

Ковалев В.В.,¹ Миляева Н.М.,¹ Кудрявцева Е.В.,¹ Третьякова Т.Б.,² Рукосуев Н.Е.²

Роль молекулярно-генетических факторов в развитии слабости родовой деятельности у первородящих женщин

1 - ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, г. Екатеринбург, 2 - ФГБУ «НИИОММ» Минздрава России, г. Екатеринбург

Kovalev V.V., Milyaeva N.M., Kudriavceva E.V., Tretyakova T.B., Rukosuev N.E.

The role molecular-genetic factors in the development of the weakness of labor in first labor women

Резюме

Цель исследования. Изучение характеристик энергетического обмена миометрия при координированной (КРД) и слабой родовой деятельности (СРД), выявление молекулярно-генетических предикторов развития слабости родовой деятельности. Материал и метод. В проспективное когортное исследование включены 110 первородящих женщин, по клиническому течению родов выделены две группы: I (основная) – роды протекали со слабостью родовой деятельности (n=62), II (группа сравнения) – с координированной родовой деятельностью (n=48). Проведено молекулярно-генетическое исследование полиморфизма генов энергообмена методом пиросеквенирования. Результаты исследования. Выявлена протективная роль генотипов по полиморфному маркеру гена PPARA2498 G>C и вариантного аллеля T полиморфизма PPARC -87, оба гомозиготных вариантов PPARGC 1B A203P генотипов GG и CC для СРД. Заключение. Результаты исследования могут внести свой вклад в прогнозирование слабости родовой деятельности у молодых соматически здоровых с физиологической беременностью первородящих женщин.

Ключевые слова: слабость родовой деятельности, миометрий, полиморфизм генов энергообмена

Summary

Objective: The study of energy metabolism of the myometrium at coordinated (MRC) and the weak labor activity (Wed), identify molecular-genetic predictors of uterine inertia. Subject and methods. In a prospective cohort study included 110 nulliparous women, the clinical course of labor allocated to two groups: I (main) – births proceeded from the weakness of labor (n=62), II (comparison group) – coordinated labor (n=48). A molecular genetic study of polymorphism of genes of the energy exchange method of pyrosequencing. Results. Morphological studies showed the presence of a disturbance of cellular energy metabolism of the myocytes with Wed. Revealed a protective role of genotypes at the polymorphic marker gene PPARA2498 G>C, variant allele T of the polymorphism in the PPARC -87, both homozygous variants PPARGC A203P 1B genotypes GG and SS for Wed. Conclusion. The results of the study can contribute to predicting the weakness of labor in young somatically healthy with physiological pregnancy first labor women.

Keywords: powerless labor, myometrium, polymorphism of genes of energy metabolism

Введение

Значимость и сложность проблемы аномалий сократительной деятельности матки определяется не только частотой развития, но и влиянием их на тяжесть осложнений со стороны матери, плода, новорожденного [1, 2, 3, 4, 5]. Одно из первых мест среди всех аномалий родовой деятельности занимает первичная слабость родовой деятельности (СРД). Данные специальной литературы свидетельствуют о том, что первичная СРД осложняет течение родов в 2-12% и составляет 60-80% среди всех аномалий. В сфере внимания исследователей в последние

годы являются вопросы, связанные с изучением механизмов патологии сократительной деятельности матки. Согласно существующим представлениям, причины или состояния, способствующие возникновению СРД, являются мультифакторными. Их можно систематизировать в следующие группы: наличие механических препятствий для продвижения плода; нарушение нормальной анатомии матки; воспалительные поражения миометрия; нарушение гормональной регуляции; наличие патологии иммунного статуса; нарушение β-адренореактивности, межклеточной кооперации миометрия. [6, 7, 8, 9]. В последние

годы опубликованы исследования, свидетельствующие о наличии наследственной предрасположенности к нарушениям сократительной деятельности матки [10, 11, 12]. Показана роль полиморфизмов генов, ассоциированных с недифференцированной дисплазией соединительной ткани при слабости родовой деятельности [3]. Согласно мнению отечественных и зарубежных исследователей в патогенезе нарушений сократительной деятельности матки важная роль отводится внутриклеточным биохимическим процессам, происходящим в миометрии, необходимым уровнем которых обеспечивают гуморальные факторы. При этом определяющим является состояние энергетического обмена в миометрии в родах [13, 14, 15, 16, 17, 18]. Несмотря на значительные успехи в изучении этиологии и патогенеза нарушений сократительной деятельности матки, остается малообъяснимым статистический факт развития первичной слабости родовой деятельности у молодых первородящих соматически здоровых женщин. Недостаточная изученность патогенетических механизмов формирования слабости родовой деятельности чрезвычайно затрудняет возможность целенаправленного прогнозирования, а следовательно, и профилактики этих осложнений родов. В связи с этим углубленное изучение взаимосвязи развития неэффективной родовой деятельности с особенностями состояния ультраморфологических характеристик энергообмена миоцитов, выявление молекулярно-генетической предрасположенности является актуальными и вносит свой вклад в исследование этиологии и патогенеза слабости родовой деятельности, причин формирования тяжелой перинатальной патологии.

Целью работы явилось выявление молекулярно-генетических предикторов развития слабости родовой деятельности.

Материалы и методы

Настоящее проспективное когортное исследование проводилось на кафедре акушерства и гинекологии ФПК и ПП ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, родильного дома МАУ ГКБ№14 (г. Екатеринбург). В исследование были включены 110 беременных. По факту клинического течения родов выделено две группы: I (основная) – роды протекали со слабостью родовой деятельности (СРД), (n=62), II (группа сравнения) – с координированной родовой деятельностью (КРД), (n=48). Характер родовой деятельности (слабая и координированная) верифицированы на основании клинических рекомендаций (протокол лечения) "Оказание медицинской помощи при одноплодных родах в затылочном предлежании (без осложнений) и в послеродовом периоде" [19]. В основу клинической дифференциации координированной и слабой родовой деятельности выбраны следующие показатели: характеристика сократительной деятельности матки (продолжительность схватки, длительность фаз сокращения и расслабления, частота схваток за 10 минут, интервал между схватками, маточная активность), состояние шейки матки на начало родов, скорость открытия шейки матки. Всем пациенткам

проводилось клиническое и лабораторно-инструментальное исследование в соответствии с имеющимися стандартами ведения беременных и родильниц. Протокол исследования был утвержден локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет», все пациентки дали информированное согласие на участие в исследовании. Критерии включения: первородящие роженицы в сроке доношенной беременности (39–41 нед.) с координированной родовой деятельностью и со слабостью родовой деятельности; головное предлежание плода; информированное согласие пациентки на участие в исследовании. Критерии исключения: многоплодная беременность; тяжелые соматическая патология и гестационные осложнения; патология плаценты – предлежание плаценты, преждевременная отслойка плаценты; недоношенная и переносимая беременность; рубец на матке; инфекционные осложнения в родах (длительный безводный период, хориоамнионит); тазовое предлежание плода; нарушения менструального цикла в анамнезе, аномалии развития матки; морфологические и анамнестические факторы, препятствующие самопроизвольным родам.

Молекулярно-генетическое исследование проводилось в лаборатории генетики ФГБУ «НИИОММ» (г. Екатеринбург). ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови, используя комплект реагентов «ДНК-сорб-В» производства ФГУН «Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора». Далее проводилась реакция амплификации с помощью комплекта праймеров АмплиСенсПироскрин производства ФГУН «Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора» с последующей инкубацией ампликонов с частицами сефарозы, покрытыми стрептовидином. С использованием полуавтоматической вакуумно-фильтрационной станции (VacuumPrepWorkstation) проводилась щелочная денатурация ампликонов и серия отмывок с образованием одноцепочечного ПЦР-продукта, используемого как матрица для пиросеквенирующего синтеза. В последствии проводилась реакция пиросеквенирования и анализ полученный результатов. Детекция реакции пиросеквенирующего синтеза проводилась автоматически в режиме реального времени с помощью пиросекватора серии PytoMarkQ24.

В работе изучено 6 полиморфных вариантов локусов в генах энергообмена. Исследуемые локусы и полиморфизмы представлены в таблице 1.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета статистических программ Excel 2010. Сравнение частот генотипов полиморфных вариантов отдельных генов между анализируемыми группами проводилось при помощи χ^2 Пирсона (Person) по стандартной формуле с учетом поправки Йетса для парных сравнений (Гланц, 1999). Достоверными принимались результаты при $p < 0,05$. Тест на соответствие распределения генотипов закону Харди-Вайнберга в обеих выборках проводили с помощью критерия χ^2 с использованием программы «Hardy-Weinberg equilibrium». Уровень значимости менее 0,05 свидетельствует об отклонениях от этого закона.

Таблица 1. Исследуемые гены и полиморфизмы.

Локус	Последовательность для анализа	Белковый продукт	Полиморфизм	SNT_ID
PPARA	CC/GAAACTAGATA	Альфа рецептор, активируемый пролифератором пероксисом	2498G>C	Rs4253778
PPARD	AC/TCCTGTAGAG	Дельта-рецептор, активируемый пролифератором пероксисом	-87C>T	rs2016520
PPARG	G/CGTCAATAGG	Фактор транскрипции PPARγ	P12A C>G	Rs1801282
PPARGC1A	CACC/TGGTCTTG	Коактиватор 1a PPARG	S482G G>A	Rs8192678
PPARGC1B	GC/GCTTCTGTCTT	Коактиватор 1b PPARG	A203P G>C	Rs7732671
AMPD	AC/TGTGAGTATT	Аденозинмонофосфатдеза-миназа I	Q12X G>A	Rs17602729

Таблица 2. Распределение частот аллелей полиморфных вариантов генов у женщин со СРД и КРД.

	частоты		хи-квадрат	p	OR	95% CI	
	случай	контр					
PPARA 2498 G	0,65	0,79	4,54	0,03	0,50	0,95	0,26
PPARA 2498 C	0,35	0,21				2,00	1,05
PPARD -87 C	0,65	0,82	7,39	0,01	0,40	0,78	0,20
PPARD -87 T	0,35	0,18				2,51	1,29
AMPD Q12X G	0,97	0,82	11,77	0,00	6,09	2,15	17,19
AMPD Q12X A	0,03	0,18				0,16	0,46

Для анализа межгенных взаимодействий использовался биоинформативный метод Multifactor Dimensionality Reduction (MDR). Силу ассоциации оценивали в значениях показателя соотношения шансов (oddratio, OR). Значение OR и 95%-ный доверительный интервал (95% CI) вычисляли с помощью программы «Calculator for confidence interval soroddsratio».

Результаты и обсуждение

Все пациентки, включенные в исследование, были сопоставимы по возрасту, паритету (первородящие), без отягощенного акушерского и гинекологического анамнеза. Все женщины имели славянское происхождение и проживали на территории Свердловской области. Средний возраст составил 26,0±4,2 года и 25,4±4,8 лет при СРД и КРД соответственно. Средний возраст менархе составил 13,1±1,2 и 12,8±1,9 лет в основной и группе сравнения соответственно ($p>0,05$). Путем операции кесарева сечения были родоразрешены в основной группе 39 (62,9%) родильниц; показанием к операции послужила слабость родовой деятельности, в группе сравнения путем операции кесарева сечения родоразрешены 5 (10,4%) женщин, в связи с острой гипоксией плода вследствие тугого обвития пуповиной вокруг шеи плода. Вагинальные роды прошли в основной и контрольной группах у 23 (37,1%) и 43 (89,6%) соответственно.

Безусловно, сократительная деятельность матки – сложный многозвеньевой процесс, который поддерживается многочисленными факторами, обеспечивающими

реализацию нормальной функции. Исследования последних лет значимо изменили представления о формировании СРД. Анализ накопленных знаний привел к пониманию того, что развитие СРД происходит вследствие не только сбоя в механизмах регуляции, но и патологии архитектуры клетки [2, 3, 6, 7, 8, 9, 13, 14, 16].

Важнейшими регуляторами мышечной силы являются гены транскрипционных факторов семейства PPAR и PPGC1A. Гены семейства PPAR — гены рецепторов активации пролиферации пероксисом — кодируют белки PPARα, PPARγ и PPARδ, которые специфически связываются с промоторами генов жирового и углеводного обмена и регулируют их транскрипцию. Гены, кодирующие эти белки, обозначаемые как PPARA, PPARG и PPARD соответственно, локализованы на разных хромосомах, но в целом имеют сходную молекулярную структуру [3, 12]. Результаты анализа частоты встречаемости полиморфных аллелей генов кандидатов (PPARA, PPARD, PPARGC1A, PPARGC1B, PPARG2 и AMPD1) в исследуемых группах оценивались с использованием общей, мультипликативной и доминантной моделей. Проведенные исследования показали существование достоверных различий в распределении частот полиморфных локусов генов-кандидатов в группе женщин со слабостью родовой деятельности и группе сравнения. При анализе распределения частоты встречаемости генотипов по полиморфному маркеру гена PPARA2498 G>C у женщин со слабостью родовой деятельности в генотипе аллель C был обнаружен у 35% женщин против 21% в контрольной группе. У носительниц дан-

Таблица 3. Распределение частот генотипов полиморфных вариантов генов у женщин со СРД и КРД.

	частоты		хи-квадрат	p	OR	95% CI	
PPARD -87 CC	0,48	0,69	5,97	0,05	0,42	0,85	0,21
PPARD -87 CT	0,33	0,26			1,37	1,06	1,78
PPARD -87 TT	0,19	0,05			4,68	1,34	16,39
PPARGC 1B A203P GG	0,67	0,64	6,86	0,03	1,14	1,03	1,26
PPARGC 1B A203P GC	0,17	0,33			0,42	0,81	0,21
PPARGC 1B A203P CC	0,16	0,02			7,53	1,63	34,75
AMPD Q12X GG	0,93	0,69	10,51	0,01	6,05	2,01	18,22
AMPD Q12X GA	0,07	0,26			0,21	0,54	0,08
AMPD Q12X AA	0,00	0,05			0,00	0,00	0,00

ного аллеля значительно чаще проявлялась слабость родовой деятельности (OR=2,00;95%CI=1,05-3,82; p=0,03). Такой же эффект обнаружен и для вариантного аллеля Т полиморфизма PPARD -87 (OR=2,510;95%CI=1,29-4,91; p=0,01); (таблица 2).

Генотипы AMPD Q12X GA и AMPD Q12X AA чаще имеет место у женщин из контрольной группы. (OR=0,17;95%CI=0,05-0,51; p=0,01), то есть можно говорить о протективном влиянии мутантного аллеля А.

Носительство гетерозиготного генотипа PPARGC 1B A203P GC был определён у 17% женщин из исследуемой группы и у 33% из контрольной группы (OR=0,42;95%CI=0,21-0,81; p=0,03) и оказывает положительный эффект, снижая риск патологий при беременности. В то время как оба гомозиготных вариантов генотипов GG и CC осложняют течение родов (OR=1,14;95%CI=1,03-1,26 и OR=7,53;95%CI=1,63-34,75; соответственно; при p=0,03); (таблица 3).

Заключение

Дискуссия об этиологии и патогенезе слабости родовой деятельности продолжается уже более 100 лет и отражена в многочисленных фундаментальных трудах как отечественных, так и зарубежных исследователей [2, 3, 6, 7, 9, 13, 14, 19, 20]. Совершенствование существующих критериев прогнозирования и выявление новых предикторов СРД актуально и имеет глобальную медико-социальную значимость в материнском и перинатальном аспектах. Исходя из полученных результатов, можно сделать заключение о наличии взаимосвязи между дисфункцией клеточного энергообмена миоцитов и полимор-

физма генов энергетического обмена PPARA2498 G>C, PPARD -87 C>T, PPARGC 1B A203P G>A, AMPD Q12X G>A. Кроме того, при проведении молекулярно-генетического исследования полиморфизма генов энергетического обмена выделены предикторы развития слабости родовой деятельности, что может быть использовано в клинической практике в преконцептуальном, антенатальном, интранатальном периодах. Таким образом, полученные нами результаты исследования могут внести свой вклад в выделение групп риска, выбор персонализированной тактики ведения родов, прогнозирование слабости родовой деятельности у молодых соматически здоровых с физиологической беременностью первородящих женщин. ■

Ковалева Владислав Викторович, ФГБОУ ВО УГМУ, г. Екатеринбург, Россия д.м.н., профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии ФПК и ПП, г. Екатеринбург, Милыева Наталья Маратовна, ФГБОУ ВО УГМУ, г. Екатеринбург, к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии ФПК и ПП, заведующая ОАПБ родильного дома МАУ ГКБ №14, г. Екатеринбург, Кудрявцева Елена Владимировна, ФГБОУ ВО УГМУ, г. Екатеринбург, Россия, к.м.н., доцент, доцент кафедры акушерства и гинекологии ФПК и ПП, Третьякова Татьяна Борисовна, ФГБУ «НИИОММ», г. Екатеринбург, к.м.н., заведующая лабораторией генетики. Рукосуев Никита Евгеньевич, ФГБУ «НИИОММ», г. Екатеринбург, Россия. Автор, ответственный за переписку: Милыева Наталья Маратовна, Телефон: +79030863377, E-mail: soneta64@rambler.ru

Литература:

1. Дмитриева С.Л., Хлыбова С.В. Течение гестационного процесса у женщин с аномалиями родовой

деятельности. Вятский медицинский журнал; 2010 (1): 23-28.

2. Зефирова Т.П., Железова М.Е., Яговкина Н.Е. Анамалии родовой деятельности: механизмы формирования и факторы риска. *Практическая медицина*; 2010 (4): 10-14.
3. Кап Н.Е., Донников А.Е., Тотюнник В.Л., Кесова М.И., Демуря Т.А. Молекулярно-генетические предикторы слабости родовой деятельности. *Акушерство и гинекология*. 2014, 4: 27-32.
4. Савельева Г.М., Курцер М.А., Караганова Е.Я., Брусенко Л.Е., Третьякова М.В. Ведение физиологических и осложненных родов. *Акушерство и гинекология*; 2011 (3): 4-10.
5. Чернуца Е.А. Родовой блок. – М.: Триада-Х; 2005. 640с.
6. Подтетенев А.Д., Братчикова Т.В., Коктаиш Г.А. Регуляция родовой деятельности. М.: РУДН; 2004. 53с.
7. Monir-Bishty E., Pierce S.J., Kupittayanant S., Shmygol A. The effects of metabolic inhibition on intracellular calcium and contractility of human myometrium. *B.J.O.G.* 2003; 110: 12: 1050–1056.
8. Sanchez-Ramos L., Quillen M.J., Kaunitz A.M. Randomized trial of oxytocin alone and with propranolol in the management of dysfunctional labor. *Obstet. Gynecol.* 1996; 88: 4: 517-520.
9. Хасанов А.А., Бакирова И.А. Перспективные направления в изучении механизмов развития анамалий сократительной деятельности матки (обзор литературы). *Альманах современной науки и образования*; 2010 (3): 98-103. 8.
10. Algovik M., Nilson E., Snattingius S., Lichtenstein P. Genetic influence on dystocia. *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.* 2004; 83: 9: 832-837.
11. Ковалев В.В., Кудрявцева Е.В. Генетически детерминированные тромбофилии в акушерстве и гинекологии. *Методические рекомендации для врачей*. Екб.: УГМУ; 2015. 40с.
12. Баранов В.С., ред. *Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины*. СПб.: Н-Л; 2009. 528с.
13. Абрамченко В.В. Концепция энергетического дефицита и нарушение функции митохондрий. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2001; 4: 46-52.
14. Забозлаев Ф.Г., Милованов А.П., Бархина Т.Г. Патоморфология матки при слабости родовой деятельности. *Архив патологии*. 2006; 5: 30-34.
15. Малютина Е.А., Павлова Т.В., Петрухин В.А. Методы сканирующей микроскопии при исследовании структуры матки и плаценты. *Научные ведомости БГУ. Серия: Медицина. Фармация*. 2011. Том 16, 22-1.
16. Постнов Ю.В. К развитию концепции патогенеза первичной гипертензии (нарушение функции митохондрий и энергетический дефицит). *Кардиология*; 2000 (10): 4-12.
17. McGarry JD, Brown NF. The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system. *From concept to molecular analysis*. *Eur. J. Biochem.* 1997; 244: 1-14.
18. Weinberger MJ, Rinaldo P, Strauss AW, Bennett MJ. Intact α -subunit is required for membrane binding of human mitochondrial trifunctional β -oxidation protein, but is not necessary for conferring 3-ketoacyl CoA thiolase activity to the β -subunit. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995; 209: 47-52.
19. Баев О.Р., Камиссарова Л.М., Пучко Т.К., Васильченко О.Н., Мальбахова Е.Т., Полянчикова О.Л., Шифман Е.М. Базовый протокол ведения родов. *Акушерство и гинекология*; 2011 (4); Приложение.
20. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. *Биологическая химия*. М: Наука; 2002.