

Скрипченко Н.Я., Воробьова І.І.,
Могілевська С.І.,
Живецька-Денисова А.А.,
Лівшиць Л.А., Гулковський Р.В.,
Кучеренко А.М.

ОСОБЛИВОСТІ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА β_2 -АДРЕНОРЕЦЕПТОРІВ У ЖІНОК З НЕВИНОШУВАННЯМ ВАГІТНОСТІ

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України»
ДУ «Інститут молекулярної біології і генетики НАН України»
Навчально-науковий центр «Інститут біології» КНУ імені Т. Шевченка

Резюме. Проведено дослідження поліморфізму гена β_2 -адренорецепторів в локусі (-79 C/G) у жінок з невиношуванням вагітності. Виконано молекулярно-генетичне дослідження методом ПЛР з виділенням ДНК з периферичної крові. Згідно результатів статистичного аналізу отриманих даних – шанс на розвиток ускладнень вагітності вище в 1,36 разів у носіїв алеля G в локусі (-79 C/G) гена β_2 -адренорецепторів. Генетичним маркером фізіологічного перебігу вагітності у жінок української популяції є наявність алелі C в локусі (-79C/G) гена β_2 -адренорецепторів. Виявлена асоціація поліморфізму гена β_2 -адренорецепторів з частістю рецидиву загрози переривання вагітності у конкретної хворої з урахуванням її генетичних особливостей дозволить проводити своєчасну, адекватну терапію цієї патології вагітності.

Ключові слова: невиношування вагітності, фізіологічна вагітність, гени, поліморфізм, β_2 -адренорецептори.

Вступ

Проблема зниження перинатальної захворюваності та смертності-основна медична проблема на сьогоднішній день у всіх країнах світу. За останні 20 років на Україні різко погіршилася демографічна ситуація, зберігаються високі показники перинатальних ускладнень. Передчасні пологи є найсерйознішою проблемою, визначаючи в значній мірі перинатальну захворюваність та смертність [1,2].

Діагностика передчасних пологів досить складна. Традиційно клінічними ознаками цього стану вважаються регулярні маткові скорочення, які супроводжуються вкороченням шийки матки і розкриттям цервікального каналу. Однак, ці критерії мають низьку специфічність [3].

Приблизно у 50% жінок, госпіталізованих з діагнозом передчасних пологів, вагітність пролонгували і вони народжували в строк [11]. Тому особливу важливість мають критерії віднесення жінок у групу високого ризику розвитку передчасних пологів.

Скорочувальна діяльність матки залежить від складного комплексу нейрогуморальних впливів і особливостей внутрішньоклітинних метаболічних процесів у міометрії, які визначають в цілому рівень поляризації м'язових волокон і відповідно зміну їх збудливості у відповідь на індуковане вивільнення нейромедіаторів в синаптичних структурах [4,5].

Встановлено залежність скорочувальної діяльності матки не тільки від інтенсивності вивільнен-

ня нейрогуморальних регуляторів у кровотік, але й від кількості рецепторів на цитоплазматичних мембранах міоцитів, специфічно взаємодіючих з гуморальними регуляторами [6,7,12].

Зупиняючись на особливостях адренергічних і норадренергічних впливів на постсинаптичні структури мембран міоцитів, слід зазначити неоднорідність їх ефекту, обумовлену наявністю α -і β -адренорецепторів у міометрії: α -рецептори переважно визначаються при естрогеновій насиченості ендометрію, а β -рецептори – при прогестеронової.

На даний час встановлено, що β -адренорецептори також гетерогенні за структурою, локалізацією та функціональною значущістю: β_1 -адренорецептори розташовуються на постсинаптичній мембрані і реагують в основному на норадреналін, що вивільняється з нервових закінчень, а β_2 -адренорецептори розташовані позасинаптично і реагують на катехоламіни циркуляторного русла [13]. Слід зазначити, що β -адренорецептори присутні не тільки на мембранах міоцитів, а також і на мембранах Т-хелперів та В-лімфоцитів, впливаючи, таким чином, і на імунну відповідь.

Активация β_2 -адренорецепторів призводить до розслаблення гладких м'язів судин, бронхів і матки на тлі гіперполяризації мембран міоцитів [8,5,14]. Зміна характеру адренергічних нервових впливів на скоротливу діяльність матки при нормальному перебігу вагітності в значній мірі визначається не тільки активністю вищих вегетативних центрів симпатико-адреналової системи

та інтенсивністю вивільнення катехоламінів в синаптичних структурах, але і станом адренорецепції на міометрії. У гладких м'язах матки в різні терміни вагітності вміст α -і β -адренорецепторів різний. З початком вагітності і в процесі її прогресування кількість β -адренорецепторів зростає, а до завершення гестаційного періоду, початку пологів знижується та збільшується кількість α -адренорецепторів [9]. Цей факт, мабуть, має важливе фізіологічне значення для нормального перебігу вагітності та своєчасного настання пологів. У модуляції синтезу адренорецепторів приймає участь велика кількість біологічно активних речовин і гормонів, у тому числі простагландини F і E, які знижують концентрацію α -рецепторів [9], естрогени, які стимулюють синтез β -адренорецепторів, а також прогестерон, андрогени і глюкокортикоїди, що підсилюють утворення β -адренорецепторів в міометрії, а також інших тканинах матері та плода [11,15].

Для своєчасного проведення адекватної терапії дуже важливо прогнозувати перебіг вагітності у кожної конкретної хворої, у зв'язку з чим важливе значення має визначення генетичних предикторів розвитку невиношування. З нашої точки зору в цьому плані важливо дослідження поліморфізму гена β_2 -адренорецепторів та його впливу на перебіг вагітності, тому що багато впливів симпатичної нервової системи на матку реалізуються саме через дані рецептори.

Мета даної роботи – виявлення асоціації поліморфізму гена β_2 -адренорецепторів з частістю рецидиву загрози переривання вагітності у конкретних вагітних з урахуванням їх генетичних особливостей і проведенням своєчасної, адекватної терапії.

Матеріали і методи дослідження

У ході спостережень за перебігом вагітності пацієнткам проводили повний спектр клініко-лабораторних та інструментальних обстежень. Гени – кандидати для аналізу відбиралися на основі їх вкладу в формування фето-материнського комплексу. До них відносяться гени, що контролюють реакцію відповіді імунної системи в процесах регуляції скоротливої функції міометрію.

Дослідження генного поліморфізму проводили з використанням методу алель-специфічної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з наступним гідролізом ампліконів відповідною реструктуруючою ендонуклеазою. Для поліморфізму гена β_2 -адренорецептора (ADRB2)-79C/G гомозигота за домінантним типом була означена, як CC, гетерозигота – CG, гомозигота за рецесивним типом – GG.

Ідентифікацію алельних варіантів проводили за наявності сайту розпізнавання для відповідної реструктуруючої ендонуклеази за допомогою електрофорезу в агарозному гелі.

Статистичний аналіз проводили за допомогою пакету програм «Genepop і Open Epi». Розподіл генотипів за досліджуваними поліморфними локусами перевіряли на відповідність рівноваги Харді–Вайнберга. Для порівняння частот алелей між різними групами використовували критерій χ^2 . Відмінності вважали статистично значимими при $p < 0,05$. Для аналізу асоціації алелей і генотипів генів, які вивчалися, з ризиком розвитку акушерських ускладнень, розраховували відношення шансів (ВШ) з 95% довірчими інтервалами (ДІ) – показник вважали статистично значимим при результаті ≥ 1 .

Результати досліджень та їх обговорення

Під спостереженням знаходилися 72 вагітні з невиношуванням вагітності та 86 здорових жінок контрольної групи. У обстежених жінок вивчалися особливості поліморфізму гена β_2 – адренорецепторів, в локусі – 79 C/G для визначення зв'язку між цими послідовностями та ризиком невиношування вагітності. Середній вік досліджуваних вагітних складав 27 р. Середня кількість втрат вагітностей в дослідній групі склала 2,3.

При проведенні дослідження розподілу поліморфізму гена β_2 -адренорецепторів в локусі – 79 C/G у жінок з невиношуванням вагітності були отримані такі результати: CC – 28 випадків (38,9%), CG – 31 випадок (43,05%) GG – 13 випадків (18,05%). В контрольній групі відповідні показники склали: 38 (44,2%), 36 (41,9%) та 12 (13,9%).

Оскільки для оцінки показників генетичних досліджень, враховуючи їх етнічні та інші особливості використовують методи статистичних моделей, ми провели відповідний статистичний аналіз з визначенням відносних ризиків розвитку патологій залежно від алельного складу досліджуваних генів.

У зв'язку з тим, що досліджуваний розподіл показників у вибірці генетичних досліджень у жінок основної та контрольних груп відповідає закону Харді–Вайнберга, можливо застосовувати різні моделі розрахунків наслідування для визначення ролі алельного складу гена в формуванні успішного перебігу вагітності у жінок української популяції.

За даними таблиці 1 отримано відношення шансів для алелі G більше одиниці, порівняно зі значенням цього показника для алелі C, що є значимим для перебігу вагітності, таким чином шанс

Таблиця 1. Мультипликативна модель наслідування (тест хі-квадрат, df = 1)

Алелі	Основна група	Контрольна група	χ ²	P	OR	
	n = 72	n = 86			Значення	95% CL
Алель С	0,604	0,651	0,74	0,39	0,82	0,52-1,29
Алель G	0,396	0,349			1,22	0,77-1,93

Таблиця 2. Загальна модель наслідування (тест хі-квадрат, df = 2)

Генотипи	Основна група	Контрольна група	χ ²	P	OR	
	n = 72	n = 86			Значення	95% CL
C/C	0,389	0,442	0,69	0,71	0,80	0,43-1,52
C/G	0,431	0,419			1,05	0,56-1,98
G/G	0,181	0,140			1,36	0,58-3,20

Таблиця 3. Домінантна модель наслідування (тест хі-квадрат, df = 1)

Генотипи	Основна група	Контрольна група	χ ²	P	OR	
	n = 72	n = 86			Значення	95% CL
C/C+C/G	0,389	0,442	0,45	0,5	0,80	0,43-1,52
G/G	0,611	0,558			1,24	0,66-2,35

Таблиця 4. Рецесивна модель наслідування (тест хі-квадрат, df = 1)

Генотипи	Основна група	Контрольна група	χ ²	P	OR	
	n = 72	n = 86			Значення	95% CL
C/C	0,819	0,860	0,50	0,48	0,74	0,31-1,73
C/G+G/G	0,181	0,140			1,36	0,58-3,20

на розвиток ускладнень вагітності у вигляді невиношування в 1,22 рази більший у носіїв алелі G.

Згідно даних таблиці 2 розраховано статистичні показники для загальної моделі наслідування, з яких видно, що генотипи C/G та G/G мають відношення шансів щодо вірогідності розвитку невиношування вагітності: 1,05 та 1,36 відповідно, що свідчить про більшу можливість розвитку порушень вагітності при наявності в генотипі рецесивної алелі G.

Розглядаючи домінуючу модель наслідування, подану у таблиці 3, можна відмітити, що наявність у генотипі гомозиготної за рецесивним типом алелі G з більшою вірогідністю матиме ризик розвитку невиношування вагітності, ніж у гомозиготної, домінуючої алелі C/C та гетерозиготної алелі C/G.

Розрахунки ризику невиношування у вигляді рецесивної моделі наслідування, згідно даних таблиці 4, вказують на те, що підвищений ризик цієї патології вагітності мають особи з гомозиготним за рецесивною алеллю складом поліморфного гена. Навіть сумарно з гетерозиготною алеллю C/G показник відношення шансів складає 1,36, тобто носіїв рецесивного алельного варіанту генів в 1,36 разів вищий, ніж такий для осіб, що мають в складі поліморфного гена домінуючу алель.

Отримані результати свідчать, що частота алелі C високої експресії гена β₂-адренорецепторів зустрічається переважно при фізіологічному перебігу вагітності, в порівнянні з таким у жінок з невиношуванням. Разом з тим, алель G зазначеного поліморфізму – 79 C/G гена β₂-адренорецепто-

рів виявляється переважно у жінок з наявними гестаційними ускладненнями. За результатами підрахунків, при наявності алелі G гена β_2 -адренорецепторів (-79 C/G) відношення шансів для патологічного перебігу вагітності складає 1,36, а при наявності алелі C – 0,74. Тобто шанс на ускладнений перебіг вагітності у носіїв алелі G. Таким чином саме алель C в гомозиготному стані (C/C) може вважатися генетичним маркером фізіологічного перебігу вагітності.

Висновки

1. У вагітних жінок української популяції генетичним маркером фізіологічного перебігу вагітності є наявність алелі C в локусі – 79 C/G гену, що кодує β_2 -адренорецептори. Носії алелі G мають в 1,36 раз вищий ризик розвитку невиношування вагітності.
2. Всі носії рецесивного алельного гена (сумарно гомозиготи за рецесивним типом та гетерозиготи) мають вірогідно вищий ризик розвитку невиношування, порівня-

- но з гомозиготною за домінантною алеллю.
3. Виявлено статистично достовірну відмінність варіантів генотипів GG та CG β_2 -адренорецепторів вагітних з невиношуванням від таких у здорових жінок. Відомо, що β_2 -адренорецептори визначаються при достатній прогестероновій насиченості ендометрію і активація їх призводить до пригнічення скоротливої активності міометрію. Тому, на основі виявленого поліморфізму гена β_2 -адренорецепторів у жінок з невиношуванням, можна зробити припущення щодо генетично детермінованої схильності вагітних з невиношуванням до порушень скоротливої діяльності матки на нейрогуморальному рівні. Виявлена залежність асоціації GG-генотипу гена β_2 -адренорецепторів з частістю невиношування вагітності дозволить прогнозувати перебіг вагітності в кожній конкретній пацієнтки та проводити своєчасну, адекватну терапію загрози переривання вагітності.

ОСОБЕННОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА β_2 -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ У ЖЕНЩИН С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

Скрипченко Н.Я., Воробьева И.И., Могилевская С.И., Живецка-Денисова А.А., Лившиц Л.А., Гулковский Р.В., Кучеренко А.М.

Резюме. Проведено дослідження поліморфізму гена 2-адренорецепторів в локусі (-79 C / G) у жінок з невынашиванием беременности. Выполнено молекулярно-генетическое исследование методом ПЦР с выделением ДНК из периферической крови. Согласно результатам статистического анализа полученных данных - шанс на развитие осложненной беременности выше в 1,36 раз у носителей аллеля G в локусе (-79 C / G) гена β_2 -адренорецепторів. Генетическим маркером физиологического течения беременности у женщин украинской популяции является наличие аллеля C в локусе (-79 C / G) гена β_2 -адренорецепторів. Выявленная ассоциация полиморфизма гена β_2 -адренорецепторів с частотой рецидива угрозы прерывания беременности у конкретной больной с учетом ее генетических особенностей позволит проводить своевременную, адекватную терапию этой патологии беременности.

Ключевые слова: невынашивание беременности, физиологическая беременность, гены, полиморфизм, β_2 -адренорецепторы.

THE PECULIARITIES OF β_2 -ADRENERGIC RECEPTORS GENE POLYMORPHISMS IN WOMEN WITH MISCARRIAGE

Skripchenko N. Ya., Vorobyova I. I., Mogilevskaya S. I., Zhivetskaya-Denisova A. A., Livshits L. A., Gulkovsky R. V., Kucherenko A. M.

Abstract. A study of 2-adrenergic receptors gene polymorphisms in the locus (-79 C/G) in women with miscarriage was conducted. Molecular genetic study using PCR method with separation of DNA from peripheral blood was performed. According to the data statistical analysis results, the chance of complications during pregnancy is 1.36 times higher in G allele carriers in the locus (-79 C/G) of 2-adrenergic receptor gene. Genetic markers of physiological pregnancy in women of Ukrainian population is the presence of allele C in the locus (-79 C/G) of β_2 -adrenergic receptors gene. Revealed association of β_2 -adrenergic receptors gene polymorphism and frequency of abortion threat recurrence in a particular patient taking into account of her genetic characteristics will allow to administer timely and adequate treatment of this pathology of pregnancy.

Keywords: miscarriage; physiological pregnancy, genes, polymorphism, β_2 -adrenoreceptors.

Список літератури в редакції