

УДК 618.2-056.52:612.621.31

О. М. Юзько
Т. С. Булик

Буковинський державний медичний
університет, м. Чернівці

ВИВЧЕННЯ ГОРМОНАЛЬНОГО ПРОФІЛЮ У ВАГІТНИХ ІЗ ЗАГРОЗОЮ ПЕРЕРИВАННЯ ВАГІТНОСТІ ТА ОЖИРІННЯМ ІЗ УРАХУВАННЯМ АЛЕЛЬНОГО СТАНУ ГЕНІВ ACE ТА PAI-1

Ключові слова: невиношування, ожиріння, ген ACE, гена PAI-1, прогестерон, естрадіол, плацентарний лактоген.

Резюме. Визначено алельну приналежність за генами ангіотензин-перетворюючого ферменту (ACE) та інгібітора активатора плазміногену 1 типу (PAI-1) за допомогою ПЛР, вивчено рівні прогестерону, естрадіолу та плацентарного лактогену шляхом ІФА у вагітних із загрозою переривання в ембріональному періоді гестації на тлі ожиріння. Проведено аналіз показників гормонального статусу в залежності від генотипів обстежених жінок. DD-генотип асоціюється з низьким рівнем естрадіолу, що є додатковим чинником ризику порушення матково-плацентарного кровообігу. 4G-алель гена PAI-1 є чинником ризику гормонально-плацентарного дисбалансу в I триместрі у вагітних за зниженим рівнем прогестерону та естрадіолу.

Вступ

Поліетиологічний симптомокомплекс загрожуючого викидня можна розцінювати як прояв дисбалансу в співфункціонуванні репродуктивної системи та інших систем організму [1]. Висока частота загрози викидня в ранні терміни вагітності в жінок з ожирінням формує стан хронологічної коморбідності, в умовах якої відбувається становлення плаценти [2]. На сучасному етапі не викликає сумніву той факт, що в розвитку плода головна роль належить функції фетоплацентарного комплексу, основним морфологічним субстратом якого є плацента. Продукція раною плацентою великої кількості біологічно активних речовин білкової та стероїдної структури сприяє «виживанню» чужерідного плода в організмі матері [2,6]. Синтезовані раною плацентою білки та гормони перепрограмувають фізіологію майбутньої матері для задоволення потреб плода, однак молекулярно-генетичні закономірності цього складного переходу залишаються мало дослідженими [7].

Потребує особливої уваги формування груп високого ризику гормональних порушень у вагітних на тлі ожиріння [3] у зв'язку з функціональною активністю фетоплацентарного комплексу залежно від алельного стану генів ангіотензин-перетворюючого ферменту ACE (I/D) [4,5] та інгібітора активатора плазміногену 1 типу PAI-1 (4G5G) [5], експресія яких приймає в цьому процесі пряму та опосередковану участь.

Мета дослідження

З'ясувати алельну приналежність за генами ACE та PAI-1, вивчити рівні прогестерону, естрадіолу та

© О. М. Юзько, Т. С. Булик, 2013

плацентарного лактогену у вагітних із загрозою невиношування в ембріональному періоді гестації на тлі ожиріння та провести аналіз показників гормонального статусу в залежності від генотипів обстежених жінок.

Матеріал і методи

У проспективному дослідженні взяло участь 72 вагітні із ожирінням (дослідна група) та 21 практично здорова вагітна жінка без надмірної маси тіла (контрольна група), котрі підписали інформовану згоду на участь у дослідженні. За віком обстежених та паритетом пологів групи вірогідно не відрізнялися: середній вік склав 24,89±5,31 року.

Забір венозної крові для проведення лабораторно-генетичних досліджень проводили на 6-10-му тижні вагітності (ембріональний період гестації). Алелі поліморфних ділянок вивчали шляхом виділення геномної ДНК із лейкоцитів периферійної крові, за допомогою тест-системи «ДНК-сорб-В» (Росія), із використанням олігонуклеотидних праймерів, специфічних до алелей гена ACE та PAI-1. Ампліфікували поліморфну ділянку за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на ампліфікаторі «Amplify-4L» (Росія). Фрагменти ампліфікованої ДНК розділяли методом гель-електрофорезу, забарвлювали етидієм броміду, візуалізували за допомогою транслюмінатора в присутності маркера молекулярних мас (100–1000 бп). Гормональні дослідження виконані імуоферментним методом з використанням наборів реактивів «Вектор – бест» (Росія) та «DRG» (Німеччина).

Також усі вагітні проходили комплекс обов'язкових акушерських обстежень, консультації вузь-

ких спеціалістів (ендокринолога, кардіолога), загально-клінічні та біохімічні дослідження, на TORCH-інфекцію, відповідно до Наказу Міністерства охорони здоров'я України 15.07.2011, № 417 «Про організацію амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні».

Статистичну обробку проводили за допомогою прикладних програм MS® Excel® 2003™, Primer of Biostatistics® 6.05 та Statistica® 7.0 (StatSoft Inc., США). Достовірність отриманих даних вираховували методом парного тесту із застосуванням t-критерію Стьюдента (розподіл за тестом Колмогорова-Смирнова був близьким до нормального); кореляційні зв'язки – за коефіцієнтами Pearson та рангової кореляції Spearman; аналіз якісних ознак – за критерієм χ^2 (за частоти менше 5 – точний тест Фішера). Різницю вважали вірогідною при $p < 0,05$.

Обговорення результатів дослідження

Гормональний профіль вагітних із загрозою переривання вагітності в ранні терміни залежно від ступенів ожиріння наведено в таблиці. Встановили зменшення сироваткового прогестерону та плацентарного лактогену у вагітних основної групи у 2,1-2,6 рази та 3,8-6,9 рази, відповідно, ніж у групі контролю ($p < 0,001$). При цьому, дані показники в осіб із ожирінням III ст. вірогідно менші за такі в жінок із ожирінням I ст. на 18,9% ($p < 0,05$) для прогестерону та на 45,5% ($p = 0,004$) для плацентарного лактогену.

Важливим є те, що рівень естрадіолу у вагітних основної групи за наявності ожиріння II і III ст. загалом був нижчим за референтні значення для даного періоду, що засвідчує гормональний та білковий дисбаланс та потенційну небезпеку фетоплацентарної дисфункції та раннього переривання вагітності.

Аналіз гормонального статусу в представниць різних генотипів за геном ACE виявив, що в осіб контрольної групи носіїв D-алеля вміст естрадіо-

лу перевищував такий у вагітних із II-генотипом в 1,8 ($p < 0,01$) і 2,0 ($p < 0,001$) рази, відповідно. За рештою показників односпрямованих вірогідних змін не спостерігали. Отриманий результат опосередковано свідчить, що DD-генотип є протективним у здорових вагітних щодо формування гормонального підґрунтя плацентарної дисфункції. У дослідній групі концентрація прогестерону, естрадіолу та плацентарного лактогену були вірогідно нижчими, ніж в осіб контрольної групи ($p < 0,001$), що чітко демонструє вплив порушеного жирового обміну на зниження потенційної здатності ранньої плаценти синтезувати гормони та підтримувати належний гормональний фон. При цьому генетичну залежність виявили за меншим рівнем естрадіолу в носіїв DD-генотипу, ніж у гомозиготних вагітних із I-алелем на 36,9% ($p = 0,028$).

Вивчення показників гормонального фону залежно від 4G/5G поліморфізму гена PAI-1 показав, що сироваткові рівні прогестерону та плацентарного лактогену в контрольній групі були достовірно меншими в гетерозиготних носіїв мутантної 4G-алелі на 8,8% і 11,0% відповідно, ($p < 0,05$). Синергічні зміни спостерігали у групі вагітних із ожирінням, де власниці 4G-алеля мали вірогідно нижчі концентрації окремих гормонів, ніж жінки із “диким” 5G5G-генотипом: прогестерону – на 32,4% і 19,2% ($p < 0,05$), естрадіолу – на 43,4% ($p < 0,01$) і 26,9% ($p = 0,025$) відповідно.

Висновки

1. Наявність ожиріння у вагітних супроводжується плацентарно-гормональним дисбалансом у першому триместрі (особливо за вмістом естрадіолу), що опосередковано засвідчує поєднання трофобластичну інвазію, незрілий матково-плацентарний кровообіг та потенційну гемохоріальну дисфункцію. DD - генотип є протективним у здорових вагітних (за рівнем естрадіолу) щодо формування гормонального підґрунтя плацентарної недостатності. 2. У вагітних із ожирінням DD-генотипом навпаки асоціює з нижчим рівнем ест-

Таблиця

Гормональний профіль вагітних із загрозою переривання вагітності в ранні терміни залежно від ступенів ожиріння

Гормональний профіль	Група контролю, n=21 (вагітні без ожиріння)	Ступені ожиріння вагітних, n=72		
		I ст., n=54	II ст., n=14	III ст., n=4
Прогестерон, нмоль/л	112,1±0,12	52,4±2,48 $p < 0,001$	43,6±6,10 $p < 0,001$	42,5±3,40 $p < 0,001$, $p_1 < 0,05$
Естрадіол, пг/мл	205,3±8,15	49,7±3,89 $p < 0,001$	37,3±4,57 $p < 0,001$ $p_1 < 0,05$	26,1±6,53 $p < 0,001$ $p_1 = 0,009$
Плацентарний лактоген, мг/л	0,83±0,07	0,22±0,01 $p < 0,001$	0,19±0,03 $p < 0,001$	0,12±0,06 $p < 0,001$, $p_1 = 0,004$

Примітка. p – вірогідність різниць показників відносно контролю; p_1 – вірогідність різниць показників відносно таких у вагітних з ожирінням I ступеня; p_2 – вірогідність різниць показників відносно таких у вагітних з ожирінням II ступеня

радіолу на 21,1% ($p < 0,05$), що є додатковим чинником ризику порушення матково-плацентарного кровообігу. 3. 4G-алель гена PAI-1 є чинником ризику гормонально-плацентарного дисбалансу в першому триместрі у вагітних з ожирінням за зниженням рівнів прогестерону та естрадіолу на 17,1-43,4% ($p < 0,05$) та в жінок без ожиріння – за нижчим вмістом прогестерону та плацентарного лактогену ($p < 0,05$).

Перспективи подальших досліджень

У подальшому планується вивчити асоціативні зв'язки генетичних детермінант із показниками ліпідного обміну у вагітних з ожирінням.

Література 1. Апресян В.В. Генетические аспекты репродуктивного здоровья женщин с алиментарно-конституциональным ожирением: дис... на соискание уч. степени канд. мед. наук / В.В. Априсян. – М., 2004. – 157 с. 2. Возможность прогноза фетоплацентарной недостаточности в ранние сроки беременности / Л.Д. Белоцерковцева, А.Э. Каспарова, Л.В. Коваленко [и др.] / IV регион. науч. форум «Мать и дитя». – С.36–37. 3. Стефанко С.Л. Перебіг вагітності та пологів у вагітних жінок із аліментарно – конституційним ожирінням / С.Л. Стефанко // Галицький лікарський вісник. – 2006. – №1. – С. 86–88. 4. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-I converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels / B. Rigat, C. Hubert, F. Alhenc-Gelas [et al.] // J. Clin. Invest. – 1990. – Vol.86. – P.1343–1346. 5. Angiotensin-converting enzyme D/I and plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G gene polymorphisms are associated with increased risk of spontaneous abortions in polycystic ovarian syndrome / L. Sun, H. Lv, W. Wei [et al.] // J. Endocrinol. Invest. – 2010. – Vol.33, N2. – P.77–82. 6. Fetoplacental vascular endothelial dysfunction as an early phenomenon in the programming of human adult diseases in subjects born from gestational diabetes mellitus or obesity in pregnancy / A. Leiva, F. Pardo, M.A. Ramirez [et al.] // Exp. Diabetes Res. – 2011. – Vol.20. – P.349286. 7. GOPEC Consortium. Disentangling fetal and maternal susceptibility for pre-eclampsia: a British multicenter candidate-gene study // Am. J. Hum. Genet. – 2005. – Vol.77. – P.127–131.

ИЗУЧЕНИЕ ГОРМОНАЛЬНОГО ПРОФИЛЯ У БЕРЕМЕННЫХ С УГРОЗОЙ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ И ОЖИРЕНИЕМ С УЧЕТОМ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕНОВ ACE И PAI-1

О. М. Юзько, Т. С. Булык

Резюме. Определено алельную принадлежность по генам ангиотензин-превращающего фермента (ACE) и ингибитора активатора плазминогена I типа (PAI-1) при помощи ПЦР, изучено уровни прогестерона, эстрадиола и плацентарного лактогена путем ИФА у беременных с угрозой прерывания в эмбриональном периоде гестации на фоне ожирения. Проведен анализ показателей гормонального статуса в зависимости от генотипов обследованных женщин. DD-генотип ассоциируется с низким уровнем эстрадиола, что является дополнительным фактором риска нарушения маточно-плацентарного кровообращения. 4G-аллель гена PAI-1 является фактором риска гормонально-плацентарного дисбаланса в первом триместре у беременных с ожирением по снижению уровню прогестерона и эстрадиола.

Ключевые слова: невынашивание беременности, ожирение, ген ACE, ген PAI-1, прогестерон, эстрадиол, плацентарный лактоген

STUDY OF THE HORMONAL PROFILE IN GRAVIDAS WITH A THREAT OF ABORTION AND OBESITY REGARDING THE ALLELE STATE OF GENES ACE AND PAI-1

O.M. Yuzko, T.S. Bulyk

Background. A high rate of miscarriage threat during the early terms of pregnancy in women with obesity forms the state of chronological comorbidity, the placental organization occurring under its conditions. The formation of group of high risk of hormonal disturbances is topical in gravidas against a background of obesity in connection with the functional activity of the fetoplacental complex, depending on the allele condition of genes ACE (I/D) and PAI-1 (4G/5G) whose expression takes a direct and mediated part in this process.

Material and methods. 72 gravidas with obesity (the experimental group) and 21 apparently healthy pregnant women (the control group) participated in a prospective study. Venous blood sampling for the purpose of carrying out laboratory-genetic studies was implemented in the 6th – 10th week of pregnancy (embrional period of gestation). The alleles of the polymorphous areas were studied via isolating genomic DNA from the leukocytes of the peripheral blood by means of the test system “DNA –sorb –B” (Russia) with the use of oligonucleotide primers specific to the alleles of gene ACE and PAI-1. The polymorphous area was amplified by means of the polymerase chain reaction (PCR). The hormonal studies were performed using the immune enzyme method.

Results. A decrease of the serum progesterone and placental lactogen was established in the gravidas of the basic group 2.1 – 2.6 times and 3.8 – 6.9 times respectively than in the control group ($p < 0.001$), the latter clearly demonstrating the effect of a deranged lipid exchange on a diminished potential capacity of early placental to synthesize hormones and maintain an adequate hormonal background. Hereat, these indices in persons with obesity of the III^d degree are significantly lower than those in women with obesity of the Ist degree by 18.9% ($p < 0.05$) for progesterone and by 45.5% ($p = 0.004$) for placental lactogen. An analysis of the hormonal status in representatives of different genotypes according to gene ACE revealed that in persons of the control group, carriers of D-allele, the content of estradiol exceeded than in gravidas with II-genotype 1.8 ($p < 0.01$) and 2.0 ($p < 0.01$) times, respectively. Hereat, the genetic dependence was detected by the lower level of estradiol in the carrier of the DD-genotype than in homozygous gravidas with the I –allele by 36.9% ($p = 0.028$). The serum levels of progesterone and placental lactogen, both in the control group and the experimental group, were significantly lower in heterozygous carriers of the mutant 4G-allele in comparison with the carriers of the 5G-allele of gene PAI-1.

Conclusions. 1. The DD-genotype is protective in healthy gravidas (according to the level of estradiol) as to formation of the hormonal basis of placental insufficiency. 2. The DD-genotype in gravidas with obesity, on the contrary, is associated with a lower level of estradiol by 21.1% ($p < 0.05$), that is an additional risk factor of a disturbance of the uteroplacental circulation. 3. The 4G allele of gene PAI-1 is a risk factor of the hormonal-placental imbalance in the first trimester in gravidas with obesity and a decrease of the levels of progesterone and estradiol.

Key words: abortion, obesity, gene ACE, gene PAI-1, progesterone, estradiol, placental lactogen.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2013. - Vol.12, №1 (43). - P.180-182.

Надійшла до редакції 07.02.2013

Рецензент – проф. О.А.Андрісць

© О. М. Юзько, Т. С. Булык, 2013