

АНАЛІЗ ДИФЕРЕНЦІАЛЬНОЇ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ СТРУКТУРНИХ І РЕГУЛЯТОРНИХ БІЛКІВ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ЯК ЧИННИКІВ, ПОВ'ЯЗАНИХ ІЗ РОЗВИТКОМ ПІХОВОГО ПРОЛАПСУ

DOI: <http://dx.doi.org/10.18370/2309-4117.2023.69.24-29>



О.М. ПРОЩЕНКО

к. мед. н., доцент кафедри акушерства та гінекології № 1 Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця, м. Київ
ORCID:0000-0002-2187-4562

Д.О. ГОВСЕЄВ

д. мед. н., професор, завідувач кафедри акушерства, гінекології та неонатології Інституту післядипломної освіти НМУ ім. О.О. Богомольця, м. Київ
ORCID: 0000-0001-9669-0218

І.Б. ВЕНЦІВСЬКА

д. мед. н., професор, кафедри акушерства та гінекології № 1 НМУ ім. О.О. Богомольця, м. Київ
ORCID:0000-0002-7685-5289

Контакти:

Прощенко Ольга Миколаївна
03150, Київ, вул. Велика Васильківська, 122, кв 7
Тел. +38 (096) 717-77-97
E-mail: proshchenko777@gmail.com

ВСТУП

Матково-піхвовий пролапс є серйозним тягарем для сфери охорони здоров'я жінок, поширеність цієї патології сягає до 40% [1–3]. І частота його має неухильну тенденцію до зростання, що може бути пов'язане із тенденцією до старіння населення і зростанням частоти гістеректомії, яка, незалежно від доступу, призводить до порушення інтеграції зв'язкового апарату матки [4]. Ця проблема не загрожує життю, але чинить негативний вплив на якість життя пацієнток. У свою чергу ризик будь-якого хірургічного втручання з приводу пролапсу тазових органів (ПТО) становить приблизно 20% [5–7].

Як відомо ПТО має багатофакторну етіологію, у якій відіграють роль спадкові і зовнішні чинники. Вагінальні пологи, особливо з високим паритетом, вік менопаузального переходу і старший, високий індекс маси тіла, гістеректомія визначені як чинники ризику пролапсу і можуть спричиняти дефекти тканини тазового дна [8–11]. Сімейна схильність до цих дефектів підтверджується тим фактом, що жінки з ПТО частіше мають членів сім'ї з ПТО порівняно з жінками без такого [12]. Генетична детермінанта ПТО також впливає з досліджень близнюків, де приблизно 40% із сестер із ПТО мають схильність до цієї патології [13]. А нещодавні три метааналізи виявили вплив сімейного анамнезу на розвиток або рецидив піхвового пролапсу [14].

Сучасні дані свідчать про те, що на формування піхвового пролапсу впливає порушення структури та функції сполучної тканини (СТ), м'язів і нервів тазового дна, у результаті чого система підтримки тазового дна стає дефектною, що має ключове значення для нормального анатомічного положення тазових органів. Такий підхід визначає доцільність пошуку взаємозв'язку ознак дисплазії СТ з точки зору розуміння патогенезу сполучнотканинних порушень. За даними ВООЗ, поширеність недиферен-

ційованих дисплазій СТ (НДСТ) у країнах Європейського союзу є досить високою і коливається від 9 до 80% залежно від вікових, статевих, етнічних, клінічних груп дослідження. Особливістю дисплазії СТ як дисморфогенетичного феномена є прояв фенотипових ознак протягом життя, ймовірно, під дією чинників зовнішнього й внутрішнього середовища, а також дуже варіабельна клінічна картина. НДСТ належить до спадкових захворювань СТ і зумовлена точковими мутаціями генів, що кодують синтез і метаболізм СТ. Наслідком таких мутацій є порушення процесів формування та дозрівання просторової структури волокон колагена та еластина, і як наслідок їх дезорганізація та деградація.

Ми аналітично опрацювали дослідження, які були присвячені вивченню ролі поліморфізму генів, що контролюють синтез та деградацію СТ. Дослідження асоціації генів-кандидатів виявили ряд односторонніх поліморфізмів, ймовірно пов'язаних з ПТО, і включали гени, що кодують рецептори стероїдних гормонів, регуляцію синтезу структурних волокон позаклітинного матриксу СТ: колагени різних типів, еластин, фібронектин і множинні матричні металопротеїнази [15–16].

Отже, визначення асоціації генетично детермінованої патологічної ремоделювання СТ з ПТО потенційно дозволить уже на передопераційному етапі прогнозувати та визначити персоналізований ризик рецидиву пролапсу й постгістеректомічного пролапсу для пацієнтки, й відповідно оптимізувати лікувальну тактику, обґрунтувати вибір об'єму оперативного втручання та програму превентивних заходів.

Мета дослідження: аналіз прогностичної значущості диференціальної експресії структурних і регуляторних генів білків СТ: COL1A1, фібронектин, еластин, трансформувальний чинник росту β , (TGF- β), LOX (лізілоксидаза) як чинників, пов'язаних із розвитком піхвового пролапсу в популяції українських жінок.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

На базі гінекологічного відділення КНП «Перинатальний центр м. Києва» було проведено хірургічне втручання у 18 пацієнок, середній вік яких становив $51,2 \pm 1,9$ роки. Жінки були розподілені на групи:

- Основну групу становили 11 пацієнок із клініко-анамнестичними стигмами НДСТ і піхвовим пролапсом III, IV ступеня, який потребував оперативної корекції; із них 4 пацієнтки з неспроможністю тазового дна з гістеректомією з приводу міоми матки в анамнезі (у 2 пацієнок верифіковано апікальний пролапс).

- До групи порівняння увійшли 7 жінок із піхвовим пролапсом III, IV ступеня, який потребував оперативної корекції, без стигм НДСТ.

До діагностичного алгоритму включали фізикальний огляд, збір загального й гінекологічного анамнезу, оцінку стану тазового дна та уrogenітальної дисфункції. Ступінь вираженості пролапсу тазового дна оцінювали за класифікацією POP-Q (Pelvic Organ Prolapse Quantification), запропонованою Міжнародним товариством із проблем нетримання сечі (International Continence Society, ICS).

Критеріями включення в дослідження були вік пацієнок від 45 до 55 років, піхвовий пролапс, згода пацієнтки на участь у дослідженні. Критерії виключення: тяжкі соматичні захворювання, які формували преморбідний фон пацієнтки до операції, відмова жінки від участі в дослідженні.

Аналіз експресії генів структурних і регуляторних білків позаклітинного матриксу СТ виконували за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі в лабораторії імунології та молекулярної біології Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Для дослідження використовували зразки тканини піхви із середньою вагою 0,03 г. Виділення РНК проводили за допомогою набору GeneJET RNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific Inc., США) згідно з інструкцією, наданою виробником. Зразки комплементарної ДНК використовувалися як матриця для дослідження експресії генів за допомогою полімеразної ланцюгової реакції, який проводили на ампліфікаторі Applied Biosystems™ 7500 Real-Time PCR Systems (Life Technologies Corporation, США). Дизайн праймерів, які були використані для дослідження, наведено в таблиці 1. Відносну кількість транскриптів досліджених генів нормалізували по рівню експресії GAPDH. Дані розраховували за допомогою методу $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ¹. Для зменшення варіабельності у зразках усі проби ставили в трьох повторах.

Статистичний аналіз даних проводився за допомогою системи статистичного програмування R (версія 4.0). Кількісні змінні були перевірені на відповідність нормальному закону розподілу за допомогою тесту Шапіро-Вілка, а також на рівність дисперсій між групами за допомогою тесту Левене (Levine test). Гомоскедастичність дисперсій не спостерігалася, тому для оцінки різниці кількісних показників між група-

Таблиця 1. Дизайн праймерів, які були використані для дослідження

Назва праймеру	Послідовність прямого праймера (5'→3')	Послідовність зворотного праймера (5'→3')
GAPDH	CCTCAACTACATGTTTACATGTCC	ATGGGATTCCATTGATGACAAG
COL1A1	CAAGACGAAGACATCCCAATC	ACAGATCACGTCATCGACAACA
Фібронектин	GATGCCGACCAGAAGTTGG	ATGACCCCTTCATTGGTTGTG
Еластин	ATCCCAGGAGTTGGACCCTTT	GGCAGTTTCCCTGTGGTGTAG
TGF-β1	GGTACCTGAACCCGTGTGCT	TGTTGCTGTAATTCGGT
LOX	TTGTGCCCTGTGACATTCG	GGGAGTTTTCCTTGCCTCT

ми був застосований однофакторний дисперсійний аналіз із поправками Брауна-Форсайта. Як апостеріорні тести був вибраний тест Геймса-Ховелла (Games-Howell). Статистично значущим результатом вважалася різниця на рівні $p < 0,05$.

Проведення дослідження узгоджено на Комісії з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, протокол № 140 від 21.12.2020 р. Дослідження ґрунтуються на етичних стандартах відповідно до Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації (World Medical Association, WMA).

РЕЗУЛЬТАТИ

Аналізуючи клініко-анамнестичні дані екстрагенітальної патології із врахуванням можливого зв'язку з НДСТ на доопераційному етапі пацієнтки із піхвовим пролапсом III, IV ступеня були розділені на дві групи.

Основну групу становили 11 пацієнок із щонайменше двома клініко-анамнестичними стигмами НДСТ + «малими» фенотиповими ознаками НДСТ.

До вищезазначених стигм відносили (табл. 2):

- прояви з боку ротової порожнини – високе піднебіння, порушення прикусу, пародонтоз;
- прояви з боку серцево-судинної системи – пролапс мітрального клапана, варикозна хвороба вен нижніх кінцівок;
- порушення в опорно-руховому апараті – сколіоз, плоскостопість, гіпермобільність суглобів;
- зі сторони органу зору – міопія в поєднанні з астигматизмом чи без нього.

Фенотипові «малі» ознаки НДСТ: коротка шия, високий зріст, астенична тілобудова, знижена еластичність шкіри, стрії, ластовиння, рудий колір волосся тощо.

Слід підкреслити, що у 4 пацієнок цієї групи в анамнезі була гістеректомія з приводу доброякісної патології матки.

До групи порівняння увійшли 7 жінок із піхвовим пролапсом III, IV ступеня, який потребував оперативної корекції, без стигм НДСТ.

Рівень експресії матричної РНК генів білків позаклітинного матриксу СТ у пацієнок в досліджуваних групах представлений у таблиці 3.

¹ Метод дельта-дельта Сt, також відомий як метод $2^{-\Delta\Delta Ct}$, — це формула, яка використовується для розрахунку відносної кратності експресії генів у зразках під час виконання полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі.

² Гомоскедастичність — це характеристика лінійної регресійної моделі, яка означає, що дисперсія помилок є постійною в часі (прим. ред.).

Для більшої наочності порівняння рівня експресії генів структурних і регуляторних білків СТ побудовано діаграми (рис.).

Таблиця 2. Поширеність стигм НДСТ у пацієток з ПТО, абс. ч. (%)

Ознака	Основна група, n=11	Група порівняння, n=7
Прояви з боку ротової порожнини	5 (45,45)	0
Порушення в опорно-руховому апараті	7 (63,63)	1 (14,28)
Порушення з боку органа зору	4 (36,36)	0
Порушення з боку серцево-судинної системи	4 (36,36)	1 (14,28)
Фенотипові «малі» ознаки НДСТ	7 (63,63)	2 (28,57)

Таблиця 3. Рівень експресії мРНК генів структурних і регуляторних білків СТ у пацієток з ПТО

Гени білків позаклітинного матриксу СТ	М і m*	Основна група, n=11	Група порівняння, n=7
COL1A1	M	0,6600	1,8087
	m	0,1058	0,6323
Фібронектин	M	1,5100	3,0871
	m	0,3668	0,8308
Еластин	M	3,1650	6,6946
	m	0,7310	1,2812
TGF-β1	M	1,1862	1,2144
	m	0,2119	0,1805
LOX	M	10,4600	18,3501
	m	2,3840	3,0296

*M – середнє значення, m – похибка середнього.

Отримані результати демонструють наявність зниження експресії генів основних структурних білків позаклітинного матриксу СТ і гена регуляторного білка LOX й відсутність статистично значущої різниці по гену TGF-β₁ у пацієток із ПТО і з клініко-анамнестичними стигмами НДСТ, що може бути свідченням патологічної ремодуляції СТ.

ОБГОВОРЕННЯ

Сучасні уявлення про патогенез піхвового пролапсу включають спадкові чинники у взаємодії із зовнішніми чинниками, в першу чергу зниження рівнів естрогенів у періоді менопаузального переходу, механічні чинники пошкодження м'язово-фасціальних структур тазового дна – високий паритет вагінальних пологів, гістеректомія. Актуальною є дискусія щодо ролі реалізації генетично детермінованих морфофункціональних розладів СТ. Виділяють моногенні дисплазії СТ зі встановленим типом успадкування і клінічною симптоматикою (синдроми Марфана, Елерса-Данлоса, недосконалий остеогенез та ін.) та НДСТ з мультифакторни-

ми походженням та клінічними симптомами, що виходять за межі проявів спадкових синдромів [17]. При цьому фенотипові прояви НДСТ є надзвичайно різноманітними, і, що цікаво, зі збільшенням кількості зовнішніх ознак, виникає більше поєднань структурних дисплазій у внутрішніх органах [18]. А поширеність НДСТ коливається в широких межах: від 13 до 85%, що пов'язано із відсутністю конкретних діагностичних критеріїв.

Наші дослідження узгоджуються з вищезазначеними тезами і показали у пацієток із клініко-анамнестичними стигмами НДСТ зниження експресії генів основних структурних білків позаклітинного матриксу СТ і гена регуляторного білка LOX, що в поєднанні з дією інших чинників реалізувалось у патологічну ремодуляцію СТ і, як результат, ПТО. Водночас у нашому попередньому дослідженні ми отримали результати, що демонструють асоціацію зовнішніх ознак НДСТ з розвитком пролапсу тазових органів (відносний ризик 3,788; 95% довірчий інтервал 1,664–8,624, статистична значущість – 0,002, коефіцієнт регресії – 1,332) [19].

Група дослідників із Нідерландів описали основні біологічні процеси, що відбуваються в епітеліальних клітинах, фібробластах, і позаклітинному матриксу уrogenітального тракту при ПТО. [19]. Ключовим є епітеліально-мезенхімальний перехід, що характеризується втратою міжклітинних взаємодій між клітинами епітелію та перетворенням їх в мезенхімальні клітини, які потім диференціюються у фібробласти. Він негативно регулюється рецепторами естрогена 1-го і 2-го типів і рецепторами прогестерона – кожен з них посилює експресію кадгерина 1-го типу, а отже, запобігає епітеліально-мезенхіальному переходу. Не менш важливим є модуляція позаклітинного матриксу. Він представлений волокнами еластина і колагена, а також білками, які зшивають або регулюють їх деградацію (наприклад, LOX і LOXL1), різними матричними металопротеїназами і забезпечує підтримку епітеліальних клітин і фібробластів. Інгібітором синтезу колагенів I, III типів та фібронектина є TGFβ₁. Наступним важливим процесом є виживання та апоптоз фібробластів, оскільки вони відповідають за синтез і секрецію основних компонентів позаклітинного матриксу. А в регуляції імунної відповіді шляхом представлення чужорідних антигенів циркулювальним Т-лімфоцитам беруть участь білки головного комплексу гістосумісності HLA II класу (HLA-DQA1 і HLA-DQB1), які експресуються в епітеліальних клітинах [20].

Таким чином, отримані нами результати порушення експресії генів основних структурних і регуляторних білків, що беруть участь у біологічних процесах формування ПТО у жінок із наявністю щонайменше трьох фенотипових ознак НДСТ дозволяють зробити попередній висновок про підтвердження ролі патологічної ремодуляції СТ у патогенезі ПТО – як одного із клінічних проявів НДСТ. А отже ці стигми, що легко визначаються при первинному передопераційному обстеженні, можуть слугувати маркерами ризику рецидиву ПТО й постгістеректомічного пролапсу в разі оперативного втручання з приводу доброякісної патології матки. Наші дані узгоджуються із результатами інших дослідників, зокрема в роботі Zhao B.H. і Zhou J.H. виявлено зниження, а іноді відсутність експресії білків фібуліну-5

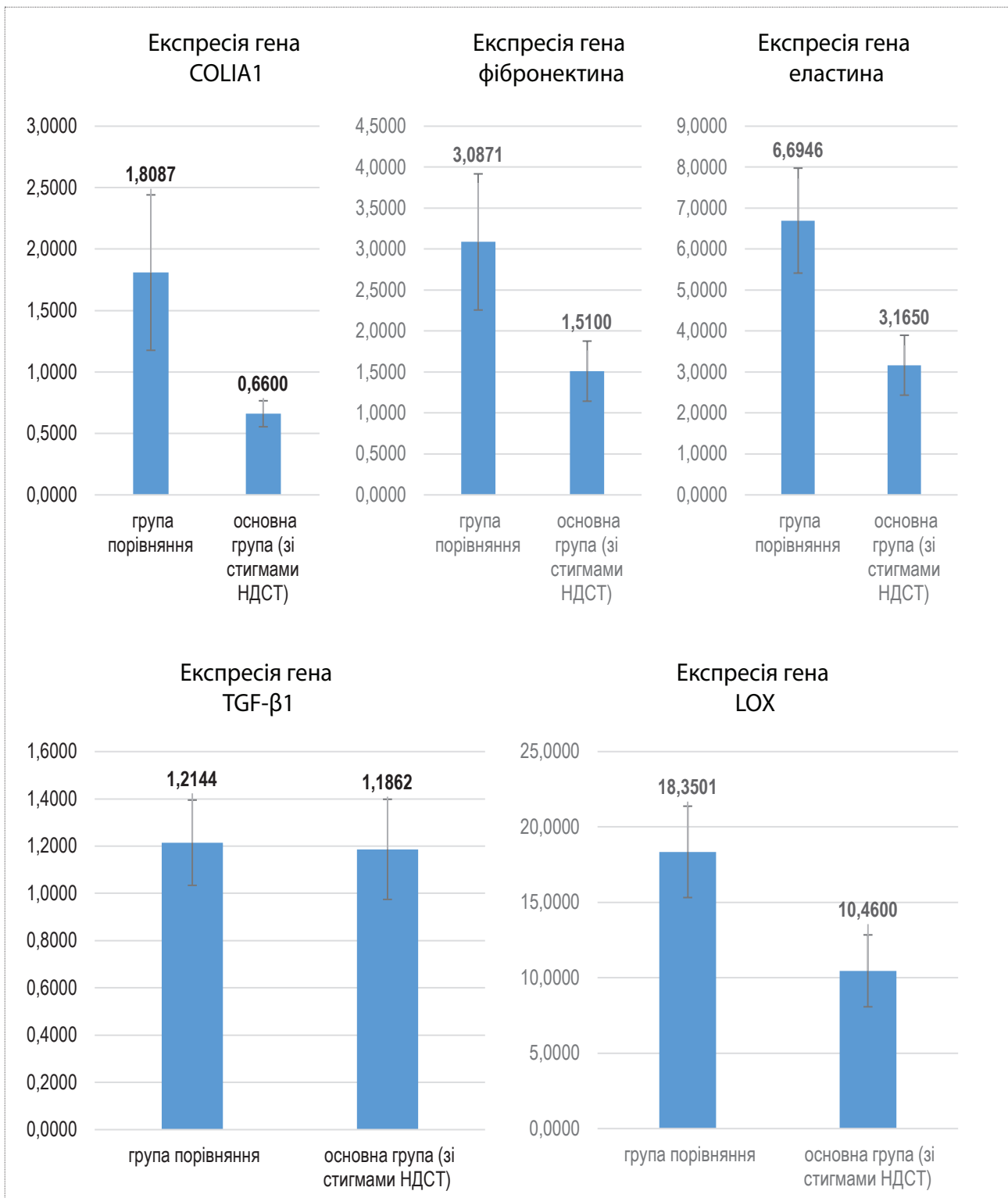


Рисунок. Аналіз рівня експресії мРНК генів структурних і регуляторних білків СТ у пацієток із ПТО*

*Результати достовірні ($p < 0,05$).

($p=0,049$) і LOXL1 ($p=0,001$) в матково-крижових зв'язках жінок з ПТО [20]. В іншому дослідженні на мишах встановлено, що тварини з нульовою мутацією в гені, що кодує LOXL1 або фібулін-5, демонструють ознаки еластинопатії, у тому числі розвиток ПТО у післяпологовому періоді [21]. Подібні висновки отримали в дослідженні, що перевіряло

гіпотезу про те, що слизова піхви жінок у пременопаузі з ПТО має відмінні функціональні характеристики порівняно з аналогічною тканиною у жінок без пролапсу. Визначено, що колаген XV типу і тканинні інгібітори металопротеїназ 1-го і 2-го типів, а також гени, залучені в біогенез і дозрівання колагенових і еластинових волокон (LOX, LOXL1-LOXL3,

BMP1 і ADAMTS2), значно знижували регуляцію в зразках тканини у жінок з ПТО порівняно з контрольними зразками ($p < 0,05$) [23].

Отримані висновки носять попередній характер, оскільки величина дослідженої вибірки не може вважатися достатньо репрезентативною. Але з метою виключення помилок статистичного характеру ми нормалізували рівень експресії генів по рівню експресії гена GAPDH.

ВИСНОВКИ

Статистично значуща нижча експресія генів основних структурних білків позаклітинного матриксу СТ і гена регуляторного білка LOX у пацієнок із ПТО і клініко-анамнестичними стигмами НДСТ є свідченням значущості генетично детермінованої ремодуляції СТ в етіології генітального про-

лапсу. Це твердження демонструє доцільність використання маркерів НДСТ як предикторів ПТО в передопераційному діагностичному алгоритмі при матково-піхвовому пролапсі й гістеректомії з приводу доброякісної патології для обґрунтування превентивних інтраопераційних і післяопераційних заходів.

Перспективами подальших досліджень є створення калькулятора ризику ПТО після гістеректомії, який дасть змогу обґрунтувати необхідність персоналізованого застосування інтраопераційних хірургічних технік й удосконалити післяопераційну реабілітаційну програму з метою профілактики ПТО як віддаленого негативного результату гістеректомії.

Конфлікт інтересів

Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів.

ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

- Hendrix, S.L., Clark, A., Nygaard, et al. Pelvic organ prolapse in the Women's Health Initiative: gravity and gravidity. *Am J Obstet Gynecol.* 2002; 186(6): 1160–66.
- Swift, S., Woodman, P., O'Boyle, A., et al. Pelvic Organ Support Study (POSS): the distribution, clinical definition, and epidemiologic condition of pelvic organ support defects. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; 192(3): 795–806.
- Weintraub, A.Y. Narrative review of the epidemiology, diagnosis and pathophysiology of pelvic organ prolapse / A.Y. Weintraub, H. Gliner, N. Marcus-Braun // *Int. Braz. J. Urol.* – 2020. – Vol. 46 (1). – P. 5–14.
- Persson P., Brynhildsen J., Kjølhede P. Hysterectomy Multicentre Study Group in South-East Sweden. Pelvic organ prolapse after subtotal and total hysterectomy: a long-term follow-up of an open randomised controlled multicentre study. *BJOG.* 2013 Nov; 120(12): 1556–65. doi: 10.1111/1471-0528.12399. Epub 2013 Aug 20. PMID: 24034602.
- Dieter, A.A. Pelvic Organ Prolapse: Controversies in Surgical Treatment. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2021 Sep; 48(3): 437–448. doi: 10.1016/j.ogc.2021.05.001. PMID: 34416930.
- Meriwether, K.V., Antosh, D.D., Olivera, C.K., Kim-Fine, S. "Uterine preservation vs hysterectomy in pelvic organ prolapse surgery: a systematic review with meta-analysis and clinical practice guidelines." *Am J Obstet Gynecol* 219.2 (2018): 129–46.
- Wu, J.M., Matthews, C.A., Conover, M.M. Lifetime risk of stress urinary incontinence or pelvic organ prolapse surgery. *Obstet Gynecol.* 2014; 123(6): 1201–06.
- Gillor, M. Demographic risk factors for pelvic organ prolapse: Do smoking, asthma, heavy lifting or family history matter? / M. Gillor, P. Saens, H.P. Dietz // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2021. – No. 261. – P. 25–28.
- Association between delivery mode and pelvic organ prolapse: A meta-analysis of observational studies / B. Leng, Y. Zhou, S. Du [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2019. – No. 235. – P. 19–25.
- Obesity and pelvic organ prolapse / U.J. Lee, M. H. Kerkhof, S.A. van Leijsen, J.P. Heesakkers // *Curr. Opin. Urol.* – 2017. – No. 27 (5). – P. 428–434. Advancing our understanding of genetic risk factors and potential personalized strategies for pelvic organ prolapse / N. Pujol-Gualdo, K. Läll, M. Lepamets [et al.] // *Nat Commun.* – 2022. – No. 13 (1).
- Vergeldt, T.F., Weemhoff, M., Int'Hout, J., Kluivers, K.B. Risk factors for pelvic organ prolapse and its recurrence: a systematic review. *Int Urogynecol J.* 2015; 26(11): 1559–73.
- Lince, S.L., van Kempen, L.C., Vierhout M.E., Kluivers, K.B. A systematic review of clinical studies on hereditary factors in pelvic organ prolapse. *Int Urogynecol J.* 2012; 23(10): 1327–36.
- Buchsbaum, G.M., Duecy, E.E. Incontinence and pelvic organ prolapse in parous/nulliparous pairs of identical twins. *NeuroUrol Urodyn.* 2008; 27(6): 496–8.
- Samimi, P., Jones, S.H., Giri, A. Family history and pelvic organ prolapse: a systematic review and meta-analysis. *Int Urogynecol J.* ePublication ahead of print. 2020. <https://doi.org/10.1007/s00192-020-04559-z>
- Cartwright, R., Kirby, A.C., Tikkinen, K.A., et al. Systematic review and metaanalysis of genetic association studies of urinary symptoms and prolapse in women. *Am J Obstet Gynecol.* 2015; 212(2): 199 e191–124.
- Allen-Brady, K., Cannon-Albright, L., Farnham, J.M., et al. Identification of six loci associated with pelvic organ prolapse using genome-wide association analysis. *Obstet Gynecol.* 2011; 118(6): 1345–53.
- Murphy-Ryan, M., Psychogios, A., Lindor, N. Hereditary disorders of connective tissue: a guide to the emerging differential diagnosis. *Genetics in Medicine.* 2010; 12(6): 344–54. doi:10.1097/GIM.0b013e3181e074f0.
- Aringer, M., Steiner, G., Smolen, J.S. Does mixed connective tissue disease exist? Yes. *Rheumatic disease clinics of North America.* 2005; 31(3): 411–20. doi: 10.1016/j.rdc.2005.04.007
- Kluivers K.B., Lince S.L., Ruiz-Zapata A.M., et al. Molecular Landscape of Pelvic Organ Prolapse Provides Insights into Disease Etiology. *Int J. Mol. Sci.* 2023 Mar 23; 24(7): 6087. doi: 10.3390/ijms24076087. PMID: 37047060; PMCID: PMC10094264
- Zhao, B.H., Zhou, J.H. Decreased expression of elastin, fibulin-5 and lysyl oxidase-like 1 in the uterosacral ligaments of postmenopausal women with pelvic organ prolapse. *J Obstet Gynaecol Res.* 2012 Jun; 38(6): 925–31. doi: 10.1111/j.1447-0756.2011.01814.x. Epub 2012 Apr 9. PMID: 22487196.
- Tremollieres, F. Tissu conjonctif de soutien et genèse des prolapsus [Connective tissue and prolapse genesis]. *Gynecol Obstet Fertil.* 2010 Jun; 38(6): 388–93. French. doi: 10.1016/j.gyobfe.2010.04.005. Epub 2010 Jun 4. PMID: 20576547.
- Kufaishi, H., Alarab, M., Drutz H. et al. Comparative Characterization of Vaginal Cells Derived From Premenopausal Women With and Without Severe Pelvic Organ Prolapse. *Reprod Sci.* 2016 Jul; 23(7): 931–43. doi: 10.1177/1933719115625840. Epub 2016 Jan 13. PMID: 26763525.

АНАЛІЗ ДИФЕРЕНЦІАЛЬНОЇ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ СТРУКТУРНИХ І РЕГУЛЯТОРНИХ БІЛКІВ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ЯК ЧИННИКІВ, ПОВ'ЯЗАНИХ ІЗ РОЗВИТКОМ ПІХОВОГО ПРОЛАПСУ

О.М. Прощенко, к. мед. н., доцент кафедри акушерства та гінекології № 1 НМУ ім. О.О. Богомольця, м. Київ

Д.О. Говсєєв, д. мед. н., професор, завідувач кафедри акушерства, гінекології та неонатології Інституту післядипломної освіти НМУ ім. О.О. Богомольця, м. Київ

І.Б. Венцківська, д. мед. н., професор кафедри акушерства та гінекології № 1 НМУ ім. О.О. Богомольця, м. Київ

У статті представлено дані про диференціальну експресію генів структурних і регуляторних білків сполучної тканини (COLIA1, фібронектин, еластин, TGF- β_1 , LOX) у жінок із пролапсом тазових органів і стигмами недиференційованої дисплазії сполучної тканини (НДСТ) порівняно із пацієнтками із пролапсом але без стигм НДСТ.

Мета дослідження: аналіз прогностичної значущості диференціальної експресії генів структурних і регуляторних білків сполучної тканини, зокрема COLIA1, фібронектин, еластин, TGF- β_1 , LOX, як чинників, пов'язаних із розвитком піхового пролапсу серед українських жінок.

Матеріали та методи. Зразки вагінальної тканини були взяті у 18 пацієнок у віці менопаузального переходу з піховим пролапсом III, IV ступеня, який потребував оперативної корекції під час вагінальної гістеректомії і/або пластики стінок піхви. Основну групу становили 11 пацієнок із клініко-анамнестичними стигмами НДСТ, до групи порівняння увійшли 7 жінок без таких. Аналіз експресії генів структурних і регуляторних білків позаклітинного матриксу сполучної тканини виконували за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі. Відносну кількість транскриптів досліджених генів нормалізували по рівню експресії гена GAPDH. Дані розраховували за допомогою методу 2- $\Delta\Delta Ct$.

Результати. Виявлено зниження експресії генів основних структурних білків позаклітинного матриксу сполучної тканини COLIA1 ($t=-1,7$; $p=0,044$), фібронектин ($t=1,66$; $p=0,047$), еластин ($t=-1,75$, $p=0,04$), гена регуляторного білка LOX ($t=-1,8$, $p=0,035$) й відсутність статистично значущої різниці по гена TGF- β_1 у пацієнок із пролапсом тазових органів і клініко-анамнестичними стигмами НДСТ.

Висновок. Статистично значуща нижча експресія генів основних структурних білків позаклітинного матриксу сполучної тканини і гена регуляторного білка LOX у пацієнок із пролапсом тазових органів і клініко-анамнестичними стигмами НДСТ є свідченням значимості генетично детермінованої патологічної ремоделювання сполучної тканини в етіології генітального пролапсу.

Ключові слова: пролапс тазових органів, COLIA1, фібронектин, еластин, TGF- β_1 , LOX, стигми недиференційованої дисплазії сполучної тканини.

ANALYSIS OF DIFFERENTIAL EXPRESSION OF GENES OF STRUCTURAL AND REGULATORY PROTEINS OF CONNECTIVE TISSUE AS FACTORS ASSOCIATED WITH THE VAGINAL PROLAPSE

O.M. Proshchenko, PhD, associate professor, Obstetrics and Gynecology Department No. 1, Bogomolets National Medical University, Kyiv

T.O. Govseev, MD, professor, head of the Obstetrics, Gynecology and Neonatology Department of Postgraduate Education, Bogomolets National Medical University, Kyiv

I.B. Ventskivska, MD, professor, head of the Obstetrics and Gynecology Department No. 1, Bogomolets National Medical University, Kyiv

The article presents data on the differential expression of genes of structural and regulatory proteins of connective tissue (COLIA1, fibronectin, elastin, TGF- β_1 , LOX) in women with pelvic organ prolapse and stigmas of undifferentiated connective tissue dysplasia (UCTD) compared to patients with prolapse but without UCTD stigmas.

Research objectives: analysis of the prognostic significance of differential expression of structural and regulatory genes of connective tissue proteins COLIA1, fibronectin, elastin, TGF- β_1 , LOX as factors associated with the vaginal prolapse among Ukrainian women.

Materials and methods. Vaginal tissue samples were taken from 18 patients at the menopausal age with vaginal prolapse III, IV degree, which required surgical correction during vaginal hysterectomy and/or plastic surgery of vaginal walls. The main group included 11 patients with clinical and anamnestic UCTD stigmas, the comparison group included 7 women without it. Gene expression analysis of structural and regulatory proteins of the extracellular matrix of connective tissue was performed using real-time quantitative polymerase chain reaction. The relative number of transcripts of the studied genes was normalized by the expression level of the GAPDH gene. The data were calculated using the 2- $\Delta\Delta Ct$ method.

Results. There was decrease in gene expression of the main structural proteins of the extracellular matrix of the connective tissue: COLIA1 ($t=-1,7$; $p=0,044$), fibronectin ($t=1,66$; $p=0,047$), elastin ($t=-1,75$, $p=0,04$), gene of the regulatory protein LOX ($t=-1,8$, $p=0,035$) and no statistically significant difference in the TGF- β_1 gene in patients with pelvic organ prolapse and clinical and anamnestic UCTD stigmas.

Conclusions. Statistically significant lower expression of the genes of the main structural proteins of the extracellular matrix of the connective tissue and the gene of the regulatory protein LOX in patients with pelvic organ prolapse and clinical and anamnestic UCTD stigmas is evidence of the importance of genetically determined pathological remodeling of the connective tissue in the etiology of genital prolapse.

Keywords: pelvic organ prolapse, COLIA1, fibronectin, elastin, TGF- β_1 , LOX, stigmas of undifferentiated connective tissue dysplasia.