https://doi.org/10.23946/2500-0764-2019-4-4-47-57

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *CYP1A1, CYP1A2, CYP19* и *SULT1A1* У ЖЕНЩИН С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ В РАННИЕ СРОКИ

НОСКОВА И.Н.*[1], АРТЫМУК Н.В.[2], ГУЛЯЕВА Л.Ф.[3]

[1]*ГАУЗ КО «Кемеровская областная клиническая больница им. С. В. Беляева», Кемерово, Россия*
[2]*ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Кемерово, Россия*
[3]*НИИ Молекулярной биологии и биофизики, ФИЦ «Фундаментальная и трансляционная медицина», Новосибирск, Россия.*

Резюме

Цель. Определить частоту встречаемости аллельных вариантов генов, кодирующих ферменты метаболизма эстрогенов: *CYP1A1* (rs4646903), *CYP1A2* (rs762551), *CYP19* (rs700519) и *SULT1A1* (rs9282861) у женщин со спорадической потерей беременности в ранние сроки.

Материалы и методы. В исследование включено 360 пациенток. I группу составили 103 женщины со спорадической потерей беременности в сроке до 12 недель беременности, II группу – 257 женщин, не имевших неблагоприятных исходов беременности в анамнезе. Всем пациенткам произведено генотипирование ДНК из буккального эпителия методом ПДРФ-анализа (полиморфизм длины рестрикционных фрагментов). Определялись следующие однонуклеотидные замены: в гене *CYP1A1* трансзиция T264 → C (rs4646903 полиморфизм); в гене *CYP1A2* трансверсия C734 → A (rs762551 полиморфизм); в гене *CYP19* трансзиция C → T (rs700519 полиморфизм); в гене *SULT1A1* трансзиция G638 → A (rs9282861 полиморфизм).

Результаты. У пациенток с выкидышем в анамнезе наблюдалось статистически значимое увеличение частоты мутантного аллеля C, гетерозиготного генотипа T/C и гомозиготного генотипа C/C гена *CYP1A1*, снижение частоты гетерозиготного генотипа C/A гена *CYP1A2*, статистически значимые различия в частоте встречаемости мутантного аллеля T и генотипа T/C гена *CYP19* по сравнению с контролем. При исследовании частот встречаемости мутантного аллеля и генотипов гена *SULT1A1*, отмечено недостоверное уменьшение частоты встречаемости данных аллелей и генотипов. Риск развития выкидыша максимально увеличивается при сочетании генотипов *CYP1A2 (C/C) + CYP1A1 (T/C+C/C) + CYP19 (C/T)* и *CYP1A2 (C/C) + CYP1A1 (T/C+C/C) + SULT (G/G) + CYP19 (C/T), CYP19 (C/T) + SULT (G/G)* (P=0,0251), также достоверно повышается риск при сочетании генотипов (*CYP1A2 (C/C) + CYP1A1 (T/C+C/C); CYP1A2 (C/C) + CYP19 (C/T); CYP19 (C/T) + CYP1A1 (T/C+C/C); SULT (G/G) + CYP1A1 (T/C+C/C).* При сочетании генотипов, которые указывают на влияние экзогенных факторов, было выявлено как достоверное увеличение *CYP1A1 (T/C) + CYP1A2 (A/A) CYP1A1 (T/C) + SULT1A1 (A/A);* так и снижение *CYP1A2 (A/A) + SULT1A1 (G/A).*

Заключение. Показано, что пациентки с репродуктивными потерями в I триместре беременности значимо чаще имеют мутантный аллель *C* и генотип *C/T, C/C* гена *CYP1A1*, мутантный аллель *T* и генотип *C/T* гена *CYP19*. Для пациенток, не имевших неблагоприятных исходов беременности в анамнезе, характерен гетерозиготный генотип*C/A* гена *CYP1A2*. Результаты, полученные для комбинаций генотипов, могут свидетельствовать о совокупности эстрогензависимого и химически индуцированного процесса, обусловленного биоактивацией экзогенных ксенобиотиков у пациенток с репродуктивными потерями.

Ключевые слова: невынашивание беременности, полиморфизм генов *CYP1A1, CYP1A2, CYP19, SULT1A1.*

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования

Данная работа не имела источников финансирования.

Для цитирования:
Носкова И.Н., Артымук Н.В., Гуляева Л.Ф. Полиморфизм генов *CYP1A1, CYP1A2, CYP19* и *SULT1A1* у женщин с невынашиванием беременности в ранние сроки. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2019. Т.4, №4. С. 47-57. https://doi.org/10.23946/2500-0764-2019-4-4-47-57

Корреспонденцию адресовать:
Носкова Ирина Николаевна, Россия, 650000 г. Кемерово, пр. Октябрьский22; E-mail: irnikno@yandex.ru
©Носкова И.Н. и др.

ORIGINAL RESEARCH

POLYMORPHISMS OF *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP19*, AND *SULT1A1* GENES IN WOMEN WITH EARLY MISCARRIAGE

IRINA N. NOSKOVA**[1], NATALIA V. ARTYMUK[2], LYUDMILA F. GULYAEVA[3]

[1]*Belyaev Kemerovo Regional Clinical Hospital, Kemerovo, Russian Federation*
[2]*Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation*
[3]*Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Fundamental and Translational Medicine Federal Research Centre, Novosibirsk, Russian Federation*

English ▶

Abstract

Aim. To determine the frequency of the polymorphisms within the genes encoding estrogen metabolism enzymes: *CYP1A1* (rs4646903), *CYP1A2* (rs762551), *CYP19* (rs700519) and *SULT1A1* (rs9282861) in women with early miscarriage.

Materials and Methods. We recruited 103 consecutive women who experienced early miscarriage (< 12 weeks of pregnancy, n = 103) and 257 women without past medical history of adverse pregnancy outcomes. Following DNA extraction, we genotyped all samples by means of restriction fragment length polymorphism analysis. We analyzed the polymorphisms within the *CYP1A1* gene (T264 → C, rs4646903), *CYP1A2* gene (*C734 → A*, rs762551), *CYP19* gene (*C → T*, rs700519), and *SULT1A1* gene (*G638 → A*, rs9282861).

Results. We found a significantly increased prevalence of the mutant allele C as well as T/C and C/C genotypes of the rs4646903 polymorphism within the *CYP1A1* gene and mutant T allele along with the T/C genotype of the rs700519 polymorphism within the *CYP19* gene in women with early miscarriage as compared with those having a normal pregnancy course. Concurrently, we detected a reduced frequency of the C/A genotype of the rs762551 polymorphism within the *CYP1A2* gene in patients who suffered from early miscarriage. The risk of miscarriage was significantly increased in carriers of *CYP1A2* (rs762551 C/C) + *CYP1A1* (rs4646903 T/C + C/C) + *CYP19* (rs700519 C/T), *CYP1A2* (rs762551 C/C) + *CYP1A1* (rs4646903 T/C + C/C) + *SULT1A1* (rs9282861 G/G) + *CYP19* (rs700519 C/T), *CYP19* (rs700519 C/T) + *SULT1A1* (rs9282861 G/G), (*CYP1A2* (rs762551 C/C) + *CYP1A1* (rs4646903 T/C + C/C); *CYP1A2* (rs762551 C/C) + *CYP19* (rs700519 C/T), *CYP19* (rs700519 C/T) + *CYP1A1* (rs4646903 T/C + C/C), and *SULT1A1* (rs9282861 G/G) + *CYP1A1* (rs4646903 T/C + C/C) haplotypes. Investigation of the possible gene-environment interactions found a considerable increase in *CYP1A1* (rs4646903 T/C) + *CYP1A2* (rs762551 A/A) and *CYP1A1* (rs4646903 T/C) + *SULT1A1* (rs9282861 A/A) haplotypes in conjunction with a *CYP1A2* (rs762551 A/A) + *SULT1A1* (rs9282861 G/A) haplotype.

Conclusion. Patients with early miscarriage more frequently have the mutant allele C as well as C/T or C/C genotypes of the rs4646903 polymorphism within the *CYP1A1* gene and mutant allele T (in particular within the C/T genotype) of the rs700519 polymorphism within the *CYP19* gene; in contrast, C/A genotype of the rs762551 polymorphism within the *CYP1A2* gene was less common in these patients. Specific risk haplotypes revealed in our study may indicate a combination of estrogen-dependent and chemically induced process caused by the bioactivation of exogenous xenobiotics in patients with early miscarriage.

Keywords: miscarriage, gene polymorphisms, *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP19*, *SULT1A1*.

Conflict of Interest

None declared.

Funding

There was no funding for this project.

For citation:

Irina N. Noskova, Natalia V. Artymuk , Lyudmila F. Gulyaeva. Polymorphisms of *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP19*, and *SULT1A1* genes in women with early miscarriage. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2019; 4 (4): 47-57. https://doi.org/10.23946/2500-0764-2019-4-4-47-57

Corresponding author:

Irina N. Noskova, 22, Octyabr'skiy Prospect, Kemerovo, 650000, Russian Federation, E-mail: irnikno@yandex.ru

© Noskova I.N.et al.

Введение

Профилактика невынашивания беременности относится к важнейшим задачам современного акушерства. Однако, невзирая на достигнутые результаты в понимании патогенетических механизмов возникновения гестационных потерь, усовершенствование диагностических и терапевтических возможностей, частота невынашивания беременности стабильна и не имеет тенденции к снижению. По данным литературы, от 10 до 20% клинически диагностируемых беременностей прерываются самопроизвольно, при этом невынашивание представляет самое частое осложнение беременности [1].

Причины невынашивания беременности разнообразны и многолики. Прерывание беременности является итогом синергического действия неблагоприятных эндогенных и экзогенных факторов, нарушающих адаптационные механизмы гестации в организме женщины [2].

Диагностика причин невынашивания является важным звеном, определяющим терапевтическую тактику и подходы дальнейшего ведения супружеской пары, тем самым увеличивая возможности благоприятного исхода последующей беременности. Выявление у беременных факторов риска невынашивания позволит определить новые подходы к ведению беременности, учесть и использовать возможные профилактические и лечебные мероприятия, обеспечить междисциплинарный подход [3].

Одной из ведущих причин невынашивания беременности ранних сроков принято считать генетический фактор. На протяжении последних 50 лет понятие «генетические причины невынашивания беременности» включало в себя только наличие хромосомных аберраций как у супругов с выкидышами в анамнезе, так и у абортусов. Невынашивание беременности – это мультифакториальное заболевание: результат действия «функционально ослабленных» вариантов (аллелей) множества генов на фоне неблагоприятных внешних и внутренних факторов [4,5,6].

В настоящее время определено наличие полиморфизма генов, кодирующих ферменты, участвующие в синтезе и метаболизме эстрогенов. Установлена взаимосвязь между особенностями метаболизма эстрогенов и риском возникновения гормонозависимых опухолей, в частности рака эндометрия, рака яичников, рака молочной железы, эндометриоза. Предполагается, что подобный эффект эстрогенов связан с их стимулирующим действием на процессы клеточной пролиферации в органах-мишенях. В последнее время увеличивается количество исследований, связанных с поиском и характеристикой полиморфных вариантов ДНК в кодирующих и некодирующих районах генов, в той или иной степени вовлеченных в канцерогенез. Эти исследования показывают, что полиморфизм ДНК даже вне кодирующей области может быть связан с ослаблением или усилением функции гена [7,8].

Известно, что важную роль в поддержании гормонального баланса играет ферментативная система деградации эстрогенов, осуществляемая цитохромом P450. В последние годы в этом процессе доказана роль таких его изоформ, как *CYP1A1*, *CYP1A2*, которые окисляют эстрогены с образованием субстратов для 2-й фазы метаболизма. Дальнейшая инактивация метаболитов гормонов осуществляется с помощью ферментов 2-й фазы метаболизма ксенобиотиков, в том числе сульфотрансферазы (*SULT1A1*). Считается, что ряд полиморфизмов и мутаций, связанных с ферментным комплексом цитохрома P450 (*CYP*), играет существенную роль в патогенезе гормонозависимых опухолей [8,9]. Так, полиморфные варианты генов, кодирующих ферменты метаболизма эстрогенов, могут увеличивать риск новообразований репродуктивной сферы. Определение таких вариантов ДНК в группах риска позволяет своевременно выявить начало заболевания или проводить профилактическую терапию [4,5].

Зная тот факт, что данные гены способны экспрессироваться и во время беременности, изучалась их роль в генезе акушерских и перинатальных осложнений, привычного невынашивания беременности. Носительство определенных аллелей генов метаболизма эстрогенов способно влиять на реализацию репродуктивной программы, в частности на формирование плаценты с развитием в последующем акушерских и перинатальных осложнений [10]. К таким кандидатам можно отнести гены цитохрома P450: *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1*, *CYP19* и *SULT1A1*.

Так, ген *CYP19*, кодирующий ароматазу (реакция ароматизации андрогенов), экспрессируется не только в яичниках, но и в плацен-

те. При этом экспрессия гена до беременности обуславливает нормальную пролиферацию эндометрия, а также включается во время беременности, когда формируется плацента, обеспечивая нормальное функционирование последней.

В последние годы сфера научных интересов в перинатальной охране плода сместилась к ранним срокам беременности – к I триместру, так как именно в этот период происходят формирование фетоплацентарной системы, закладка органов и тканей плода, экстраэмбриональных структур, что, в большинстве случаев, определяет дальнейшее течение беременности [11].

Одним из важных направлений является уточнение молекулярно-генетических механизмов патогенеза невынашивания беременности. Роль генов метаболизма эстрогенов в генезе ранних эмбриональных потерь на данный момент остается неизученной. Расширение познаний о структуре человеческого генома и влиянии изменений генов на развитие тех или иных заболеваний будет способствовать появлению новых подходов к предгравидарной подготовке и улучшению медицинской помощи женщинам с эмбриональными потерями.

Цель исследования

Определить частоту встречаемости аллельных вариантов генов, кодирующих ферменты метаболизма эстрогенов: *CYP1A1* (rs4646903), *CYP1A2* (rs762551), *CYP19* (rs700519) и *SULT1A1* (rs9282861), у женщин со спорадической потерей беременности в I триместре беременности.

Материалы и методы

В исследование включено 360 пациенток. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Дизайн исследования: ретроспективное случай-контроль.

В I (основную) группу вошло 103 женщины со спорадической необъяснимой потерей беременности в сроке до 12 недель беременности. Критерии включения в исследование: спонтанное спорадическое прерывание беременности в сроке до 12 недель беременности; репродуктивный возраст от 18 до 45 лет, желание участвовать в исследовании. Критерии исключения: привычная потеря беременности, срок беременности более 12 недель, криминальное вмешательство, возраст пациенток моложе 18 и старше 45 лет, отказ пациентки от участия в исследовании.

II группу (сравнения) составили 257 пациенток, не имевших неблагоприятных исходов беременности в анамнезе. Критерии включения: наличие беременности в анамнезе, отсутствие спонтанного прерывания беременности в анамнезе; репродуктивный возраст от 18 до 45 лет, желание участвовать в исследовании. Критерии исключения: наличие репродуктивных потерь беременности в анамнезе, возраст пациенток моложе 18 и старше 45 лет, отказ пациентки от участия в исследовании.

Существенных отличий по социально-гигиеническим и медико-биологическим характеристикам, антропометрическим показателям, особенностям соматического анамнеза между пациентками основной и контрольной группами не выявлено. Пациентки обеих групп были сопоставимы между собой по данным менструальной функции. Среди обследованных в I группе первобеременными были 13,6%, рожавшими являлись 54,4%; во II группе 37% (p=0,383) и 51,7% (p=0,643) соответственно. Следует отметить, что в 37,9% случаев среди женщин основной группы первая беременность завершилась спонтанным выкидышем.

Для анализа аллельных вариантов генов ферментов, участвующих в метаболизме эстрогенов: *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP19* и *SULT1A1*, произведен забор буккального эпителия у пациенток обеих групп. Геномную ДНК из буккального эпителия выделяли методом высокосолевого осаждения белков. Концентрацию выделенной ДНК измеряли спектрофотометрически. Амплификацию специфических участков с потенциальными однонуклеотидными заменами в исследуемых генах проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для этого использовались специфические праймеры к последовательностям генов *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP19* и *SULT1A1*.

Генотипирование проводили методом ПДРФ-анализа (полиморфизм длины рестрикционых фрагментов) продуктов ПЦР специфических участков генома с исполь-

зованием соответствующих ферментов рестрикции: для гена *CYP1A1*: эндонуклеаза рестрикции *Msp*I.; для гена *CYP1A2*: эндонуклеаза рестрикции *Apa*I; для гена *CYP19*: эндонуклеаза рестрикции *SfaN*I; для гена *SULT1A1*: эндонуклеаза рестрикции *Hha*I. Анализ продуктов рестрикции проводили методом вертикального гель-электрофореза и сканировали в УФ свете с помощью видеосистемы «DNA Analyzer» («Литех», Россия).

Исследование полиморфизма генов ферментов метаболизма эстрогенов проводилось на базе лаборатории молекулярных механизмов канцерогенеза НИИ молекулярной биологии и биофизики ФИЦ ФТМ г. Новосибирска (руководитель лаборатории д.б.н., профессор Гуляева Л.Ф.).

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы SISA (http://home.clara.net/sisa/). В качестве критерия, определяющего, является ли исследуемый признак фактором риска заболевания, было использовано отношение шансов (odds ratio, OR), где A и B – процент носителей мутантного аллеля и дикого аллеля в опытной группе соответственно, а C и D – процент носителей мутантного аллеля и дикого аллеля в контрольной группе соответственно. Для оценки достоверности различий между выборками использовался критерий χ^2 с поправкой Йетса и, если хотя бы одна частота была менее 5, – точный метод Фишера. Наблюдаемое распределение генотипов проверяли на отклонение от равновесия Харди-Вайнберга.

Результаты и обсуждение

Анализ аллельных вариантов генов с использованием метода ПДРФ является в настоящее время общепринятым методом исследования известных генетических полиморфизмов как факторов риска. Этот метод основан на том, что замены нуклеотидов приводят к исчезновению или образованию сайта узнавания какой-нибудь из эндонуклеаз. Замена нуклеотида выявляется после обработки амплифицированного фрагмента ДНК, содержащего мутацию, соответствующей эндонуклеазой, при этом изменяется количество и молекулярный вес фрагментов ДНК.

В настоящей работе для анализа аллельных вариантов были выбраны гены ферментов, участвующих в синтезе и катаболизме эстрогенов: *CYP1A1, CYP1A2, CYP19* (I фаза) и *SULT1A1* (II фаза). Результаты исследования полиморфизма генов ферментов метаболизма эстрогенов представлены в **таблице 1.**

У пациенток со спорадическим выкидышем в анамнезе наблюдается достоверное увеличение частоты мутантного аллеля *C* (OR=2,39; P=0,0002) гена *CYP1A1*, гетерозиготного генотипа *T/C* (OR=5,12; P=0,000001) и гомозиготного генотипа C/C (OR=2,75; P=0,004) по сравнению с контролем. По данным литературы, фермент цитохром *P450 1A1* определяет в основном 2-эстроген-гидроксилазную активность, участвуя в деградации циркулирующих эстрогенов. Наличие мутантного аллеля, для которого характерна более высокая активность этого фермента, может вносить вклад в снижение концентрации эстрадиола [9, 11]. Тогда сниженный гормональный фон в ранние сроки беременности может быть одним из факторов невынашивания беременности.

Shi X. et al. (2017) в систематическом обзоре рассмотрели генетические полиморфизмы и обсудили потенциальные генетические биомаркеры рецидивирующего выкидыша. Значимые ассоциации были обнаружены между рецидивирующим выкидышем и 53-мя генетическими полиморфизмами 37 генов. Более того, показано, что генетические варианты *HLA-G, IFNG, TNF, IL-6, IL-10, FII, FV, FXIII, ITGB3, MTR, MTHFR, PAI-1, NOS3, KDR, TP53, VEGFA, CYP17, CYP1A1, CYP2D6, ANXA5* и *XCI* могут служить биологическими маркерами рецидивирующего выкидыша [12].

Для выявления потенциальных генетических рисков, связанных с привычным невынашиванием беременности, метаанализ, проведенный Li J. et al. (2017), показал, что полиморфизм гена *CYP1A1* (особенно для rs4646903) может быть связан с риском привычного невынашивания беременности, особенно среди жительниц Южной Азии [13].

Морозова К.В. (2015) провела молекулярно-генетическое исследование генов антиоксидантной системы, генов детоксикации ксенобиотиков и генов репарации ДНК (*NRF2, CAT, SOD2, GPX4, GCLC, CYP1A1, COMT, OGG1*), предположив, что в организме беременной женщины наличие аллелей определенных генов способно вносить вклад в формирование подверженности такому мультифакторному состоянию, как невынашивание

Таблица 1.

Распределение аллельных вариантов генов, кодирующих ферменты метаболизма эстрогенов, и генотипов в группе женщин с репродуктивными потерями и группе сравнения

Table 1.

Allelic and genotypic distribution of the studied polymorphisms within the genes encoding estrogen metabolism enzymes in women with or without early miscarriage

	Основная группа (с репродуктивными потерями) *Women with early miscarriage*			Группа сравнения *Without early miscarriage*
	n	ОШ (95% ДИ) *OR (95% CI)*	*P-value*[a]	
CYP1A1				
Allelic frequencies				
T	115			386
C	91	**2,39 (1,45 – 2,27)**	**0,00002**	128
Genotypic frequencies				
T/T	32			167
T/C	51	**5,12 (2,98 – 8,79)**	**0,000001**	52
C/C	20	**2,75 (1,42 – 5,32)**	**0,004**	38
Total	103			257
CYP1A2				
Allelic frequencies				
C	107			238
A	99	0,80 (0,58 – 1,10)	0,20	276
Genotypic frequencies				
C/C	29			39
C /A	49	**0,41 (0,23 – 0,73)**	**0,0037**	160
A/A	25	0,58 (0,30 – 1,13)	0,15	58
Total	103			257
CYP19				
Allelic frequencies				
C	187			499
T	19	**3,38 (1,68 – 6,79)**	**0,00065**	15
Genotypic frequencies				
C/C	84			242
C/T	19	**3,65 (1,77 – 7,51)**	**0,00047**	15
T/T	0		1	0
Total	103			257
SULT1A1				
Allelic frequencies				
G	106			228
A	100	0,75 (0,54 – 1,04)	0,1	286
Genotypic frequencies				
G/G	30			52
G/A	46	0,64 (0,37 – 1,13)	0,1623	124
A/A	27	0,58 (0,31 – 1,08)	0,1173	81
Total	103			257

беременности. Установлено, что полиморфизм генов *NRF2, CAT, SOD2, GPX4, GCLC, CYP1A1* не ассоциирован с невынашиванием первой половины беременности [14].

Лунина С.Н. и соавт. (2016) изучали полиморфизм генов детоксикации ксенобиотиков в эффективности гормональной терапии угрожающего выкидыша с целью профилактики потерь беременности. По мнению авторов, одной из основных причин высокой частоты неблагоприятных исходов беременности остается индивидуальная чувствительность к лекарственным препаратам, которая во многом определяется полиморфизмом генов, кодирующих ферменты, метаболизирующие данный препарат. Установлено, что риск прерывания беременности максимален у пациенток с сочетанием неблагоприятных генотипов 313 G гена *GSTP1* и 3435 C/C гена *ABCB1*. Полиморфизм генов *CYP1A1*, *CYP1B1*, *GSTM1*, *GSTT1* не влияет на эффективность терапии угрожающего выкидыша [10].

Другая изоформа цитохрома P450 – *CYP1A2* так же, как и *CYP1A1*, окисляет

эстрогены преимущественно с образованием 2-гидроксиметаболитов. Изучаемая нами олигонуклеотидная замена *C734 → A* в гене *CYP1A2* приводит к снижению ферментативной активности и, следовательно, способствует повышению гормонального фона. В нашем исследовании в группе женщин с невынашиванием беременности носителей данного мутантного аллеля было меньше, чем в группе сравнения. Статистически значимым результатом было снижение частоты гетерозиготного генотипа *C/A* в опытной группе. Эти результаты подтвердили значимость аллельных вариантов генов *CYP1A1* и *CYP1A2* в феномене нарушения репродуктивной функции женщин.

Ароматаза, или цитохром-P450 19-го семейства (*CYP19*), играет ключевую роль в балансе эстрогенов. Изучаемая нами транзиция *C → T* в 7-м экзоне ее гена увеличивает термостабильность и активность фермента. В нашем исследовании женщины-носители этого аллеля имели повышенный риск невынашивания беременности (для аллеля OR=3,38; p=0,00065 и для генотипа OR=3,65; p=0,00047). Эти результаты также подтверждают важность генетически детерминированного уровня эстрогенов при беременности.

При исследовании нами частот встречаемости мутантного аллеля и генотипов гена *SULT1A1* статистически значимых различий не получено, что, вероятно, может быть связано с тем, что данный фермент не только сульфонирует эстрогены с выходом неактивных метаболитов, но и играет ключевую роль в активации/инактивации химических канцерогенов.

Был также проведен анализ частот встречаемости совокупностей генотипов. Полученные данные приведены в **таблице 2**.

В результате проведенного исследования отобраны сочетания, которые могут свидетельствовать о совокупности эстрогензависимого и химически индуцированного процесса, обусловленного биоактивацией экзогенных ксенобиотиков (поллютанты, канцерогены, ПАУ, ароматические и гетероциклические амины), а также сочетания, указывающие в большей степени на развитие патологии: гормональные факторы, либо ксенобиотики. Кроме того, были рассмотрены сочетания генотипов, являющиеся факторами риска изолированно. В совокупности было выявлено, что риск развития выкидыша максимально увеличивается при сочетании генотипов *CYP1A2 (C/C)+ CYP1A1 (T/C+C/C)+ CYP19 (C/T)* (OR=9,297;P=0,00337) и *CYP1A2 (C/C)+ CYP1A1 (T/C+C/C)+ SULT (G/G)+ CYP19 (C/T)* (P=0,08), *CYP19 (C/T) + SULT (G/G)* (P=0,0251), также достоверно повышается риск при сочетании генотипов (*CYP1A2 (C/C)+CYP1A1 (T/C+C/C); CYP1A2 (C/C)+CYP19 (C/T); CYP19 (C/T)+ CYP1A1 (T/C+C/C); SULT (G/G) + CYP1A1 (T/C+C/C)* (OR=3; P=0,00043; OR=4,244; P=0,018; OR=5,305; P=0,00016; OR=2,763, P=0,002) соответственно.

При сочетании генотипов, которые указывают на влияние экзогенных факторов, было выявлено как достоверное увеличение *CYP1A1 (T/C) + CYP1A2 (A/A) CYP1A1 (T/C) + SULT1A1 (A/A)* (OR=2,95; P=0,03); так и снижение *CYP1A2 (A/A) + SULT1A1 (G/A)* (OR=0,317; P=0,01). Это говорит о том, что ксенобиотики (токсические факторы) в одном случае являются факторами риска (*CYP1A1 (T/C) + CYP1A2 (A/A)*: пациентки, имеющие данное сочетание, наиболее чувствительны к загрязнению окружающей среды и табачному дыму (оказывает сильнее неблагоприятные воздействия); в другом – протекторными факторами *CYP1A2 (A/A) + SULT1A1 (G/A)* (OR=0,317; P=0,01).

Гормональные нарушения вносят свой вклад в развитие патологии. Из таблицы видно, что наибольшие различия наблюдались при совокупности генотипов *CYP1A2 (C/C) + CYP19 (T/C)* (OR=4,6; P=0,02). Если рассматривать совокупность генов, отвечающих за гиперэстрогению и химически индуцированные процессы, наибольшие различия наблюдались при совокупности генотипов *CYP1A1 (T/C) + CYP19 (T/C)* (OR=9,1; P=0,003).

Гордеева Л.А. и соавт. (2017) изучили ассоциации полиморфизма генов *CYP1A1* (3801T>C rs4646903), *CYP1A2* (-163C>A, rs762551), *GSTM1* (del), *GSTT1* (del) и *GSTP1* (c.313 A>G, rs1695; c.341 C>T, rs1138272) с риском невынашивания беременности у женщин в ранние сроки (до 12 недель). Обнаружено, что генотип C/C гена *CYP1A2* (-163C>A, rs762551) ассоциирован с риском невынашивания беременности у женщин, имеющих более трех самопроизвольных выкидышей на ранних сроках гестации (OR=5,8, 95%

Таблица 2.

Совокупности частот генотипов

Table 2.

Haplotype frequencies in women with or without early miscarriage

Гаплотип *Haplotype*	Основная группа (с репродуктивными потерями) *Women with early miscarriage*			Группа сравнения *Without early miscarriage*
	n	ОШ (95% ДИ) *OR (95% CI)*	P	
CYP1A2(C/C) + CYP19 (C/T)	8	**4,2 (1,355 – 13,297)**	**0,018**	5
CYP1A2(C/C) + SULT (G/G)	4	1,3 (0,37 – 4,271)	1	8
CYP19 (C/T) + CYP1A1 (T/C+C/C)	15	**5,3 (2,175 – 12,943)**	**0,00016**	8
CYP19 (C/T) + SULT (G/G)	6		**0,0251**	1
SULT (G/G) + CYP1A1 (T/C+C/C)	22	**2,76 (1,462 - 5,224)**	**0,00236**	23
CYP1A2(C/C) + CYP1A1 (T/C+C/C) + CYP19 (C/T)	7	**1.898 >9.297> 45.539**	**0,00337**	2
CYP1A2(C/C)+ CYP1A1 (T/C+C/C)+ SULT (G/G)	5	1,4 (0,46 - 4,3)	0,765	9
CYP1A2(C/C)+ CYP1A1 (T/C+C/C)+ SULT (G/G)+ CYP19 (C/T)	2		**0,08**	0
CYP1A2(C/C)+ CYP1A1 (T/C+C/C)	26	**3 (1,644 - 5,476)**	**0,00043**	26
Экзогенные факторы ***Exogenous factors***				
CYP1A1(T/C)+ CYP1A2(A/A)	11	**2,95 (1,214 - 7,186)**	**0,025**	10
CYP1A2(A/A)+ SULT1A1(G/A)	7	**0,17(0,133 - 0,754)**	**0,01**	29
CYP1A1(T/C)+ SULT1A1(A/A)	11	**2,95 (1,214 – 7,186)**	**0,025**	10
CYP1A1(C/C) + SULT1A1(G/A)	13	2,17(1,007 – 4,703)	0,07	16
CYP1A1(C/C) + SULT1A1(A/A)	3	1,26 (0,308 - 5,116)	1	6
Гормональные факторы ***Hormonal factors***				
CYP1A1(T/T) + CYP1A2(C/C)	3	0.157 >0.563> 2.019	0,54	13
CYP1A1(T/T) + CYP19 (T/C)	3	0.243 >0.934> 3.591	0,81	8
CYP1A2(C/C) + CYP19 (T/C)	7	**4,6 (1,32 - 16,109)**	**0,02**	4
CYP1A1(T/T) + CYP19 (T/C) + CYP1A2(C/C)	0		0,71	1
Экзогенные и гормональные факторы ***Exogenous and hormonal factors***				
CYP1A1(T/C) + CYP19 (T/C)	10	**9,10 (2,452 - 33,805)**	**0,003**	3
CYP1A2(A/A) + CYP19 (T/C)	5	**4,32 (1,013 - 18,419)**	**0,08**	3
CYP1A1(T/C) + CYP1A2(A/A) + CYP19 (T/C)	1		0,41	1

ДИ 2,17-15,27). Полиморфизм генов *CYP1A1* (rs4646903), *GSTM1* (del), *GSTT1* (del) и *GSTP1* (rs1695, rs1138272) не ассоциирован с риском невынашивания беременности у женщин. Показано, что гомозиготный генотип C/C гена *CYP1A2* (-163C>A, rs762551) может быть фактором риска невынашивания беременности у женщин [11].

В нашем исследовании при анализе полиморфных вариантов гена *CYP1A2* наблюдалось достоверное снижение частоты гетерозиготного генотипа C/A (OR=0,41; P=0,0037) у женщин с выкидышем в анамнезе по сравнению с группой контроля, также наблюдалось недостоверное уменьшение частоты встречаемости мутантного аллеля A и гомозиготного генотипа A/A гена *CYP1A2*.

В настоящее время известно, что фермент цитохром P450 *1A2* определяет в основном 2-эстрогенгидроксилазную активность. При возникновении мутации *C→A* в 734 положении от старта транскрипции наблюдается снижение активности фермента и соответствующего белка. Следовательно, наличие дикого аллеля определяет более высокую активность этого фермента, что может приводить к увеличению фонового уровня эстрогенов вследствие медленной скорости их окисления до неактивных продуктов метаболизма и вызывать состояние гиперэстрогенемии [4,5,7, 9].

По данным проведенного нами анализа для гена *CYP19*, были выявлены достоверные различия в частоте встречаемости мутантного аллеля T (OR = 3,38; p = 0,00065), генотипа *T/C* (OR = 3,65; p = 0,00047). Исследуемый полиморфизм для гена *CYP19* представляет собой нуклеотидную замену C→T в 264 кодоне. Ароматаза является ключевым ферментом синтеза эстрогенов из андрогенных предшественников. Увеличение активности ароматазы приводит к увеличению уровня секреции эстрогенов из преовуляторных фолликулов, что ведет к гиперэстрогении.

При исследовании частот встречаемости мутантного аллеля и генотипов гена, кодирующего сульфотрансферазу*1A1* (*SULT1A1*), которая осуществляет инактивацию окисленных продуктов эстрогенов (II-я фаза метаболизма), отмечено недостоверное уменьшение частоты встречаемости данных аллелей и генотипов.

Таким образом, показано, что женщины, имеющие мутантный аллель *C* и генотип *C/T*, *C/C* гена *CYP1A1*; мутантный аллель *T* и генотип *C/T* гена *CYP19* имеют повышенный риск развития выкидыша. А лица с гетерозиготным генотипом C/A, наоборот, менее склонны к данной патологии.

Для невынашивания беременности, как и для многих других заболеваний женской половой сферы, одним из основных факторов в этиологии заболевания предполагается нарушение баланса половых гормонов. Возникновение этой патологии может быть связано с абсолютной или относительной гиперэстрогенией (через частые ановуляторные циклы), ожирением (через усиленную экстрагонадную продукцию эстрогенов), синдромом поликистозных яичников (через свойственное ему избыточное образование предшественника эстрогенов андростендиона) и т.д. [1, 3].

Избыточное влияние эстрогенов в условиях дефицита прогестерона может приводить к гиперплазии эндометрия, которая, в свою очередь, способствует нарушению имплантации оплодотворенной яйцеклетки либо отрицательно сказывается на дальнейшем развитии плода. Среди причин роста невынашивания беременности можно отметить неблагоприятную экологическую обстановку, образ жизни, генетические факторы, взаимосвязь с нарастанием в популяции эндокринно-обменных нарушений. Совокупность эндогенных и экзогенных факторов может увеличивать или уменьшать риск невынашивания беременности.

Заключение

Результаты проведенного исследования показали, что пациентки с репродуктивными потерями в I триместре беременности значимо чаще имеют мутантный аллель C и генотип C/T, C/C гена *CYP1A1*, мутантный аллель *T* и генотип C/T гена *CYP19*. Для пациенток, не имевших неблагоприятных исходов беременности в анамнезе, более характерен гетерозиготный генотип C/A гена *CYP1A2*. Риск развития выкидыша максимально увеличивается при сочетании генотипов *CYP1A2 (C/C) + CYP1A1 (T/C+C/C) + CYP19 (C/T)* и *CYP1A2 (C/C) + CYP1A1 (T/C+C/C) + SULT (G/G) + CYP19 (C/T)*, *CYP19 (C/T) + SULT (G/G)* (P=0,0251), также достоверно повышается риск при сочетании генотипов (*CYP1A2 (C/C) +CYP1A1 (T/C+C/C); CYP1A2 (C/C) +CYP19 (C/T); CYP19 (C/T) + CYP1A1 (T/C+C/C); SULT (G/G) + CYP1A1 (T/C+C/C)*. При сочетании генотипов, которые указыва-

ют на влияние экзогенных факторов, было выявлено как достоверное увеличение *CYP1A1 (T/C)+ CYP1A2 (A/A) CYP1A1(T/C) + SULT1A1 (A/A);* так и снижение *CYP1A2 (A/A) + SULT1A1 (G/A)*. Результаты, полученные для комбинаций генотипов, могут свидетельствовать о совокупности эстрогензависимого и химически индуцированного процесса, обусловленного биоактивацией экзогенных ксенобиотиков у пациенток с репродуктивными потерями. Поэтому при формировании групп риска по невынашиванию беременности важно учитывать как эпигенетические факторы, так и генотипические особенности.

Литература / References:

1. Адамян Л.В., Артымук Н.В., Белокриницкая Т.Е., Петрухин В.А., Смольнова Т.Ю., Сутурина Л.В., Тетруашвили Н.К., Филиппов О.С., Чечнева М.А., Шмаков Р.Г. Выкидыш в ранние сроки беременности: диагностика и тактика ведения. *Проблемы репродукции.* 2018; 24(S6):338-357. [Adamyan LV, Artymuk NV, Belokrinitskaya TE, Petrukhin VA, Smolnova TYu, Suturina LV, Tetruashvili NK, Filippov OS, Chechneva MA, Shmakov RG. Miscarriage in the early stages of pregnancy: diagnosis and tactics. *Problemy reproduktsii*. 2018;24 (S6):338-357. (In Russ.).]
2. Носкова И.Н., Тришкин А.Г., Артымук Н.В. Анализ перинатальных потерь в Кемеровской области. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2011;60(2):103-108. [Noskova IN, Trishkin AG, Artymuk NV. Analysis of perinatal losses in the Kemerovo region. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznei.* 2011;60(2):103-108. (In Russ.).]
3. Батрак Н.В., Малышкина А.И. Факторы риска привычного невынашивания беременности. *Вестник Ивановской медицинской академии.* 2016;21(4):37-41. [Batrak NV, Malyshkina AI. Risk Factors for Habitual Incomplete Pregnancy. *Vestnik Ivanovskoi meditsinskoi akademii*. 2016;21(4):37-41. (In Russ.).]
4. Гордеева Л.А., Воронина Е.Н., Глушков А.Н. Генетические особенности метаболизма ксенобиотиков и предрасположенность к патологии беременности. Часть 1. *Медицина в Кузбассе.* 2016;15(2):8-16. [Gordeeva LA, Voronina EN, Glushkov AN. Genetic features of xenobiotic metabolism and susceptibility to the pathology of pregnancy. Part 1. *Meditsina v Kuzbasse*. 2016;15(2):8-16. (In Russ.).]
5. Гордеева Л.А., Воронина Е.Н., Глушков А.Н. Генетические особенности метаболизма ксенобиотиков и предрасположенность к патологии беременности. Часть 2. *Медицина в Кузбассе.* 2016;15(3):3-11. [Gordeeva LA, Voronina EN, Glushkov AN. Genetic features of xenobiotic metabolism and susceptibility to the pathology of pregnancy. Part 2. *Meditsina v Kuzbasse.* 2016;15(3):3-11. (In Russ.).]
6. Баранов В.С. Эволюция предиктивной медицины. Старые идеи, новые понятия. *Медицинская генетика.* 2017;16(5):4-9. [Baranov VS. The evolution of predictive medicine. Old ideas, new concepts. *Meditsinskaya genetika.*2017;16(5):4-9. (In Russ.).]
7. Artymuk NV, Zotova OA, Gulyaeva LF. Adenomyosis: Genetics of Estrogen Metabolism. *Horm Mol Biol Clin Invest.* 2019;37(2):2-4. DOI: 10.1515/hmbci-2018-0069
8. Данилова Л.Н., Червов В.О., Артымук Н.В., Гордеева Л.А. Полиморфизм генов *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP19* и *SULT1A1* у инфертильных женщин с наружным генитальным эндометриозом. *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2018;3(3):25-34. [Danilova LN, Chervov VO, Artymyk NV, Gordeeva LA. Polymorphisms of the CYP1A1, CYP1A2, CYP19, and SULT1A1 Genes Are not Associatedwith Infertility in Women with Genital Endometriosis. Fundamental'naya i klinicheskaya meditsina. 2018;3(3):25-34. (In Russ.).] DOI: 10.23946/2500-0764-2018-3-3-25-34
9. Гуляева Л.Ф., Кушлинский Н.Е. Генетические и эпигенетические аспекты гормонального канцерогенеза. Новосибирск, 2017. [Gulyaeva LF, Kushlinsky NE. Genetic and epigenetic aspects of hormonal carcinogenesis. Novosibirsk: 2017. (In Russ.).]
10. Макаров О., Лунина С., Сальникова Л., Гончарова В. Роль полиморфизма генов детоксикации ксенобиотиков при лекарственной терапии угрожающего выкидыша. *Врач.* 2016;(5):60-61. [Makarov O, Lunina S, Salnikova L, Goncharova V. Role of Xenobiotic Detoxification Gene Polymorphisms During Drug Therapy of Threatened Abortion. *Vrach.* 2016;(5):60-61. (In Russ.).]
11. Гордеева Л.А., Попова О.С., Воронина Е.Н., Шаталина И.В., Оленникова Р.В., Нерсесян С.Л., Филипенко М.Л., Глушков А.Н. Ассоциации полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с невынашиванием беременности в ранние сроки. *Молекулярная медицина.* 2017;15(3):37-44. [Gordeeva LA, Popova OS, Voronina EN, Shatalina IV, Olennikova RV, Nersesyan SL, Filipenko ML, Glushkov AN. Association of gene polymorphisms of xenobiotics-metabolizing enzymes with the recurrent miscarriage. *Molecular medicine.* 2017;15 (3):37-44. (In Russ.).]
12. Shi X, Xie X, Jia Y, Li S. Maternal genetic polymorphisms and unexplained recurrent miscarriage: a systematic reviewand meta-analysis. *Clin Genet.* 2017;91(2):265-284. DOI: 10.1111/cge.12910
13. Li J, Chen Y, Mo S, Nai D. Potential Positive Association between Cytochrome P450 1A1 Gene Polymorphisms and Recurrent Pregnancy Loss: a Meta-Analysis. *Ann Hum Genet.* 2017;81(4):161-173. DOI: 10.1111/ahg.12196
14. Морозова К.В., Луценко Н.Н. Роль полиморфизма генов ферментов антиоксидантной системы в генезе невынашивания беременности. *Акушерство, гинекология и репродукция.* 2019;(2):54-61. [Morozova KV, Lutsenko NN. Role of Polymorphisms of Genes of the Antioxidant system enzymes in the Habitual Miscarriage Genesis. *Akusherstvo, ginekologiya i reproduktsiya.* 2015;9(2):54-61.
15. Xu Z, Qu C, Li H, Yao L, Zhou Y, Liu L, Xu M, Qin Y. Association between LRH-1 single nucleotide polymorphisms and unexplained recurrent spontaneous abortion in Chinese Han couples. *Gynecol Endocrinol.* 2018;34(12):1081-1083. DOI: 10.1080/09513590.2018.1481945
16. Koutsothanassis Ch, Agiannitopoulos K, Georgoutsou M, Bampali K. Genetic variant in the CYP19 gene and recurrent spontaneous abortions. *Gene Reports.* 2017;6:41-43. DOI: 0.1016/j.genrep.2016.11.008

Сведения об авторах

Носкова Ирина Николаевна *– кандидат медицинских наук, врач акушер-гинеколог консультативной поликлиники ГАУЗ КО «Кемеровская областная клиническая больница им. С.В. Беляева» (Октябрьский пр., 22, г. Кемерово, 650056, Россия).*
Вклад в статью: *забор буккального эпителия у женщин исследуемых групп, написание статьи.*
ORCID: *0000-0002-1515-7233*

Артымук Наталья Владимировна *– доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии имени профессора Г.А. Ушаковой ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ул. Ворошилова, 22а, г. Кемерово, 650056, Россия).*
Вклад в статью: *разработка дизайна исследования, написание статьи.*
ORCID: *000-0001-7014-6492*

Гуляева Людмила Федоровна *– доктор медицинских наук, профессор, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики», заведующая лабораторией молекулярных механизмов канцерогенеза, ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (ул. Тимакова, 2/12, Новосибирск, 630060, Россия).*
Вклад в статью: *проведение исследований, статистическая обработка результатов.*
ORCID: *0000-0002-7693-3777*

Authors

Dr. Irina N. Noskova*, MD, PhD, Obstetrician-Gynecologist, Belyaev Kemerovo Regional Clinical Hospital (22, Oktyabrskiy Prospekt, Kemerovo, Russian Federation).*
Contribution: *collected the samples; wrote the manuscript.*
ORCID: *0000-0002-1515-7233*

Prof. Natalia V. Artymuk*, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).*
Contribution: *conceived and designed the study; wrote the manuscript.*
ORCID: *000-0001-7014-6492*

Prof. Lyudmila F. Gulyaeva*, MD, DSc, Professor, Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Fundamental and Translational Medicine Federal Research Centre (2/12, Timakova Street, Novosibirsk, 630060, Russian Federation); Head of the Laboratory for Molecular Mechanisms of Carcinogenesis, Novosibirsk State University (1, Pirogova Street, Novosibirsk, 630090, Russian Federation).*
Contribution: *performed the genotyping and statistical analysis.*
ORCID: *0000-0002-7693-3777*

Статья поступила: 10.07.2019 г.

Принята в печать:29.11.2019 г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

Received: 10.07.2019

Accepted: 29.11.2019

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.