

ласти / Е. А. Желткова, Л. Н. Черноусова, Т. Г. Смирнова [и др.] // Журнал микробиологии. – 2004. – № 5. – С. 39–43.

50. *Ляшенко А. А.* Клинико-рентгенологическая картина туберкулеза легких, вызванного штаммами *M. tuberculosis* семейства *Beijing*, у больных г. Харькова / А. А. Ляшенко // Проблемы сучасної медичної науки та освіти. – 2007. – № 3. – С. 74–77.

51. *Кресюн В. Й.* Информативність генотипування збудника туберкульозу / В. Й. Кресюн, К. О. Антоненко // Одеський медичний журнал. – 2008. – № 5 (109). – С. 27–31.

52. *Корреляция* между уровнем экспрессии специфических генов Rv3286c, Rv2626c, Rv2031c, Rv3133c и уровнем толерантности *Mycobacterium bovis* БЦЖ к рифампицину

и метронидазолу в различных физиологических состояниях / Т. А. Обзорова, М. И. Артемьев, П. М. Барановский [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2005. – № 2. – С. 34–36.

53. *Association* between *Mycobacterium tuberculosis* Beijing/W Lineage Strain Infection and Extra/thoracic Tuberculosis: Insights from Epidemiologic and Clinical Characterization of the Three Principal Genetic Groups of *M. tuberculosis* Clinical Isolates / Y. Kong, M. D. Cave, L. Zhang [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2007. – Vol. 45 (2). – P. 409–414.

54. *Польова С. П.* Перебіг вагітності у хворих на туберкульоз жінок, інфікованих *M. tuberculosis* сімейства *Beijing* / С. П. Польова, Ю. І. Бажора // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2009. – № 4. – С. 88–89.

УДК 618.3-06:618.8-009.24]:616-036

В. Г. Марічереда, канд. мед. наук, доц.

РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ РОДОВОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

УДК 618.3-06:618.8-009.24]:616-036

В. Г. Марічереда

РОЛЬ ГЕНЕТИЧНИХ ФАКТОРІВ У РЕГУЛЯЦІЇ ПОЛОГОВОЇ ДІЯЛЬНОСТІ

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Генетична складова процесу пологів залишається невизначеною донині. Метою цього дослідження було вивчення причинно-наслідкових зв'язків між експресією генів у плаценті пізніх термінів вагітності і процесом пологів для подальшого визначення ролі генетичних чинників, зокрема профілю генетичної експресії в плаценті, у прогнозуванні акушерської патології. Порівняння профілю генетичної експресії в плацентах після консервативного й оперативного розродження дозволило встановити, що експресія жодного з цих генів не була змінена вірогідно, тобто більше ніж у 2,5 рази. Отримані дані дозволяють зробити висновок про те, що процес пологів не чинить істотної дії на експресію генів у плаценті, яка відповідає терміну пологів, що дозволяє застосовувати дослідження профілю генетичної експресії в плаценті для виявлення нових патогенетичних механізмів і біомаркерів акушерської патології.

Ключові слова: експресія генів, пологи, плацента.

UDC 618.3-06:618.8-009.24]:616-036

V. G. Marichereda

ROLE OF GENETIC FACTORS IN REGULATION OF LABOR ACTIVITY

The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

The genetic constituent of labor process remains unclear up to present. The aim of this research was a study of causal relationship between expression of genes in the placentas of late terms of pregnancy and process of labor for subsequent determination of role of genetic factors, in particular, profile of genetic expression in the placenta, in prognostication of obstetric pathology. Comparison of genetic expression profile in placentas after conservative and operative delivery allowed to set that expression of none of these genes was not changed truthworthy, i. e. more, than 2.5 fold. The obtained data allow to conclude that the process of labor does substantially affect expression of genes in the placenta corresponding to the term of labor, which allows to apply research of genetic expression profile in the placenta in order to reveal new nosotropic mechanisms and biomarkers of obstetric pathology.

Key words: expression of genes, labor, placenta.

Согласно существующим представлениям, продолжительность беременности и начало родов регулируются плодовыми, материнскими и плацентарными факторами. В иницировании и поддержании родов ведущую роль отводят гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе плода, которая регулирует выработку материнских гормонов — окситоцина, эстрогенов, прогестерона и релаксина, что опосредованно приводит к стимуляции механических факторов —

сократительных волокон миометрия, электрической передаче импульсов между клетками миометрия и продукции воспалительных факторов — цитокинов [1–5]. В результате проведения геномных исследований обнаружено, что во время родов экспрессия генов, связанных с воспалением и иммунным ответом, компонентами внеклеточного матрикса и передачей гормональных сигналов, изменяется (рис. 1) [2; 6–8]. Объектом многих геномных исследований является

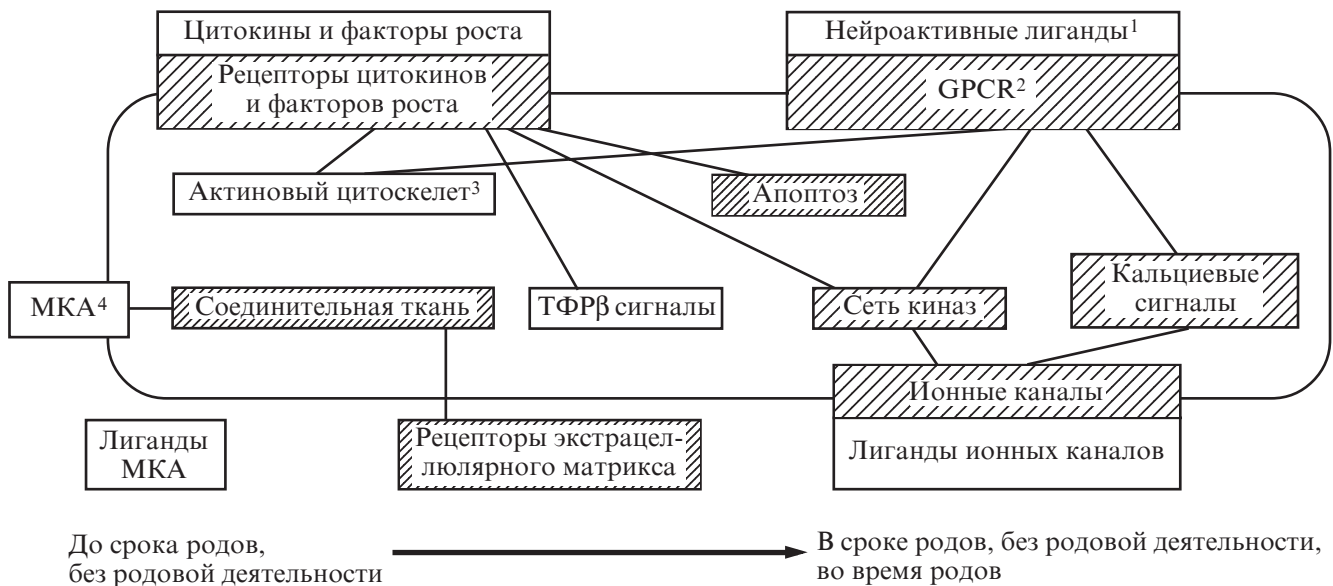


Рис. 1. Основные пути, представленные в миометрии, на основании генов, обнаруженных в геномных исследованиях. Генные транскрипты, имеющие отношение к этим путям, имеют повышенную экспрессию (ячейки с частой штриховкой) или сниженную (ячейки с редкой штриховкой) в два или более раз. В белых ячейках — компоненты с недостаточной информацией. Представлено сопоставление между сроком гестации до срока родов, без родовой деятельности и сроком родов без родовой деятельности и в процессе родовой деятельности [7]

плацента как орган, в котором происходят наиболее значительные изменения в течение беременности и родов. Однако исследование профиля генетической экспрессии плацентарной ткани, полученной после родов, для изучения молекулярно-биологических механизмов акушерской патологии является неоднозначным, поскольку сам процесс родов может быть причиной изменения регуляции генов.

Целью этого исследования было определение (на основании геномного анализа) причинно-следственных связей между экспрессией генов в плацентах поздних сроков беременности и способом родоразрешения для выяснения возможности изучения акушерской патологии при изменении профиля генетической экспрессии в плаценте.

Материалы и методы исследования

Обследованию подлежали здоровые беременные женщины с физиологическим течением

беременности. Все беременные (n=14) были обследованы согласно стандартному клиническому протоколу для исключения патологии матери и плода (Приказ МЗ Украины от 29.12.2003 г. № 620) и разделены на две группы: в 1-ю группу (n=7) вошли женщины с консервативным родоразрешением, во 2-ю (n=7) — женщины с оперативным родоразрешением (плановое кесарево сечение). Показаниями к проведению операции в группе женщин с оперативными родами были: тазовое предлежание плода при предполагаемой массе 3700 г и более (n=3), кесарево сечение в анамнезе (n=3), анатомически узкий таз (n=1). Оценку состояния плацентарного кровообращения проводили при помощи УЗИ и доплерометрии маточно-плацентарно-плодового кровотока. Образцы плаценты были получены после естественных родов и планового кесарева сечения. Для минимизации вариабельности данных, связанной с возможным физиологическим различием в экспрессии ге-

¹ Нейроактивные лиганды — подробнее см. [9].

² GPCR — рецепторы, сопряженные с G белком (англ. G protein-coupled receptors, GPCRs) трансмембранных рецепторов, выполняют функцию активаторов внутриклеточных путей передачи сигнала, приводящих в итоге к клеточному ответу, активируются внешним сигналом в виде лиганда [10].

³ Цитоскелет — клеточный каркас, или скелет, находящийся в цитоплазме живой клетки; актиновые филаменты, микрофиламенты представляют собой две цепочки из мономеров актина, сконцентрированных у внешней мембра-

ны клетки, отвечают за форму клетки, участвуют в межклеточном взаимодействии, передаче сигналов и вместе с миозином — в мышечном сокращении [11].

⁴ МКА — молекулы клеточной адгезии — сложные трансмембранные белки, обеспечивающие взаимодействие клеток с соседними клетками или элементами межклеточного матрикса. С помощью рецепторов МКА клетка получает информацию о своем пространственном положении. Тесная связь рецепторов клеточной мембраны с прилегающими к ней элементами цитоскелета обеспечивает изменение формы клетки, ее перемещение [12].

нов в пределах плаценты, ткань иссекали в участке, расположенном на расстоянии примерно 2 см от места прикрепления пуповины, из среднего слоя плаценты, на границе между материнской и плодовой поверхностями [13]. Для анализа экспрессии генов использовали ДНК-микрочипы [14].

Анализ данных, полученных в результате исследования ДНК-микрочипов, был выполнен методом прямого сравнения. Результаты, полученные после обработки микрочипов, анализировались при помощи программного обеспечения Genepix 6,0 software, при этом 2,5-кратное изменение экспрессии гена считали достоверным ($P < 0,01$) [10]. Для аннотации генов мы использовали PubGene 2,6TM Database [11]. Для подтверждения результатов исследования ДНК-микрочипов применяли метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном масштабе времени (РТ-ПЦР).

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенного общеклинического, специального акушерского и дополнительных методов исследования (УЗИ, доплерометрия маточно-плацентарно-плодового кровотока) было установлено, что значимых фенотипических различий между 1-й и 2-й группами нет, т. е. достоверных различий между двумя группами по исследуемым параметрам установлено не было (табл. 1). Несмотря на малочисленность, выборки являются гомоскедастичными. Достоверных различий профиля генетической экспрессии между исследуемыми группами не обнаружено. Было установлено, что в плацентах группы консервативных родов регуляция 57 генов была снижена, а 79 генов повышена по сравнению с данными группы оперативных родов, однако полученные отклонения не превышали коэффициент 2,5.

Анализ генов с наибольшими отклонениями экспрессии показал, что они относятся к группе

генов, вовлеченных в метаболизм гормонов в плаценте [11]. Отклонение экспрессии гена *FOS* в сторону снижения составило -2,1 в 1-й группе, -2,3 — во 2-й группе; гена *FOSB* — -2,2 в 1-й группе, -1,8 — во 2-й группе; экспрессия гена *LNPEP* (лейцилцистинил-аминопептидазы, или окситоциназы) была повышена в 1,5 в 1-й группе, 1,9 раза — во 2-й группе; гена *HSD17B4* (17-бета-гидростероид-дегидрогеназы 4) повышена в 1,8 в 1-й группе, в 2,1 раза — во 2-й группе. Полученные данные были подтверждены количественно РТ-ПЦР (табл. 2).

Роды считают клиническим состоянием, физиология которого не изучена полностью. Наиболее вероятным, согласно существующим данным, представляется то, что выбор времени родов определяется параметрами взаимодействия комплекса факторов, секретируемых плацентой и материнским организмом и плодом, причем существуют убедительные свидетельства того, что именно плодовые факторы регулируют этот выбор [16]. Отправной точкой каскада родов считают активацию плодового гипоталамо-гипофизарно-надпочечного комплекса. В то же время, экспериментальные исследования у нечеловеческих приматов показали, что удаление плода при оставшейся плаценте приводит к продлению беременности, указывая на то, что плацента выполняет вторичную или посредническую роль в механизме иницирования родов [17]. Кроме того, полагают, что не плацента, а шейка матки и миометрий являются ключевыми, так называемыми тканями ответа в родах [4; 5; 18].

Нами выполнено исследование образцов плацент, полученных в результате консервативных и оперативных родов у женщин с неосложненными беременностями при помощи ДНК-микрочипов, чтобы установить причинно-следственные связи между процессом родов и изменением плацентарной экспрессии генов. В результате проведенного исследования было обнаружено снижение и повышение регуляции различных генов, вовлеченных в гормональный метаболизм, однако установленное различие не было достоверным ($P > 0,05$). Было определено, что регуляция генов *FOS* и *FOSB* была снижена от 2 до 2,2 раза в плацентах группы консервативных родов, что позволяет предположить возможное участие этих генов в инициации и регуляции родов. Генетические семейства *FOS* называют «генами первичного ответа», поскольку они могут быть активированы без предварительного синтеза белка [19].

Необходимо отметить, что экспрессия всех членов семейства *fos*-генов индуцируется в короткий промежуток времени после стимуляции покоящихся фибробластов факторами роста — возрастание уровня мРНК *c-FOS* определяется уже через 5 мин, а пик наступает через 1 ч после воздействия стимула [20]. Есть несколько сообщений, указывающих, что *FOS* и ко-экспрессия

Таблица 1

Клинические показатели обследованных групп

Показатели	1-я группа	2-я группа
Возраст матери, лет	31,0±3,5	28,9±2,5
ИМТ, кг/м ²	31,1±2,1	30,6±3,4
САД, мм рт. ст.	88,2±5,2	90,0±5,7
PI пупочной артерии	0,750±0,015	0,780±0,014
PI маточной артерии	0,830±0,022	0,70±0,03
Кровоток пупочной вены, мл/мин	271,00±5,02	274,00±7,82
Гестационный срок, нед.	37,4±1,2	37,7±1,4
Масса новорожденного, г	3789,0±57,6	3532,0±58,4
Шкала Апгар (5 мин)	7,80±0,54	8,40±0,57
Вес плаценты, г	674,0±45,0	640,0±57,0

Сравнение данных анализа ДНК-микрочипов и РТ-ПЦР

Ген	Функция	Отклонение экспрессии		Результаты РТ-ПЦР	
		1-я группа	2-я группа	1-я группа	2-я группа
<i>FOS</i> , <i>FOSB</i>	Ядерные протоонкогены, вовлечены в процессы клеточной пролиферации и дифференцировки, являются звеном в системе передачи внешних, экстраклеточных сигналов, к транскрипционному механизму, в результате чего в ответ на такой сигнал происходят изменения в экспрессии специфических генов-мишеней [26]	-2,1 -2,2	-2,3 -1,8	-2,5 -1,7	-2,2 -1,8
<i>LNPEP</i>	Кодирует цинк-зависимую плацентарную лейцин аминокпептидазу (<i>ПЛАП</i>), которая разрушает вазопрессин, окситоцин, брадикинин, мет-энкефалин и другие пептидные гормоны [26]	+1,5	+1,9	+1,7	+1,8
<i>HSD17B4</i>	Катализирует окисление эстрадиола с преимущественной редукцией эстрогена [27]	+1,8	+2,1	+1,5	+1,7

FOSB вовлечены в нейрональную активацию родов, кормление грудью у человека [19; 21]. Полученные нами результаты позволяют предположить, что генетическое семейство *FOS*, вероятно, вовлечено в подготовку фетоплацентарного комплекса к родам в конце беременности, но не принимает непосредственного участия в процессе родов.

Регуляция генов *LNPEP* и *HSD17B4*, которые кодируют соответствующие ферменты, была повышена в плацентах рожавших женщин. Фермент лейцилцистинил-аминопептидаза входит в подсемейство М1 аминокпептидаз, также называемое окситоциназами [22–24], функция которых заключается в разрушении окситоцина [25], что является важным фактором поддержания беременности. Уровни окситоциназы в сыворотке беременных женщин увеличиваются пропорционально прогрессированию срока гестации и достигают максимального уровня к моменту родов. Ген *HSD17B4* кодирует фермент 17-бета-гидростероид-дегидрогеназу 4, который играет важную роль в инактивации эстрогенов, при этом необходимо учитывать, что экспрессия сократительных белков стимулируется эстрогенами и ингибируется прогестероном [25].

Проанализировав полученные результаты, мы можем предположить, что в данном исследовании процесс родов не оказал значительного влияния на профиль экспрессии генов в плаценте. Родовая деятельность является феноменом, который в отличие от процессов, происходящих в течение беременности, характеризуется непродолжительным, с точки зрения возможного влияния на экспрессию генов в плаценте, отрезком времени, и, в связи с этим, геномные исследования не находят в плацентарной ткани изменений, связанных с процессом родов.

Выводы

1. Достоверных изменений экспрессии генов в плаценте, гестационно соответствующей сроку родов, под влиянием процесса родов не обнаружено ($P>0,05$).
2. Метод родоразрешения не влияет на экспрессию генов в плаценте.
3. Профиль генетической экспрессии плаценты после родов может быть применен для исследования его изменений под влиянием системной акушерской патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Запорожан В. М. Акушерство і гінекологія : підручник для інтернів : у 2-х т. / В. М. Запорожан, М. Р. Цегельський, Н. М. Рожковська. – Одеса : Одес. держ. мед. ун-т, 2005. – 892 с.
2. Молекулярна епідеміологія / В. М. Запорожан, Ю. І. Бажора, В. Й. Кресюн [та ін.]. – Одеса : Одес. держ. мед. ун-т, 2010. – 316 с.
3. Абрамченко В. В. Индукция родов и их регуляция простагландинами / В. В. Абрамченко, Р. А. Абрамян, Л. Р. Абрамян. – СПб. : ЭЛБИ-СПб, 2005. – 288 с.
4. *Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm* / J. R. G. Challis, S. G. Matthews, W. Gibb, S. J. Lye // *Endocr. Rev.* – 2000. – Vol. b 21. – P. 514–550.
5. *Fetal hypothalamic-pituitary adrenal (HPA) development and activation as a determinant of the timing of birth, and of postnatal disease* / J. Challis, D. Sloboda, S. Matthews [et al.] // *Endocr. Res.* – 2000. – Vol. a 26. – P. 489–504.
6. *Labor-Associated Gene Expression in the Human Uterine Fundus, Lower Segment, and Cervix* / R. Bukowski, G. D. V. Hankins, G. R. Saade [et al.] // *Issue of PLoS Medicine.* – 2006. – Vol. 3 (6). – P. e169.
7. *Breuiller-Fouche M. Functional genomics of the pregnant uterus: from expectations to reality, a compilation of studies in the myometrium* / M. Breuiller-Fouche, G. Charpigny, G. Germain // *BMC Pregnancy Childbirth.* – 2007. – Vol. 7, N 1 (Suppl. 1). – P. S4.
8. *Integration of endocrine and mechanical signals in the regulation of myometrial functions during pregnancy and labour*

/ O. Shynlova, P. Tsui, S. Jaffer, S. J. Lye // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2009, May. – Vol. 144, Suppl. 1. – S. 2–10.

9. <http://www.genome.jp/kegg/pathway/hsa/hsa04080.html>

10. *Vriend G.* GPCRDB: Information system for G protein-coupled receptors (GPCRs) / G. Vriend, F. Horn // Molecular Class-Specific Information System (MCSIS) project (2006-06-29).

11. *Shih Y.-L.* The Bacterial Cytoskeleton / Y.-L. Shih, L. Rothfield // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2006. – Vol. 70, N 3. – P. 729–754.

12. *Cavagna M.* Biomarkers of endometrial receptivity / M. Cavagna, J. C. Mantese // Placenta. – 2003, Oct. – Vol. 24 (Suppl.). – P. 39–47

13. *Gene expression patterns in human placenta* / R. Sood, J. L. Zehnder, M. L. Druzin, P. O. Brown // PNAS. – 2006. – Vol. 103. – P. 5478–5483.

14. *Human myometrial gene expression before and during parturition* / J. C. Havelock, P. Keller, N. Muleba [et al.] // Biol. Reprod. – 2005. – Vol. 72. – P. 707–719.

15. *DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery* / G. Dennis, B. Sherman, D. Hosack [et al.] // Genome Biol. – 2003. – Vol. 4. – P. 3.

16. *Snegovskikh V.* Endocrinology of parturition / V. Snegovskikh, J. S. Park, E. R. Norwitz // Endocrinol. Metab. Clin. North Am. – 2006. – Vol. 35. – P. 173–191.

17. *Nathanielsz P. W.* In the rhesus monkey placental retention after fetectomy at 121 to 130 days' gestation outlasts the normal duration of pregnancy / P. W. Nathanielsz, J. P. Figueroa, M. B. Honnabier // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1992. – Vol. 166. – P. 1529–1535.

18. *Young R.* Myocytes, myometrium, and uterine contractions / R. Young // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2007. – Vol. 1101. – P. 72–84.

19. *Induction of uterine activity with oxytocin in late pregnant rats replicates the expression of c-fos in neuroendocrine and brain stem neurons as seen during parturition* / I. A. Antonijevic, G. Leng, S. M. Luckman [et al.] // Endocrinology. – 1995. – Vol. 136. – P. 154–163.

20. *Nitrous oxide suppresses tonic and phasic nociceptive behaviors but not formalin-induced c-fos expression in the rat spinal cord dorsal horn* / F. S. Lin, B. C. Shyu, J. Y. Shieh, W. Z. Sun // Acta Anaesthesiol. Sin. – 2003. – Vol. 41. – P. 115–123.

21. *Induction of c-Jun mRNA without changes of estrogen and progesterone receptor expression in myometrium during human labor* / C. R. Roh, B. L. Lee, W. J. Oh [et al.] // J. Korean Med. Sci. – 1999. – Vol. 14. – P. 552–558.

22. *Placental leucine aminopeptidase/oxytocinase in maternal serum and placenta during normal pregnancy* / N. Yamahara, S. Nomura, T. Suzuki [et al.] // Life Sci. – 2000. – Vol. 66. – P. 1401–1410.

23. *Maternal serum placental leucine aminopeptidase (P-LAP)/oxytocinase and preterm delivery* / H. Kozaki, A. Itakura, M. Okamura [et al.] // Int. J. Gynaecol. Obstet. – 2001. – Vol. 73. – P. 207–213.

24. *Tsujimoto M.* The oxytocinase subfamily of M1 aminopeptidases / M. Tsujimoto, A. Hattori // Biochim. Biophys. Acta. – 2005. – Vol. 1751. – P. 9–18.

25. *Kiss A.* Oxytocin — anatomy and functional assignments: a minireview / A. Kiss, J. D. Mikkelsen // Endocr. Regul. – 2005. – Vol. 39. – P. 97–105.

26. <http://humbio.ru/HUMBIO/transgenesis/000078d4.htm>

27. *De Launoit Y.* Unique multifunctional HSD17B4 gene product: 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase 4 and D-3-hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase/hydratase involved in Zellweger syndrome / Y. de Launoit, J. Adamski // J. Mol. Endocrinol. – 1999. – Vol. 22 (3). – P. 227–240.

*Передплатуйте
і читайте
журнал*

ІНТЕГРАТИВНА АНТРОПОЛОГІЯ

У ВИПУСКАХ ЖУРНАЛУ:

**Передплата приймається
у будь-якому
передплатному пункті**

Передплатний індекс 08210

- ◆ Методологія інтегративних процесів
- ◆ Генетичні аспекти біології та медицини
- ◆ Патологічні стани і сучасні технології
- ◆ Філософські проблеми геронтології та геріатрії
- ◆ Дискусії