы с очень ранними и ранними ПР ($OR = 3,89$ (1,01-14,90), $p = 0,03$). При углубленном анализе распределения аллелей и генотипов полиморфизма IL10:-592 A>C было выявлено, что частота встречаемости аллеля А снижалась с увеличением срока ПР. Распределение генотипов поддерживало эту закономерность: генотип A/A при очень ранних ПР встречался в 20% случаев, при ранних ПР - лишь в 6,7% случаев, тогда как при поздних ПР вообще не был обнаружен. Среди пациенток, родивших до 34 недель, преобладал аллель С полиморфизма ILRB:-1188 A>C, генотипическая частота аллеля С была 22% у пациенток, родивших до 34 недель против 7% среди пациенток с поздними ПР ($p = 0,05$). При этом статистически значимых различий между очень ранними и ранними ПР по распределению аллелей и генотипов полиморфизма IL12B:-1188 A>C нами выяв-

лено не было. Согласно доказательным данным, пролонгирование беременности после проведения острого токолиза (для профилактики РДС плода) не превышает 7 дней. Однако опыт показывает, что беременность может быть пролонгирована и на более продолжительный период. Такая ситуация по мнению ряда авторов обусловлена индивидуальными генетическими особенностями беременных (R. Landau, 2005). Поэтому следующим этапом нашего исследования было изучение возможных молекулярно-генетических факторов, влияющих на пролонгирование беременности после проведения острого токолиза. Были обследованы 120 женщин: 65 беременные женщины с угрожающими ПР и 55 женщин, родившие преждевременно и не успевшие получить токолитическую терапию, т.к. поступили в активной фазе родов. Возрастное распределение обследованных женщин статистически не различалось. Пациентки с угрожающими ПР статистически значимо не отличались от группы контроля ни по одному из клинико-анамнестических и молекулярно-генетических признаков, а потому наличие дополнительных факторов, которые сами по себе могли бы привести к неэффективности токолитической терапии, практически исключалось. Нами был проведен статистический анализ связи полиморфизма генов $\beta 2$ -адренорецепторов: ADRB2: 79 C>G (Gln27Glu) и ADRB2: 491 OT (Thr164Ile) и длительности пролонгирования беременности после острого токолиза у женщин с угрожающими ПР. В противовес зарубежным авторам, достоверных различий в распределении аллелей и генотипов данных полиморфизмов среди женщин, у которых роды произошли в течение 7 дней после острого токолиза по сравнению с теми, кому удалось пролонгировать беременность > 7 дней и >34 недель, выявлено не было. Из всех изученных полиморфных локусов нами была выявлена взаимосвязь с длительностью пролонгирования беременности для трех генов: ген BSG, кодирующий экстрацеллюлярный индуктор матриксных металлопротеиназ и гены цитокинов IL10 и IL1R1, участвующие в регуляции иммунного ответа. Для гена BSG наличие редкого генотипа 3800 T/T статистически значимо было ассоциировано с наступлением родов в течение <7 дней после острого токолиза (OR=5,18 (1,01-26,61), p=0,03, согласно аутосомно-рецессивной модели). Анализ распределения аллелей и генотипов генов цитокинов выявил, что аллель A и генотипы A/A и A/C гена IL10:-592 A>C, согласно аутосомно-доминантной модели, были ассоциированы с наступлением родов в течение <7 дней после острого токолиза (ОЯ=3,12 (0,88-11,06) p=0,05). Нами также было выявлено, что наличие генотипа T/T гена IL1R1-15858, согласно аутосомно-рецессивной модели, ассоциировано с длительным пролонгированием беременности (ОК=4,62 (1,17-18,20) p=0,02). У носительниц генотипа T/T не было отмечено ни одного случая ПР в течение <7 дней после проведения острого токолиза, а пролонгировать беременность >34 недель удалось в 90% случаев. Также было обнаружено, что при проведении острого токолиза в 22-27 недель, у пациенток с ге-

нотипом 390 C/C и УЕОРА:936 C/C роды наступили в течение 7 дней. При остром токолизе, проведенном после 28 недель полиморфизм генов и УЕОРА не оказывал статистически значимого влияния на сроки наступления родов, это может быть связано с тем, что роль инфекции в развитии ПР снижается в третьем триместре беременности, и, как следствие, снижается значимость генетически обусловленной восприимчивости к инфекционным агентам. Таким образом, проведенные молекулярно-генетических исследования позволили уточнить патогенез спонтанных ПР, а также явились предпосылкой к разработке персонализированных лечебных мероприятий, что повысит эффективность акушерской тактики при ПР.

Выводы

1. Преждевременные роды являются "большим акушерским синдромом" с весомым генетическим, в первую очередь, материнским вкладом. Поздний или ранний репродуктивный возраст, отягощенный акушерско-гинекологический анамнез, неблагоприятные социально-экономические условия жизни матери, а также недоношенность в анамнезе, как по материнской, так и по отцовской линии являются факторами, повышающими риск преждевременных родов.

2. Полиморфизм генов цитокинов детерминирует риск развития преждевременных родов. Согласно аутосомно-доминантной модели наследования наличие генотипов G/C и G/C гена IL 8:-137 0>C ассоциировано с преждевременными родами (OR=2,96 (1,28-6,85), p=0,009). Аллель C гена IL6:-174 G>C играет протективную роль в развитии ПР у славянской популяции российских женщин

3. Роль полиморфизма генов цитокинов в развитии преждевременной родовой деятельности зависит от срока беременности. В 22-27 недель наиболее значимы: аллель C гена IL1R1: -15858 OT [PstI 1970], аллель G и генотип G/G гена IL6:-174 G>C, аллель A и генотип A/A и A/C гена IL10:-592 A>C. Для родов 28-33 недель наиболее значимой оказалась аллель C гена IL12B:-1188 A>C.

4. При проведении токолиза в 22-27 недель роды в течение 7 дней наступают в 3 раза чаще (24%), чем при проведении терапии в 28-33 недель беременности (7%). Вероятность пролонгирования беременности >34 недель выше при более позднем проведении токолиза (70% против 46%) (OR=0.36 (0.15-0.87), p=0,03).

5. Значимыми факторами риска наступления родов в течение <7 дней после проведения острого токолиза являются генотип T/T гена BSG 3800 (OR=5,18 (1,01-26,61), p=0,03), аллель A и генотипы A/A и A/C гена IL10-592 (OR=3,12 (0,88-11,06), p=0,05), а наличие генотипа T/T гена IL1R1-15858 OT, напротив, указывает на высокую вероятность (90%) пролонгирования беременности >34 недель (OR=4,62 (1,17-18,20), p=0,02).

6. При проведении острого токолиза в 22-27 недель, у пациенток с генотипом IL1RN: 390 C/C и VEGFA:936 G/C роды статистически значимо чаще

наступают в течение 7 дней, а при остром токолизе, проведенном после 28 недель полиморфизм генов IL1RN и VEGFA не оказывают статистически значимого влияния на сроки наступления родов.

7. Адекватная оценка статистически значимых клинико-анамнестических особенностей для славянской популяции российских женщин позволяет осуществлять отбор пациенток для проведения молекулярно-генетического исследования и осуществления своевременной медикаментозной профилактики преждевременных родов. 8. Своевременная оценка индивидуальной фармакогенетики β 2-адреномиметиков помогает выработать более эффективную терапевтическую тактику, что способствует улучшению перинатальных исходов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Ходжаева, З.С. Медикаментозная терапия угрожающих преждевременных родов (обзор литературы) / З.С. Ходжаева, О.И. Федотовская, А.М. Холин // Акушерство и гинекология. - 2016; 5: 17-22.
2. Молекулярно-генетические предикторы эффективности токолитической терапии в пролонгировании беременности при угрожающих преждевременных родах/ Г.Т. Сухих, З.С. Ходжаева, А.Е. Донников, Д.Ю. Трофимов, А.С. Оленев, О.И. Федотовская // Акушерство и гинекология. 2015; 2: 27-34.
3. Ходжаева, З.С. Клинико-анамнестические особенности женщин с идиопатическими преждевременными родами на примере славянской популяции / З.С. Ходжаева, О.И. Федотовская, А.Е. Донников // Акушерство и гинекология. 2014 3: 28-32.
4. Федотовская О.И. Современные подходы и перспективы определения риска преждевременных родов / О.И. Федотовская, З.С. Ходжаева, А.Е. Донников // VI международный конгресс по репродуктивной медицине: материалы конгресса. - Москва, 2016; 324.
5. Гусейнова А.Т. и др. Анализ перинатальных исходов при очень ранних преждевременных родах. //Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2016; 6: 1177-1177.
6. Доброхотова Ю.Э., Джобав Э.М., Степанян А.В., Судакова Г.Ю. Микронизированный прогестерон в терапии угрозы преждевременных родов: систематический обзор и мета-анализ рандомизированных и контролируемых исследований. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. - 2019; 9(4): 63-70.
7. Факторы риска преждевременных родов. //Врач. 2017; 8: 28-29.
8. Козлов П.В. Этиология и патогенез преждевременного разрыва плодных оболочек при недоношенной беременности. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. - 2017; 6(2): 64-72.
9. Макаров И.О., Боровкова Е.И. Возможности применения сульфата магния в качестве нейропротектора при развитии преждевременных родов. // Акушерство, гинекология и репродукция. - 2018; 7(1): 41-44.
10. Черепашин Е.П. и др. Оценка прогресса преждевременных родов. /Современные проблемы науки и образования. 2017; 2: 72-72.
11. Menon R., Richardson L.S. Preterm prelabor rupture of the membranes: a disease of the fetal membranes. Semin. Perinatol. 2017; 41(7): 409-19.
12. Negara K.S., Prajawati N.L.L.C., Surya G.P., Suhendro S., Arijana K., Tunas K. Protein 53 (P53) expressions and apoptotic index of amniotic membrane cells in the premature rupture of membranes. Open Access Maced. J. Med. Sci. 2018; 6(11): 1986-92.

Поступила 09.01. 2020