

УДК: 618.39: 575.113

ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ОБМЕНА У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНОЙ ПОТЕРЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ РАННИХ СРОКОВ

А.С.ДОБРЮЛОВ*, М.Л.ДОБРЫНИНА*, Ж.А.ДЮЖЕВ*, М.А.ЛИПИН*, А.В.ПОЛЯКОВ**, И.Н.ФЕТИСОВА*

Введение. Большое внимание среди причин прерывания беременности уделяется тромбофилическим состояниям, обусловленным, в частности, дефектами генов 5,10-метилентетрагидрофолат-редуктазы (MTHFR) и метионин-синтазы-редуктазы (MTRR) [1, 2]. Наличие функционально неполноценных аллелей приводит к снижению активности ферментов фолатного цикла и избыточному накоплению гомоцистеина в крови. Гипергомоцистеинемия, как известно, является фактором риска сосудистых осложнений, приводящих к нарушению плацентации и прерыванию беременности [3]. Среди целого спектра механизмов нарушения фертильности в данных условиях можно обозначить как эффекты гипергомоцистеинемии, так и нарушения процессов метилирования ДНК в соматических и половых клетках. Эндотелиальная дисфункция, наблюдаемая при гипергомоцистеинемии, способствует нарушению нидации плодного яйца, инвазии трофобласта и плацентации, что и обуславливает развитие акушерской патологии.

Цель работы – поиск ассоциации аллельных вариантов генов MTHFR и MTRR с привычной потерей беременности.

Материал и методы. Нами были определены частоты аллелей и генотипов 3 полиморфизмов в 2 генах фолатного цикла (MTHFR C677T, MTHFR A1298C и MTRR A66G) у 56 женщин с нормальной репродукцией и 61 женщины с первичной привычной потерей беременности (ППБ) ранних сроков, под которой подразумевалось самопроизвольное прерывание двух и более беременностей в срок до 12 недель при отсутствии в анамнезе указаний на медицинские аборты, роды, внематочную беременность. Мультиплексную ПЦР проводили на программируемом термоциклере MC2 («ДНК-технология») с использованием ДНК-полимеразы *Termus aquaticus*. После амплификации фрагменты генов MTHFR C677T, MTHFR A1298C и MTRR A66G подвергались рестрикции специфическими эндонуклеазами Hinf I и Fau NDI, реакцию проводили согласно протоколу фирм-производителей («СибЭнзим», НПО «Fermentas»). Продукты амплификации и рестрикции анализировали в 7%-ном полиакриламидном геле с последующей окраской в растворе бромистого этидия и визуализацией в проходящем УФ-свете.

Таблица

Частоты аллелей в двух генах фолатного обмена у женщин из пар с привычной потерей беременности и нормальной фертильностью

Аллели	ППБ		Контроль		p	OR CI-95% (ORmin-ORmax)		
	n	N	n	N				
MTHFR 677C	76	116	65,5	85	104	81,7	0,007	0,4(0,2-0,8)
MTHFR 677T	40	116	34,5	19	104	18,3		
MTHFR 1298A	80	116	69,0	75	104	72,1	0,601	0,9(0,5-1,5)
MTHFR 1298C	36	116	31,0	29	104	27,9		
MTRR 66A	55	122	45,1	54	108	50,0	0,460	0,8(0,5-1,4)
MTRR 66G	67	122	54,9	54	108	50,0		

Результаты. У пациенток с ППБ отмечено достоверное увеличение частоты полиморфного аллеля 677T в гене MTHFR по сравнению со здоровыми женщинами (34,5% и 18,3% соответственно (p=0,007 OR=2,32 (CI-95%: 1,26–4,27)) (табл. 1). Статистически значимых различий в частотах аллелей 1298A/1298C в гене MTHFR и 66A/66G в гене MTRR в исследуемых группах не выявлено, однако у женщин с ППБ достоверно чаще, чем в контрольной группе, отмечалось сочетание функционально неполноценных аллелей MTHFR677T + MTRR66G (46,6% и 26,0% соответственно, p=0,027 OR=2,43 (1,10-5,33)). Анализ распределения генотипов по изучаемым полиморфизмам показал статистически значимое уменьшение доли генотипа 677C/C в гене MTHFR у пациенток с ППБ по сравнению со здоровыми женщинами (41,4%

и 65,4% соответственно, p=0,012 OR=0,38 (0,18-0,81)). Примечательно, что в гене MTHFR ни у одного человека не было обнаружено одновременно двух полиморфных вариантов на одной хромосоме, что говорит о том, что две эти замены C677T и A1298C произошли независимо друг от друга на разных хромосомах. Подобная закономерность была отмечена Бескоровой Т.С. (2005) [2] и подтверждена настоящим исследованием на большей выборке. Высказывалось предположение о нежизнеспособности лиц, несущих замены в обеих позициях на одной хромосоме. Данная гипотеза подтверждается результатами работы Isolato et al., где такие аномальные генотипы наблюдались на абортивном плодном материале [4].

Раз изучаемые гены причастны к одному метаболическому циклу, и велика вероятность межгенных взаимодействий, можно предположить накопление мутантных аллелей в разных генах при патологии. Анализ сочетания полиморфных аллелей в гомо- или гетерозиготном состоянии в генах MTHFR и MTRR показал, что у женщин с ППБ достоверно реже, чем у здоровых женщин встречается генотип 677C/C+1298A/A в гене MTHFR при одновременном наличии аллеля 66A в гене MTRR (8,6% и 26,0% соответственно, p=0,016 OR=0,29 (0,10-0,79)).

Результаты говорят о наличии ассоциации полиморфных аллелей MTHFR 677T, MTRR 66G генотипов, содержащих эти аллели, с развитием первичной ППБ ранних сроков.

Литература

1. Баймурадова С.М. и др. // Акушерство и гинекология.– 2004.– №2.– С.21–27.
2. Бескоровая Т.С. Влияние некоторых генетических факторов на нарушение репродукции у человека: Дис... канд. мед. наук.– М., 2005.– 89 с.
3. Мухин Н.А. и др. Гипергомоцистеинемия как фактор риска развития заболеваний сердечно-сосудистой системы.// Клиническая медицина.– 2001.– №6.– С.7–14.
4. Isolato P.A. et al. // Am.J.Hum.Genet.–2000.– Vol.67.– P.986–990.

УДК 618.2/3: 01.008; 167/168

СИСТЕМНЫЙ КЛАСТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИЙ ОРГАНИЗМА ЖЕНЩИН С ОПГ-ГЕСТОЗОМ В УСЛОВИЯХ СЕВЕРА РФ

И.Ю. ДОБРЫНИНА, В.М. ЕСЬКОВ, Р.Н. ЖИВОГЛЯД, С.М. ЧАНТУРИЯ, Т.Н. ШИПИЛОВА*

Введение. Гестозы занимают первое место в структуре патологических состояний второй половины беременности и остаются одной из ведущих причин материнской и перинатальной заболеваемости и смертности. По данным клинического перинатального центра г. Сургута, частота гестозов находится в пределах 7–16%. Отмечена зависимость частоты заболевания от климатических условий (в странах с резко континентальным и холодным климатом гестозы встречаются чаще) [1].

В последние годы в России зарегистрирован рост частоты гестозов (в частности, по Москве – до 17–18%), что объясняется улучшением диагностики заболевания и возрастанием числа беременных групп высокого риска по развитию ОПГ-гестозов. Термин «ОПГ-гестозы» объединяет ряд патологических состояний, развивающихся во второй половине беременности и характеризующихся нарушениями деятельности сосудистой и нервной систем, функции почек, печени, фетоплацентарного комплекса и обмена веществ. Несмотря на многообразие клинических проявлений, ОПГ-гестоз не имеет ни одного патогномоничного симптома. До 1985 г. на территории республик бывшего СССР использовался термин «поздний токсикоз беременных». В 1985 г. на Всесоюзном пленуме акушеров-гинекологов принято название «ОПГ-гестоз», распространенное в европейских странах (отеки, протеинурия, гипертензия). Американская Ассоциация акушеров-гинекологов в отношении данного заболевания придерживается терминов «преэклампсия» и «эклампсия», а также «гипертензия, индуцированная беременностью». Среди причин, обуславливаю-

* ФГУ Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Росздрава 153731, г. Иваново, ул. Победы, д. 20; факс (0932) 33-62-56; e-mail: iupimid@ivnet.ru
 ** ГУ Медико-генетический научный центр РАМН, 115478, г. Москва, ул. Москворечье, д.1; факс (095) 324-81-10; e-mail: dnaLab@online.ru

* Сургутский государственный университет, 628400, г. Сургут, Энергетиков 14, СурГУ, 8-(3462) -52-47-13, e-mail: evm@bf.surgu.ru

щих развитие ОПГ-гестозов, ведущая роль принадлежит экстрагенитальной патологии (64%). При этом особое значение отводится ожирению (17%), заболеваниям почек (10%), гипертензионным состояниям (8%) и их сочетанию (17%) [3]. Предложены многочисленные теории, объясняющие этиологию и патогенез гестозов. Основным этиологическим фактором, обуславливающим развитие гестоза, считали плодное яйцо, так как заболевание не встречается вне беременности. Интеграция сложного комплекса гормональных, трофических, вегетативных и других реакций осуществляется центральной нервной системой, которая влияет на деятельность органов и систем через гипоталамус и гипофиз. При гестозе ответные реакции материнского организма на беременность приобретают патологический характер, в результате которого формируются нарушения основных жизненных функций организма, обуславливающие клинические проявления заболевания. В настоящее время главенствует точка зрения о полиэтиологичности развития гестозов [2–3].

Материалы и методы исследования. Использование методов системного анализа и синтеза в практике акушерства и гинекологии – наименее разработанный подход в общей практике внедрения методов клинической кибернетики в биомедицинские исследования. Именно в акушерстве и гинекологии существует огромное количество задач, которые могут быть формализованы и решены именно в рамках системного анализа и синтеза. Использование методов системного синтеза, который существенно отличается от традиционного системного анализа, представляется наиболее уместным и перспективным подходом. Объясняется это тем, что именно СС призван решать задачи выделения наиболее значимых диагностических признаков (параметров), которые в системном анализе и синтезе определяются как параметры порядка (ПП). Зная ПП, исследователь и врач могут более точно ставить диагноз, выполнять дифференцировку состояний больного и прогнозировать исход заболеваний. В конечном итоге решение такой задачи обеспечит оптимизацию числа диагностических признаков при изучении той или иной патологии в условиях конкретной территории. Представляем результаты такого подхода на примере данных по территории Северо-Западной Сибири, при изучении женских патологий в Ханты-Мансийском автономном округе – Югре. За последние 10 лет работы на территории Югры нами были получены результаты в области общей теории сапо- и патогенеза в аспекте фазотонной теории мозга [4–7]. Фазотон мозга обеспечивает общее иерархическое управление основными системокомплексами (нейромоторным системокомплексом, нейротрансмиттерным и нейровегетативным системокомплексом), которые полностью определяют динамику сапо- и патогенеза [5–7]. Такая скоординированная работа систем жизнеобеспечения определяет и характер движения вектора состояния организма человека (ВСОЧ) в фазовом пространстве состояний [5–6]. В нашей работе для этих целей используются нейрокомпьютерные эмуляторы, которые могут обеспечить реализацию процедуры ранжирования компонентов x_i ВСОЧ и выбор из них наиболее значимых, т.е. ПП [6–7]. Для понимания сущности разработанных подходов отметим необходимые условия для реализации разработанных методов. Во-первых, надо иметь несколько групп данных (результатов обследования пациентов), которые бы отличались между собой по статусу. В простейшем случае это могут быть две группы – группа больных и группа относительно здоровых (контрольная группа, группа не имеющих данную патологию). В общем случае таких групп может быть много, о чем будет сказано ниже. Во-вторых, необходимо иметь достаточно апробированную нейросеть (НС, нейромодулятор), которая бы посредством обучения на представленных выборках могла осуществить дифференцировку групп, а если эта процедура невозможна, то необходимы сведения о причинах таких невозможностей. В-третьих, НС должна показать данные о ранжировании признаков (их весовых коэффициентах), что бы можно было отбросить наименьшие по значимости и повторить процедуру дифференцировки групп.

Первый этап – это определение признаков (т.е. координаты x_i) для обучения. В качестве стартовой обучающей выборки взяты данные из историй беременности 41 пациентки. В качестве признаков x_i использовались 13: X1 – гемоглобин (г/л); X2 – содержание лейкоцитов периферической крови ($\times 10^9$ /л); X3 – содержание эритроцитов периферической крови ($\times 10^{12}$ /л); X4 – цветной показатель т.е. относительное содержание гемоглобина в эритроците; X5 – скорость оседания эритроцитов мм/ч; X6 –

гематокрит (отношение объема плазмы крови и форменных элементов крови – %); X7 – содержание тромбоцитов периферической крови; символы (X8...X13) обозначают: X8 – билирубин (мкмоль/л); X9 – общий белок (г/л); X10 – креатинин (мкмоль/л); X11 – глюкоза крови моль/л; X12 – протромбиновый индекс; X13 – фибриноген. Для каждой из 41 пациенток в истории болезни были зафиксированы ответы на данный набор из 13 вопросов, которые определялись в первом триместре беременности до постановки диагноза – «гестоз» и в третьем триместре беременности с выставленным диагнозом – «гестоз». Все беременные были разбиты на 3 возрастные группы: младшая группа – I-я возрастная группа (15–19 лет), средняя группа – II-я возрастная группа (20–30 лет) и старшая возрастная группа (31–45 лет) – III-я группа. С помощью НС ставилась задача изучения возможностей разделения всех этих 3-х групп, а также задача сравнения показателей x_i для попарного сравнения. В рамках разработанного метода мы должны были получить ранжирование признаков при сравнении всех 3-х групп с контролем, а также при сравнении попарно каждой из групп между собой. Совокупность ответов на вопросы и диагнозы пациента в виде базы данных составляют обучающую выборку, которая определила размеры аттрактора «гестоз» в фазовом пространстве состояний [7].

Второй этап – определение параметров НС. Основой НС является совокупность нейронов. Предварительно мы выбирали один из параметров НС – число нейронов. Для классификации минимальный набор нейронов определяется числом классов. В конце настройки НЭВМ можно определить реальные веса связей и значимость каждого из указанных выше 13 признаков.

Третий этап – проведение обучения НС. На основе обучающей выборки проводили обучение НС. Результаты приведены в виде весовых коэффициентов и значимостей признаков.

Четвертый этап – тестирование НС на обучающей выборке (41 пациентки). НС ставила диагноз в виде задачи совпадения с реальным диагнозом. Когда НС остается неуверенной, проводится изменение ее параметров и попытка обучения (пункт 3) повторялась. Пятый этап – анализ значимости и сокращения набора признаков. После обучения НС проводила вычисление и анализ значимости всех признаков. Некоторые из них не влияют на постановку диагноза (значимость почти равна нулю) или мало влияют (значимость <10% от максимально значимого вопроса).

Результаты исследования. В качестве конкретного примера мы представляем блок результатов подобной нейросетевой диагностики. На рис.1–6 показаны ранговые значимости коэффициентов (диагностических признаков x_i , ($i=1, \dots, 13$)) в условных единицах, т.е. отнормированная система. В качестве I-й группы использовались беременные женщины до постановки диагноза «гестоз», а в качестве II-й группы – эти же женщины, но после нескольких недель с выявленной патологией «гестоз».

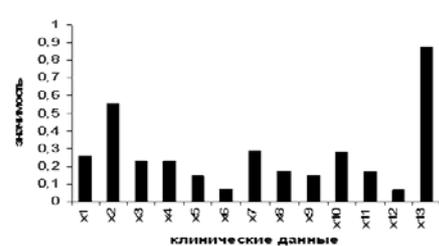


Рис.1. Результаты идентификации с помощью нейро-ЭВМ весовых значимостей диагностических признаков. Анализ данных сравнения 1-й возрастной группы и 2-й до постановки диагноза «гестоз»

Таким образом, использование НЭВМ может обеспечить ранжирование параметров ВСОЧ и минимизацию размерности фазового пространства состояний, перейти от m -мерного пространства в k -мерное подпространство диагностических признаков. Данный подход сейчас используется в клинике метаболических нарушений и при цереброваскулярной патологии.

Анализ данных сравнения 1-й возрастной группы и 2-й до постановки диагноза «гестоз» (рис. 1) показал, что для них наиболее значимые отличительные признаки X2 (0,56), X13 (0,88), отличающиеся от данных (рис. 2) сравнительного анализа 1-й и 2-й групп женщин с диагнозом «гестоз», где наиболее значимый отличительный признак этих двух групп X6 (0,91), X8 (0,72), X11 (0,64), общий значимый отличительный признак X2 (0,65).

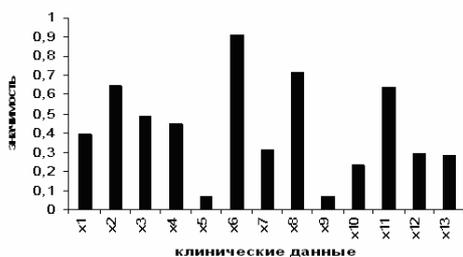


Рис.2. Данные сравнительного анализа 1-й и 2-й групп женщин с диагнозом «гестоз»

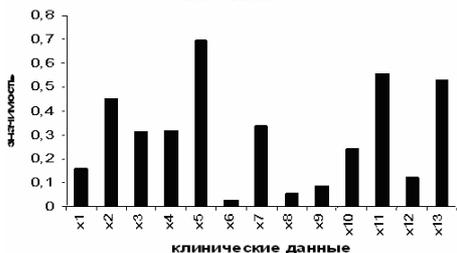


Рис.3. Результаты идентификации с помощью нейро-ЭВМ весовых значений диагностических признаков беременных 1-й группы (15–19 лет) и 3-й возрастной группы (31–45 лет) до постановки диагноза «гестоз»

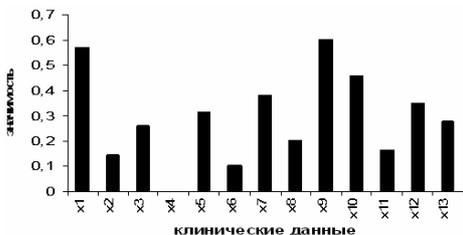


Рис.4. Результаты идентификации с помощью нейро-ЭВМ весовых значений диагностических признаков беременных 1-й группы (15–19 лет) и 3-й возрастной группы (31–45 лет) после постановки диагноза «гестоз»

При расчетах, проведенных на нейро-ЭВМ (рис. 3) для беременных 1-й группы (15–19 лет) и 3-й возрастной группы (31–45 лет) до постановки диагноза «гестоз», получены наиболее значимые отличительные признаки: X5 (0,69), X11 (0,56) и X13 (0,53). Последний – сходный признак при сравнении 1-й и 2-й групп. Из рис.4 видно, что признаки X1 (0,57), X9 (0,60), X10 (0,46) достигли цифры $\geq 0,5$, они наиболее значимы в диапазоне заболевания «гестоз» и являются отличительными признаками для этих двух возрастных групп. Наоборот, X6 (0,1) достиг отметки 0,1, т.е. по этому признаку две возрастные группы не отличаются.

Результаты сравнения возрастных групп 2-й и 3-й до и после постановки диагноза «гестоз» сводятся к следующему. Расчет на нейро-ЭВМ для беременных 2-й и 3-й групп до постановки диагноза «гестоз» (рис.5) показал, что наиболее значимыми признаками, отличающими эти группы, являются X7 (0,73) и X1 (0,62). Последний также является значимым у женщин с подтвержденным диагнозом «гестоз» X1(0,62). У женщин с диагнозом «гестоз» наибольшее значение имеют признаки X9(0,64) и X7(0,62), которые эти две возрастные группы делают различными существенно.

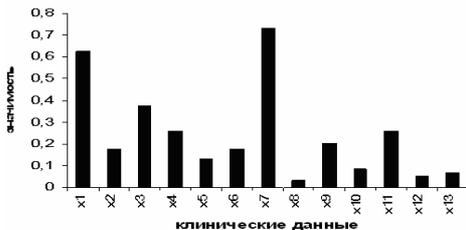


Рис.5. Результаты идентификации с помощью нейро-ЭВМ весовых значений диагностических признаков для беременных 2-й и 3-й групп до постановки диагноза «гестоз»

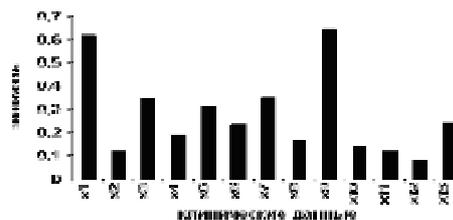


Рис.6. Результаты идентификации с помощью нейро-ЭВМ весовых значений диагностических признаков у женщин для беременных 2-й и 3-й групп после постановки диагноза «гестоз»

Процедура обеспечивает идентификацию наиболее значимых признаков в диагностике особенностей заболеваний гестозом разных возрастных групп. Одновременно мы делали расчеты возможности исключения ряда малозначимых признаков при такой дифференциальной диагностике (например, признаки X12 из рис.6). Если нейросеть обеспечивала дифференцировку по остальным признакам, то такой исключенный признак не попадал в определение ПП. Использование этого подхода позволило выделить значения x_i , которые после исключения малозначимых признаков имели величины коэффициентов ранжирования $>0,4$.

Литература

1. Серов В.Н. и др. Руководство по практическому акушерству.– М.: МИА, 1997.
2. Савельева Г.М., Шалина Р.И. // Акушерство и гинекология.– 1998.– №5.– С.6–9.
3. Шехтман М.М. Руководство по экстрагенитальной патологии у беременных.– М.: Триада, 1999.
4. Еськов В.М. и др. // ВНМТ.– 2005 – Т. XII, №1.– С.12–14.
5. Еськов В.М. и др. // ВНМТ.– 2005 – Т. XII, №1.– С.14–16.
6. Еськов В.М., Живогляд Р.Н. Клинические аспекты кластерной теории фазатона мозга (регуляция ФСО человека и гомеостаза в целом).– Самара: Офорт – 2004.– 120 с.
7. Еськов В.М. и др. Синергетика в клинической кибернетике. Ч.1. Теоретические основы системного синтеза и исследований хаоса в биомедицинских системах: Монография.– Самара, 2006.

УДК 615.837.3

УЛЬТРАЗВУКОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРИУТРОБНЫХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ДВИЖЕНИЙ ПЛОДА В РАЗНЫЕ СРОКИ БЕРЕМЕННОСТИ

Л.Д. БЕЛОЦЕРКОВЦЕВА*, Е.В. БУБОВИЧ*, Л.В. КОВАЛЕНКО*, В.А. САФОНОВ*, И.А. ТАРАКАНОВ*

Внутриутробные дыхательные движения плода (ДДП) являются эпизодическими движениями и происходят в период времени, составляющем 30–70% от всего времени протекания беременности. Их частота варьируется от 30 до 70 движений в минуту. Характерно, что они происходят при закрытой голосовой щели [4, 7]. Дыхательные движения плода необходимы для нормального развития легких. После их выключения (перерезка диафрагмальных нервов или спинного мозга) развитие альвеол и увеличение массы легких замедляется [1, 4, 8]. Регуляция дыхательных процессов во внутриутробном периоде осуществляется материнским организмом, поскольку у плода функционирует только автогенератор дыхательного центра, а хемо- и механорецепторный контуры разомкнуты, так как в легких еще не совершается газообмен, и так называемые дыхательные движения не выполняют еще собственно дыхательной функции [4]. Дыхательные движения имеют место при нормальном газовом составе крови плода, их частота увеличивается при гиперкапнии и ацидозе. Это влияние опосредовано действием на центральные хеморецепторы, поскольку рефлекторные реакции дыхания на раздражение периферических (артериальных) хеморецепторов у плода еще не развиты [1, 2, 8]. При углублении гипоксии происходит ослабление, и затем прекращение дыхательных движений вследствие ослабления окислительных процессов в нервных клетках

* Сургутский госуниверситет, медфакультет, ХМАО 628408 Тюменская область, г. Сургут, улица Энергетиков 14. Телефон (3462) 52-48-02
 * ГУ НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, г. Москва, Россия