

УДК 618.39-021.3-02-07-085+612.63.031.3:577.21

О.П. Гнатко, О.С. Кривопустов

ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОГЕСТЕРОНОВОЇ ТЕРАПІЇ У ЖІНОК ІЗ ЗАГРОЗЛИВИМ АБОРТМ ЗАЛЕЖНО ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ПРОГЕСТЕРОНУ

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

Резюме. Проведено аналіз ефективності прогестеронової терапії загрозового абортів у 67 жінок репродуктивного віку в термінах гестації 8-16 тижнів із урахуванням алейного поліморфізму гена рецептора прогестерону (SNP PGR) rs590688 та rs500760. З'ясовано, що на перебіг захворювання статистично значущий вплив має SNP PGR rs590688. Більш тяжкий клінічний перебіг та низька відповідь на лікування натуральним мікронізованим прогестероном статистично значуще

асоціювались з наявністю гомозиготи за диким алелем CC за SNP PGR rs590688. SNP PGR rs500760 не показав статистично значущого впливу на клінічний перебіг загрозового абортів і на ефективність лікування натуральним мікронізованим прогестероном.

Ключові слова: алейний поліморфізм, ген рецептора прогестерону, загрозовий аборт, клінічний перебіг, ефективність прогестеронової терапії.

Вступ. З огляду на співвідношення народжуваності та смертності в Україні, забезпечення сприятливих результатів кожної вагітності є надзвичайно важливим для нашої держави [1]. На сьогодні частота переривання вагітності сягає 15-25 % [2, 7]. Загрозовий аборт, який може завершитися викиднем, є частим ускладненням гестації і становить 16-25 % усіх вагітностей [6]. Серед основних причин виникнення загрозового абортів розглядають інфекційні, анатомічні, гормональні та генетичні чинники [2].

Протягом останніх десятиліть вітчизняні та зарубіжні дослідники проводять молекулярно-генетичні дослідження щодо визначення ролі поліморфізму генів, відповідальних за розвиток тромбофілічних ускладнень, порушень системи детоксикації, дефектів фолатного обміну, гормональної недостатності, імунологічної неспроможності як предикторів репродуктивних втрат [4]. Встановлені несприятливі комбінації поліморфних варіантів генів, що можуть розглядатись як провідні причини акушерської патології: невиношування вагітності, гестозу, плацентарної дисфункції, затримки розвитку плода [4]. Вивчення генного поліморфізму при загрозовому аборті є актуальним, оскільки внесок генетичних факторів у розвиток даного ускладнення вагітності залишається найменш вивченим [3, 4].

Відомо, що прогестерон відіграє важливу роль у забезпеченні репродуктивної функції жінки [3] і реалізує свою дію через прогестероновий рецептор, який є білком, що кодується геном рецептора прогестерону. Поліморфізм гена рецептора прогестерону визначає різну активність рецепторної функції. У свою чергу, різна активність рецептора сприяє зміні чутливості до ендогенного та екзогенного прогестерону [5].

При дослідженні поліморфізму (SNP) гена рецептора прогестерону (PGR) остаточно не з'ясована його роль у виникненні, клінічному перебігу та ефективності лікування загрозового абортів.

Мета дослідження. Визначити ефективність прогестеронової терапії загрозового абортів за-

лежно від алейного поліморфізму (SNP) гена рецептора прогестерону (PGR).

Матеріал і методи. У дослідження включено 67 жінок активного репродуктивного віку в терміні гестації 8-16 тижнів, яких госпіталізували до гінекологічного відділення Київського міського пологового будинку № 6 з клінічними ознаками загрозового абортів. Всім пацієнткам призначена прогестеронова терапія.

Діагноз загрозового абортів встановлювався відповідно до наказу МОЗ України № 624 03.11.2008 р. з урахуванням наявності болю внизу живота та/або кров'янистих виділень зі статевих шляхів при підтвердженні факту вагітності пацієнтки.

Критерії включення: репродуктивний вік; самостійна одноплідна вагітність; ознаки загрозового абортів; наявність інформованої письмової згоди. Критерії невключення: багатоплідна вагітність; аномалії розвитку статевих органів; екстрагенітальна патологія; ознаки гострої інфекції; наявність протипоказань до застосування препарату натурального мікронізованого прогестерону.

Пацієнтки з діагнозом загрозового абортів отримували стартову дозу натурального мікронізованого прогестерону 300 мг на добу перорально. Добова доза розподілена на три прийоми по 100 мг. Ефективністю лікування вважалося зникнення болю, відсутність кров'янистих виділень зі статевих шляхів та прогресування вагітності. При посиленні болю та/або збільшенні кількості кров'янистих виділень зі статевих шляхів або відсутності очікуваного ефекту від терапії проводилося посилення терапії шляхом збільшення дози натурального мікронізованого прогестерону: 200 мг 3 рази на добу перорально і подовження терапії протягом тижня.

Ефективність прогестеронової терапії оцінювалась швидкістю досягнення клінічного ефекту: припинення болю, зникнення кров'янистих виділень, відсутність посилення лікування.

Важкість клінічного перебігу загрозового абортів залежала від виразності кожної з ознак:

інтенсивності болю, наявності кров'янистих виділень та ретрохоріальної гематоми.

Дизайн дослідження представлено на рисунку.

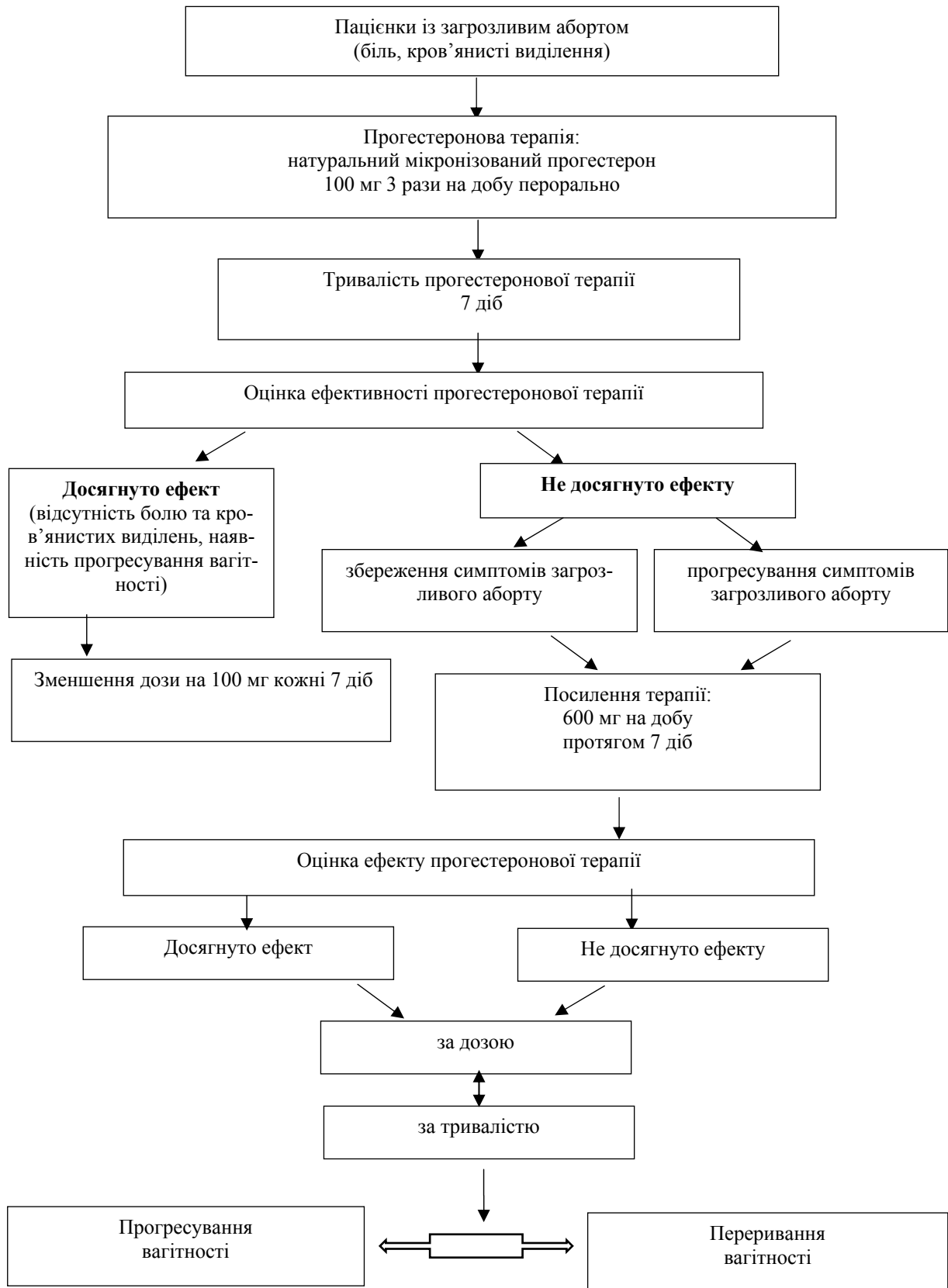


Рис. Дизайн дослідження

Всім пацієнткам, крім загальноклінічних методів обстеження (наказ МОЗ №620 від 20.12.2003 р.), проводили ультразвукове дослідження (УЗД) органів малого таза (підтвердження наявності маткової вагітності, визначення терміну вагітності, визначення наявності ретрохоріальної гематоми та ін.) на апараті Aloka SSD-1700 (Японія).

Оцінювалися рівні гормонів: естрадіолу, прогестерону, пролактину (ELISA, DRG Instruments GmbH, Німеччина).

Для оцінки вираженості болю проводилось анкетування за допомогою цифрової рейтингової шкали (ЦРШ), яка заснована на методиці вербальної описової шкали оцінки болю (Gaston-Johansson F. та співавт., 1990).

Для визначення поліморфізму гена рецептора прогестерону rs590688 (C/G) та rs500760 (A/G) використовувалися молекулярно-генетичні дослідження. Визначення SNPs 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 із будь-якого біологічного матеріалу 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 алелів.

Аналіз результатів проведено за допомогою статистичного пакета SPSS (версія 22) з використанням статистичного середовища R (версія 3.2), а саме, тест хі-квадрат, методи лінійної та логістичної регресії.

Результати дослідження та їх обговорення. Середній вік пацієнток складав (28,6±0,5) років. Середній вік настання менархе становив (13,0±0,5) років. Середня тривалість циклу складала (29,3±0,5) днів, середня тривалість мenses – (5,2±0,2) днів. Вік початку статевого життя становив (18,7±0,7) років. Переважна більшість пацієнток була у шлюбі – 62 (92,5 %). 60 (90 %) пацієнток характеризували стан здоров'я батька майбутньої дитини як «здоровий». Двадцять дві пацієнтки (32,8 %) мали в анамнезі одні пологи, дві жінки (3 %) двічі народжували, 43 жінки (64,2 %) не мали пологів в анамнезі, 13 пацієнток (19,4 %) мали викидень в анамнезі.

На момент госпіталізації біль внизу живота відзначали 65 (97 %) осіб, кров'яністі виділення – 40 (59,9 %). У всіх пацієнток при спеціальному гінекологічному дослідженні не виявлено струк-

турних змін шийки матки (закрите зовнішнє вічко).

За даними УЗД, у всіх пацієнток визначено наявність серцевих скорочень плода та відповідність розмірів ембріона терміну гестації. У 10 (14,9 %) вагітних діагностували ретрохоріальну гематому.

Отримані рівні естрадіолу, прогестерону та пролактину відповідали референтним значенням для відповідних термінів вагітності.

За результатами ЦРШ виразність болю на момент госпіталізації становила в середньому 4,2±0,23 бала.

Аналіз клінічного перебігу загрозливого аборту з урахуванням алельного поліморфізму гена рецептора прогестерону rs590688 та rs500760 проводився за допомогою оцінки вираженості болю, наявності кров'янистих виділень зі статевих шляхів, наявності ретрохоріальної гематоми.

При порівнянні середніх величин показників інтенсивності болю за допомогою методу дисперсійного аналізу в пацієнток з урахуванням обох генотипів виявлено, що найвищі величини показників були в комбінації rs590688 (CC) + rs500760 (AA) та rs590688 (CG) + rs500760 (AA), а найнижчі – у rs590688 (GG) + rs500760 (AA) та rs590688 (GG) + rs500760 (AG).

Проведений кореляційний аналіз між виразністю болю та кількістю мінорних алелів виявив наступні зв'язки: за rs590688: -0,4793899 (p = 4,054e-05) та за rs500760: -0,291787 (p = 0,01658), за обома поліморфізмами (сума мінорних алелів): -0,4744953 (p = 4,98e-05). Отже, чим більше мінорних алелів, тим меншої сили був біль у пацієнток.

Методом лінійної визначено, що саме SNP PGR rs590688 є фактором, котрий статистично значущо асоціюється з інтенсивністю болю (оцінка складала -1,3589; p=0,0003), а в пацієнток rs500760 має значно менший ефект на інтенсивність болю (оцінка складала -1,2505; p=0,0995). Важливо, що в гомозиготних носіїв домінантного дикого алеля rs590688 у 26 разів вище ризик виникнення болю, сильнішого за помірний (p=0,001).

Також були побудовані логістичні регресії для прогнозування кров'янистих виділень залежно від алельного поліморфізму гена рецептора прогестерону, що, у свою чергу, свідчить про тяжкість клінічного перебігу, адже чим більше кров'янистих виділень при загрозі аборту, тим тяжче клінічний перебіг зазначеної патології.

Моделі логістичної регресії, в якій предиктором виступає SNP PGR rs590688, як генотип CG, так і генотип GG, асоціюються з меншим ризиком появи кров'янистих виділень – в 11 разів (коефіцієнт регресії -2,440; p=0,026) та у 24 рази (коефіцієнт регресії -3,194; p=0,005) відповідно, порівняно з генотипом CC. Модель, що включає лише rs500760, виявляє протекторний вплив гетерозиготного генотипу, однак цей ефект втрачається при побудові моделі, що залучає обидва поліморфізми.

Методом логістичної регресії не виявлено статистично значущого зв'язку SNP PGR rs590688 та rs500760 з наявністю ретрохоріальної гематоми.

Проведено порівняння середньої тривалості лікування до досягнення клінічного ефекту в осіб із різним генотипом (rs590688 та rs500760). Виявлено, що статистично значущо гомозиготні носії мінорного алеля rs590688 (GG) та rs500760 (GG) потребували лікування меншої тривалості порівняно з носіями генотипів rs590688 (CC) або rs590688 (CG).

Для порівняння середніх використовувався рабастний тест Брауна-Форсайта з постеріорним тестом Джеймс-Хоула через те, що дані в групах були негомогенними за результатами тесту Левайна. Відмінності за цим параметром були статистично значущі за rs590688 та не були статистично значущими в пацієнтів із різними генотипами за rs500760.

Кореляційний аналіз між тривалістю перебування в стаціонарі та кількістю мінорних алелів виявив наступні зв'язки: за rs590688: $-0,3471105$ ($p=0,0040$), за rs500760: $-0,2513117$ ($p=0,0402$), за обома поліморфізмами (сума мінорних алелів): $-0,3652695$ ($p=0,0023$). Отже, чим більше мінорних алелів, тим менша тривалість лікування до досягнення клінічного ефекту. При цьому найбільша величина ефекту належить саме SNP PGR rs590688.

Методом лінійної регресії визначено, що тільки rs590688 як предиктор є статистично значущим (оцінка $-1,9267$; $p=0,004$), а подальше залучення rs500760 (оцінка $-1,3378$; $p=0,0023$) не покращує моделі. Отже, кожний додатковий мінорний (G) алель за rs590688 асоціюється з меншою тривалістю перебування у стаціонарі.

Аналізуючи в динаміці лікування 67 пацієнок, слід зазначити, що 38 (56,7 %) хворим було посилено прогестеронову терапію. У 17 (25,4 %) жінок посилення терапії з призначенням 600 мг натурального мікронізованого прогестерону на добу спричинено погіршенням перебігу захворювання, а саме, посиленням болю внизу живота та/або збільшенням кількості кров'янистих виділень зі статевих шляхів.

У 21 (31,3 %) жінки посилено терапію у зв'язку з відсутністю досягнення ефекту протягом семи днів лікування, на що вказувало збереження скарг на біль внизу живота та/або наявність кров'янистих виділень зі статевих шляхів. Серед пацієнок, яким проводилося посилення терапії, у 8 (11,9 %) загроза мимовільного абортів завершилася викиднем.

У 38 (56,7 %) пацієнок, яким клінічний перебіг захворювання змусив посилити прогестеронову терапію, спостерігався наступний розподіл генотипів за SNP PGR rs590688 (C/G): CC – 13, CG – 19, GG – 6; за SNP PGR rs500760 (A/G): AA – 24, AG – 13, GG – 1. У 29 (43,3 %) пацієнок, яким не проводилося підсилення терапії, спостерігався наступний розподіл генотипів за SNP PGR rs590688

(C/G): CC – 3, CG – 11, GG – 15; за SNP PGR rs500760 (A/G): AA – 12, AG – 14, GG – 3.

При порівнянні розподілу алельних варіантів SNP PGR rs590688 (C/G) у пацієнок, яким проводилося посилення терапії, з розподілом алельних варіантів у жінок, які залишилися на стартовій терапії, визначено відповідність розподілу генотипів до закону Харді-Вайнберга в обох групах. Використавши тест хі-квадрат із двома ступенями свободи, виявлено статистично значущі відмінності в розподілі генотипів між групою хворих, яким проводилося посилення терапії та групою хворих, які залишилися на стартовій терапії ($\chi^2=11,234$, $p<0,01$). Так, гомозигота за домінуючим алелем трапляється в 3,3 рази частіше в групі пацієнок із загрозованим абортів, яким було необхідно провести посилення терапії, порівняно з групою пацієнок, яким було достатньо стартової терапії натуральним мікронізованим прогестероном.

При порівнянні розподілу алельних варіантів SNP PGR rs500760 (A/G) у пацієнтів, яким проводилося посилення терапії, з розподілом алельних варіантів у пацієнтів, які залишилися на стартовій терапії, визначено відповідність розподілу генотипів до закону Харді-Вайнберга в обох групах. Використавши тест хі-квадрат із двома ступенями свободи, не виявлено статистично значущих відмінностей у розподілі генотипів у групі хворих, яким проводилося посилення терапії, та в групі хворих, які залишилися на стартовій терапії ($\chi^2=3,898$, $p>0,05$). Отже, відсутня статистично значуща різниця між пацієнками із загрозованим абортів, яким було необхідно провести посилення терапії, порівняно з групою пацієнок, яким було достатньо стартової терапії за SNP PGR rs500760 (A/G).

Висновки

1. Предиктором більш тяжкого клінічного перебігу загрозованих абортів та низької клінічної відповіді на лікування натуральним мікронізованим прогестероном статистично значущо є SNP PGR rs590688 за рахунок домінуючого алеля (C).
2. SNP PGR rs500760 (A/G) статистично значущо не показав зв'язку між тяжкістю клінічного перебігу та ефективністю лікування натуральним мікронізованим прогестероном.
3. Визначення алельного варіанта поліморфізму гена рецептора прогестерону доцільно використовувати для прогнозування клінічного перебігу та індивідуальної відповіді на застосування натурального мікронізованого прогестерону.

Література

1. Зоря О.П. Демографічний стан в Україні в умовах глибокої трансформаційної економічної кризи / О.П. Зоря // Грані. – 2015. – № 2 (118) – С. 89-92.
2. Лихачев В. Практичне акушерство з невідкладними станами / Лихачев В. – Полтава: Медичне інформаційне агентство, 2010. – 720 с.
3. Манухін І. Гінекологічна ендокринологія / І. Манухін. – М.: ГЕОТАР Медіа, 2013. – 272 с.
4. Manuck T. Predictors of response to 17-alpha hydroxyprogesterone caproate for prevention of recurrent

- spontaneous preterm birth / T. Manuck, M. Esplin, J. Biggio // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2016. – № 214. – С. 376.
5. Ozdemirci S. Influence of threatened miscarriage on pregnancy and early postpartum period: a case-control report / S. Ozdemirci, E. Karahanoglu // J. Matern Fetal Neonatal Med. – 2015. – № 28. – С. 1186-1189.
6. Practice Committee Opinion of the American Society of Reproductive Medicine. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion / Am. Society of Reproductive Medicine // Fertil Steril. – 2012. – № 98. – P. 1103-1111.
7. Boyle F. Supporting parents following pregnancy loss: a cross-sectional study of telephone peer supporters / F. Boyle, A. Mutch // BMC Pregnancy and Childbirth. – 2015. – № 15. – P. 291.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОГЕСТЕРОНОВОЙ ТЕРАПИИ У ЖЕНЩИН С УГРОЖАЮЩИМ АБОРТОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА РЕЦЕПТОРА ПРОГЕСТЕРОНА

Е.П. Гнатко, А.С. Кривоустов

Резюме. Проведен анализ эффективности прогестероновой терапии угрожающего аборта у 67 женщин репродуктивного возраста в сроке гестации 8-16 недель с учетом аллельного полиморфизма гена рецептора прогестерона (SNP PGR) rs590688 и rs500760. Доказано, что именно SNP PGR rs590688 имеет статистически значимое влияние на течение этого заболевания. Более тяжелое клиническое течение и низкий ответ на терапию пероральным натуральным микронизированным прогестероном статистически значимо ассоциировались с гомозиготой за диким аллелем CC за SNP PGR rs590688. SNP PGR rs500760 не показал статистически значимого влияния как на течение угрожающего аборта, так и на терапевтический ответ на лечение указанным препаратом прогестерона.

Ключевые слова: аллельный полиморфизм, ген рецептора прогестерона, угрожающий аборт, клиническое течение, эффективность прогестероновой терапии.

THREATENED ABORTION TREATMENT EFFICACY DEPENDING ON PROGESTERONE RECEPTOR GENE POLYMORPHISM

O.P. Gnatko, O.S. Kryvopustov

Abstract. Threatened abortion treatment efficacy analysis was performed in 67 fertility women in gestation age 8-16 weeks depending on progesterone receptor gene polymorphism (SNP PGR) rs590688 and rs500760. SNP PGR rs590688 has a statistically significant impact on the course of threatened abortion. Positive homozygotes CC SNP PGR rs590688 associate with severe clinical current and oral natural micronized progesterone therapy worst response. SNP PGR rs500760 showed no statistically significant effect neither on the therapeutic response to clinical current nor on progesterone treatment in patients with threatened abortion.

Key words: allelic polymorphism of progesterone receptor gene, threatened abortion, clinical course, treatment efficacy.

O.O. Bohomolets National Medical University (Kyiv)

Рецензент – проф. О.М. Юзько

Buk. Med. Herald. – 2017. – Vol. 21, № 1 (81). – P. 44-48

Надійшла до редакції 11.01.2017 року