

Хаджиева Марьям Борисовна

*кандидат биологических наук, научный сотрудник
Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова РАН*

Khadzhieva Maryam

PhD, Researcher

Vavilov Institute of General Genetics RAS

Бисултанова Зура Исановна

*старший преподаватель кафедры клеточной биологии, морфологии и микробиологии
Чеченский государственный университет*

Bisultanova Zura

*Senior Lecturer of the Department of Cell Biology, Morphology and Microbiology
Chechen state University*

Джамбетова Петимат Махмудовна

*доктор биологических наук, доцент,
профессор кафедры клеточной биологии, морфологии и микробиологии
Чеченский государственный университет*

Dzhambetova Petimat

*Doctor of Biology, Associate Professor,
Professor of the Department of Cell Biology, Morphology and Microbiology
Chechen state University*

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ВАРИАНТОВ RS1052133 И RS4462560 ПРИ ПРИВЫЧНОМ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

PROGNOSTIC VALUE OF RS1052133 AND RS4462560 RECURRENT MISCARRIAGE

Аннотация. Проведена оценка прогностической значимости полиморфных вариантов rs1052133 и rs4462560 генов семейства ДНК-гликозилаз (OGG и NEIL1, соответственно) при привычном невынашивании беременности.

Ключевые слова: привычное невынашивание беременности, ROC-анализ, одонуклеотидный полиморфный вариант.

Summary. We evaluated the prognostic value of rs1052133 and rs4462560 of the DNA-glycosylase genes (OGG1 and NEIL1, respectively) in the recurrent miscarriage.

Key words: recurrent miscarriage, ROC analysis, single nucleotide polymorphism.

Привычное невынашивание беременности (ПНБ) — полиэтиологическое осложнение, характеризующееся наличием в анамнезе у женщины подряд трех и более самопроизвольных прерываний беременности в сроках до 22 недель (или при весе плода до 500 г). Частота встречаемости ПНБ среди супружеских пар репродуктивного возраста составляет 1–3% [1, с. 501–514; 2, с. 1740–1747]. В настоящее время различают следующие ведущие причины привычного невынашивания беременности: генетические, эндокринные, инфекционные, иммунологические (ауто- и аллоиммунные), тромбофилические и анатомические

[3, с. 28–29], однако в 23–40% случаев этиология ПНБ остается невыясненной [4, с. 479–482]. На первый триместр беременности приходится до 85% выкидышей [5, с. 6]; в этот период происходит активное деление материнских и фетальных клеток, что влечет за собой повреждение молекул ДНК, а также возрастает оксидативная нагрузка на организм матери [6, с. 344; 7, с. 57–63]. В частности, с 8 по 12 неделю беременности в плаценте резко повышается напряжение кислорода, что объясняется формированием артериальной циркуляции в конце первого триместра беременности, необходимой для свободного потока материнской

крови в плаценту [8, с. 2111–2122]. Важную роль в обеспечении стабильности генома играет эксцизионная репарация оснований (ЭРО, base excision repair BER), которая удаляет повреждения, вызываемые окислением, дезаминированием, алкилированием азотистых оснований. В связи с этим недостаточная активность ферментов ЭРО и ферментов, обеспечивающих защиту от оксидативного стресса, инициирует геномную нестабильность и запуск апоптоза в материнских и фетальных клетках, что может повлечь за собой ряд осложнений вплоть до потери беременности [9, с. 49].

Ранее нашим коллективом с целью поиска новых генов-кандидатов развития ПНБ были изучены полиморфные варианты генов оксидативного ответа и эксцизионной репарации оснований ДНК: *COMT* (catechol-O-methyltransferase), *CAT* (catalase), *GCLC* (glutamate-cysteine ligase catalytic subunit), *GPX4* (glutathione peroxidase 4), *NRF2* (nuclear factor, erythroid 2 like 2), *SOD2* (superoxide dismutase 2), *OGG1* (8-oxoguanine DNA glycosylase), *LIG3* (DNA ligase 3), *NEIL1* (nei like DNA glycosylase 1), *FEN1* (flap structure-specific endonuclease 1), *NTHL1* (nth like DNA glycosylase 1) [10, с. 534–541; 11, с. 1–10]. В исследовании приняли участие 528 женщин, из которых 331 пациентки с невынашиванием беременности в первом триместре беременности, в том числе 50 с ПНБ, и 197 женщин с реализованной репродуктивной функцией и отсутствием ПНБ в анамнезе; средний возраст основной и контрольной групп составил 32.63 ± 5.69 и 33.71 ± 6.14 лет, соответственно. Образцы периферической крови были получены из клинических баз кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н. И. Пирогова. Генотипирование участниц исследования проводилось методом аллель-специфической ПЦР с помощью лиофилизированных наборов Master Mix (Isogene Lab.Ltd, Россия) с последующей визуализацией результатов горизонтальным электрофорезом в 2% агарозном геле. По результатам исследования ассоциирован-

ными с привычным невынашиванием беременности (от трех и более потерь) оказались рискованные аллели rs1052133-G гена *OGG1* (рец. модель, $P=0.029$, $OR=4.50$, 95% ДИ: 1.21–16.69) и rs4462560-G гена *NEIL1* (рец. модель, $P=0.039$, $OR=3.46$, 95% ДИ: 1.12–10.68).

Цель настоящего исследования: оценка прогностической значимости полиморфных вариантов rs1052133 гена *OGG1* и rs4462560 гена *NEIL1* при ПНБ в первом триместре беременности.

Статистическая обработка выполнялась с помощью логистической регрессии с учетом генетической модели, для которой были получены достоверные корреляции полиморфных вариантов с ПНБ (для обоих сайтов это рецессивная модель), и с поправкой на рискованные факторы ПНБ: возраст, индекс массы тела (ИМТ), наличие/отсутствие инфекций, передающихся половым путем (ИППП) и перенесенные гинекологические заболевания (ГЗ). Для оценки прогностической значимости модели проводился ROC (Receiver Operating Characteristic) анализ с построением характеристической кривой (ROC-curve) и указанием площади под кривой AUC (Area Under the Curve), которая отражает качество модели [12, с. 85–87]. Нами было рассмотрено 4 прогностических модели: 1 — сочетание возраста, ИМТ, гинекологических заболеваний и ИППП; 2 и 3 — сочетание составляющих первой модели с полиморфными вариантами rs1052133 гена *OGG1* и rs4462560 гена *NEIL1*, соответственно; 4 — сочетание всех вышеперечисленных факторов. Результаты ROC-анализа представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

Все проанализированные модели характеризуются средним ($AUC = 0.6–0.7$) либо хорошим ($AUC = 0.7–0.8$) качеством (рис. 1). Самый высокий AUC отмечен для модели № 2, включающей в качестве генетического фактора аллель rs1052133-G гена *OGG1* (рецессивная модель) ($AUC =_{0.65} 0.75_{0.85}$) и для модели № 4, в состав которой входят как rs1052133-G, так и rs4462560-G гена *NEIL1* ($AUC =_{0.64} 0.75_{0.85}$). Однако прогностическая мощность последней модели обусловлена полиморфным

Таблица 1

Оценка прогностической ценности генетических факторов, ассоциированных с повышенным риском развития ПНБ (ROC-анализ)

№№ модели	Состав прогностической модели	AUC, 95% ДИ	Стандартная ошибка	Уровень значимости (p)
1	возраст, ИМТ, ИППП, ГЗ	0,70 (0,59; 0,81)	0,055	0,0004
2	возраст, ИМТ, ИППП, ГЗ, rs1052133 (<i>OGG1</i>)	0,75 (0,65; 0,85)	0,051	0,00001
3	возраст, ИМТ, ИППП, ГЗ, rs4462560 (<i>NEIL1</i>)	0,69 (0,58; 0,81)	0,059	0,0005
4	возраст, ИМТ, ИППП, ГЗ, rs1052133 (<i>OGG1</i>), rs4462560 (<i>NEIL1</i>)	0,75 (0,64; 0,85)	0,055	0,00001

Разработка автора [1, с. 4]

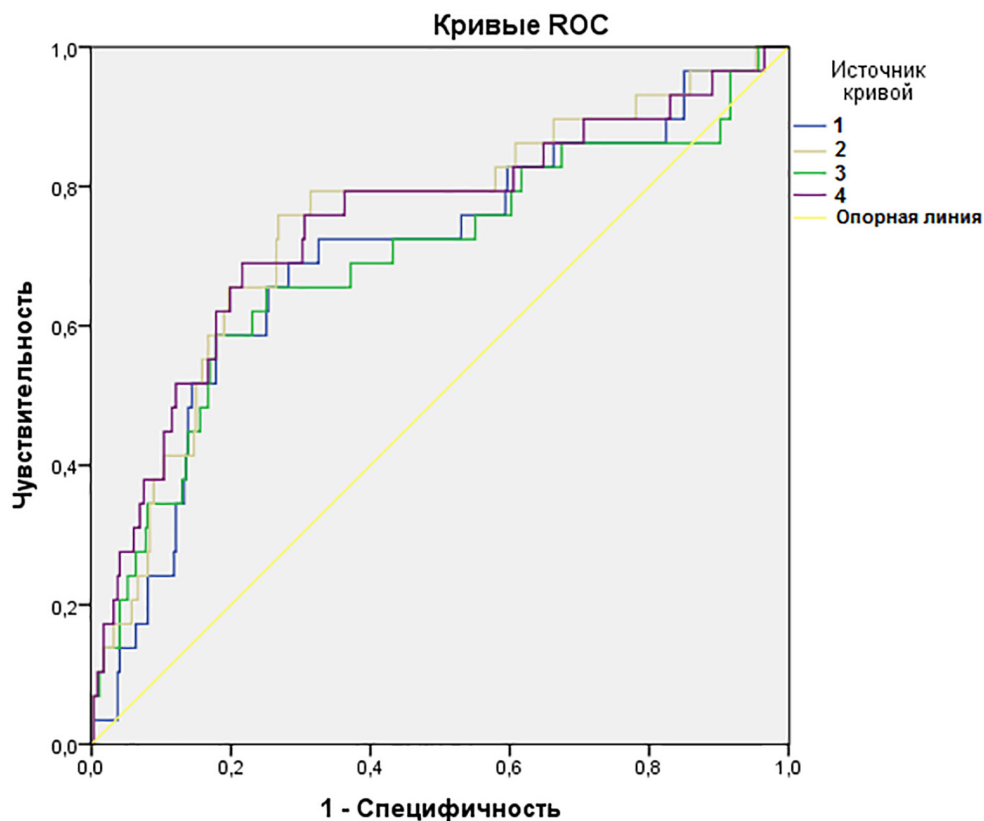


Рис. 1. ROC-кривые для сайтов rs1052133-G и rs4462560-G при привычном невынашивании беременности. №№ 1, 2, 3, 4 — прогностические модели, представленные в таблице 1 (разработка автора [1, с. 4])

вариантом *OGG1*, а не *NEIL1*, в связи с чем в роли потенциального маркера ПНБ стоит рассматривать только rs1052133-G гена *OGG1*.

Одной из наиболее чувствительных и биологически важных мишеней при повреждении ДНК активными формами кислорода является гуанин, а продуктом повреждения 8-оксогуанин, вызывающий замены GC на AT-пары. Кодированная геном *OGG1* 8-оксогуанин-ДНК-гликозилаза относится к числу ключевых ферментов ЭРО. *OGG1* удаляет 8-оксогуанин из молекулы ДНК, тем самым предотвращая потенциальные мутации. Изученный нами rs1052133 гена *OGG1* (с.977C>G) приводит к аминокислотной замене серина на цистеин (Ser326Cys),

что провоцирует снижение активности фермента 8-оксогуанин-ДНК-гликозилаза [13, с. 3642–3649; 14, с. 501–510]. По данным последних лет вариант rs1052133-G связан с развитием онкологических заболеваний различной локализации и сахарным диабетом 2 типа [15, с. 26–29; 16, с. 1917–1926].

В нашем исследовании ни одна из рассмотренных прогностических моделей не обладает достаточной диагностической мощностью ($AUC > 0.8$) для применения в практике, однако стоит изучить в качестве потенциального маркера на расширенной выборке вклад полиморфного варианта rs1052133-G гена *OGG1* в развитие привычного невынашивания беременности в первом триместре.

Литература

1. Никитина Т. В., Лебедев И. Н. Цитогенетика привычного невынашивания беременности / Генетика. — 2014. — Т. 50. — № 5. — С. 501–514.
2. Branch D. W., Gibson M., Silver R. M. Clinical practice. Recurrent miscarriage / N Engl J Med. — 2010. — 363. — P. 1740–1747.
3. Сидельникова, В. М. Привычная потеря беременности. — М.: Триада-Х. — 2002. — 304 с.
4. Demirturk F., Ates O., Gunal O., et al. IL-6 gene promoter polymorphisms: genetic susceptibility to recurrent pregnancy loss / Bratisl Lek Listy. — 2014. — V.115. — No.8. — P. 479–482.

5. Гончарова В. С. Генотоксические проявления окислительного стресса в генезе невынашивания беременности: автореф. дис. канд. мед. наук. — М. — 2016. — 25 с.
6. Куцын К. А., Коваленко К. А., Машкина Е. В., Шкурят Т. П. Экспрессия генов системы репарации (APEX1, XPD) и контроля клеточного цикла (CHEK2, P53) при патологии беременности / Современные проблемы науки и образования. — 2013. — № 1. — С. 344.
7. Zhou H., Liu Y., Liu L., et al. Maternal pre-pregnancy risk factors for miscarriage from a prevention perspective: a cohort study in China / Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. — 2016. — V. 206. — P. 57–63.
8. Jauniaux E., Watson A. L., Hempstock J., et al. Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress. A possible factor in human early pregnancy failure / Am J Pathol. — 2000. — V. 157. — No 6. — P. 2111–2122.
9. Agarwal A., Aponte-Mellado A., Premkumar B. J., Shaman A., Gupta S. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review / Reprod Biol Endocrinol. — 2012. — V. 10. — P. 49.
10. Khadzhieva MB, Lutcenko NN, Volodin IV, Morozova KV, Salnikova LE. Association of oxidative stress-related genes with idiopathic recurrent miscarriage / Free Radical Research. — 2014. — 48(5). — P. 534–541.
11. Хаджиева М. Б. Вклад вариабельности генов эксцизионной репарации оснований в развитие невынашивания беременности в первом триместре / Вестник РНЦПР. — 2016. — Том 16. — № 3. — с. 1–10.
12. Михайлова З. Д. Острый коронарный синдром: аспекты патогенеза и прогнозирования течения на разных этапах: дис...д-ра мед. наук. — Н. Новгород. — 2016. — 297 с.
13. Bravard A., Vacher M., Moritz E., et al. Oxidation status of human OGG1-S326C polymorphic variant determines cellular DNA repair capacity / Cancer Res. — 2009. — V. 69. — P. 3642–3649.
14. Kershaw R. M., Hodges N. J. Repair of oxidative DNA damage is delayed in the Ser326Cys polymorphic variant of the base excision repair protein OGG1 / Mutagenesis. — 2012. — V. 27. — No. 4. — P. 501–510.
15. Daimon M. et al. Association of the Ser326Cys polymorphism in the OGG1 gene with type 2 DM / Biochemical and biophysical research communications. — 2009. — Vol. 386. — N1. — P. 26–29.
16. Costa E. F., Santos E. S., Liutti V. T., et al. Association between polymorphisms in genes related to DNA base-excision repair with risk and prognosis of oropharyngeal squamous cell carcinoma / J Cancer Res Clin Oncol. — 2016. — V. 142. — No. 9. — P. 1917–1926.