

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

акушерство гинекология



2 / 2013

■ Момот А.П., Тараненко И.А.,
Цывкина Л.П. Эволюция пред-
ставлений о тромбофилии и ее
роли в проблемах репродукции
человека

■ Кан Н.Е., Ломова Н.А.,
Донников А.Е., Зубков В.В.,
Павлович С.В., Дубровина Н.В.,
Тютюнник В.Л., Сухих Г.Т. Роль
генетических факторов в форми-
ровании дыхательных нарушений
у новорожденных при плацентар-
ной недостаточности

Scientifically-practical magazine AND
**OBSTETRICS
GYNECOLOGY**

■ Momot A.P., Taranenko I.A.,
Tsuyvkina L.P. Evolution of ideas on
thrombophilia and its role in human
reproduction problems

■ Kan N.E., Lomova N.A.,
Donnikov A.E., Zubkov V.V.,
Pavlovich S.V., Dubrovina N.V.,
Tyutyunnik V.L., Sukhikh G.T. Role
of genetic factors in the development
of neonatal respiratory disorders in
placental insufficiency

©Коллектив авторов, 2013

Н.Е. КАН, Н.А. ЛОМОВА, А.Е. ДОННИКОВ, В.В. ЗУБКОВ,
С.В. ПАВЛОВИЧ, Н.В. ДУБРОВИНА, В.Л. ТЮТЮННИК, Г.Т. СУХИХ

РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ФОРМИРОВАНИИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ У НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова
Минздрава России, Москва, Россия

Цель исследования. Изучение роли генного полиморфизма у беременных с плацентарной недостаточностью (ПН) в реализации дыхательных нарушений (ДН) у их новорожденных.

Материал и методы. Было проведено проспективное исследование 202 пациенток с ПН, включающее исследование распределения аллелей и генотипов полиморфных локусов у матерей и их новорожденных детей.

Результаты исследования. У матерей с генотипом TT в 251 позиции промоторной области гена IL-8 достоверно чаще рождались дети с последующей реализацией внутриутробной инфекции. При наличии у матери аллеля A полиморфизма гена ESR1: -351G>A (*XbaI*) у ребенка достоверно чаще развивался респираторный дистресс-синдром ($OR=1,85 (1,1-3,2); p=0,029$).

Заключение. Полученные нами данные позволяют использовать определение полиморфизма гена IL-8 и ESR1 среди беременных с ПН в качестве предиктора ДН у их новорожденных.

Ключевые слова: плацентарная недостаточность, дыхательные нарушения, генный полиморфизм, предиктор.

N.E. KAN, N.A. LOMOVA, A.E. DONNIKOV, V.V. ZUKBOV,
S.V. PAVLOVICH, N.V. DUBROVINA, V.L. TYUTYUNNIK, G.T. SUKHIKH

ROLE OF GENETIC FACTORS IN THE DEVELOPMENT OF NEONATAL RESPIRATORY DISORDERS IN PLACENTAL INSUFFICIENCY

Academician V. I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology,
Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Objective. To study the role of gene polymorphism in pregnant women with placental insufficiency (PI) in the realization of respiratory disorders (RD) in their neonates.

Subjects and methods. A prospective study was conducted on 202 patients with PI, by investigating the distribution of alleles and genotypes of polymorphic loci in the mothers and their newborn infants.

Сведения об авторах:

Кан Наталья Енкиновна, доктор медицинских наук, заведующая акушерским обсервационным отделением ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России

Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (495) 438-20-88. E-mail: n_kan@oparina4.ru

Ломова Наталья Анатольевна, аспирант ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России

Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (916) 144-21-62. E-mail: natasha-lomova@yandex.ru

Донников Андрей Евгеньевич, кандидат медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник отделения молекулярной генетики ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России

Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (495) 438-20-88. E-mail: a_donnikov@oparina4.ru

Зубков Виктор Васильевич, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения патологии новорожденных ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России

Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (495) 438-20-88. E-mail: v_zubkov@oparina4.ru

Павлович Станислав Владиславович, кандидат медицинских наук, членный секретарь ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России

Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (495) 438-20-88. E-mail: s_pavlovich@oparina4.ru

Дубровина Наталья Викторовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России

Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (495) 438-20-88. E-mail: n_dubrovina@oparina4.ru

Тютюнник Виктор Леонидович, доктор медицинских наук, главный врач ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России

Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (495) 438-20-88. E-mail: v_tutunnik@oparina4.ru

Сухих Геннадий Тихонович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАМН, директор ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России

Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Телефон: 8 (495) 438-18-00. E-mail: g_sukhikh@oparina4.ru

Results. The mothers with the TT genotype at -251 position of the promotor region of the IL8 gene more often gave birth to babies with further intrauterine infection realization. If the mother had A allele of ESR1 gene polymorphism: -351G>A (*XbaI*), the baby significantly more frequently developed respiratory distress syndrome (OR=1.85 (1.1–3.2); $p=0.029$).

Conclusion. Our findings allow *IL8* and *ESR1* gene polymorphisms to be determined in pregnant women with PI as a predictor of RD in their neonates.

Key words: placental insufficiency, respiratory disorders, gene polymorphism, predictor.

Инфекционные заболевания бактериальной и вирусной этиологии являются причиной целого ряда осложнений беременности, таких как привычный выкидыш, неразвивающаяся беременность, плацентарная недостаточность (ПН), задержка развития плода (ЗРП), преждевременные роды, внутриутробная гибель плода, внутриутробное и постнатальное инфицирование плода и др. [1, 2]. По данным ряда авторов, ПН, сопровождающаяся гипоксией и ЗРП, является основной причиной перинатальной заболеваемости и смертности [3, 4]. Дети, рожденные от матерей с ПН, входят в группу высокого риска по развитию дыхательных нарушений (ДН) в раннем неонатальном периоде. Согласно современным представлениям, ДН, такие как респираторный дистресс-синдром (РДС) и врожденная пневмония, представляют собой тяжелое расстройство дыхания у детей в первые дни жизни и являются самыми частыми осложнениями раннего неонатального периода [5, 6]. Ряд авторов убедительно показали, что ДН являются многофакторными заболеваниями, обусловленными взаимодействием генетических и средовых факторов [7, 8]. Изучение роли генного полиморфизма в развитии РДС и врожденной пневмонии может привести к лучшему пониманию патогенеза и разработке эффективных методов профилактики и лечения таких больных.

Цель настоящего исследования: изучение роли генного полиморфизма у беременных с ПН в реализации ДН (РДС, врожденной пневмонии) у их новорожденных.

Материал и методы исследования

Было проведено проспективное исследование 202 пациенток, выполненное в акушерском обсервационном отделении ФГБУ НЦ АГиП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России.

Критерий включения: ПН, установленная по данным клинического обследования, результатам функциональных методов исследования (нарушение фетоплacentарного кровотока и/или кровотока в венозном протоке, и/или усиление кровотока в среднемозговой артерии, по данным допплерометрии, ЗРП, по данным ультразвукового исследования – УЗИ).

Критерий исключения: многоплодная беременность, тяжелая экстрагенитальная патология, пороки развития плода.

После родоразрешения, в зависимости от исхода беременности, пациентки были разделены на две группы. В I группу были включены 98 пациенток с ДН у новорожденных, во II – 104 пациентки без ДН у новорожденных. Всем беременным, включенным в исследование, был выполнен стандартный набор обследований и исследованы сыворотка и цельная кровь, пуповинная кровь их новорожденных. Все пациентки были ознакомлены с целью и методами, дали письменное согласие на их включение в научное исследование.

Было проведено исследование распределения аллелей и генотипов следующих полиморфных локусов у матерей и их новорожденных детей: CD14 -260 (-159) C>T, IL-6 174 C>G, IL-8 -251 A>T, IL-10 -592 A/C, ESR1: PvuII -397 T>C, ESR1: *XbaI*, TLR9 -1486 T>C, IL-1A -889 C>T, IL-1B -31 T>C, TNF -308 G>A, TNF -238 G>A, IL-4 -590 C>T, IL-4 -33 C>T, IL-4R 1902 A>G (Gln576Arg), IL-6R 1510 (1073) A>C (Asp358Ala). Определение замен одиночных нуклеотидов проводили модифицированным методом «примыкающих проб» (adjacent probes, kissing probes), используя оригинальные олигонуклеотиды. Полимеразную цепную реакцию и определение температуры плавления олигонуклеотидных проб проводили с помощью детектирующего амплификатора ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью свободно распространяемого программного продукта WINPEPI версии 9.7 (Abramson, J.H. WINPEPI, PEPI-for-Windows: computer programs for epidemiologists. Epidemiologic Perspectives & Innovations 2004, 1:6). Для определения статистической значимости различий применяли точный двухсторонний критерий Фишера и U-тест Манна-Уитни для несвязанных совокупностей. Отношение шансов (OR) приведено с 95% доверительным интервалом (CI).

Результаты исследования

Возраст беременных, включенных в исследование, колебался от 18 до 41 года и составил в среднем $31,4 \pm 0,5$ и $28,4 \pm 0,5$ года соответственно по группам. В I группе было много пациенток старше 36 лет (26,5%), тогда как пациенток от 18 до 23 лет всего 6,1% ($p<0,05$).

Был проведен анализ особенностей соматического и гинекологического анамнезов. В группах были выявлены различия в частоте перенесенных

инфекционных заболеваний в детстве: в I группе достоверно чаще отмечались краснуха (50,0%) и ангина (48,0%; $p<0,05$). У пациенток основной группы имело место достоверное увеличение частоты хронических заболеваний ЛОР-органов – 40,0% ($p<0,05$). Среди заболеваний мочевыделительной системы в I группе отмечалось достоверное увеличение частоты хронического пиелонефрита (20,0%; $p<0,05$) и хронического цистита (26,0%; $p<0,05$). При анализе заболеваний сердечно-сосудистой системы было выявлено достоверное увеличение частоты хронической артериальной гипертензии в основной группе (10,0%; $p<0,05$). При изучении структуры заболеваний эндокринной системы достоверных отличий получено не было, однако только в I группе отмечался аутоиммунный тиреоидит (4,0%) и гипотиреоз (4,0%).

При изучении структуры гинекологической заболеваемости было отмечено достоверное увеличение в I группе хронического эндометрита (18,0%), хронического сальпингоофорита (20,0%), доброкачественных новообразований яичников (12%), бесплодия (16%) и цервицита (54%; $p<0,05$). Был проведен анализ исходной инфекционно-воспалительной заболеваемости с определением анализа спектра возможных возбудителей. В I группе достоверно чаще встречались хроническая герпетическая (40,0%) и уреаплазменная (34,0%) инфекции, кандидозный вульвовагинит (38,0%) и бактериальный вагиноз (14,3%; $p<0,05$).

Так как большинство пациенток, включенных в исследование, были повторнородящими, мы проанализировали акушерский анамнез. В I группе достоверно чаще встречались самопроизвольные выкидыши (18,0%), бесплодие (16,0%) и интранатальная гибель плода (6,0%; $p<0,05$). Также у пациенток I группы в 20,0% отмечалась неразвивающаяся беременность в анамнезе, хотя достоверных отличий получено не было. Только у пациенток I группы в анамнезе отмечали преждевременную отслойку нормально расположенной плаценты (2,0%). В I группе чаще имело место наступление беременности в результате экстракорпорального оплодотворения.

Несмотря на разделение пациенток по наличию ПН, интерес представлял анализ сочетания с другими осложнениями беременности, которые могут быть как причиной, так и сопутствующими осложнениями.

Течение настоящей беременности в I триместре у пациенток I группы достоверно чаще осложнялось угрозой прерывания беременности (76,0%), ретрехориальной гематомой, по данным УЗИ, (12,0%; $p<0,05$). Был проведен анализ инфекционно-воспалительной заболеваемости с определением анализа спектра возможных возбудителей. У пациенток I группы преобладали кандидозный вульвовагинит (14,3%), обострение хронической герпетической инфекции (8,0%), ОРВИ (26%; $p<0,05$). Во II триместре у пациенток I группы отмечалось формирование истмико-цервикальной недостаточности в 14,3% случаев, потребовавшей проведения хирургической коррекции, угроза прерывания бере-

менности (78,5%) и анемия беременных (38,0%; $p<0,05$). Из особенностей течения III триместра беременности следует отметить преобладание в I группе анемии беременных (36,0%), бессимптомной бактериурии (6,0%), патологии околоплодных вод в виде многоводия (16,3%; $p<0,05$). У пациенток I группы в III триместре преобладали неспецифический вульвовагинит (20,0%), обострение хронической герпетической инфекции (8,2%; $p<0,05$). В 10% случаев у пациенток I группы отмечалось преждевременное излитие околоплодных вод.

В I группе 68,0% пациенток были родоразрешены путем операции кесарева сечения, из них по экстренным показаниям 38,0% ($p<0,05$), в половине случаев – в связи с ухудшением состояния плода и нарастанием тяжести хронической гипоксии плода. В I группе средний гестационный срок, на котором пациентка была родоразрешена, составил 33,6 нед, тогда как во II группе – 36,4 нед. Послеродовой период у пациенток I группы в 16% случаев протекал с осложнениями: диагностировали эндометрит (4,0%) и субинволюцию матки (12,0%; $p<0,05$).

Установлено, что у детей I группы врожденная пневмония диагностирована в 63,4% случаев, РДС – в 44,0% случаев. Достоверно чаще диагностировали неонатальную желтуху (16,3%), внутриутробную недостаточность питания (38,0%) и задержку внутриутробного развития (24,5%), что, по-видимому, обусловлено критериями включения в группу ($p<0,05$).

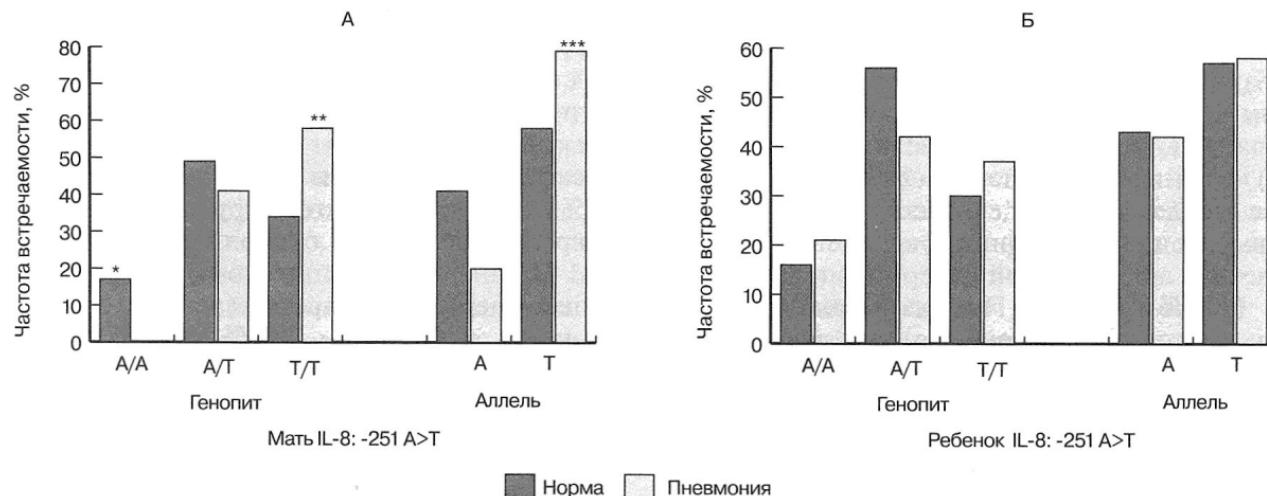
Был проведен анализ ассоциаций генотипов и основных осложнений раннего неонатального периода. Отдельно анализировали генотип матери и ребенка. При анализе распределения генотипов было выявлено, что пневмония чаще развивалась у детей, рожденных от матерей с генотипом Т/Т полиморфизма гена IL-8: -251 A>T ($OR=2,6 [1,2-5,8]; p=0,022$), при этом влияния генотипа самого ребенка выявлено не было. Данная ассоциация наблюдалась как среди доношенных, так и среди недоношенных детей, а наличие генотипа IL-8: -251 T/G у матери не было связано со сроками родоразрешения, что может являться косвенным подтверждением влияния материнского генотипа на особенности развития иммунной системы у ребенка (рис. 1, см. на вклейке).

Аналогичная тенденция наблюдалась по отношению к полиморфизму гена ESR1: -351G>A (XbaI). При наличии у матери аллеля А у ребенка чаще развивался РДС ($OR=1,85 [1,1-3,2]; p=0,029$), при этом статистически значимой ассоциации данного генотипа у ребенка с развитием РДС выявлено не было. Влияние материнского генотипа наблюдалось как у доношенных, так и у недоношенных детей. Данная зависимость отображена на рис. 2 (см. на вклейке).

Обсуждение

У матерей с ПН, родивших детей с ДН, достоверно чаще встречались хронический пиелонефрит и цистит, самопроизвольные выкидыши и бесплодие в анамнезе, истмико-цервикальная недостаточность (23,0%) и многоводие (19,4%; $p<0,05$) во время данной беременности, что позволяет выделить эти клинические факторы риска

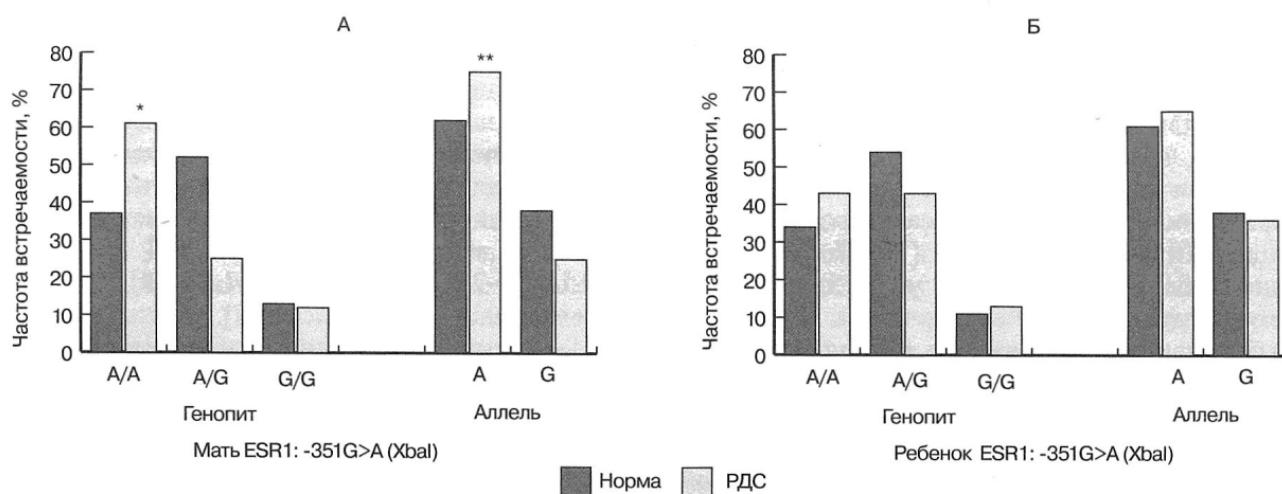
Рис. 1. Ассоциация полиморфизма IL-8: -251 A>T с развитием пневмонии у детей



* — OR=0,12 (0,01–1,95); p=0,049; ** — OR=2,59 (1,01–6,63); p=0,077; *** — OR=2,6 (1,2–5,8), p=0,022

А: венозная кровь матери; Б: пуповинная кровь новорожденного

Рис. 2. Ассоциация полиморфизма ESR1: -351G>A (XbaI) с развитием респираторного дистресс синдрома



* — OR=2,9 (1,5–5,8), p=0,002; ** — OR=1,9 (1,1–3,2); p=0,02

А: венозная кровь матери; Б: пуповинная кровь новорожденного

среди беременных с ПН для прогнозирования ДН у их новорожденных.

Была прослежена зависимость частоты выявления внутриутробной инфекции у новорожденных от наличия полиморфизма IL-8 у их матерей. Ключевая роль в хематтракции лейкоцитов принадлежит IL-8, относящемуся к а-суперсемейству хемокинов. IL-8 — мощный хемокин, участвующий в хемотаксисе нейтрофилов. Под действием IL-8 происходит активация нейтрофилов и их миграция в очаг воспаления. Уникальность IL-8 заключается в том, что будучи одним из самых ранних медиаторов воспаления, этот цитокин долгое время находится в очаге воспаления [9].

Показано повышение экспрессии мРНК IL-8 и накопление белка в альвеолярных макрофагах

в бронхолегочном лаваже при идиопатическом легочном фиброзе [10]. Также показан ангиогенный эффект IL-8, который связывается с двумя высокоафинными рецепторами: α (IL-8RA, CXCR1) и β (IL-8RB, CXCR2). Ген IL-8 расположен на 4 хромосоме (4q12-q13). Полиморфизм рецепторов IL-8 ассоциирован с хроническими обструктивными заболеваниями легких и бронхиальной астмой. Полиморфизм -251 T>A расположен в промоторной области. Аллель A ассоциирован с низким уровнем IL-8 в бронхолегочном лаваже [11]. В то же время, показано, что при наличии аллеля A концентрация IL-8 в крови сильнее возрастает в ответ на стимуляцию липополисахаридами [12].

Наличие у матерей аллеля A полиморфизма эстрогенового рецептора ESR1: -351 G>A (XbaI) и

генотипа T/T полиморфизма гена IL-8: -251 A>T приводят к наиболее тяжелому течению внутриутробной пневмонии у новорожденного, что обуславливает необходимость углубленного обследования и динамического наблюдения.

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют использовать генетический скрининг среди беременных с ПН, входящих в группу высокого риска по развитию ДН.

Литература

1. Bonetti L., Ferrari P., Trani N., Maccio L., Laura S., Giuliana S. et al. The role of fetal autopsy and placental examination in the causes of fetal death: a retrospective study of 132 cases of stillbirths. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2011; 283(2): 231–41.
2. Brzozowska M., Kowalska-Koprek U., Kuś E., Berner-Trabska M., Karowicz-Bilirska A. Analysis of the indications for the caesarean section delivery for very low birthweight neonates (<1500 g) delivered in I department gynecology and obstetrics, Medical University in Lodz in 2006-2010. *Ginekol. Pol.* 2011; 82(8): 592–7.
3. Hui L., Challis D. Diagnosis and management of fetal growth restriction: the role of fetal therapy. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2008; 22(1): 139–58.
4. Gibbons K., Beckmann M., Flenady V., Rossouw D., Gardener G., Mahomed K. et al. A survey of policies for the monitoring of fetal growth in Australian and New Zealand hospitals. *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.* 2011; 51(6): 493–8.
5. Bose C., Van Marter L.J., Laughon M., O'Shea T.M., Allred E.N., Karna P. et al. Fetal growth restriction and chronic lung disease among infants born before the 28th week of gestation. Extremely Low Gestational Age Newborn Study Investigators. *Pediatrics.* 2009; 124(3): e450–8.
6. Hallman M., Marttila R., Pertile R., Ojaniemi M., Haataja R. Genes and environment in common neonatal lung disease. *Neonatology.* 2007; 91(4): 298–302.
7. Bizzarro M.J., Jiang Y., Hussain N., Gruen J.R., Bhandari V., Zhang H. The impact of environmental and genetic factors on neonatal late-onset sepsis. *J. Pediatr.* 2011; 158(2): 234–8; e1.
8. Özkan H., Köksal N., Çetinkaya M., Kılıç Ş., Çelebi S., Oral B., Budak F. Serum mannose-binding lectin (MBL) gene polymorphism and low MBL levels are associated with neonatal sepsis and pneumonia. *J. Perinatol.* 2012; 32(3): 210–7.
9. Remick D.G. Interleukin-8. *Crit. Care Med.* 2005; 33: 466–7.
10. Ebina M., Shimizukawa M., Shibata N., Kimura Y., Suzuki T., Endo M. et al. Heterogeneous increase in CD34-positive alveolar capillaries in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004; 169(11): 1203–8.
11. Ahn M.H., Park B.L., Lee S.H., Park S.W., Park J.S., Kim D.J. et al. A promoter SNP rs4073T>A in the common allele of the interleukin 8 gene is associated with the development of idiopathic pulmonary fibrosis via the IL-8 protein enhancing mode. *Respir. Res.* 2011; 12: 73.
12. Hull J., Thomson A., Kwiatkowski D. Association of respiratory syncytial virus bronchiolitis with the interleukin 8 gene region in UK families. *Thorax.* 2000; 55(12): 1023–7.

Поступила 07.12.2012