

УДК618.39-021.3-02-07-085+612.63.031.3:577.21

ВИВЧЕННЯ ФАКТОРІВ РИЗИКУ РОЗВИТКУ ЗАГРОЗЛИВОГО АБОРТУ У ЖІНОК З УРАХУВАННЯМ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ПРОГЕСТЕРОНУ

Кривоустов О.С.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

kryvopustov@gmail.com

Рецензенти: проф. Досенко В.Є., проф. Венцківський Б.М.

Актуальність. Важливою медико-соціальною проблемою сучасного акушерства є загрозовий аборт. На сьогодні особлива увага серед етіологічних чинників приділяється генетичним факторам, зокрема, поліморфізму гена рецептора прогестерону. Від поліморфізму гена рецептора прогестерону може залежати рецепторна відповідь на прогестерон, що обумовлює розвиток загрозового аборту. Визначення зв'язку між поліморфізмом гена рецептора прогестерону та невиношуванням вагітності має бути пріоритетним напрямком сучасного акушерства.

Мета: з'ясувати фактори ризику розвитку загрозового аборту у вагітних жінок та визначити значення одонуклеотидного поліморфізму гена рецептора прогестерону у виникненні загрозового аборту.

Матеріали та методи. Обстежено 197 вагітних жінок терміні гестації 8-16 тиж., які склали 2 групи. Першу досліджувану групу становили 102 практично здорові вагітні. У другу досліджувану групу увійшли 95 пацієток з діагнозом загрозовий аборт. Крімклінічних, лабораторних, інструментальних та статистичних методів дослідження було проведено анкетування для визначення рівня стресу та молекулярно-генетичні дослідження для визначення генного поліморфізму.

Результати. Гомозиготне носійство G-алелю за поліморфізмом гена рецептора прогестерону rs590688 ($p=0,028$) та високий рівень стресу за шкалою Perceived Stress Scale ($p=0,007$) є факторами, що асоціюються з вищим ризиком розвитку загрозового аборту у жінок. У гомозиготних носіїв G-алелю за rs590688 ризик розвитку захворювання у 2,5 рази вищий, ніж у носіїв інших генотипів за цим поліморфізмом ($p=0,02$).

Висновок. Найбільш значущими факторами ризику розвитку загрозового аборту у жінок є одонуклеотидний поліморфізм гена рецептора прогестерону rs590688 та рівень стресу за шкалою Perceived Stress Scale. Аналіз поліморфізму гена рецептора прогестерону та рівня стресу за шкалою його сприйняття доцільно використовувати при визначенні ризику виникнення загрозового аборту у жінок.

Ключові слова: вагітність, ген рецептора прогестерону, загрозовий аборт, поліморфізм гена рецептора прогестерону, стрес.

Актуальність. Важливою медико-соціальною проблемою сучасного акушерства та охорони здоров'я в цілому є ранні репродуктивні втрати. Провідне значення при цьому має загрозовий аборт, що зустрічається як ускладнення вагітності у 16-25 % [1, 5, 11]. Його причини мультифакторіальні: розглядають інфекційні, анатомічні, гормональні, генетичні чинники, серед яких останнім сьогодні приділяється велика увага [1, 5, 8, 9].

Загальновідомо, що у забезпеченні репродуктивної функції жінки, імплантації зиготи, маткового спокою протягом вагітності вкрай важливу роль відіграє прогестерон [1, 2, 14]. Його дія реалізується через активацію рецепторів прогестерону, а ці рецептори кодуються геном рецептора прогестерону, що знаходиться на хромосомі 11q22-23 [2, 5]. Від одонуклеотидного поліморфізму гена рецептора прогестерону (SNPPGR) може залежати рецепторна відповідь власне на прогестерон, адже генний поліморфізм може впливати на перебіг біохімічних процесів в організмі вагітної і тим самим впливати на розвиток загрозового аборту [7, 9, 13, 12].

Актуальність вивчення загрозового аборту доповнює перелік можливих ускладнень вагітності навіть за умови її збереження, причому як з боку матері, так і плода [3, 10]. Отже, визначення зв'язку між поліморфізмом гена рецептора прогестерону та невиношуванням вагітності має бути пріоритетним напрямком сучасного акушерства.

Мета: з'ясувати фактори ризику розвитку загрозового аборту у вагітних жінок та визначити значення одонуклеотидного поліморфізму гена рецептора прогестерону у виникненні загрозового аборту.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для оцінки ризику виникнення загрозового аборту, з урахуванням алельних варіантів гена рецептора прогестерону, було проаналізовано 2 групи жінок: перша досліджувана група, яку склали 102 практично здорові вагітні, та друга досліджувана група, яку склали 95 пацієток, у котрих була діагностована загроза аборту.

Так, для пацієнок першої досліджуваної групи застосовувалися наступні критерії включення: вік від 18 років до 45 років включно; гестаційний вік даної вагітності 8-16 тижнів; одноплідна вагітність; відсутність загрози самовільного абортів; нормальні рівні естрадіолу та прогестерону в крові на момент включення в дослідження; задовільний соматичний стан; наявність інформованої письмової згоди.

Критерії невключення жінок до першої досліджуваної групи: вік до 18 років або старше 45 років; гестаційний вік даної вагітності до 8 тижнів або більше 16 тижнів; багатоплідна вагітність; застосування допоміжних репродуктивних технологій; аномалії розвитку статевих органів; наявність в анамнезі патологічних пологів, самовільного абортів, загрози самовільного абортів, передчасних пологів, загрози передчасних пологів; наявність хромосомної патології в сімейному анамнезі; наявність ознак будь-якої гострої інфекції, вульвовагініту будь-якої етіології; наявність важкої екстрагенітальної патології, алкоголізму або наркоманії в анамнезі; рівень естрадіолу та прогестерону крові на момент первинного обстеження поза межами нормальних значень для даного терміну гестації; відсутність інформованої письмової згоди.

Для пацієнок другої досліджуваної групи були наступні критерії включення: вік від 18 років до 45 років включно; гестаційний вік даної вагітності 8-16 тижнів; одноплідна вагітність; наявність клінічних ознак загрозового абортів; наявність інформованої письмової згоди.

Критерії невключення жінок до другої досліджуваної групи: вік до 18 років або старше 45 років; гестаційний вік даної вагітності до 8 тижнів або більше 16 тижнів; багатоплідна вагітність; відсутність клінічних ознак загрозового абортів; рівень пролактину та естрадіолу поза межами нормальних значень для даного терміну гестації; застосування допоміжних репродуктивних технологій; аномалії розвитку статевих органів; наявність короткої шийки матки для даного строку вагітності; наявність важкої акушерської та/або гінекологічної патології; наявність важкої екстрагенітальної патології; наявність ознак будь-якої гострої інфекції; наявність хромосомної патології в сімейному анамнезі; наявність протипоказань до застосування препарату натурального мікронізованого прогестерону; відсутність інформованої письмової згоди.

Всім пацієнткам, крім загальноклінічних методів обстеження, проводилось ультразвукове дослідження органів малого тазу (Aloka SSD-1700, Японія). Оцінювались рівні гормонів: естрадіолу, прогестерону (ELISA, DRG Instruments GmbH, Німеччина). Методом анкетування визначався рівень сприйняття стресу за допомогою опитувальника Perceived Stress Scale (PSS) [6].

Для визначення поліморфізму гена рецептора прогестерону rs590688 (C/G) та rs500760 (A/G) використовувалися молекулярно-генетичні дослідження. Визначення SNP PGR проводили в два етапи. Першим було виділення ДНК біологічного матеріалу з букального епітелію. Цей матеріал збирали за допомогою зонда «Jiangsu Suyun Medical Materials Co., Ltd» (Китай). Для отримання ДНК використовували набір реагентів NeoPrep⁵⁰ DNA «НЕОГЕН» (Україна). Отримана ДНК безпосередньо використовувалася для проведення полімеразної ланцюгової реакції. SNP PGR rs590688 (C/G) визначали із застосуванням TaqMan® SNP Assay C_997600_10 та 7500 Fast Real-time PCR System «Applied Biosystems, Foster City» (США). SNP PGR rs500760 (A/G) визначали із застосуванням TaqMan® SNP Assay C_997496_10 та 7500 Fast Real-time PCR System «Applied Biosystems, Foster City» (США). Програма ампліфікації складалася з 50 циклів (денатурація – 92°C, 15 с., гібридизація та елонгація – 60°C, 1 хв.), після чого проводили аналіз дискримінації алелей.

Аналіз результатів дослідження був проведений за допомогою статистичного пакету SPSS (версія 22) з використанням статистичного середовища R (версія 3.2).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Середній вік пацієнок першої досліджуваної групи складав $28,7 \pm 0,5$ років. Середній вік настання менархе становив $13,1 \pm 0,4$ років. Середня тривалість циклу складала $29,4 \pm 0,4$ днів, середня тривалість *mensis* – $5,3 \pm 0,2$ днів. Переважна більшість пацієнок була у шлюбі – 87 (91,6%). 86 (90,5 %) пацієнок характеризували стан здоров'я батька майбутньої дитини як «здоровий». 30 (31,6 %) мали в анамнезі одні пологи, 4 (4,2 %) мали в анамнезі двоє пологів, 1 (1 %) мала в анамнезі 5 пологів, 60 (63,2 %) жінки не мали пологів в анамнезі, 25 (26,3 %) пацієнок мали викидень в анамнезі. На момент госпіталізації біль внизу живота відмічала 91 (97,5 %) особа, кров'янисті виділення – 55 (57,9 %). При гінекологічному дослідженні ні в однієї з жінок не було виявлено структурних змін шийки матки. Ехографічно у всіх пацієнок було визначено наявність серцевих скорочень плода та відповідність розмірів ембріону терміну гестації. У 16 (16,8 %) вагітних діагностувалась ретрохоріальна гематома.

Рівень прогестерону склав $29,11 \pm 0,57$ нг/мл, рівень естрадіолу $1635,18 \pm 404,18$ (пг/мл). Індекс маси тіла (ІМТ) – $24,70 \pm 0,20$ кг/м². Рівень стресу за шкалою PSS – 16 ± 5 . Отримані рівні естрадіолу та прогестерону відповідали референтним значенням для наявних термінів вагітності. Рівні естрадіолу, ІМТ та рівень стресу представлені як медіана \pm міжквартильний діапазон.

В цій групі спостерігався наступний розподіл за rs590688: мажорна гомозигота CC – 30 осіб (29,41 %), гетерозигота CG – 58 осіб (56,86 %), мінорна гомозигота GG – 14 осіб (13,73 %); за rs500760: мажорна гомозигота AA – 51 особа (50,00 %), гетерозигота AG – 45 осіб (44,12 %), мінорна гомозигота GG – 6 осіб (5,88 %).

Середній вік жінок другої досліджуваної групи складав $27,7 \pm 0,4$ років. Середній вік настання менархе становив $13,4 \pm 0,5$ років. Середня тривалість циклу складала $29,3 \pm 0,4$ днів, середня тривалість *mensis* – $5,2 \pm 0,2$ днів. Переважна більшість була у шлюбі – 90 (88,2 %). 93 (91,2 %) характеризували стан здоров'я батька майбутньої дитини як «здоровий». 28 (27,5 %) мали в анамнезі одні пологи, 4 (3,9 %) мали в анамнезі двоє пологів, 70 (68,6 %) жінок не мали пологів в анамнезі. Соматичний стан усіх характеризувався як задовільний. При гінекологічному дослідженні ні в одній з жінок не було виявлено структурних змін шийки матки. За даними ультразвукової діагностики, у всіх було визначено наявність серцевих скорочень плода та відповідність розмірів ембріону терміну гестації.

Рівень прогестерону склав $27,69 \pm 0,87$ нг/мл, рівень естрадіолу $1492,80 \pm 790,38$ пг/мл. Індекс маси тіла – $24,40 \pm 0,25$ кг/м. Рівень стресу за шкалою PSS – 17 ± 6 . Отримані рівні естрадіолу та прогестерону відповідали референтним значенням для наявних термінів вагітності. Рівні естрадіолу, ІМТ та рівень стресу представлені як медіана \pm міжквартильний діапазон.

В цій групі спостерігався наступний розподіл за rs590688: мажорна гомозигота CC – 29 осіб (30,53 %), гетерозигота CG – 40 осіб (42,10 %), мінорна гомозигота GG – 26 осіб (27,37 %); за rs500760: мажорна гомозигота AA – 53 особи (55,79 %), гетерозигота AG – 37 осіб (38,95 %), мінорна гомозигота GG – 5 осіб (5,26 %).

З метою оцінки ризику виникнення загрозового абортів з урахуванням алельних варіантів гена рецептора прогестерону було використано метод Randomforest для пошуку найбільш важливих предикторів захворювання [4]. Пошук проводився серед таких можливих факторів ризику як вік, сімейний стан жінки, наявність повної або неповної вищої освіти, відсутність пологів в анамнезі, перша вагітність, паління, наявність в сім'ї курця, пов'язаність роботи з фізичною працею, рівень прогестерону та естрадіолу в крові, ІМТ, рівень стресу за шкалою PSS, поліморфізм гена рецептора прогестерону rs590688 та rs500760.

За результатами аналізу, наступні фактори з проаналізованих виявились статистично значущими факторами ризику виникнення захворювання: SNP PGR rs590688, рівень стресу за шкалою PSS, ІМТ, рівень естрадіолу. Подальше зменшення кількості факторів ризику з метою виявлення найбільш значущих та досягнення максимуму класифікаційної спроможності привело до моделі, що містить два компоненти: SNP PGR rs590688 ($p=0,028$) та рівень стресу за шкалою PSS ($p=0,007$).

При аналізі характеристик поліморфізму rs590688, який був визначений як один з найбільш важливих факторів ризику розвитку загрозового абортів, їх було перевірено за допомогою тесту хі-квадрат з 1 ступенем свободи, без використання корекції Йетса, розподіл генотипів відповідає закону Харді-Вайнберга (хі-квадрат = 2,81, $p=0,09$).

Проаналізувавши усі моделі успадкування, було обрано найкращу модель із найнижчим інформаційним критерієм Айкайке (хі-квадрат = 6,68, $p=0,035$). Такою моделлю для rs590688 виявилася рецесивна модель (критерій Айкайке – 18,64). Для неї нижче наведені значення відношення шансів та статистична значущість відповідно до результатів тесту хі-квадрат (табл. 1).

Таблиця 1

Найкраща модель успадкування SNP PGR rs590688

Генотип	Контроль (n)	Випадок (n)	Відношення шансів	Статистична значущість
CC + CG	88 (86,3 %)	69 (72,6 %)	1,00	
GG	14 (13,7 %)	26 (27,4 %)	2,37 (1,17 – 4,99)	0,02

Таблиця 2

Модель логістичної регресії для визначення значущості кожного з факторів, котрі були визначені методом RandomForest

	Коефіцієнт регресії	Відношення шансів	95% довірчий інтервал для ВШ, нижній	95% довірчий інтервал для ВШ, верхній	p
Рівень стресу	0,132	1,141	1,054	1,243	0,001
rs590688(GG)	0,828	2,290	1,090	4,810	0,029
Константа	-2,532	0,079			0,001

Аналіз коефіцієнтів регресії вказує на те, що як рівень стресу, так і гомозиготне носійство G-алелю за rs590688 є факторами, які асоціюються з вищим ризиком розвитку захворювання. Для категоріальних змінних, як генотип за поліморфізмом, цей показник вказує на те, в яку кількість разів у осіб, які мають дану категорію (тобто генотип GG за rs590688) вищий ризик розвитку захворювання, ніж у референсної категорії (тобто у осіб з генотипом CC або CG за rs590688).

Таким чином, найбільш значущими з досліджуваних є наступні предиктори: рівень стресу за шкалою PSS та однонуклеотидний поліморфізм rs590688. У гомозиготних носіїв G-алелю за rs590688 ризик розвитку загрозливого абортів у 2,5 рази вищий, ніж у носіїв інших генотипів за цим поліморфізмом ($p=0,02$). Залучення зазначеного аналізу в клінічну практику сприятиме розв'язанню цієї актуальної медико-соціальної проблеми акушерства.

ВИСНОВКИ

1. Найбільш значущими факторами ризику розвитку загрозливого абортів у жінок є однонуклеотидний поліморфізм гена рецептора прогестерону rs590688 та рівень стресу за шкалою PSS. Гомозиготне носійство G-алелю за rs590688 та рівень стресу є факторами, які асоціюються з вищим ризиком розвитку загрозливого абортів.

2. У гомозиготних носіїв G-алелю за поліморфізмом гена рецептора прогестерону rs590688 ризик розвитку захворювання у 2,5 рази вищий, ніж у носіїв інших генотипів за цим поліморфізмом.

3. Аналіз поліморфізму гена рецептора прогестерону та рівня стресу за шкалою його сприйняття PSS доцільно використовувати при визначенні ризику виникнення загрози абортів у жінок.

Конфлікт інтересів. Автор заявляє, що не має конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Лихачев В. Практичне акушерство з невідкладними станами. Полтава: Медичне інформаційне агентство, 2010. 720 с.
2. Al-Asmakh M. Reproductive functions of progesterone. // Middle East Fertility Society Journal. 2007. Vol. 12. No. 3. P. 197–201.
3. Basama F., Crosfill F. The outcome of pregnancies in 182 women with threatened miscarriage // Arch Gynecol Obstet. 2004.No. 270. C. 86-90.
4. Breiman L. «Random Forests». // Machine Learning. 2001. No. 45. P. 5–32.
5. Carp H. Progestogens in the prevention of miscarriage. // Horm Mol Biol Clin Invest. 2015. No. 27. C. 55-62.
6. Cohen S., Kamarck T., Mermelstein R. Perceived stress scale // Measuring stress: A guide for health and social scientists. 1994.
7. Guoyang L., Morgan T., Bahtiyar M. Single nucleotide polymorphisms in the human progesterone receptor gene and spontaneous preterm birth // Reprod Sci. 2008. No. 15. P. 147-155.
8. Huchon C., Deffieux X., Beucher G. Pregnancy loss: French clinical practice guidelines // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2016. No. 201. C. 18-26.
9. Kryvopustov O., Dosenko V. Single nucleotide polymorphisms in human progesterone receptor gene and its value in miscarriage or preterm delivery // Fiziol Zh. 2015. No. 61. P. 111-119.
10. Ozdemirci S., Karahanoglu E. Influence of threatened miscarriage on pregnancy and early postpartum period: a case-control report // J Matern Fetal Neonatal Med. 2015. No. 28. P. 1186-1189.
11. Practice Committee Opinion of the American Society of Reproductive Medicine. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion // Fertil Steril. 2012. No. 98. P. 1103-1111.
12. Romano A., Delvoux B., Fischer D. The PROGINS polymorphism of the human progesterone receptor diminishes the response to progesterone // J Mol Endocrinol. 2007. No. 38. P. 331-350.
13. Su M., Lee I., Chen Y. Association of progesterone receptor polymorphism with idiopathic recurrent pregnancy loss in Taiwanese Han population // J Assist Reprod Genet. 2011.No. 28. P. 239-243.
14. Wahabi H., Abed A. Progestogen for treating threatened miscarriage // Cochrane Database Syst Rev. 2011.

Отримано: 26.09.2017

ИЗУЧЕНИЕ ФАКТОРОВ РИСКА РАЗВИТИЯ УГРОЖАЮЩЕГО АБОРТА У ЖЕНЩИН С УЧЕТОМ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА РЕЦЕПТОРА ПРОГЕСТЕРОНА

Кривоустов А.С.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

Актуальность. Важной медико-социальной проблемой современного акушерства является угрожающий аборт. Сегодня особое внимание уделяют генетическим аспектам, в частности, полиморфизму гена рецептора прогестерона. От полиморфизма гена рецептора прогестерона может зависеть рецепторный ответ на прогестерон, что предопределяет развитие угрожающего аборта. Определение связи между полиморфизмом гена рецептора прогестерона и невынашиванием беременности должно быть приоритетным направлением современного акушерства.

Цель: выяснить факторы риска развития угрожающего аборта у беременных женщин и определить значение однонуклеотидного полиморфизма гена рецептора прогестерона в возникновении угрожающего аборта.

Материалы и методы. Обследовано 197 женщин в сроке гестации 8-16 нед., которые составили 2 группы. Первую исследуемую группу составили 102 практически здоровые беременные. Во вторую исследуемую группу вошли 95 пациенток с диагнозом угрожающего аборта. Кроме клинических, лабораторных, инструментальных и статистических методов исследования было проведено анкетирование для определения уровня стресса и молекулярно-генетические исследования для определения генного полиморфизма.

Результаты. Гомозиготное носительство G-аллеля по полиморфизму гена рецептора прогестерона rs590688 ($p=0,028$) и высокий уровень стресса по шкале Perceived Stress Scale ($p=0,007$) являются факторами, которые ассоциируются с высоким риском развития угрожающего аборта у женщин. У гомозиготных носителей G-аллеля по rs590688 риск развития заболевания в 2,5 раза выше, чем у носителей других генотипов по этому полиморфизму ($p=0,02$).

Вывод. Наиболее значимыми факторами риска развития угрожающего аборта у женщин являются однонуклеотидный полиморфизм гена рецептора прогестерона rs590688 и уровень стресса по шкале Perceived Stress Scale. Анализ полиморфизма гена рецептора прогестерона и уровня стресса по шкале его восприятия целесообразно использовать при анализе риска возникновения угрожающего аборта у женщин.

Ключевые слова: беременность, ген рецептора прогестерона, угрожающий аборт, полиморфизм гена рецептора прогестерона, стресс.

RISK FACTORS STUDY OF THREATENED ABORTION OCCURRING IN WOMEN WITH REGARD TO PROGESTERONE RECEPTOR GENE POLYMORPHISM

O. Kryvopustov

O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Relevance. An important medical and social problem of modern obstetrics is threatening abortion. Among all threatened abortion risk factors today a special attention is given to genetic factors, in particular, to progesterone receptor gene polymorphism. From a progesterone receptor gene polymorphism may depend a progesterone receptor response and a threatened abortion occurring. Determination of the relationship between a progesterone receptor gene polymorphism and miscarriage should be in a priority of modern obstetrics.

Objective: to evaluate risk factors in threatening abortion occurring and a significance of progesterone receptor gene polymorphism among them.

Materials and methods. The study included 197 women at the gestational age of 8-16 weeks., which were divided into 2 groups. The first study group consisted of 102 practically healthy pregnant women. The second study group included 95 patients diagnosed with a threatened abortion. The following research methods were used: clinical, questionnaires, laboratory, instrumental, genetic, statistical. In addition to clinical, laboratory, instrumental and statistical research methods, a questionnaire was conducted to determine a stress level and special molecular genetic studies were performed to determine gene polymorphism.

Results. The homozygous carriage of the G-allele by the progesterone receptor gene polymorphism (SNP PGR) rs590688 ($p=0,028$) and the high stress level by Perceived Stress Scale ($p=0,007$) are factors that are associated with a high risk of threatened abortion occurring in women. In homozygous G-allele carriers by SNP PGR rs590688 the risk of a threatened abortion occurring is 2.5 times higher than in carriers of other genotypes by this polymorphism ($p=0,02$).

Conclusion. The most significant risk factors for threatened abortion occurring in women are progesterone receptor gene polymorphism rs590688 and the stress level by the Perceived Stress Scale. The analysis of SNP PGR and a stress level should be used in threatening abortion risk factors evaluation.

Keywords: pregnancy, progesterone receptor gene, threatened abortion, progesterone receptor gene polymorphism, stress.