

Медицина

УДК 618.39

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 IN 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, однонуклеотидный 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 НБ 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 ассоциированными с привычным невынашиванием беременности (от трех и более потерь) оказались рискованные аллели rs1052133-G гена *OGGI* (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 *OGGI* 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 *OGGI* и rs4462560 гена *NEIL1*, соответственно; 4 – сочетание всех выше перечисленных факторов. Результаты ROC-анализа представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

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>OGGI</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>OGGI</i>), rs4462560 (<i>NEIL1</i>)	0,75 (0,64; 0,85)	0,055	0,00001

([1, с. 4], разработка автора)

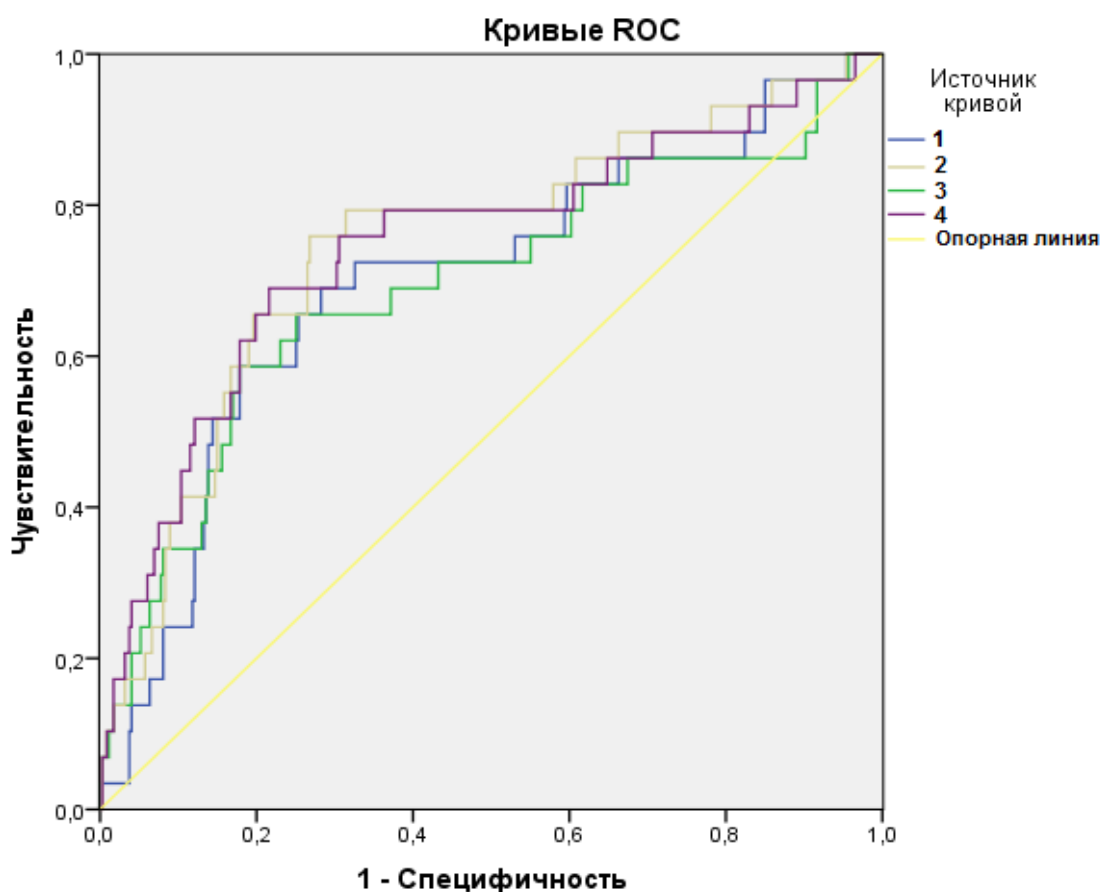


Рис. 1. ROC-кривые для сайтов rs1052133-G и rs4462560-G при привычном невынашивании беременности. №№1,2,3,4 – прогностические модели, представленные в таблице 1

([1, с. 4], разработка автора)

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 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., Шкурат Т.П. Экспрессия генов системы репарации (*APEX1*, *XPB*) и контроля клеточного цикла (*CHK2*, *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.