

УДК 618.396; 575.17

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar162014>

Обзорная статья

Генетические предикторы инфекционно-зависимого преждевременного прерывания беременности

Л.Ш. Цечоева^{1, 2}, Е.И. Дементьева², М.Д. Леонова³, А.И. Полосков⁴, Ю.В. Гавричкова⁵,
Н.И. Тапильская⁶, Р.И. Глушаков³

¹ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе, Санкт-Петербург, Россия;

² Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия;

³ Родильный дом № 13, Санкт-Петербург, Россия;

⁴ Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия;

⁵ Городская Мариинская больница, Санкт-Петербург, Россия;

⁶ Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

Проведено ретроспективное одномоментное сравнительное когортное исследование по изучению распространенности полиморфизмов генов, являющихся регуляторами воспалительных реакций. Основную группу составили 96 пациенток с инфицированным выкидышем в анамнезе. Группу сравнения составили 76 женщин аналогичного возраста с двумя и более нормально протекающими беременностями в анамнезе.

У всех пациенток основной группы и группы сравнения проводилось исследование полиморфизма G894T (Glu298Asp, rs1799983) гена *Nos3*, полиморфизм C1234T (p.Leu412Phe, rs3775291) гена *Tlr3*, полиморфизмы C3954T (rs1143644) и C-511T (rs16944) гена *Il1b*, а также полиморфизмы G-308A (rs1800629) и G238A (rs361525) гена *Tnf*. Для сравнительного статистического анализа использовали критерий хи-квадрат и точный критерий Фишера с определением относительного риска и границ доверительного интервала.

Носительство генотипа T/T гена *Tlr3* (C1234T), аллеля C гена *IL1B* (C3954T) и аллеля A в гене *Tnf* (G238A) увеличивает относительный риск возникновения инфицированного выкидыша в 3,345 раза (95 % доверительный интервал 1,594–7,017; хи-квадрат = 10,779, $p = 0,002$), 5,077 раза (95 % доверительный интервал 2,743–9,396; хи-квадрат = 30,272, $p < 0,001$) и в 2,958 раз (95 % доверительный интервал 1,451–6,032; хи-квадрат = 9,533, $p = 0,003$) соответственно.

Ключевые слова: гаплотип; генетические полиморфизмы; инфицированный выкидыш; полимеразно-цепная реакция; преждевременная потеря беременности; толл-подобные рецепторы 3 типа; цитокины.

Как цитировать:

Цечоева Л.Ш., Дементьева Е.И., Леонова М.Д., Полосков А.И., Гавричкова Ю.В., Тапильская Н.И., Глушаков Р.И. Генетические предикторы инфекционно-зависимого преждевременного прерывания беременности // Известия Российской Военно-медицинской академии. 2023. Т. 42. № 2. С. 185–195. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar162014>

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar162014>

Review Article

Genetic predictors regarding of infection-dependent pregnancy loss

Leila Sh. Tsechoeva^{1, 2}, Elena I. Dementyeva², Margarita D. Leonova³, Anton I. Poloskov⁴, Yuliya V. Gavrichkova⁵, Natalya I. Tapil'skaya⁶, Ruslan I. Glushakov³

¹ I. I. Dzhanelidze Saint Petersburg Research Institute of Emergency Medicine, Saint Petersburg, Russia;

² Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia;

³ Maternity Hospital N 13, Saint Petersburg, Russia;

⁴ Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia;

⁵ City Mariinsky Hospital, Saint Petersburg, Russia;

⁶ Ott Research institute of obstetrics, gynecology and reproductology, Saint Petersburg, Russia

A retrospective comparative cohort study investigated the prevalence of genetic variants are associated with immune hyper-response of the immune system in women ($n = 96$) with a history of infected miscarriage. The comparison groups subjects was 76 women of the same age with 2 or more normal pregnancies in history.

The frequency of gene polymorphism in patients in all patients of the main group and the comparison group: the G894T polymorphism (Glu298Asp, rs1799983) of the *Nos3* gene, the C1234T (p.Leu412Phe, rs3775291) polymorphism of the *Tlr3* gene, the C3954T (rs1143644) and C-511T (rs16944) polymorphisms of the *IL1B* gene, and G-308A (rs1800629) and G238A (rs361525) of the *Tnf* gene. For comparative statistical analysis, we used the chi-square test and Fisher's exact test with the determination of relative risk and confidence interval (CI).

Comparative analysis showed that polymorphism in defined gene was associated with an increased the relative risk of infected miscarriage: T/T genotype of the *Tlr3* gene (C1234T), the C allele of the *IL1b* gene (C3954T), and the A allele of the *Tnf* gene (G238A) increases the relative risk of infected miscarriage by 3.345 times (95% confidence interval 1.594–7.017; chi-square test = 10.779, $p = 0.002$), 5.077 times (95% confidence interval 2.743–9.396; chi-square test = 30.272, $p < 0.001$) and 2.958 times (95% confidence interval 1.451–6.032; chi-square test = 9.533, $p = 0.003$), respectively.

Keywords: cytokines; genetic polymorphisms; haplotype; infected miscarriage; polymerase chain reaction; pregnancy loss; toll-like receptor 3.

To cite this article:

Tsechoeva LSh, Dementyeva EI, Leonova MD, Poloskov AI, Gavrichkova YuV, Tapil'skaya NI, Glushakov RI. Genetic predictors regarding of infection-dependent pregnancy loss. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2023;42(2):185–195. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar162014>

Received: 31.01.2023

Accepted: 02.03.2023

Published: 30.06.2023

АКТУАЛЬНОСТЬ

Среди акушерской патологии основной вклад в структуру материнской смертности вносят инфекционно-воспалительные заболевания и кровотечения, при этом инфицированный выкидыш, по данным системного обзора Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ, 2011 г.), в структуре материнской смертности занимает до 10 % [1]. Однако в отличие от других причин, своевременная диагностика и лечение позволяют избежать фатального события и несколько минимизировать риски ранних и поздних осложнений [2]. В сравнении с другими инфекционными заболеваниями женской репродуктивной системы при инфицированном выкидыше даже в случае благоприятного исхода совокупность реактивных изменений плодворности и смежных анатомических образований как следствие инфекционного процесса оказывает значительное влияние на последующую реализацию репродуктивной функции и значительно повышает риск развития трубно-перитонеального бесплодия. Данные обстоятельства при относительно невысокой инцидентности определяют не столько медицинское, сколько социальное значение этой группы заболеваний [3]. Риск развития инфицированного выкидыша и его осложненного течения обусловлен, с одной стороны, этиологическими факторами, сведения о которых постоянно расширяются и дополняются новыми таксономическими единицами, а с другой — генетически детерминированными особенностями развития воспалительного ответа на инвазию патогена, который модулируется совокупностью обеспечивающих рост и развитие внутриутробного плода нейрогормональных факторов [4, 5]. В некоторых случаях комбинаторная вариативность генов конкретной женщины обеспечивает избыточный ответ иммунной системы, повреждающая роль которого в терминации гестации является определяющей.

Целью выполненного нами клинико-генетического исследования было изучение полиморфизмов генов, являющихся регуляторами воспаления, у пациенток с инфицированным выкидышем в сроке беременности 16–20 нед.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Концепция и структура исследования

Проведено ретроспективное одномоментное сравнительное когортное исследование по изучению распространенности генетических полиморфизмов, ассоциированных с генетически детерминированным гиперответом иммунной системы, у пациенток раннего репродуктивного возраста с инфицированным поздним выкидышем в анамнезе, находившихся на стационарном лечении по поводу рассматриваемого заболевания с марта 2015-го по декабрь 2020 г. в гинекологических стационарах Санкт-Петербурга, соответствующих критериям включения и не имеющих критериев невключения. Пациентки были приглашены для участия в исследовании в период с сентября 2021-го по август 2022 г.

Группу сравнения составили 76 пациенток, имевшие 2 и более нормально протекающих беременностей в анамнезе и ранее выступавшие или собирающиеся выступить в качестве суррогатных матерей. Выбор группы был обусловлен отсутствием соматических заболеваний, вредных привычек, благоприятным репродуктивным и наследственным анамнезом.

Критерии включения и невключения в исследование были сформированы с целью объективизировать генетическую пенетрантность в исследуемой когорте.

Критерии включения в исследование:

- возраст участницы клинико-генетического исследования в пределах 20–34 лет включительно в период стационарного лечения по поводу инфицированного выкидыша;
- документально подтвержденный инфицированный выкидыш в сроке беременности от 16 до 20 нед;
- желание и возможность участницы клинико-генетического исследования выполнить все предусмотренные протоколом исследования процедуры, подтвержденное наличием письменного информированного добровольного согласия.

Критерии невключения в исследование:

- возраст участницы клинико-генетического исследования 19 лет и менее или 35 лет и более в период стационарного лечения по поводу инфицированного выкидыша;
- гинекологические заболевания, относящиеся к группе N80–N98 МКБ 10-го пересмотра, требующие хирургического лечения и/или назначения гормональной терапии (за исключением пациенток, которым с целью лечения инфицированного выкидыша была выполнена гистерэктомия);
- наличие цервикальной интраэпителиальной неоплазии (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) 2–3-й степени и/или инвазивного рака шейки матки, а также любого другого онкологического заболевания в анамнезе;
- суб- и некомпенсированные заболевания сердечно-сосудистой, эндокринной системы, развитие которых было диагностировано до нахождения в стационаре по поводу инфицированного выкидыша;
- аддитивные расстройства и психиатрические заболевания, солидные злокачественные опухоли любой топической локализации или лимфопролиферативные заболевания как в анамнезе, так и выявленные в период проведения исследования;
- пациентки с ВИЧ-позитивным статусом, хроническими вирусными гепатитами и/или с сифилисом в анамнезе;
- нежелание пациентки принимать участие в сдаче любого из обозначенного в перечне объема исследований.



Рисунок. Селекция пациенток в исследование

Селекция пациенток в исследование

Женщины были приглашены из ранее сформированной базы данных пациенток, находившихся на лечении в Мариинской больнице ($n = 23$) и НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе ($n = 291$). При телефонном анкетировании установлен телефонный контакт с 214 женщинами, на обследование со сдачей крови в период набора респондентов прибыло только 119 женщин, в итоге с учетом критериев включения/невключения емкость итоговой выборки составила 96 человек (см. рисунок).

Объем обследования пациенток

Получение клинического материала для исследования

Все женщины были обследованы на наличие антител в сыворотке крови к ВИЧ-1,2, антителам к *Treponema pallidum*, маркеров вирусных гепатитов В и С.

У подписавших информированное согласие пациенток из кубитальной вены проводили забор крови в вакуумную систему типа «Vacuett» с 6 % этилендиаминтетрауксусной кислоты (Greiner Bio-one, Австрия).

Молекулярно-генетические исследования

Экстракцию тотальной ДНК из лейкоцитов периферической крови выполняли набором для выделения геномной ДНК из клеток, тканей и крови. Принцип действия набора основан на селективной сорбции нуклеиновых кислот из предварительно лизированного образца на кремниевой мембране с последующей промывкой и элюцией очищенного продукта. (ООО «Биолабмикс», Новосибирск, РФ).

Для постановки реакции брали требуемое количество образца ДНК. Полимеразноцепную реакцию в режиме реального времени (RT-PCR) проводили в объеме

на детектирующем амплификаторе ДТ-Прайм (ООО «ДНК-Технология», Москва, Россия).

У всех включенных в клинико-генетического исследование женщин ($n = 172$) согласно инструкции производителя соответствующих тест-систем методом ПЦР проводилось исследование следующих полиморфизмов: G894T (Glu298Asp, rs1799983) гена эндотелиальной синтазы азота 3-го типа (*Nos3*), полиморфизм 1234C>T (p.Leu412Phe) гена толл-подобного рецептора 3-го типа *Tlr3* (rs3775291), полиморфизмы 3954C>T (rs1143644) и -511C>T (rs16944) гена интерлейкина 1бета (*Il1b*), полиморфизмы G-308A (rs1800629) и G238A (rs361525) гена фактора некроза опухоли (*Tnf*). Результаты анализов позволяют дать три типа заключений: гомозигота по аллелю 1, гетерозигота, гомозигота по аллелю 2.

Наблюдение за пациентками

Дальнейшее динамическое наблюдение за пациентками не было предусмотрено протоколом исследования. После получения результатов молекулярно-генетического исследования пациентки основной группы, не реализовавшие свою репродуктивную функцию и/или планирующие беременность, были направлены к репродуктологу.

Статистический анализ результатов исследования

При статистическом анализе распределение количественных признаков (возраст в момент лечения основного заболевания) было отличным от нормального, поэтому представлено в виде медианы (с указанием границ доверительного интервала (ДИ); качественные признаки (частота встречаемости аллелей/генотипов в группах) представлены в виде абсолютных значений с определением удельного веса (долей, %).

Таблица 1. Четырехпольная таблица сопряженности для сравнительного генетического исследования

Фактор	Инфицированный выкидыш в анамнезе	Группа сравнения	Всего
Определенный генотип (носительство данного аллеля)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a + b</i>
Другие варианты генотипа (носительство другого варианта аллеля)	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>c + d</i>
Всего	<i>a + c</i>	<i>b + d</i>	<i>a + b + c + d</i>

Для сравнения частоты встречаемости генотипов (аллелей) в группах в основной и группе сравнения выполнялся расчет критерия χ^2 (хи-квадрат). Однако с учетом относительно небольшой выборки применялся непараметрический точный критерий Фишера. Для точного расчета выбранных критериев выполнялось построение четырехпольной таблицы сопряженности исходя из количества исследуемых групп и признаков (табл. 1).

Для расчета точного критерия Фишера использовалась следующая формула:

$$p = \frac{(a + b)! \times (c + d)! \times (a + c)! \times (b + d)!}{(a)! \times (b)! \times (c)! \times (d)! \times (a + b + c + d)!},$$

где «!» обозначает символ факториала числа.

Отношение шансов (ОШ) вычислялось по формуле: $OШ = (a \times b) / (b \times d)$ или $(a/b) / (c/d)$, что соответствует отношению абсолютного риска у лиц, имеющих определенный генотип (аллель), к абсолютному риску лиц, которые не имеют данного генотипа (аллеля).

Определения границ ДИ выполняли с использованием стандартной формулы:

$$SE \{ \ln(OШ) \} = \sqrt{1/a + 1/b + 1/c + 1/d},$$

где SE — стандартная ошибка логарифма (ln) ОШ.

Определение границ ДИ выполнялось по формуле:

$$\ln(RR) \pm 1,96 \times SE \{ \ln(OR) \}$$

Нижняя граница (ДИ): $\exp^{\ln(OR) - 1,96 \times SE}$.

Верхняя граница (ДИ): $\exp^{\ln(OR) + 1,96 \times SE}$.

Во всех случаях критический уровень значимости принимался традиционным для медико-биологических исследований значения $p < 0,05$.

Этические правила и нормы

Дизайн исследования полностью соответствовал принципам биомедицинской этики, не противоречил основополагающим принципам Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы научных и медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта». Информированное согласие, протокол обследования участниц клинико-генетического исследования были одобрены локальным этическим комитетом.

Клиническая и социальная характеристика пациенток с инфицированным выкидышем в анамнезе и группы сравнения

В исследование включены 172 женщины (см. табл. 2), при этом в группу сравнения включены 76 пациенток, сопоставимых по возрасту с основной группой. Единственным отличием от основной группы была распространенность вредных привычек (курение): 22,9 % vs 0 % ($\chi^2 = 30,148$, $p < 0,001$), так как суррогатное материнство (формирование группы сравнения) предполагает исключение данной вредной привычки. Среди женщин группы сравнения не было респондентов с индексом массы тела (ИМТ) по Кетле более 30,0 кг/м², в отличие от основной группы, где удельный вес таких пациенток составил 34,4 % ($\chi^2 = 22,081$, $p < 0,001$).

Акушерско-гинекологический анамнез пациенток обеих групп представлен в табл. 3. Следует отметить, что большинство респонденток в группе сравнения имели 2 и более родов ($n = 67$, 88,2 %), что является требованием к суррогатным матерям (см. табл. 3). Группа сравнения отличалась меньшим удельным весом диагностических хирургических исследований в анамнезе ($\chi^2 = 82,279$, $p < 0,001$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Распространенность генотипов G/G, G/T и T/T по полиморфизму G894T (rs1799983) гена *Nos3*, кодирующего эндотелиальную синтазу азота 3-го типа, в основной группе составила 58,3, 38,5 и 3,1 % соответственно, в группе сравнения — 48,7, 40,8 и 10,5 % соответственно (см. табл. 4). Распространенность G-аллеля данного полиморфизма гена *Nos3* в основной группе составила 77,6 %, в группе сравнения — 69,1 %.

Распространенность генотипов C/C, C/T и T/T по полиморфизму C1234T (rs3775291) гена *Tlr3*, кодирующего ген толл-подобного рецептора 3-го типа, в основной группе составила 30,2, 31,3 и 38,5 % соответственно (см. табл. 5). Распространенность рассматриваемых полиморфных вариантов гена *Tlr3* составила для генотипа CC 32,9 %, для CT — 51,3 %, для TT — 15,8 %. Распространенность C аллеля данного гена составила 45,8 % в основной и 58,6 % в сравниваемой группе.

Таблица 2. Социальные данные пациенток с инфицированным выкидышем в анамнезе в момент включения в исследование

Показатель	Основная группа	Группа сравнения
Количество пациенток, <i>n</i>	96	76
Возраст (минимальный; максимальный), лет	25–37	26–38
Медиана (25 % перцентиль; 75 % перцентиль), лет	31 (28; 35)	29 (27; 32)
Образование:		
высшее	37 (38,5 %)	14 (18,4 %)
среднее профессиональное	29 (30,2 %)	33 (43,4 %)
среднее	30 (31,3 %)	29 (38,2 %)
Социальный статус:		
замужем	32 (33,3 %)	28 (36,8 %)
в разводе	29 (30,2 %)	39 (51,3 %)
вдова	2 (2,1 %)	1 (1,3 %)
не замужем (постоянный партнер)	33 (34,4 %)	8 (10,5 %)
ИМТ (кг/м ²):		
18,5–19,9	9 (9,4 %)	–
20,0–25,0	22 (22,9 %)	41 (53,9 %)
25,0–29,9	32 (33,3 %)	35 (46,1 %)
30,0 и выше	33 (34,4 %)	–
Курение:		
Да	24 (22,9 %)	–
Нет	74 (77,1 %)	76 (100,0 %)

Таблица 3. Акушерско-гинекологический анамнез пациенток с идиопатическим бесплодием

Показатель	Основная группа, <i>n</i> (%)	Группа сравнения, <i>n</i> (%)
Инфицированный выкидыш в анамнезе	96	0
Гистерэктомия после инфицированного выкидыша	6	0
Кол-во беременностей в анамнезе:		
1	4 (4,2)	0
2	53 (55,2)	29 (38,2)
3+	39 (40,6)	47 (61,8)
Кол-во родов в анамнезе:		
0	2 (2,1)	0
1	65 (67,7)	9 (11,8)
2	21 (21,9)	55 (72,4)
3+	8 (8,3)	12 (15,8)
Внематочная беременность и соответствующий хирургический доступ:		
лапароскопия	8 (8,3)	1 (1,3)
лапаротомия	6 (6,3)	1 (1,3)
	2 (2,1)	0
Неудачные попытки ЭКО в анамнезе	8 (8,3)	6 (7,9)*
Диагностические хирургические исследования в анамнезе:		
гистероскопия	71 (74,0)	4 (5,2)
лапароскопия	56 (58,3)	3 (3,9)
	15 (15,6)	1 (1,3)

Примечание. * в рамках протоколов сурrogатного материнства.

Таблица 4. Частота распределения генотипов G894T (Glu298Asp) гена *Nos3* (rs1799983) у пациенток с инфицированным выкидышем в анамнезе

Генотипы, аллели	Основная группа, n (%)	Группа сравнения, n (%)	ОШ (ДИ)	χ^2 (p)	F
G/G	56 (58,3)	37 (48,7)	1,48 (0,805–2,704)	1,59 (0,208)	>0,05
G/T	37 (38,5)	31 (40,8)	0,627 (0,307–1,038)	2,806 (0,091)	>0,05
T/T	3 (3,1)	8 (10,5)	0,274 (0,07–1,072)	3,882 (0,049)	>0,05
G	149 (77,6)	105 (69,1)	1,551 (0,957–2,515)	3,192 (0,075)	>0,05
T	43 (22,4)	47 (30,9)	0,645 (0,398–1,045)		

Таблица 5. Частота распределения генотипов 1234C>T (p.Leu412Phe) гена *Tlr3* (rs3775291) у пациенток с различным течением инфицированного выкидыша

Генотипы, аллели	Основная группа, n (%)	Группа сравнения, n (%)	ОШ (ДИ)	χ^2 (p)	F
C/C	29 (30,2)	25 (32,9)	1,02 (0,538–1,934)	0,004 (0,919)	>0,05
C/T	30 (31,3)	39 (51,3)	0,431 (0,231–0,814)	7,011 (0,008)	>0,05
T/T	37 (38,5)	12 (15,8)	3,345 (1,594–7,017)	10,779 (0,002)	<0,05
C	88 (45,8)	89 (58,6)	0,599 (0,39–0,921)	4,997 (0,026)	>0,05
T	104 (54,2)	63 (41,4)	1,670 (1,086–2,566)		

Таблица 6. Частота распределения генотипов 3954C>T (rs1143644) и –511C>T (rs16944) гена *Il1b* у пациенток с инфицированным выкидышем в анамнезе

Локус	Генотипы, аллели	Основная группа, n (%)	Группа сравнения, n (%)	ОШ (ДИ)	χ^2 (p)	F
3954C>T	C/C	81 (84,4)	40 (52,6)	4,86 (2,386–9,9)	20,491 (<0,001)	<0,05
	C/T	14 (14,6)	24 (31,6)	0,37 (0,176–0,779)	7,119 (0,008)	>0,05
	T/T	1 (1,0)	12 (15,8)	0,056 (0,007–0,442)	13,205 (<0,001)	<0,05
	C	176 (91,7)	104 (68,4)	5,077 (2,743–9,396)	30,272 (<0,001)	>0,05
	T	16 (8,3)	48 (31,6)	0,197 (0,106–0,365)		
–511C>T	C/C	39 (40,6)	30 (39,5)	1,128 (0,608–2,094)	0,146 (0,703)	>0,05
	C/T	35 (36,5)	34 (44,7)	0,709 (0,384–1,31)	1,210 (0,27)	>0,05
	T/T	22 (22,9)	12 (15,8 %)	1,586 (0,728–3,455)	1,359 (0,244)	>0,05
	C	113 (58,8)	94 (61,8)	0,803 (0,571–1,364)	0,316 (0,574)	>0,05
	T	79 (41,2)	58 (38,2)	1,133 (0,733–1,752)		

В гене *Il1b*, кодирующем предшественник интерлейкина 1бета, определяли наиболее часто встречающиеся полиморфизмы 3954C>T (rs1143644) и –511C>T (rs16944). Распространенность генотипов C/C, C/T и T/T по первому полиморфизму в основной группе составила 84,4, 14,6 и 1,0 % соответственно, по второму — 40,6, 36,5 и 22,9 % соответственно (см. табл. 6). В группе сравнения распространенность генотипов C/C, C/T и T/T по полиморфизмам 3954C>T (rs1143644) и –511C>T (rs16944) составила 52,6, 31,6, 15,8 % по первому и 39,5, 44,7, 15,8 % по второму соответственно. Распространенность C аллеля по rs1143644 составила 91,7 и 68,4 % в основной и группе сравнения, а C аллеля по rs16944 58,8 и 61,8 % в сравниваемых группах соответственно.

Распространенность генотипов G/G, G/A и A/A по полиморфизму G308A (rs1800629) гена *Tnf*, кодирующего мультифункциональный провоспалительный

цитокин, относящийся к подсемейству факторов некроза опухолей, в основной группе составила 85,4, 9,4 и 5,2 % соответственно, в группе сравнения — 93,4, 5,3 и 1,3 % соответственно (см. табл. 7). Распространенность генотипов G/G, G/A и A/A по полиморфизму G238A (rs361525) гена *Tnf* в основной группе составила 65,6, 31,2 и 3,1 %. В группе сравнения распространенность генотипов G/G и G/A по полиморфизму G238A (rs361525) гена *Tnf* составила 85,5, 14,5 % соответственно, генотип AA в группе сравнения не встречался. Распространенность G-аллеля полиморфного варианта G238A (rs361525) гена *Tnf* в основной и группе сравнения составила 90,1 и 96,1 % соответственно. Аллель G в полиморфном варианте G238A (rs361525) рассматриваемого гена был идентифицирован в 81,3 % случаев в основной группе и 92,8 % — в группе сравнения соответственно.

Таблица 7. Частота распределения генотипов G-308A (rs1800629) и G238A (rs361525) гена *Tnf* у пациенток с инфицированным выкидышем в анамнезе

Локус	Генотипы, аллели	Основная группа, n (%)	Группа сравнения, n (%)	ОШ (ДИ)	χ^2 (p)	F
G308A	G/G	82 (85,4)	71 (93,4)	0,412 (0,142–1,202)	2,766 (0,097)	>0,05
	G/A	9 (9,4)	4 (5,3)	1,862 (0,551–6,298)	1,026 (0,311)	>0,05
	A/A	5 (5,2)	1 (1,3)	4,121 (0,471–36,046)	1,909 (0,168)	>0,05
	G	173 (90,1)	146 (96,1)	0,374 (0,146–0,962)	4,454 (0,035)	>0,05
	A	19 (9,9)	6 (3,9)	2,672 (1,040–6,868)		
G238A	G/G	63 (65,6)	65 (85,5)	0,323 (0,15–0,695)	8,352 (0,004)	>0,05
	G/A	30 (31,2)	11 (14,5)	2,686 (1,242–5,807)	6,576 (0,011)	>0,05
	A/A	3 (3,1)	0	н.п.	2,417 (0,121)	>0,05
	G	156 (81,3)	141 (92,8)	0,338 (0,166–0,689)	9,533 (0,003)	>0,05
	A	36 (18,7)	11 (7,2)	2,958 (1,451–6,032)		

Таблица 8. Генотипы (аллели), достоверно изменяющие относительный риск возникновения инфицированного выкидыша

Ген	Полиморфизм	Генотип (аллель)	ОШ	95 % ДИ	Критический уровень значимости	
					для критерия χ^2	для F-теста
Увеличивающие относительный риск						
<i>Tlr3</i>	C1234T	генотип T/T	3,345	1,594–7,017	$p = 0,002$	$p < 0,05$
		аллель T	1,67	1,086–2,566	$p = 0,026$	$p > 0,05$
<i>Il1b</i>	C3954T	генотип C/C	4,86	2,386–9,9	$p < 0,001$	$p < 0,05$
		аллель C	5,077	2,743–9,396	$p < 0,001$	$p > 0,05$
<i>Tnf</i>	G238A	аллель A	2,958	1,451–6,032	$p = 0,003$	$p > 0,05$
Уменьшающие относительный риск						
<i>Nos3</i>	G894T	генотип T/T	0,274	0,070–1,072	$p = 0,049$	$p > 0,05$
<i>Tlr3</i>	C1234T	аллель C	0,599	0,39–0,921	$p = 0,026$	$p < 0,05$
		генотип C/T	0,431	0,231–0,814	$p = 0,008$	$p > 0,05$
<i>Il1b</i>	C3954T	генотип C/T	0,37	0,176–0,779	$p = 0,008$	$p > 0,05$
		генотип T/T	0,056	0,007–0,442	$p < 0,001$	$p < 0,05$
<i>Tnf</i>	G-308A	генотип G/G	0,323	0,150–0,695	$p = 0,004$	$p > 0,05$
		аллель G	0,338	0,166–0,689	$p = 0,003$	$p > 0,05$

При проведении сравнительного статистического анализа между наличием генетических полиморфизмов и риском развития инфицированного выкидыша без учета типа инфекционного агента и других факторов установлено, что наличие определенных полиморфизмов в исследуемых генах было наиболее значимым в следующих случаях. Носительство генотипа T/T гена *Tlr3* (C1234T), аллеля C гена *Il1b* (C3954T) и аллеля A в гене *Tnf* (G238A) увеличивает риск возникновения инфицированного выкидыша. С другой стороны, носительство генотипов T/T в гене *Nos3* (G894T), генотипа C/T и/или аллеля C в гене *Tlr3* (C1234T), генотипов C/T и T/T в гене *IL1B* (C3954T), а также генотипа G/G и/или G аллеля *Tnf* (G-308A) не исключает, но снижает относительный риск развития инфицированного выкидыша (см. табл. 8).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Беременность является физиологическим транзиторным иммунодефицитным состоянием, что обеспечивает инвазию в эндометрий полуаллогенного трофобласта, при этом в период беременности отмечается наиболее высокий риск реализации инфекционного процесса в виде болезни. Транзиторная гестационная иммуносупрессия способствует атипичному течению инфекционного процесса в период беременности, при этом при инфицировании плода включаются антагонистические механизмы в отношении пролонгирования или терминации беременности [6].

Генетически детерминированный ответ иммунной системы у пациенток на патогены, особенно в тех случаях, когда инфекционный агент представлен оппор-

тунистическими микроорганизмами, во время беременности определяется в некоторой степени развитием гиперответа иммунной системы [5]. При этом не столько вирулентность инфекта, сколько неадекватная гиперреакция иммунной системы становится основной причиной терминации беременности и индукции выкидыша или преждевременных родов. Некоторые полиморфные варианты генов способны изменить функциональную активность кодируемого ими белка или в редких случаях данный полиморфный вариант может изменять активность экспрессии гена [7]. На современном этапе развития науки большинство данных о роли полиморфного варианта того или иного гена в патологии находится на этапе накопления научных знаний, однако первые шаги к генетическому паспорту и персонализированной медицине были сделаны еще два десятилетия назад. Лимитирующим фактором активного внедрения полногеномных исследований является отсутствие в подавляющем большинстве случаев терапевтических подходов к лечению и профилактике патологии [8]. Поэтому в нашем поисковом исследовании проводился анализ доступных генетических полиморфизмов, внедрение методики определения которых возможно в условиях реальной клинической практики.

В отношении преждевременной потери беременности недавно выполненный Bombell S. et McGuire W. мета-анализ не установил каких-либо значимых корреляций с полиморфными вариантами генов *Tnf* (–308A или –238A), гамма-интерферона IFN (+874T), интерлейкина 1бета *Il1b* (–511T), *IL-6* (–174G) или интерлейкина 10-го типа *Il10* (–1082A, или –819T, или –592A), но при этом были продемонстрированы значимые ассоциации для гена *Il1b* (–31T; ОШ = 2,12, 95 % ДИ 1,04–4,33) и интерлейкина 6-го типа *Il6* (–634G; ОШ = 0,22, 95 % ДИ 0,09–0,57) [9].

Выбор нами для изучения полиморфизма толл-подобного рецептора 3-го типа объяснялся подтверждением его ведущей роли в иммунном ответе на инвазию патогена. Имеются данные, что некоторые полиморфные варианты ассоциированы с повышенной экспрессией данного рецептора в процессе инфицирования. В исследовании M. Rice et al. инфицирование плаценты с развитием хориоамнионита сопровождалось гиперэкспрессией TLR1, TLR3 и TLR8 в сравнении с другими типами рецепторов [10].

В нашем исследовании наличие аллель А полиморфного варианта гена *Tnf* (G238A) практически трехкратно повышало риск возникновения инфицированного выкидыша. Результаты мета-анализа J.A. Kim et al., выполненного на достаточно емкой выборке ($n_{\text{осн}} = 3437/n_{\text{контр}} = 4016$), продемонстрировали, что полиморфизм –308G/A положительно коррелирует с риском привычной потерей беременности, особенно в случаях 3 и более выкидышей. Наличие других полиморфизмов данного гена (–1031T/C, –863C/A и –376G/A) как в гетеро-, так и гомозиготе имело положительную корреляцию с привычной потерей беременности.

Данные по другим полиморфизмам (–857C/T, –238G/A, –308G/A и +488G/A), являются противоречивыми, и наличие корреляций по данным авторов очень часто зависит от этнического состава выборки [11].

Безусловно, беременные с риск-ассоциированными генетическими полиморфизмами требуют определенного клинического подхода при лечении, что особенно актуально в наступающую эпоху персонализированной медицины [12]. Среди возможных лечебных мероприятий при инфицированном выкидыше в группе повышенного риска: дезэскалационные режимы противомикробной химиотерапии, инфузионная терапия, более агрессивный подход к более ранней индукции выкидыша — вся совокупность мероприятий, направленная на профилактику осложнений. Также данная когорта после выписки из стационара требует реабилитационных мероприятий, прегравидарной подготовки при планировании следующей беременности, при этом если спонтанная беременность не наступает в течение календарного года, требуется своевременное направление к специалисту по репродуктивной медицине [13]. В среднесрочной перспективе экономически доступные экспресс-тесты позволят проводить подбор индивидуальной терапии на основе генетического профиля пациентки [14]. Также к настоящему времени обобщенные данные клинических случаев случайной терапии ингибиторами фактора некроза опухоли у женщин с привычной потерей беременности демонстрируют эффективность данного перспективного подхода и отсутствие неблагоприятного воздействия на плод [15].

ВЫВОДЫ

Носительство генотипа T/T гена *Tlr3* (C1234T), аллеля С гена *Il1b* (C3954T) и аллеля А в гене *Tnf* (G238A) увеличивает риск возникновения инфицированного выкидыша, а носительство генотипов T/T в гене *Nos3* (G894T), генотипа C/T и/или аллеля С в гене *Tlr3* (C1234T), генотипов C/T и T/T в гене *Il1b* (C3954T), а также генотипа G/G и/или аллеля G гена *Tnf* (G-308A) не исключает, но значительно снижает относительный риск развития инфицированного выкидыша.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этическая экспертиза. Проведение исследования одобрено независимым этическим комитетом ООО «Медицинские технологии» (протокол № 14 от 14.08.2021).

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Eschenbach D.A. Treating spontaneous and induced septic abortions // *Obstet. Gynecol.* 2015. Vol. 125, No. 5 P. 1042–1048. DOI: 10.1097/AOG.0000000000000795
2. Kumar M., Saadaoui M., Al Khodor S. Infections and pregnancy: effects on maternal and child health // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022. Vol. 12. P. 873253. DOI: 10.3389/fcimb.2022.873253
3. Carbone L., Conforti A., La Marca A., et al. The negative impact of most relevant infections on fertility and assisted reproduction technology // *Minerva Obstet. Gynecol.* 2022. Vol. 74, No. 1. P. 83–106. DOI: 10.23736/S2724-606X.21.04870-3
4. McPherson J.A., Manuck T.A. Genomics of preterm birth — evidence of association and evolving investigations // *Am. J. Perinatol.* 2016. Vol. 33, No. 3. P. 222–228. DOI: 10.1055/s-0035-1571144
5. Тапильская Н.И. Роль иммунной системы в патогенезе невынашивания беременности. Предпосылки для фармакологической коррекции // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* 2002. Т. 1, № 2. С. 15–26.
6. Redline R.W., Roberts D.J., Parast M.M., et al. Placental pathology is necessary to understand common pregnancy complications and achieve an improved taxonomy of obstetrical disease // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2023. Vol. 228, No. 2. P. 187–202. DOI: 10.1016/j.ajog.2022.08.010
7. O'Byrne L.J., Alqatari S.G., Maher G.M., et al. Fetal and maternal outcomes after maternal biologic use during conception and pregnancy: A systematic review and meta-analysis // *BJOG.* 2022. Vol. 129, No. 8. P. 1236–1246. DOI: 10.1111/1471-0528.17093
8. Cornish E.F., McDonnell T., Williams D.J. Chronic Inflammatory Placental Disorders Associated With Recurrent Adverse Pregnancy Outcome // *Front. Immunol.* 2022. Vol. 13. P. 825075. DOI: 10.3389/fimmu.2022.825075
9. Bombell S., McGuire W. Cytokine polymorphisms in women with recurrent pregnancy loss: meta-analysis // *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.* 2008. Vol. 48, No. 2. P. 147–154. DOI: 10.1111/j.1479-828X.2008.00843.x
10. Rice M., Nicol A., Nuovo G.J. The differential expression of toll like receptors and RIG-1 in the placenta of neonates with in utero infections // *Ann. Diagn. Pathol.* 2023. Vol. 62. P. 152080. DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2022.152080
11. Kim J.A., Bang C.H., Song G.G., et al. Tumour necrosis factor alpha gene polymorphisms in women with recurrent pregnancy loss: a meta-analysis // *Hum. Fertil. (Camb).* 2020. Vol. 23, No. 3. P. 159–169. DOI: 10.1080/14647273.2018.1543899
12. Bagkou Dimakou D., Lissauer D., Tamblyn J., Coomarasamy A., Richter A. Understanding human immunity in idiopathic recurrent pregnancy loss // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2022. Vol. 270. P. 17–29. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2021.12.024
13. Negishi Y., Shima Y., Takeshita T., Morita R. Harmful and beneficial effects of inflammatory response on reproduction: sterile and pathogen-associated inflammation // *Immunol. Med.* 2021. Vol. 44, No. 2. P. 98–115. DOI: 10.1080/25785826.2020.1809951
14. Цечоева Л.Ш., Глушаков Р.И., Тапильская Н.И. Инфицированный поздний выкидыш, ассоциированный с генетически детерминированным усиленным ответом иммунной системы, у пациенток с рецидивирующими вирусными и бактериальными инфекциями // *Гинекология.* 2018. Т. 20, № 1. С. 51–56. DOI: 10.26442/2079-5696_20.1.51-56
15. Wu H., You Q., Jiang Y., Mu F. Tumor necrosis factor inhibitors as therapeutic agents for recurrent spontaneous abortion (Review) // *Mol. Med. Rep.* 2021. Vol. 24, No. 6. P. 847. DOI: 10.3892/mmr.2021.12487

REFERENCES

1. Eschenbach DA. Treating spontaneous and induced septic abortions. *Obstet Gynecol.* 2015;125(5):1042–1048. DOI: 10.1097/AOG.0000000000000795
2. Kumar M, Saadaoui M, Al Khodor S. Infections and pregnancy: effects on maternal and child health. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:873253. DOI: 10.3389/fcimb.2022.873253
3. Carbone L, Conforti A, La Marca A, et al. The negative impact of most relevant infections on fertility and assisted reproduction technology. *Minerva Obstet Gynecol.* 2022;74(1):83–106. DOI:10.23736/S2724-606X.21.04870-3
4. McPherson JA, Manuck TA. Genomics of preterm birth — evidence of association and evolving investigations. *Am J Perinatol.* 2016;33(3):222–228. DOI: 10.1055/s-0035-1571144
5. Тапильская Н.И. The role of the immune system in the pathogenesis of miscarriage. Prerequisites for pharmacological correction. *Obzory po klinicheskoi farmakologii i lekarstvennoi terapii.* 2002;1(2):15–26. (In Russ.)
6. Redline RW, Roberts DJ, Parast MM, et al. Placental pathology is necessary to understand common pregnancy complications and achieve an improved taxonomy of obstetrical disease. *Am J Obstet Gynecol.* 2023;228(2):187–202. DOI: 10.1016/j.ajog.2022.08.010
7. O'Byrne LJ, Alqatari SG, Maher GM, et al. Fetal and maternal outcomes after maternal biologic use during conception and pregnancy: A systematic review and meta-analysis. *BJOG.* 2022;129(8):1236–1246. DOI: 10.1111/1471-0528.17093
8. Cornish EF, McDonnell T, Williams DJ. Chronic Inflammatory Placental Disorders Associated With Recurrent Adverse Pregnancy Outcome. *Front Immunol.* 2022;13:825075. DOI: 10.3389/fimmu.2022.825075
9. Bombell S, McGuire W. Cytokine polymorphisms in women with recurrent pregnancy loss: meta-analysis. *Aust NZ J Obstet Gynaecol.* 2008;48(2):147–154. DOI: 10.1111/j.1479-828X.2008.00843.x
10. Rice M, Nicol A, Nuovo GJ. The differential expression of toll like receptors and RIG-1 in the placenta of neonates with in utero infections. *Ann Diagn Pathol.* 2023;62:152080. DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2022.152080
11. Kim JA, Bang CH, Song GG, et al. Tumour necrosis factor alpha gene polymorphisms in women with recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. *Hum Fertil (Camb).* 2020;23(3):159–169. DOI: 10.1080/14647273.2018.1543899
12. Bagkou Dimakou D, Lissauer D, Tamblyn J, Coomarasamy A, Richter A. Understanding human immunity in idiopathic recurrent pregnancy loss. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2022;270:17–29. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2021.12.024
13. Negishi Y, Shima Y, Takeshita T, Morita R. Harmful and beneficial effects of inflammatory response on reproduction: sterile and patho-

gen-associated inflammation. *Immunol Med.* 2021;44(2):98–115. DOI: 10.1080/25785826.2020.1809951

14. Tsechoeva LSh, Glushakov RI, Tapil'skaya NI. An infected late miscarriage associated with a genetically determined enhanced immune response in patients with recurrent viral and

bacterial infections. *Gynecology.* 2018;20(1):51–56 (In Russ.) DOI: 10.26442/2079-5696_20.1.51-56

15. Wu H, You Q, Jiang Y, Mu F. Tumor necrosis factor inhibitors as therapeutic agents for recurrent spontaneous abortion (Review). *Mol Med Rep.* 2021;24(6): 847. DOI: 10.3892/mmr.2021.12487

ОБ АВТОРАХ

Лейла Шахмурзаевна Цечоева, канд. мед. наук, заведующая гинекологическим отделением ГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе»; eLibrary SPIN: 9248-9806; Author ID: 300593; e-mail: doctor-leila@yandex.ru

Елена Ивановна Дементьева, врач – акушер-гинеколог, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет; e-mail: 02102005@bk.ru

Мargarita Дмитриевна Леонова, врач – акушер-гинеколог, заведующая родильным отделением, «Родильный дом № 13» для беременных и рожениц с сердечно-сосудистой патологией; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3813-2995>; eLibrary SPIN: 8158-4744; Author ID: 1064506; e-mail: _margarita_@bk.ru

Антон Иванович Полосков, младший научный сотрудник НИО (медико-биологических исследований) НИЦ, Военно-медицинская академия; eLibrary SPIN: 3465-2522; Author ID: 1089007; e-mail: a.i.poloskov@gmail.com

Юлия Владимировна Гавричкова, врач – акушер-гинеколог гинекологического отделения №2 СПбГБУЗ «Мариинская больница»; e-mail: _ignatenkoiulija@gmail.com

Наталья Игоревна Тапильская, докт. мед. наук профессор, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава РФ, заведующая отделом репродуктологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта» РАН; Scopus Author ID: 0000-0001-5309-0087; eLibrary SPIN: 3605-0413; Author ID: 167924; e-mail: tapnatalia@yandex.ru

***Руслан Иванович Глушаков**, докт. мед. наук, начальник отдела (медико-биологических исследований) научно-исследовательского центра, Военно-медицинская академия; адрес: Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0161-5977>; eLibrary SPIN: 6860-8990; Author ID: 621995; e-mail: glushakoffruslan@yandex.ru

AUTHORS' INFO

Leila Sh. Tsechoeva, M.D., Ph.D. (Medicine), the Head of division of gynecology of the I.I. Dzhanelidze Saint Petersburg Research Institute of Emergency Medicine; Library SPIN: 9248-9806; Author ID: 300593; e-mail: doctor-leila@yandex.ru

Elena I. Dementyeva, M.D., doctor – obstetrician-gynecologist, Saint Petersburg State Pediatric Medical University; e-mail: 02102005@bk.ru

Margarita D. Leonova, M.D., doctor – obstetrician-gynecologist, the Head of the Maternity Department, "Maternity Hospital No. 13" for pregnant women and women in labor with cardiovascular pathology; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3813-2995>; eLibrary SPIN: 8158-4744; Author ID: 1064506; e-mail: _margarita_@bk.ru

Anton I. Poloskov, junior researcher of the department (Medical and Biological Research) of the Research Center of Military Medical Academy; eLibrary SPIN: 3465-2522; Author ID: 1089007; e-mail: a.i.poloskov@gmail.com

Yuliya V. Gavrichkova, M.D., doctor – obstetrician-gynecologist, gynecological department №2 of City Mariinsky Hospital; e-mail: _ignatenkoiulija@gmail.com

Natalya I. Tapil'skaya, M.D., D.Sc. (Medicine), Professor, Professor of the Obstetrics and Gynecology Department of Saint Petersburg State Pediatric Medical University, the Head of Reproductology Department of Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology; Scopus Author ID: 0000-0001-5309-0087; eLibrary SPIN: 3605-0413; Author ID: 167924; e-mail: tapnatalia@yandex.ru

***Ruslan I. Glushakov**, M.D., D.Sc. (Medicine), the Head of the Department (medical and biological research) of the Research Center, Military Medical Academy; address: 6, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, 194044, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0161-5977>; eLibrary SPIN: 6860-8990; Author ID: 621995; e-mail: glushakoffruslan@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author