

М. С. Недосейкина¹, Е. А. Аксенова², Е. И. Барановская³

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ АЛЛЕЛЬНОМ ПОЛИМОРФИЗМЕ -174 G/C ПРОМОТОРНОЙ ОБЛАСТИ ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА 6

УО «Гомельский государственный медицинский университет»¹

ГНУ «Институт цитологии и генетики НАН Беларуси»²

УО «Белорусский государственный медицинский университет»³

Целью данного исследования было выявление предрасположенности к развитию инфекционно-обусловленных осложнений беременности. Обследовано 100 женщин в третьем триместре беременности, среди которых было 50 пациенток с преждевременными родами и 50 женщин со срочными родами. У пациенток с генотипом IL-6(-174GC) выявлено увеличение доли женщин с хроническим цервицитом (22,9%; $p = 0,003$) и хроническим компенсированным тонзиллитом (58,3%; $P = 0,0004$) до наступления настоящей беременности. Среди пациенток носительниц генотипа IL-6 (-174CC) частота преждевременных родов составила 75%, а также отмечено осложненное течение беременности рецидивирующей угрозой прерывания, истмико-цервикальной недостаточностью, синдромом задержки роста плода, вагинитом и преждевременным излитием околоплодных вод.

Ключевые слова: полиморфизм генов, интерлейкин 6, инфекционно-обусловленные осложнения беременности, преждевременные роды.

M. S. Nedoseikina, E. A. Aksyonova, E. I. Baranovskaya

FEATURES OF PREGNANCY IN WOMEN WITH POLYMORPHISM -174 G/C GENE PROMOTER REGION OF INTERLEUKIN-6

The aim of this study was to investigate the relationship between single nucleotide polymorphisms (SNP) of the interleukin 6 gene promoter (-174G/C) and complications of pregnancy. In the study was involved 100 women in the third trimester of pregnancy, which included 50 patients with preterm labor and 50 women with term births. The DNA was extracted and SNP in the human IL-6 gene at positions -174 (G/C), respectively, was analyzed using the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method. In patients with genotype of IL-6 (-174GC), we found a high incidence of cervical infections (22,9%; $p = 0,003$) and chronic compensated tonsillitis before the current pregnancy (58,3%; $P = 0,0004$). In the group with genotype IL-6 (-174CC) was observed a greater frequency of threatened abortion, vaginitis, preterm premature rupture of membranes and intrauterine growth restriction, preterm birth' rate was 75%.

Key words: single nucleotide polymorphisms, interleukin 6, complications of the pregnancy, preterm labor.

Интерлейкин 6 (IL-6), вырабатываемый Т-хелперами 2 типа, оказывает разнообразное влияние на многие органы и системы организма: инициация реакции на внедрение чужеродного антигена, во время беременности способствует имплантации плодного яйца, влияет на секрецию хорионического гонадотропина, активирует иммуносупрессорные клетки, подавляя реакции материнского иммунитета по отношению к плоду [1, 3, 7]. При воспалении последовательно секретируются фактор некроза опухолей α , интерлейкин-1 и IL-6 [4]. IL-6 при переходе вос-

палительной реакции в разряд повреждающей подавляет секрецию фактора некроза опухолей α и интерлейкина-1 [9], активирует гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему с повышением секреции глюкокортикостероидов [6], способствуя регуляции воспалительного процесса.

Полиморфный локус -174G/C промоторной области гена IL-6 влияет не на качественную структуру пептида, а на его количественное содержание в биологических средах. Генетическая детерминированность синтеза IL-6 играет роль при развитии инфекционного процесса. Однако

результаты исследований о влиянии аллельного полиморфизма гена IL-6 (-174 G/C) в развитии гестационных осложнений противоречивы. Генотип IL-6(-174CC) характерен для представительниц европеоидной расы в отличие от афроамериканских женщин, у которых данный генотип встречается крайне редко [10]. Высокая частота встречаемости генотипа IL-6(-174CC) выявлена среди бразильских женщин с повторными самопроизвольными абортами [5]. S. Vombell (2008) при мета-анализе исследований не обнаружил значимого влияния полиморфизма гена IL6(-174G/C) на невынашивание беременности [2].

При генотипировании недоношенных детей выявлена высокая частота встречаемости генотипа IL-6(-174CC) у новорожденных с сепсисом, что подтверждает гипотезу о склонности носителей данного генотипа к более тяжелому течению инфекционного процесса [8].

Учитывая противоречивые данные о влиянии данного генотипа на течение беременности, целью настоящего исследования является изучение частоты встречаемости генотипов в белорусской популяции и влияния аллельного полиморфизма -174G/C промоторной области гена IL6 на развитие инфекционно-обусловленных осложнений беременности.

Материалы и методы

Обследовано 100 женщин в третьем триместре беременности, среди которых было 50 пациенток на сроке беременности от 27 до 36 недель, госпитализированных по поводу начавшихся преждевременных родов или преждевременного излития околоплодных вод, и 50 женщин со срочными родами с самостоятельно начавшейся родовой деятельностью.

В группах исследования изучали анамнез (наличие экстрагенитальной и гинекологической патологии, репродуктивную функцию пациенток, течение предыдущих беременностей и родов), течение настоящей беременности (наличие воспалительных заболеваний мочеполовой системы, анемии, наличие угрозы прерывания беременности и фетоплацентарной недостаточности), родов (наличие несвоевременного разрыва околоплодных оболочек, гипоксии плода, кровотечений, травматизма матери и ребёнка, наличие операций и пособий в родах) и послеродового периода (наличие гнойно-септических послеродовых осложнений).

Типирование полиморфных аллелей -174 G/C в промоторной области гена IL-6 производили после госпитализации пациенток и постановки диагноза и до начала антибактериальной терапии. Взятую из локтевой вены пациентки, кровь для анализа объемом 1000 мкл помещали в цент-

рифужную пробирку 1,5 мл с 100 мкл 0,5М ЭДТА. Образцы хранили в холодильной камере при температуре 2–4 °С. ДНК из крови выделяли при помощи тест-системы «АмплиСенс®ДНК-сорб-В» (РФ). В пробирки вносили по 1 мкл ДНК-матрицы и по 14 мкл амплификационной смеси, после чего пробирки помещали в амплификатор. Амплификацию проводили по стандартной методике. После проведения амплификации продукты реакции подвергали действию специфической эндонуклеазы NlaIII (Hin1II) для гена IL-6. Рестрикцию проводили в термостате в течение 15 часов при температуре 37 °С с последующим электрофоретическим разделением продуктов рестрикции с помощью прибора для вертикального гель-электрофореза в 6% полиакриламидном геле. В качестве маркера длин фрагментов рестрикции использовали pCU19/MspI. Полимерную пластину геля после выключения прибора помещали на стекло в раствор этидиум бромид и окрашивали в течение 30 минут, после чего переносили на трансиллюминатор для анализа в УФ-свете и фотографировали с помощью системы для геледокументирования. Выявление одного фрагмента 166 пар оснований (п. о.) оценивали как гомозиготный генотип IL-6(-174GG), а при одновременном выявлении фрагментов 166 и 122 п. о. – гетерозиготный генотип IL-6(-174GC). Гомозиготы IL-6(-174CC) определяли по наличию фрагмента длиной 122 п. о.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы MedCalc 10.2.0.0 («MariaKerke», Бельгия). Для описания качественных признаков использовали долю (р) и 95% доверительный интервал (95% CI), рассчитанный по методу Клоппер-Пирсона. Общее межгрупповое различие качественных признаков определяли с помощью критерия χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность, для малых выборок – с помощью точного критерия Фишера (P), определяли угловое преобразование Фишера (φ). Шансы возникновения изучаемого события в группах оценивали по отношению шансов (OR) и 95% CI. Статистически значимыми были результаты с значением $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Среди обследованных пациенток наиболее частым генотипом был IL-6(-174GC), выявленный у 61 (61%; 50,7–70,6) женщины, по сравнению с IL-6(-174GG), наблюдавшимся у 27 (27%; 18,6–36,8) пациенток, и IL-6(-174CC), который был диагностирован у 12 (12%; 6,4–20) беременных ($P < 0,0001$). Среди женщин с преждевременными родами наблюдали увеличение доли пациенток с генотипом IL-6(-174GC) до 52% по сравнению с другими генотипами ($\chi^2 = 12,7$, $p = 0,0004$

□ Оригинальные научные публикации

для IL-6(-174CC) и $\chi^2 = 11,1$, $p = 0,0009$ для IL-6(-174GG)). По результатам исследования полиморфизма гена промоторной области IL-6 (-174G/C) все женщины были разделены на три группы. В первую группу (I группа) вошли 12 женщин с генотипом IL-6(-174CC). Вторую группу (II группа) составили 27 пациенток с генотипом IL-6(-174GG). Третья группа (III группа) состояла из 61 женщины с генотипом IL-6(-174GC).

Возраст пациенток на момент родоразрешения составил: от 20 до 38 лет (26; 22–28) в первой группе, от 19 до 38 лет (28; 23–31) во второй группе и от 17 до 39 лет (24; 21–29) в третьей группе.

Хронический компенсированный тонзиллит до наступления настоящей беременности чаще наблюдали у 7 (58,3%; 27,7–84,8) пациенток I группы по сравнению с 1 (3,7%; 0,1–18,9) женщиной II группы ($P = 0,0004$) и 8 (13,1%; 5,8–24,2) беременными из III группы ($\chi^2 = 12,6$, $p = 0,0004$). Среди пациенток с генотипом IL-6(-174GC) выявлено увеличение доли женщин 14 (22,9%; 13,2–35,5), у которых беременность наступила на фоне не вычищенного хронического цервицита, против 1 (3,7%; 0,1–18,9) случая при гомозиготном носительстве аллеля G ($\varphi = 2,64$, $p = 0,003$).

Не выявлено различий по паритету беременности и родов. Преждевременные роды в анамнезе наблюдали у 4 (6,6%; 1,8–15,9) женщин с генотипом IL-6(-174GC) и у 1 (3,7%; 0,1–18,9) женщины с генотипом IL-6(-174GG).

Для носительниц генотипов IL-6(-174CC) и IL-6(-174GC) характерно осложненное течение предыдущих и настоящей беременности. У пациенток с данными генотипами в анамнезе отмечено увеличение частоты развития угрозы прерывания беременности, вагинитов, синдрома задержки роста плода и преждевременного излития околоплодных вод по сравнению с женщинами-носительницами аллеля G в гомозиготном состоянии. Течение предыдущих беременностей в группах представлено в таблице 1.

Угроза прерывания настоящей беременности чаще диагностирована у 11 (91,7%; 61,5–99,8)

пациенток-носительниц аллеля C в гомозиготном состоянии по сравнению с 17 (62,9%; 42,4–80,6) беременными II группы и 32 (52,5%; 39,3–65,4) женщинами III группы ($\chi^2 = 5,9$, $p = 0,02$ и $\chi^2 = 4,9$, $p = 0,03$, соответственно). Рецидивирующую угрозу прерывания беременности наблюдали у 8 (66,7%; 34,9–90,1) беременных с генотипом IL-6(-174CC) и у 30 (48,2%; 36,1–62,3) пациенток с генотипом IL-6(-174GC) по сравнению с 5 (18,5%; 6,3–38,1) женщинами с наличием аллеля G в гомозиготном состоянии ($\chi^2 = 8,7$, $p = 0,003$ и $\chi^2 = 7,4$, $p = 0,006$, соответственно).

Начавшийся самопроизвольный выкидыш диагностирован у 5 (41,7%; 15,2–72,3) пациенток I группы и у 1 (1,7%; 0,1–8,8) женщины III группы ($P = 0,0003$). Особенностью данных пациенток было наличие клинических проявлений урогенитальной инфекции (100%) и в последующем у них наблюдали преждевременные роды – у 3 (50%; 11,8–88,2) женщин роды произошли на сроке 30–32 недели и у 2 (33,3%; 4,3–77,7) на сроке 34–35 недель. У всех их новорожденных выявлена асфиксия при рождении, у 1 (16,7%; 0,4–64,1) ребенка были диагностированы асфиксия тяжелой степени и тяжелый сепсис с инфекционно-токсический шок, который стал причиной смерти новорожденного.

Отмечено увеличение доли пациенток 6 (50%; 21,1–78,9) с наличием истмико-цервикальной недостаточности в группе с гомозиготным носительством аллеля C против 12 (19,7%; 10,6–31,8) беременных в III группе ($\chi^2 = 4,9$, $p = 0,03$).

Преждевременное излитие околоплодных вод наблюдали в I группе у 7 (58,3%; 27,7–84,8) женщин, что значительно чаще, чем у 21 (34,4%; 22,7–47,7) пациентки с генотипом IL-6(-174GC) ($\chi^2 = 8,7$, $p = 0,003$). Синдром задержки роста плода был диагностирован в группе с гомозиготным носительством аллеля C в 5 (41,7%; 15,2–72,3) случаях против 5 (8,2%; 2,7–18,1) в III группе ($\chi^2 = 6,9$, $p = 0,009$).

Урогенитальная инфекция на момент родов диагностирована у большинства женщин (60%) с преждевременными родами по сравнению

Таблица 1. Течение предыдущих беременностей у женщин с различными генотипами IL-6 (-174G/C), n, p%, CI_p

Осложнение	I группа (n = 12)	II группа (n = 27)	III группа (n = 61)	Уровень значимости
Угроза прерывания беременности	4 (33,3%; 9,9–65,1)	0	12 (19,7%; 10,6–31,8)	$P_{I,II} = 0,01$; $P_{I,III} = 0,3$; $P_{II,III} = 0,01$
Вагинит	1 (8,3%; 0,2–38,5)	0	11 (18,0%; 9,4–29,9)	$P_{I,II} = 0,3$; $P_{I,III} = 0,3$; $P_{II,III} = 0,01$
Преждевременное излитие околоплодных вод	3 (25%; 5,5–57,2)	0	10 (16,4%; 8,2–28,1)	$P_{I,II} = 0,02$; $P_{I,III} = 0,4$; $P_{II,III} = 0,02$
Синдром задержки роста плода	3 (25%; 5,5–57,2)	0	3 (4,9%; 1,0–13,7)	$P_{I,II} = 0,02$; $P_{I,III} = 0,05$; $P_{II,III} = 0,3$

Таблица 2. Распространенность урогенитальной инфекции при преждевременных и срочных родах у женщин с различными генотипами IL-6 (-174G/C), n, p%, CI_p

Группа	Преждевременные роды	Срочные роды	Уровень значимости
I группа (n = 12)	7 (58,3%; 27,7–84,8)	0	P = 0,045
II группа (n = 27)	9 (33,3%; 16,5–53,9)	2 (7,4%; 0,9–24,3)	P = 0,002
III группа (n = 61)	24 (39,3%; 27,1–52,7)	6 (9,8%; 3,7–20,2)	P < 0,0001

с 8 пациентками со срочными родами ($\chi^2 = 20,5$, $p < 0,0001$). Кроме того, во всех группах отмечено увеличение частоты урогенитальной инфекции при преждевременных родах (таблица 2).

Преждевременные роды чаще наблюдали у 9 (75%; 42,8–94,5) женщин в I группе против 13 (48,2%; 28,7–68,1) случаев во II группе и 28 (45,9%; 33,1–59,2) случаев в III группе ($\chi^2 = 5,1$, $p = 0,03$ и $\chi^2 = 18,6$, $p < 0,0001$, соответственно). Носительство аллеля G значимо реже диагностировано у женщин с преждевременными родами – 40 (80%; 66,3–89,9) по сравнению с 47 (94%; 83,5–98,8) пациентками со срочными родами (OR = 0,26, 95% CI 0,07–0,99, $p = 0,048$).

Таким образом, наиболее частым генотипом был IL-6(-174GC), выявленный с частотой 61% ($P < 0,0001$), данный генотип также с высокой частотой 52% отмечен у женщин с преждевременными родами ($p = 0,0004$ и $p = 0,0009$, соответственно). У женщин с преждевременными родами отмечена низкая частота выявления аллеля G ($p = 0,048$).

Наличие хронического тонзиллита до наступления настоящей беременности у значимого большинства пациенток (58,3%) с гомозиготным носительством аллеля C ($p = 0,0004$) и хронического цервицита у 22,9% пациенток с генотипом IL-6(-174GC) ($p = 0,003$), а также осложненное угрозой прерывания беременности ($P = 0,01$), вагинитом ($P = 0,01$), синдромом задержки роста плода ($P = 0,02$) и преждевременным излитием околоплодных вод ($P = 0,02$) течение предыдущих беременностей свидетельствуют о неполноценности иммунного ответа у беременных-носительниц ослабленного аллеля C.

Наиболее неблагоприятным генотипом является IL-6(-174CC). У пациенток с данным генотипом возрастает частота угрозы прерывания беременности (91,7%; $p = 0,02$), истмико-цервикальной недостаточности (50%; $p = 0,03$), синдрома задержки роста плода (41,7%; $p = 0,009$) и преждевременного излития околоплодных вод (58,3%; $p = 0,003$). У 48,2% пациенток с генотипом IL-6(-174GC) наблюдают рецидивирующую угрозу прерывания беременности ($p = 0,006$).

Наличие инфекционно-обусловленных осложнений беременности у носительниц аллеля C в гомозиготном состоянии способствует возрастанию частоты преждевременных родов (75%; $p < 0,0001$)

по сравнению с другими генотипами. На момент родоразрешения урогенитальная инфекция выявлена у большинства пациенток (60%; $p < 0,0001$), отмечено увеличение ее частоты урогенитальной инфекции во всех группах при преждевременных родах ($P = 0,045$).

Выявление аллеля C в положении -174 промоторной области гена IL-6 является прогностическим критерием осложненного течения беременности, что возможно использовать для выявления женщин группы высокого риска по развитию преждевременных родов и своевременного проведения у них профилактических мероприятий, как на этапе прегравидарной подготовки, так и во время беременности. Особое внимание следует уделить обследованию и лечению урогенитальных инфекций у супружеской пары, профилактике и лечению фетоплацентарной недостаточности. Для предупреждения инфекционно-обусловленных осложнений следует проводить бактериоскопическое исследование отделяемого из влагалища и шейки матки при постановке на диспансерный учет, на сроке 16–18, 26–28, 32–34 и 36 недель или в любом сроке при наличии клинических проявлений. При выявлении патологических изменений санация влагалища с последующим контролем излеченности бактериологическим методом через неделю после окончания санации. Для пациенток с генотипом IL-6(-174CC) рекомендован ультразвуковой контроль длины шейки матки на сроке 14, 18 и 22 недели, при наличии синдрома «короткой шейки» и истмико-цервикальной недостаточности – коррекция с помощью лекарственных средств, содержащих гестагены, наложения циркулярного шва на шейку матки или разгружающим акушерским пессарием.

Литература

1. Титов, В. Н. Роль макрофагов в становлении воспаления, действие интерлейкина-1, интерлейкина-6 и активность гипотламо-гипофизарной системы / В. Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – № 12. – С. 3–10.
2. Bombell, S. Cytokine polymorphisms in women with recurrent pregnancy loss: meta-analysis / S. Bombell, W. McGuire // Aust N Z J Obstet Gynecol. – 2008. – Vol. 48 (2). – P. 147–154.
3. Casart, Y. Serum levels of interleukin-6, interleukin-1 β and human chorionic gonadotropin in pre-eclamptic

□ Оригинальные научные публикации

and normal pregnancy / Y. Casart [et al.] // *Gynec. Endocr.* – 2007. – Vol. 23 (5). – P. 300–320.

4. Van Deventer, S. J. Experimental endotoxemia in humans: analysis of cytokine release and coagulation, fibrinolytic, and complement pathways / S. J. van Deventer [et al.] // *Blood.* – 1990. – Vol. 76. – P. 2520–2526.

5. Von Linsingen, R. A case-control study in IL6 and TGFB1 gene polymorphisms and recurrent spontaneous abortion in southern Brazilian patients / R. von Linsingen, E. P. Bompeixe, G. Mda Bicalho // *Am J. Reprod Immunol.* – 2005. – Vol. 53 (2). – P. 94–99.

6. Lyson, K. The effect of interleukin-6 on pituitary hormone release in vivo and in vitro / K. Lyson, S. M. McCann // *Neuroendocrinology.* – 1991. – Vol. 54. – P. 262–266.

7. Margni, R. During pregnancy, in the context of a Th2-type cytokine profile, serum IL-6 levels might condition

the quality of the synthesized antibodies / R. Margni, A. Zenclussen // *Am J. Reprod Immunol.* – 2001. – Vol. 46 (3). – P. 181–187.

8. Reiman, M. Interleukin-6 polymorphism is associated with chorioamnionitis and neonatal infections in preterm infants / M. Reiman [et al.] // *J. Pediatr.* – 2008. – Vol. 153 (1). – P. 19–24.

9. Schindler, R. Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF / R. Schindler [et al.] // *Blood.* – 1990. – Vol. 75. – P. 40–47.

10. Simhan, H. N. Interleukin-6 promoter –174 polymorphism and spontaneous preterm birth / H. N. Simhan [et al.] // *Am J. Obstet Gynecol.* – 2003. – Vol. 189 (4). – P. 915–918.

Поступила 24.06.2014