

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

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 и гинекология

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация

на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор
Чилова Раиса Алексеевна

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук, доцент
Сокова Елена Андреевна

Москва – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1. Преждевременные роды	14
1.2. Токोलитическая терапия и ее роль в профилактике и лечение преждевременных родов.....	22
1.3. Генетические факторы, связанные с увеличением риска развития преждевременных родов.....	31
1.3.1. Доказательства существования генетической предрасположенности к преждевременным родам.....	31
1.3.2. Гены воспаления: ген фактора некроза опухоли TNFA.....	33
1.3.3. Ген интерлейкина-1 β IL1B.....	34
1.3.4. Ген интерлейкина-6 IL6.....	34
1.3.5. Ген интерферона- γ IFNG.....	35
1.3.6. Гены, участвующие в синтезе и деградация межклеточного матрикса	35
1.3.7. Ген белка теплового шока 47	35
1.3.8. Роль митохондриального генома.....	36
1.3.9. Полногеномный поиск ассоциаций.....	36
1.3.10. Близнецовый метод.....	37
1.3.11. Полногеномное секвенирование экзома.....	38
1.4. β 2-Адреномиметики.....	39
1.5. Влияние полиморфизмов гена ADRB2, кодирующего β 2-адренорецепторы, на различные физиологические состояния организма	42
1.6. Гаплотипы гена ADRB2	44
1.7. Ассоциация полиморфизмов гена ADRB2, кодирующего β 2-адренорецепторы, с угрозой преждевременных родов.....	46
1.8. Эффективность применения β 2-адреномиметиков у беременных	50

1.9. Нежелательные реакции при применении β 2-адреномиметиков у беременных	51
1.10. Применение гексопреналина в качестве токолитического средства	52
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	55
2.1. Формирование групп пациентов.....	55
2.1.1. Место выполнения работы.....	55
2.1.2. Критерии включения и не включения в исследование	55
2.1.3. Лечение.....	57
2.2. Методы исследования.....	58
2.2.1. Методы исследования, применяемые у беременных	58
2.2.2. Методы исследования плода	68
2.2.3. Методы исследования новорожденных	70
2.2.4. Оценка безопасности применения гексопреналина	73
2.2.5. Статистическая обработка результатов	74
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЯ	76
3.1. Клиническая характеристика пациенток, вошедших в исследование.....	76
3.2. Особенности срока родов и клиническая характеристика новорожденных у пациенток с угрозой преждевременных родов	80
3.3. Сопутствующая терапия.....	87
3.4. Результаты генетического тестирования беременных с угрозой преждевременных родов, получавших гексопреналина, и беременных контрольной группы	90
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	100
ВЫВОДЫ	103
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	105
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	106
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	109

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

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. По данным ВОЗ, более 10% детей рождаются преждевременно (около 15 миллионов в год) (Доклад ВОЗ, 2012; Martin et al., 2017).

В 2015 году недоношенными родилось около 20,5 миллионов детей, 91% из них – в странах с низким и средним уровнем дохода (Южная Азия, Африка к югу от Сахары). Высокая частота преждевременных родов также сохраняется в ряде стран с высоким уровнем доходов, например, в США (Blencowe et al., 2012, 2019). Для последующего выживания большинства недоношенных детей требуется специальный медицинский уход. В США почти половина всех младенческих смертей приходится на 0,8% младенцев с массой тела при рождении менее 1000 г (Mathews T. J. et al., 2006).

Несмотря на многочисленные стратегические подходы к предотвращению преждевременных родов, включающие токолитическую терапию β_2 -адреномеметиками, 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 эффективному и безопасному (Серов В. Н., Тютюнник В. Л., 2008).

Роды у человека – представляют собой комплексный процесс, на который оказывают влияние многочисленные факторы, определяющие скорость родовой деятельности и исходы родоразрешения. Не вызывает сомнений, что определенный интранатальный фенотип зависит от межиндивидуальных генетических различий. Тем не менее зависимость особенностей родового акта генетических полиморфизмов к настоящему моменту доказано только для единичных генов (Varner M. W., Esplin M. S., 2005).

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 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; Kunihiro 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.

Полиморфизмы гена ADRB2 могут не только менять первичную структуру β_2 -адренорецепторов, но и определять уровень экспрессии, обуславливая количество рецепторов и видоизменяя ответную реакцию на агонисты (Landau R et al., 2005; Crider K. S. et al., 2005; Kunihiro D. et al., 2004). Ассоциация между генотипом ADRB2 и преждевременными родами может предполагать различную реактивность женщин на циркулирующие в организме эндогенные катехоламины или фармакологические стимуляторы β_2 -адренорецепторов.

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.

При лечении угрозы преждевременных родов (УПР) важное значение приобретают 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 Neus R., 2009).

К сожалению, исследования по изучению фармакогенетики β_2 -адренорецепторов при токолитической терапии стимуляторами β_2 -адренорецепторов малочисленны. В одном исследовании, проведенном по типу случай – контроль, были изучены генотипы 159 пар «мать – ребенок». Авторы обнаружили, что гомозиготное носительство 16Arg/Arg защищает от спонтанных преждевременных родов, а 16Gly/Gly, напротив, предрасполагает к их возникновению. Так, среди 127 матерей, родивших в срок, гомозиготный генотип 16Arg/Arg был выявлен у 20,5% (26) и не встречался среди женщин со спонтанными преждевременными родами ($p = 0,002$) (Doh K. et al., 2004).

Landau R. и соавторы при изучение 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.

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.

Степень разработанности темы исследования

Семейная предрасположенность к преждевременным родам, передача данной особенности по наследству, наличие расовых различий, выявление генов предрасположенности, – все это указывает на наличие генетической составляющей, влияющей на данный показатель (Strauss et al. 2018)

Одним из важных направлений фармакогенетики является поиск ассоциации полиморфизмов генов с показателями эффективности и безопасности лечения. Тем не менее, число публикаций, посвященных фармакогенетике токолитиков, невелико. Среди работ этого направления имеются публикации, связанные с влиянием генетических факторов на фармакологический ответ наиболее часто назначаемого токолитика нифедипина, относящегося к БМКК. Было определено, что нифедипин метаболизируется изоферментами цитохрома P-450 3A4/3A5, а фармакологический ответ может быть связан с полиморфизмом генов CYP3A4 и CYP3A5. Установлено, что пероральный клиренс нифедипина у беременных зависит от генотипа CYP3A5 (Haas D. M. et al., 2013).

Носительство хотя бы одного аллеля CYP3A5*1 является достаточным для обеспечения высокой активности цитохрома P-450 3A5, тогда как аллели CYP3A5*3 и CYP3A5*6 кодируют усеченный неактивный белок. Экспрессия CYP3A5 обусловлена расовой принадлежностью и составляет у негроидов (60%), а у европеоидов (33%). При этом, поскольку изофермент P-450 3A5 составляет не менее 50% от общего содержания CYP3A в печени, его роль может быть наиболее существенной, определяющей межиндивидуальные и межэтнические различия CYP3A-зависимого клиренса и фармакологического ответа на ЛС, относящиеся к их субстратам (Kuehl P. et al., 2001).

Описана существенная вариабельность концентрации нифедипина в плазме крови беременных с УПР, обусловленная генотипом CYP3A5 (Haas D.M. et al., 2013).

Неселективный ингибитор циклооксигеназы индометацин, широко использующийся в качестве токолитика, метаболизируется преимущественно в

печени путем О-деметилирования с участием цитохрома P-450 2C9. Активность данного фермента возрастает во время беременности. Носительство аллелей CYP2C9*2 и/или CYP2C9*3 обуславливает замедление биотрансформации индометацина, что связано с более высокими концентрациями его в плазме крови, обуславливающими увеличение риска развития НР. Полиморфизм гена CYP2C9 может быть ассоциирован с увеличением времени воздействия данного препарата в 1,8 раза (Rodrigues A. D. et al., 2005).

Носительство аллеля 16Arg гена ADRB2 у беременных с УПР может быть ассоциировано с высокой вероятностью преждевременных родов, а носительство аллеля 16Gly – предрасполагать к их возникновению (Doh K. et al., 2004).

Цели 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.

Методология и методы исследования

В ходе работы были использованы общеклинические (клинико-анамнестические, лабораторные и специальные методы обследования беременных (родильниц) и плода (новорожденного).

Определение степени достоверности причинно-следственной связи между развитием НР и применением лекарственного препарата оценивалась по шкале Наранжо.

Тотальную ДНК из крови выделяли с помощью набора с сорбентом силикагеля, генетическое тестирование осуществляли методом ПЦР-ПДФ.

Для оценки физического состояния новорожденного применялись антропометрический индекс массы тела Пондерала и бальная оценка состояния новорожденного по шкале Апгар.

Для обобщения собранных данных и определения достоверности наблюдающихся закономерностей применялись методы описательной статистики, критерий согласия Пирсона χ^2 , двусторонний U-критерий Манна – Уитни, односторонний критерий Краскела – Уоллиса, отношения шансов.

Теоретическая и практическая значимость работы

Преждевременные роды являются причиной повышенной смертности новорожденных, а также часто способствуют инвалидизации младенцев. В ряду поколений, по мере снижения рождаемости и улучшения медицинского обслуживания в плане родовспоможения, происходит ослабление естественного отбора, что способствует дальнейшему неуклонному ухудшению здоровья рожениц и увеличению доли преждевременно рожденных детей. 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 повышение жизнеспособности плода при ПР. В тоже время понимание действия препаратов, их грамотное применение при персонифицированном подходе невозможны без знания механизмов действия и учета роли внешних и внутренних факторов, модулирующих эффективность и безопасность применяемого лечения. Для возможности пролонгирования беременности и повышения выживаемости новорожденных важен индивидуальный выбор эффективного метода ведения гестационного периода и результативной токолитической терапии при достоверных признаках УПР (Рыбалка, 2017). На вероятность преждевременных

родов влияют различные факторы, как, например, недостаточная или избыточная масса тела беременной, и многое другое.

Установлено, что данное состояние ассоциировано с полиморфизмом ряда генов, в том числе ADRB2. Последнее осталось малозамеченным мировым научным сообществом, и роли гена ADRB2 при УПР посвящено лишь небольшое число работ. Тем интересней, что продукт гена ADRB2, β_2 -адренорецепторы, являются мишенями β_2 -адреномиметиков, применяющихся в качестве токолитиков. Поскольку полиморфизм гена ADRB2 меняет как первичную структуру рецепторов, так и, по некоторым данным, уровень их экспрессии, генотип указанного гена, не может не быть связанным с фармакологическим действием препаратов указанной группы. Поэтому знание генотипа пациента может дать врачу дополнительную информацию как о наличии благоприятного или неблагоприятного генотипа со стороны гена ADRB2, так и о возможных индивидуальных особенностях действия токолитиков, относящихся к β_2 -адреномиметикам.

Положения, выносимые на защиту

1. Дифференцированный подход к ведению беременных с УПР основанный на оценке клиничко-анамнестических 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 УПР

Соответствие диссертации заявленной специальности

Содержание настоящей диссертационной работы «Влияние полиморфизма гена ADRB2, кодирующего бета2-адренорецептор, на эффективность и безопасность токолитической фармакотерапии бета2-адреномиметиком у беременных с преждевременными родами» соответствует паспортам научных специальностей 3.1.4. Акушерство и гинекология и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Степень достоверности и апробация результатов

Исследование выполняли с применением современных молекулярно-генетических методов, включая методы ПЦР–ПДРФ (полимеразная цепная реакция – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) с проверкой результатов путем выборочного секвенирования. В работе использовались только проверенные контрольные образцы ДНК. Лабораторные и медицинские методы проводились на клинической базе в соответствии с современными стандартами оказания медицинской помощи. На всех этапах исследования проводился контроль качества. Сомнительные образцы исключались из исследования, а забор биоматериала и молекулярно-генетическое исследование проводилось повторно. Основные выводы работы обоснованы и полностью соответствуют полученным результатам. Достоверность выводов подтверждается корректной статистической обработкой данных.

Основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на следующих научно-практических конференциях:

– V съезд фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств» (Ярославль, 14–18 мая 2018 г.);

– XIX Всероссийский научно-образовательном форум «Мать и Дитя» (Москва, 26–28 сентября 2018 г.);

– II региональный научно-образовательный форум акушеров-гинекологов с международным участием (Москва, 9–10 ноября 2018 г.);

– Российская научно-практическая конференция 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.

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 9 работ, в том числе 7 статьи 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 изданиях, индексируемом Scopus).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 126 страницах машинописного текста, состоит из введения, 3 глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований и обсуждения), заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 149 публикаций отечественных и зарубежных авторов. Работа содержит 17 таблиц и 6 рисунков.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Преждевременные роды

Проблема охраны здоровья матери и ребенка имеет первостепенное значение для формирования здорового поколения людей с самого раннего периода их жизни. По определению ВОЗ, под преждевременными родами следует понимать рождение ребенка, наступившее в результате родовой деятельности до 37 недель беременности (Радзинский, 2014). Именно преждевременные роды определяют уровень перинатальной заболеваемости и смертности. Демографическое и социально-экономическое значение преждевременных родов (ПР) обусловлено невысоким уровнем рождаемости, низкими темпами прироста населения, а также отрицательным влиянием на репродуктивную функцию женщин и здоровье потомства, что делает ПР одной из ведущих причин детской заболеваемости и смертности (Михайлова О. И. и др., 2009). В разных странах частота преждевременных родов существенно различается (Соко, 2020).

Преждевременные роды занимают первое место в структуре перинатальной смертности: на них приходится 60–70% ранней неонатальной смертности, 70–75% детской смертности, до 60% случаев мертворождений, которые при преждевременных родах встречаются в 8–13 раз чаще, чем при своевременных родах. Перинатальная смертность недоношенных детей в 20–33 раза выше, чем доношенных. В свою очередь, высокая перинатальная заболеваемость при преждевременных родах зачастую приводит к последующему нарушению соматического и психического развития ребенка (Михайлова О. И. и др., 2009; Сокова Е. А. и др., 2010).

Одной из наиболее распространенных медицинских процедур в настоящее время является индукция родов. Так, известно, что в США с 1989 по 1998 гг. число индуцированных родов возросло более чем вдвое и достигло 19,2% от общего количества родов. Это не в последнюю очередь обусловлено ростом индуцированных родов недоношенных беременностей, которое также удвоилось и

достигло 13,4%, что вызывает беспокойство у клиницистов. Показатели индукции выше у европейского населения с высшим образованием, первородящих и получавших интенсивную дородовую помощь, а также у женщин с различными видами патологии, включая гипертоническую болезнь, эклампсию и почечную недостаточность (MacDorman M. F., 2002).

Преждевременные роды – это роды, наступившие в сроки беременности от 22 до 36 недель. При этом установление срока беременности определяется на основании данных о 1-м дне последней менструации (при регулярном менструальном цикле) и УЗИ плода, выполненном в 1-м триместре беременности. Угрожающие ПР проявляются нерегулярными болями в нижней части живота и поясничной области. Объективно определяется повышенный тонус матки, укорочение шейки матки, открытие наружного зева. Начавшиеся ПР сопровождаются болями в нижних отделах живота, регистрируемой регулярной маточной активностью, центрированным положением укороченной, размягченной и нередко дилатированной шейкой матки, наличием слизистых или слизисто-сукровичных выделений из половых путей, свидетельствующих о созревании шейки матки. Возможно преждевременное излитие околоплодных вод. Активные ПР характеризуются наличием 4 схваток в течение 20 мин и открытием шейки матки более 4 см. (Клинические рекомендации «Преждевременные роды», 2020; Радзинский В. Е. и др., 2014). В МКБ-10 нет диагноза «угрожающие преждевременные роды», а отсутствие четкого определения препятствует научному обоснованию тактики лечения и часто ведет к неправильной оценке данного состояния, которое, несомненно, имеет место при отсутствии выраженных клинических проявлений. В России «угрожающие преждевременные роды» представляют собой наиболее распространенный диагноз, с которым беременные направляются для стационарного лечения.

Преждевременные роды до настоящего времени остаются одной из наиболее сложных и социально значимых проблем современного акушерства и 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 (Федотовская О. И., 2014).

Согласно литературным данным, частота ПР в мире составляет 5–18% (Blencowe et al., 2012, 2019). Причем в развивающихся странах их частота составляет 9–10%, а в индустриально развитых – 6–13%.

Преждевременные роды являются основной причиной смертности и заболеваемости новорожденных без врожденных аномалий, развития или хромосомных aberrаций (Hamilton B. E. et al., 2013; Mathews T. J. et al., 2006; Miller R. et al., 2015; Neilson J. P. et al., 2014). Так, они являются одной из двух главных причин детской смертности, уступая только пневмонии, служа причиной более миллиона смертей ежегодно. Всего же, согласно статистике, рождаются недоношенными 15 миллионов детей в год (каждый десятый ребенок!). Предполагается, что действия по улучшению ухода могут спасти сотни тысяч детей, рожденных слишком рано, от смерти и инвалидности (Kinney M.V. et al., 2012).

Факторы риска самопроизвольных ПР включают (Cobo T. et al, 2020; Зайдиева и др., 2009):

- возраст матери;
- принадлежность к негроидной расе;
- низкий индекс массы тела матери;
- курение;
- стрессовые факторы (депрессия и др.);
- уровень образования, а также другие социальные факторы;
- короткий интервал между беременностями;
- предшествующий отягощенный акушерский анамнез;
- процедуру выскабливания стенок полости матки в анамнезе;
- хирургические вмешательства на шейке матки (конизация, трахелэктомия);

- короткую шейку матки;
- пороки развития матки;
- маточные кровотечения во II-III триместре беременности;
- пороки развития плода;
- многоплодную беременность;
- инфекции, бактериальный вагиноз.

Однако не подлежит сомнению, что представленный список является неполный, а генетические факторы могут играть в этом процессе не последнюю роль.

Исследование случай–контроль проведенное в Тайване (467 женщин с ПР и 467 женщин с родами в срок) позволило выявить следующие факторы предрасположенности к преждевременным родам (Ip et al., 2010):

- возраст матери (≥ 35 лет) – повышает риск в 2,27 раза;
- молодой возраст матери (< 20 лет) – повышает риск в 2,07 раза;
- преждевременные роды в анамнезе – повышают риск в 3,64 раза;
- низкий индекс массы тела матери ($\text{ИМТ} < 18,5 \text{ кг/м}^2$) – повышает риск в 1,7 раза.

Известно, что преждевременно рожденные дети имеют множественные виды патологий в долгосрочной перспективе, повышенный риск смертности в раннем взрослом возрасте и более склонны к смертности в 18–36 лет из-за сердечно-сосудистых, эндокринных и респираторных заболеваний. В рамках национального когортного исследования Швеции было обследовано 630 090 младенцев, родившихся с 1973 по 1979 гг., включая 27 953 недоношенных. Анализ последующих обращений детей по поводу эпилепсии, а также амбулаторных и стационарных назначений противосудорожных препаратов позволил обнаружить ассоциацию между преждевременными родами и развивающейся с годами эпилепсией, прогрессирующей в зависимости от степени недоношенности (Crump C. et al., 2011).

Недоношенные дети, родившиеся на 34–36-й неделе беременности, подвержены более высокому риску развития патологических состояний и

смертности, по сравнению с детьми, родившимися на 37–42-й неделе. Кроме этого, последствия преждевременных родов может ощущаться в последующих поколениях, поскольку преждевременно родившиеся люди хуже размножаются (Swamy G. K. et al., 2008). Женщины, сами родившиеся недоношенными, имеют повышенный шанс родить преждевременно, таким образом, продолжая порочный круг неонатальной смертности и заболеваемости.

Дополнительным независимым фактором риска на ранних сроках беременности является гестационный диабет матери (Gawlik S. et al., 2015).

В соответствии со степенью тяжести, дети, родившиеся преждевременно, подразделяются на (Blencowe H. et al., 2012, 2019; Martin J. A. et al., 2017):

- слегка недоношенные (34–36-я неделя) (легкая степень недоношенности);
- умеренно недоношенные (32–33-я неделя) (средняя степень недоношенности);
- сильно недоношенные (28–31 неделя) (глубокая степень недоношенности);
- крайне недоношенные (менее 28 недель) (экстремальная степень недоношенности).

Несмотря на современные методы диагностики и лечения УПР, их уровень не только не снижается, но и в некоторых странах, таких как США, Великобритания, Франция (Morin M. et al., 2012) и Россия (Федотовская О. И., 2014), даже увеличивается. Было отмечено, что за 12 лет, с 1994 по 2006 г., число родов ранее 33-й недели возросло в 3 раза и составило 1,7% от числа всех рождений. Среди ПР значительно увеличилось количество родов путем кесарева сечения. При этом заметно уменьшилось число вагинальных инфекций, вызывающих пороки развития плода. В одной из работ основной причиной преждевременных родов была названа гипертоническая болезнь. До 28-й недели ПР чаще вызывались метроррагией и инфекциями, чем на 28–32-й неделях (Morin M. et al., 2012).

В клинической практике ПР делят обычно на два типа:

- 1) контролируемые ПР;
- 2) спонтанные ПР.

Младенцы рождаются недоношенными после:

- самопроизвольных родов с неповрежденными плодными оболочками;
- самопроизвольных родов с разрывом плодных оболочек (с излитием околоплодных вод);
- индукции родов или кесарева сечения по показаниям матери или плода.

Контролируемые ПР вызваны, в основном, какой-либо патологией: инфекцией, преэклампсией, дистрессом плода, гестационным диабетом, гипертензией и другими факторами. Наиболее преобладающим типом являются спонтанные ПР, с внезапным началом (Gawlik S. et al., 2015; Goldenberg R. L. et al., 2015).

Согласно результатам эпидемиологических исследований, ПР являются многофакторным состоянием, этиология которого до сих пор неизвестна. В последнее время, в связи с созданием отделений интенсивной терапии новорожденных, улучшением перинатальной помощи, искусственной вентиляцией легких и диетотерапией, выживаемость недоношенных детей возрастает, но оставшиеся в живых часто имеют серьезные последствия (Ryu H. J. et al., 2015). С недоношенностью связаны такие нарушения как церебральный паралич (ДЦП), особенно спастическая диплегия, умственная отсталость, нарушение зрения (ретинопатия недоношенных) и слуха (Soleimani F. et al., 2014).

Пролонгирование беременности (даже на 48 часов) является очень важной задачей. Этого времени бывает достаточно для проведения профилактики респираторного дистресс-синдрома плода (РДС), что позволяет улучшить перинатальные исходы на 5%, спасает жизнь многим недоношенным детям, избавляет некоторых из них от пожизненной инвалидности (Di Renzo G. C. et al., 2009; Finnström O. et al., 1997). Именно поэтому так важно своевременно применять максимально эффективную токолитическую терапию, направленную на пролонгирование беременности.

Адекватная оценка вероятности наступления ПР – одна из самых сложных задач современного акушерства. Жалобы на «тянущие боли в нижних отделах живота», предъявляемые пациенткой, недостаточны для постановки диагноза

«угрожающие преждевременные роды» и отнесения ее в группу высокого риска. Несмотря на то, что традиционными клиническими признаками УПР считаются регулярные маточные сокращения, сопровождающиеся динамическим укорочением шейки матки и раскрытием маточного зева, эти критерии имеют низкую специфичность и чувствительность. Ежедневный клинический опыт показывает, что примерно у 50% женщин, госпитализированных с диагнозом «преждевременные роды», беременность удастся пролонгировать вплоть до доношенного срока (McPheeters M. L. et al., 2005).

Новорожденные, рожденные в результате планового повторного кесарева сечения на раннем сроке, имеют в 3,2 раза, повышенный риск госпитализации в отделение интенсивной терапии из-за нарушений адаптации в ранней постнатальной фазе. Таким образом, плановое раннее кесарево сечение, по-видимому, отрицательно влияет на непосредственный исход для новорожденных (Gawlik S. et al., 2015).

Патофизиология ПР многофакторна и включает множество инициирующих причин, таких как (Abramović A. et al., 2012):

- внутриутробная инфекция;
- воспалительные процессы;
- ишемия;
- перенапряжение;
- кровотечения.

Исследователи выделяют ряд анамнестических признаков со стороны матери, по которым можно определить вероятность ПР. К ним относятся (Федотовская О. И., 2014):

- возраст;
- этническая принадлежность;
- социально-экономическое положение;
- психологические особенности;
- характер питания;
- вредные привычки и опасные формы поведения;

- акушерский анамнез;
- особенности течения данной беременности;
- инфекционные заболевания.

Очень важны поведенческие и социально-демографические факторы риска наступления ПР, которые в ряде исследовательских работ сгруппированы в основные категории и представляют большинство материнских демографических факторов риска, включая социально-экономический статус, расовую принадлежность, возраст, семейное положение, уровень образования. Женщины негроидной расы имеют более высокий риск преждевременных родов, чему часто способствуют их низкий социально-экономический статус, молодой возраст, низкий уровень образования, не состояние в браке. Также увеличивают склонность к ПР социальные формы поведения (курение, употребление алкогольных напитков, наркотиков), дефицит питательных веществ (витамина D, фолиевой кислоты, железа), низкая масса тела или ожирение. Также повышенный риск ПР имеется у женщин, страдающих от тревожности, депрессии, постоянных стрессов. Преждевременным родам способствуют физическое и сексуальное насилие, недостаточная социальная поддержка (Anum E. A. et al., 2009).

В одном из исследований, проведенном на тайской популяции, было установлено, что достоверным фактором риска развития УПР является возраст (менее 20 и более 35 лет), причем ранний возраст ассоциирован с риском спонтанных и очень ранних ПР, тогда как более старший – с возрастающим риском поздних индуцированных преждевременных родов (Ip M. et al., 2010).

У женщин разных этнических групп одни и те же признаки оказывают различное влияние на предикцию ПР. Анамнестических факторов риска слишком много, чтобы с их помощью отнести женщин в группу высокого риска и начать незамедлительное лечение, однако именно они помогают сформировать такие группы и вести усиленный мониторинг беременности (Федотовская О. И., 2014).

Преждевременным родам могут способствовать чрезмерные или преждевременные сокращения гладких мышц матки. Сократительные стимулы вызывают взаимодействия миозина и актиновых филаментов посредством

кальций-зависимого фосфорилирования миозина. Механизмы, которые поддерживают покой миометрия до наступления срока родов, не установлены, но могут включать контроль уровня кальция с помощью оксида азота и передачи сигналов цГМФ, а также регуляцию тонких волокон (кальдесмон и кальпонин) (Cornwell et al., 2001).

1.2. Токोलитическая терапия и ее роль в профилактике и лечении преждевременных родов

Токोलитиками называют лекарственные средства (ЛС), способствующие снижению сократительной активности матки и расслабляющие ее мускулатуру при УПР. Эта группа препаратов объединяет лекарственные средства с различными механизмами действия. Токोलитики могут обладать нейротропным или миотропным действием (седативные, холинолитики, спазмолитики и др.).

Среди токолитических препаратов можно выделить следующие основные группы (Михайлова О. И. и др., 2009; Haram K. et al., 2015):

- β_2 -адреномиметики;
- нейротропные и миотропные спазмолитики;
- блокаторы медленных кальциевых каналов;
- блокаторы пуринергических рецепторов;
- ГАМК-ергические средства (ГАМК – гамма-аминомасляная кислота);
- ингибиторы фосфодиэстераз;
- антагонисты серотониновых рецепторов;
- антибрадикининные средства;
- антагонисты и блокаторы рецепторов окситоцина;
- активаторы калиевых каналов;
- нитраты;
- препараты, опосредованно ингибирующие сократительную деятельность матки (прогестерон, релаксин, мелатонин);
- ингибиторы биосинтеза простагландинов;

- ингибиторы освобождения окситоцина;
- антагонисты бензодиазепиновых рецепторов.

Такое количество различных по механизму ЛС, используемых при УПР, обусловлено тем, что на сегодняшний день ни один из них не был идентифицирован как наиболее успешный в лечении всех основных механизмов, ведущих к преждевременным родам (Abramović A. et al., 2012).

Часто в качестве токолитической терапии используются стимуляторы β_2 -адренорецепторов (Anotayanonth S. et al., 2004; Gyetvai K. et al., 1999), блокаторы кальциевых каналов (King J. F. et al., 2003; Khan, 2010), гестагены (How H. Y. et al., 2009), ингибиторы простагландинсинтазы, доноры оксида азота (Duckitt K., 2002) и антагонисты окситоциновых рецепторов.

Очень часто усилия по ПР родов оказываются неэффективными, а большинство попыток остановить роды, терпят неудачу. В этой связи наиболее важные компоненты лечения нацелены на предотвращение неонатальных осложнений за счет применения глюкокортикоидов и антибиотиков для предотвращения неонатального сепсиса, вызванного стрептококками группы В, и предотвращения травматических родов. Собственно, токолиз при УПР направлен на подготовку плода к преждевременному рождению, что заключается в проведении профилактики РДС плода и переводе беременной в перинатальный центр (лечебное учреждение 3–4-й группы) (Сухих Г. Т. и др., 2013).

Общими показаниями для проведения токолиза являются (Сухих Г. Т. и др., 2013; Федотовская О. И, 2014; Van Vliet E. O. et al., 2014):

- клиническая картина (регулярные схватки: не менее 4 в течение 20 мин) при сроке беременности от 22 до 33 недель и 6 дней;
- динамические изменения со стороны шейки матки (укорочение и сглаживание, увеличение степени раскрытия шейки матки).

Противопоказаниями для применения токолиза служат (Сухих Г. Т. и др., 2013; Федотовская О. И, 2014):

- срок беременности < 22 (в большинстве стран мира роды начинаются после 24 недель беременности, поэтому проведение токолиза противопоказано до 24 недель) или > 34 полных недель;
- преждевременный разрыв плодных оболочек при беременности сроком > 30 недель;
- задержка роста и/или признаки РДС плода;
- хориоамнионит;
- отслойка нормально или низко расположенной плаценты (опасность развития матки Кувелера);
- состояния, при которых пролонгирование беременности нецелесообразно (эклампсия, преэклампсия, тяжелая экстрагенитальная патология матери);
- пороки развития плода, несовместимые с жизнью;
- антенатальная гибель плода.

Для планирования токолитической терапии могут применяться и другие маркеры. Так, у 2699 беременных в США был проведен анализ сыворотки крови с целью обнаружения возможных биомаркеров для выбора наилучшей модели прогнозирования ПР. Маркеры сыворотки крови оказались хорошими предикторами ПР. Лучшая прогностическая модель включала такие параметры как уровень общего холестерина в первом триместре беременности, изменения значений между триместрами, а также α -фетопротеин и ингибин А во втором триместре. Эти показатели могут дополнить другие данные, например, значение длины шейки матки (Alleman B. W. et al., 2013).

В настоящее время благодаря препаратам, подавляющим сократительную активность матки, к которым относятся токолитики, в лечении УПР достигнуты определенные успехи. Тем не менее, большинство токолитических препаратов вызывают полиорганные НР (Lamont C. D. et al., 2016).

Наиболее широко изученными токолитиками являются β_2 -адреномиметики. При этом было показано, что они задерживают роды, но не улучшают перинатальный исход, к тому же часто вызывают неприятные и даже фатальные НР со стороны матери. В этой связи некоторые авторы полагают, что блокаторы

кальциевых каналов более предпочтительные, по сравнению с другими токолитиками, особенно с β_2 -адреномиметиками (King J. F. et al., 2003).

Анализ 20 рандомизированных контролируемых исследований применения β_2 -адреномиметиков (ритодрин, гексопреналин, сальбутамол с медленным или умеренным высвобождением, тербуталин) для лечения женщин с УПР позволил установить, что β_2 -адреномиметики помогают отсрочить роды, что может дать дополнительное время, позволяющее женщине получить курс дородовых глюкокортикоидов. Однако следует учитывать множественные НР препаратов (Астахова, Лепяхин, 2008). Не было продемонстрировано положительного влияния β_2 -адреномиметиков на перинатальную (ОШ = 0,84; ДИ_{95%} = 0,46–1,55) или неонатальную смертность (ОШ = 0,90; ДИ_{95%} = 0,27–3,00), а также на РДС (ОШ = 0,87; ДИ_{95%} = 0,71–1,08). Применение β_2 -адреномиметиков были связаны со следующими исходами: отказ от лечения из-за НР; боль в груди; одышка; сердцебиение; тремор; головные боли; гипокалиемия; гипергликемия; тошнота или рвота; заложенность носа; тахикардия плода (Neilson J. P. et al., 2014).

Существенно, что стимуляторы β_2 -адренорецепторов относительно безопасны для плода, в отличие от, ингибиторов простагландин-синтетазы, оказывающих потенциально серьезные воздействия на плод и новорожденного, но вызывающих лишь легкие НР со стороны желудочно-кишечного тракта матери. В Европе в качестве терапии первой линии часто выбирают конкурентный антагонист окситоцина атозибан (Баев и др., 2017) или антагонист кальция нифедипин. Хотя их эффективность схожа, доказательная база у атозибана более надежна, чем у нифедипина, и он считается более безопасным, чем нифедипин, хотя и более дорогим (Lamont C. D. et al., 2016). При УПР токолитическая терапия блокатором окситоциновых рецепторов атозибаном под контролем динамической ультразвуковой цервикометрии и кардиотокографии может иметь ряд преимуществ, по сравнению с аналогичной методикой с использованием гексапреналина (Рыбалка, 2017).

По мнению Van Vliet E. O. и соавт., начинать токолиз, исходя из максимальной эффективности и наиболее благоприятного профиля НР, надо с

атозибана или нифедипина в течение 48 ч. Роль прогестерона в лечении ограничена, но он может играть роль в предотвращении ПР или в качестве сенсбилизатора других токолитических ЛС (Van Vliet E. O. et al., 2014).

Нифедипин применяется для токолиза достаточно часто. Это ЛС угнетает спонтанную сократительную активность миометрия, вызванную, в том числе, экзогенными простагландинами, эффективно и быстро снижает амплитуду и частоту сокращений, и базальный тонус миометрия. Нифедипин может быть разумным препаратом первого выбора, что обусловлено лёгкостью его введения и меньшей степенью, чем β_2 -адреномиметики НР (Haram K. et al., 2015).

В опубликованном в 2011 г. систематическом обзоре и мета-анализе, объединившем 26 рандомизированных контролируемых исследований ($n = 2179$), было показано, что нифедипин способствует значительной пролонгации беременности, снижению риска РДС, некротического энтероколита, внутрижелудочкового кровотечения, желтухи новорожденных и госпитализации новорожденных в отделение интенсивной терапии по сравнению со стимуляторами β_2 -адренорецепторов. Нифедипин связан со значительно меньшим количеством НР у матери, чем агонисты β -адренорецепторов (Conde-Agudelo A. et al., 2011).

Применение нифедипина возможно с 24-х недель беременности. Необходимо соблюдать осторожность при увеличении дозы более 60 мг (увеличивает риск развития серьезных НР, таких как гипотензия, в 3-4 раза). Нифедипин может стать препаратом выбора при УПР как в качестве острого, так и в качестве пролонгированного токолиза.

В России нифедипин не зарегистрирован в качестве токолитического средства, таким образом перед его применением необходимо получить письменное информированное согласие беременной на применение препарата (Сухих Г. Т. и др., 2013).

В расслабленном состоянии матки во время беременности большую роль играет прогестерон. Сократительная способность миометрия находится под его непосредственным влиянием, что подтверждается результатами многочисленных исследований (Cornwell T. L. et al., 2001).

В эксперименте на макаках-резус, которым на поздних стадиях беременности вводили прогестерон с селективным ингибитором 3 β -гидроксистероид дегидрогеназы эпостаном или без него, было установлено, что эпостан снижает уровень прогестерона у матери и плода с последующим повышением активности матки и созревания шейки матки в течение 24 часов и вагинальных родов в течение 48 часов. Отмена прогестерона может вызвать ПР, которые можно приостановить его введением, однако даже высокая доза экзогенного прогестерона не предотвращает родов, происходящих в срок (Haluska G. J., 1997).

У беременных роль снижения уровня прогестерона как механизма развития родовой деятельности остается дискуссионной, поскольку концентрация прогестерона в крови у матери и плода, а также в амниотической жидкости остается неизменной до начала родов (da Fonseca E. et al., 2003). Тем не менее, теория снижения прогестерона как причины начала родов остается ведущей гипотезой, поскольку ни один из других механизмов начала родовой деятельности окончательно не установлен. Имеются данные, что стимуляция синтетическими антипрогестинами снижает концентрацию прогестерона и приводит к маточным сокращениям как у женщин, так и у самок других приматов (Haluska G. J. et al., 1997). Существует препарат прогестерона в микронизированной форме, аналогичный естественному, применяемый как перорально, так и вагинально. Уровень концентрации препарата в плазме очень вариабелен и не поддерживается на постоянном уровне, поэтому вагинальное применение предпочтительней. Пероральный прием препаратов прогестерона во время беременности может вызывать ряд НР, связанных с первичным прохождением через печень. Вагинальный путь введения способствует более быстрой абсорбции, более высокой биодоступности, созданию более равномерной, высокой и устойчивой концентрации в плазме, а соответственно, более длительному и стойкому токолитическому эффекту (da Fonseca E. et al., 2003; Di Renzo G. C. et al., 2009; Penzias A. S. et al., 2003; Posaci C. et al., 2000; Romero R. et al., 2013). Профилактическое введение прогестерона в форме вагинальных суппозитория

беременным из группы высокого риска (прежде всего среди женщин, в анамнезе которых уже были ранее преждевременные роды, беременным с укорочением шейки матки (менее 25 мм) и положительным тестом на фетальный фибронектин) снижает риск ПР на 35% (How N.Y. et al., 2009). По данным двойного слепого плацебо-контролируемого исследования, проведенного da Fonseca и соавт., применение прогестерона с 24-й недели до доношенного срока беременности в дозе 100 мг интравагинально на ночь достоверно снижает частоту ПР по сравнению с плацебо (da Fonseca E. et al., 2003).

Антагонисты окситоциновых рецепторов являются принципиально новым классом токолитических препаратов. Они блокируют окситоциновые рецепторы и способствуют снижению тонуса миометрия, уменьшая сократимости матки. В эту группу входит препарат атозибан, представляющий собой синтетический пептид, антагонист окситоцин-вазопрессин-1а рецепторов. Атозибан блокирует окситоциновые рецепторы матки, за счет чего снижает частоту маточных сокращений и тонус миометрия. Он имеет наилучший профиль безопасности для матери и плода, но, по-видимому, не снижает неонатальных осложнений (Haram K. et al., 2015). Высокая эффективность и безопасность атозибана нуждается в дальнейших исследованиях в связи с малочисленностью исследуемых групп (Conde-Agudelo A. et al., 2011; Driul L. et al., 2014).

Токолитическое действие ингибиторов синтеза простагландинов доказано экспериментально и подтверждено в ходе клинических исследований. Они могут рассматриваться как препараты первого выбора при остром токолизе в сроке гестации менее 32 недель (Haram K. et al., 2015). Однако, обладая неселективными свойствами и широким спектром фармакологического действия, ингибиторы синтеза простагландинов вызывают НР со стороны матери (тошноту, рефлюкс), а также со стороны плода (преждевременное закрытие артериального протока, олигурию и маловодие) (Loe S. M. et al., 2005).

Результаты исследований по влиянию антибиотиков довольно противоречивы, что может быть связано с разными критериями включения и применяемыми препаратами. Установлено, что комбинация ампициллин +

дексаметазон + индометацин подавляет воспаление и в значительной степени пролонгирует беременность (Gravett M. G. et al., 2007). С другой стороны, анализ 17 исследований показал, что лечение женщин с риском ПР антибиотиками не снижает частоты их возникновения (Simcox R. et al., 2007).

Анализ результатов мета-анализа 58 рандомизированных плацебо-контролируемых исследований с применением различных токолитических препаратов показал, что все токолитики превосходят плацебо при смещении срока родов как минимум на 48 ч (75–93% против 53% плацебо) и 7 суток (61–78% против 39% для плацебо). Не было обнаружено статистически значимых различий для других исходов, включая РДС и неонатальную выживаемость. По мнению авторов, наилучшее сочетание переносимости и отсроченного родоразрешения выявлено у ингибиторов синтеза простагландинов. Теоретически, из 1000 женщин, получающих ингибиторы синтеза простагландинов, роды происходят в течение 48 ч только у 80 женщин, тогда как при альтернативном лечении – у 182. У β_2 -адреномиметиков был самый высокий уровень НР, требующих отмены, что, ограничивает их применение в качестве средства первой линии (Haas D. M. et al., 2009).

Хотя терапия угрожающих ПР часто является симптоматической и сводится к подавлению маточных сокращений, она считается очень важной, так как между 22-й и 26-й полными неделями каждый дополнительный день беременности увеличивает выживаемость новорожденных на 3% (Lamont C. D. et al., 2016). Тем не менее, несмотря на появление все новых токолитиков, уровень ПР не снижается (Crowley P. et al., 2003; MacDorman M. F. et al., 2002). В ряде случаев заявленной целью назначения токолитических препаратов является пролонгация беременности на 48 ч – время достаточное для проведения профилактики РДС плода с помощью глюкокортикоидов и для госпитализации беременной в стационар, оснащенный необходимым оборудованием для реанимации недоношенных детей (Crowley P. et al., 2003). Пролонгирования сроков родов дает возможность плоду начать выработку сурфактанта в легких под действием глюкокортикоидов (Haram K. et al., 2015).

Несмотря на многочисленные стратегические подходы к предотвращению ПР, включающие токолитическую терапию стимуляторами β_2 -адренорецепторов, БМКК, антагонистами окситоцина, прогестероном и др., до настоящего времени ни один из методов не зарекомендовал себя как абсолютно эффективный и безопасный (Серов В. Н., Тютюнник В. Л., 2008).

Хотя современные токолитики относятся к разным классам ЛС, тем не менее, их действие направлено исключительно на ингибирование маточной активности, а не на истинные механизмы патогенеза, запускающие родовую деятельность. Эффективная и адекватная токолитическая терапия должна основываться, на клинических данных, результатах лабораторных тестов, методах подбора дозы, а также – на проведении молекулярно-генетических исследований, что является основным принципом персонифицированной медицины (Федотовская О. И., 2014).

На сегодняшний день нет ни одного лекарства, способного эффективно воздействовать на все основные звенья патогенеза ПР. Выбор токолитика в качестве терапии первой линии основывается на множестве факторов, включая гестационный возраст, историю болезни пациента, общие и тяжелые НР и ответ пациента на лечение. На сроке гестации менее 32 недель индометацин может быть разумным препаратом первого выбора, исходя из его эффективности, простоты введения и минимальных НР. Может быть назначено одновременное введение магния для нейрозащиты. На сроке от 32 до 34 недель разумным препаратом первого выбора может быть нифедипин, поскольку он не несет в себе рисков для плода, в отличие от индометацина, и дает меньше НР, чем β_2 -адреномиметики (Abramović A. et al., 2012). Токолитическая терапия эффективно пролонгирует беременность и влияет на краткосрочные неонатальные исходы. По мнению некоторых авторов, самую высокую вероятность пролонгирования сроков родов и улучшения исходов новорожденных обеспечивают ингибиторы синтеза простагландинов и блокаторы кальциевых каналов (Haas D. M. et al., 2012).

Комбинации различных групп токолитических препаратов могут быть более эффективными по сравнению с отдельными лекарственными средствами или отсутствием вмешательства, оказывая на мать и новорожденного менее

неблагоприятные эффекты. При этом остается несомненным, комбинация токолитических препаратов предпочтительней, поскольку отсутствуют крупные хорошо спланированные исследования в этой области. Отсутствуют данные о комбинированных схемах лечения с применением БМКК (нифедипин) и/или антагонистов рецепторов окситоцина (атозибан) (Vogel J. P. et al., 2014).

Таким образом, выбор токолитика остается очень непростой задачей, требующей учета многих факторов, таких как профиль безопасности, акушерская ситуация, необходимость длительной транспортировки беременной. Решение в любом случае остается за лечащим врачом (Троханова, 2017).

1.3. Генетические факторы, связанные с увеличением риска развития преждевременных родов

1.3.1. Доказательства существования генетической предрасположенности к преждевременным родам

Угроза преждевременных родов характеризуется многофакторностью. К факторам риска относятся, среди прочего, уровень образования, семейное положение, уровень доходов, экология. Хорошо известна связь ПР с курением и/или употреблением наркотиков (Anum et al. 2009). Риск ПР увеличивается при дефиците железа, фолиевой кислоты и витамина D во время беременности (Nemachandra et al. 2006).

Согласно данным литературы имеется генетическая предрасположенность к ПР (Varner M. W., Esplin M. S., 2005; Strauss et al. 2018):

- семейная предрасположенность к ПР, которая не может быть объяснена случайностью;
- передача склонности к ПР по наследству;
- наличие расовых различий частоты ПР, что может объясняться различиями частот генов предрасположенности;
- выявление генов предрасположенности к ПР.

Личный или семейный анамнез является ведущим фактором риска ПР. Если женщина ранее родила преждевременно, ее последующие роды также с большей вероятностью будут преждевременными. Женщины, у которых уже были ПР на ранних сроках (< 32 полных недель) в анамнезе, имеют больший риск повторных ПР при последующих беременностях. Если женщина родилась недоношенной, она также наследует повышенный риск ПР. Эта предрасположенность не относится к мужчинам, родившимся недоношенными.

Наблюдается расовая предрасположенность к ПР. Представительницы негроидной расы страдают от ПР в два раза чаще, чем европеоидной, даже когда смешанные социальные и экономические переменные находятся под контролем.

Обнаружены ассоциации ПР с полиморфизмом отдельных генов цитокинов матери и/или плода, таким как полиморфизм фактора некроза опухоли α -308, +3953/3954 интерлейкина-1 β и -174 интерлейкина-6, полиморфизмы Toll-подобных рецепторов (например, гена *TLR4*).

Способность генетических факторы провоцируют ПР, было доказано в ходе исследований типа «случай – контроль». Позже было проведено исследование полногеномной ассоциации GWAS. Понятно, что на развитие ПР влияет множество генов, и наследования не подчиняется законам Менделя. Можно предположить, что ПР имеют полигенную основу, включающую редкие мутации или небольшие повреждающие варианты во множестве генов, участвующих в реализации врожденного иммунитета и механизмов защиты от микробов и их вредных продуктов (Strauss et al. 2018). В этом отношении, когда наследственность не удается соотнести с конкретными генетическими факторами, ее объясняют либо наличием большого числа незначительных факторов, влияющих на фенотип, либо наличием большого числа существенно влияющих на фенотип факторов, при этом встречающихся относительно редко.

Генами-кандидатами на роль факторов, предрасполагающих к ПР были, прежде всего, отнесены:

- гены, связанные с ответом на инфекцию или воспаление;
- гены, участвующие в синтезе и деградация межклеточного матрикса.

На сегодняшний день наибольшее внимание уделяется генетической изменчивости провоспалительных и противовоспалительных цитокинов и их рецепторов, которые могут определять метаболизм матрикса посредством повышения экспрессии разрушающих матрикс металлопротеиназ (Anum et al. 2009).

Согласно предположению, в соответствии с которым аномальный метаболизм матрикса способствует недоношенности за счет увеличения риска преждевременного разрыва плодных оболочек и цервикальной недостаточности, генами-кандидатами могут быть: *COL5A1*, *COL5A2*, *COL3A1*, *COL1A1*, *COL1A2*, *TNXB*, *PLOD1*, *ADAMTS2*, *CRTAP*, *LEPRE1* и *ZMPSTE24*. Этому соответствует тот факт, что синдром Марфана, вызванный мутациями *FBNI* и полиморфизмом генов *COL1A1* и *TGFBI*, также способствует цервикальной недостаточности (Anum E. A. et al., 2009).

Однако необходимо учитывать, что большинство опубликованных ассоциативных исследований, связанных с ПР, основаны на очень малых размерах выборки, поэтому их статистическая мощность для отклонения нулевой гипотезы мала, что ставит под сомнение важность отрицательных результатов ассоциации. Повторные исследования, необходимые, при первоначальных выводах, основанных на малых размерах выборки, проводились редко (Anum et al. 2009).

1.3.2. Гены воспаления: ген фактора некроза опухоли TNFA

В качестве кандидата на причину недоношенности наиболее изучен ген фактора некроза опухоли- α (*TNFA*), кодирующий провоспалительный цитокин, способствующий выработке матриксных металлопротеиназ, разрушающих коллаген. Фактор некроза опухоли- α также может противодействовать прогестерону, повышая сократительную активность матки. В 1999 году Roberts и соавт. обнаружили ассоциацию полиморфизма -308 в промоторе гена *TNFA*: частота носителей минорного аллеля -308А была достоверно больше среди женщин с ПР (58%, $n = 15/26$ против 30%, $n = 33/110$ в контрольной группе) ($p = 0,008$; ОШ = 3,18; ДИ_{95%} = 1,33–7,83) (Roberts et al., 1999).

Аналогичные результаты были получены *Macones et al.* Особенно высока вероятность ПР наблюдалась у носительниц аллеля -308А гена *TNFA* с бактериальным вагинозом (ОШ = 6,1; ДИ_{95%} = 1,9–21,0) (*Macones et al. 2004*). *Moore et al.* также описали наличие достоверной связи ПР с аллелем -308А (p = 0,026; ОШ = 2,2; ДИ_{95%} = 1,0–5,0) (*Moore et al., 2004*). *Aidoo* и соавт. в работе, проведенной в Кении, продемонстрировали ассоциацию преждевременных родов с носительством аллеля -308А гена *TNFA* у плода: для гетерозигот ОШ = 6,7; ДИ_{95%} = 2,0–23,0, для гомозигот ОШ = 7,3; ДИ_{95%} = 2,85–18,9 (*Aidoo et al., 2001*).

1.3.3. Ген интерлейкина-1β IL1B

Genc M. R. и соавт. обнаружили, что полиморфизм rs114634 (С3953Т) гена интерлейкина-1β (*IL1B*) у детей негроидной расы был связан со спонтанными ПР (p = 0,033) (*Genc M. R. et al., 2002*).

Согласно данным *Murtha* и соавт. обнаружили, что материнское носительство по крайней мере одной копии аллеля *IL1RN*2* связано с повышенным риском ПР как у европеоидов, так и у негроидов (*Murtha et al. 2006*).

1.3.4. Ген интерлейкина-6 IL6

Интерлейкин-6 является провоспалительным агентом, индуцирующим Т-лимфоциты, синтез С-реактивного белка и дифференцировку -клеток для активации воспалительной реакции острой фазы. Полиморфизм -174G>С в промоторной области гена *IL6*, связанный со сниженной продукцией цитокинов, показал ассоциацию со снижением ПР. *Simhan* и соавт. сообщили, что гомозиготный генотип -174СС гена *IL6* достоверно реже встречается среди женщин со спонтанными преждевременными родами (19,2% против 6,3% в контрольной группе) ОШ = 0,17; ДИ_{95%} = 0,04–0,74) (*Simhan et al., 2003*). Однако, данное наблюдение противоречит с результатам других исследователей.

1.3.5. Ген интерферона- γ IFNG

Speer и соавт. обнаружили, что спонтанные ПР ассоциированы с аллелем 874Т гена интерферона- γ матери (*IFNG*) (Speer et al., 2006).

1.3.6. Гены, участвующие в синтезе и деградация межклеточного матрикса

Мембрана плода приобретает свою прочность на разрыв за счет интерстициального коллагена, а разрыв мембраны отчасти объясняется деградацией коллагена, которая опосредована матриксными металлопротеиназами (ММП). ММП-1 участвует в первом этапе катаболизма коллагена, затем подключаются ММП-2, ММП-9, а также могут участвовать ММП-8 и ММП-13 (Anum et al. 2009).

Fujimoto и соавт. изучили взаимосвязь между полиморфизмом промотора rs1799750 гена *MMP1* у негроидов и обнаружили значительные различия частот встречаемости аллелей и генотипов по сравнению с контролем ($p = 0,028$; ОШ = 2,29; ДИ_{95%} = 1,09–4,82). Было также установлено, что носительство плодом трех минорных аллелей гаплотипа (-799Т, -381G и 17G) в промоторной области гена *MMP8* ассоциировано с преждевременным разрывом околоплодных оболочек ($p < 0,0001$; ОШ = 4,63, ДИ_{95%} = 2,01–11,94), тогда как отдельные полиморфизмы влияния не оказывали (Fujimoto et al., 2002).

1.3.7. Ген белка теплового шока 47

Ген *SERPINH1* кодирует белок теплового шока (Hsp47), расположенный в эндоплазматическом ретикулуме, который служит шапероном, стабилизирующим тройную спираль коллагена. Было обнаружено, что у носителей минорного аллеля -656Т гена *SERPINH1* снижен уровень соответствующей мРНК и выше вероятность преждевременного разрыва околоплодных оболочек (Wang et al., 2006).

1.3.8. Роль митохондриального генома

Поскольку митохондриальный геном передается по наследству по материнской линии, можно было бы ожидать передачу этим путем предрасположенности к ПР. Однако мета-анализ двух полногеномных исследований случай–контроль, проведенных в Дании и Норвегии, в которых были протестированы 135 индивидуальных ассоциаций однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) с учетом комбинаций генома матери и новорожденного, не подтвердил эту гипотезу. Таким образом, митохондриальная генетика не способствует передаче по женской линии предрасположенности к ПР (Alleman B.W. et al., 2012).

1.3.9. Полногеномный поиск ассоциаций

Полногеномный поиск ассоциаций (англ. «*genome-wide association studies*», GWAS) предназначен для выявления генетических вариантов, касающихся здоровья людей. GWAS включает анализ сотен тысяч ОНП по всему геному и предоставляет возможность определения новых генов, регуляторных локусов и путей, ранее не рассматриваемых. Несмотря на множество сопутствующих проблем, GWAS считался важным инструментом обнаружения генетических факторов, связанных с ПР (Dolan et al., 2013). Однако, после проведения GWAS с участие более 40 000 женщин европеоидной расы, его результаты в определенной степени разочаровали исследователей, поскольку оказались неинформативными и не подтвердили важность выбранных ранее генов-кандидатов врожденного иммунитета. Это может указывать на сложность фенотипа ПР. Тем не менее, в ходе исследования GWAS были выявлены материнские локусы, способствующие ПР (*EBF1*, *EEFSEC* и *AGTR2*) (Zhang et al., 2017). *EBF1* кодирует белок, участвующий в развитии В-клеток, *EEFSEC* кодирует белок, участвующий в продукции селенопротеинов, а *AGTR2* кодирует рецептор ангиотензина II типа 2. При этом ни один из этих локусов не имеет прямого отношения к врожденному иммунитету или воспалительным механизмам.

1.3.10. Близнецовый метод

Близнецовый метод является одним из основополагающих при изучении многофакторных заболеваний. Например, сопоставление заболеваемости среди разнояйцевых и однояйцевых близнецов позволяет изолировать факторы внешней среды, поскольку близнецы на протяжении ряда лет находятся в аналогичных условиях. При этом разнояйцевые близнецы генетически различаются (как брат с сестрой), тогда как однояйцевые близнецы генетически идентичны между собой (клоны). Таким образом достоверные различия между этими двумя группами свидетельствуют об истинной степени наследуемости признака. Исследования на близнецах продемонстрировали уровень наследуемости ПР в пределах 17–40% (Treloar et al., 2000; York et al., 2013).

Данные семейного анализа и близнецового метода убедительно подтверждают наличие значительного вклада генетики матери и плода в определении срока наступления родов. Однако выявить сами гены предрасположенности к ПР оказалось непросто. Первоначально гены-кандидаты, ответственные за ПР, искали среди генов, регулирующих воспаление у матери и плода, однако полученные результаты часто не воспроизводились в последующих исследованиях (Strauss et al. 2018).

В Швеции с 1987 по 2008 гг. было изучены 165 952 семьи, состоящих из потомков близнецов, родных и сводных братьев и сестер. Выяснилось, что 20,6% отклонений гестационного возраста при родах определяется генетическими факторами матери, еще 13,1% связаны с генетикой плода. Тем не менее, факторы окружающей среды часто имеют преобладающее значение. Таким образом важно не только выделить внешние причины наступления ПР, но и рассматривать их в совокупности с генетическими факторами (York et al., 2013).

Интересное исследование с применением близнецового метода, связанное с полиморфизмом гена *ADRB2*, было проведено в рамках изучения генетической составляющей развития аутизма. Оказалось, что пренатальная гиперстимуляция

β_2 -адренорецепторов у разнояйцевых близнецов селективным агонистом тербуталином в качестве токолитика повышает у них конкордантность расстройств аутистического спектра. Была обнаружена достоверная зависимость развития аутизма с гаплотипом 16Gly+27Glu гена *ADRB2* ($p = 0,006$) (Connors et al., 2005). Аллель Glu27 гена *ADRB2*, по мнению некоторых исследователей, может повышать риск аутизма и усиливать воздействие стресса, связанного с беременностью (Cheslack-Postava et al., 2007).

1.3.11. Полногеномное секвенирование экзона

В 2016 г. Schindler A. E. и соавт. опубликовали обзорную статью, в которой были представлены результаты исследований 119 генов-кандидатов, полиморфизм которых может повлиять на развитие УПР. Действие генов касалось эндокринной, сосудистой, метаболической, иммунной и противовоспалительной систем. Авторы указали, что понимание сложного геномного ландшафта требует высокопроизводительных методов полногеномного секвенирования, таких как методы секвенирования всего экзона и всего генома (Schindler A. E. et al., 2005).

Секвенирование всего экзона решает большие возможности выявления вариантов генетических факторов предрасположенности к ПР. Несмотря на то, что экзом составляет менее 2% генома, в нем находится подавляющее большинство (85%) вариантов, ассоциированных с заболеваниями (van Dijk et al., 2014). Ценность секвенирования всего экзона основана на концепции, согласно которой редкие, а также более распространенные мутации в кодирующих последовательностях нескольких генов вносят важный вклад в развитие сложных признаков и распространенных заболеваний (Strauss et al., 2018).

С помощью этого подхода удалось выявить редкие мутации генов белков, участвующих в подавлении врожденного иммунного ответа (например, *CARD6*, *CARD8*, *NLRP10*, *NLRP12*, *NOD2*, *TLR10*). Таким образом, концепция воспалительной этиологии ПР верна хотя бы частично, и вызывается патогенами

(интраамниотической инфекцией) или «сигналами опасности» (аларминами), высвобождаемыми во время клеточного стресса или некроза (Strauss et al., 2018).

1.4. β_2 -Адреномиметики

Исторически общепризнанными токолитиками первой линии являются β_2 -адреномиметики (гексопреналин, оксипреналин, ритодрин, тербуталин и сальбутамол). Эти препараты широко используются во всем мире с 1970-х годов. Токолитический эффект препаратов связан со стимуляцией β_2 -адренорецепторов, образованием циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) из аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) за счет активации аденилатциклазы, последующим уменьшением концентрации ионов кальция в цитоплазме клеток миометрия (за счет обратного выхода кальция в депо) и подавлением взаимодействия актина с миозином вследствие снижения активности фермента легкопочечной миозинкиназы (Simhan H. N. et al., 2007).

Препараты данной группы в нашей стране наиболее популярны, однако в большинстве развитых стран не применяются по причине высокой частоты осложнений (Сухих Г. Т. и др., 2013). Их назначают главным образом парентерально при преждевременной родовой деятельности, при угрозе самопроизвольного аборта (с 16 недель) и при гипертонусе матки (Федотовская О. И., 2014).

Противопоказаниями для применения β_2 -адреномиметиков (Сухих Г. Т. и др., 2013) являются:

- сердечно-сосудистые заболевания матери (стеноз устья аорты, миокардит, тахикардия, врожденные и приобретенные пороки сердца, нарушения сердечного ритма);
- гипертиреоз;
- закрытоугольная форма глаукомы;
- инсулинзависимый сахарный диабет;
- дистресс плода, не связанный с гипертонусом матки.

Острый токолиз рекомендуется начинать с болюсного введения 10 мкг гексопреналина сульфата (1 ампула по 2 мл), разведенного в 10 мл изотонического раствора хлорида натрия, в течение 5–10 мин с последующим введением со скоростью 0,3 мкг/мин. При длительном токолизе рекомендуемая доза гексопреналина сульфата составляет 0,075 мкг/мин. Максимальная суточная доза 430 мкг. При приготовлении раствора для введения с использованием внутривенных систем концентрат для инфузий разводят 500 мл изотонического раствора натрия хлорида. Приготовленный раствор вводят внутривенно капельно. Расчет дозы 0,3 мкг/мин соответствует: 1 ампула (25 мкг) – 120 капель в минуту, 2 ампулы (50 мкг) – 60 капель в минуту и так далее. При использовании инфузوماتов: 75 мкг концентрата для инфузий (3 ампулы) разводят в 50 мл изотонического раствора натрия хлорида; скорость введения составляет 0,075 мкг/мин. В дальнейшем дозировка препарата подбирается индивидуально (Сухих Г. Т. и др., 2013).

Анализ 11 рандомизированных контролируемых исследований ($n = 1332$) из регистра Кокрановской группы по беременности и родам, в которых β_2 -адреномиметики сравнивались с другими β_2 -адреномиметиками, плацебо или отсутствием лечения, позволил определить, что стимуляторы β_2 -адренорецепторов снижают количество ПР в течение 48 часов (относительный риск ОР = 0,63). Не было продемонстрировано положительного влияния β_2 -адреномиметиков на перинатальную или неонатальную смерть, а также на РДС. При этом β_2 -адреномиметики часто отменялись из-за НР (грудная боль, одышка, тахикардия, сердцебиение, тремор, головные боли, гипокалиемия, гипергликемия, тошнота и/или рвота, заложенность носа, тахикардия плода) (Anotayanonth S. et al., 2004).

Длительное лечение β_2 -адреномиметиками изучали на родильницах, получавших фенотерол не менее 5 дней, и в дальнейшем родоразрешенных путем операции кесарево сечение. Во время операции у женщин брали биопсию миометрия. Плотность β_2 -адренорецепторов у женщин, получавших фенотерол, снижалась более чем на 50%. Авторы пришли к выводу, что длительный токолиз приводит к селективному подавлению β_2 -адренорецепторов миометрия, что не

было связано со снижением соответствующих концентраций мРНК или изменениями α_2 -адренорецепторов, альфа-субъединиц Gs и Gi (Engelhardt S., 1997).

В крупное проспективное когортное исследование, вошли 1920 беременных, получавших токолитики, в 28 больницах Голландии и Бельгии. Было установлено, что применение стимуляторов β_2 -адренорецепторов или нескольких токолитиков для предотвращения ПР связано с высокой частотой серьезных НР. Индометацин и атозибан были единственными препаратами, не вызывающими серьезных нежелательных реакций. При однократном лечении стимулятором β_2 -адренорецепторов ОР = 22,0 ДИ_{95%} = 3,6–138,0) (de Neus R., 2009).

Сравнение влияния β_2 -адреномиметиков с плацебо и отсутствием лечения, проведенное в рамках 11 рандомизированных контролируемых исследований (n = 1332) из регистра Кокрановской группы по беременности и родам, позволило определить, что стимуляторы β_2 -адреномиметиков снижают частоту ПР в течение 48 часов (относительный риск ОР = 0,63)

Несмотря на то, что результаты определения ОНП и генетических исследований позволили объяснить и диагностировать множество заболеваний, а также описать разную реакцию на препараты, большинство выводов не были подтверждены. Это обусловлено тем, что на клинические результаты наряду с генетической предрасположенностью влияет множество факторов. Длительная эффективность и терапевтические эффекты стимуляторов β_2 -адренорецепторов рассматривались во многих исследованиях. Ограничение терапевтической ценности препаратов связана с десенсibilизацией β_2 -адренергических рецепторов в миометрии под воздействием агонистов (Frambach T. et al., 2005). Снижение эффективности объяснялось понижением реакции цАМФ под воздействием стимуляторов β_2 -адренорецепторов, а также сокращением количества β_2 -адренергических рецепторов (Frambach T. et al., 2005).

1.5. Влияние полиморфизмов гена ADRB2, кодирующего β_2 -адренорецепторы, на различные физиологические состояния организма

Ген ADRB2 кодирует β_2 -адренергический рецептор – ионный белковый канал, встроенный в цитоплазматическую мембрану клетки, имеющий высокую степень сродства к адреналину и обеспечивающий повышение или понижение активности иннервируемой ткани или органа. β_2 -адренорецепторы расположены на поверхности многочисленных клеток гладкой мускулатуры (bronхов, матки, сосудов и т.д.). Они обеспечивают релаксацию клеток в ответ на эндогенные катехоламины и синтетические стимуляторы β_2 -адренорецепторов (Комиссарова и др., 2012).

Основными полиморфизмами гена ADRB2, способными, влиять на физиологию организма, являются ОНП, обуславливающие аминокислотные замены Gly16Arg и Gln27Glu вблизи N-конца полипептидной цепи рецептора. Эти полиморфизмы могут модулировать ответ организма на ЛС, относящиеся к блокаторам или стимуляторам β_2 -адренорецепторов (Basu K. et al., 2009; Palmer C. N. et al., 2006; Бунова С. С. и др., 2014; Счастливецва, 2010).

Установлено, что полиморфизм Gly16Arg гена ADRB2 влияет на фармакологический ответ селективных стимуляторов β -адренорецепторов, назначаемых для лечения бронхиальной астмы и других обструктивных заболеваний легких (Мустафина, Цветкова, 2013) в качестве бронхолитика, таких как альбутерол и сальметерол. При этом аллель Arg16 ассоциирован с обострениями заболевания у молодых астматиков, что было показано на ($n = 1182$). Риск обострений у носителей аллеля Arg16 был повышен только при ежедневном получении ингаляционных препаратов стимуляторов β_2 -адренорецепторов длительного или короткого действия, и не наблюдался при применении препаратов менее одного раза в сутки (Basu K. et al., 2009).

В 2005 г. *Contopoulos-Ioannidis at al.* опубликовали мета-анализ, в рамках которого объединили данные 28 исследований, связанных с ассоциацией полиморфизмов Gly16Arg и Gln27Glu с бронхиальной астмой. В результате была

выявлена достоверная ассоциация носительства аллеля Gly16 с «ночной» астмой (ОШ = 2,20; ДИ_{95%} = 1,56–3,11). Более того, у гомозигот 16Gly/Gly отмечался значительный риск развития «ночной» астмы (ОШ = 5,15; ДИ_{95%} = 2,44–10,84), по сравнению с гомозиготами 16Arg/Arg (Contopoulos-Ioannidis et al., 2005).

Геном человека кодирует девять различных генов адренорецепторов, относящихся к трем семействам (α_1 -, α_2 - и β_2 -адренорецепторы), по три члена в каждом. Адренорецепторы экспрессируются большинством типов клеток человеческого тела и являются основными мишенями катехоламинов, адреналина и норадреналина, которые высвобождаются симпатической нервной системой во время ее активации. После связывания катехоламинов адренорецепторы меняют конформацию, связываются с G-белками, и активируют их, тем самым инициируя различные внутриклеточные сигнальные каскады. Адренорецепторы, являющиеся первичными приемниками и преобразователями симпатической активации, играют центральную роль в физиологии человека и его заболеваниях и служат мишенями для многих ЛС. Воздействие стимуляторов β_2 -адренорецепторов вызывает десенситилизацию рецепторов в других органах, что может ограничивать их терапевтическую ценность (Engelhardt S., 1997).

Все 9 генов адренорецепторов характеризуются генетическим разнообразием как кодирующей последовательности, так и соседних регионов (Ahles A., 2014). Ген *ADRB2* человека находится на 5-й хромосоме, и его генетическое разнообразие обусловлено целым рядом ОНП (Liggett S. B., 2000).

Несинонимичные кодирующие и промоторные полиморфизмы рецептора были идентифицированы в общей популяции, воспроизведены в трансфицированных клеточных линиях и трансгенных мышцах, и доказано их влияние на экспрессию, на связывание лиганда и др. Некоторые из этих полиморфизмов обладают значительным эффектом, изменяя течение заболевания или лекарственный ответ (Liggett S. B., 2000).

Полиморфизм Gly16Arg гена *ADRB2* связан с более выраженным механизмом десенситилизации с помощью *down*-регуляции. Напротив, аминокислотная замена Gln27Glu ассоциирована с уменьшением десенситилизации

посредством указанного механизма. При полиморфизме Thr164Ile наблюдается значительное изменение способности рецептора сопрягаться с Ns-белком, что обуславливает сниженную активность аденилатциклазы (на 50%). Замена Asp113Asn приводит к практически полной потере рецепторами способности связывать как агонисты, так и антагонисты. Напротив, замены аминокислотных остатков Asp79 и Asn318 связаны с резким ухудшением сродства адренорецепторов к агонистам без изменения сродства к антагонистам (Клиническая фармакология, 2018).

В настоящее время мы знаем, что β_2 -адренергические рецепторы самопроизвольно переходят в активированное состояние (R^*), и что равновесие между R (неактивное состояние) и R^* может быть изменено лигандами. Кроме того, конформация R^* , вероятно, состоит из нескольких подтипов, которые могут быть задействованы в определенных сигнальных путях. Многофункциональное связывание характерно для многих рецепторов, связанных с G-белком (Liggett S. B., 2002).

1.6. Гаплотипы гена *ADRB2*

Полиморфизмы гена *ADRB2* характеризуются неравновесным сцеплением, поскольку объединены между собой в гаплотипы, наследуемые вместе. Носительство гаплотипов *ADRB2*, характеризующихся различным уровнем экспрессии, может влиять на психологические черты, уровень артериального давления в состоянии покоя, уязвимость к хроническим болевым состояниям (Diatchenko et al., 2006). Носительство генотипов и гаплотипов гена *ADRB2* может оказывать воздействие на параметры метаболического синдрома у подростков (Parka et al., 2008).

По результатам Schürks и соавт., носительство гаплотипа Gly16-Gln27-Thr164 ассоциировано со сниженным риском развития инфаркта миокарда у женщин европеоидной расы (Schürks et al., 2009).

Известно, что аллель *Glu27* в гомозиготном состоянии почти всегда связан с *Gly16*, в то время как гомозиготное носительство аллеля «дикого типа» *Gln27* может сочетаться с любым аллелем в положении 16 (Liggett S. B., 2002). Касательно распределения по гаплотипам, широко известен факт наблюдающегося неравновесного сцепления между полиморфизмами гена *ADRB2*, определяющими аминокислоты в позициях 16 и 27, в результате которого *Arg16* практически никогда не встречается с *Glu27* в одном полипептиде (Drysdale C. M. et al., 2000).

Было обнаружено, что 13 ОНП гена *ADRB2* организованы в 12 гаплотипов из 8192 теоретически возможных комбинаций. В распределении некоторых гаплотипов наблюдается глубокая дивергенция с более чем 20-кратными межэтническими различиями частот четырех основных гаплотипов (Рисунок 1). Для пяти наиболее распространенных гаплотипов *in vivo* была определена оценка реакции бронходилататоров на β -агонист у астматиков. Средние ответы по генотипу варьировались более чем в 2 раза, причем сам ответ был достоверно связан с гаплотипами ($p = 0,007$), но не с отдельными ОНП.

Позиция:	-1023	-709	-654	-468	-406	-367	-47	-20	46	79	252	491	523	Ca	A-A	As	H-L
Аллели:	G/A	C/A	G/A	C/G	C/T	T/C	T/C	T/C	G/A	C/G	G/A	C/T	C/A	Евр	Афр	Азия	Лат
Гаплотип																	
1	A	C	G	C	C	T	T	T	A	C	G	C	C	0.7	25.0	12.5	10.0
2	A	C	G	G	C	C	C	C	G	G	G	C	C	48.3	6.3	10.0	26.7
3	G	A	A	C	C	T	T	T	A	C	G	C	C	0.7	0.0	0.0	0.0
4	G	C	A	C	C	T	T	T	A	C	G	C	C	33.0	29.7	45.0	40.0
5	G	C	A	C	C	T	T	T	G	C	G	C	C	1.4	0.0	0.0	0.0
6	G	C	G	C	C	T	T	T	G	C	A	C	A	13.2	31.3	30.0	13.3
7	G	C	G	C	C	T	T	T	G	C	A	T	A	1.0	1.6	0.0	3.3
8	G	C	A	C	C	T	T	T	A	C	A	C	A	0.7	0.0	0.0	0.0
9	A	C	G	C	T	T	T	T	A	C	G	C	C	0.0	4.7	0.0	0.0
10	G	C	G	C	C	T	T	T	G	C	A	C	C	0.7	0.0	0.0	3.3
11	G	C	G	C	C	T	T	T	G	C	G	C	C	0.3	0.0	2.5	0.0
12	A	C	G	G	C	T	T	T	A	C	G	C	C	0.0	1.6	0.0	3.3
Положение	5'	5'	5'	5'	5'	5'	AA19 BUP Cys/Arg	5'	AA16 Gly/Arg	AA27 Gln/Glu	СНВ	AA164 Thr/Ile	СНВ				

Примечание – Обозначения: Евр (Ca) – европейцы; Афр (A-A) – африканцы; Азия (As) – азиаты; Лат (H-L) – латиноамериканцы.

Рисунок 1 – Гаплотипы гена *ADRB2* и частоты их встречаемости у представителей различных этнических групп (Drysdale C. M. et al., 2000)

В дальнейших исследованиях, проведенных на генномодифицированных клетках HEK293, трансфицированных гаплотипами с дивергентной реакцией *in vivo* на агонист, было показано, что активность β_2 -адренергических рецепторов коррелирует с уровнем экспрессии гена *ADRB2* и плотностью рецепторов в клетках (Drysdale C. M. et al., 2000).

Palmer C. N. и соавт., 2006, показали, что генотип 16Arg/Arg гена *ADRB2* является фактором предрасположенности к обострениям астмы у детей и молодых людей, особенно среди тех, кто регулярно принимает сальметерол.

1.7. Ассоциация полиморфизмов гена *ADRB2*, кодирующего β_2 -адренорецепторы, с угрозой преждевременных родов

На скорость и результат родов оказывают влияние многие факторы. При этом установлена тесная взаимосвязь между генетической предрасположенностью и ранними родами (Weinberg C. R. et al., 2009). В генетических исследованиях, организованных по типу случай – контроль, были оценены кандидатные гены, связанные с различными патогенетическими механизмами, вовлеченными в процесс спонтанных ПР (Crider K. S. et al., 2005; Plunkett J. et al., 2008) таких как:

- воспаление и инфекция;
- реакция на стресс;
- функциональная недостаточность прогестерона;
- ремоделирование соединительной ткани;
- окислительный стресс;
- сократительность матки;
- плацентарная функция.

Известно, что существуют межиндивидуальные генетические различия, которые определяют интранатальный фенотип, однако ассоциации генетических особенностей со скоростью родовой деятельности к настоящему моменту продемонстрированы для единичных генов. В первую очередь это касается гена, кодирующего β_2 -адренорецепторы. Стимуляция β_2 -адренорецепторов

эндогенными и экзогенными агонистами вызывает расслабление гладкой мускулатуры и устойчивость шейки матки к механическим растяжениям (Miller R. et al., 2015).

Гипотеза о том, что генотип β_2 -адренорецепторов может влиять на исходы беременности у женщин с риском возникновения ПР, была проверена несколькими научными коллективами. Оказалось, что генотип Arg16 может выступать в качестве защитного фактора против ПР (Landau R. et al., 2002; Doh K. et al., 2004; Miller R.S. et al., 2011). В частности, в исследовании Landau R. и соавт. 2002 г., проведенного по типу случай–контроль, на родильницах латиноамериканского происхождения, было обнаружено, что только одна женщина (4%) с ПР имела гомозиготный генотип 16Arg/Arg гена *ADRB2*, по сравнению с 31% ПР в контрольной группе ($p = 0,01$; ОШ = 0,08). Таким образом взаимосвязи ПР с полиморфизмом Gln27Glu выявлено не было. Авторы пришли к заключению, что гомозиготность 16Arg/Arg, связанная со снижением подавления β_2 -адренорецепторов, как показано *in vitro*, защищает от развития ПР (Landau R. et al., 2002).

Согласно данным литературы можно предположить, что генетический полиморфизм *ADRB2* может сказываться на успешности токолитической терапии стимуляторами β_2 -адренорецепторов. Известно, что замена Gly16Arg увеличивает десенсбилизацию рецептора в ответ на воздействие агониста, тогда как замена Gln27Glu снижает подавляющую регуляцию. На сроках беременности от 24 до 34 недель у беременных европеоидной расы с УПР, получавших гексоприналин внутривенно в течении 48 часов, был определен фенотип. При этом был сделан акцент установлен на эффективности токолиза и исходе беременности. Контрольная группа состояла из 116 женщин, родивших в срок. В этой работе не повторялась показанная ранее ассоциация УПР с гомозиготностью по 16Arg/Arg гена *ADRB2*. В тоже время беременность у женщин, гомозиготных по 16Arg/Arg, была пролонгирована достоверно дольше (медиана 69 дней; межквартильный размах 63–79 дней) по сравнению с носительницами двух других генотипов (медиана 58 дней; межквартильный размах 2–72 дня) ($p = 0,04$). Токолиз оказался

на 100% успешным в смещении сроков родов на 48 ч у гомозигот по 16Arg/Arg ($n = 10$). Только у 37 из 50 беременных с генотипами 16Gly/Gly или 16Gly/Arg роды были пролонгированы более чем на 48 ч. Неонатальные исходы у детей, рожденных от матерей с генотипом 16Arg/Arg, были значительно лучше, чем у женщин с генотипами 16Gly/Gly или 16Arg/Gly. Таким образом, был сделан вывод, что гомозиготность 16Arg/Arg улучшает исход беременности после токолиза с помощью стимулятора β_2 -адренорецепторов гексопреналина (Landau R. et al., 2005).

В частности, гомозиготный генотип 16Arg/Arg гена *ADRB2* в значительной мере ассоциируется с предотвращением спонтанных ПР. Считается, что этот генетический фактор влияет на сокращение количества β_2 -адренорецепторов и снижение их чувствительности, хотя отношение между генотипом *ADRB2* и преждевременным родоразрешением может предполагать различную реактивность матерей на циркулирующие в организме эндогенные катехоламины или фармакологические стимуляторы β_2 -адренорецепторов, которая приводит к изменению порога частоты ПР и родоразрешения (Crider K. S. et al., 2005; Kunihiro D. et al., 2004; Landau R. et al., 2005).

Исследования (Ozkur M. et al., 2002) продемонстрировали ассоциацию полиморфизма Gln27Glu гена *ADRB2* с ПР ($p = 0,001$). При этом у женщин с патологией частоты аллелей 16Gly и 27Glu были выше, чем в контрольной группе (0,54 против 0,48 и 0,42 против 0,26 соответственно). По мнению авторов, фактором риска возникновения УПР является аллель 27Glu (ОШ = 2,14 ДИ_{95%} = 1,32–3,46; $p = 0,002$). В ходе дальнейших наблюдений было показано, что ранние роды наступили у 52,5% пациенток с УПР.

Интересным представляется наблюдение, согласно которому скорость родов через естественные родовые пути на сроке беременности ≥ 34 недель, измеренная у 401 пациента, оказалась обусловленной генотипом *ADRB2*: у беременных с генотипом 16Arg/Arg их прогресс был замедленным ($0,64 \pm 0,03$ см/ч), по сравнению с носительницами других генотипов ($0,8 \pm 0,02$ см/ч; $p < 0,001$) (Miller R. S. et al., 2011).

Suh и соавт. в 2013 г. показали, что у корейцев носительство аллеля G полиморфизма rs1042714 гена *ADRB2*, а также гаплотипа G/G полиморфизмов rs1042713 и rs1042714 были ассоциированы с повышенным риском ИП (ОШ = 1,90; ДИ_{95%} – 1,08–3,33; $p = 0,0252$), однако при введении поправки на множественные сравнения результат перестал быть достоверным (Suh et al., 2013).

Известно, что полиморфизмы Gly16Arg и Gln27Glu находятся в неравновесном сцеплении (Drysdale C. M. et al., 2000), поэтому разумно объединить их в одном исследовании.

Изучение эффектов двух полиморфизмов Gly16Arg и Gln27Glu гена *ADRB2* на опосредованное агонистами расширение сосудов и десенсбилизацию сосудистого русла показало, что у гомозигот 16Arg/Arg наблюдается почти полная десенсбилизация; расширение вен в ответ на неселективный стимулятор β_2 -адренорецепторов изопротеренол в этой группе снизилось с $44 \pm 11\%$ до $8 \pm 4\%$ ($p = 0,006$). Напротив, гомозиготы 16Gly/Gly характеризуются значительной десенсбилизацией, независимо от полиморфизма Gln27Glu. Гомозиготам 27Glu/Glu была свойственна более высокая максимальная венодилатация в ответ на изопротеренол, по сравнению с гомозиготами 27Gln/Gln: $86 \pm 13\%$ против $54 \pm 8\%$ ($p = 0,03$) (Dishy V. et al., 2001). Таким образом, полиморфизм *ADRB2* является потенциально важным детерминантом сосудистой реакции на стресс. Аллель 16Arg связан с усиленной опосредованной агонистами десенсбилизацией сосудов, а аллель 27Glu связан с повышенной опосредованной агонистами реактивностью.

Установлено, что полиморфизм Gly16Arg увеличивает чувствительность к подавлению ответа, индуцированного агонистами, в то время как полиморфизм Gln27Glu ее снижает. Полиморфизмы Gly16Arg и Gln27Glu не влияют на степень индуцированной агонистами десенсбилизации β_2 -адренорецепторов, но у гомозигот 27Glu/Glu десенсбилизация развивалась медленнее, по сравнению с пациентами – носителями других генотипов, что может сказываться на развитии ИП (Bruck H. et al., 2003).

Тем не менее, отсутствие статистической значимости не означает отсутствие клинического эффекта. Имеются данные что большинство ОНП способствовало

сокращению времени родов более чем на 50%, однако статистическая значимость не была определена (Park J. Y. et al., 2014).

При изучении ассоциации полиморфного маркера Gly16Arg гена *ADRB2* с эффективностью и безопасностью лечения гексопреналином у беременных с ПР было показано что при генотипе 16Arg/Arg пролонгирование беременности наблюдается чаще, по сравнению с гомозиготными (16GlyGly) или гетерозиготными (16ArgGly) носительницами аллеля 16Gly. В этой же группе были лучше и перинатальные исходы (Landau R. et al., 2005). При этом сами авторы считают, что эти результаты нельзя считать окончательными, в связи малым количеством беременных с генотипом Arg/Arg16.

1.8. Эффективность применения β_2 -адреномиметиков у беременных

Доказанное применения селективных β_2 -адреномиметиков в плане возможности пролонгирования беременности на 24, 48 часов и 7 суток, не сопровождается при этом снижением частоты РДС или перинатальной смертности (Nagam K. et al., 2015). Попытки снижения дозировки и длительности применения препаратов селективных β_2 -адреномиметиков явились предпосылкой для проведения двойного слепого плацебо-контролируемого исследования с добавлением в схему терапии, введенного прогестерона, интравагинально. Был продемонстрирован положительный эффект при УПР на фоне сниженной дозы β_2 -адреномиметиков вследствие конкурентного увеличения прогестероновых рецепторов в миометрии (Guamfi-Bannerman C. et al., 2012).

Своевременная оценка индивидуальной фармакогенетики β_2 -адреномиметиков помогает выработать более эффективную терапевтическую тактику, что способствует улучшению перинатальных исходов (Федотовская О. И., 2014).

1.9. Нежелательные реакции при применении β_2 -адреномиметиков у беременных

Оценка эффективности терапии β_2 -адреномиметиками вызывает затруднения, ввиду субъективности оценки наличия УПР (определение тонуса матки при осмотре), служащей основой для продления курса или снижения дозировок с постепенной отменой препаратов. Кроме того, с применением β_2 -адреномиметиков ассоциируется высокая частота развития НР (de Neus R. et al., 2009). Они часто вызывают неприятные, а иногда и серьезные НР со стороны матери (Flenady V. et al., 2014). Кроме того, токолитическая терапия не всегда бывает успешной, как в плане приостановки ПР и пролонгации беременности, так и в отношении перинатальных исходов (Серов В. Н., Тютюнник В. Л., 2008).

Результаты мета-анализа рандомизированных плацебо-контролируемых исследований показали, что назначение токолитиков пролонгируют беременность, но при этом не улучшают перинатальные или неонатальные исходы. Кроме того, не доказана их безопасность. Индометацин, атозибан (синтетический конкурентный ингибитор вазопрессина и окситоцина) и этанол достоверно пролонгировали беременность. НР со стороны матери, в значительной степени связанные с применением токолитиков, включали сердцебиение, тошноту, тремор, хориоамнионит, гипергликемию и гипокалиемию (Gyetvai K. et al., 1999).

Имеются данные, что эти препараты не снижают частоту РДС плода. По сравнению с нифедипином, β_2 -адреномиметики не улучшают перинатальные исходы и обладают более выраженными НР и на мать, и на плод. Эти препараты не подходят для длительного применения при длительно сохраняющейся УПР, поскольку обладают кардиотоксическим эффектом (Conde-Agudelo A. et al., 2011; Mercer V. M. et al., 2009). Некоторые авторы считают, что β_2 -адреномиметики вообще не влияют на перинатальные исходы (Gyetvai K. et al., 1999). Неоднозначные сведения о токолитическом эффекте селективных β_2 -адреномиметиков связаны с выявленным в последние годы полиморфизмом гена рецептора к β_2 -адреномиметикам (Landau R. et al., 2005). К сожалению,

исследования по изучению фармакогенетики β_2 -адренорецепторов при токолитической терапии стимуляторами β_2 -адренорецепторов малочисленны.

1.10. Применение гексопреналина в качестве токолитического средства

Гексопреналин оказывает токолитическое и бронхорасширяющее действие. Его эффекты реализуются посредством активации аденилатциклазы и роста содержания внутриклеточного циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), приводит к уменьшению уровня ионов кальция в цитоплазме. Гексопреналин блокирует выделение таких трансммиттеров как гистамин и лейкотриен D4 из тучных клеток. Важным моментом является незначительность его влияния на β_1 -адренорецепторы, обуславливая безопасность данного ЛС, поскольку его применение не отражается на работе ССС.

Гексопреналин применяют в качестве средства обеспечения одного из видов токолиза.

1. **Для обеспечения острого токолиза:** быстро снижает схватки при родах в случае дистресса плода с острой внутриматочной асфиксией; применяется для подготовки мануально производящегося поворота плода в случае первоначального его поперечного положения; в случаях выпадения пуповины; в случаях осложненной родовой деятельности; для расслабления матки перед кесаревым сечением. В этом случае его вводят внутривенно медленно, в течение 5–10 мин, предварительно растворив 10 мкг в 10 мл изотонического раствора натрия хлорида или 5%-го раствора декстрозы. При необходимости продолжают внутривенное капельное введение в дозе 0,3 мкг/мин.

2. **Для обеспечения массивного токолиза:** применяется для снижения преждевременных схваток в случае сглаженной шейки матки или если произошло раскрытие зева матки. В этом случае его вводят медленно внутривенно капельно, в дозе 0,3 мкг/мин; при необходимости начинают с 10 мкг. Суточная доза не более 430 мкг. Концентрат препарата предварительно разводят в 500 мл изотонического раствора натрия хлорида или 5 % раствора декстрозы.

3. *Для обеспечения длительного токолиза*: применяется при УПР (в случае маточных сокращений без укорочения и расширения шейки матки); для расслабления матки при серкляже. В этом случае его вводят медленно внутривенно капельно, со скоростью 0,075 мкг/мин, при помощи автоматического инфузионного насоса, не более 1,5 л/сут.

В настоящий момент понимание соотношения «польза / риск» для пероральной формы гексопреналина подвергается переосмыслению (Сеткина, 2014).

Гексопреналин используется не только в качестве токолитического средства, но и в лечении и профилактике бронхиальной астмы, для снятия бронхообструктивного синдрома, а также бронхоспастических реакций различного генеза.

Противопоказаниями к назначению гексопреналина являются: гиперчувствительность к препарату, тиреотоксикоз, мерцательная тахикардия, миокардит, кардиомиопатия, ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, печеночная или почечная недостаточность, закрытоугольная глаукома, метроррагия, преждевременная отслойка плаценты, инфекционные поражения эндометрия, I триместр беременности.

Нежелательные реакции при применении гексопреналина: головная боль, тревожность, мышечный тремор, повышенное потоотделение, головокружение, тошнота, рвота, атония кишечника, повышение активности трансаминаз печени, тахикардия с неизменной частотой сердечных сокращений (ЧСС) плода, снижение АД (преимущественно диастолического), желудочковая экстрасистолия, кардиалгия, у больных сахарным диабетом – гипергликемия (стимуляция липолиза и ухудшение утилизации глюкозы), снижение диуреза, особенно в начальной фазе лечения, отеки, гипокалиемия, гипокальциемия в начале терапии. У новорожденных: гипогликемия и ацидоз, бронхоспазм, анафилактический шок. При передозировке гексопреналина наблюдаются тревожность, мелкоразмашистый тремор, повышенное потоотделение, выраженная

тахикардия, аритмия, головные боли, кардиалгия, снижение АД, одышка. В этом случае назначаются неселективные β -адреноблокаторы (например, пропранолол).

Гексопреналин несовместим с ЛС, содержащими кальций и витамин D, симпатомиметиками, дигидроксистеролом, минералкортикоидами (МКС), алкалоидами спорыньи, ингибиторами моноаминоксидазы (МАО), трициклическими антидепрессантами. Теофиллин усиливает эффекты гексопреналина. β_2 -Адреноблокаторы ослабляют эффекты гексопреналина. Гексопреналин ослабляет действие пероральных гипогликемических ЛС. Средства для общей анестезии (фторотан) и адреномиметики усиливают НР со стороны ССС.

Таким образом, в настоящее время существует мнение, что полиморфизм гена *ADRB2*, кодирующего β_2 -адренорецепторы, может быть фактором предрасположенности к ряду заболеваний и оказывает влияние на эффективность и безопасность терапии стимуляторами β_2 -адренорецепторов. Считается, что на функцию

β_2 -адренорецепторов определенное влияние может оказывать присутствие глицина в 16 и глутамина в 27 аминокислотных позициях. Для повышения эффективности и безопасности применения β_2 -адреномиметиков у женщин с УПР необходимо проведение дальнейших фармакогенетических исследований по изучению роли полиморфизма генов β_2 -адренорецепторов с целью разработки персонализированных подходов к их применению с учетом генетических особенностей пациента. Перед назначением β_2 -адреномиметиков в качестве токолитической терапии желательно выявить индивидуальные генетические особенности чувствительности β_2 -адренорецепторов заблаговременно, чтобы отказаться от неэффективных и дорогостоящих мер и выбрать адекватную альтернативную тактику.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Формирование групп пациентов

2.1.1. Место выполнения работы

Работа выполнена в клинике акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирева ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный университет им. И. М. Сеченова» (Сеченовский Университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации; отделе фармакогенетики и персонализированной медицины Центра клинической фармакологии ФГБУ «Научный центр 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 информированного согласия пациента (протокол № 16-19 от 04.12.2019).

2.1.2. Критерии включения и не включения в исследование

В проспективное клиническое исследование «случай – контроль» по изучению эффективности и безопасности токолитической терапии гексопреналином включено 60 беременных с УПР, получавших лечение стимулятором

β_2 -адренорецепторов 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;
- принадлежность к европеоидной расе как минимум в трех поколениях;
- информированное согласие на участие в исследовании;
- возраст ≥ 18 лет;
- 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 (УЗИ) 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.

Критерии не включения в исследование:

- многоплодная беременность;
- беременность после вспомогательных репродуктивных технологий;
- преждевременный разрыв плодных оболочек;
- пороки развития матки;
- пороки развития у плода;
- тяжелая преэклампсия;
- беременные на иммуносупрессивной терапии (в связи с трансплантированными органами или активацией аутоиммунного заболевания);
- острое инфекционное заболевание или активация хронической инфекции с подъемом температуры выше $37,5$ °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).

2.1.3. Лечение

Беременным с верифицированным диагнозом УПР, включенным в исследование, назначали гексопреналин в соответствии с ранее действующим Приказом МЗ РФ №572н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)»» по следующей схеме: внутривенно капельно по 10 мкг в 10 мл 0,9%-го раствора хлорида натрия в течение 5–10 минут, затем внутривенно капельно со скоростью 0,3 мкг в минуту. Доза гексопреналина составляла 2 мкг или 4 мкг в течение 24, 48 и 72 ч.

Оценка безопасности терапии гексопреналином включала мониторингирование и регистрацию НР на протяжении всего исследования путем оценки клинических и физикальных данных, биохимических анализов крови, общих анализов крови и мочи, показателей инструментальных методов исследования матери и плода. Критериями безопасности лечения считали отсутствие НР во время исследования при оценке причинно-следственной связи с исследуемым препаратом (шкала ВОЗ). Для определения степени достоверности причинно-следственной связи между развитием НР и применением лекарственного препарата была использована шкала Наранжо (Астахова и др., 2001). Кроме гексопреналина, беременные обеих групп могли получать сопутствующую терапию, назначенную лечащим врачом по показаниям. Подробнее сопутствующее лечение описано в разделе «Результаты и обсуждения».

2.2. Методы исследования

2.2.1. Методы исследования, применяемые у беременных

В ходе работы были использованы общеклинические (клинико-anamnestические, лабораторные и специальные методы обследования беременных, плода и новорожденных).

Объем лабораторного обследования беременных основной и контрольной групп, включенных в исследование, проводился в соответствии с ранее действующим приказом МЗ РФ №572н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю “Акушерство и гинекология» (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)» с использованием стандартных методик.

Общеклинические методы исследования

У всех пациенток изучали данные семейного и собственного анамнеза в отношении ПР. Была собрана информация, связанная с соматическим и акушерско-гинекологическим анамнезом, а также результаты клинико-лабораторного обследования. Особое внимание уделяли течению и исходам предыдущих беременностей, наличию аборт и выкидышей позднего срока, преждевременных родов, гинекологических заболеваний, наличию оперативных вмешательств, в том числе на матке и придатках. Объективное обследование включало общий осмотр, при котором оценивали состояние ССС, а также дыхательной, нервной, пищеварительной и мочевыделительной систем.

При наружном акушерском исследовании определяли положение, предлежание и позицию плода, характер его двигательной активности, ЧСС плода, тонус матки, соответствие размеров матки сроку гестации. При гинекологическом осмотре обращали внимание на характер выделений из половых путей и состояние шейки матки.

Всем пациенткам проводили стандартные исследования: определение группы крови и резус-фактора, клинические и биохимические анализы крови, гемостазиограмму, общий анализ мочи, анализ мазка влагалищного отделяемого. При необходимости коррекции истмико-цервикальной недостаточности проводилось бактериологическое исследование выделений из цервикального канала.

Молекулярно-биологические методы

Всем беременным основной и контрольной группы методом ПЦР проводили диагностику вируса простого герпеса, цитомегаловируса, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* проводили. Для этого применяли наборы производства ООО НПФ «Литех» и НПО «ДНК-Технология», Россия.

Иммунологические методы

Определяли наличие в крови специфических антител к вирусу простого герпеса, цитомегаловирусной инфекции классов IgG и IgM. С этой целью использовали метод на основе иммуноферментного анализа (ИФА). Измерения результатов ИФА проводили на фотометре «Мультискан» по оптической плотности в исследуемых лунках на длине волны 492 нм. Результаты выражали величиной титра антител.

Биохимические методы

Всем беременным определяли содержания общего белка, глюкозы, мочевины, креатинина, калия, натрия, хлора, а также активности ферментов аспаратаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), гидроксibuтиратдегидрогеназы (ГБДГ) в сыворотке крови. Исследование проводили на биохимическом анализаторе «Ультра», производства фирмы

«КОНЕ» (Финляндия) с применением стандартных компьютерных программ и реактивов.

Молекулярно-генетические методы исследования

В фармакогенетическое исследование включено 60 беременных основной и 60 беременных контрольной групп. Для генотипирования пациенток использовали цельную кровь. Взятие крови из периферической вены производили по стандартной методике в вакуумную пробирку, содержащую K₃-ЭДТА в качестве антикоагулянта. Кровь замораживали при температуре -20°C и хранили до проведения исследования при той же температуре.

Всем пациенткам, вошедшим в исследование согласно критериям включения и исключения, было проведено генотипирование по выявлению полиморфизмов rs1042713 (46A > G, Gly16Arg) и rs1042714 (79C > G, Gln27Glu) гена *ADRB2*.

Выделение ДНК

Тотальную ДНК из крови выделяли с помощью набора с сорбентом силикагеля «АмплиПрайм ДНК-сорб-В» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия. Метод подходит для выделения ДНК из цельной крови (как в нашем случае), а также из плазмы, биоптатов, фекальных экстрактов, клеточного осадка мочи, слюны, ликвора, мокроты, бронхоальвеолярного лаважа и промывных вод бронхов.

Образец крови пациента помещали в пробирку с крышкой типа эппендорф, куда добавляли 300 мкл лизирующего раствора.

Пробы тщательно перемешивали и нагревали на твердотельном термостате при температуре 65 °С в течение 5 мин. Далее пробирки центрифугировали в течение 15 с при 5 тыс. оборотов в минуту на микроцентрифуге, после чего в каждую пробирку добавляли по 25 мкл ресуспендированного универсального сорбента. Пробирки с лизатами образцов с внесенным в них универсальным

сорбентом перемешивали 3 раза с паузами по 2 мин, после чего центрифугировали при 5 тыс об/мин в течение 30 с. Супернатант отбрасывали, а в микропробирки с осадком добавляли по 300 мкл раствора для отмывки 1 из набора для выделения ДНК.

Микропробирки перемешивали на вортексе и центрифугировали при 5 тыс оборотов в минуту на микроцентрифуге в течение 30 с. Супернатант отбрасывали, и в микропробирки с осадком добавляли по 500 мкл раствора для отмывки 2 из набора для выделения ДНК. Содержимое микропробирок перемешивали на вортексе и центрифугировали при 10 тыс оборотов в минуту в течение 30 с. Отмывку раствором 2 повторяли.

После этого надосадочную жидкость отбирали, микропробирки нагревали при 65 °С с открытой крышкой в течение 10 мин для испарения остатков растворителя. Очищенную ДНК элюировали с универсального сорбента TE-буфером.

Пробы очищенной ДНК хранили при температуре минус 20 °С и использовали по мере надобности для генетического тестирования (определения носительства аллелей). Качество и количество выделенной ДНК определяли спектрофотометрическим методом, используя спектрофотометр *BioDrop UV/VIS*, предназначенный для определения количественного состава и чистоты молекул ДНК, РНК и белков.

Генетическое тестирование

Референсная нуклеотидная последовательность гена *ADRB2* человека для разработки метода определения полиморфизмов Gly16Arg (rs1042713 G > A) и Gln27Glu (rs1042714 C > G) была получена нами из открытой научной базы Национального центра биотехнологической информации *NCBI* («*National Center for Biotechnological Information*») (вкладка «*Nucleotide*») – контиг NC_000005.10. Места указанных полиморфизмов были идентифицированы по фланкирующим

ОНП нуклеотидным последовательностям, которые также были найдены в базе *NCBI* (вкладка «*SNPs*»).

Используя референсную последовательность и каталоги сайтов узнавания эндонуклеаз рестрикции, были подобраны рестриктазы, с помощью которых можно различать аллельные варианты при замене одного нуклеотида (*Bsp19 I* для полиморфизма Gly16Arg и *BstV1 I* для полиморфизма Gln27Glu).

Затем, с помощью *on-line* программы с открытым доступом «*Primer-BLAST*» (*BLAST*, «*Basic Local Alignment Search Tool*», – семейство компьютерных программ, являющихся средством поиска основного локального выравнивания, то есть поиска гомологов белков или нуклеиновых кислот с известной первичной структурой), был осуществлен дизайн пары праймеров, с помощью которых можно амплифицировать фрагмент гена длиной 308 пар оснований, включающий оба исследуемых полиморфизма. При этом нам понадобилось внести однонуклеотидную замену в геном для генерирования сайта узнавания *Bsp19 I*. Данная замена была включена в последовательность праймера.

Выбранные праймеры имели следующую последовательность:

- **ADRB2 прямой: 5'-ССТТСТТГСТГГСАССССАТ-3'**;
- **ADRB2 обратный: 5'-GGAAGTCCAAAАСТСГСАССА-3'**.

Полученные последовательности праймеров были валидированы, то есть с помощью одного из приложений программы *BLAST* была собрана дополнительная информация о том, на каких еще последовательностях генома человека могут отжигаться сконструированные праймеры и какие неспецифические продукты амплификации могут при этом образовываться. Было определено, что выбранная нами пара праймеров не образует неспецифических амплифицированных молекул ДНК, которые были бы близки по длине изучаемому ампликону.

ПЦР проводили на амплификаторе «*Mastercycler*» производства фирмы Эппендорф, Германия. Состав реакционной смеси для ПЦР был следующим:

- 7,45 мкл деионизированной воды;
- 1,25 мкл 10x ПЦР-буфера-Б для Taq ДНК-полимеразы производства НПК «Синтол», Россия;

- 0,5 мкл смеси четырех дезоксирибонуклеотидтрифосфатов для ПЦР, концентрация каждого нуклеотида 25 мМ, производства НПК «Синтол», Россия;
- 2 мкл хлорида магния 25 мМ, производства НПК «Синтол», Россия;
- 0,1 мкл SynTaq ДНК-полимераза с ингибирующими активностью фермента антителами, 5 единиц активности в 1 мкл, производства НПК «Синтол», Россия;
- 0,2 мкл смеси раствора прямого и обратного праймеров 5 ОЕ (оптических единиц);
- 1 мкл амплификата.

Поверх реакционной смеси наносили слой минерального масла для ПЦР.

Программа ПЦР, равно как и содержание в реакционной среде хлорида магния, были подобраны эмпирически, с целью получения наибольшего выхода амплификата при отсутствии на электрофоретической картине неспецифических полос и шмеров.

Программа включала следующие стадии:

- 1) денатурация геномной ДНК – 95 °С 150 секунд;
- 2) денатурация ДНК – 95 °С 10 секунд;
- 3) отжиг праймеров – 70 °С 40 секунд;
- 4) синтез ДНК – 72 °С 15 секунд;
- 5) повтор стадий со 2-го по 4-й 40 раз (40 циклов);
- 6) финальная элонгация 72 °С 180 секунд.

Таким образом, на первом этапе происходила денатурация геномной ДНК. Затем следовали 40 циклов, включающих стадии денатурации, отжига праймеров и синтеза новых цепей ДНК на основе существующей матрицы. Финальная (терминальная) элонгация представляет собой дополнительную инкубацию реакционной смеси после заключительного, 40-го, цикла ПЦР в течение 3 минут при 72 °С. Терминальная элонгация не является строго, говоря обязательной стадией, но она способствует увеличению выхода реакции.

Получаемый нами ампликон имел следующую нуклеотидную последовательность:

5'-

*CCTTCTTGCTGGCACCCCATGGAAGCCATGCGCCGGACCACGACGTCACGCAG
CAAAGGGACGAGGTGTGGGTGGTGGGCATGGGCATCGTCATGTCTCTCATCG
 TCCTGGCCATCGTGTTTGGCAATGTGCTGGTCATCACAGCCATTGCCAAGTTC
 GAGCGTCTGCAGACGGTCACCAACTACTTCATCACTTCACTGGCCTGTGCTGA
 TCTGGTCATGGGCCTGGCAGTGGTGCCCTTTGGGGCCGCCCATATTCTTATGA
 AAATGTGGACTTTTGGCAACTTCTGGTGCGAGTTTTGGACTTCC-3'*

(обозначения: С – цитидиловый нуклеотид; Т – тимидиловый нуклеотид;
 G – гуаниловый нуклеотид; А – адениловый нуклеотид).

В приведенном фрагменте (ампликоне) серой фоновой заливкой выделены нуклеотидные последовательности, соответствующие последовательностям праймеров и связывающиеся с ними при помощи комплементарных водородных связей, жирным шрифтом и подчеркиванием – цитидиловый нуклеотид (вместо аденилового – замена произведена с помощью праймера для конструирования сайта узнавания эндонуклеазы рестрикции Bsp19 I), жирным шрифтом, подчеркиванием и увеличенным размером шрифта показаны положения обоих изучаемых полиморфизмов (приведена последовательность «дикого типа» – гаплотип rs1042713 G + rs1042714 C).

Таким образом, для идентификации аллеля полиморфизма Gly16Arg (rs1042713 G > A) была выбрана эндонуклеаза рестрикции Bsp19 I, сайт узнавания:

C↑CATGG

GGTAC↓C

Рестриктаза Bsp19 I разрезает аллельный вариант G (дикий тип) на фрагменты длиной 291 и 17 пар оснований; аллельный вариант A не разрезается. Рестрикция проводилась в закрытых микропробирках типа «Эппендорф» путем нагревания при температуре 37 °С с помощью твердотельного термостата «Термит» в течение ночи смеси, содержащей 1 мкл амплификата, 1 мкл 10х буфера 2W (20 mM Трис-НСl с рН = 8,5 при 25°С; 10 mM хлорида магния; 200 mM хлорида натрия; 1 mM дитиотриэтолл) с добавлением бычьего сывороточного

альбумина и 8 мкл деионизированной воды. Реакционная смесь находилась под слоем минерального масла для ПЦР.

Для идентификации аллеля полиморфизма Gln27Glu (rs1042714 C > G) была выбрана эндонуклеаза рестрикции BstV1 I, сайт узнавания:

GCAGC(N)8↑

CGTTCG(N)12↓

Рестриктаза BstV1 I разрезает аллельный вариант С (дикий тип) на фрагменты длиной 242 и 62 пары оснований; аллельный вариант G при этом не разрезается. Рестрикция проводилась в закрытых микропробирках типа «Эппендорф» путем нагревания при температуре 55 °С с помощью твердотельного термостата «Термит» в течение ночи смеси, содержащей 1 мкл амплификата, 1 мкл 10х буфера G (10 mM Трис-НСl с рН = 7,6 при 25 °С; 10 mM хлорида магния; 50 mM хлорида натрия 1 mM дитиотриэтолл) и 8 мкл деионизированной воды. Реакционная смесь находилась под слоем минерального масла для ПЦР.

Приведенные длины фрагментов указаны для одной из антипараллельных цепей, для другой в обеих реакциях наблюдается сдвиг места разреза на 4 пары оснований, неразличимый, впрочем, на фореze вследствие недостаточной разрешающей способности метода.

Количество рестриктазы, необходимой для рестрикции, определяли по формуле:

$$R = \frac{L_{\lambda} \times m_{\Phi}}{L_{\Phi} \times n_{\lambda}}, \quad (1)$$

где R – число единиц рестриктазы;

L_{λ} – длина ДНК фага λ , составляющее приблизительно 48500 п.н.;

m_{Φ} – масса продукта амплификации, предназначенного для рестрикции в мкг;

L_{Φ} – длина амплифицируемого фрагмента в п.н.;

n_{λ} – количество сайтов рестрикции для данной рестриктазы на ДНК фага λ .

Содержимое микропробирок после реакции рестрикции с фрагментированной амплифицированной ДНК пациенток отбирали с помощью

автоматического дозатора с вытянутым наконечником из-под масла и наслаивали на дно кармана 10%-го полиакриламидного геля под буфер. Электрофорез проводили с использованием буфера TBE (трис–борат–ЭДТА). При этом к пробам объемом 10 мкл добавляли 2 мкл буфера для внесения проб в гель, состав которого был следующим: 10 мМ трис-НСl с рН = 7,8, 40% глицерин, 40 мМ ЭДТА, 0,01%-й бромфеноловый синий, 0,01%-й ксиленцианол.

Фрагменты ДНК разделяли в камере для вертикального электрофореза VE-20 производства Компании Хеликон, Россия. Напряженность электрического поля составляла 10 В/см. Время, необходимое для полноценного разделения продуктов, рассчитывали, исходя из расстояния, пройденного лидирующими маркерными красителями бромфеноловым синим и ксиленцианолом, входящим в состав буфера для внесения проб в гель. Размер фрагментов определяли с помощью маркеров молекулярного веса, наносимых в количестве 150 нг в один из карманов в геле.

По окончании электрофореза гели окрашивали раствором бромистого этидия (1 мкг/мл) в течение 1 мин и визуализировали в ультрафиолетовом свете при длине волны 312 нм на трансиллюминаторе ТСХ-15 М производства «*Vilber Lourmat*», Франция.

Реактивы и расходные материалы

В данной работе использовались следующие ферменты и реактивы:

- SynTaq ДНК-полимераза с ингибирующими активностью фермента антителами, производство НПК «Синтол», Россия;
- эндонуклеаза рестрикции Bsp19 I производства ЗАО «СибЭнзим», Россия;
- эндонуклеаза рестрикции BstV1 I производства ЗАО «СибЭнзим», Россия;
- ПЦР-Буфер-Б для Taq ДНК-полимеразы, 10х (в конечном объеме концентрат буфера разводится в 10 раз), производство НПК «Синтол», Россия;
- дезоксинуклеозидтрифосфаты, концентрация 2,5 мМ, производство НПК «Синтол», Россия;

- хлорид магния, концентрация каждого нуклеотида 25 мМ, производство НПК «Синтол», Россия;
- вода высокой степени очистки, обработанная диэтилпиروкарбонатом (DEPC), производство – Компания «Евроген», Россия;
- тидиум бромид, биотехнологический уровень очистки 98,5%, «Amresco» США;
- агароза для электрофореза (Type II), биотехнологический уровень очистки, «Amresco», США;
- масло минеральное (ОСЧ), производство «ICN», США;
- акриламид, дважды очищенный кристаллизацией, стандартной очистки, 99,0%, «AppliChem», Германия;
- N,N'-метилден-бис-акриламид, биотехнологический уровень очистки 99,0 %, «Amresco», США;
- N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамин (TEMED), биотехнологический уровень очистки 99,0%, «Lancaster», Великобритания;
- маркер молекулярного веса «100 b.p.», водный раствор 200 мкг/мл, «СибЭнзим», Россия.

Химический синтез олигонуклеотидов, использованных в качестве праймеров для ПЦР, выполнен НПФ «Литех», Россия.

В нашей работе были использованы следующие одноразовые пластиковые расходные материалы.

- стерильные пластиковые пробирки вакуумные S-Monovette для взятия образцов крови с трикалиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты (КЗ-ЭДТА) в качестве антикоагулянта объемом 2,6 мл (65 × 13 мм), с этикеткой. Пробирки имеют заглушку (крышку), содержащую определенный объем вакуума и антикоагулянт, и предназначены для сбора, хранения и транспортировки крови для ряда медицинских анализов. Пробирка снабжена поршнем для создания вакуума пользователем перед взятием крови. Крышка пробирки имеет прокалываемую мембрану, выполненную из синтетического материала, и

специальный стопорный механизм для надежной фиксации иглы, иглы-бабочки или адаптера на пробирке. Производство – Германия;

– тонкостенные микропробирки на 0,6 мл, «QSP», Производство – США;

– пробирки неокрашенные Eppendorf объемом 2,0 мл, Safe Lock, стандарт PCR clean, изготовленные из полипропилена. Пробирки запираются плоской защелкивающейся крышкой. Небольшой крючок запора, охватывающий ободок пробирки, предотвращает случайное откидывание крышки. Пробирки имеют муаровую поверхность для нанесения надписей CD-маркером и градуировку. Они гарантированно не содержат ДНКаз, РНКаз, ПЦР-ингибиторов и ДНК человека. Производство – Германия;

– наконечники Vertex на 20 мкл, с фильтром, бесцветные, градуированные, в штативах (96 шт. в штативе). Производство – США;

– наконечники Vertex на 300 мкл, с фильтром, бесцветные, градуированные, стерильные (96 шт. в штативе). Производство – США;

– наконечники Vertex на 1000 мкл, с фильтром, бесцветные, градуированные, стерильные (96 шт. в штативе). Производство – США.

2.2.2. Методы исследования плода

Ультразвуковое исследование

Всем беременным при поступлении в стационар с 22–34 недели и при доношенном сроке беременности проводили ультразвуковой скрининг с помощью ультразвукового аппарата «*Toshiba-38A*» (Япония), работающего в реальном масштабе времени. Полученные результаты биометрии плода сравнивали с нормативными значениями, рассчитывая предполагаемую массу тела плода. Зрелость плаценты определяли по 4 степеням: 0, I, II, III. При УЗИ особое внимание уделяли длине шейки матки, состоянию внутреннего маточного зева, размерам «воронки», расположению плаценты, количеству околоплодных вод с расчетом индекса амниотической жидкости.

Доплерометрия

Доплерометрия параметров кровотока в сосудах системы мать–плацента–плод проводили при помощи ультразвукового сканера «Aloka SSD-2000» с применением трансабдоминальных датчиков частотой 3,5 и 5,0 МГц в режиме пульсовой доплеровской волны.

Кровоток в артерии пуповины измеряли при сканировании в непосредственной близости от пупочного кольца плода. Кривую скоростей кровотока (КСК) определяли в дуговых маточных артериях при поперечном сканировании матки в области нижнего маточного сегмента, на границе наружной и средней трети миометрия. Кровоток в средней мозговой артерии плода измеряли при горизонтальном сканировании головки плода на уровне ножек мозга и перекреста зрительных путей. При оценке КСК вычисляли систоло-диастолическое соотношение, равное отношению максимальной систолической скорости кровотока. В случае нулевых и отрицательных показателей диастолического компонента кровотока использовали индекс резистентности. Для одновременного учета изменений кровотока в маточно- и плодово-плацентарном звеньях рассчитывали плацентарный коэффициент. При этом за отклонение от нормальных значений принимались параметры, превышающие нормативы систоло-диастолического отношения (СДО) для маточной артерии и артерии пуповины более чем на два стандартных отклонения для соответствующего гестационного возраста. Параметры СДО в средней мозговой артерии у плода считали нормальными в случае превышения 4,4.

Аntenатальная кардиотокография

Для наблюдения за состоянием плода в III триместре беременности с 30-й недели гестации проводили антенатальную кардиотокографию методом неинвазивного ультразвукового зондирования, основанного на эффекте Доплера при абдоминальном расположении датчика. Исследование выполняли при помощи аппаратов 8030А фирмы «Hewlet Packard» (США), МТ-801 фирмы «Toitu»

(Япония) и современного многофункционального монитора «Феталгарт-2000», дополненного персональным компьютером с математическим обеспечением анализа кардиотокограмм в реальном масштабе времени. Запись осуществляли в течение 60 мин в положении беременной на боку. Скорость движения бумаги составляла 1 см/мин. При анализе кардиотокограмм определяли характер variability базального ритма сердечных сокращений плода, количество и амплитуду акцелераций, характер, амплитуду и количество децелераций.

2.2.3. Методы исследования новорожденных

Изучение здоровья новорожденных

Аntenатальное наблюдение и родоразрешение беременных проводилось в соответствии с действующими нормативными документами Минздрава России («Об утверждении порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)»: приказ Министерства здравоохранения от 01.11.2012 №572н с изменениями от 21.02.2020).

Для оценки условий внутриутробного развития плода и новорожденного использовали антропометрические параметры. Течение раннего неонатального периода было оценено у 120 новорожденных: 60 новорожденных от матерей с УПР в анамнезе (основная группа) и 60 новорожденных от матерей без данной патологии (контрольная группа).

Все дети сразу после рождения были осмотрены неонатологом. Обследование новорожденных включало оценку морфометрических показателей, которые сопоставляли с дифференцированными по полу ребенка таблицами центильного типа *Fenton T. R.* для недоношенных детей (Fenton T. R., Kim J. H., 2013) или по таблицам Дементьевой (Дементьева Г. М., 2000).

Клиническая оценка функционального состояния новорожденных определялась по шкале Апгар на первой и пятой минуте после рождения, тяжесть

синдрома дыхательных расстройств рассчитывалась по шкале Сильвермана – Андерсен. Инструментальная диагностика осложнений у новорожденных включала проведение нейросоноскопии, эхокардиографии, УЗИ внутренних органов и рентгенографии органов грудной клетки.

По показаниям новорожденные были осмотрены неврологом, окулистом, кардиологом, хирургом, генетиком.

Диагноз внутриутробной инфекции устанавливали по совокупности клинико-лабораторных и инструментальных изменений, отмеченных в первые 72 ч жизни, и результатов патоморфологического исследования последа. Для верификации возбудителя проводили бактериологическое исследование мазков из глаз, зева, кожи сразу после рождения.

Расчет индекса Пондерала

Индекс Пондерала (*Ponderal Index, PI*) представляет собой антропометрический индекс массы тела, который высчитывается по формуле: рост ребенка, деленный на массу его тела в третьей степени:

$$PI = \frac{M}{L^3} \times 100, \quad (2)$$

где M – масса, г,

L – длина тела, см.

Нормальной величиной индекса Пондерала является 2,2–3 (интервал в пределах 3-й и 97-й перцентилей). Значения индекса $< 2,0$ между 29-й и 37-й неделями и $< 2,25$ после 37-й недели указывают на гипотрофию плода. Этих детей также можно считать непропорциональными.

Таким образом, низкий индекс Пондерала может быть показателем асимметричного роста плода. Его значение увеличивается со сроком беременности. Значения взвешенного индекса $< 2,0$ между 29-й и 37-й неделями и $< 2,25$ после

37-й недели указывают на ограничение роста плода.

Дети от матерей с ранней преэклампсией при рождении весят меньше, и имеют индекс Пондерала ниже, по сравнению с детьми, рожденными женщинами с нормальным АД (Reynolds B. S., 2011).

Расчет оценки состояния новорожденного по шкале Апгар

Нами также использовалась система быстрой оценки состояния новорожденного по шкале, предложенная в середине XX века врачом-анестезиологом В. Апгар. В Таблице 1 приведено число баллов, начисляемых в соответствии с определяемыми физиологическими параметрами.

Оценку по шкале Апгар проводили на 1-й минуте после рождения ребенка и повторно осуществляли на 5-й минуте.

Таблица 1 – Балльная оценка состояния новорожденного, применяемая в шкале Апгар

<i>Параметр</i>	<i>Баллы</i>	<i>Оценка</i>
Частота сердечных сокращений (пульс)	0	отсутствует
	1	менее 100 ударов в минуту
	2	более 100 ударов в минуту
Дыхание	0	отсутствует
	1	замедленное, нерегулярное
	2	нормальное, громкий крик
Мышечный тонус	0	слабый
	1	сгибает ручки и ножки
	2	активно двигает ручками и ножками
Рефлексы	0	отсутствуют
	1	слабые
	2	ребенок кричит, вырывается, чихает
Цвет кожи	0	синюшный, бледный
	1	розовый, но синюшные ручки и ножки
	2	розовый по всему телу

2.2.4. Оценка безопасности применения гексопреналина

Оценка безопасности использования препарата заключалась в сборе информации о НР, возникающих в группе беременных, получавших токолитическую терапию.

Известно, что гексопреналин может способствовать возникновению головной боли, головокружения, беспокойства. При его применении также возможен мышечный тремор, потливость, боль в области сердца, развитие тахикардии либо желудочковой экстрасистолии, понижение АД, прежде всего диастолического, ослабление перистальтики кишечника, гипергликемия, повышение активности печеночных трансаминаз, гипокалиемия, уменьшение диуреза, отеки.

Такие же симптомы описаны и для случаев передозировки препарата, требующих введения неселективных β -адреноблокаторов.

Для определения степени достоверности причинно-следственной связи между развитием НР и применением лекарственного препарата мы использовали шкалу Наранжо (Naranjo C. A. et al., 1981; Aronson J. K., 2006, Астахова и др., 2001) и алгоритм Наранжо (Таблица 2).

Таблица 2 – Алгоритм Наранжо для оценки степени достоверности причинно-следственной связи «лекарственный препарат – нежелательная реакция»

	<i>Вопросы</i>	<i>Да</i>	<i>Нет</i>	<i>Неизвестно</i>
1.	Были ли ранее достоверные сообщения об этой НР?	+1	0	0
2.	НР возникла после введения (приема) подозреваемого лекарства?	+2	-1	0
3.	Улучшилось ли состояние больного (проявления НР) после прекращения приема препарата или после введения специфического антидота?	+1	0	0
4.	Возобновились ли НР после повторного введения препарата?	+2	-1	0
5.	Есть ли еще причины (кроме подозреваемого лекарства), которые могли вызвать НР?	-1	+2	0
6.	Было ли лекарство обнаружено в крови (или в других жидкостях) в концентрациях, известных как токсические?	+1	0	0

Продолжение Таблицы 2

7.	Была ли НР более тяжелой после увеличения дозы и менее тяжелой после ее уменьшения?	+1	0	0
8.	Отмечал ли больной аналогичную реакцию на то же или подобное лекарство при прежних его приемах?	+1	0	0
9.	Была ли НР подтверждена объективно?	+1	0	0
10.	Отмечалось ли повторение НР после назначения плацебо?	-1	+1	0

Категории степени достоверности причинно-следственной связи «лекарственный препарат – НР» по шкале Наранжо в результате ответов на 10 вопросов определяются как:

- 9 и более баллов – «Определенная»;
- 5–8 баллов – «Вероятная»;
- 1–4 балла – «Возможная»;
- 0 и менее баллов – «Сомнительная».

После определения причинно-следственной связи дальнейшему анализу подвергались только следственные связи с высокой степени достоверности («определенная», «вероятная» и «возможная») (Астахова А. В., 2001, 2008).

2.2.5. Статистическая обработка результатов

Все полученные результаты наблюдения и обследования вносили в специально разработанную тематическую карту и в электронные таблицы MS Excel. В работе применялись следующие методы обработки данных (Гланц С., 1998; Петри А. и др., 2019):

- методы описательная статистика (вычисление медианы, асимметрии распределения, квартилей Q1 и Q3);

- критерий согласия Пирсона χ^2 для таблиц сопряженности признаков 2×2 и 2×3 (для сравнения частот встречаемости признаков в анализируемых группах), в том числе с использованием поправки Йейтса (для большей достоверности при повторном анализе части уже проанализированных данных);

– непараметрический двусторонний U-критерий Манна – Уитни для несвязанных совокупностей (по результатам предшествующей проверки на нормальность; выбор данного критерия обусловлен его наибольшей мощностью для рассматриваемых групп);

– непараметрический односторонний дисперсионный анализ Краскела – Уоллиса для проверки равенства медиан нескольких выборок;

– расчет отношения шансов (при анализе бинарных признаков).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ *SPSS Statistics 22* и онлайн-калькулятора *Social Science Statistics* <https://www.socscistatistics.com/>

За уровень статистической значимости был принят $p < 0,05$.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1. Клиническая характеристика пациенток, вошедших в исследование

В проспективное клиническое исследование «случай – контроль» по изучению эффективности и безопасности токолитической терапии гексопреналином включено 60 беременных с УПР, получавших лечение стимулятором β_2 -адренорецепторов гексопреналином, которые составили основную группу. Контрольную группу составили 60 беременных без УПР, родившие в срок > 37 недель и не получавшие токолитической терапии.

В Таблице 3 представлены данные по возрасту и антропометрическим показателям у беременных основной и контрольной групп.

Таблица 3 – 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

При анализе полученных данных было установлено отсутствие достоверных различий между беременными основной и контрольной групп по таким параметрам как возраст, рост, масса тела и ИМТ. По параметру возраста значения медиан практически не отличались от среднеарифметических значений; в основной группе наблюдалась несущественная правосторонняя асимметрия ($A_s = 0,186$), в контрольной – несущественная левосторонняя асимметрия ($A_s = -0,564$). Также обе выборки достоверно не различались по показателям роста и массы тела, а также ИМТ. У беременных основной группы средний рост составлял 167±4,5 см (от 154

до 178 см), а в контрольной – $166 \pm 5,9$ (от 160 до 178 см). Масса тела (измеренная на начало беременности) у женщин основной и контрольной групп была сопоставимой и составляла $66 \pm 9,6$ и $68 \pm 11,5$ кг соответственно. Полученные нами результаты позволяют рассматривать обе группы пациенток как сопоставимые.

Известно, что дефицит массы тела и недостаточная прибавка ее у беременных может обуславливать развитие осложнений беременности и повышать вероятность неблагоприятных перинатальных исходов, формирование синдрома задержки развития плода, не вынашивание беременности. Тем не менее, влияние фактора дефицита массы тела на УПР не является однозначным (Сурина М. Н., Чванова Е. А., 2018). В исследовании Колосовой Т. А. и Гуменюк Е. Г. была выявлена тенденция к увеличению частоты НР у беременных с дефицитом массы тела ($n = 569$), по сравнению с таковыми при нормальной комплекции ($n = 222$) (3,9% и 1,8%, соответственно) (Колосова Т. А., Гуменюк Е. Г., 2008). Возможно, что и ожирение может способствовать развитию УПР (Телепнева, 2020).

Нами проанализированы данные акушерского анамнеза (количество беременностей, количество родов, число проведенных прерываний беременности, число выкидышей) Таблица. 4.

Таблица 4 – Показатели акушерского анамнеза беременных основной и контрольной групп

Показатель	Группа		Критерий χ^2
	основная ($n = 60$)	контрольная ($n = 60$)	
Роды			
1	27	35	$p = 0,109$
2	29	18	
3	4	6	
4 и более	–	1	
Самопроизвольный выкидыш	19	0	
1	12		–
> 1	7		
Количество неразвивающихся беременностей	0	2	–
Аборты > 1	18	13	$p = 0,817$

Продолжение Таблицы 4

1	12	8	
> 1	6	5	

Было установлено, что пациентки основной группы статистически не отличаются от контрольной группы по количеству родов в анамнезе, а также по числу детей (включая родившихся в результате текущей беременности), 97 ребенка в основной против 94 в контрольной (критерий χ^2 с поправкой Йейтса: $p = 0,985$). При этом количество многодетных женщин среди пациенток контрольной группы было выше (7 против 4). При этом различие с основной группой не было достоверным (критерий χ^2 с поправкой Йейтса: $p = 0,40$). Количество женщин с указанными в анамнезе на прерывание беременности в основной и контрольной группах также статистически не различалось.

Таким образом, сопоставление показателей акушерского анамнеза у беременных основной и контрольной групп выявило отсутствие статистических различий как по количеству рожденных детей, так и по количеству женщин, имеющих указания на прерывание беременности. Число неразвивающихся беременностей было недостаточным для проведения статистического сравнения вероятности возникновения этой патологии в исследуемых группах. Число самопроизвольных выкидышей в анамнезе у беременных с УПР основной группы было очень высоким: они наблюдались у 20% женщин. При этом у 4 из них (6,7%) было по два или более выкидыша. Поскольку среди пациенток контрольной группы отсутствуют указания на наличие выкидышей в анамнезе, определить p -значение наблюдающегося различия не представлялось возможным. При этом не вызывает сомнения, что такие явления как самопроизвольный выкидыш в анамнезе и УПР тесно связаны между собой.

Нами проанализированы наиболее часто встречающиеся заболевания, имеющиеся в анамнезе беременных основной и контрольной групп (Таблица 5).

Сопоставление заболеваний, перенесенных пациентками до наблюдаемой беременности, не позволило нам выявить каких-либо закономерностей, объясняющих причины возникновения УПР. Многие заболевания редки и

наблюдаются только в одной из групп: основной или контрольной. У женщин с УПР ранее встречались детские инфекции, заболевания мочеполовой системы (хронический цистит, пиелонефрит, мочекаменная болезнь), генетическая (наследственная) форма тромбофилии, гипопроконвертинемия (дефицит VII фактора), гипотиреоз, артериальная гипертензия, хронический тонзиллит, нейродермит, сахарный диабет II типа, фиброзно-кистозная мастопатия, синдром Ашермана, хронический гастрит, хроническая анемия. Некоторые женщины лечились от бесплодия.

Таблица 5 – Заболевания, перенесенные женщинами до настоящей беременности

Заболевания	Группа		Критерий χ^2 с поправкой Йейтса
	основная (n = 60)	контрольная (n = 60)	
Детские инфекции*	32 (53%)	44 (73%)	$p = 0,037^{**}$
Миома матки	0 (0%)	4 (6,7%)	–
Болезнь Жильбера	0 (0%)	2 (3,3%)	–
Хронический цистит	12 (20%)	5 (8%)	$p = 0,116$
Пиелонефрит	5 (8%)	13 (22%)	$p = 0,073$

* – детские инфекции: краснуха, ветряная оспа, паротит.

** – достоверные различия.

Мы обнаружили, что детские инфекции достоверно реже встречались в анамнезе у беременных с УПР ($p = 0,037$). Также у женщин данной группы наблюдалась тенденция к большей заболеваемости хроническим циститом и меньшей – пиелонефритом.

Нами были проанализированы особенности течения данной (текущей) беременности, наблюдающиеся у пациенток основной и контрольной групп (Таблица 6).

Таблица 6 – Особенности течения данной беременности

Осложнения, беременности	Группа		Критерий χ^2 с поправкой Йейтса
	основная (n = 60)	контрольная (n = 60)	
Угрожающие преждевременные роды	60 (100%)	0 (0%)	–

Продолжение Таблицы 6

Анемия беременных легкой и средней степени	16 (27%)	13 (22%)	$p = 0,670$
Вульвовагинит	0 (0%)	5 (8%)	–
Активация внутрисосудистого свертывания крови	1 (1,7%)	0 (0%)	–

У всех беременных, основной групп имелись указания на УПР. Кроме того, встречалась анемия беременных легкой и средней степени, а также у одной пациентки – активация внутрисосудистого свертывания крови из-за наследственной тромбофилии. Доля беременных с анемией в основной и контрольной группе достоверно не различалась (критерий χ^2 с поправкой Йейтса, $p = 0,670$).

3.2. Особенности срока родов и клиническая характеристика новорожденных у пациенток с угрозой преждевременных родов

В процессе исследования нами были проведены сравнительный анализ гестационного срока беременности, на котором произошли роды, у пациенток основной и контрольной групп (Таблица. 7).

Таблица 7 – Срок гестации при котором произошли роды

Гестационный срок родов	Группа		
	основная (n = 60)	контрольная (n = 60)	
менее 34 недель	1	61%	
34-я неделя	2		
35-я неделя	3		
36-я неделя	10		
37-я неделя	5		
38-я неделя	16		

Продолжение таблицы 7

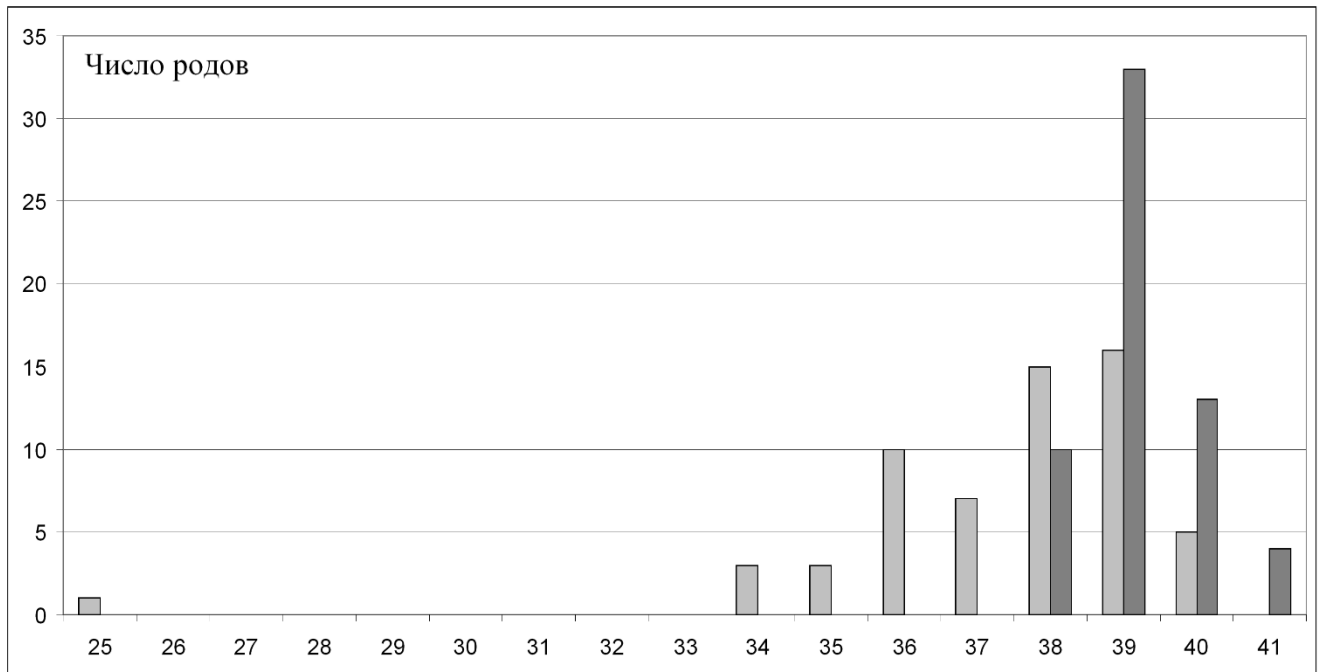
39-я неделя	18	39%	33	83%
40-я неделя	5		13	
41-я неделя	–		4	

$p < 0,00001$

Средний гестационный срок родов среди пациенток с УПР, применявших токолитическую терапию (основная группа), составил $38 \pm 5,1$ недель. Среди них ПР произошли у 21 женщины (35%). Самые ранние роды среди женщин с УПР были на 25-й неделе, самые поздние – на 40-й.

Средний гестационный срок родов среди женщин контрольной группы составил $39 \pm 0,6$ недель. Среди них не было случаев ПР. Самые ранние роды в контрольной группе были на 38-й неделе, самые поздние – на 41-й.

Мы выявили достоверные различия гестационного срока родов у женщин основной и контрольной групп. При этом подтвердить достоверные различия математически достаточно проблематично, что обусловлено отсутствием среди пациенток контрольной группы указаний на роды, произошедшие ранее физиологической нормы. Таким образом часть полей в статистическом калькуляторе остается незаполненной. Мы можем определить достоверность различий, только приняв за пороговое значение гестационный срок 38 недель. Ранее 38 недель в основной группе родили 61% женщин, а в контрольной – 17% (критерий χ^2 , $p < 0,00001$). Распределение сроков наступления родов в основной и контрольной группах приведены на рисунке (Рисунок 2).



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

Рисунок 2 – Гестационный срок родов у женщин, получавших токолитическую терапию, в контрольной группе

Нами установлено, что мода гестационного срока родов в обеих группах, обследованных совпадает (39-я неделя) и находится в области нормальных значений. При этом однако в контрольной группе разброс гестационного срока родов составляет ± 2 недели, наступление родов в этой группе находится в пределах референсных значений нормы. У женщин основной группы гестационный срок родов характеризуется значительным разбросом (от 25-й до 40-й недели).

Согласно литературным данным, среди детей, родившихся в сроке гестации 28–33 недели, обычно наблюдаются наиболее тяжелые осложнения недоношенности, требующие в большинстве случаев интенсивной терапии и/или реанимационных мероприятий. Частота и тяжесть осложнений недоношенности возрастают с уменьшением гестационного возраста и массы тела новорожденных (Доклад ВОЗ, 2012; Николаева Г. В., Кантаржи Е. П., 2018). Проведенные нами мероприятия позволили пролонгировать срок родов минимум до 34-й недели, у подавляющего большинства пациенток 98,3% ($n = 59$) удалось избежать тяжелых последствий для новорожденных.

В наблюдаемой нами группе пациенток большинство родов произошло через естественные родовые пути (Таблица. 8). При этом у пациенток с УПР достоверно чаще проводилось кесарево сечение – 32% против 1,7% в контрольной группе ($p = 0,000031$). Кесарево сечение осуществляли в процессе родов либо в связи с ухудшением функционального состояния плода, либо с различными аномалиями родовой деятельности (экстренное кесарево сечение).

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

При изучении параметров и жизнедеятельности новорожденных было установлено, что средняя масса тела детей, родившихся от матерей основной группы, составила 3090 г.; значения квартилей Q_1 – Q_3 – 2900 г и 3385 г соответственно.

Таблица 8 – Особенности родов у пациенток, получавших токолитическую терапию, в контрольной группе

Особенности родов	Группа		Критерий χ^2 с поправкой Йейтса
	основная (n = 60)	контрольная (n = 60)	
Роды в срок	36 (60%)	60 (100%)	–
Преждевременные роды	21 (35%)	0 (0%)	
Самопроизвольные роды	41 (68%)	59 (98,3%)	$p = 0,000031$
Кесарево сечение	19 (32%)	1 (1,7%)	

В контрольной группе масса тела новорожденных составила 3250 г; значения квартилей Q_1 – Q_3 – 3070 г и 3530 г соответственно. Установлено, что масса тела новорожденных в основной группе в среднем была достоверно ниже, чем в контрольной (Таблица. 9). Несмотря на существенные различия по массе тела, рост новорожденных в основной и контрольной группах, достоверно не различался (критерий Манна – Уитни, $p = 0,772$).

Новорожденные от матерей основной и контрольной групп имели достоверные различия по физиологическому статусу. При этом средний балл по шкале Апгар сопоставим: 8 баллов на 1-й минуте как в основной, так и в контрольной группе; а на 5-й минуте 8 баллов в основной и 9 в контрольной группах. Нами установлено, большинство пациенток обеих клинических групп родили доношенных детей, не нуждающихся в специализированном медицинском уходе. При этом проведенный статистический анализ показал, что новорожденные от матерей основной и контрольной групп достоверно различались, по количественной оценке, по шкале Апгар. Наиболее выраженные различия получили на 5-й минуте жизни (см. Таблицу 9). На Рисунке 3 продемонстрировано распределение новорожденных от матерей основной и контрольной групп в зависимости от их оценки по шкале Апгар на 1 и 5 минуте жизни.

При индивидуальной оценке состояния новорожденных от матерей основной группы было установлено, что они имели более низкую оценку по шкале Апгар на 1 минуте жизни по сравнению с группой контроля, $p = 0,0156$. Так оценку по шкале Апгар ≤ 6 баллов имели 8% новорожденных основной группы и только 5% контрольной. Оценка по шкале Апгар 7 баллов имели 40% новорожденных основной группы и только 17% контрольной.

Аналогичная закономерность прослеживалась и на 5 минуте жизни. Так оценку ≤ 7 баллов имели 12% детей основной группы и только 5% контрольной. На 9 баллов по шкале Апгар были оценены только 18% новорожденных основной группы и 55% из группы контроля, $p = 0,00045$. Индекс Пондерала у новорожденных, рожденных матерями основной и контрольной групп, достоверно не различались (Таблица 9).

Таблица 9 – 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)	p = 0,004*
Рост новорожденного, см	51 (50–51)	50 (49,5–51)	p = 0,772
Оценка по шкале Апгар на 1-й минуте, баллы	количество детей		p = 0,0156*
≤ 6	5	3	
7	19	7	
8	36	50	
9	-	-	
Средний балл	8	8	
Оценка по шкале Апгар на 5-й минуте, баллы	количество детей		p = 0,000459*
≤ 6	1	1	
7	6	2	
8	42	24	
9	11	33	
Средний балл	8	9	
Индекс Пондерала	2,38 (2,26–2,55)	2,51 (2,42–2,67)	p = 0,203

* – достоверные различия.

Для сопоставления количественных характеристик использовался односторонний критерий Манна – Уитни; для сопоставления баллов по шкале Апгар – критерий χ^2 . Даны значения медиан, в скобках указаны квартили (Q1–Q3)

Важно отметить, что среди пациенток в основной группе только один ребенок родился в результате самопроизвольных преждевременных родов на 25-й неделе и имел оценку по Апгар на 1-й минуте 3 балла и 4 балла на 5-й. Сразу же после рождения он был переведен в отделение реанимации. Таким образом, нами установлено, что новорожденные родившиеся от матерей основной и контрольной групп, достоверно различались по массе тела и оценке по шкале Апгар на 1-й и

5-й минутах жизни. При этом только часть детей у матерей основной группы родились преждевременно. Такие показатели как рост новорожденного и индекс

Пондерала у детей от матерей основной и контрольной групп достоверно не различались. Эти наблюдения косвенно указывают на высокую эффективность токолитической терапии гексопреналином.

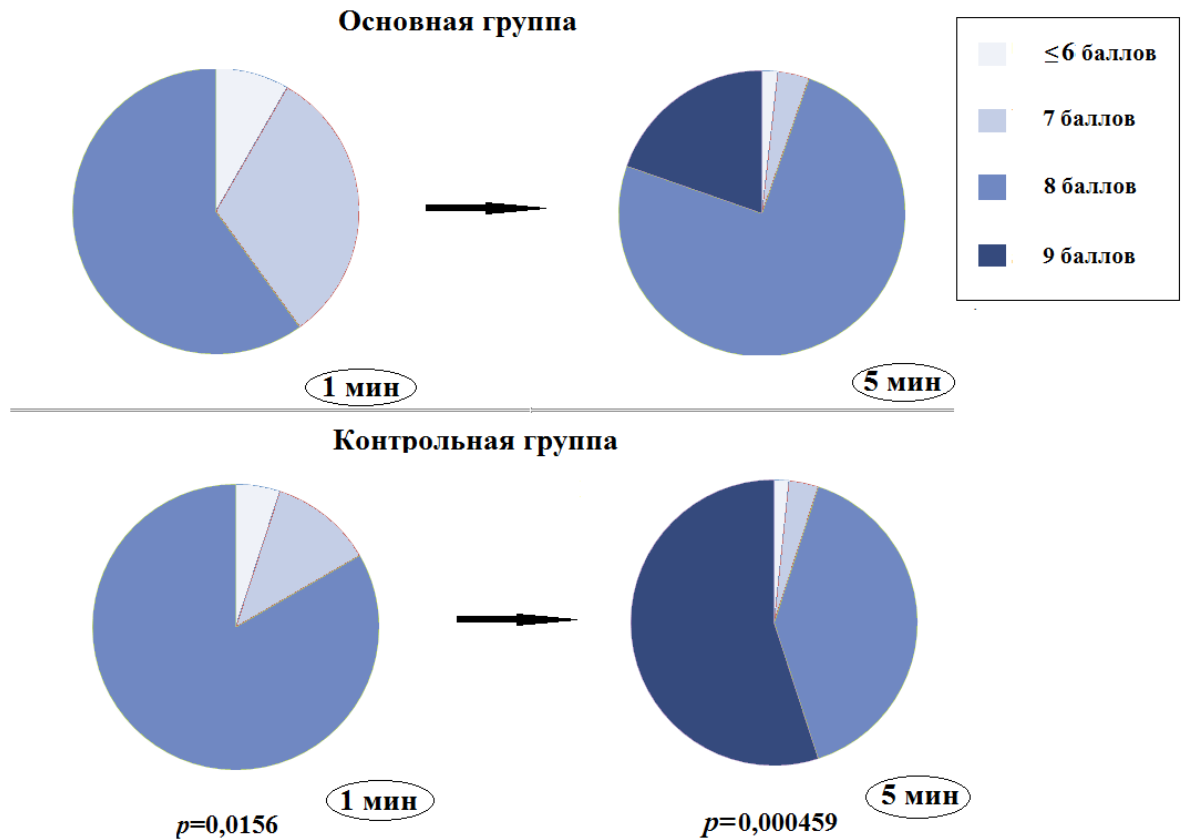


Рисунок 3 – Распределение новорожденных от матерей основной и контрольной групп в зависимости от оценки по шкале Апгар на 1-й и 5-й минутах жизни

Среди пациенток основной группы глубокая степень недоношенности (менее 1 кг) наблюдалось только у 1 новорожденного, средняя степень недоношенности (менее 2,5 кг.) также у одного. Все остальные дети имели недоношенность легкой степени или даже нормальный вес. Так, 75% новорожденных от матери основной группы, имели массу тела более 2900 г. (уровень $Q1$). Анализ перинатальных исходов токолитической терапии, свидетельствует о высокой эффективности применения которой, тем не менее, не всегда позволяет пролонгировать беременность до физиологического срока родов.

Особо вариабельными признаками, свидетельствующими о недостаточной эффективности токолитической терапии (гексопреналином), согласно полученным

нами результатам, могут быть масса тела новорожденного и его оценка по шкале Апгар.

В последующем мы проанализировали перинатальные исходы у беременных с УПР – носителей различных аллелей и генотипов полиморфизмов Gly16Arg и Gln27Glu гена *ADRB2*.

3.3. Сопутствующая терапия

В Таблице 10 приведены данные по лечению УПР, включая сопутствующую терапию.

Таблица 10 – Виды лекарственной терапии, применяемой пациенток основной и контрольной групп

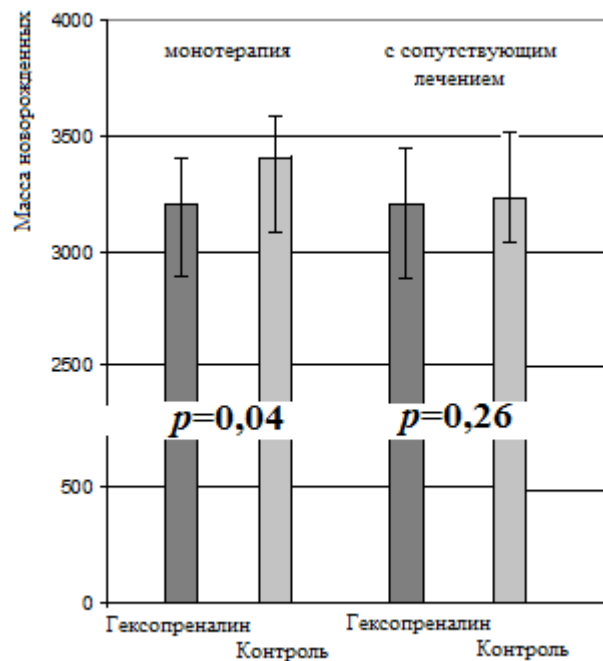
<i>Вид терапии</i>	<i>Группа</i>	
	Основная (n = 60)	Контрольная (n = 60)
Гексопреналин в виде монотерапии	22 (36,7%)	–
Гексопреналин в сочетании с другими ЛС не токолитического действия	38 (63,3%)	–
Медикаментозное лечение без токолитической терапии	–	39 (65%)
Не получали никаких ЛС	–	21 (35%)

Было установлено, что 36,7% беременных с УПР не применяли других ЛС, кроме гексопреналина. Это значение сопоставимо количеству беременных контрольной группы, не получающих никаких ЛС (35%).

Мы проверили предположение, что сопутствующая лекарственная терапия может существенным образом повлиять на исход беременности. На Рисунке 4 представлена масса тела новорожденных от матерей основной и контрольной групп в зависимости от вида токолитической терапии (монотерапия гексапреналином или его сочетание с другими ЛС).

Установлено, что новорожденные, матери которых получали во время беременности гексопреналин в виде монотерапии, имели достоверно меньшую массу тела по сравнению с контрольной группой, матери которых не получали никаких ЛС: 3200 г (2900–3400) против 3400 г (3100–3600) ($p = 0,04$). Масса тела

новорожденных от матерей, получавших гексопреналин в сочетании с другими ЛС различной целевой направленности, и от матерей контрольной группы, получавших несколько ЛС различной направленности, достоверно не различалась: 3180 г (2900–3470) против 3232 г (3040–3520) ($p = 0,26$). Это доказывает, что наличие или отсутствие сопутствующей терапии в нашем исследовании не отражалось на массе тела новорожденных и не влияло на перинатальные исходы.



Показаны значения медиан и интервал между квантилями Q_1 – Q_3 . Применялся двусторонний критерий Манна – Уитни

Рисунок 4 – Масса тела новорожденных, матери которых применяли токолитическую терапию во время беременности в виде монотерапии гексапреналином и при назначении нескольких лекарственных средств различной направленности.

В Таблице 11 представлены данные о ЛС, назначаемых пациенткам, принявшим участие в нашем исследовании. Статистический анализ не выявил существенных закономерностей, но обнаружил явную тенденцию к большему числу применяемых ЛС в группе беременных с УПР. Причина этого наблюдения, очевидно, комплексная, связанная с большей потребностью в лечении пациенток данной группы, большей их приверженностью к лечению, а также с возможным наличием у них заболеваний, требующих дополнительного внимания. Кроме того,

было обнаружено, что беременные основной группы достоверно реже применяли комплексы витаминов (13,3% против 35% в контроле). Многие ЛС применялись редко. По ним не удалось составить какое-либо существенное заключение.

Таблица 11 – Лекарственные препараты, назначаемые беременным основной и контрольной групп

Международное непатентованное название (МНН) лекарственного препарата	Группа		χ^2 с поправкой Йейтса
	Основная (n = 60)	Контрольная (n = 60)	
Прогестерон (до 16-й недели)	5 (8,3%)	13 (21,7%)	$p = 0,073$
Витамины	8 (13,3%)	21 (35%)	$p = 0,011$
Актовегин	5 (8,3%)	2 (3,3%)	$p = 0,436$
Пентоксифиллин	4 (6,7%)	2 (3,3%)	$p = 0,675$
Эноксапарин натрия	8 (13,3%)	2 (3,3%)	$p = 0,099$
Дексаметазон	2 (3,3%)	–	–
Папаверин	2 (3,3%)	–	–
Метилпреднизолон	2 (3,3%)	–	–
Надропарин кальций	3 (5%)	–	–
Гиосцина бутилбромид	7 (11,7%)	1 (1,7%)	$p = 0,067$
Нифедипин	5 (8,3%)	2 (3,3%)	$p = 0,436$
Препарат лактобактерий	2 (3,3%)	–	–
Дидрогестерон	9 (30%)	2 (3,3%)	$p = 0,058$
Дротаверин	2 (3,3%)	1 (1,7%)	$p = 1$
Левотироксин натрия	2 (3,3%)	5 (8,3%)	$p = 0,436$
Бетаметазон	2 (3,3%)	–	$p = 1$
Препараты железа	5 (8,3%)	5 (8,3%)	–
Джозамицин	2 (3,3%)	–	–
Флуконазол	1 (1,7%)	–	–
Калия йодид	3 (5%)	3 (5%)	$p = 1$
Диуретики растительного происхождения	2 (3,3%)	3 (5%)	$p = 1$
Аминофиллин	2 (3,3%)	–	–
Метилдопа	–	4 (6,7%)	–

В процессе исследования мы изучили НР, развивающиеся у беременных с УПР на фоне терапии гексопреналином (Таблица 12).

Таблица 12 – Нежелательные реакции у беременных получающих гексопреналин парентерально для предотвращения угрозы преждевременных родов

Доза гексопреналина внутривенно капельно	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

Нами выявлено два типа НР, наблюдавшиеся при применении гексопреналина: тахикардию, зафиксированную у 45% беременных (27 женщин), и головную боль, развившуюся у 9% (5 женщин) у одной беременной наблюдались обе НР: и тахикардия, и головная боль. Было установлено, что частота появления тахикардии не связана с дозой гексопреналина. Так, доля пациенток с тахикардией при различных дозировках токолитика оставалась неизменной. Головная боль наблюдалась у беременных намного реже.

3.4. Результаты генетического тестирования беременных с угрозой преждевременных родов, получавших гексопреналина, и беременных контрольной группы

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

В Таблице 13 приведены частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма Gly16Arg гена *ADRB2* в группах беременных с УПР и беременных контрольной группы, а также результаты проверки их соответствия частотам встречаемости генотипов, рассчитанным с помощью уравнения Харди–Айсберга.

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, $p = 0,028$).

Таблица 13 – Проверка соответствия наблюдающихся частот встречаемости генотипов полиморфизма Glee16Argo гена *ADRB2* теоретическим, рассчитанным на основании закона Харди – Вайнберга

<i>Аллель / генотип</i>	<i>Частоты встречаемости аллелей / число носителей генотипов</i>	<i>Число генотипов рассчитанное</i>	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	

При сопоставлении данных было обнаружено, что частоты генотипов полиморфизма 16Arg/Gly гена *ADRB2* также достоверно различаются ($p = 0,0499$) (Рисунок 5).

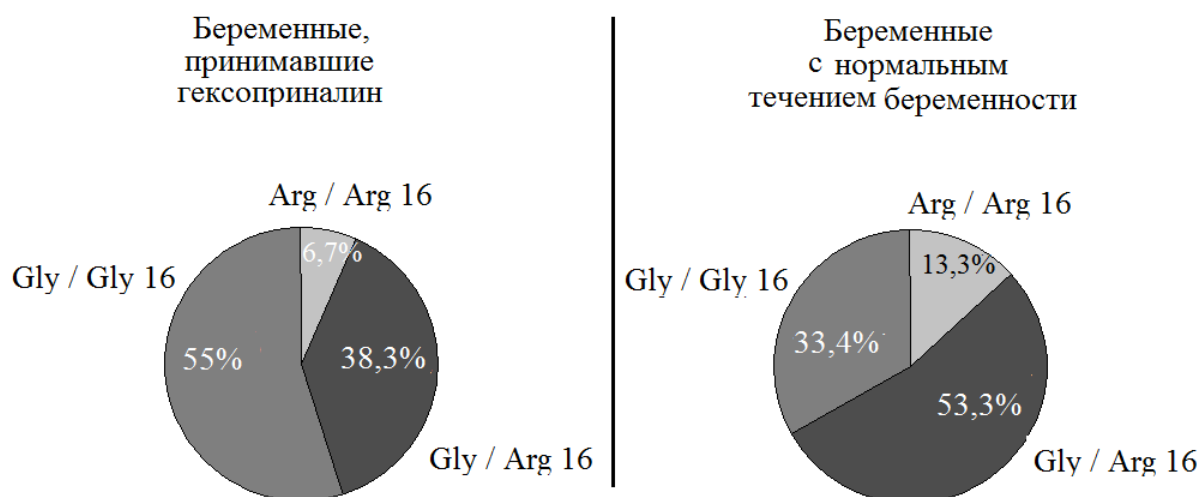


Рисунок 5 – Распределение частот генотипов полиморфизма Gly16Arg гена ADRB2 в группах, беременных получавших и не получавших гексопреналин (критерий χ^2 ; $p = 0,0499$)

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 между выборками по его частоте встречаемости в 1,65 раза наиболее достоверны (χ^2 $p = 0,017$, и с поправкой Йейтса $p = 0,027$).

Таким образом, мы пришли к заключению, что носительство аллеля 16Gly, а также генотип 16Gly/Gly ассоциированы с повышенной УПР, тогда как генотип 16Arg/Arg и, в целом, носительство аллеля 16Arg, выступает протективным признаком, связанным со сниженной УПР.

Ранее *Miller et al.* продемонстрировали, что гомозиготный генотип гена ADRB2, кодирующий вариант 16Arg/Arg, ассоциирован с замедлением активных родов. Авторы работы объясняют данную особенность связью между генотипом ADRB2 и преждевременными родами, обусловленную реакцией матери на циркулирующие эндогенные катехоламины или фармакологические стимуляторы

β_2 -адренорецепторов, вызывающий изменение порога преждевременных родов (Miller R. S. et al., 2011).

На Рисунке 6 и в Таблице 14 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.

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: $p = 0,587$).

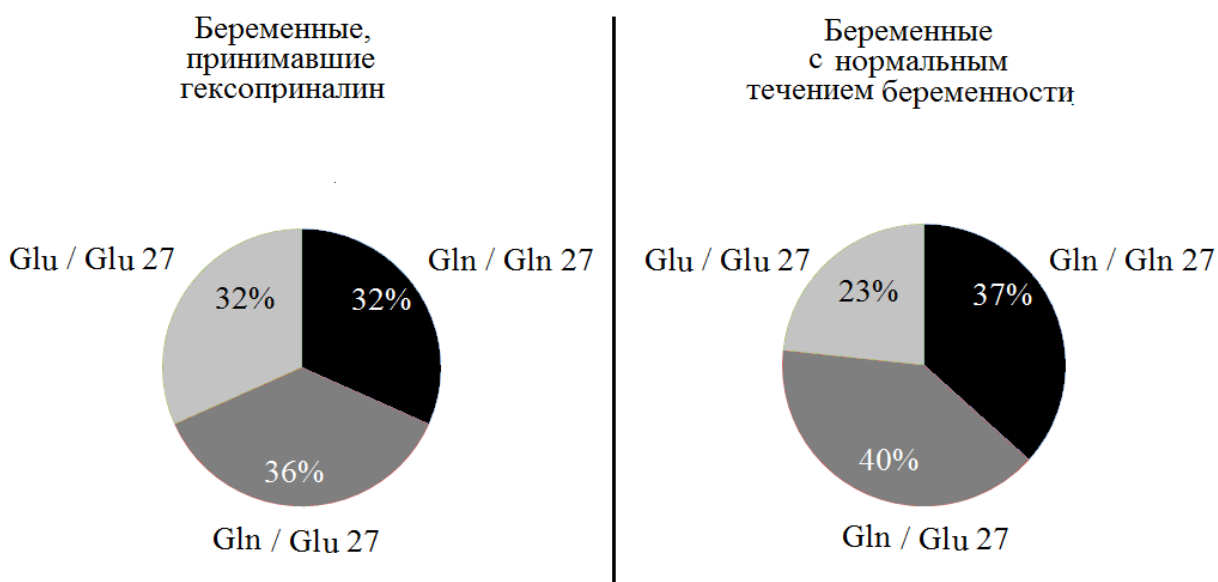


Рисунок 6 – Распределение частот генотипов полиморфизма Glu27Gln гена *ADRB2* в основной и контрольной группах беременных (критерий χ^2 ; $p = 0,587$)

Таблица 14 – 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	p
Основная группа				
27Gln	0,50			
27Glu	0,50			

Продолжение Таблицы 14

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		

В Таблице 15 приведены частоты встречаемости аллелей гена *ADRB2* полученные нами в сравнении с данными других исследователей, работавших на больших выборках представителей разных этнических групп.

Таблица 15 – Сопоставление частот минорных аллелей полиморфизмов Gly16Arg Gln27Glu гена *ADRB2* в исследуемых выборках с частотами других этнических групп

Выборка	Частоты встречаемости минорного аллеля гена <i>ADRB2</i>	
	Аллель 16Arg	Аллель 27Glu
Беременные с УПР (русские)	26%	50%
Беременные контрольной группы (русские)	40%	43%
Европейцы*	39%	41%
Восточная Азия*	55%	7%
Африка*	52%	14%
Среднемировые значения*	48%	20%

* – данные по этническим частотам полиморфизмов взяты из базы www.ensembl.org

Как можно заметить из приведенных в таблице данных, частоты аллелей изучаемых нами полиморфизмов в группе здоровых беременных вполне соответствуют частотам, известным для европеоидной расы. У женщин с УПР частота аллеля 16Arg достоверно ниже, а аллеля 16Gly несколько выше, чем у женщин контрольной группы. При этом аллель 16Arg только у европейцев является

минорным: у монголоидов и негроидов частота встречаемости данного аллеля находится на уровне 52–55%. Заметно, что межрасовые различия частот полиморфизма Gly16Arg гена *ADRB2* невелики. Если учесть выявленную ассоциацию аллеля 16Gly с УПР, то влияние данного фактора в Европе должно быть выражено несколько в большей степени, чем в Азии и Африке, поскольку частота «патологического» аллеля в европейской популяции в 1,2–1,4 раза выше.

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 взяты 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 литературе этим трем гаплотипам присвоили обозначения H_A (16Arg+27Gln), H_B (16Gly+27Gln) и H_{C2} (16Gly+27Glu) (Cagliani R. et al., 2009).

Известно, что физиологическое и терапевтическое значение имеют не аллели гена *ADRB2*, обусловленные отдельными полиморфизмами, а уникальные взаимодействия нескольких ОНП в рамках гаплотипа. Именно генотип, состоящий из двух устойчивых в популяции гаплотипов, определяет фенотип индивидуума, тогда как отдельным ОНП в качестве биомаркеров свойственна низкая прогностическая сила (Drysdale C. M. et al., 2000).

В Таблице 16 приведены показатели, связанные с особенностями течения родов, а также НР, у женщин с различными генотипами *ADRB2*. Интерпретация результатов генотипирования (носительство гаплотипов) проводилась на основании информации о носительстве в европеоидной популяции трех гаплотипов, различающихся по уровню экспрессии.

У пациенток основной группы НР произошли в 35% случаев; в 65% удалось пролонгировать срок родов до более чем 37 недель. Только в трех случаях (два в группе получающих гексопреналин и один – в контрольной группе) масса тела новорожденного была меньше 2500 г. Кесарево сечение применяли в данной группе в 31%, из которых 1/3 пришлось на срок менее 37 недель гестации.

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).

Таблица 16 – Влияние генотипа *ADRB2* на особенности родового акта и НР у пациенток основной и контрольной групп

<i>Генотип ADRB2 матери</i>	<i>Группа наблюдения</i>	<i>Кесарево сечение</i>	<i>Преждевре- менные роды</i>	<i>НР на гексопреналин</i>
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	–	–	–

Продолжение таблицы 16

16Gly27Gln	Основная, n = 8	4 (50%)	5 (62%)	44% (тахикардия)
+16Gly27Gln (III/III)	Контрольная, = 3	–	–	–
<i>p</i> *	–	<i>p</i> < 0,000 01	–	–

* – 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)

У носительниц генотипов 16Arg27Gln+16Arg27Gln; 16Gly27Glu+16Gly27Gln; 16Arg27Gln+16Gly27Gln преждевременных родов не наблюдалось. Возможно, определенную протекторную роль в данном случае играет аллель 16Arg, ассоциированный, как показано нами ранее, с УПР, однако только данным фактором объяснить преждевременные роды не получается. Из 30 женщин с УПР, носительниц аллеля 16Arg, преждевременные роды 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 17 приведена зависимость перинатальных исходов в основной в зависимости от генотипа *ADRB2*.

Таблица 17 – Влияние генотипа ADRB2 на перинатальные исходы основной и контрольной групп

Генотип ADRB2 матери	Группа	Прежде- времен- но рожденн ых	Масса тела новорожде нного, грамм	Рост новорожд енного, см	Шкала Апгар (баллы)		Индекс Пондерала
					1 мин	5 мин	
16Gly27 Glu	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)
+16Gly27 Glu (I/I)	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		–	$p = 0,029^*$	$p = 0,156$	$p = 0,77$ 3	$p = 0,56$ 8	$p = 0,865$
16Gly27 Glu	Основная, n = 17	7 (41%)	3370 (2960– 3400)	51 (50–51)	8 (7–8)	8 (8–8)	2,54 (2,3– 2,56)
+16Arg27 Gln (I/II)	Контрольная, n = 21	–	3180 (2940– 3400)	50 (49–51)	8 (8–8)	9 (8–9)	2,5 (2,38– 2,66)
p		–	$p = 0,245$	$p = 0,047^*$	$p = 0,01$ *	$p = 0,56$ 4	$p = 0,444$
16Arg27 Gln	Основная, n = 5	–	3300 (3200– 3400)	50 (50–52)	8 (8–8)	8,5 (8– 9)	2,56 (2,4– 2,56)
+16Arg27 Gln (II/II)	Контрольная, n = 8	–	3570 (3360– 3670)	51 (50– 53,5)	8 (8–8)	9 (8–9)	2,53 (2,39– 2,63)
p		–	–	–	–	–	–
16Gly27 Glu+	Основная, n = 4	–	3530 (3250– 3530)	53±0,5	8 (8–8)	8 (8–8)	2,7 (2,6–2,7)
16Gly27 Gln (I/III)	Контрольная, n = 3	–	3250 (3200– 3300)	50±0,5	8 (8–8)	9 (8–9)	2,24 (2,2– 2,28)
p		–	–	–	–	–	–
16Arg27 Gln	Основная, n = 8	–	3285 (2900– 3670)	52,5 (51– 54)	8 (8–8)	8 (8–8)	2,265 (2,2– 2,33)
+16Gly27 Gln (II/III)	Контрольная, n = 11	–	3140 (3040– 3340)	50 (50–50)	8 (7–8)	9 (8–9)	2,46 (2,4– 2,5)
p		–	$p = 0,460$	$p = 0,006^*$	$p = 0,24$ 3	–	$p = 0,109$

Продолжение Таблицы 17

16Gly27 Gln +16Gly27 Gln (III/III)	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)
	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> = 0,24 3	–	<i>p</i> = 0,109
16Gly27 Gln +16Gly27 Gln (III/III)	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)
	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> = 0,01 56*	<i>p</i> = 0,00 05*	<i>p</i> = 0,184

* – достоверные различия.

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

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-й минуте ($p = 0,0156$), так и на 5-й ($p = 0,0005$). Тем не менее, разделение группы на подгруппы по генотипам уменьшает размеры выборок, что не позволяет вычлнить генотипы матерей, особенно влияющие на массу новорожденного и/или Апгар. Индекс Пондерала у женщин основной и контрольной группы достоверно не различался.

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 (Cobo T. 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 продолжают 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

г 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 гексапреналином, 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 гексапреналина 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 СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД – артериальное давление

АСТ – аспаратаминотрансфераза

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

БМКК – блокаторы медленных кальциевых каналов

В – вольт

ВАК – высшая аттестационная комиссия

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

ГБДГ – гидроксibuтиратдегидрогеназа

ДИ – доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДЦП – детский церебральный паралич

ИМТ – индекс массы тела

ИФА – иммуноферментный анализ

КСК – кривая скоростей кровотока

КТГ – кардиотокография

КЗЭДТА – трикалиевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

ЛС – лекарственные средства

МАО – моноаминооксидаза

мин – минуты

мкл – микролитры

МКС – минералкортикоиды

мм – миллиметр

мМ – миллимоль

МНН – международное непатентованное название

НПК – научно-производственная компания

НПФ – научно-производственная фирма

НР – нежелательные реакции

ОНП – однонуклеотидные полиморфизмы

ООО – общество с ограниченной ответственностью

ОР – относительный риск

ОШ – отношение шансов

ПДРФ – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов

ПР – преждевременные роды

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РДС – респираторный дистресс-синдром

с – секунды

СДО – систоло-диастолическое отношение

см – сантиметр

ССС – сердечно-сосудистая система

сут – сутки

ТЕ-буфер – трис-ЭДТА буфер

тыс – тысячи

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФБУН – Федеральное бюджетное учреждение науки

цАМФ – циклический аденозинмонофосфат

ЦНИИ – Центральный научно-исследовательский институт

ЦНС – центральная нервная система

ч – часы

ЧСС – частота сердечных сокращений

ACOG (от англ. «The American College of Obstetricians and Gynecologists») – Американское общество акушеров–гинекологов

ADRB2 – ген, кодирующий β 2-адренергический рецептор

BLAST – (от англ. «Basic Local Alignment Search Tool») – средство поиска основного локального выравнивания (семейство компьютерных программ для поиска гомологов белков или нуклеиновых кислот с известной первичной структурой).

DEPC – диэтилпирокарбонат

NCBI – (от англ. «National Center for Biotechnological Information») Национальный центр биотехнологической информации

PI – (от англ. «Ponderal Index») – индекс Пондерала

TBE – буфер трис–борат–ЭДТА

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ эффективности различных вариантов токолитической терапии / О. В. Троханова, Д. Л. Гурьев, М. Д. Брянцев [и др.] // Гинекология Эндокринология. – 2017. – № 13–14. – С. 37–43.
2. Ассоциация полиморфизма гена *ADRB2* с морфофункциональными нарушениями у больных гипертрофической кардиомиопатией Комиссарова, С. М. / С. М. Комиссарова, Н. Н. Чакова, Э. В. Крупнова [и др.] // Евразийский кардиологический журнал. – 2012. – № 2. – С. 40–46.
3. Астахова, А. В. Лекарства. Неблагоприятные побочные реакции и контроль безопасности / А. В. Астахова, В. К. Лепяхин. – М. : Эксмо, 2008. – 256 с.
4. Астахова, А. В. Определение степени достоверности причинно-следственной связи (СД ПСС) «лекарство – неблагоприятная побочная реакция». Классификация СД ПСС и методы определения / А. В. Астахова, Е. В. Брайцева // Безопасность лекарств. – 2001. – № 1. – С. 2–7.
5. Бунова, С. С. Влияние полиморфизма генов *ADRB1*, *ADRB2* и *CYP2D6* на эффективность и безопасность β -блокаторов у пациентов с сердечнососудистыми заболеваниями / С. С. Бунова, Е. В. Усачева, О. В. Замахина // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2014. – Т.127, № 4. – С. 5–10.
6. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М. : Практика, 1998. – 459 с.
7. Дементьева, Г. М. Оценка физического развития новорожденных : пособие для врачей / Г. М. Дементьева. – М., 2000. – 28 с.
8. Доклад ВОЗ, 2012. Рожденные слишком рано. Доклад о глобальных действиях в отношении преждевременных родов. – URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44864/9789244503430_rus.pdf.
9. Зайдиева, З. С. Факторы риска и основные принципы терапии угрожающих преждевременных родов / З. С. Зайдиева, О. И. Михайлова, Е. В. Лукьянова // Русский медицинский журнал. – 2009. – Т. 17, №16. – С. 1013–1017.

10. Клиническая фармакология / под. ред. В.Г. Кукеса, Д. А. Сычева. – 6-е издание, исправленное и дополненное. – М. : ГЭОТАР-медиа, 2018.
11. Клинические рекомендации «Преждевременные роды» (протокол лечения) / Г. Т. Сухих, З. С. Ходжаева, О. С. Филиппов [и др.]. – 2013. – 36 с.
12. Клинические рекомендации «Преждевременные роды». – М., 2020.
13. Колосова, Т. А. Течение беременности и родов, перинатальные исходы у женщин с дефицитом массы тела / Т. А. Колосова, Е. Г. Гуменюк // Вестник РУДН, серия Медицина. – 2008. – № 7. – С. 318–323.
14. Михайлова, О. И. Токолитические препараты в лечении угрожающих преждевременных родов / О. И. Михайлова, А. А. Балущкина, В. Л. Тютюнник // РМЖ. Мать и дитя. – 2009. – Т. 17, № 1. – С. 11–15.
15. Мустафина, М. Х. Фармакогенетический эффект полиморфизма гена *ADRB2* на терапию хронической обструктивной болезни легких / М. Х. Мустафина, О. А. Цветкова. – DOI 10.18093/0869-0189-2013-0-3-21-24// 2013. – № 3. – С. 2124.
16. Николаева, Г. В. Патология центральной нервной системы и ретинопатия недоношенных / Г. В. Николаева, Е. П. Кантаржи // Таврический медико-биологический вестник. – 2018. – Т. 21, № 3. – С. 81–86.
17. Перинатальные исходы при различных видах токолитической терапии / А. Н. Рыбалка, Ар. А. Зиядинов, А. Н. Сулима, Ал. А. Зиядинов // Таврический медико-биологический вестник. – 2017. – Т. 20, № 2-2. – С. 123–129.
18. Петри, А. Наглядная медицинская статистика : учебное пособие / А. Петри, К. Сэбин, В. П. Леонов. – 3-е издание, перераб. и доп. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2019.
19. Полиморфизм гена *ADRB2* у детей с бронхиальной астмой и ожирением / Р. С. Телепнева, Г. П. Евсеева, Е. Б. Наговицына [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2020. – № 77. – С. 87–98.
20. Проклова, Г.Ф. Полиморфизм гена *ADRB2* как предиктор преждевременных родов. / Сокова Е.А., Казаков Р.Е., Чилова Р.А., Жукова Э.В., Акопов К.О. //Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2021. – Т. 20. № 2. С.5-12.

21. Проклова, Г.Ф. Токолитическая терапия гексопреналином у беременных с угрозой преждевременных родов: влияние на токолиз полиморфизма гена *ADRB2*. / Чилова Р.А., Сокова Е.А., Казаков Р.Е., Жукова Э.В., Акопов К.О. // Врач. 2021. – Т. – 32. № 9. С.42-44.
22. Проклова, Г.Ф. Эффективность и безопасность гексопреналина у беременных с угрозой преждевременных родов: влияние полиморфизма гена *ADRB2*. / Чилова Р.А., Сокова Е.А., Казаков Р.Е., Жукова Э.В., Акопов К.О., Побединская О.С. // Врач. 2021. 32(8). С.54-57.
23. Радзинский, В. Е. Острый токолиз при преждевременных родах. Доказательства и перспективы / В. Е. Радзинский, Р. Ю. Еремичев // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2014. – № 6. – С. 24–26.
24. Серов, В. Н. Тактика лечения угрожающих преждевременных родов / В. Н. Серов, В. Л. Тютюнник // РМЖ. – 2008. – Т. 16. – № 19.
25. Сеткина, С. Б. Генипрал (гексопреналин). Пересмотр соотношения «польза / риск» для пероральной формы / С. Б. Сеткина // Фармация Казахстана. – 2014. – С. 23–25.
26. Сокова, Е. А. К вопросу значения исследования полиморфного маркера *Arg16Gly* гена *ADRB2*, кодирующего бета₂-адренорецепторы при проведении токолитической терапии бета₂-адреностимуляторами у беременных / Е. А. Сокова, А. В., Прилуцкий О. И. Макулова // Биомедицина. – 2010. – № 3. – С. 141–143.
27. Сравнение токолиза гексопреналином и атозибаном / О. Р. Баев, О. Н. Васильченко, А. О. Карапетян [и др.] // Медицинский совет. 2017. – № 2. – С. 57–61.
28. Сурина, М. Н. Течение беременности и ее исходы у пациенток с дефицитом массы тела / М. Н. Сурина, Е. А. Чванова. – DOI 10.23946/2500-0764-2018-3-3-65-70 // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2018. – Т. 3, № 3. – С. 88–92.

29. Счастливецва, Е. О. Генетические аспекты индивидуализации терапии бета-адреноблокаторами / Е. О. Счастливецва // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2010. – № 3. – С. 79–83.
30. Улучшение перинатальных исходов при преждевременных родах / А. Н. Рыбалка, Ар. А. Зиядинов, А. Н. Сулима, Ал. А. Зиядинов // Гинекология эндокринология. – 2017. – № 9 (138). – С. 44–47.
31. Федотовская, О. И. Оптимизация акушерской тактики при преждевременных родах – роль клинических и молекулярно-генетических факторов : дис.... канд. мед. наук : 14.01.01 / Федотовская Ольга Игоревна; науч.руков. Ходжаева З.С., Донников А.Е.; ФГБУ НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова МИНЗДРАВА РОССИИ – Москва, 2014
32. Цветкова, О. А. Полиморфизм гена ADRB2: роль в предрасположенности к заболеванию, тяжести течения и терапевтическом ответе при хронической обструктивной болезни легких / О. А. Цветкова, М. Х. Мустафина. – DOI 10.18093/0869-0189-2013-0-2-5-9 // Пульмонология. – 2013. – № 2. – С. 5–9.
33. A functional SNP in the promoter of the SERPINH1 gene increases risk of preterm premature rupture of membranes in African Americans / H. Wang, S. Parry, G. Macones [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences USA. – 2006. – N 103. – P. 13463–13467.
34. A method for estimating the probability of adverse drug reactions / C. A. Naranjo, U. Busto, E. M. Sellers [et al.] // Clinical Pharmacology & Therapeutics. – 1981. – Vol. 30, № 2. – P. 239–245.
35. A proposed method to predict preterm birth using clinical data, standard maternal serum screening, and cholesterol / B. W. Alleman, A. R. Smith, H. M. Byers [et al.]. – DOI 10.1016/j.ajog.2013.03.005 // American Journal of Obstetrics and Gynecology. – 2013 Jun. – № 208 (6). – P. 472.e1–11.
36. A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) promoter influences amnion cell MMP-1 expression and risk for preterm premature rupture of the fetal membranes / T. Fujimoto, S. Parry, M. Urbanek [et al.] // The Journal of Biological Chemistry. – 2002. – N. 277. – P. 6296–6302.

37. Abramovici, A. Tocolytic therapy for acute preterm labor / A. Abramovici, J. Cantu, S. M. Jenkins. – DOI 10.1016/j.ogc.2011.12.003 // *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. – 2012. – № 39 (1). – P. 77–87.
38. Adams, K. M. The genetic contribution towards preterm delivery / K. M. Adams, D. A. Eschenbach. – DOI 10.1016/j.siny.2004.04.001 // *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. – 2004. – № 9 (6). – P. 445–452.
39. Adrenergic beta(2)-receptor genotype predisposes to exacerbations in steroid-treated asthmatic patients taking frequent albuterol or salmeterol / K. Basu, C. N. Palmer, R. Tavendale [et al.]. – DOI 10.1016/j.jaci.2009.07.043 // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2009. – № 124 (6). – P. 1188-1194.e3.
40. Adverse drug reactions to tocolytic treatment for preterm labour: prospective cohort study / R. de Heus, B. W. Mol, J. J. Erwich [et al.] – DOI 10.1136/bmj.b744 // *British Medical Journal*. – 2009. – Vol. 338. – P. b744.
41. Ahles, A. Polymorphic variants of adrenoceptors: pharmacology, physiology, and role in disease / A. Ahles, S. Engelhardt. – DOI 10.1124/pr.113.008219 // *Pharmacological Reviews*. – 2014. – № 66 (3). – P. 598–637.
42. Aidoo, M. Tumor necrosis factor-alpha promoter variant 2 (TNF2) is associated with pre-term delivery, infant mortality, and malaria morbidity in western Kenya: Asembo Bay Cohort Project IX / M. Aidoo, P. D. McElroy, M. S Kolczak [et al.] // *Genetic Epidemiology*. – 2001. – N 21. – P. 201–211.
43. An investigation into the association among preterm birth, cytokine gene polymorphisms and periodontal disease / S. Moore, M. Ide, M. Randhawa [et al.] // *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2004. – N 111. – P. 125–132.
44. Annual summary of vital statistics: 2010–2011 / B. E. Hamilton, D. L. Hoyert, J. A. Martin [et al.] // *Pediatrics*. – 2013. – № 131. – P. 548–558.
45. Anum, E. A. Genetic contributions to disparities in preterm birth / E. A. Anum, E. H. Springel, M. D. Shriver, J. F. Strauss 3rd – DOI 10.1203/PDR.0b013e31818912e7 // *Pediatric Research*. – 2009 – Vol. 65(1). – P. 1–9.

46. Arginine-16 beta2 adrenoceptor genotype predisposes to exacerbations in young asthmatics taking regular salmeterol / C. N. Palmer, B. J. Lipworth, S. Lee [et al.] – DOI 10.1136/thx.2006.059386 // *Thorax*. – 2006 Nov. – № 61 (11). – P. 940–944.
47. Aronson, J. K. Meyler's Side Effects of Drugs / J. K. Aronson // *The International Encyclopedia of Adverse Drug Reactions and Interactions*. – 15th ed. – Amsterdam : Elsevier, 2006. – P. 3994.
48. Association between polymorphisms in the β_2 -adrenergic receptor gene with myocardial infarction and ischemic stroke in women / M. Schürks, T. Kurth, P. M. Ridker [et al.] // *The Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2009. – Vol. 101, N 2. – P. 351–358.
49. Association of maternal IL-1 receptor antagonist intron 2 gene polymorphism and preterm birth / A. P. Murtha, A. Nieves, E. R. Hauser [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2006. – N. 195. – P. 1249–1253.
50. Association of polymorphism within the promoter of the tumor necrosis factor alpha gene with increased risk of preterm premature rupture of the fetal membranes / A. K. Roberts, F. Monzon-Bordonaba, P. G. Van Deerlin [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 1999. – Vol. 180. – P. 1297–1302.
51. Association of the Gln27Glu polymorphism of the beta-2-adrenergic receptor with preterm labor / M. Ozkur, F. Dogulu, A. Ozkur [et al.]. – DOI 10.1016/s0020-7292(02)00035-8 // *The International Journal of Gynecology & Obstetrics*. – 2002. – № 77 (3). – P. 209–215.
52. Associations between genetic polymorphisms of beta-2 adrenergic receptor and preterm delivery in Korean women / Y. J. Suh, H. J. Park, K. A. Lee [et al.]. – DOI 10.1111/aji.12022 // *American Journal of Reproductive Immunology*. – 2013. – Vol. 69 (1). – P. 85–91.
53. B2-Adrenergic receptor gene variants and risk for autism in the AGRE cohort / K. Cheslack-Postava, M. D. Fallin, D. Avramopoulos [et al.] // *Molecular Psychiatry*. – 2007. – Vol. 12. – P. 283–291.
54. Beta-2 adrenoceptor genotype and progress in term and late preterm active labor / R. S. Miller, R. M. Smiley, D. Daniel [et al.]. – DOI 10.1016/j.ajog.2011.03.045. //

- American Journal of Obstetrics and Gynecology. – 2011. – № 205 (2). – P. 137.e1–7.
55. Beta-2 adrenoceptor genotype and progress in term and late preterm active labor / S. Russell, M. D. Miller, M. Richard [et al.] // American Journal of Obstetrics & Gynecology. – 2011. – Vol. 205. – P. 137e1–7.
 56. Betamimetics for inhibiting preterm labour / S. Anotayanonth, N. V. Subhedar, P. Garner [et al.]. – DOI 10.1002/14651858.CD004352.pub2 // The Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2004. – № 18 (4). – Article CD004352.
 57. Blencowe, H. National, regional, and worldwide estimates of low birthweight in 2015, with trends from 2000: a systematic analysis / H. Blencowe, J. Krusevec, M. de Onis [et al.]. – DOI 10.1016/S2214-109X(18)30565-5 // The Lancet Global Health. – 2019 Jul. – № 7 (7). – P. e849–e860.
 58. Blencowe, H. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications / H. Blencowe, S. Cousens, M. Z. Oestergaard [et al.]. – DOI 10.1016/S0140-6736(12)60820-4 // Lancet. – 2012 Jun 9. – № 379 (9832). – P. 2162–2172.
 59. blueprint for the prevention of preterm birth: vaginal progesterone in women with a short cervix / R. Romero, L. Yeo, J. Miranda [et al.]. – DOI 10.1515/jpm-2012-0272 // The Journal of Perinatal Medicine. – 2013. – № 41 (1). – P. 27–44.
 60. Cagliani, R. Diverse evolutionary histories for beta-adrenoreceptor genes in humans / R. Cagliani, M. Fumagalli, U. Pozzoli [et al.]. – DOI 10.1016/j.ajhg.2009.06.005 // The American Journal of Human Genetics. – 2009. – Vol. 85. – N. 1. – P. 64–75.
 61. Calcium channel blockers for inhibiting preterm labour and birth / V. Flenady, A. M. Wojcieszek, D. N. Papatsonis [et al.] – DOI 10.1002/14651858 // The Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2014 – № 6. – Article CD002255.
 62. Cobo, T. Risk factors for spontaneous preterm delivery / T. Cobo, M. Kacerovsky, B. Jacobsson. – DOI 10.1002/ijgo.13184 // International Journal of Gynecology and Obstetrics. – 2020. – № 150 (1). – P. 17–23.

63. Combination of tocolytic agents for inhibiting preterm labour / J. P. Vogel, J. M. Nardin, T. Dowswell [et al.]. – DOI 10.1002/14651858.CD006169 // The Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2014. – № 7. – Article CD006169.
64. Complex promoter and coding region beta 2-adrenergic receptor haplotypes alter receptor expression and predict in vivo responsiveness / C. M. Drysdale, D. W. McGraw, C. B. Stack [et al.]. – DOI 10.1073/pnas.97.19. 10483 // Proceedings of the National Academy of Sciences USA. – 2000. – № 97 (19). – P. 10483–10488.
65. Conde-Agudelo, A. Nifedipine in the management of preterm labor: a systematic review and metaanalysis / A. Conde-Agudelo, R. Romero, J. P. Kusanovic. – DOI 10.1016/j.ajog.2010.11.038 // American Journal of Obstetrics and Gynecology. – 2011. – № 204 (2). – P. 134.e1–20.
66. Connective tissue and related disorders and preterm birth: clues to genes contributing to prematurity / E. A. Anum, L. D. Hill, A. Pandya, J. F. Strauss 3rd. – DOI 10.1016/j.placenta.2008.12.007 // Placenta. – 2009. – № 30 (3). – P. 207–215.
67. Connors, S. L. Beta2-adrenergic receptor activation and genetic polymorphisms in autism: data from dizygotic twins / S. L. Connors, D. E. Crowell, C. G. Eberhart. – DOI 10.1177/08830738050200110401 // The Journal of Child Neurology. – 2005. – Vol. 20 (11). – P. 876–884.
68. Contopoulos-Ioannidis, D. G. Meta-analysis of the association of beta2-adrenergic receptor polymorphisms with asthma phenotypes / D. G. Contopoulos-Ioannidis, E. N. Manoli, J. P. Ioannidis. – DOI 10.1016/j.jaci.2004.12.1119 // Journal of Allergy and Clinical Immunology. – 2005. – № 1155). – P. 963–972.
69. Crider, K. S. Genetic variation associated with preterm birth: a HuGE review / K. S. Crider, N. Whitehead, R. M. Buus. – DOI 10.1097/01.gim.0000187223.69947.db // Genetics in Medicine. – 2005. – №7 (9). – P. 593–604.
70. Crowley, P. Antenatal corticosteroids – current thinking / P. Crowley. – DOI 10.1016/s1470-0328(03)00041-7 // British Journal of Obstetrics and Gynaecology. – 2003. – № 20. – P. 77–78.

71. Crump, C. Preterm birth and risk of epilepsy in Swedish adults / C. Crump, K. Sundquist, M. A. Winkleby, J. Sundquist. – DOI 10.1212/WNL.0b013e318231528f // *Neurology*. – 2011. – № 77 (14). – P. 1376–1382.
72. da Fonseca, E. B. Prophylactic administration of progesterone by vaginal suppository to reduce the incidence of spontaneous preterm birth in women at increased risk: a randomized placebo-controlled double-blind study / E. B. da Fonseca, R. E. Bittar, M. H. Carvalho, M. Zugaib. – DOI 10.1067/mob.2003.41 // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2003. – № 188 (2). – P. 419–424.
73. Di Renzo, G. C. The great obstetrical syndromes / G. C. Di Renzo. – DOI 10.1080/14767050902866804 // *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. – 2009. – № 22 (8). – P. 633–635.
74. Dishy, V. The effect of common polymorphisms of the beta2-adrenergic receptor on agonist-mediated vascular desensitization / V. Dishy, G. G. Sofowora, H. G. Xie [et al.]. – DOI 10.1056/NEJMoa010819 // *The New England Journal of Medicine*. – 2001. – № 345 (14). – P. 1030–1035.
75. Doh, K. Beta2-adrenergic receptor gene polymorphisms and pregnancy outcome / K. Doh, I. Sziller, S. Vardhana. – DOI 10.1515/JPM.2004.138 // *The Journal of Perinatal Medicine*. – 2004. – № 32 (5). – P. 413–417.
76. Dolan, S. M. Genome-wide association studies in preterm birth: implications for the practicing obstetrician-gynaecologist / S. M. Dolan, I. Christiaens // *BioMed Central: Pregnancy and Childbirth*. – 2013. – N 13. – P. 1–4.
77. Duckitt, K. Menorrhagia / K. Duckitt // *Clinical evidence*. – 2002. – № 8. – P. 1934–1950.
78. Evaluación del efecto de cuatro polimorfismos en el gen del receptor adrenérgico β -2 en el parto pretérmino / J. C. Ríos, J. G. McEwen, A. Cuartas [et al.] // *Colombo Medico*. – 2008. – Vol. 56. – P. 7–15.
79. Fenton, T. R. A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants / T. R. Fenton, J. H. Kim // *BioMed Central Pediatrics*. – 2013. – Vol. 13. – P. 59.

80. Fetal and maternal genes' influence on gestational age in a quantitative genetic analysis of 244,000 Swedish births / T. P. York, L. J. Eaves, P. Lichtenstein [et al.] // *The American Journal of Epidemiology*. – 2013. – Vol. 178. – P. 543–550.
81. Genc, M. R. Polymorphism in the interleukin-1 gene complex and spontaneous preterm delivery / M. R. Genc, S. Gerber, M. Nesin, S. S. Witkin // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2002. – N. 187. – P. 157–163.
82. Genetic Associations with Gestational Duration and Spontaneous Preterm Birth / G. Zhang, B. Feenstra, J. Bacelis [et al.]. – DOI: 10.1056/NEJMoa1612665 // *The New England Journal of Medicine*. – 2017. – № 377 (12). – P. 1156–1167.
83. Goldenberg, R. L. Appropriate use of antenatal corticosteroid prophylaxis / R. L. Goldenberg, E. M. McClure. – DOI 10.1097/AOG.0000000000000655 // *Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 2015 – № 125 (2). – P. 285–287.
84. Golichowski, A. M. Tocolytic and hemodynamic effects of nifedipine in the ewe / A. M. Golichowski, D. R. Hathaway, N. Fineberg, D. Peleg. – DOI 10.1016/0002-9378(85)90397-7 // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 1985. – № 151 (8). – P. 1134–1140.
85. Gravett, M. G. Immunomodulators plus antibiotics delay preterm delivery after experimental intraamniotic infection in a nonhuman primate model / M. G. Gravett, K. M. Adams, D. W. Sadowsky [et al.]. – DOI 10.1016/j.ajog.2007.03.064 // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2007 – № 197 (5). – P. 518.e1–8.
86. Gyamfi-Bannerman, C. Late preterm birth: management dilemmas / C. Gyamfi-Bannerman. – DOI 10.1016/j.ogc.2011.12.005 // *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. – 2012 – № 39 (1). – P. 35–45.
87. Gyetvai, K. Tocolytics for preterm labor: a systematic review / K. Gyetvai, M. E. Hannah, E. D. Hodnett, A. Ohlsson. – DOI 10.1016/s0029-7844(99)00329-4 // *Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 1999. – № 94 (5 Pt 2). – P. 869–877.
88. Haas, D. M. Nifedipine pharmacokinetics are influenced by CYP3A5 genotype when used as a preterm labor tocolytic / D. M. Haas, S. K. Quinney, J. M. Clay [et al.]. – DOI 10.1055/s-0032-1323590 // *The American Journal of Perinatology*. – 2013 – № 30 (4). – P. 275–281.

89. Haas, D. M. Tocolytic therapy: a meta-analysis and decision analysis / D. M. Haas, T. F. Imperiale, P. R. Kirkpatrick [et al.] – DOI 10.1097/AOG.0b013e318199924a // *Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 2009 – № 113 (3). – P. 585–594.
90. Haluska, G. J. Inhibition and augmentation of progesterone production during pregnancy: effects on parturition in rhesus monkeys / G. J. Haluska, M. J. Cook, M. J. Novy. – DOI 10.1016/s0002-9378(97)70570-2. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 1997. – 176 (3). – P. 682–691.
91. Haram, K. Tocolysis for acute preterm labor: does anything work / K. Haram, J. H. Mortensen, J. C. Morrison. – DOI 10.3109/14767058.2014.918095.// *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. – 2015. – № 28 (4). – P. 371–378.
92. Hemachandra, A. H. Racial disparities in the association between birth weight in the term infant and blood pressure at age 7 years: Results from the Collaborative perinatal project / A. H. Hemachandra, M. A. Klebanoff, S. L. Furth // *Journal of the American Society of Nephrology*. – 2006. – N. 17. – P. 2576–2258.
93. How, H. Y. Progesterone for the prevention of preterm birth: indications, when to initiate, efficacy and safety / H. Y. How, B. M. Sibai // *Therapeutics and Clinical Risk Management*. – 2009. – № 5 (1). – P. 55–64.
94. Interleukin-6 promoter -174 polymorphism and spontaneous preterm birth / H. N. Simhan, M. A. Krohn, J. M. Roberts [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2003. – N 189. – P. 915–918.
95. Ip, M. A Case-Control Study of Preterm Delivery Risk Factors According to Clinical Subtypes and Severity / M. Ip, E. Peyman, V. Lohsoonthorn, M. A. Williams. – DOI: 10.1111/j.1447-0756.2009.01087.x // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. – 2010. – Vol. 36 (1). – P. 34–44.
96. King, J. F. Calcium channel blockers for inhibiting preterm labour; a systematic review of the evidence and a protocol for administration of nifedipine / J. F. King, V. Flenady, D. Papatsonis [et al.]. – DOI 10.1046/j.0004-8666.2003.00074.x. // *Australian and New Zealand Journal of of Obstetrics and Gynaecology*. – 2003 – Vol. 43(3). – P. 192–198.

97. Kinney, M. V. 15 Million preterm births annually: what has changed this year? / M. V. Kinney, J. E. Lawn, C. P. Howson, J. Belizan. – DOI 10.1186/1742-4755-9-28 // *Reproductive Health*. – 2012. – № 9 (13). – P. 28.
98. Koukouritaki, S. B. Flavin-containing monooxygenase genetic polymorphism: impact on chemical metabolism and drug development / S. B. Koukouritaki, R. N. Hines. – DOI 10.2217/14622416.6.8.807 // *Pharmacogenomics*. – 2005. – N 6 (8). – P. 807–822.
99. Kuehl, P. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression / P. Kuehl, J. Zhang, Y. Lin [et al.]. – DOI 10.1038/86882. // *Nature Genetics*. – 2001. – № 27 (4). – P. 383–391.
100. Kunihiro, D. β_2 -adrenergic receptor gene polymorphisms and pregnancy outcome / D. Kunihiro, S. Istvan, V. Santosh [et al.] // *Journal of Perinatal Medicine*. – 2004. – Vol. 32. – P. 413–417.
101. Lamont, C. D. The safety of tocolytics used for the inhibition of preterm labour / C. D. Lamont, J. S. Jørgensen, R. F. Lamon. – DOI 10.1080/14740338.2016.1187128 // *Expert Opinion on Drug Safety*. – 2016. – № 15 (9). – P. 1163–1173.
102. Landau, R. Arg16 homozygosity of the beta2-adrenergic receptor improves the outcome after beta2-agonist tocolysis for preterm labor / R. Landau, M. A. Morales, S. E. Antonarakis [et al.]. – DOI: 10.1016/j.clpt.2005.08.021 // *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. – 2005. – Vol. 78 (6). – P. 656–663.
103. Landau, R. Beta2-Adrenergic receptor genotype and preterm delivery / R. Landau, H. G. Xie, V. Dishy [et al.]. – DOI 10.1067/mob.2002.128524. – PMID: 12439523 // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2002 Nov. – № 187 (5). – P. 1294–1298.
104. Liggett, S. B. Pharmacogenetics of beta-1- and beta-2-adrenergic receptors / S. B. Liggett. – DOI 10.1159/000028397. // *Pharmacology*. – 2000 Sep. – № 61 (3). – P. 167–173.
105. Liggett, S. B. Update on current concepts of the molecular basis of beta2-adrenergic receptor signaling / S. B. Liggett. – DOI 10.1067/mai.2002.129945 // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2002. – № 110 (6 suppl.). – P. S223–227.

106. Loe, S. M. Assessing the neonatal safety of indomethacin tocolysis: a systematic review with meta-analysis / S. M. Loe, L. Sanchez-Ramos, A. M. Kaunitz. – DOI 10.1097/01.AOG.0000168622.56478.df // *Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 2005. – № 106 (1). – P. 173–179.
107. MacDorman, M. F. Trends and characteristics of induced labour in the United States, 1989-98 / M. F. MacDorman, T. J. Mathews, J. A. Martin, M. H. Malloy. – DOI 10.1046/j.1365-3016.2002.00425.x // *Paediatric and Perinatal Epidemiology*. – 2002. – № 16 (3). – P. 263–273.
108. Macones, G. A. A polymorphism in the promoter region of TNF and bacterial vaginosis: Preliminary evidence of gene-environment interaction in the etiology of spontaneous preterm birth / G. A. Macones, S. Parry, M. Elkousy [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2004. – N 190. – P. 1504–1508.
109. Martin, J. A. [et al.] Births: Final Data for 2015 / J. A. Martin [et al.] // *National Vital Statistics Report*. – 2017. – № 66 (1). – P. 1–69.
110. Mathews, T. J. Infant mortality statistics from the 2003 period linked birth / infant death data set / T. J. Mathews, M. F. MacDorman // *National Vital Statistics Report*. – 2006 – № 54 (16). – P. 1–29.
111. McPheeters, M. L. The epidemiology of threatened preterm labor: a prospective cohort study / M. L. McPheeters, W. C. Miller, K. E. Hartmann [et al.]. – DOI 10.1016/j.ajog.2004.12.055 // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2005. – № 192 (4). – P. 1325–1330.
112. Mercer, B. M. Magnesium sulfate for preterm labor and preterm birth / B. M. Mercer, A. A. Merlino. – DOI 10.1097/AOG.0b013e3181b48336 // *Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 2009. – № 114 (3). – P. 650–668.
113. Morin, M. Preterm birth: evolution 1994 to 2006 / M. Morin, C. Arnaud, L. Germany, C. Vayssiere. – DOI 10.1016/j.gyobfe.2012.05.007 // *Gynaecology Obstetrics Fertility*. – 2012. – № 40 (12). – P. 746–752.
114. Neilson, J. P. Betamimetics for inhibiting preterm labour / J. P. Neilson, H. M. West, T. Dowswell. – DOI 10.1002/14651858.CD004352.pub3 // *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2014. – № 5 (2). – Article CD004352.

115. No observed association for mitochondrial SNPs with preterm delivery and related outcomes / B. W. Alleman, S. Myking, K. K. Ryckman [et al.] ; Gene, Environment Association Studies (GENEVA) Consortium; Norwegian Mother and Child Cohort Study (MoBA) Genome-Wide Association Study Group. – DOI 10.1038/pr.2012.112 // *Pediatric Research*. – 2012. – Vol. 72 (5). – P. 539–544.
116. Park, J. Young. Effects of β_2 -Adrenergic Receptor Gene Polymorphisms on Ritodrine Therapy in Pregnant Women with Preterm Labor: Prospective Follow-Up Study / J. Park Young, N. R. Lee, K. E. Lee // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2014. – Vol. 15. – P. 12885–12894.
117. Parka, H. S. Genotypes and haplotypes of β_2 -adrenergic receptor and parameters of the metabolic syndrome in Korean adolescents / H. S. Parka, E. S. Shinb, J. E. Leec // *Metabolism Clinical and Experimental*. – 2008. – Vol. 57. – P. 1064–1070.
118. Penzias, A. S. Luteal support with vaginal micronized progesterone gel in assisted reproduction / A. S. Penzias, M. M. Alper. – DOI 10.1016/s1472-6483(10)61847-0 // *Reproductive BioMedicine Online*. – 2003. – № 6 (3). – P. 287–295.
119. Plunkett, J. Genetic contributions to preterm birth: implications from epidemiological and genetic association studies / J. Plunkett, L. J. Muglia. – DOI 10.1080/07853890701806181 // *Annals of Medicine*. – 2008. – № 40 (3). – P. 167–195.
120. Plunkett, J. Population-based estimate of sibling risk for preterm birth, preterm premature rupture of membranes, placental abruption and pre-eclampsia / J. Plunkett, I. Borecki, T. Morgan [et al.] – DOI 10.1186/1471-2156-9-44 // *BioMed Central Genetics*. – 2008. – № 9. – P. 44.
121. Preterm labor: current pharmacotherapy options for tocolysis / E. O. van Vliet, E. M. Boormans, T. S. de Lange [et al.]. – DOI 10.1517/14656566.2014.889684 // *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. – 2014. – № 15 (6). – P. 787–797.
122. Progesterone for the luteal support of assisted reproductive technologies: clinical options / C. Posaci, J. Smitz, M. Camus [et al.]. – DOI 10.1093/humrep/15.suppl_1.129 // *Human Reproduction*. – 2000. – № 15, suppl. 1. – P. 129–148.

123. Prophylactic antibiotics for the prevention of preterm birth in women at risk: a meta-analysis / R. Simcox, W. T. Sin, P. T. Seed [et al.]. – DOI 10.1111/j.1479-828X.2007.00759.x // Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology. – 2007 Oct. – № 47 (5). – P. 368–377.
124. Reasons for phosphate binder discontinuation vary by binder type / S. Wang, E. A. Anum, K. Ramakrishnan [et al.]. – DOI 10.1053/j.jrn.2013.11.004 // Journal of Renal Nutrition. – 2014. – № 24 (2). – P. 105–109.
125. Reorganization of myofilament proteins and decreased cGMP-dependent protein kinase in the human uterus during pregnancy / T. L. Cornwell, J. Li, H. Sellak [et al.]. – DOI 10.1210/jcem.86.8.7727 // The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. – 2001. – № 86 (8). – P. 3981–3988.
126. Reynolds, B. S. Preeclampsia and fetal growth: influence of infant sex : Submitted to the Graduate Faculty of Graduate School of Public Health in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy University of Pittsburgh / B. S. Reynolds. – 2011.
127. Rodrigues, A. D. Impact of CYP2C9 genotype on pharmacokinetics: are all cyclooxygenase inhibitors the same? / A. D. Rodrigues. – DOI 10.1124/dmd.105.006452 // Drug Metabolism and Disposition. – 2005. – № 33 (11). – P. 1567–1575.
128. Role of single nucleotide polymorphisms of cytokine genes in spontaneous preterm delivery / E. M. Speer, D. A. Gentile, A. Zeevi [et al.] // Human Immunology. – 2006. – N 67. – P. 915–923.
129. Ryu, H. J. Temperament of premature infants with cerebral palsy / H. J. Ryu, K. Don Kim. – DOI 10.1589/jpts.27.883. // Journal of Physical Therapy Science. – 2015. – № 27 (3). – P. 883–885.
130. Safety concerns for the use of calcium channel blockers in pregnancy for the treatment of spontaneous preterm labour and hypertension: a systematic review and meta-regression analysis / K. Khan, J. Zamora, R. F. Lamont [et al.]. – DOI 10.3109/14767050903572182 // The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. – 2010. – № 23 (9). – P. 1030–1038.

131. Schindler, A. E. Role of progestogens for the prevention of premature birth / A. E. Schindler. – DOI 10.1016/j.jsbmb.2005.08.008 // The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology. – 2005. – № 97 (5). – P. 435–438.
132. Self-limitation of intravenous tocolysis with beta2-adrenergic agonists is mediated through receptor G protein uncoupling / T. Frambach, T. Müller, S. Freund [et al.] – DOI 10.1210/jc.2004-1732 // The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. – 2005 – № 90 (5). – P. 2882–2887.
133. Soleimani, F. Long-term neurodevelopmental outcomes after preterm birth / F. Soleimani, F. Zaheri, F. Abdi. – DOI 10.5812/ircmj.17965 // The Iranian Red Crescent Medical Journal. – 2014. – № 16 (6). – P. e17965.
134. Spontaneous preterm birth and single nucleotide gene polymorphisms: a recent update / I. A. Sheikh, E. Ahmad, M. S. Jamal [et al.]. – DOI 10.1186/s12864-016-3089-0 // BioMed Central: Genomics. – 2016. – № 17 (suppl. 9). – P. 759.
135. Strauss, F. Spontaneous preterm birth: advances toward the discovery of genetic predisposition / F. Strauss, R. Romero, N. Gomez-Lopez. – DOI 10.1016/j.ajog.2017.12.009. // American Journal of Obstetrics and Gynecology. – 2018. – № 218 (3). – P. 294–314.
136. Swamy, G. K. Association of preterm birth with long-term survival, reproduction, and next-generation preterm birth / G. K. Swamy, T. Ostbye, R. Skjaerven. – DOI 10.1001/jama.299.12.1429.// Journal of the American Medical Association. – 2008. – Vol. 299 (12). – P. 1429–1436.
137. The association of beta-2 adrenoceptor genotype with short-cervix mediated preterm birth: a case-control study / R. S. Miller, R. M. Smiley, E. A. Thom [et al.]. – DOI 10.1111/1471-0528.13243.// British Journal of Obstetrics and Gynaecology. – 2015. – Vol. 122(10). – P. 1387–1394.
138. The Gln27Glu beta2-adrenoceptor polymorphism slows the onset of desensitization of cardiac functional responses in vivo / H. Bruck, K. Leineweber, R. Büscher [et al.]. – DOI 10.1097/00008571-200302000-00001 // Pharmacogenetics. – 2003 Feb. – № 13 (2). – P. 59–66.

139. The Swedish national prospective study on extremely low birthweight (ELBW) infants. Incidence, mortality, morbidity and survival in relation to level of care / O. Finnström, P. O. Olausson, G. Sedin [et al.]. – DOI 10.1111/j.1651-2227.1997.tb08921.x // *Acta Paediatrica*. – 1997. – № 86 (5). – P. 503–511.
140. Therapy side-effects and predictive factors for preterm delivery in patients undergoing tocolysis with atosiban or ritodrine for threatened preterm labour / L. Driul, A. P. Londero, A. Adorati-Menegato [et al.] – DOI 10.3109/01443615.2014.930094 // *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2014 – № 34 (8). – P. 684–689.
141. Three major haplotypes of the β_2 adrenergic receptor define psychological profile, blood pressure, and the risk for development of a common musculoskeletal pain disorder / L. Diatchenko, A. D. Anderson, G. D. Slade [et al.] – DOI 10.1002/ajmg.b.30324 // *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*. – 2006. – Vol. 141B, N. 5. – P. 449–462.
142. Timing of elective repeat caesarean does matter: Importance of avoiding early-term delivery especially in diabetic patients / S. Gawlik, M. Müller, R. J. Kuon [et al.] – DOI 10.3109/01443615.2014.969204 // *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2015. – № 35 (5). – P. 455–460.
143. Tocolysis for inhibiting preterm birth in extremely preterm birth, multiple gestations and in growth-restricted fetuses: a systematic review and meta-analysis / C. Miyazaki, R. Moreno Garcia, E. Ota [et al.]. – DOI 10.1186/s12978-015-0115-7 // *Reproductive Health*. – 2016. – № 13. – P. 4.
144. Tocolytic therapy for preterm delivery: systematic review and network meta-analysis /, D. M. Haas, D. M. Caldwell, P. Kirkpatrick [et al.]. – DOI 10.1136/bmj.e6226. // *British Medical Journal*. – 2012. – № 9 (345). – P. e6226.
145. Tocolytic therapy with fenoterol induces selective down-regulation of beta-adrenergic receptors in human myometrium / S. Engelhardt, W. Zieger, J. Kassubek [et al.]. – DOI 10.1210/jcem.82.4.3885 // *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 1997. – Vol. 82 (4). – P. 1235–1242.

146. Treloar, S. A. Genetic influences on premature parturition in an Australian twin sample / S. A. Treloar, G. A. Macones, L. E. Mitchell, N. G. Martin // *Twin Research*. – 2000. – Vol. 3. – P. 80–82.
147. van Dijk, E. L. Ten years of next-generation sequencing technology / E. L. van Dijk, H. Auger, Y. Jaszczyszyn, C. Thermes // *Trends in Genetics*. – 2014. – Vol. 30. – P. 418–426.
148. Varner, M. W. Current understanding of genetic factors in preterm birth / M. W. Varner, M. S. Esplin. – DOI 10.1111/j.1471-0528.2005.00581.x // *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2005. – Vol. 112. – P. 28–31.
149. Weinberg, C. R. The genetics of preterm birth: using what we know to design better association studies / C. R. Weinberg, M. Shi. – DOI 10.1093/aje/kwp325 // *The American Journal of Epidemiology*. 2009. – № 170 (11). – P. 1373–1381.