

На правах рукописи



Проклова Гузель Фаритовна

**Влияние полиморфизма гена *ADRB2*, кодирующего бета2-адренорецептор,
на эффективность и безопасность токолитической фармакотерапии
бета2-адреномиметиком у беременных с преждевременными родами**

3.1.4. Акушерство, гинекология

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор
кандидат медицинских наук, доцент

Чилова Раиса Алексеевна
Сокова Елена Андреевна

Официальные оппоненты:

Тетруашвили Нана Картлосовна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2-е акушерское отделение патологии беременности, заведующий отделением

Савельева Марина Ивановна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Институт непрерывного профессионального образования, кафедра терапии, профессор кафедры

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования "Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «26» июня 2023 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.28 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1) и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор



Семиков Василий Иванович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Преждевременные роды (ПР) представляют собой одну из наиболее сложных социально значимых проблем в современном акушерстве, являясь основной причиной смертности и заболеваемости новорожденных без врожденных аномалий или хромосомных aberrаций (Hamilton et al., 2013). Доля ПР составляет от 5% до 18% во всем мире (Blencowe et al., 2012). В России этот показатель составляет 6,9%, но сказать, что наметилась тенденция к снижению количества недоношенных детей, не представляется возможным. Несмотря на многочисленные стратегические подходы к предотвращению преждевременных родов, включающие токолитическую терапию β 2-адреномиметиками, блокаторами медленных кальциевых каналов (БМКК), антагонистами окситоцина, препаратами прогестероном и другими лекарственными средствами (ЛС), до настоящего времени ни один из методов не относится к абсолютно эффективным и безопасным (Серов В. Н., Тютюнник В. Л., 2008).

При лечении угрозы преждевременных родов (УПР) важное значение имеют β 2-адреномиметики. Препараты данной группы применяют парентерально, главным образом при преждевременной родовой деятельности, при угрозе самопроизвольного аборта (с 16 недель беременности) и при гипертонусе матки. В тоже время оценка эффективности β 2-адреномиметиков вызывает определенные затруднения ввиду субъективности определения угрозы прерывания, на основании которой принимается решение о продлении курса или снижении дозировок с постепенной отменой препаратов, – «тонус матки при осмотре». Кроме того, применение β 2-адреномиметиков часто сопряжено с развитием нежелательных реакций (НР), а сама токолитическая терапия не всегда достаточна для приостановки преждевременных родов и пролонгации беременности и может не улучшать перинатальные исходы (de Heus R., 2009).

Одним из генов-кандидатов, полиморфизм которого может быть связан с патогенезом преждевременных родов является ген β 2-адренорецептора ADRB2, стимуляция данных рецепторов в матке и шейке матки эндогенными и экзогенными агонистами вызывает расслабление гладкой мускулатуры органа.

Согласно результатам исследований, генетические варианты нуклеотидов гена ADRB2, кодирующих аминокислоты в позициях 16 и 27, ассоциируются с различным риском спонтанных преждевременных родов и, возможно, с различной восприимчивостью организма к терапии препаратами β 2-адреномиметиков (Landau R. et al., 2002, 2005; Ozkur M. et al., 2002; Doh K. et al., 2004; Crider K. S. et al., 2005; Kunihiko D. et al., 2004; Ríos J. C. et al., 2008; Russell S. et al., 2011; Park J. Y. et al., 2014). В частности, носительство гомозиготного варианта Arg/Arg

в 16-м кодоне гена ADRB2, в значительной мере ассоциируется с предотвращением спонтанных преждевременных родов.

Ассоциация между генотипом ADRB2 и преждевременными родами может предполагать различную реактивность женщин на циркулирующие в организме эндогенные катехоламины или фармакологические стимуляторы β 2-адренорецепторов.

Однако, в настоящее время нельзя считать решенным вопрос о наличии и степени ассоциации полиморфизмов гена ADRB2 с вероятностью преждевременных родов.

Необходимо проведение дальнейших исследований, с учетом уже известных предикторов прерывания беременности.

Степень разработанности темы исследования

Для подтверждения данной гипотезы, а в дальнейшем и внедрения подобных подходов, нами было проведено фармакогенетическое исследование у популяции беременных с УПР мегаполиса с целью индивидуализации подходов к применению β 2-адреномиметиков.

Landau R. и соавторы при изучении ассоциации полиморфизма Gly16Arg гена ADRB2 с эффективностью и безопасностью гексопреналина у беременных с преждевременной родовой деятельностью установили, что у женщин с генотипом 16Arg/Arg наблюдается более успешное пролонгирование беременности, а также более хорошие перинатальные исходы, по сравнению с носительницами генотипов 16GlyGly или 16ArgGly (Landau R. et al., 2005). Тем не менее, исследователи полагают, что эти результаты нельзя считать окончательными в связи малым количеством беременных с генотипом 16Arg/Arg.

К сожалению, исследования по изучению фармакогенетики β 2-адренорецепторов при токолитической терапии стимуляторами β 2-адренорецепторов малочисленны. Для подтверждения данной гипотезы, а в дальнейшем и внедрения подобных подходов российского здравоохранения, нами было проведено фармакогенетическое исследование у популяции беременных с УПР мегаполиса с целью индивидуализации подходов к применению β 2-адреномиметиков.

Цель и задачи работы

Цель исследования – оценить значение полиморфизма гена ADRB2 для персонализированной подход к оценке эффективности и безопасности токолитической терапии β 2-адреномиметиками у беременных с угрозой преждевременных родов на основе клинических и фармакогенетических параметров.

Для достижения цели исследования были сформулированы следующие **задачи**:

1. Изучить клинико-anamнестическую характеристику и выявить факторы риска у пациенток с угрозой преждевременных родов
2. Оценить эффективность и безопасность токолитической терапии гексопреналином у беременных с угрозой преждевременных родов.
3. Выявить частоту встречаемости носительства аллелей и генотипов полиморфных маркеров Gly16Arg и Gln27Glu гена ADRB2 у беременных с угрозой преждевременных родов.
4. Исследовать ассоциации клинических факторов, включая перинатальные исходы при проведении токолитической терапии гексопреналином у беременных с угрозой преждевременных родов, с носительством различных аллелей и генотипов полиморфизмов Gly16Arg и Gln27Glu гена ADRB2.
5. Разработать подход к повышению эффективности и безопасности токолитической терапии β 2-адреномиметиками у беременных с угрозой преждевременных родов на основе клинических и фармакогенетических факторов.

Научная новизна

Впервые проведено исследование роли дополнительных клинических факторов здоровья беременной женщины и жизнеспособности плода, способствующих развитию угрозы преждевременных родов, а также генетических факторов, ассоциированных с угрозой преждевременных родов, и значимых в оценке эффективности и безопасности токолитической фармакотерапии гексопреналином у беременных с УПР.

Впервые в популяции определены частоты аллелей и генотипов полиморфных маркеров Gly16Arg и Gln27Glu гена ADRB2 у беременных с УПР и подтверждено различие в соотношении аллелей полиморфизма Gly16Arg у женщин с данным состоянием.

Впервые в популяции беременных с УПР оценена эффективность и безопасность токолитической фармакотерапии гексопреналином с учетом различных генотипов по полиморфным маркерам Gly16Arg и Gln27Glu гена ADRB2.

Теоретическая и практическая значимость работы

Преждевременные роды являются причиной повышенной смертности новорожденных, а также часто способствуют инвалидизации младенцев. Несомненно, по мере снижения рождаемости и улучшения медицинского обслуживания в плане родовспоможения, происходит ослабление естественного отбора, что способствует дальнейшему неуклонному ухудшению

здоровья родильниц и увеличению доли ПР. Роль токолитической терапии сейчас чрезвычайно важна и будет увеличиваться в дальнейшем. Токолитическая терапия позволяет пролонгировать беременность до момента физиологического созревания плода или, по крайней мере, дающей отсрочку для проведения профилактики респираторного дистресс-синдрома (РДС) плода, что повышает жизнеспособности плода при ПР. Для оптимизации фармакотерапии токолитиками необходимо применение персонализированного подхода, объединяющего знания механизмов действия препаратов и роли как внешних, так и внутренних факторов, модулирующих эффективность и безопасность применяемого лечения. Изучаемые в работе полиморфизмы гена ADRB2 могут применяться в практической медицине для оценки эффективности токолитической терапии у беременных с УПР.

Методология и методы исследования

Работа выполнена в клинике акушерства и гинекологии имени В.Ф. Снегирева ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный университет им И.М.Сеченова» (Сеченовский Университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также в отделе Персонализированной медицины и клинической фармакогенетики Центра клинической фармакологии ФГБУ «Научного центра экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Для реализации поставленной цели в диссертационную работу включены проспективное клиническое и фармакогенетическое исследования, проведенные автором в период с 2016 по 2020 гг.

До начала исследования протокол, форма информированного согласия на основе ознакомления и другая информация были рассмотрены локальным этическим комитетом при ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный университет им И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Был получен подписанный документ с указанием даты, подтверждающий одобрение локальным этическим комитетом протокола исследования и формы согласия пациента (№16-19 от 03.02.2020г.).

В проспективное исследование «случай–контроль» по изучению токолитической терапии включено 60 беременных с УПР, получавших лечение гексопреналином, которые составили основную группу. Контрольную группу составили 60 беременных без УПР, родившие в срок >37 недель и не получавшие токолитической терапии.

Отбор пациенток для исследования проводился согласно критериям включения / не включения.

Критерии включения в исследование: одноплодная беременность; срок беременности от 22 до 36 недель; возраст ≥ 18 лет; принадлежность к европеоидной расе; подписание информированного согласия на участие в исследовании; наличие регулярных (хотя бы 2 в течение 10 мин) схваток в сроке 22–36 недель гестации; укорочение длины шейки матки $< 2,5$ см по данным ультразвукового исследования влагалищным датчиком и/или динамические изменения шейки матки (укорочение и сглаживание по данным влагалищного исследования), открытие маточного зева менее 3 см; токолитическая терапия β_2 -адреномиметиком гексопреналином (применялся препарат гинипрал).

Критерии не включения в исследование: многоплодная беременность; беременность после ВРТ; преждевременный разрыв плодных оболочек; пороки развития матки; значимые пороки развития у плода; тяжелая преэклампсия; беременные на иммуносупрессивной терапии (в связи с трансплантированными органами или активацией аутоиммунного заболевания); генетические формы тромбфилии, АФС, острое инфекционное заболевание или активация хронической инфекции с подъемом температуры выше $37,5^\circ\text{C}$; тяжелые экстрагенитальные заболевания; выявленные противопоказания к назначению гексопреналина (гиперчувствительность, прежде всего связанная с бронхиальной астмой или с гиперчувствительностью к сульфитам; преждевременная отслойка плаценты; маточное кровотечение; инфекции эндометрия; сердечно-сосудистые заболевания с тахикардией; миокардит; пороки сердца; кардиомиопатии; ишемическая болезнь сердца; артериальная гипертензия; тяжелые заболевания печени и почек; тиреотоксикоз; закрытоугольная глаукома; I триместр беременности).

Беременным с верифицированным диагнозом УПР, включенным в исследование, гексопреналин назначался по схеме в соответствии с клиническими рекомендациями МЗ РФ с максимальной суточной дозой 430 мкг.

Определение степени достоверности причинно-следственной связи между развитием нежелательных реакций (НР) и применением лекарственного препарата в нашей работе оценивалась по шкале Наранжо.

Всем пациенткам, включенным в исследование согласно критериям включения и не включения, было проведено генотипирование по выявлению полиморфизмов rs1042713 (46A>G, Gly16Arg) и rs1042714 (79C>G, Gln27Glu) гена *ADRB2*. Тотальную ДНК из крови выделяли с помощью набора с сорбентом силикагеля «АмплиПрайм ДНК-сорб-В» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия. Полиморфизмы Gly16Arg (rs1042713 G>A) и Gln27Glu (rs1042714 C>G) гена *ADRB2* выявлялись с помощью метода ПЦР–ПДРФ (полимеразная цепная реакция – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов).

Положения, выносимые на защиту

1. Дифференцированный подход к ведению беременных с УПП основанный на оценке клинико-anamнестических данных и определения аллелей и генотипов гена ADRB2 позволяет существенно повысить эффективность токолитической терапии β 2-адреномиметиком, при этом отмечается большая эффективность гексопреналина у носительниц аллеля 16Arg, чем у беременных с генотипом 16Gly.

2. Наличие генотипов 16Gly27Glu+16Gly27Glu, 16Gly27Glu+16Arg27Gln и 16Gly27Gln+16Gly27Gln может ассоциироваться с увеличением частоты ПР на 49%, по сравнению с носительницами генотипов 16Arg/Arg+27Gln/Gln, 16Arg/Gly+27Gln/Gln и 16Gly/Gly+27Glu/Gln.

3. Тестирование на полиморфизм гена ADRB2 может стать инструментом профилактики угрозы преждевременных родов. Наличие протективного гена 16 Arg коррелирует со снижением частоты госпитализации и временем пребывания в стационаре беременных с УПП

Степень достоверности и апробация результатов

Исследование выполняли с использованием современных молекулярно-генетических методов, с верификацией результатов путем выборочного секвенирования. Использовались проверенные контрольные образцы ДНК. Клинические и лабораторно-инструментальные методы обследования беременных, включенных в исследование, проводились на клинической базе, в соответствии с современными стандартами оказания медицинской помощи. На всех этапах исследования соблюдался контроль качества.

Основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на научно-практических конференциях: на V съезде фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств» (Ярославль, 14-18 мая 2018); на XIX Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя» (Москва, 26-28 сентября 2018); на II региональном научно-образовательном форуме акушеров-гинекологов с международным участием (Москва, 9-10 ноября 2018); на Российской научно-практической конференции с международным участием «Снегиревские чтения» (Москва, 27-28 февраля 2018).

Диссертационная работа доложена, обсуждена и одобрена на совместной научной конференции кафедр, ФГАОУ ВО Первого МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) — протокол № 5 от 29.12.2021 г.

Внедрение результатов исследования

Фармакогенетическое тестирование внедрено в лечебный процесс ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Личный вклад автора в работу

Автор лично и в полной мере анализировал данные отечественной и зарубежной литературы по изучаемой тематике, принимал участие в лечебном процессе, проводил забор биоматериала для генетического анализа, осуществлял выделение ДНК из образцов и генотипирование, статистическую обработку данных и интерпретацию полученных результатов. Также автор принимал участие в работе над публикациями, наряду с руководителями и другими соавторами.

Публикации

По результатам исследования автором опубликовано 9 работ, в том числе 7 статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук (из них 1 статья в научном издании, индексируемом Scopus).

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 126 листе и состоит из введения, обзора литературы, результатах собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций. Работа содержит 17 таблиц, 6 рисунков. Библиографический указатель содержит 149 наименований, в том числе 31 отечественных и 117 зарубежных источника.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Проведено проспективное клиническое исследование 60 беременных с УПР (основная группа). Контрольную группу составили 60 женщин с физиологически протекающей беременностью

Беременные основной и контрольной групп достоверно не различались по возрасту и антропометрическим показателям (Таблица 1), по числу рожденных детей и по доле женщин с прерывание беременности в анамнезе.

Таблица 1 – Возраст и антропометрические показатели у беременных, получавших токолитик гексопреналин, а также у контрольной группы

<i>Индивидуальные особенности родильниц</i>	<i>Группа</i>		<i>Критерий Манна – Уитни</i>
	<i>Основная (n = 60)</i>	<i>Контрольная (n = 60)</i>	
Возраст, лет	31±5,1	30±3,6	<i>p = 0,5222*</i>
Рост, см	167±4,5	166±5,9	<i>p = 0,3901*</i>
Масса тела, кг	66±9,6	68±11,5	<i>p = 0,5093*</i>
Индекс массы тела, кг/м ²	24,7±4,2	23,9±3,5	<i>p = 0,7795*</i>

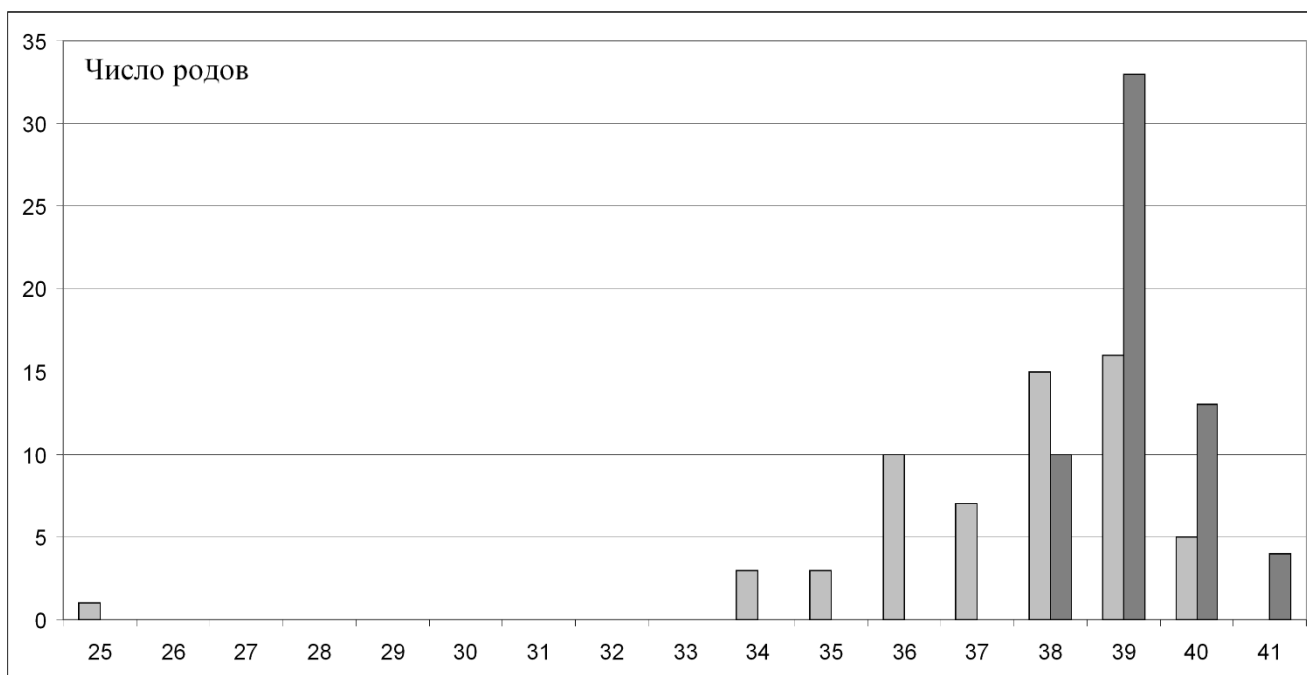
* – достоверных различий нет

Наблюдалась тенденция к развитию УПР при дефиците массы тела: у 5 женщин из 6 с ИМТ<18,5 которым потребовалось токолитическое лечение (критерий χ^2 $p=0,094$).

В группе беременных с УПР количество потерь плода было статистически значимым по сравнению со основной группой (20% в основной и 7% в контрольной группах).

Не было выявлено достоверной статистической взаимосвязи между samotической патологией и УПР. В группе женщин, принимавших токолитическую терапию, основными осложнениями беременности были симптомы, связанные с УПР. Кроме того, встречалась анемия беременных легкой и средней степени, АИТ.

Средний гестационный срок родов среди женщин контрольной группы составил 39±0,6 недель, среди женщин основной группы — 38±5,1 недель. В контрольной группе не было случаев ПР, тогда как в группе беременных принимавших по показаниям гексопреналин они произошли у 21 женщины (35%). Самые ранние роды среди женщин с УПР были на 25-ой неделе, самые поздние — на 40-ой (Рисунок 1). Различия по гестационному сроку родов в группе женщин с УПР и в контрольной группе статистически значимы (критерий χ^2 , $p<0,01$).



*Обозначения: светлые столбики – основная группа; темные столбики – контрольная группа

Рисунок 1 – Гестационный срок родов у женщин, получавших токолитическую терапию, в контрольной группе

Таким образом, у 65% женщин основной группы мало отличается медиана срока родов, однако в группе женщин с УПР срок родов характеризуется большим разбросом значений.

В нашем исследовании большинство родов во всех группах произошло через естественные родовые пути, однако в группе женщин с УПР статистически достоверно чаще проводилось кесарево сечение — 32%, по сравнению с 1,7% в контрольной группе ($p=0,000031$). Чаще всего показания к проведению кесарево сечения было узкий таз и рубец на матке.

Полученные нами результаты свидетельствуют о высокой эффективности токолитической терапии гексопреналином, позволивший пролонгировать их срок в 60% наблюдений до референсных значений нормы.

При изучении параметров и жизнедеятельности новорожденных было установлено, что масса тела новорожденных в контрольной группе в среднем достоверно выше, чем в группе женщин, принимавших токолитическую терапию по показаниям (Таблица 2).

Таблица 2 – Клиническая характеристика новорожденных от матерей основной и контрольной групп

Клиническая характеристика новорожденных	Группа		p-значение
	Основная (n=60)	Контрольная (n=60)	
Масса тела, г	3090 (2900–3385)	3250 (3070–3530)	<u>p=0,004</u>
Рост, см	51 (50–51)	50 (49,5–51)	p=0,772
Апгар на 1-ой минуте, баллы	8 (7–8)	8 (8–8)	<u>p=0,0142</u>
Апгар на 5-ой минуте, баллы	8 (8–8)	9 (8–9)	<u>p=0,00058</u>
Индекс Пондерала	2,38 (2,26–2,55)	2,51 (2,42–2,67)	p=0,203

*Даны значения медиан, в скобках указаны квантили (Q_1 – Q_3)

Для сопоставления количественных характеристик использовался односторонний критерий Манна–Уитни; для сопоставления баллов по шкале Апгар — критерий χ^2 .

В Таблице 3 приведены данные о НР у беременных, применяющих токолитическую терапию. Нами выявлено два типа НР, наблюдавшиеся при применении гексопреналина: тахикардию, зафиксированную у 47% беременных (27 женщин), и головную боль, развившуюся у 12% (5 женщин). У одной беременной наблюдалось обе НР: и тахикардия, и головная боль. Было установлено, что частота появления тахикардии не связана с дозой гексопреналина (430 мкг./сут.). Так, доля пациенток с тахикардией при различных дозировках токолитика оставалась неизменной. Головная боль наблюдалась у беременных намного реже.

Мы провели генетическое тестирование беременных с УПР и беременных контрольной группы по двум однонуклеотидным полиморфизмам гена *ADRB2*, Gly16Arg и Gln27Glu.

Таблица 3 – Нежелательные реакции у беременных получающих гексопреналин для предотвращения угрозы преждевременных родов

Доза гексопреналина	Проявление нежелательных реакций		Отсутствие НР	Критерий χ^2 с поправкой Йейтса
	Тахикардия	Головная боль		
430 мкг	27 (45%)	5* (9%)	28 (46%)	p = 0,862

* – у одной беременной наблюдались обе НР: и тахикардия, и головная боль

В таблице (Таблица 4) приведены частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма Gly16Arg гена *ADRB2* в основной и контрольной группах, а также результаты проверки их соответствия частотам встречаемости генотипов, рассчитанным с помощью уравнения Харди–Вайнберга.

Таблица 4 – Проверка соответствия наблюдающихся частот встречаемости генотипов полиморфизма Glee16Argo гена ADRB2 теоретическим, рассчитанным на основании закона Харди – Вайнберга

Аллель / генотип	Частоты встречаемости аллелей / число носителей генотипов	Число генотипов рассчитанное	χ^2
Основная группа			
16Arg	0,26		
16Gly	0,74		
16Arg/Arg	4	4,0	
16Arg/Gly	23	23,1	$p = 1$
16Gly/Gly	33	32,9	
Контрольная группа			
16Arg	0,40		
16Gly	0,60		
16Arg/Arg	8	9,6	$p = 0,7958$
16Arg/Gly	32	28,8	
16Gly/Gly	20	21,6	

Установленная частота встречаемости аллеля 16Arg гена *ADRB2* в группе с УПР составила 26%, а в контрольной— 40%. При этом в каждой из групп наблюдалось соблюдение закона Харди–Вайнберга. При сопоставлении частот встречаемости аллелей обеих групп, мы обнаружили, что при нормальном течение беременности частота аллеля 16Arg гена *ADRB2* в 1,5 раза выше, чем у пациенток с УПР, получавших для пролонгации беременности гексопреналин. Данный результат является достоверным (χ^2 с поправкой Йейтса, $p=0,028$).

При сопоставлении данных было обнаружено, что частоты генотипов полиморфизма 16Arg/Gly гена *ADRB2* также достоверно различаются ($p=0,0499$) (Рисунок 2). При этом частота генотипа 16Arg/Arg у беременных с УПР составила 6,7% (4 женщины), что было в 2 раза ниже, чем в контрольной группе, — 13,3% (8 женщин) ($p=0,833$). Кроме того, у беременных с УПР была достоверно более высокая частота «противоположного» гомозиготного состояния, — 16Gly/Gly (55% против 33,4%). Дополнительный анализ позволил установить, что наиболее существенным фактором выступает именно генотип 16Gly/Gly — различия по частоте встречаемости между выборками достигают 1,65 раза (χ^2 $p=0,017$; с поправкой Йейтса $p=0,027$). Таким образом, мы пришли к заключению, что носительство аллеля 16Gly, а также генотипа

16Gly/Gly ассоциированы с повышенной УПР, тогда как носительство генотипа 16Arg/Arg и аллеля 16Arg выступают протективными признаками, связанными со сниженной УПР.

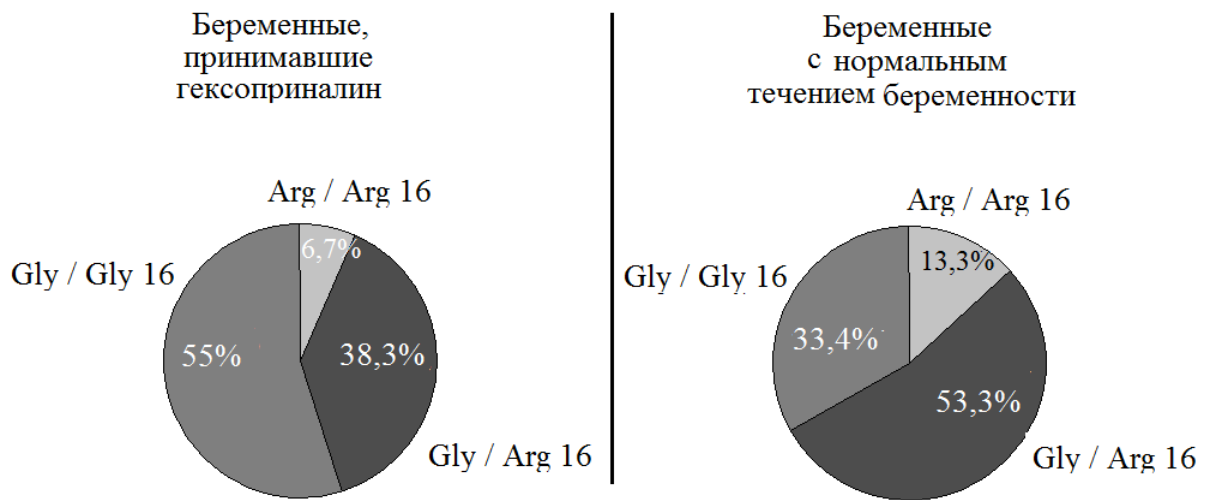


Рисунок 2 – Распределение частот генотипов полиморфизма Gly16Arg гена *ADRB2* в группах, беременных получавших и не получавших гексопреналин (критерий χ^2 ; $p = 0,0499$)

На Рисунке 3 и в Таблице 5 приведены частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма Gln27Glu гена *ADRB2* у беременных с УПР и беременных контрольной группы, а также результаты проверки соответствия наблюдающихся в выборках частот генотипов, рассчитанных с помощью уравнения Харди–Вайнберга.

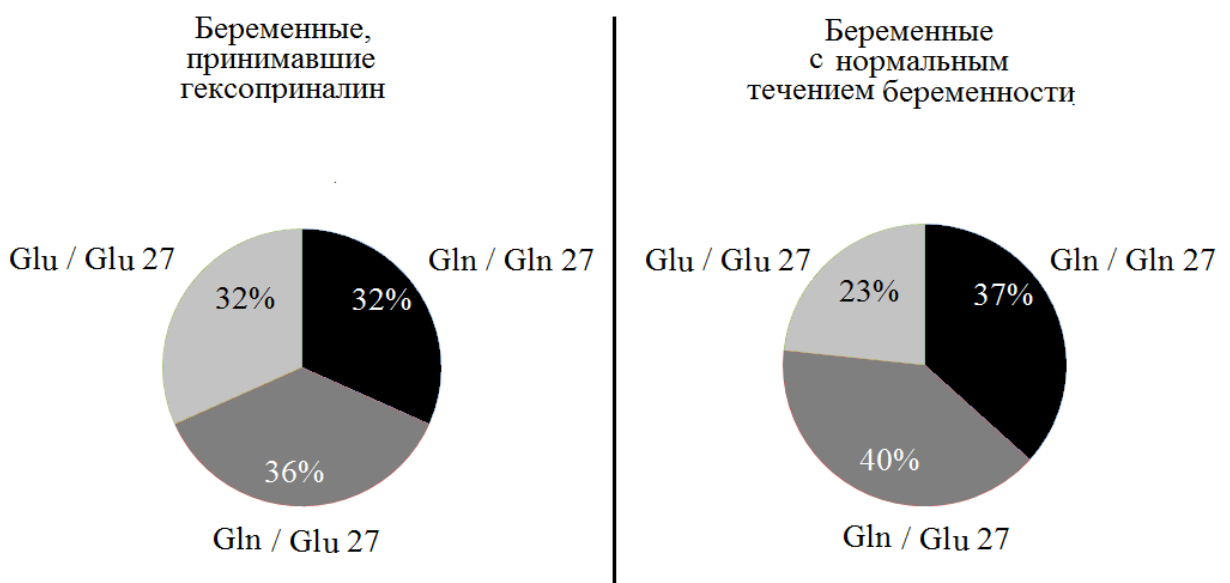


Рисунок 3 – Распределение частот генотипов полиморфизма Glu27Gln гена *ADRB2* в основной и контрольной группах беременных (критерий χ^2 ; $p = 0,587$)

Таблица 5 – Проверка соответствия наблюдающихся частот генотипов полиморфизма Gln27Glu гена *ADRB2* теоретическим, рассчитанным на основании закона Харди – Вайнберга

Аллель / генотип	Частоты встречаемости аллелей / число носителей генотипов	Число генотипов рассчитанное	χ^2	<i>p</i>
Основная группа				
27Gln	0,50			
27Glu	0,50			
27Gln/Gln	19	15,0	2,1719	0,3375
27Gln/Glu	22	30,0		
27Glu/Glu	19	15,0		
Контрольная группа				
27Gln	0,57			
27Glu	0,43			
27Gln/Gln	22	19,5	0,9269	0,6291
27Gln/Glu	24	29,4		
27Glu/Glu	14	11,1		

Сопоставив частоты аллелей и генотипов, формируемых полиморфизмом Gln27Glu гена *ADRB2*, мы обнаружили, что он, в отличие от полиморфизма Gly16Arg, не ассоциирован с предрасположенностью к УПР (частоты аллелей: $p=0,820$; частоты генотипов: $p=0,587$).

Колебания частоты встречаемости минорного аллеля 27Glu полиморфизма Gln27Glu существенно выше, чем минорного аллеля 16Gly полиморфизма Gly16Arg гена *ADRB2*. Так, данный аллель у европеоидов встречается с частотой 41%, у монголоидов 7%, у негроидов 14% (данные из базы <https://www.ensembl.org>). Таким образом, несмотря на неравновесное сцепление обоих полиморфизмов, картина распределения их частот в разных популяциях отнюдь не дублирует друг друга.

Известно, что полиморфизмы Gly16Arg и Gln27Glu гена *ADRB2* наследуются не независимо, а сцеплено, в виде устойчивых гаплотипов. В связи с этими знаниями, мы сделали предположение о гаплотипах, встречающихся в нашем исследовании. У 120 протестированных лиц (суммарно в обеих группах) всегда генотипу 16GlyGly соответствовал генотип 27GluGlu (33 человека), а генотипу 16ArgArg — генотип 27GlnGln (12 человек). Соответственно, мы наблюдаем известное для европеоидной популяции наследование трех устойчивых гаплотипов:

16Arg+27Gln, 16Gly+27Gln и 16Gly+27Glu, тогда как гаплотип 16Arg+27Glu в нашем исследовании отсутствует.

В Таблице 6 приведены показатели, связанные с родами, а также НР, у женщин с различными генотипами *ADRB2*.

У беременных, получавших гексопреналин, преждевременные роды произошли в 35% случаев; в 65% удалось пролонгировать роды до срока более 37 недель. Только в трех случаях (два в группе получающих гексопреналин и один — в контрольной группе) масса новорожденного была меньше 2500 г. Кесарево сечение применяли в данной группе в 31%, из которых 1/3 пришлось на срок ранее 37 недель.

Таблица 6 – Влияние генотипа *ADRB2* на особенности родового акта и НР у пациенток основной и контрольной групп

Генотип <i>ADRB2</i> матери	Группа наблюдения	Кесарево сечение	Преждевременные роды	НР на гексопреналин
16Gly27Glu +16Gly27Glu (I/I)	Основная, n = 18	12 (66%)	9 (50%)	68% (57% тахикардия; 11% головная боль)
	Контрольная, n = 14	–	–	–
16Arg27Gln + 16Gly27Glu (I/II)	Основная, n = 17	3 (18%)	7 (41%)	53% (тахикардия)
	Контрольная, n = 21	–	–	–
16Arg27Gln +16Arg27Gln (II/II)	Основная, n = 5	–	–	50% (тахикардия)
	Контрольная, n = 8	1 (12,5%)	–	–
16Gly27Glu+ 16Gly27Gln (I/III)	Основная, n = 4	–	–	40% (тахикардия)
	Контрольная, n = 3	–	–	–
16Arg27Gln +16Gly27Gln (II/III)	Основная, n = 8	–	–	33% (головная боль)
	Контрольная, n = 11	–	–	–
16Gly27Gln +16Gly27Gln (III/III)	Основная, n = 8	4 (50%)	5 (62%)	44% (тахикардия)
	Контрольная, n = 3	–	–	–
<i>p</i> *	–	<i>p</i> < 0,00001	–	–

* – кесарево сечение достоверно чаще проводилось в основной группе пациенток (суммарно по всем генотипам).

Статистические расчеты было невозможно выполнить при количестве женщин в подгруппах менее 5.

Носительство гаплотипов предположено на основании литературных данных, согласно которым в европеоидной популяции гаплотип 16Arg27Glu отсутствует (Cagliani R. et al., 2009)

Преждевременные роды наблюдались у женщин с генотипом 16Gly27Glu+16Gly27Glu; 16Gly27Glu+16Arg27Gln; 16Gly27Gln +16Gly27Gln (50%, 41% и 62% соответственно), и в этих же подгруппах наиболее часто врачи прибегали к кесареву сечению (66%, 18% и 50% соответственно). У носительниц генотипов 16Arg27Gln+16Arg27Gln; 16Gly27Glu+16Gly27Gln; 16Arg27Gln+16Gly27Gln ПР не наблюдались. Возможно, определенную протективную роль в данном случае играет аллель 16Arg, ассоциированный, как показано нами ранее, с УПР, однако только данным фактором объяснить ПР не получается. Из 30 женщин с УПР, носительниц

аллеля 16Arg, ПР произошли у 7 (23%), а у 30 женщин с УПР, не имеющих в генотипе аллеля 16Arg (генотип 16Gly/Gly), они встречались в 2 раза чаще, — у 14 беременных (47%), — что, однако, вследствие недостаточной величины выборки, не позволяет сделать однозначное заключение (χ^2 : $p=0,058$).

НР на гексопреналин возникали у 53% беременных. Наиболее часто развивалась тахикардия (47%) значительно реже пациентки отмечали головную боль (6%). Частота возникновения НР была значительной у носителей всех генотипов гена *ADRB2*, участие полиморфизма гена в этом процессе недостоверно.

В Таблице 7 приведена зависимость перинатальных исходов в основной в зависимости от генотипа *ADRB2*.

Мы установили, что масса новорожденных у женщин с УПР достоверно ниже, чем у женщин контрольной группы ($p=0,0122$). Также достоверными были различия у новорожденных основной и контрольной групп по количеству баллов, набранных по шкале Апгар. Для подсчета критерия χ^2 подсчитывалось число новорожденных с Апгаром ≤ 7 баллов и ≥ 8 баллов. Значения Апгар были достоверными как на 1-ой минуте ($p=0,0156$), так и на 5-ой ($p=0,0005$). Тем не менее, разделение группы на подгруппы по генотипам уменьшает размеры выборок, что не позволяет вычленить генотипы матерей, особенно влияющие на массу новорожденного и/или Апгар. Индекс Пондерала у женщин основной и контрольной группы достоверно не различался.

Таблица 7 – Влияние генотипа *ADRB2* на перинатальные исходы основной и контрольной групп

Генотип <i>ADRB2</i> матери	Группа	Прежде- времен-но рожденны х	Масса тела новорожденн ого, грамм	Рост новорожден ного, см	Шкала Апгар (баллы)		Индекс Пондерала
					1 мин	5 мин	
16Gly27Glu +16Gly27Glu (I/I)	Основная, n = 18	9 (47%)	2975 (2800–3570)	49,5 (49–51)	8 (7,5–8)	8 (8–9)	2,52 (2,4–2,56)
	Контрольная, n = 14	–	3355 (3141–3745)	50,5 (49,5–52)	8 (7–8)	8 (7–9)	2,51 (2,42–2,73)
Односторонний критерий Манна – Уитни		–	$p = 0,029^*$	$p = 0,156$	$p = 0,773$	$p = 0,568$	$p = 0,865$
16Gly27Glu +16Arg27Glu (I/II)	Основная, n = 17	7 (41%)	3370 (2960–3400)	51 (50–51)	8 (7–8)	8 (8–8)	2,54 (2,3–2,56)
	Контрольная, n = 21	–	3180 (2940–3400)	50 (49–51)	8 (8–8)	9 (8–9)	2,5 (2,38–2,66)
p		–	$p = 0,245$	$p = 0,047^*$	$p = 0,01^*$	$p = 0,564$	$p = 0,444$
16Arg27Glu +16Arg27Glu (II/II)	Основная, n = 5	–	3300 (3200–3400)	50 (50–52)	8 (8–8)	8,5 (8–9)	2,56 (2,4–2,56)
	Контрольная, n = 8	–	3570 (3360–3670)	51 (50–53,5)	8 (8–8)	9 (8–9)	2,53 (2,39–2,63)

Продолжение Таблицы 7

<i>p</i>		–	–	–	–	–	–
16Gly27Gln	Основная, n = 4	–	3530 (3250–3530)	53±0,5	8 (8–8)	8 (8–8)	2,7 (2,6–2,7)
16Gly27Gln (I/III)	Контрольная, n = 3	–	3250 (3200–3300)	50±0,5	8 (8–8)	9 (8–9)	2,24 (2,2–2,28)
<i>p</i>		–	–	–	–	–	–
16Arg27Gln	Основная, n = 8	–	3285 (2900–3670)	52,5 (51–54)	8 (8–8)	8 (8–8)	2,265 (2,2–2,33)
+16Gly27Gln (II/III)	Контрольная, n = 11	–	3140 (3040–3340)	50 (50–50)	8 (7–8)	9 (8–9)	2,46 (2,4–2,5)
<i>p</i>		–	<i>p</i> = 0,460	<i>p</i> = 0,006*	<i>p</i> = 0,243	–	<i>p</i> = 0,109
16Gly27Gln	Основная, n = 8	5 (56%)	2770 (2220–3030)	49,5 (47,5–51)	7 (6–7)	8 (7–8)	2,2 (1,73–2,4)
+16Gly27Gln (III/III)	Контрольная, n = 3	–	3250 (2870–3250)	53 (48–53)	8	9 (8–9)	2,34 (2,2–2,34)
<i>p</i>		–	<i>p</i> = 0,460	<i>p</i> = 0,006*	<i>p</i> = 0,243	–	<i>p</i> = 0,109
16Gly27Gln	Основная, n = 8	5 (56%)	2770 (2220–3030)	49,5 (47,5–51)	7 (6–7)	8 (7–8)	2,2 (1,73–2,4)
+16Gly27Gln (III/III)	Контрольная, n = 3	–	3250 (2870–3250)	53 (48–53)	8	9 (8–9)	2,34 (2,2–2,34)
<i>p</i>		–	–	–	–	–	–
<i>p</i> суммарно по всем генотипам		–	<i>p</i> = 0,0122*	<i>p</i> = 0,291	<i>p</i> = 0,0156*	<i>p</i> = 0,0005*	<i>p</i> = 0,184

* – достоверные различия.

Статистические расчеты было невозможно выполнить при количестве женщин в подгруппах менее 5

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поскольку преждевременные роды являются причиной повышенной смертности новорожденных и/или часто способствуют инвалидизации младенцев, то тщательная диагностика факторов риска преждевременных родов является неотъемлемой составляющей современного ведения беременных (Собо Т. et al, 2020; Зайдиева и др., 2009). Однако в проведенном исследовании не все факторы риска получили подтверждение, а именно, по ИМТ: наблюдалась лишь тенденция к развитию УПР при дефиците массы тела, при этом только у 5 женщин из 6 с ИМТ<18,5 потребовалось токолитическое лечение. По отягощенному акушерскому анамнезу: число выкидышей в группе беременных с УПР было очень высоким: в 20% случаев, при этом у 6,7% женщин было по два или более выкидыша. По сопутствующей патологии: в группе женщин, принимавших токолитическую терапию, основными осложнениями беременности были симптомы, связанные с УПР, при этом встречалась анемия беременных легкой и средней степени, а также АИТ. Выявленные нами дополнительные факторы, в частности, из перенесенных заболеваний детские инфекции в анамнезе логично дополняют ранее опубликованные факторы в разделе «инфекции».

Роль токолитической терапии сейчас чрезвычайно важна и будет увеличиваться в дальнейшем. Анализ 20 рандомизированных контролируемых исследований применения β 2-адреномиметиков, в том числе гексопреналина, для лечения женщин с УПР позволил установить, что β 2-адреномиметики помогают отсрочить роды и не оказывают влияния на перинатальную и неонатальную смертность (Астахова, Лепяхин, 2008), однако не лишены побочных эффектов (Neilson J. P. et al., 2014). Проведенное нами исследование подтвердило, что токолитическая терапия, в частности, гексопреналином в виде моно- или комбинированной терапии, позволяет пролонгировать беременность более 37 недель у большинства беременных с УПР, причем с ограниченным числом дозозависимых побочных реакций (тахикардия и головная боль), и таким образом, улучшает перинатальные исходы.

Несмотря на то, что генетические факторы, связанные с ПР, остаются малоизученными, в настоящее время продолжаются исследования в поисках аллелей, носительство которых влияет на риск развития ПР. В целом геномные открытия в области ПР отстают от прогресса в отношении многих других многофакторных заболеваний и признаков. Сложность исследования этих факторов обусловлена многофакториальностью генеза данного состояния, и исследователи при изучении генетических факторов должны максимально полно исключить из выборки всех пациенток с УПР и/или со спонтанными ПР, причины которых ясны и являются негенетическими.

Нам удалось показать роль полиморфизма Gly16Arg гена *ADRB2* в патогенезе УПР и в эффективности токолитической терапии гексопреналином. Возможно, что последнее заключение может быть следствием первого. В нашем исследовании у носителей аллеля 16Arg не только реже наблюдается УПР, но и при возникновении данного состояния реже наблюдаются собственно ПР. Возможно, что тенденция к лучшей эффективности гексопреналина заключается непосредственно в изменении физиологии β_2 -адренорецептора, являющегося молекулой-мишенью β_2 -адреномиметиков, посредством изменения экспрессии гена *ADRB2*. Для каждого из полиморфизма 16Arg и 16Gly в научной литературе имеются определенные доказательства, так что данное направление по-прежнему привлекательно как с практической, так и с теоретической точки зрения.

Мы показали отсутствие ассоциации полиморфизма Gln27Glu гена *ADRB2* как с состоянием УПР, частотой спонтанных ПР, так и с токолитическим лечением. Мы нашли в литературе редкие доказательства подобной связи (*Ozkur et al., 2002*), и не поддерживаем их, если только данное не объясняется этническими различиями.

Мы обнаружили отсутствие ассоциации полиморфизма гена *ADRB2* с безопасностью применения гексопреналина (частотой НР), и это согласуется с литературными данными.

ВЫВОДЫ

1. Дополнительными клиническими факторами риска развития угрозы преждевременных родов у беременных являются следующие: перенесенные детские инфекции в анамнезе ($p=0,037$); гестационный срок родов до 37 недель в анамнезе ($p<0,00001$); ухудшение физического и функционального состояния плода или аномалии родовой деятельности, подтвержденные снижением частоты самопроизвольных родов и, соответственно, увеличением частоты проведения кесарева сечения в анамнезе ($p=0,000031$);
2. Проведение токолитической терапии, как в виде монотерапии гексопреналином, так и в комбинации с другими препаратами, пролонгирует беременность до 34 недель у 98,3% и до срока более 37 недель у 65% беременных с угрозой преждевременных родов. Нежелательные реакции гексопреналина соответствуют класс-эффектам β_2 -агонистов, зависят от дозы и встречаются чаще в виде тахикардии (45%), реже головной боли (9%).
3. У беременных с угрозой преждевременных родов частота встречаемости минорного аллеля 16Arg полиморфизма Gly16Arg гена *ADRB2* составила 26% и минорного аллеля 27Glu полиморфизма Gln27Glu гена *ADRB2* – 50%; частота генотипа 16Arg/Arg составила 7% и генотипа 16Gly/Gly – 55%. При этом частота встречаемости генотипов полиморфизма 16Arg/Gly гена *ADRB2* была достоверно выше ($p = 0,0499$), частота встречаемости аллеля

16Arg - в 1,5 раза ниже ($p = 0,028$), а частота встречаемости генотипа 16Gly/Gly - в 1,65 раза выше ($p = 0,027$), чем у женщин с нормально протекающей беременностью.

4. Носительство аллеля 16Gly, а также генотип 16Gly/Gly ассоциированы с повышенной угрозой преждевременных родов (ОШ = 2,444; ДИ95% = 1,167–5,121), тогда как носительство аллеля 16Arg, выступает протективным признаком, связанным со сниженной угрозой преждевременных родов (ОШ = 0,409; ДИ95% = 0,195–0,857). При этом не обнаружено ассоциаций перинатальных исходов с генотипом матери.

5. Тенденция к большей эффективности гексопреналина у носительниц аллеля 16Arg: 23% преждевременных родов против 47% у пациенток с генотипом 16Gly/Gly ($p = 0,058$). У носительниц генотипов 16Arg27Gln+16Arg27Gln; 16Gly27Glu+16Gly27Gln и 16Arg27Gln+16Gly27Gln с УПР преждевременные роды не встречались ни разу ($n = 17$), тогда как у носительниц генотипов 16Gly27Glu+16Gly27Glu; 16Gly27Glu+16Arg27Gln; 16Gly27Gln+16Gly27Gln с УПР преждевременные роды произошли в 49% случаев ($n = 43$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При ведении беременных для оценки риска развития угрозы преждевременных родов врачу рекомендуется обращать внимание на перенесенные детские инфекции, сроки гестации предыдущих родов, помимо других факторов риска, указанных в клинических рекомендациях.
2. При угрозе преждевременных родов рекомендуется проведение токолитической терапии, в качестве моно- или комбинированной терапии, включая гексопреналин, которая способствует пролонгации беременности, что позволяет провести своевременную профилактику РДС плода.
3. Рекомендуем внести полиморфизмы Gly16Arg и Gln27Glu гена ADRB2 в перечень клинически значимых маркеров о генотипе, который может быть включен в генетический паспорт и быть доступен лечащему врачу на любом этапе ведения пациента.
4. Рекомендуем проводить генотипирование по полиморфным маркерам Gly16Arg и Gln27Glu гена ADRB2 на этапе планирования беременности у женщин с пр в анамнезе.
5. Генетическая информация может быть использована врачом для прогнозирования риска развития УПР: носители генотипа 16GlyGly в большей степени подвержены данной патологии, чем носители генотипов 16GlyArg и 16ArgArg, однако данная оценка риска УПР носит вероятностный характер.
6. Информация по носительству гаплотипов полиморфизмов Gly16Arg и Gln27Glu гена ADRB2 может быть использована врачом для оценки вероятности благоприятного исхода токолитической терапии и назначения соответствующего лечения, однако для этого должны быть проведены более масштабные исследования.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Сокова Е.А., Чилова Р.А., **Проклова Г.Ф.**, Мекша Ю.В., Демидова О.А. Особенности метаболизма лекарственных средств во время беременности. // Вестник современной клинической медицины. 2016. – Т.9. №5. – С 70-75.
2. **Проклова Г.**, Сокова Е., Чилова Р., Жукова Э., Трифонова Н., Ерошенко Е., Гончаренко Н. Факторы риска преждевременных родов // Врач. – 2017. – №8. – С. 28-29.
3. **Проклова Г.**, Сокова Е., Чилова Р., Жукова Э., Трифонова Н., Мурашко А. Токолитическая терапия β_2 -адреностимуляторами у женщин с преждевременными родами. // **Врач.** – 2017. – № 10. – С. 50-52.
4. Жукова Э., Сычев Д., Чилова Р., Трифонова Н., **Проклова Г.** Преждевременные роды: диагностика и лечение. // **Врач.** – 2018. – Т.29. №2. – С78-79.
5. Жукова Э., Чилова Р., Сычев Д., Трифонова Н., **Проклова Г.** Современный взгляд на риски развития преждевременных родов. // **Врач.** – 2018. – Т.29. № 1. – С. 14-15.
6. **Проклова Г.Ф.**, Чилова Р.А., Сокова Е.А., Казаков Р.Е. Влияние полиморфизма гена *ADRB2* на развитие преждевременных родов у женщин разных этнических групп. // **Архив акушерства и гинекологии имени В.Ф. Снегирева.** – 2020. – Т.7.№ 3. – С. 116-119.
7. **Проклова Г.Ф.**, Чилова Р.А., Сокова Е.А., Казаков Р.Е., Жукова Э.В., Акопов К.О. Токолитическая терапия гексопреналином у беременных с угрозой преждевременных родов: влияние на токолиз полиморфизма гена *ADRB2*. // **Врач.** –2021. – Т.32. № 9. – С.42-44.
8. **Проклова Г.Ф.**, Чилова Р.А., Сокова Е.А., Казаков Р.Е., Жукова Э.В., Акопов К.О., Побединская О.С. Эффективность и безопасность гексопреналина у беременных с угрозой преждевременных родов: влияние полиморфизма гена *ADRB2*. // **Врач.** – 2021. –32(8). – С.54-57.
9. **Проклова Г.Ф.**, Сокова Е.А., Казаков Р.Е., Чилова Р.А., Жукова Э.В., Акопов К.О. Полиморфизм гена *ADRB2* как предиктор преждевременных родов. // **Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.** – 2021. – Т.20. № 2. – С.5-12. [**Scopus**].

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии

ДИ₉₅ – 95% доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

НР – нежелательные реакции

ПДРФ – полиморфизм длин рестриционных фрагментов

ПР – преждевременные роды

ПЦР – полимеразная цепная реакция

УПР – угрожающие преждевременные роды