

Патогенетичне обґрунтування етіотропної профілактики гестаційних ускладнень у жінок, хворих на грип

В.М. Запорожан, В.П. Міщенко, І.В. Шпак, І.В. Руденко
Одеський національний медичний університет

Метою дослідження було вдосконалення профілактичних заходів гестаційних ускладнень у жінок, хворих на грип, шляхом патогенетичного обґрунтування етіотропної профілактики. В амбулаторних та стаціонарних умовах проведено обстеження 327 жінок. Визначали алелі генів ферменту ендотеліальної NO-синтази в інтроні 4, колагену 2-го типу альфа-1, фібринолітичної активності PAI1, супероксиддисмутази методом полімеразної ланцюгової реакції. Величина співвідношення шансів розвитку акушерсько-перинатальних ускладнень у вагітних, хворих на грип, за наявності поліморфізму досліджуваних генів складала 1,2–1,8. Профілактика є невід'ємною частиною алгоритму ведення вагітних. Планування вагітності має передбачати прогнозування перебігу вагітності. Доцільним є визначення вихідного стану здоров'я жінки з урахуванням її генетичної схильності до запальних процесів. До груп ризику виникнення акушерських ускладнень відносяться жінки з гострими респіраторно-вірусними інфекціями під час вагітності, з малими та великими формами недиференційованої дисплазії сполучної тканини. Первинна профілактика повинна бути спрямована на стабілізацію метаболічних процесів організму матері, хоріон-ембріонального і фетоплацентарного комплексу шляхом корекції проникності клітинних мембран, збалансованості енергетичного обміну, нормалізації ферментативної активності, стабілізації тканинного дихання.

Ключові слова: патогенетичне обґрунтування, етіотропна профілактика, гестаційні ускладнення, грип.

Профілактика гестаційних ускладнень у жінок, хворих на грип, має ґрунтуватися на індивідуальних особливостях організму, етіологічних чинниках та патогенетичних механізмах виникнення захворювання та його наслідків [1, 5].

Поширеність вірусу грипу – неконтрольована. Однією з причин тяжких пандемій є надзвичайні властивості вірусу грипу (токсичність, тропність до епітеліальних клітин дихальних шляхів, кровоносних судин тощо). Проте хворіють не всі вагітні і не у всіх виникають тяжкі ускладнення, наприклад пневмонія. Тобто, є й інші фактори, які мають пряме відношення до наведених процесів. У першу чергу – це вихідний стан організму жінки, наявність антропогеннозалежних станів (імунна відповідь, спадкова схильність до інфекційних процесів, а отже – ендотеліальної дисфункції, в тому числі порушень метаболізму сполучної тканини та антиоксидантного захисту і кровотеч), наявність супутньої бактеріальної флори, вірусів в організмі та їхня токсичність [2, 6].

Переважає більшість процесів, що пов'язані з реплікацією вірусу та запальними реакціями на мікроциркуляторному рівні недоступна для діагностики на

клінічному рівні. Це доклінічний етап перебігу запального процесу і в тому числі грипу [3, 7].

Загальноновизнані властивості вірусу грипу пояснюють значення оцінки вихідного стану здоров'я вагітної на клінічно-лабораторному, в тому числі медико-генетичному рівнях. Останніми роками доведено, що комплементарність вірусних і клітинних рецепторів зумовлена генетичними маркерами організму. Останнє підтверджує той факт, що розвиток різних форм запалення генетично зумовлений [4].

У гені ендотеліальної синтази (eNOS3) в 4-му інтроні, який представлений 2 алелями, – b-алель, який містить 5 фрагментів, що повторюються, a-алель, в якому 4 повтори, описано варіанти поліморфізму: b/b, a/a, b/a. У гомозигот по a-алелю рівень нітратів і нітритів в крові достовірно нижчий, ніж у разі b-алеля. В останньому випадку швидкість продукції оксиду азоту ендотелієм судин більша [1, 2].

Понад 20% жінок (проти 11% в контролі) зі звичним невиношуванням мають поліморфізм a-алеля, у них частіше відзначається спазм.

Молекули колагену тип 2-альфа (COL2A) складаються з трьох спіральних скручених ланцюгів: двох α^1 і одного α^2 і їхня структура кодується відповідно двома близькими за структурою генами COL2A1 і COL2A2 [1, 2].

У гені COL2A1 ідентифіковано декілька варіантів поліморфізму: C/C, C/A, A/A, які представлені нормальним C-алелем та неповноцінним A-алелем. Результатом наявності A-алелів є підвищена експресія гена COL2A1 і синтез надлишкового числа ланцюгів проколагену α^1 . Це призводить до появи функціонально неповноцінних гомотримерних колагенових волокон [1, 2].

Інгібітор активаторів плазміногена-1 (PAI-1) кодується геном PAI-1 PLANH1, в промоторній області якого є ділянка, що може містити послідовність або з 4 основ гуаніну (4G), або з 5 основ гуаніну (5G). Головними видами поліморфізму гена є: 5G/5G, 5G/4G, 4G/4G. Наявність алеля 5G супроводжується меншою активністю відносно продукції PAI-1 і високою активністю перетворення плазміногена на плазмін, ніж алелю 4G. У носіїв алелів 4G концентрація PAI-1 вище, ніж у носіїв алелів 5G, що призводить до підвищення ризику порушення функцій плаценти, невиношування вагітності, тромбозу, ожиріння, гіперхолестеринемії, септичних інфекцій, летальності внаслідок гальмування фібринолізу [1, 2].

Активність ферменту антиоксидантного захисту супероксиддисмутази (SOD) кодується геном ферменту SOD1. Поліморфізм гена SOD1 представлено G/G, G/A, A/A-генотипами, при цьому нормальний алель – це алель G, мутантний алель – A, наявність якого пов'язана зі зниженням активності SOD. Ризик розвитку акушерсько-перинатальних ускладнень у вагітних, хворих на грип,

Частота поліморфізму досліджуваних генів у жінок

Генотипи	Групи					
	А, n=21		Б, n=102		В, n=204	
	Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%
Поліморфізм гена eNOS3 eNOS 3 4b/4a						
b/b	15	71,4	11	10,8*	22	10,8*
a/a	2	9,5	69	67,6*	136	66,7*
b/a	4	11,8	22	21,6	46	22,5
Поліморфізм гена COL2A1 6846C/A						
C/C	15	71,4	7	6,9*	15	7,5*
A/A	1	4,8	59	57,8*	126	61,8*
C/A	5	23,8	36	35,3	63	30,9
Поліморфізм гена PAI-1 PLANH1 675 5G/4G						
5G/5G	14	66,7	9	8,8*	17	8,3*
4G/4G	1	4,8	67	65,7*	130	63,7*
5G/4G	6	28,6	26	25,5	57	27,9
Поліморфізм гена ферменту SOD1 7958 G/A						
A/A	3	14,3	71	69,6*	125	61,3*
G/G	18	85,7	20	19,6*	38	18,6*
G/A	-	-	11	10,8	41	20,1

Примітка: * – $p < 0,001$ по відношенню до контрольної групи.

збільшується більше ніж у 1,8 разу за наявності алеля Т в гомо- і гетерозиготному стані. Визначення алелів гена SOD 1 є патогенетично обґрунтованим [1, 2].

Мета дослідження: удосконалення профілактичних заходів гестаційних ускладнень у жінок, хворих на грип, шляхом патогенетичного обґрунтування етіотропної профілактики.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В амбулаторних та стаціонарних умовах проведено обстеження 327 жінок. Із них 21 вагітна з неускладненим перебігом вагітності, пологів, післяпологового періоду, що народили здорових дітей, склали контрольну групу (А). Групу Б склали 102 вагітні з ознаками грипу під час вагітності, яким проводили неспецифічні та специфічні лікувально-профілактичні заходи проти грипу, групу В – 204 жінки, яким за 3–4 міс до запліднення та під час гестації застосовано розроблені та вдосконалені профілактичні заходи акушерсько-перинатальних ускладнень та грипу.

При вирішенні питання профілактики акушерських та перинатальних ускладнень у жінок, хворих на грип, ми вивчали всі існуючі профілактичні заходи, враховували постійне зростання частоти виникнення нових недостатньо вивчених штамів вірусу, наявність супутньої бактеріальної флори.

У першу чергу брали до уваги оцінку соматичного стану здоров'я жінки (наявність супутніх екстрагенітальних і генітальних захворювань, в тому числі хронічні інфекційних процесів, їх тривалість (понад рік і т.д.), частоту загострень процесу протягом року). Вивчали сімейний анамнез щодо захворювань нирок, серцево-судинних захворювань (ССЗ), недиференційованої дисплазії сполучної тканини (НДСТ), тромбофілій.

Визначення алелів генів ферменту ендотеліальної NO-синтази в інтроні 4 (eNOS 3 4b/4a), проколагену 2-го типу COL2A1 (COL2A1 6846C/A), фібринолітичної активності PAI1 (PAI-1 PLANH1 675 5G/4G), системи ан-

тиоксидантного захисту – супероксиддисмутази (SOD1 7958 G/A) проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). При дослідженні поліморфізму гена ендотеліальної NO-синтази в інтроні 4 (eNOS) до уваги та для розрахунків брали лише b/b-алелі – нормальний варіант поліморфізму гена в гомозиготній формі (частота в популяції 41%) та a/a-алелі – мутантний варіант поліморфізму в гомозиготній формі, пов'язаний з підвищенням ризику захворювань (частота в популяції 13%). Частота гетерозиготної форми eNOS a/b – варіант поліморфізму з проміжним положенням за рівнем базального NO в популяції складає 46%.

Для гена COL2A1 визначали частоту генотипів C/C, C/A, A/A, для гена PAI-1 PLANH1 – 5G/5G, 5G/4G, 4G/4G, для гена ферменту SOD1 – G/G, G/A, A/A та величину співвідношення шансів (odds ratio, OR) розвитку апушерсько-перинатальних ускладнень у вагітних, хворих на грип.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати визначення частоти поліморфізму досліджуваних генів представлені в таблиці.

За даними лабораторного дослідження, у контрольній групі А eNOS3 b/b визначено у 15 (71,4%), eNOS3 a/a – у 2 (9,5%), eNOS3 b/a – у 4 (11,8%) спостережень.

У крові жінок групи Б мутантний варіант поліморфізму eNOS 3 a/a визначено у 69 (67,6%), b/b – у 11 (10,8%) ($p < 0,001$ по відношенню до контрольної групи) вагітних, b/a – у 22 (21,6%) спостереженнях.

У групі В наявність мутантного варіанта поліморфізму a/a склали 136 (66,7%) випадків, b/b – 22 (10,8%), b/a – 46 (22,5%).

При дослідженні частоти поліморфізму гена COL2A1 встановлено, що у групах А та В частота нормальних гомозиготних генотипів C/C складає 15 (71,4%) і 15 (7,5%). Гомозиготні поліморфні генотипи A/A у контрольній групі визначені у 1 (4,8%), у групі В – у 126 (61,8%) (різниця з

контрольною групою достовірна – $p < 0,001$). Показники у контрольній групі не виходили за межі популяційних даних для європейської раси. У групі В частота поліморфного гомозиготного генотипу (А/А) складає 57,8% випадків. Різниця з контрольною групою достовірна ($p < 0,001$).

У групах А та В частота нормального гомозиготного генотипу 5G/5G гена PAI-1 PLANH1 складає 14 (66,7%) і 17 (8,3%). Гомозиготний поліморфний генотип 4G/4G у контрольній групі визначено у 1 (4,8%) вагітної, у групі В – у 130 (63,7%) (різниця з контрольною групою достовірна – $p < 0,001$). Показники у контрольній групі не виходили за межі популяційних даних для європейської раси. У групі В частота поліморфного гомозиготного генотипу 4G/4G складає 65,7% випадків. Різниця з контрольною групою достовірна ($p < 0,001$).

Як свідчать результати дослідження, частота виявлення поліморфного гомозиготного генотипу А/А гена ферменту SOD1 була у групах А та В 14,3% та 61,3%, що достовірно відрізнялося між собою ($p < 0,001$).

У групі В частота виявлення ознак поліморфізму генотипу А/А відповідно склала 69,6%. Різниця по відношенню до контрольної групи А достовірна ($p < 0,001$).

Величина співвідношення шансів (odds ratio, OR) розвитку акушерсько-перинатальних ускладнень у вагітних, хворих на грип, за наявності поліморфізму досліджуваних генів склала 1,2–1,8 і знаходилась у межах довірчого інтервалу (CI) (0,53–2,19; $P = 0,95$).

Таким чином, визначення генетичних передумов полягає у визначенні наявності поліморфізму гена ендотелію судин (eNOS3) в інтроні 4 та білків матрикса сполучної тканини – α^1 - і α^2 -ланцюгів проколагену COL2A.

Основний механізм запального процесу при грипі – утворення вільних радикалів кисню. Генерація цих форм пов'язана з процесом: 1) мутагенезу; 2) протеолітичною активністю вірусу; 3) цитопатичним ефектом вірусної інфекції; 4) деструкцією судинної сітки, стінок капілярів; 5) розвитком зливного пневмонії з набряком легень.

У клітинах легень відбувається активація ліпідної пероксидації та генерація активних форм кисню. Різка активація ліпідної пероксидації і генерації активних форм кисню є вузловим метаболічним процесом. Саме ці процеси визначають тяжкість і поширеність запальних реакцій та посприяють захист від них супероксиддисмутазою (SOD), токоферолом, а також вітальними (есенціальними) мікроелементами (МЕ): цинком, міддю, залізом, магнієм. Останнє знаходить пояснення в тому, що SOD існує в декількох видах залежно від металу, з яким вона сполучена (SOD Cu, Zn, Mn, Fe), та є патогенетично зумовленим.

За даними науковців, основною фагоцитарною захисною реакцією при вірусній інвазії є моноцити і їхні зрілі форми – макрофаги. Макрофаги входять до складу сполучної тканини, містяться в базальній мембрані кровоносних судин.

Близько 1/3 сухої маси легень складає колаген, який має понад 14 типів. Наведене вище в свою чергу пояснює доцільність визначення та вивчення алелів генів білків матрикса сполучної тканини – α^1 - і α^2 -ланцюгів проколагену 2-го типу COL2A, генів ферментів ендотеліальної синтази оксиду азоту в інтроні 4 (eNOS3) та визначення етіотропної терапії з приводу стабілізації метаболізму сполучної тканини та ендотеліальної дисфункції (поліненасичені амінокислоти, вітаміни групи В, аскорбінова кислота, L-тіуртин, антиоксиданти, есенціальні макроелементи).

Кожний із вірусів має свої маркери. Так, при грипі значно виражені: 1) ознаки набряку; 2) повнокров'я органа; 3) геморагічні явища.

При всіх наведених процесах не останню роль відіграють тромбоцити. Відсутність ядра в тромбоцитах не виключає характерні властивості для клітин запалення. Тромбоцити проявляють властивість до хемотаксису і фагоцитозу, містять вазоактивні речовини, взаємодіють з вірусами, бактеріями, підвищують проникність судин. Поверхня тромбоцитів представлена типовою двощаровою мембраною, яка складається з білків і ліпідів. Глікопротеїни поверхні тромбоцитів відіграють важливу роль в адгезії тромбоцитів до білків субендотеліального матрикса у зв'язку з лігандом (колагеном і тромбіном). Молекули клітинної мембрани беруть участь у контакті тромбоцитів з фібриногеном, фібронектином і іншими. На мембрані тромбоцита представлені рецептори для колагену та фактора Виллебранда. Тромбоцит взаємодіє з лейкоцитом і може індукувати запальну реакцію. Отже, геморагічні явища при грипі можуть посилюватися при порушенні ферментів фібринолітичної системи, особливо при поліморфізмі гена (PAI 1). Корекцію цих процесів проводять препаратами III лінії антиоксидантного захисту.

Різновидність в фенотипових проявах PAI 1 зумовлена тим, що з промотором гена 5G може зв'язуватись як активатор, так і репресор, а з промотором 4G – лише активатор. Саме тому ген 5G легко включається і легко виключається, ген 4G – навпаки. Варіант 5G супроводжується підвищеною активністю активаторів плазміногена, а отже більш високою швидкістю перетворення плазміногена на плазмін, що сприяє більш високій активації тканинних металопротеїназ, які розчиняють сполучну тканину. Носії варіанта 5G мають високий ризик розвитку судинної патології, в тому числі анеризми аорти. Етіотропна профілактика цих станів включає низькодозовану ацетилсаліцилову кислоту і низькі дози гепарину.

Отже, одним із компонентів комплексної профілактики гестаційних ускладнень у жінок, хворих на грип, є застосування антиоксидантної терапії, яку по праву визнано патогенетичною.

Індивідууми, генетично схильні до підвищеної продукції цитокінів прозапального профілю на мікробну інфекцію, мають високий ризик переривання вагітності, особливо на фоні хоріоамніоніта, причиною якого переважно є поєднана вірусна і бактеріальна флора.

ВИСНОВКИ

Профілактика є невід'ємною частиною алгоритму ведення вагітних. Планування вагітності має передбачати прогнозування перебігу вагітності.

Ураховуючи високу частоту виявлення гострих респіраторно-вірусних інфекцій (ГРВІ) у вагітних та їх тяжкі наслідки, доцільним є визначення вихідного стану здоров'я жінки з урахуванням її генетичної схильності до запальних процесів.

До груп ризику виникнення акушерських ускладнень відносно жінок з: ГРВІ під час вагітності, з малими та великими формами недиференційованої дисплазії сполучної тканини (НДСТ), наявності яких визначається за шкалою Т.Ю. Смольнова і співавторів, 2003.

Первинна профілактика повинна бути спрямована на стабілізацію метаболічних процесів клітин крові матері, крові та тканин хоріон-ембріонального комплексу, фетоплацентарного комплексу шляхом корекції проникності клітинних мембран, збалансованості енергетичного обміну, нормалізації ферментативної активності, стабілізації тканинного дихання. Препаратами вибору є препарати, що входять до складу багатьох ферментів, необхідних для процесів клітинного дихання, гліколізу, метаболізму протеїнів, синтезу жирів, антиоксидантного захисту.

Патогенетическое обоснование этиотропной профилактики гестационных осложнений у женщин, больных гриппом
В.М. Запорожан, В.П. Мищенко, И.В. Шпак, И.В. Руденко

Целью исследования было усовершенствование профилактических мероприятий гестационных осложнений у женщин, больных гриппом, путем патогенетического обоснования этиотропной профилактики. В амбулаторных и стационарных условиях проведено обследование 327 женщин. Определяли аллели генов фермента эндотелиальной NO-синтазы в интроне 4, коллагена 2-го типа альфа-1, фибринолитической активности PAI1, супероксиддисмутазы методом полимеразной цепной реакции. Величина соотношения шансов развития акушерско-перинатальных осложнений у беременных, больных гриппом, при наличии полиморфизма исследуемых генов составила 1,2–1,8. Профилактика является неотъемлемой частью алгоритма ведения беременных. Планирование беременности должно предусматривать прогнозирование течения беременности. Целесообразно определять исходное состояние здоровья женщины с учетом ее генетической предрасположенности к воспалительным процессам. К группам риска возникновения акушерских осложнений относятся женщины с острыми респираторно-вирусными инфекциями во время беременности, с малыми и большими формами недифференцированной дисплазии соединительной ткани. Первичная профилактика должна быть направлена на стабилизацию метаболических процессов организма матери, хорион-эмбрионального и фетоплацентарного комплекса путем коррекции проницаемости клеточных мембран, сбалансированности энергетического обмена, нормализации ферментативной активности, стабилизации тканевого дыхания.

Ключевые слова: патогенетическое обоснование, этиотропная профилактика, гестационные осложнения, грипп.

Pathogenetic a substantiation etiotropic preventive maintenance gestational complications at the women sick of a flu
V.N. Zaporozhan, V.P. Mishchenko, I.V. Shpak, I.V. Rudenko

Research objective was improvement of preventive actions gestational complications at the women sick of a flu, by a pathogenetic substantiation etiotropic preventive maintenance. Investigation in out-patient and stationary conditions is carried of 327 women. Defined alleles of genes of ferment endothelial NO-sintasa in intron 4, collagen of 2nd type alfa1, fibrinolytic activity PAI-1, a superoxid-dismutasa to make dy method PCR. The size of an interrelation of chances of development obstetric-perinatal complications at the pregnant women sick of a flu, in the presence of polymorphism of investigated genes has compounded 1,2–1,8. Preventive maintenance is an integral part of algorithm of conducting pregnant women. Pregnancy planning should provide forecasting of flow of pregnancy. It is expedient to define a reference state of health of the woman taking into account its genetical predisposition to inflammatory processes. Women concern bunches of risk of occurrence obstetric complications with sharp respiratorno-virus infection contaminations during pregnancy, with small and big forms not differentiated displasia a connective tissu. Pristinely preventive maintenance should be directed on stabilisation of metabolic processes of an organism of mother, horion-embriional and fetoplacental of complex by correction of permeability of cellular membranes, equation of energy metabolism, normalisation of enzymatic activity, stabilisation of histic breath.

Key words: pathogenetic substantiation, etiotropic preventive maintenance, gestational complications, flu.

Сведения об авторах

Запорожан Валерий Николаевич – Одесский национальный медицинский университет, 65026, г. Одесса, пер. Валиховский, 2
Мищенко Валентина Павловна – Одесский национальный медицинский университет, 65026, г. Одесса, пер. Валиховский, 2
Руденко Ирина Васильевна – Одесский национальный медицинский университет, 65026, г. Одесса, пер. Валиховский, 2
Шпак Игорь Викторович – Одесский национальный медицинский университет, 65026, г. Одесса, пер. Валиховский, 2;

тел.: (067) 496-70-58

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Генетическая медицина / [Запорожан В.Н., Кордон В.А., Бажора Ю.И. и др.]. - Одеса: Одес. держ. мед. ун-т, 2008. – 432 с.
2. Генетический паспорт – основа индивидуальной и преемственной медицины / Под ред. В.С. Баранова. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. – 528 с.
3. Гігієнічні аспекти профілактики гострих респіраторних вірусних інфекцій / В.А. Кондратюк, М.О. Кашуба, С.С. Дністрян [та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2010. – № 1 (59). – С. 67–68.
4. Грип: моніторинг і прогноз розвитку епідситуації, епідеміологічні особливості епідемії грипу А/Н1N1 в Україні в епідсезоні 2009–2010 рр.та першочергові заходи протидії / В.М. Князевич, Л.М. Мухарська, І.В. Шпак [та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2010. – № 1 (59). – С. 5–14.
5. Critically 111 Patients With 2009 Influenza A(H1N1) Infection in Canada / A. Kumar, R. Zarychanski, R. Pinto [et al.] / JAMA. – 2009. – V. 302 (17). – P. 1872–1879.
6. Fall 2009 H1N1 Influenza Mortality Report. Oregon Public Health Division. Updated: January 28, 2009.
7. Fatal Cases of Influenza A in Childhood / B.F. Johnson, L.E. Wilson, J. Ellis [et al.] // PLoS ONE – 2009. – V. 4 (10): e7671. doi: 10.1371/journal.pone.0007671.

Статья поступила в редакцию 13.05.2014