

# POLIMORFIZMI GENA ZA PROGESTERONSKI RECEPTOR U MODULACIJI RIZIKA IDIOPATSKOG SPONTANOG PRIJEVREMENOG PORODA

---

**Kadivnik, Mirta**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:011887>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-22**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)





SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Mirta Kadivnik

**POLIMORFIZMI GENA ZA PROGESTERONSKI  
RECEPTOR U MODULACIJI RIZIKA IDIOPATSKOG  
SPONTANOG PRIJEVREMENOG PORODA**

Doktorska disertacija

Osijek, 2022.

Rad je ostvaren na Klinici za ginekologiju i porodništvo KBC-a Osijek, na Zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek te u Laboratoriju za medicinsku genetiku pri Katedri za medicinsku biologiju i genetiku Medicinskog fakulteta u Osijeku.

Mentor rada: izv.prof.dr.sc. Jasenka Wagner Kostadinović

Komentor rada: prof.dr.sc. Siniša Šijanović, dr.med.

Rad ima 130 listova, 35 tablica i 9 slika.

## Predgovor radu

Istraživanje je provedeno u sklopu projekta VIF2017-MEFOS-3 *Uloga PROGINS mutacija progesteronskih receptora u modulaciji rizika prijevremenog poroda* na Klinici za ginekologiju i porodništvo, na Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku u Kliničkom bolničkom centru Osijek te u Laboratoriju za medicinsku genetiku pri Katedri za medicinsku biologiju i genetiku Medicinskog fakulteta u Osijeku.

Najveća zahvala ide mentorici izv. prof. dr. sc. Jasenki Wagner Kostadinović na njenoj mirnoći, znanju i pomoći koje je udijelila, poticaju koje je pružala te strpljenju koje je imala prilikom izrade ovog doktorata. Bila je pravi mentor u punom smislu te riječi.

Zahvala i komentoru, prof. dr. sc. Siniši Šijanoviću sa savjetima i pomoći oko izrade doktorata.

Također, zahvaljujem svim kolegama i medicinskim sestrama Klinike za ginekologiju i porodništvo, KBC-a Osijek, kolegama i tehničarima na Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek, te tehničarkama Laboratorija za medicinsku genetiku pri Katedri za medicinsku biologiju i genetiku Medicinskog fakulteta u Osijeku, koji su na mnoge načine pomogli u realizaciji ovog istraživanja.

Zahvaljujem prijateljima i kolegama na savjetima tijekom izrade disertacije.

I na kraju, iznimno veliko hvala mojim roditeljima i sestri na izuzetnoj pomoći, podršci i strpljenju.

*Rođenje je misterij. Riječi nisu dovoljne.*

Marie O'Connor



# Sadržaj

Sadržaj.....	I
Popis kratica.....	III
Popis tablica.....	VIII
Popis slika.....	X
1. Uvod.....	1
1.1. Početak poroda.....	1
1.2. Definicija prijevremenog poroda.....	3
1.3. Etiologija prijevremenog poroda.....	3
1.4. Patofiziologija prijevremenog poroda.....	4
1.5. Čimbenici rizika prijevremenog poroda.....	7
1.5.1. Čimbenici rizika majčine opće anamneze.....	8
1.5.2. Čimbenici rizika u porodničkoj anamnezi.....	10
1.5.3. Čimbenici rizika socijalno-ekonomskih uvjeta trudnice i njezine obitelji.....	10
1.5.4. Čimbenici rizika aktualne trudnoće.....	11
1.6. Genetička predispozicija.....	11
1.7. Uloga progesterona u trudnoći i porodu.....	14
1.7.1. Progesteron.....	14
1.7.2. Progesteronski receptor.....	17
1.7.3. Signalizacija progesteron/progesteronski receptor.....	20
1.7.4. Gen za progesteronski receptor.....	24
1.7.5. Varijante gena za progesteronski receptor i prijevremeni porod.....	25
2. Hipoteza.....	29
3. Ciljevi istraživanja.....	30
4. Ispitanici i metode.....	32
4.1. Etička načela i ustroj studije.....	32
4.2. Ispitanici.....	32
4.3. Metode.....	34
4.3.1. Prikupljanje podataka.....	34
4.3.2. Uzorkovanje krvi.....	35
4.3.3. Izolacija DNA iz pune krvi.....	35
4.3.4. Analiza varijanti gena za progesteronski receptor u majke i novorođenčeta.....	36
4.3.5. Određivanje serumske koncentracije progesterona iz venske krvi majke.....	41
4.3.6. Statističke metode.....	42
5. Rezultati.....	44

5.1. Obilježja ispitanika .....	44
5.2. Progesteron .....	46
5.3. Analiza varijanti gena za progesteronski receptor .....	49
5.4. Raspodjela genotipova i alela u skupini prijevremenih poroda u odnosu na obilježja .....	68
5.5. Analiza neravnoteže alelne povezanosti i analiza haplotipova šest izabranih SNP-ova <i>PGR</i> -a.....	74
5.6. Analiza međudjelovanja šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u modulaciji rizika za sPP .....	76
6. Rasprava.....	78
6.1. Analiza serumske koncentracije P4 između skupina ispitanica i kontrolne skupine te izabrane podskupina .....	80
6.1. Analiza raspodjele i učestalosti šest izabranih SNP-ova <i>PGR</i> -a.....	81
6.1. Analiza povezanost izabranih šest SNP-ova s kliničkim značajkama majki i novorođenčadi.....	86
6.2. Analiza neravnoteže alelne povezanosti te analiza haplotipova .....	90
6.3. Analiza međudjelovanja SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupinama majki i pripadajuće novorođenčadi.....	91
6.4. Prednosti i ograničenja istraživanja .....	93
7. Zaključak.....	96
8. Sažetak.....	98
9. Summary.....	100
10. Literatura.....	102
11. Životopis.....	126



## Popis kratica

20 $\alpha$ -HSD	20 alpha hidroksisteroid dehidrogenaza
20 $\alpha$ -OHP	20 alpha hidroksiprogesteron
ADCY5	gen za adenilat ciklazu 5 (engl. <i>Adenylate Cyclase 5</i> )
AF	aktivacijska funkcija
AF-1	aktivacijska funkcija 1
AF-2	aktivacijska funkcija 2
AF-3	aktivacijska funkcija 2
AGTR-2	gen za angiotenzin II receptor tip 2 (engl. <i>Angiotensin II Receptor Type 2</i> )
AUC	površina ispod ROC krivulje (engl. <i>Area Under the Curve</i> )
BMI	indeks tjelesne mase (BMI, engl. <i>Body Mass Index</i> )
cAMP	ciklički adenzin monofosfat (engl. <i>Cyclic Adenosine Monophosphate</i> )
CAP	proteini vezani za kontrakcije (engl. <i>Contraction-Associated Proteins</i> )
CARD6	član regije za aktivaciju kaspaze 6 (engl. <i>Caspase Recruitment Domain Family Member 6</i> )
CARD8	član regije za aktivaciju kaspaze 6 (engl. <i>Caspase Recruitment Domain Family Member 8</i> )
cGMP	ciklički gvanozin monofosfat (engl. <i>Cyclic Guanosine Monophosphate</i> )
CI	interval pouzdanosti (engl. <i>Confidence Interval</i> )
CL	žuto tijelo (engl. <i>Corpus Luteum</i> )
COL4A1	gen za kolagen tip IV $\alpha$ 4 (engl. engl. <i>collagen type IV <math>\alpha</math> 1</i> )
COL4A4	gen za kolagen tip IV $\alpha$ 4 (engl. engl. <i>collagen type IV <math>\alpha</math> 4</i> )
COX-2	ciklooksigenaza 2 (engl. <i>Cyclooxygenase 2</i> )
CRH	kortikotropin oslobađajući hormon (engl. <i>Corticotropin-Releasing Hormone</i> )
CRP	C-reaktivni protein
CX-43	koneksin 43 (engl. <i>Connexin 43</i> )
DBD	DNA vezujuća regija (engl. <i>DNA-Binding Domain</i> )
DEFB1	beta 1 defensin (engl. <i>Defensin <math>\beta</math>1</i> )
DNA	deoksiribonukleinska kiselina (engl. <i>Deoxyribonucleic Acid</i> )

DRIP	međudjelujući protein receptora za vitamin D3 (engl. <i>Hormone-Bound Vitamin D(3) Receptor Interacting Protein</i> )
E2	estrogen
EBF-1	čimbenik ranih B stanica 1 (engl. <i>Early B-Cell Factor 1</i> )
EDTA	etilendiamintetraoctena kiselina
EEFSEC	selenocistein tRNA specifični čimbenik produženja eukariota (engl. <i>Eukaryotic Elongation Factor, Selenocysteine-TRNA Specific</i> )
EGF	epitelni faktor rasta ( eng. <i>Epithelial Growth Factor</i> )
FAM	karboksifluorescin (engl. <i>Carboxyfluorescein</i> )
FPW	funkcionalni pad razine progesterona (engl. <i>Functional Progesterone Withdrawal</i> )
FRET	rezonantni prijenos fluorescentne energije (engl. <i>Fluorescence Resonance Energy Transfer</i> )
GJA1	ciklooksigenaza 2 (engl. <i>Gap Junction Protein Alpha 1</i> )
GABA	γ aminobutirična kiselina (engl. <i>Gamma-Aminobutyric Acid</i> )
GWAS	cjelogenomska analiza povezanosti (engl. <i>Genome-Wide Association Studies</i> )
HIP-2	huntingtin interakcijski protein 2 (engl. <i>Huntingtin-Interactive Protein 2</i> )
HPA	hipofiza-hipotalamus-nadbubrežna žlijezda (engl. <i>Hypothalamic-Pituitary Adrenal Axis</i> )
HPSA1L	član sličan proteinima toplinskog stresa (engl. <i>Heat Shock Protein Family A (Hsp70) Member 1 Like</i> )
IL-1	interleukin 1
IL-1β	interleukin 1β
IL-4	interleukin 4
IL-6	interleukin 6
IL-8	interleukin 8
ILF-2	interleukin 2 pojačan vezujući faktor (engl. <i>Interleukin-Enhanced Binding Factor 2</i> )
ISH	hipoteza izoformnog prekidača (engl. <i>Isoforme Switch Hypothesis</i> )
IUI	unutarmaternična infekcija (engl. <i>Intrauterine Infection</i> )
LBD	C terminalna regija (engl. <i>Ligand Binding Domain</i> )
LCMS	tekući kromatograf i tandemski maseni spektrometar (engl. <i>Liquid Chromatograph/ Tandem Mass Spectrometer</i> )

MAF	učestalost rjeđeg alela (engl. <i>Minor Allele Frequency</i> )
MAPK	mitogenom aktivirana protein kinaza (engl. <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i> )
MBL2	lektin koji se veže za manozu (engl. <i>Mannose Binding Lectin</i> )
MGB	vezač za manji utor (engl. <i>Minor Groove Binder</i> )
MIPP	medicinski inducirani prijevremeni porod (engl. <i>Medically Induced Premature Birth</i> )
MLCK	laki lanac miozin kinaze (engl. <i>Myosin Light Chain Kinase</i> )
MMP-1	matriks metaloproteinaza 1 (engl. <i>matrix metalloproteinase 1</i> )
MMP-9	matriks metaloproteinaza 9 (engl. <i>matrix metalloproteinase 9</i> )
mPR	membranski progesteronski receptor (engl. <i>membrane progesterone receptor</i> )
mPR $\alpha$	membranski progesteronski receptor $\alpha$ (engl. <i>membrane progesterone receptor <math>\alpha</math></i> )
mPR $\beta$	membranski progesteronski receptor $\beta$ (engl. <i>membrane progesterone receptor <math>\beta</math></i> )
mPR $\gamma$	membranski progesteronski receptor $\gamma$ (engl. <i>membrane progesterone receptor <math>\gamma</math></i> )
mRNA	glasnička ribonukleinska kiselina (engl. <i>Messenger Ribonucleic Acid</i> )
miRNA	mikro ribonukleinska kiselina (engl. <i>Micro Ribonucleic Acid</i> )
NK	prirodnoubilačke NK stanice (engl. <i>natural killer cells</i> )
NLRP10	nukleotid vezujuća domena 10 koja sadrži pirin te ponavljajući, leucinom bogati motif (engl. <i>The Nod Like Receptor Family Pyrin Domain Containing 10</i> )
NLRP12	nukleotid vezujuća domena 12 koja sadrži pirin te ponavljajući, leucinom bogati motif (engl. <i>The Nod Like Receptor Family Pyrin Domain Containing 12</i> )
NF $\kappa\beta$	transkripcijski čimbenik kappa beta (engl. <i>Nuclear Factor Kappa-Light-Chain Enhancer of Activated B cells</i> )
NO	dušični oksid (engl. <i>nitric oxide</i> )
NOD2	nukleotid vezujuća oligomerizacijska domena 2 (engl. <i>Nucleotide Binding Oligomerization Domain Containing 2</i> )

nPR	unutarstanični progesteronski receptor (engl. <i>Nuclear Progesterone Receptor</i> )
nPR-A	unutarstanični progesteronski receptor A (engl. <i>Nuclear Progesterone Receptor A</i> )
nPR-B	unutarstanični progesteronski receptor B (engl. <i>Nuclear Progesterone Receptor B</i> )
nPR-C	unutarstanični progesteronski receptor C (engl. <i>Nuclear Progesterone Receptor C</i> )
nPR-M	unutarstanični progesteronski receptor M (engl. <i>Nuclear Progesterone Receptor M</i> )
NTD	N terminalna regulatorna regija (engl. <i>N Terminal Domain</i> )
NQF	nefluorescentni prigušivač (engl. <i>Nonfluorescent Quencher</i> )
OR	omjer vjerojatnosti (engl. <i>Odds Ratio</i> )
OXT	oksitocin (engl. <i>Oxytocine</i> )
OXTR	receptor za oksitocin (engl. <i>Oxytocine Receptor</i> )
P4	progesteron
PCR	lančana reakcija polimerazom (engl. <i>Polimerase Chain Reaction</i> )
PIBF	blokirajući faktor aktiviran progesteronom (engl. <i>The Progesterone-Induced Blocking Factor</i> )
PG	prostaglandin
PGF2 $\alpha$	prostaglandin F2 $\alpha$
<i>PGR</i>	gen za progesteronski receptor (engl. <i>Progesterone Receptor Gene</i> )
PGRMC-1	membranska komponenta progesteronskih receptora 1 (engl. <i>Progesterone Receptor Membrane Component 1</i> )
PGRMC-2	membranska komponenta progesteronskih receptora 2 (engl. <i>Progesterone Receptor Membrane Component 2</i> )
PP	prijevremeni porod
PPROM	prijevremeno prsnuće plodovih ovoja (engl. <i>Preterm Premature Rupture of Membranes</i> )
PR	progesteronski receptor
<i>PTGS2</i>	gen za enzime koji utječu na sintezu lokalnih prostaglandina (engl. <i>Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 2 Gene</i> )
PTHrP	peptid povezan s paratiroidnim hormonom (engl. <i>Parathyroid Hormone-Related Protein</i> )

PTX3	gen povezan s pentraksinom te brzo induciran interleukinom 1 $\beta$ (engl. <i>Pentraxin-Related Gene Rapidly Induced by IL-1<math>\beta</math></i> )
RAAS	renin angiotenzin 2 aldosteron os (engl. <i>Renin-Angiotensin-Aldosterone System</i> )
RAP2C	protein povezan s Rasom 2C (Engl. <i>Ras Related Protein 2C</i> )
RIP140	međudjelujući protein unutarstaničnih receptora 140 (engl. <i>nuclear receptor interacting protein 140</i> )
RNA	ribonukleinska kiselina (engl. <i>Ribonucleic Acid</i> )
RNA-poll1	polimeraza ribonukleinske kiseline (engl. <i>Ribonucleic Acid polymerase</i> )
SH3	regija homologna s koaktivatorima steroidnih receptora 3 (engl. <i>SRC homology 3 domain</i> )
SNP	polimorfizam jednog nukleotida (engl. <i>single nucleotide polymorphism</i> )
sPP	spontani prijevremeni porod
SRC	koaktivator steroidnih receptora (engl. <i>steroid receptor coactivator</i> )
SRC-1	koaktivator steroidnih receptora 1 (engl. <i>steroid receptor coactivator 1</i> )
SRC-2	koaktivator steroidnih receptora 2 (engl. <i>steroid receptor coactivator 2</i> )
SRC-3	koaktivator steroidnih receptora 3 (engl. <i>steroid receptor coactivator 3</i> )
TATA	TATAAA DNA sekvenca
TLR4	toll like receptor 4 (engl. <i>Toll-Like Receptor 4</i> )
TLR10	toll like receptor 10 (engl. <i>Toll-Like Receptor 10</i> )
TNF $\alpha$	tumor nekrotizirajući faktor $\alpha$ (engl. <i>Tumour Necrosis Factor alpha</i> )
VEGF	vaskularni endotelni čimbenik rasta (engl. <i>vascular endothelial growth factor</i> )
WHO	svjetska zdravstvena organizacija (engl. <i>World Health Organisation</i> )
WES	sekvencioniranje cijelog egzoma (engl. <i>whole exome sequencing</i> )
WNT4	član 4 obitelji wingless tipa MMTV integracijske stranice (engl. <i>Wingless-Type MMTV Integration Site Family, Member 4</i> )
ZnF	cink-prst protein (engl. <i>Zinc-Finger Protein</i> )

## Popis tablica

Tablica 1.1. Rizični čimbenici za spontani prijevremeni porod .....	8
Tablica 4.1. Opis i karakterizacija izabranih polimorfizama jednog nukleotida gena za progesteronski receptor.....	37
Tablica 5.1. Opći podaci ispitanica uključenih u istraživanje .....	44
Tablica 5.2. Učestalost čimbenika rizika za prijevremeni porod među ispitanicama i kontrolama .....	45
Tablica 5.3. Serumska koncentracija progesterona u skupinama ispitanica s prijevremenim porodom te kontrola .....	46
Tablica 5.4. Serumska koncentracija progesterona u dvije skupine ovisno o tromjesečjima trudnoće te raspodjeli ovisno o referentnim vrijednostima progesterona.....	47
Tablica 5.5. Raspodjela serumske koncentracije progesterona ovisno o genotipovima u majki .....	48
Tablica 5.6. Učestalost rjeđeg alela šest izabranih SNP-ova gena za progesteronski receptor .....	49
Tablica 5.7. Učestalost genotipova i alela šest analiziranih SNP-ova <i>PGR</i> -a između skupine prijevremenih i terminskih poroda u skupini majki.....	50
Tablica 5.8. Učestalost genotipova i alela šest analiziranih SNP-ova <i>PGR</i> -a između prijevremenih i terminskih poroda u skupini djece .....	51
Tablica 5.9. Modeli nasljeđivanja šest ispitivanih SNP-ova <i>PGR</i> -a te njihova raspodjela između grupa prijevremenih i terminskih poroda u skupini majki .....	52
Tablica 5.10. Modeli nasljeđivanja šest SNP-ova <i>PGR</i> -a te njihova raspodjela između grupa prijevremenih i terminskih poroda u skupini novorođenčadi.....	53
Tablica 5.11. Raspodjela i učestalost genotipova i alela šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u tri podskupine prijevremenih poroda u majki .....	54
Tablica 5.12. Raspodjela i učestalost genotipova i alela šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u tri podskupine prijevremenih poroda u novorođenčadi.....	54
Tablica 5.13. Raspodjela i učestalost genotipova i alela šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupinama ekstremno ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u majki.....	56
Tablica 5.14. Raspodjela i učestalost modela nasljeđivanja genotipova šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupinama ekstremno ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u majki.....	57
Tablica 5.15. Raspodjela i učestalost genotipova i alela šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupinama ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u majki .....	58
Tablica 5.16. Raspodjela i učestalost modela nasljeđivanja genotipova šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupinama ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u majki .....	59
Tablica 5.17. Raspodjela i učestalost genotipova i alela šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupinama kasnih prijevremenih poroda i kontrolnoj skupini u majki .....	60
Tablica 5.18. Raspodjela i učestalost modela nasljeđivanja genotipova šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupinama kasnih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u majki .....	61
Tablica 5.19. Raspodjela i učestalost alela i genotipova šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupinama ekstremno ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u novorođenčadi.....	62
Tablica 5.20. Raspodjela i učestalost modela nasljeđivanja genotipova šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupinama ekstremno ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u novorođenčadi...	63
Tablica 5.21. Raspodjela i učestalost alela i genotipova šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupinama ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u novorođenčadi .....	64
Tablica 5.22. Raspodjela i učestalost modela nasljeđivanja genotipova šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupinama ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u novorođenčadi .....	65

Tablica 5.23. Raspodjela i učestalost alela i genotipova šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupinama kasnih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u novorođenčadi .....	66
Tablica 5.24. Raspodjela i učestalost modela nasljeđivanja genotipova šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupinama kasnih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u novorođenčadi .....	67
Tablica 5.25. Raspodjela i učestalost genetičkih modela nasljeđivanja šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupini prijevremeno rođene novorođenčadi podijeljene ovisno o spolu novorođenčeta....	69
Tablica 5.26. Raspodjela i učestalost genotipova i alela šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupinama terminski i prijevremeno rođene novorođenčadi majki koje su rodile mušku novorođenčad..	70
Tablica 5.27. Raspodjela i učestalost genetičkih modela nasljeđivanja šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupini prijevremeno rođene novorođenčadi podijeljene ovisno o dobi majke .....	71
Tablica 5.28. Učestalost i raspodjela alela i genotipova šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u podskupinama majki ispitanica te majki kontrola koje su starije od 35 godina te podskupina pripadajuće novorođenčadi .....	72
Tablica 5.29. Raspodjela i učestalost modela nasljeđivanja genotipova šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupini prijevremeno rođene novorođenčadi podijeljene ovisno o krvarenju majke tijekom trudnoće .....	73
Tablica 5.30. Učestalost i raspodjela alela i genotipova šest SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupinama prijevremeno i terminski rođene novorođenčadi majki koje su krvarile u trudnoći .....	74
Tablica 5.31. Učestalost haplotipova tri SNP-a <i>PGR</i> (rs1042838, rs1042839, rs1942836) i njihov utjecaj na predispoziciju za sPP u ispitanica i pripadajuće novorođenčadi te kontrola i pripadajuće novorođenčadi .....	75
Tablica 5.32. Prikaz međudjelovanja polimorfizama <i>PGR</i> -a u skupinama majki i novorođenčadi.....	77
Tablica 5.33. Predviđanje vjerojatnosti prijevremenog poroda (bivarijatna i multivarijatna (backward metoda) regresijska analiza) .....	77

## Popis slika

Slika 1.1. Patogeneza prijevremenog poroda .....	5
Slika 1.2. Mehanizam funkcionalnog pada koncentracije progesterona prije početka poroda .....	17
Slika 1.3. Forme ljudskog unutarstaničnog progesteronskog receptora .....	18
Slika 1.4. Položaj ljudskog gena za progesteronski receptor ( <i>PGR</i> ) na kromosomu 11 .....	24
Slika 4.1. Shematski prikaz TaqMan metodologije.....	39
Slika 4.2. Primjer grafičkog prikaza distribucije genotipova.....	41
Slika 5.1. Udio prijevremenih poroda podijeljenih prema tjednima u ukupnom broju prijevremenih poroda.....	46
Slika 5.2. Uzorak analize neravnoteže alelne povezanosti (LD, engl. linkage disequilibrium) šest izabranih SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupini majki. ....	75
Slika 5.3. Uzorak analize neravnoteže alelne povezanosti (LD, engl. linkage disequilibrium) šest izabranih SNP-ova <i>PGR</i> -a u skupini novorođenčadi. ....	76



## 1.Uvod

Porod je proces kojim se novorođenče porađa iz maternice u vanmaternični okoliš, a prethodi mu interakcija majčinih i fetalnih faktora. Za porod je potrebno da maternica, koja je tijekom trudnoće u stanju mirovanja, razvije koordinirane kontrakcije te da se vrat maternice širi dopuštajući izlaz novorođenčetu kroz porodni kanal. Treći je uvjet za sam porod sazrijevanje organa novorođenčeta koji su potrebni za preživljenje u uvjetima izvan maternice te promjene na majčinih organima koje će osigurati laktaciju (1).

### 1.1. Početak poroda

Sve je više dokaza da je početak poroda, bilo terminskog bilo prijevremenog, posljedica upalnog odgovora unutar maternice i vrata maternice. Isto tako dokazano je da se maternica održava u mirnom stanju tijekom trudnoće zahvaljujući protuupalnom djelovanju progesterona (P4) koji djeluje preko svojih unutarstaničnih receptora (2). Navedeno se ponajbolje vidi u povišenoj koncentraciji proupalnih citokina kao što je interleukin  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) u plodovoj vodi (3) te infiltraciji miometrija, vrata maternice i plodovih ovoja makrofagima i neutrofilima (4–6) neposredno pred sam porod. Navedene upalne stanice dalje aktiviraju transkripcijski čimbenik kappa beta (NF $\kappa\beta$ , engl. *Nuclear Factor Kappa-Light-Chain Enhancer of Activated B cells*) te ostale proupalne transkripcijske faktore u stanicama miometrija (6,7) te epitelnim stanicama vrata maternice i plodovih ovoja (8–10). NF $\kappa\beta$  pojačava izražaj gena koji dovode do pojačane kontraktilnosti miometrija, uključujući receptore za prostaglandin F $2\alpha$  (PGF 2 $\alpha$ , engl. *prostaglandine F2 $\alpha$* )(11), protein međustaničnih spojnica (engl. *gap junction*) CX-43 (engl. *connexin 43*) (12), receptore za oksitocin (OXTR, engl. *oxytocine receptors*) (13) te ciklooksigenazu 2 (COX-2, engl. *cyclooxygenase 2*) (14). Jedina razlika između terminskog i prijevremenog poroda jest što do ovog slijeda događaja u terminskom porodu dolazi radi rastezanje maternice zbog rasta ploda (15,16) te hormonske signalizacije kao posljedica razvoja osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda (HPA axis, engl. *hypothalamic-pituitary-adrenal axis*) u ploda

## 1.Uvod

(6,17–19), dok je u slučaju prijevremenog poroda taj slijed događaja najčešće povezan s infekcijom unutar plodovih ovoja (20).

Sam proces poroda može se podijeliti u četiri faze (1,21).

Faza 0 (tiha faza) traje tijekom većeg dijela trudnoće, a uključuje stanje mirovanja maternice. Čimbenici koji utječu na relaksaciju miometrija uključuju P4, relaksin, prostacikline, peptid povezan s paratiroidnim hormonom (PTHrP, engl. *Parathyroid Hormone-Related Protein*) te dušični oksid (NO, engl. *nitric oxide*) (22). Različitim putevima djelovanja ti čimbenici povećavaju unutarstaničnu razinu cikličkog adenzin-monofosfata (cAMP, engl. *cyclic adenosin-monophosphate*) ili cikličkog gvanozin-monofosfata (cGMP, engl. *cyclic guanosin-monophosphate*) u stanicama miometrija. Navedeni nukleotidi zaustavljaju otpuštanje kalcija u stanice te smanjuju aktivnost lakih lanaca miozin kinaze (MLCK, engl. *myosin light chain kinase*) koji su bitni za skraćivanje mišićnih vlakana te kontraktilnost miometrija.

U fazi 1 dolazi do aktivacije miometrija, a što je posljedica dviju aktivnosti (23):

- (I) pokretanja HPA osi kao posljedice zrelosti ploda, što dovodi do pojačanog stvaranja kortizola u nadbubrežnim žlijezdama ploda te posljedično stvaranja COX-2 i prostaglandina (PG) (24). PG dalje potiču stvaranje posteljiničnog estrogena (E2) koji zatambljuje aktivnost progesteronskih receptora (PR) (1). Kortizol također potiče sazrijevanje fetalnih pluća te stvaranje glavnog proteina surfaktanta A (SP-A, engl. *Surfactant Protein A*), što je također jedan od impulsa za početak poroda (25).
- (II) širenja maternice, što dovodi do pojačanog izražaja gena proteina vezanih uz kontrakcije (CAPs, engl. *contraction-associated proteins*). Navedeni proteini uključuju koneksin 43 (CX-43, engl. *connexin 43*) koji je glavni protein međustaničnih spojnica, receptore agonista koji potiču kontraktilnost miometrija, kao što je oksitocin (OXTR, engl. *oxitocine receptors*) te proteine ionskih kanala. Izražaj navedenih gena pozitivno je reguliran E2, a negativno P4. Isto tako izražaj CAPs-a pojačan je u prijevremenom porodu, ali ne i kada su kontrakcije miometrija zaustavljene djelovanjem P4 (26).

Faza 2 faza je stimulacije miometrija. Dolazi do stimulacije kontrakcija miometrija, skraćivanja vrata maternice te širenja ušća maternice. Iako je opisan velik broj agonista koji stimuliraju kontrakcije miometrija, uvjerljivi podaci postoje samo za

## 1.Uvod

okситоцин (OXT, engl. *oxitocine*) te stimulirajuće PG (27). Sazrijevanje vrata maternice, kao priprema za porod, posljedica je promjena u sastavu proteina izvanstaničnog matriksa, što uključuje razgradnju kolagena te porast koncentracije glikozaminoglikana (28).

Nakon poroda novorođenčeta i posteljice nastupa 3. faza poroda ili faza involucije. Tijekom 3. faze poroda mišićje maternice te vrat maternice vraćaju se u prvobitno stanje prije trudnoće (1).

### 1.2. Definicija prijevremenog poroda

Svjetska zdravstvena organizacija (WHO, engl. *World Health Organisation*) definira prijevremeni porod (PP) kao porod prije 37 punih tjedana trudnoće ili manje od 259 dana od prvog dana posljednje menstruacije u majke (29,30). PP se može smatrati lošim ili dobrim ishodom trudnoće, ovisno o slučaju da plod nije uspio doći do željene terminske gestacijske dobi ili o slučaju da se izbjegao kasni pobačaj ili nevijabilna trudnoća (31). Određivanje gestacijske dobi određuje se na temelju podatka o prvom danu zadnje mjesečnice u majke, uz mogućnost ispravka gestacijske dobi ovisno o ultrazvučnom nalazu u ranoj fazi trudnoće. Donja granica PP-a, prema definiciji WHO, postavljena je na 22 tjedna (32). U Republici Hrvatskoj isto je usvojeno 2001. godine (33).

### 1.3. Etiologija prijevremenog poroda

PP je globalni javnozdravstveni problem (31). Udio PP-a je od 5% svih poroda u Europi do čak 18 % u predjelu Južne Amerike (34). Godine 2010. u svijetu je bilo 15 milijuna prijevremeno rođene djece (34,35) te je Blencowe sa suradnicima 2012. godine iznio stopu PP-a, a prema podacima iz 99 zemalja, od 11,1 % (34). U Republici Hrvatskoj stopa PP-a od 1991. do 2014. godine kretala se između 6,19 % i 6,97 %, s tim da se od 2008. godine bilježi stalan blagi porast stope prijevremeno rođene djece (36). Unatoč velikim naporima u prevenciji te liječenju PP-a postoji trend porasta njegove incidencije (37,38). Porast incidencije PP-a velikim dijelom objašnjava se porastom stope medicinski induciranih PP-a (MIPP, od engl. *medically induced premature birth*) (39). Smatra se da je prematuritet drugi najveći uzročnik neonatalnog

## 1.Uvod

mortaliteta u svijetu (40). Uzrok je neonatalnog mortaliteta u 70 % slučajeva, a neonatalnog morbiditeta u 75 % slučajeva (41).

Standardni sustav podjele PP-a uključuje podjelu prema gestacijskoj dobi, načinu nastanka PP-a te etiologiji ili patofiziološkom mehanizmu koji dovodi do PP-a (42).

Prema načinu nastanka PP može biti: (I) medicinski inducirani PP (MIPP, engl. *medically induced premature birth*), koji je induciran zbog medicinskih stanja koja ugrožavaju majku i/ili novorođenča, a čini oko 30 % od ukupnog broja PP-a; te (II) spontani prijevremeni porod (sPP), s ili bez prijevremenog prsnuća plodovih ovoja (PPROM, engl. *Preterm Premature Rupture of Membranes*). sPP čini oko 70 % od ukupnog broja PP-a (43).

Prema trajanju trudnoće, a prema definiciji WHO, PP se dijeli na tri podskupine (32): (I) izrazito ili ekstremno rani PP, prije navršenog 28. tjedna trudnoće; (II) rani PP, između navršenih 28 te 31+6 tjedana trudnoće; te (III) kasni PP, između navršenih 32 te 36+6 tjedana trudnoće. Izrazito rani PP čini 5 % od ukupnog broja PP-a, rani prijevremeni PP čini 35 %, dok kasni PP oko 60-70 % od ukupnog broja PP-a (43).

Etiologija PP-a multifaktorijalna je te je zasad još uvijek nedovoljno razjašnjena (43,44). Do sada nije utvrđeno je li PP posljedica međudjelovanja više patofizioloških puteva ili je posljedica zasebnog djelovanja više pojedinih patofizioloških puteva (45).

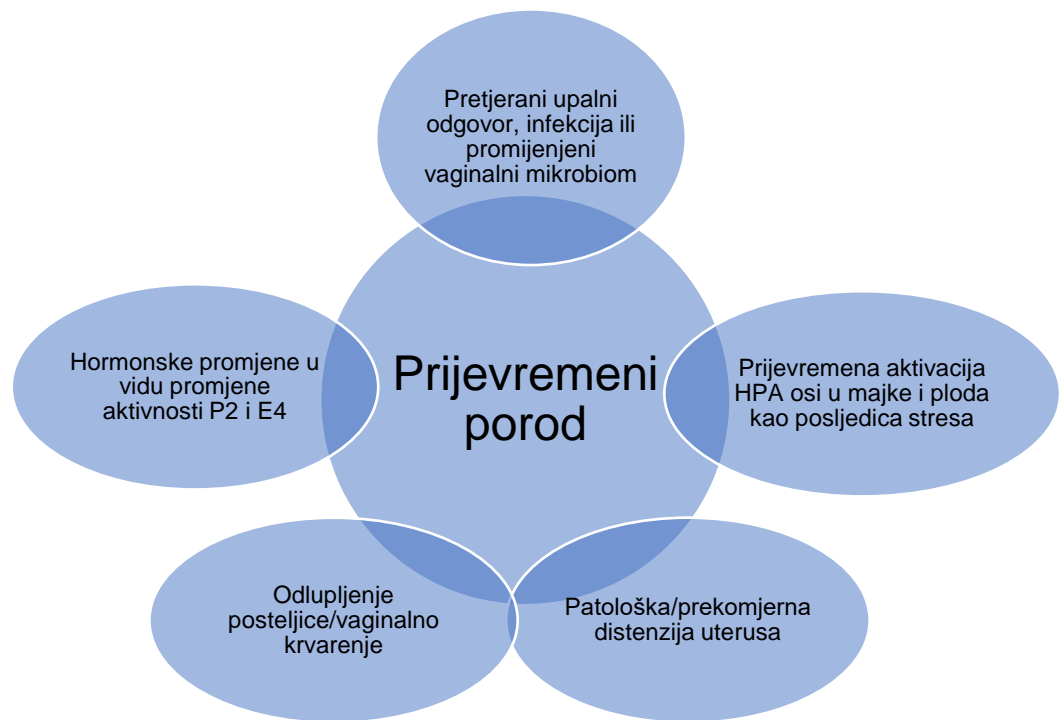
Mnogo slučajeva PP-a teško je klasificirati unatoč detaljnom sustavu klasifikacije. Razlog tomu može biti da se radi o nepostojanju patoloških stanja prije samog poroda koji mogu dovesti do PP-a ili da se radi o postojanju više patoloških stanja koja mogu dovesti do PP-a ili pak da se radi o postojanju patoloških stanja prije PP-a, a koja se ne mogu povezati s PP-om.

### 1.4. Patofiziologija prijevremenog poroda

Prijevremeni, kao i terminski porod, nastupa kao posljedica aktivacije puteva koji dovode do sazrijevanja vrata maternice, aktivacije kontraktilnosti maternice te prsnuća plodovih ovoja. Osnovna je razlika što sPP nastupa kao posljedica dijelom patoloških procesa koji prerano aktiviraju dio navedenih puteva.

sPP se danas smatra sindromom koji je potaknut putem više različitih mehanizama, a koji su prikazani na slici 1.1. (46).

## 1.Uvod



Slika 1.1. Patogeneza prijevremenog poroda

Pet je glavnih patogenih puteva uključeno u sPP:

- (I) Prijevremena aktivacija HPA osi u majke ili ploda, a kao posljedica stresa

Iako točan mehanizam kojim stres uzrokuje PP za sada još nije u potpunosti razjašnjen, poznato je da je u navedenom mehanizmu bitna funkcija kortikotropin oslobađajućeg hormona (CRH, engl. *corticotropine releasing hormone*) (47). Isti se stvara i u hipotalamusu majke i u posteljici, a prema teoriji Rogera Smitha o *posteljичnom satu početka poroda* svojim utjecajem na druge hormone te citokine dovodi do početka poroda (48). CRH je povišen i u slučaju termenskog poroda i PP-a. U drugom tromjesečju majke čija je serumska koncentracija CRH-a povišena, imaju veći rizik za sPP-om (48,49). Pretpostavka je da se utjecaj CRH na početak poroda vidi u njegovom utjecaju na povišeno stvaranje kortizola i PG-a (50,51) te stvaranje hiperestrogenog okoliša (52).

- (II) Pretjerani upalni odgovor, infekcija i/ili promijenjen vaginalni mikrobiom

## 1.Uvod

Uzrok je u 25-40 % slučajeva PP-a (53,54). Dokazuje se na temelju kliničkih simptoma te histološkog dokaza akutne upale plodovih ovoja ili povišenih proupalnih citokina u plodovoj vodi (55). Kao odgovor na upalu aktivira se prirodni imunološki odgovor u majke koji dalje potiče djelovanje proupalnih citokina kao što su interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6) i tumor nekrotizirajući faktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ , engl. *tumor necrosis factor  $\alpha$* ) te neutrofila, monocita i kemokina (56–59).

### (III) Odlupljenje posteljica/decidualno krvarenje

Bilo koji oblik vaskularnog poremećaja u vidu oštećenja krvnih žila posteljice potiče sPP izazivajući uteroplacentarnu ishemiju (55). Za sada se samo pretpostavlja kojim mehanizmom uteroplacentarna ishemija dovodi do sPP-a. U obzir dolazi promjena u renin angiotenzin aldosteronskom sustavu (RAAS, engl. *renin angiotensin aldosterone system*) (60). Naime, uteroplacentarna ishemija potiče stvaranje renina u maternici (61,62), a njegov metabolit angiotenzin II može izravno ili neizravno pojačati kontrakcije maternice (63). U slučaju da je uteroplacentarna ishemija iznimno teška te da dovede do nekroze decidue i krvarenja, sPP-a može biti posljedica i povišene koncentracije samog trombina koji se posljedično stvara (64–67).

### (IV) Patološko/prekomjerno širenje maternice

U slučaju prekomjernog širenja maternice, kao što se događa u slučaju višeploidne trudnoće (68) ili polihidramnija (povišena količina plodove vode) (69), mehaničke sile mogu dovesti do niza promjena, a što rezultira kontrakcijama maternice ili prsnućem plodovih ovoja. Unatoč rastu ploda i posteljice pritisak unutar plodovih ovoja ostaje relativno konstantan tijekom cijele trudnoće, prvenstveno zahvaljujući relaksirajućem utjecaju P4 (70) te endogenih relaksanasa miometrija (71) na stanice miometrija. Pretjerano rastezanje maternice, međutim, može izazvati pojačanu kontraktilnost miometrija (72), pojačani izražaj međustaničnih spojnica te CX-43 (73), pojačano stvaranje PG-a (74) te povišenu koncentraciju OXTR u miometriju (75). Pojačan izražaj gena vezanih za kontraktilnost miometrija, a potaknut rastezanjem maternice tijekom trudnoće, prvenstveno je zaustavljen zahvaljujući utjecaju P4 (73).

Isto tako, prekomjerno širenje maternice, aktivirajući gene za transkripcijske kofaktore interleukin 2 pojačan vezujući faktor (ILF-2, engl. *interleukin-enhanced binding factor*

## 1.Uvod

2) te huntingtin interakcijski protein (HIP-2, engl. *huntingtin-interacting protein 2*), može dovesti do prijevremenog prsnuća plodovih ovoja (76). Također, prekomjerno širenje maternice, aktivirajući Interleukin-8 (IL-8) (77–80), matriks metaloproteinazu 1 (MMP-1, engl. *matrix metalloproteinase 1*) (81), PG (82–84) te NO (85), može dovesti do razgradnje izvanstaničnog matriksa vrata maternice te njegovog prijevremenog sazrijevanja. Sve navedeno posljedično može dovesti do sPP-a.

### (V) Hormonske promjene u vidu promjene aktivnosti P4 i E2

P4 sudjeluje u održavanju maternice mirnom kroz smanjenje stvaranja međustaničnih spojnica, inhibiciju sazrijevanja vrata maternice te smanjenje stvaranja kemokina kao što je IL-8 (86–89). Posljedično tome, smanjena aktivnost P4 bitna je za početak poroda. U suprotnosti s djelovanjem P4, E2 pojačava kontraktilnost miometrija te potiče sazrijevanje vrata maternice (87–89).

Svaki od ovih puteva ima različit epidemiološki i klinički profil te zasebne biokemijske puteve koji potiču porod, ali dijele zajednički završni biokemijski put. Taj zajednički put uključuje uterotonine kao što su PG-i i endotelni faktor rasta (EGF, engl. *endothelial growth factor*) te aktivaciju i stimulaciju miometrija i razgradnju izvanstaničnog matriksa pomoću metaloproteinaza uz pomoć upalnih citokina te programirane smrti stanica, a što dovodi do ranih promjena vrata maternice te prsnuća plodovih ovoja (90–93).

Na temelju dosadašnjih istraživanja samo je sindrom intraamnijske infekcije sa sigurnošću povezan s početkom sPP-a (94). Svi ostali mehanizmi koji dovode do sPP-a svoju osnovu za povezanost s istim temelje na raznim epidemiološkim, kliničkim ili eksperimentalnim studijama (95).

## 1.5. Čimbenici rizika prijevremenog poroda

Za mnoge sociodemografske, prehrambene, medicinske, okolišne čimbenike rizika te čimbenike rizika vezane uz samu trudnoću pokazalo se da povećavaju rizik za sPP (43,96). U idealnoj situaciji detekcija rizičnih čimbenika za sPP odvila bi se prije samog začeća ili u ranoj fazi trudnoće te bi omogućila zahvate u cilju prevencije istog.

## 1.Uvod

Rizične čimbenike za sPP najčešće razvrstavamo u četiri skupine (tablica 1.1.).

Tablica 1.1. Rizični čimbenici za spontani prijevremeni porod

Čimbenici rizika majčine opće anamnezu	Čimbenici rizika porodničke anamneze majke	Čimbenici rizika socioekonomskog statusa trudnice i njezine obitelji	Čimbenici rizika aktualne trudnoće
ekstremna dob majke (< 18 te > od 35 godina)	višeplodna trudnoća	psihološki i/ili socijalni stres	vaginalno krvarenje tijekom trudnoće
etnička pripadnost majke	unutarmaternalna infekcija	simptomi depresije	operativni zahvati tijekom 2. ili 3. tromjesečja trudnoće
pušenje majke			skraćivanje vrata maternice
razina edukacije majke			stanja vezana uz majku ili dijete
stanje uhranjenosti majke			
vaginalne infekcije			
ostale negenitalne infekcije			

### 1.5.1. Čimbenici rizika majčine opće anamneze

Rizik za prijevremeni porod viši je u oba ekstrema dobi majke, bilo u adolescentnih majki (dob ispod 17 godina) ili majki starije životne dobi (dob iznad 35 godina) (97–99). Meta analiza kohortnih studija Kozuki i suradnika utvrdila je da žene koje nisu rađale, a životne su dobi ispod 18 godina, imaju najveći rizik za sPP-a od svih kategorija dobi i pariteta (100), dok je studija Jiang i suradnika pokazala da majke u dobi ispod 20 godina imaju 6.6 puta veći rizik za PP, a majke u dobi iznad 35 godina imaju 4.4 puta veći rizik za sPP u odnosu na majke u skupini od 25-29 godina starosti (45).

Etnička pripadnost majke također je jedan od bitnih rizičnih čimbenika. U majki crne rase udio sPP-a čak je 16-18 % od ukupnog broja poroda, za razliku od majki bijele rase, gdje je udio u ukupnom broju poroda 5-9 % (43). Majke crne rase također imaju veći rizik za izrazito rani sPP (101,102).

Niska razina edukacije u majke također je povezana sa sPP-om iako se taj rizični čimbenik može teško odijeliti od faktora majki mlađe životne dobi (103).

Nekoliko prospektivnih istraživanja ukazalo je na povezanost pušenja s povećanim rizikom za sPP-a (104,105). Smatra se da uživanje duhanskog dima



## 1.Uvod

neizravno utječe na rizik za sPP-a smanjujući majčin imunitet. To neposredno povećava rizik za unutarmaterničnu infekciju, pojačanom produkcijom PG-a ili smanjenom sintezom kolagena (106). Također, nikotin i ugljični monoksid djeluju kao snažni vazokonstriktori koji ograničavaju uteroplacentarni protok krvi, što posljedično može dovesti do sPP-a (107).

Jedan od bitnih rizičnih čimbenika za sPP jest i stanje uhranjenosti majke (43). Stanje uhranjenosti može se iskazati indeksom tjelesne mase ( BMI, engl. *body mass index*) te određivanjem serumske koncentracije raznih analita kao što su željezo, folati i/ili cink u krvi majke (108–110). Nizak BMI povezan je s visokim rizikom za sPP-om, dok pretilost može djelovati zaštitno (110). Nizak BMI majke može dovesti do sPP-a zbog smanjenog volumena krvi te smanjenog protoka krvi kroz maternicu (111). Trudnice sa niskom serumskom koncentracijom cinka, folata ili željeza imaju viši rizik za sPP (108,109). Trudnice s niskim BMI također konzumiraju manje količine vitamina i minerala, što potencijalno dovodi do smanjenog protoka krvi te povišenog rizika za infekcije i posljedično sPP-a (112).

Rizični čimbenik za sPP jest i kratak vremenski razmak između dviju trudnoća (113). Razmak između dviju trudnoća kraći od šest mjeseci povećava rizik za sPP-om više od dva puta (114). Jedno od potencijalnih objašnjenja mehanizma koji dovodi do sPP-a jest da maternica treba određeno vremensko razdoblje da se vrati u prvotno stanje. Drugo je objašnjenje manjak vitamina, minerala i aminokiselina u majke neposredno nakon poroda. Kratak interval između dvaju poroda onemogućuje nadoknadu istih.

Infekcija rodnice također je jedan od rizičnih čimbenika. Svakako je najzastupljenija bakterijska vaginoza koja nastaje kao posljedica promjene u mikrobiomu vagine. Mehanizam kojim bakterijska vaginoza dovodi do PP-a nije u potpunosti poznat, no pretpostavlja se da dolazi do uzlaznog ulaska bakterija u uterus u ranoj fazi trudnoće (115,116).

Od ostalih genitalnih infekcija sa sPP-om najčešće se povezuju vaginalna infekcija kao posljedica raznih uzročnika kao što su *Trichomonas vaginalis* (117), *Chlamydia Trachomatis* (118) te *Syphylis i Gonorrhoea* (119).

## 1.Uvod

Također, nekoliko je negenitalnih infekcija, poput upale bubrega, asimptomatske bakteriurije, upale pluća te upale crvuljka, povezano s većom pojavnošću sPP-a (120,121).

### 1.5.2. Čimbenici rizika u porodničkoj anamnezi

Višeplodna trudnoća jedan je od čimbenika rizika za sPP. Čak 15-20 % od ukupnog broja sPP-a otpada na višeploidne trudnoće, dok je čak 60 % blizanaca rođeno prijevremeno. Pretpostavka je da je uzrok sPP-a u višeploidnih trudnoća pretjerana rastegnutosť maternice, što dovodi do kontrakcija maternice te prijevremenog prsnuća plodovih ovoja (46). Taj mehanizam objašnjava i vezu broja plodova u maternici s duljinom trajanja trudnoće. Većina dvojaka rođena je između 33 i 35 tjedana trudnoće, većina trojaka između 30 i 32 tjedna trudnoće, a većina četvoraka između 28 i 29 tjedana trudnoće (33).

Još jedan bitan čimbenik rizika za sPP jest unutar maternična infekcija (122,123). Studija Goldenberga i suradnika predmnijeva da je IUI (engl. *intrauterine infection*) uzrok PP-a u čak 25-40 % (123). Mehanizam kojim IUI dovodi do sPP-a povezan je s pojačanom aktivacijom urođenog imunološkog sustava u majke (46).

### 1.5.3. Čimbenici rizika socijalno-ekonomskih uvjeta trudnice i njezine obitelji

Psihološki ili socijalni stres kojem mogu podlijegati trudnice, povećava rizik za sPP-om oko dva puta (124,125). Pretpostavlja se da u mehanizmu nastanka sPP-a u ovom slučaju ulogu ima CRH. Isto tako, uočeno je da je u trudnica koje su izložene stresnom događaju povišena serumska koncentracija nekih markera upale, kao što je C reaktivni proteina (CRP) (126). To saznanje upućuje da bi sistemski upalni odgovor na stresne situacije mogao izazvati sPP.

Čak 35 % trudnica tijekom trudnoće ima neki od depresivnih simptoma, a njih do 16 % smatra da ima klinički depresivni sindrom (127,128). Određeni broj istraživanja povezuje simptome depresije s povećanim rizikom za sPP (129,130). Mehanizam djelovanja na koji depresija dovodi do sPP-a za sada je nepoznat, ali postoji povezanost između depresivnog raspoloženja te snižene aktivnosti,

## 1.Uvod

prirodnoubilačkih, NK stanica (NK, engl. *natural killer cells*) te povišene serumske koncentracije proupalnih citokina i njihovih receptora, što može dovesti do sPP-a (131).

### 1.5.4. Čimbenici rizika aktualne trudnoće

Vaginalno krvarenje u prvom ili drugom tromjesečju trudnoće, kao i vaginalno krvarenje kao posljedica odlupljenja posteljice ili predležee posteljice, također je povezano s sPP-om (132).

Neka stanja vezana uz majku (polihidramnion, oligohidramnion, bolesti štitnjače, dijabetes, hipertenzija, operacije na grliću maternice, anomalije maternice) (133–135) te djeteta (zastoj u rastu djeteta, prirođene greške u razvoju) te trudnoće iz postupaka medicinski potpomognute oplodnje (136) rizični su čimbenici za PP.

Različiti operativni zahvati tijekom drugog i trećeg tromjesečja trudnoće mogu dovesti do kontrakcija maternice, što dovodi do sPP-a (137).

Jedan je od rizičnih čimbenika i prijevremeno skraćivanje vrata maternice, što se može utvrditi ginekološkim i ultrazvučnim pregledom (138–140). U razdoblju od 18. do 24. tjedna trudnoće dužina vrata maternice ispod 25 mm povezana je s 4.4 puta višim relativnim rizikom za sPP (141). Što je kraći vrat maternice, veći je rizik za sPP-om (138,139).

## 1.6. Genetička predispozicija

Jedan od dobro poznatih čimbenika rizika za sPP jest majčina i/ili fetalna genetička predispozicija.

Nekoliko je istraživanja do sada poduprlo genetičku predispoziciju za sPP. Tako je istraživanje Varnera i suradnika pokazalo da je 20-40 % varijacija u vremenu početka poroda posljedica genetičke predispozicije (142), dok je istraživanje Bezolda i suradnika pokazalo da je 25-40 % varijacija u vremenu početka poroda posljedica genetičke predispozicije (143).

Istraživanja su također pokazala da u slučaju različitih etničkih skupina postoji veći rizik za sPP-om (144–147) i to za 1.5 puta veći u slučaju azijskog etniciteta u

## 1.Uvod

odnosu na bijeli etnicitet (148). Rizik za sPP također je izražen u slučaju afroameričkog etniciteta u odnosu na bijeli (102,149).

Jedan od glavnih rizičnih čimbenik za SPP u majki prethodni je sPP u osobnoj anamnezi, s najvećom predispozicijom u majki čiji je prethodni sPP bio prije 27. tjedna trudnoće. Rizik za sPP također se povećava s brojem prethodnih sPP-a (150). Istraživanje Mercera i suradnika pokazalo je da trudnice s prijašnjim sPP-om u anamnezi imaju 2.5 puta veći rizik da će im sljedeći porod biti prijevremen (151). Isto tako, rizik za sljedeći sPP obrnuto je povezan s gestacijskom dobi prethodnog sPP-a. Mercer i suradnici također su pokazali da će 5 % majki koje su imale izrazito rani PP (23-28 tjedana trudnoće) roditi prije 28. tjedna trudnoće i u sljedećoj trudnoći (151).

U konačnici, majke koje su u obiteljskoj anamnezi imale sPP, također imaju povišen rizik za sPP(152). Naime(153), majke čije su majke, sestre ili ženske rođakinje imale PP u većem su riziku da će imati PP(153–155).

Istraživanja su pokazala da su i majčini geni i geni djeteta uključeni u početak sPP-a (156–158). Udio utjecaja majčinih gena na početak sPP-a, ovisno o istraživanjima, uvelike varira, od 15 % (159,160) do čak 40 % (161–163).

Veliko istraživanje Yorka i suradnika prikazalo je da je udio utjecaja djetetovih gena na početak PP-a 13.1 %, dok je udio utjecaja majčinih gena 20.6 % (157). Ta je studija bitna i stoga što je ukazala da najveći utjecaj na SPP ipak leži u okolišnim, odnosno faktorima povezanim s trudnoćom (ukupno 56 %). U sličnom istraživanju udio genetičke varijabilnosti ploda na modulaciju rizika sPP-a bio je 11-35 %, a udio majčinih genetičkih varijacija bio je 13-20 % (164). Istraživanje Svenssona i suradnika pokazalo je da je utjecaj majčinih gena na PP ukupno 25 %, a utjecaj djetetovih gena 5 % (152). Ta su istraživanja u suprotnosti s dvama norveškim, koja smatraju da utjecaj genetičkih varijacija u djeteta ima veći utjecaj na rizik sPP-a (165,166).

Utjecaj očevih gena na sPP nešto je rjeđe istraživano. Istraživanja koja su provedena ukazala su da očevi geni nemaju utjecaj na početak sPP-a (162) ili da je taj utjecaj minimalan (6 %) (159). Ipak, istraživanje Palomara i suradnika pokazalo je da majčino naslijeđe, uz očevo, modificira rizik za sPP (146).

Za utvrđivanje genetičkih varijanti koje mogu utjecati na povećanu pojavnost sPP-a do sada su se koristile studije vezanosti gena (engl. *linkage*), analize genetičke povezanosti (engl. *genetic association studies*) te cijelogenomske analize povezanosti (GWAS, engl. *genome-wide association studies*).

## 1.Uvod

Za razliku od studija vezanosti gena i fenotipa, koje podrazumijevaju analizu genskih biljega u populaciji srodnika, analize genetičke povezanosti temelje se na istraživanju učestalosti alelnih varijanti manjeg broja izabranih polimorfizama jednog nukleotida (SNP, engl. *single nucleotide polymorphism*) u populaciji nesrodnih, oboljelih i kontrolnih ispitanika (167). Do sada su istraživanja genetičke povezanosti identificirala varijante sekvence potencijalnih gena kandidata majke (*TNF $\alpha$* , *IL-4*, *IL-6*, *VEGF*, *faktor Va*) i ploda (*TNF $\alpha$* , *IL-1*, *IL-4*, *MMP1*, *MMP9*, *TLR4*) koji se mogu povezati s sPP-om (142,168).

Napredak tehnologije omogućio je da se u istraživanje uključi velik broj SNP-ova koji bi mogli biti povezani s nekom bolešću, a u obliku GWAS studija. Iste se provode na velikom uzorku od nekoliko tisuća ispitanika te imaju visoku specifičnost (169).

Prve dvije velike GWAS studije bile su bazirane na majčinu genomu (170,171) te nisu našle bitnu povezanost određenih SNP-ova majčina genoma sa sPP-om. Iste su studije proučavale i povezanost fetalnog genoma sa sPP-om te je samo studija Zhanga sa suradnicima iz 2015. godine pronašla povezanost dva SNP-a sa sPP-om. S obzirom na broj ispitanika i ograničenja studije povezanost je, međutim, samo preliminarna.

Nakon toga, veliko GWAS istraživanje Zhanga i suradnika iz 2017. godine izdvojilo je 14 lokusa majke kod kojih je nađena povezanost s trajanjem trudnoće i/ili SPP-om, od kojih su tri (*EBF1*, *EEFSEC* i *AGTR2*) povezana i s dužinom trajanja trudnoće i sa SPP-om, dok su tri (*WNT4*, *ADCY5* i *RAP2C*) povezana s trajanjem trudnoće, ne i sa SPP-om (172). Isti lokusi pronađeni su i u fetalnom genomu, ali je povezanost tih lokusa sa SPP-om bila upola manja.

Povezanost fetalnog genoma sa SPP-om te trajanjem trudnoće, uz prethodno navedene GWAS studije, proveli su još i Rappaport sa suradnicima (173) te Liu sa suradnicima (174). Rappaport sa suradnicima pronašao je povezanost dvaju lokusa u fetalnom genomu, rs17591250 na kromosomu 1 u afričkoj populaciji te rs1979081 na kromosomu 8 u miješanoj populaciji Amerikanaca, sa sPP-om. Te rezultate, ipak, s obzirom na ograničenja studije, treba uzeti s rezervom. S druge strane, najveća GWAS studija koja je tražila povezanost fetalnog genoma sa sPP-om, ona Liua i suradnika, našla je povezanost samo jednog lokusa, rs7594852, u fetalnom genomu (2q13) s dužinom trajanju trudnoće (174).

## 1.Uvod

Barbitoff sa suradnicima u svom istraživanju baza podataka uočio je povezanost čak 233 gena te 110 genetičkih varijanti s povećanom pojavnošću sPP-a (175).

Danas se najviše ulaže u metode sekvenciranja cijelog egzoma (WES, engl. *whole exome sequencing*) i genoma. One se temelje na konceptu da rijetke, isto kao i česte varijante u kodirajućem dijelu različitih gena, imaju značajan utjecaj na tijek kompleksnih bolesti (168). Nekoliko je WES istraživanja provedeno do sada, a vezano za genom i majke (176–178) i ploda (179–181). Jedino je istraživanje Huusko i suradnika povezalno gen HPSA1L (od engl. *heat shock protein family A member 1 like*) sa sPP-om (178). WES istraživanje Straussa i suradnika identificiralo je gene koji su uključeni u prirođenu imunost (*CARD6, CARD8, NLRP10, NLRP12, NOD2, TLR10*) i mehanizme obrane domaćina (*DEFB1, MBL2*) (168), a povezani su s povećanim rizikom za sPP.

### 1.7. Uloga progesterona u trudnoći i porodu

#### 1.7.1. Progesteron

Progesteron (P4) steroidni je hormon s 21 C-atomom. Sadržava keto skupinu na C-3 i dvostruku vezu između C-4 i C-5 te na položaju C-17 ima postranični lanac – CO-CH<sub>3</sub> (182). Uključen je u kontrolu menstruacijskog ciklusa, održavanje trudnoće te proces implantacije u ranoj trudnoći (183,184). Jedan je od metabolita koji sudjeluju u stvaranju ostalih steroida uključujući spolne hormone i kortikosteroide. Ima važan utjecaj i na funkcioniranje mozga, gdje djeluje kao neurosteroid (185). P4 djeluje protektivno na endometriju te se koristi kao idealan lijek u hormonskoj nadomjesnoj terapiji. Isto tako, prevenira poremećaje spavanja te utječe na vrijednosti hormona rasta (GH, engl. *growth hormone*), stimulirajućeg hormona štitnjače (TSH, engl. *thyroid stimulating hormone*) te melatonina u žena u menopauzi. U konačnici, P4 utječe na smanjenje vrućina u zdravih žena u ranoj menopauzi te prevenira demineralizaciju kostiju u ranoj menopauzi (186).

Proizvodi se u jajnicima, posteljici, mozgu i nadbubrežnoj žlijezdi (187), a prethodnik mu je, kao i ostalim steroidnim hormonima, kolesterol. U krvotoku majke manjim se dijelom veže za kortizol vežući globulin, a većim dijelom za albumin. Vrijeme poluraspada mu je kratko, svega 5 minuta, razgrađuje se u jetri, a izlučuje se urinom (188). Do 9. tjedna trudnoće proizvodi se gotovo u potpunosti u žutom tijelu jajnika

## 1.Uvod

(189), a nakon toga proizvodnju preuzima posteljica koja je od 12. tjedna trudnoće njegov najveći izvor (190).

Najstariji je hormon koji poznajemo (191). Moderna povijest progesterona počinje sredinom 17. stoljeća, kada je liječnik i anatom de Graaf uočio da uklanjanjem jajnika u trudne ovce dolazi do poroda (192). Nakon toga su Prenant i Born krajem 19. stoljeća utvrdili da žuto tijelo jajnika (CL, engl. *corpus luteum*) ima endokrinu funkciju te da sekrecija tada još nepoznatog hormona djeluje kao potpora implantaciji embrija (193). Corner i Allen predložili su ime progestin za molekulu koju izlučuje CL zbog svoje progestacijske aktivnosti, a sam Allen 1933. godine uspio je izolirati molekulu P4 u laboratorijskim uvjetima (194). 1939. godine Butenand i Ružička dobili su Nobelovu nagradu za kemiju zahvaljujući sintezi P4 iz kolesterola (195).

Od 1951. godine P4 prepisuje se i kao lijek (196) u obliku kontraceptiva, a kasnije se koristi i kao jedna od sastavnica hormonske nadomjesne terapije, kao terapija u korekciji menstruacijskog ciklusa, u određenim ginekološkim stanjima kao što su hiperplazija endometrija, poremećaj funkcije žutog tijela, izostanak menstruacije te pojačano menstruacijsko krvarenje (197). Zahvaljujući istraživanjima Csapa i suradnika sredinom 20. stoljeća, utvrđeno je da P4 djeluje na održavanje trudnoće blokirajući kontrakcije maternice (198) te da djeluje na implantaciju i održavanje rane trudnoće (199). Posljedično tome, sintetski P4 postao je jedan od glavnih terapijskih izbora u održavanju trudnoće (197).

Ulogu P4 u održavanju trudnoće te početku poroda vidimo u balansiranju majčina upalnog odgovora (200–202), supresiji upalnog odgovora (203), inhibiciji kontraktilnosti maternice (204–206) te utjecaju na uteroplacentalni protok krvi (207,208).

P4 utječe na smanjenu produkciju kemokina te inhibiciju sazrijevanja grlića vrata maternice. On isto tako prevenira programiranu smrt stanica u membranama plodovih ovoja i u normalnim i u proupalnim uvjetima te prevenira prijevremeno prsnuće plodovih ovoja te posljedično PP-a (209,210).

Imunomodulacijski efekt P4 vidimo kroz stimulaciju izričaja blokirajućeg faktora aktiviranog progesteronom (PIBF, engl. *progesterone induced blocking factor*), supresiju puteva koji aktiviraju upalu, promjenu omjera Th1/Th2 citokina te razine mikro ribonukleinske kiseline (miRNA, engl. *micro ribonucleid acid*) te zaustavljanje aktivacije mijeloidnih i limfoidnih stanica u maternici i vratu maternice (200,211–213).

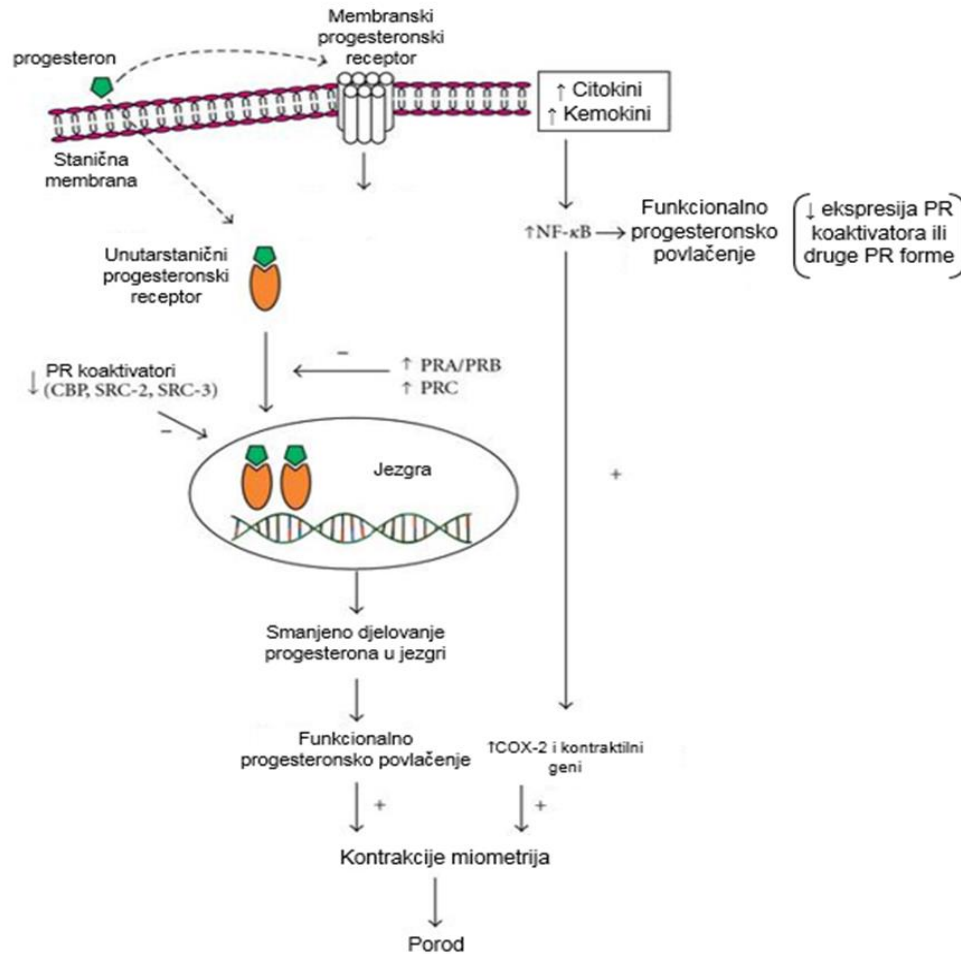
## 1.Uvod

Utjecaj na smanjenje kontraktilnosti miometrija vidljiv je i u *in vivo* i u *in vitro* uvjetima. P4 smanjuje koncentraciju OXTR i broja međustaničnih spojnica. Isto tako smanjuje utjecaj PG-a na kontraktilnost miometrija (214).

U većine sisavaca porodu prethodi smanjenje serumske koncentracije P4 u majke, što dovodi do smanjenja njegovog učinka na održavanje trudnoće (189). U ljudi, naprotiv, serumska koncentracija P4 ostaje visoka i u doba samog poroda, radi proizvodnje P4 od strane posteljice (215). Stoga se predmnijeva da postoji mehanizam koji pred sam porod smanjuje djelovanje P4 time uzrokujući funkcijski pad djelovanja P4 (FPW, engl. *functional progesterone withdrawal*) (216) (slika 1.2.). Ta pretpostavka o FPW-u navela je istraživače da utvrde mehanizam koji dovodi do njega kako u terminskom, tako i u prijevremenom porodu (217). Za nekoliko mehanizama smatra se da bi mogli objasniti FPW: lokalni pad razine P4 u tkivu miometrija (218), sekvestracija P4 od strane nosača proteina (219), promjene u regulaciji signalizacije P4 preko progesteronskih receptora (PR) te promjena u aktivnosti i izražaju progesteronskih receptora.



## 1.Uvod



Slika 1.2. Mehanizam funkcionalnog pada koncentracije progesterona prije početka poroda

P4 veže se za nPR-e te time iskazuje svoj genomski utjecaj koji omogućuje održavanje maternice mirnom. Također, vidimo i mehanizam funkcionalnog pada serumske koncentracije progesterona (FPW, engl. *functional progesterone withdrawal*) koji se iskazuje kroz promjenu izražaja različitih izoformi nPR-a, smanjenog izražaja koaktivatora nPR-a, vezanja P4 na mPR-e te aktivacijom imunoloških čimbenika koji dalje aktiviraju NF-κB ; PR: progesteronski receptor (engl. *progesterone receptor*), CBP: vezujući protein odgovarajućeg elementa cikličkog adenosin monofosfata (engl. *Cyclic adenosine monophosphate Response Element Binding Protein*), SRC: koaktivatori steroidnih receptora (engl. *steroid receptor coactivators*), NF-κB: unutarstanični faktor kappa beta (engl. *nuclear factor kappa-light-chain enhancer of activated B cells*), mPRs: membranski progesteronski receptor (engl. *membrane progesterone receptors*), COX-2: ciklooksigenaza 2 (engl. *cyclooxygenase-2*) (prilagođeno prema Vrachnis i sur. uz dopuštenje autora (220)).

### 1.7.2. Progesteronski receptor

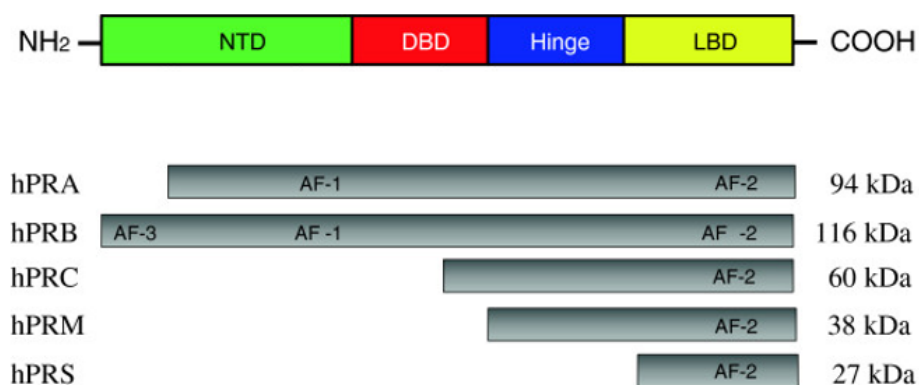
P4 izražava svoju funkciju, a pogotovo funkciju održavanja maternice u mirnom stanju međudjelovanjem s PR-ima (221,222). PR-i se nalaze u centralnom živčanom sustavu, dokkama te ženskom reproduktivnom sustavu.

PR-i su steroidni hormonski receptori, a zajedno sa steroidnim hormonima utječu na regulaciju izražaja ciljnih gena te djeluju na diferencijaciju i proliferaciju

## 1.Uvod

stanica u ciljnim tkivima (223). Postoje dvije skupine PR-a: membranski PR-i (mPR, engl. *membrane progesterone receptors*) te unutarstanični PR-i (nPR, engl. *nuclear progesterone receptors*) (224). Preko nPR-a P4 regulira izražaj ciljnih gena, dok preko mPR-a P4 izražava svoje negenetičke uloge.

nPR sastoji se od N-terminalne regulatorne regije (NTD, engl. *N-terminal domain*), C-terminalne regulatorne regije (LBD, engl. *ligand binding domain*), zglobnog dijela (engl. *hinge*) te regije na koju se veže DNA (DBD, engl. *DNA binding domain*) (slika 1.3.).



Slika 1.3. Forme ljudskog unutarstaničnog progesteronskog receptora

nPR sastoji se od N-terminalne regije (NTD, engl. *N terminal domain*), DNA-vezujuće regije (DBD, engl. *DNA binding domain*), zglobnog tijela (engl. *hinge*) te C ili ligand vezujuće-terminalne regije (LBD, engl. *ligand binding domain*). U sklopu navedenih sastavnih dijelova uključene su i tri aktivacijske funkcije (AF): proksimalna AF-1 u predjelu NTD i DBD, AF-2 u LBD i AF-3 u NTD. Razlikuje se više oblika nPRa, ovisno o sastavnim dijelovima. nPR-B sastoji se od svih gore navedenih dijelova, dok su ostali oblici nPR-a krnje varijante. nPR kraći je za 194 aminokiseline, odnosno AF-3, nPR-C kraći je za NTD te jedan ZnF DBD, dok je nPR-M kraći za NTD i cijeli DBD (prilagođeno prema Li i sur., uz dopuštenje autora (225)).

nPR sadrže i aktivacijske funkcijske elemente (AF) preko kojih reguliraju osnovne transkripcijske funkcije koje su potrebne za izražaj ciljnih gena (226). U području NTD, i to 90 aminokiselina uzvodno od DBD, nalazi se proksimalna aktivacijska funkcija (AF-1). AF-1 sudjeluje u protein-protein komunikaciji PR-a s transkripcijskim faktorima te koaktivatorima i korepresorima, na taj način regulirajući transkripciju ciljnih gena (227). U području LBD nalazi se aktivacijska funkcija 2 (AF-2), dok se distalna aktivacijska funkcija (AF-3) nalazi u B uzvodnom segmentu (BUS) koji se nalazi u NTD te ju posjeduje samo PR-B (228,229). AF-2 na sebe veže LXXLL spirale koaktivatora uključujući p160 obitelj koaktivatora steroidnih receptora (SRC, engl. *steroidne receptore coactivators*), RIP140 (engl. *nuclear receptor interacting protein 140*) te međudjelujuće proteine receptora za vitamin D3 (DRIP, engl. *hormone-*

## 1.Uvod

*bound vitamin D(3) receptor interacting protein*) (230,231). AF-3 djeluje u sinergiji s AF-1 i AF-2 (232).

Svaki od ta dva AF-a, ovisno o vrsti stanica na koje djeluju te ciljnom genu na koji će djelovati, može djelovati zasebno ili zajedno kroz intramolekularno međudjelovanje NTD i LBD (232,233).

DBD sudjeluje u vezivanju DNA, dodatnom protein-protein (234) međudjelovanju te dimerizaciji PR-a nakon aktivacije LBD (235). Građen je od dvaju dijelova, sadrži dva cink-prst proteina (ZnF, od engl. *zinc-finger*) te promjenjivu C terminalnu ekstenziju (236).

LBD se veže za transkripcijske faktore te komunicira s popratnim proteinima (237).

Tri su najčešća unutarstanična progesteronska receptora bitna za održavanje trudnoće: nPR-A (94kDa), nPR-B (110 kDa) te nPR-C (60kDa) (slika 1.3.). nPR-A i nPR-B dijele isti centralni dio DBD te LBD, dok se razlikuju u NTR, koja djeluje kao aktivator gena (238). nPR-A ima 164 aminokiselina manje u NTD nego nPR-B (239,240), odnosno kraći je za AF-3. Slijedom toga, postoji i promjena u funkciji ta dva nPR-a. U fiziološkim uvjetima u ljudi nPR-A i nPR-B u stanicama su zastupljeni u jednakom omjeru. nPR-B receptor funkcionira kao regulator transkripcije ciljnih gena aktivirajući transkripciju gena koji djeluju na održavanje maternice u mirnom stanju, a smanjujući transkripciju gena koji dovode do pojačane kontraktilnosti miometrija. nPR-A djeluje u suprotnosti s nPR-B, kako inhibicijom djelovanja nPR-B, tako utjecajem i na druge članove grupacije steroidnih receptora (241). U tkivu miometrija zastupljena je i treća forma nPR-a – nPR-C (7). nPR-C također je krnji oblik nPR-B, kojemu nedostaje cijeli dio NTD, za razliku od nPR-B (242) te prvi ZnF DBD (243). Na nPR-C može se vezati P4, ali ne i promotorska regija DNA s obzirom da je krnji za ZnF. Koncentracija nPR-C povisuje se u stanicama miometrija s početkom poroda. Pretpostavlja se da nPR-C inhibira aktivnost nPR-B u stanicama miometrija. Inhibicijski utjecaj bio bi neizravan, u obliku sekvencije P4 od nPR-B (7,242). Isto tako, nPR-C ima mogućnost vezivanja na nPR-B i time smanjenja mogućnosti nPR-B da se veže za promotorsku regiju ciljnih gena (243).

mPR-i, još naziva i PGRMC1 (engl. *progesterone receptor membrane component 1*), sadrže sedam transmembranskih regija te izvanstaničnu P4 vezujuću regiju, a barem tri mPR-a moguće je pronaći u stanicama miometrija, amniona, koriona i posteljice (mPR $\alpha$ , mPR $\beta$  i mPR $\gamma$ ) (244).

## 1.Uvod

P4 svoj utjecaj na PR može izvoditi kroz genomske (utječući na regulaciju izražaja ciljnih gena) te negenomske puteve (utječući na unutarstanični slijed puteva) (245).

Genomski utjecaj P4 provodi utjecajem na nPR, dok negenomski utjecaj provodi na dva načina: (I) u utjecaju na mPR-e, membranske komponente progesteronskih receptora (PGRMC-1 i PGRMC-2, *engl. progesterone receptor membrane component -1 i -2*) te ostale receptore kao što su OXTR te GABA (*engl.  $\gamma$  butiric acid A*) koji izravno utječu na unutarstanični slijed signalizacije te (II) izravnom aktivacijom unutarstaničnih signalnih molekula kroz utjecaj na nPRS, a kroz njihove netranskripcijske efekte (230).

Fernandes sa suradnicima (244) te Karteris sa suradnicima (221) uočili su da su u porodu povišene vrijednosti mPR $\alpha$  RNA te mPR $\beta$  RNA unutar stanica miometrija. Slijedom toga, dolazi do snižavanja razine cAMP, pojačane fosforilacije miozina, aktivacije p38 MAP-kinaze te inhibicije SRC-2 izražaja. U konačnici te bi akcije trebale pojačati kontraktilnost maternice te smanjiti genomsku funkciju nPR-a (215). Također, Karteris i suradnici u svom istraživanju naveli su da mPR $\alpha$  i mPR $\beta$  pojačavaju transkripcijsku aktivnost nPR-B, što je neočekivano s obzirom na primarnu aktivnost PR-B. Pretpostavka je da tijekom trudnoće mPR $\alpha$  i mPR $\beta$  izražavaju svoju aktivnost pojačavanja transkripcijske funkcije nPR-B, a kada dođe do funkcijskog pada razine P4, pojačava se njihov negenomski utjecaj te pojačavaju kontraktilnost maternice (221).

Istraživanje Bonyaratanakornkita sa suradnicima pokazalo je da P4 svoj negenomski utjecaj može provoditi i preko nPR-a. Uočio je da nPR-A i nPR-B sadrže i SH3 vezujuću regiju koja može aktivirati put protein kinaze koji uključuje SRC i MAP kinazu (246). Saner sa suradnicima identificirao je i nPR-M. Njemu nedostaje DBD, ali se za isti pretpostavlja da, iako se definira kao nPR, P4 preko njega izražava svoju negenomsku funkciju (247).

### 1.7.3. Signalizacija progesteron/progesteronski receptor

nPR-i djeluju putem više signalnih puteva unutar stanice. Nakon aktivacije pomoću liganda (P4) dolazi do oslobađanja nPR-a pomoću proteina šaperona (248). Nakon oslobađanja i vezanja P4 dimerizirani nPR ulazi u jezgru i veže se na elemente

## 1.Uvod

odgovora unutar promotorskih regija i upravlja regrutiranjem transkripcijskih regulatora (248) te utječe na transkripciju ciljnih gena (215). nPR-i, naime, nakon vezanja P4 aktiviraju više od 300 različitih koregulatora koji dalje djeluju na ribosomalnu RNA (249) te produkciju korespondirajućih proteina (250). nPR-ima treba nekoliko minuta do sati da aktiviraju transkripciju mRNA te su glavni regulatori reprodukcije u žena (239).

Kao što je već navedeno, djelujući na nPR-e, P4 regulira izražaj ciljnih gena te tako djeluje na kontraktilnost miometrija. U ciljne gene uključeni su, između ostalih, i geni povezani s kontraktilnošću (engl. *contraction associated proteins*, CAP-s), kao što je connexin 43 (GJA1, engl. *Gap Junction Protein Alpha 1*), geni za oksitocinski receptor (OXTR, engl. *oxytocine receptor*), NF $\kappa$ B (engl. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells Subunit*) te enzimi koji utječu na sintezu lokalnih prostaglandina (PTGS2, engl. *Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 2 gene*) (251,252).

Različit utjecaj nPR-A i nPR-B vidi se i u njihovom utjecaju na izražaj proupalnih i protuupalnih gena. nPR-A djeluje na izražaj proupalnih gena, kao što su interleukin 1A (IL-1A) i interleukin 8 (IL-8), pojačavajući ih, dok nPR-B inhibira izražaj i djelovanje tih istih proupalnih gena(253). Uočeno je da u stanicama u kojima je dominantan nPR-A, P4 pojačava izražaj PTGS2, IL-8 te IL-1 $\beta$ , dok je izražaj istih gena smanjen u stanicama u kojima je predominantan nPR-B (253). Naime, Tan sa suradnicima ovim je istraživanjem pokazao da nPR-A, osim što djeluju represivno na funkciju nPR-B, i sam ima utjecaj na izražaj gena vezanih za upalnu reakciju i početak kontrakcija miometrija i porod. Pretpostavka je da navedeni utjecaj provode putem izravnog transkripcijskog utjecaja na promotorsku regiju proupalnih gena i/ili neizravno modulirajući aktivnost NF- $\kappa$ B (253). Isto tako, pokazano je da nPR-B također sudjeluju u protuupalnim aktivnostima u miometriju inhibirajući izražaj proupalnih gena te smanjujući osjetljivost miometrija na proupalne agense (253). Slične su zaključke u svojim istraživanjima polučili i Siiteri (254) i Hardy (255).

Tijekom trudnoće veći je udio nPR-B u miometriju, a kako se trudnoća približava kraju, povećava se udio nPR-A. Do povećanja razine nPR-A dolazi radi promjene u metilaciji promotorske regije nPR-A. nPR-A receptori blokiraju djelovanje nPR-B receptora i smanjuju transkripciju gena koji sudjeluju u održavanju trudnoće (156). U konačnici ta promjena u genskom izražaju PR dovodi do funkcionalnog smanjenja razine P4 (FPW, engl. *functional progesterone withdrawal*) te početka porođaja. Ova

## 1.Uvod

opažanja pridonose *isoform switch* hipotezi (ISH) koja bi mogla objasniti početak porođaja, bilo terminski bilo prijevremeno (156,256).

Merlino sa suradnicima pokazao je da se tijekom trudnoće omjer nPR-A : nPR-B mijenja od 0.5 u vrijeme rane trudnoće, da je u vrijeme terminske trudnoće (ali ne i poroda) 1, a da je tijekom poroda taj omjer 2.5 u korist nPR-A (222). Slične rezultate u svom istraživanju pokazali su i Pieber i suradnici (226) te Tan i suradnici (253).

Tan sa suradnicima je k tome u svom istraživanju utvrdio da u stanicama u kojima je koncentracija nPR-A dominantna, P4 utječe na izražaj 119 gena (pojačava izražaj njih 67 te snižava izražaj njih 52). U slučaju stanica u kojima je koncentracija nPR-B dominantna, P4 je utjecao na izražaj 53 gena (pojačao je izražaj 26 gena te snizio izražaj 27 gena) (253). Među navedenim genima najvećim se brojem ističe dio gena koji djeluje stimulirajuće na kontraktilnost maternice. Utvrđeno je da je, na primjer, izražaj gena za COX 2 2.2 puta jači u stanicama u kojima je povećana koncentracija nPR-A. Isto tako, uočeno je da je pojačan izražaj gena IL-1 $\alpha$ , PTX3 (engl. *pentraxid-related gene rapidly induced by IL-1 $\beta$* ) te IL-8 u istim stanicama.

Osim kao posljedica promjene u signalizaciji P4/PR do smanjenja P4 i utjecaja na početak poroda može doći i kao posljedica smanjenja lokalne koncentracije P4 u stanicama miometrija ili predjelu vrata maternice. Naime, P4 osim na kontraktilnost miometrija, djeluje i na sazrijevanje vrata maternice (212). Sve promjene u regiji vrata maternice povezane su uglavnom upravo s lokalnim metabolizmom P4 ili u promjeni omjera nPR-A i nPR-B, što dovodi do smanjenja funkcije P4 te sazrijevanja vrata maternice (257).

Uz već navedenu promjenu u omjeru nPR-A i nPR-B te posljedično promjenu u utjecaju P4 na početak poroda, velik utjecaj na P4/nPR signalizaciju imaju i lokalni metabolizam P4, utjecaj koregulatora nPR-a na signalizaciju te posttranslacijska modifikacija djelovanja nPR-a (211,258–260).

### (I) metabolizam P4

Posljedično aktivnosti enzima 20 $\alpha$  hidroksteroid dehidrogenaze (20 $\alpha$ -HSD) te 5 $\alpha$  reduktaze u maternici i vratu maternice dolazi do lokalne razgradnje P4 te promjene u signalizaciji P4/PR u miometriju (261,262). 20 $\alpha$ -HSD je P4 metabolizirajući enzim koji katalizira konverziju P4 u 20 $\alpha$  hidrokspirogesteron (20 $\alpha$ -OHP) koji je slabi progestin u odnosu na P4 (263). Nadeem i suradnici istraživali su genski izražaj 20 $\alpha$ -

## 1.Uvod

HSD u stanicama miometrija trudnih žena u terminskom i prijevremenom porodu te su utvrdili da je smanjenje P4 posljedica upalnog odgovora majke te aktivacije NF- $\kappa$ B i AP-1 (engl. *activator protein 1*) transkripcijskih faktora te njihova utjecaja na pojačano stvaranje 20 $\alpha$ -HSD (264). Posljedično povećanom stvaranju 20 $\alpha$  HSD te pojačanoj lokalnoj razgradnji P4 pojačava se kontraktilnost maternice.

### (II) regulacija genskog izražaja PR-a

Utjecaj i mehanizam promjena izoformi nPR na FPW te početak poroda već je ranije objašnjen. Potrebno je naglasiti da se omjer nPR-A i nPR-B mijenja u korist nPR-A u predjelu donjeg uterinog segmenta u žena u porodu te dolazi do povišene razine nPR-A u odnosu na nPR-B od čak 10 puta (279). nPR-C nalazi se isključivo u citoplazmi miometrijskih stanica (280), a s obzirom da na sebe ne može vezati DNA pa nema transkripcijski učinak, može utjecati na funkciju PR-B vežući na sebe višu koncentraciju P4 (245). Isto tako, može utjecati na transkripcijsku aktivnost nPR-B vežući se izravno na njega i tako smanjujući mogućnost vezivanja nPR-B na ciljnu DNA (246).

### (III) PR posttranslacijska modifikacija

Postraslacijska modifikacija predstavlja zadnju stavku u kompleksnoj P4/PR signalizaciji. U postraslacijske modifikacije ubrajaju se fosforilacija, sumoilacija, ubikvitinacija te acetilacija, a iste su brze i dinamične te služe finoj regulaciji P4/PR signalizacije (265–267).

### (IV) PR koregulatori koji sudjeluju u signalizaciji ili je reguliraju

nPR reguliraju transkripciju ciljnih gena kao dio multiproteinskog kompleksa. Taj multiproteinski kompleks, osim samih nPRa, sadrži osnovne transkripcijske faktore, kao što su RNA-poll1 i TATA vezujući protein, regulatorne transkripcijske faktore koji sudjeluju u unutarstaničnom signalnom putu te koregulatorne koji aktiviraju ili suprimiraju transkripcijsku aktivnost nPR-a (268).

Promijenjena koncentracija koregulatora steroidnih receptora može utjecati na P4/nPR signalizacije te FPW. Razlikuju se koaktivatori i korepresori.

nPR-B ima jači afinitet za vezanje koaktivatora, kao što su steroidni receptor koaktivatori (SRC 1, 2 i 3), CBP (engl. *cAMP regulatory element binding protein*), p300

## 1.Uvod

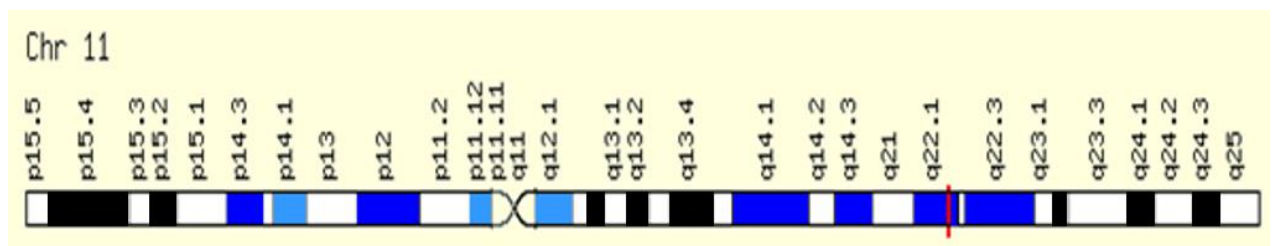
te *jun dimerisation protein-2*, što djelomično objašnjava jači stimulatorni efekt P4 na ciljne gene (269).

nPR-B ima jači afinitet za koaktivatore. Istraživanja su pokazala da je koncentracija koaktivatora SRC-2 i SRC-3 (engl. *steroid receptore coactivator-2* i *steroid receptore coactivator-3*) te CBP u tkivu fundusa uterusa u porodu niža nego koncentracija istih u mirnom dijelu trudnoće (270). Isto tako, zahvaljujući antagonizmu djelovanja TNF- $\alpha$  i P4 preko nPR-a na transkripciju, vidimo snižen izražaj koaktivatora SRC 1 i SRC-2 (271). Time je pokazano da upalni odgovor pred kraj trudnoće može utjecati na genski izražaj PR koaktivatora.

nPR-A ima jači afinitet za korepresore. Kao najbitniji korepresor treba izdvojiti NK $\kappa$  $\beta$ /p65 te se njegov transrepresorski učinak smatra primjerom korepresorske funkcije. Smatra se da je NK $\kappa$  $\beta$ /p65 ključni regulator upalnog odgovora u ljudi. Isto tako smatra se da je aktivirani NK $\kappa$  $\beta$ /p65 glavni represor aktivnosti nPR-a, kako u PP-u vezanom uz upalnu etiologiju, tako i u terminskom porodu(10).Ta činjenica neizravno ukazuje da P4 ima protuupalnu aktivnost u miometriju te da je aktivnost nPR-a i NK $\kappa$  $\beta$ /p65 balansirana. Lokalna ili sistemska upala može poremetiti taj balans.

### 1.7.4. Gen za progesteronski receptor

nPR kodirani su genom za progesteronski receptor (*PGR*, HGNC:8910, Entrez Gene:5241, OMIM:607311) koji se nalazi na 11. kromosomu (slika 1.4.) (citogenetička regija 11q22.1 HGNC/Entrez Gene/Ensembl; genetička lokacija chr11:101,029,624-101,130,681 (GRCh38/hg38)) (223). Veličina gena je 101,058 baza, a nalazi se u potpunosti unutar 200 kilobaza (kb) dugačkog haplotipnog bloka unutar kojeg se vidi jaka povezanost između većine SNP-a unutar tog bloka (260,272).



Slika 1.4. Položaj ljudskog gena za progesteronski receptor (*PGR*) na kromosomu 11 (11q22-23). (prilagođeno prema kromosomskom dijagramu Gene Cards) (223).



## 1.Uvod

Najčešće vidimo njegov izražaj u mozgu, ženskom genitalnom traktu te dojka. Koncentracija mu je hormonski ovisna, a koncentraciju mu povišuje E2, a snižava P4 (273).

Sastoji se od osam egzona i sedam introna. Prvi egzon *PGR*-a kodira sekvencu koja se ne prevodi (UTR, engl. *untranslated region*). Drugi egzon *PGR*-a kodira NTD nPR-a. Drugi i treći egzon *PGR*-a zajedno kodiraju DBD, svaki po jedan ZnF. Egzon 4 *PGR*-a kodira dio od zglobnog dijela nPR-a do NH2 terminalnog dijela LBD-a. Egzoni 5-8 *PGR*-a kodiraju preostali dio LBD nPR-a (273). *PGR* koristi dvije različite translacijske i promotorske regije u prvom egzonu za stvaranje nekoliko varijanti transkripta, što protein kodirajućih, što protein nekodirajućih (223).

Protein koji *PGR* kodira pojavljuje se u tri glavne izoforme (nPR-A, nPR-B te nPR-C) i 11 spojnih krnjih varijanti koje su nastale kao rezultat delecije nekog od 8 egzona *PGR*-a ili zadržavanja nekih intronskih slijedova (274). Uvidom u GWAS katalog ukupno 23 fenotipa povezana su s *PGR*-om (275).

*PGR* je nastao višestrukom ekspanzijom iz ancestralnog estrogenog receptora (ER) (276). Komparativne studije genoma utvrdile su značajnu razliku sekvenci *PGR*-a između različitih vrsta primata ukazujući na potencijalne inovacije u specifičnih vrsta kroz promjenu *PGR* slijedova (277). Li i suradnici u svom istraživanju uočili su da je *PGR* iskusio brzo propadanje haplotipova u europskoj populaciji s povećanim brojem polimorfizama vjerojatno radi adaptacije na nove uvjete (277). Posljedično utjecaju sila selekcije od *PGR* lokusa očekuje se da će ispoljiti različite haplotipne strukture u različitim populacijama. Tako je prirodna pozitivna selekcija promijenila *PGR* lokuse u istočnoj Aziji eliminirajući njihovu genetsku raznolikost radi popravka određenih alela u svrhu lokalne adaptacije, dok je *PGR* lokus u europskoj populaciji postao izrazito polimorfan radi balansirajuće selekcije. Promjena *PGR* lokusa u istočnoj Aziji radi adaptacije na uvjete života u drugim će populacijama biti štetna. Taj navod vidimo u populaciji afričkih crnih žena koje nose varijantu *PGR*-a koja je nastala u istočnoj Aziji. Te žene posljedično imaju viši rizik za ranim sPP-om.

### 1.7.5. Varijante gena za progesteronski receptor i prijevremeni porod

Polimorfizmi ili varijante gena varijante su DNA čija je frekvenciju alela 1% ili više te su iste postigle genetsku stabilnost u populaciji. Najčešći je oblik varijanti gena

## 1.Uvod

polimorfizam jednog nukleotida (SNP, od engl. *single nucleotide polymorphism*), a promjene jedne DNA baze odgovorne su za 90 % varijacija sekvenci ljudskog genoma (278). U ljudskom genomu postoji 10-30 milijuna SNP-a, a isti se pojavljuju na svakih 100-300 parova baza. Varijacije u slijedu nukleotida DNA mogu doprinijeti različitoj osjetljivosti na bolest te individualnom odgovoru na terapijski tretman ili čimbenike okoliša (279,280). SNP u kodirajućoj i nekodirajućoj regiji gena uzrokuje različite promjene. SNP u kodirajućoj regiji gena potencijalno rezultira u promjeni biološke osobine kodiranog proteina, dok SNP u nekodirajućoj regiji potencijalno utječe na izražaj gena.

Najčešći polimorfizmi potencijalno su regulacijski polimorfizmi locirani u nekodirajućoj regiji uključujući promotorsku i intronsku regiju (281).

Istraživanja o genetskom utjecaju na sPTB do sada su uglavnom bila bazirana na studijama o kandidatima gena koji bi, na temelju mehanizama koji dovode do sPP-a, mogli biti povezani s istim. Napretkom tehnologije započeto je s GWAS studijama koje se temelje na proučavanju tisuća SNP-ova istovremeno. Sheik sa suradnicima 2016. godine napravio je veliko istraživanje dotadašnje literature vezano uz povezanost genetskih varijanti s PP-om te je u 92 članka pronašao povezanost ukupno 119 gena sa sPP-om (35). SNP-ove je podijelio u podskupine kako slijedi: polimorfizmi povezani s endokrinim sustavom, polimorfizmi povezani s modeliranjem tkiva, polimorfizmi povezani s angiogenezom, polimorfizmi povezani s imunošću i upalnim odgovorom te polimorfizmi koji nisu mogli biti grupirani niti u jednu od prethodnih grupa.

Imajući na umu veliku ulogu P4 te signalizacijski put P4 preko nPR-a u održavanju trudnoće, jedan broj istraživača temeljio je svoja istraživanja na varijantama *PGR*-a, što u majki, što u novorođenčadi, koje bi mogle modulirati rizik za sPP. Dosadašnja su istraživanja uključila nekoliko varijanti *PGR*-a majki i/ili novorođenčadi (najviše 18, u istraživanju Ehn sa suradnicima (272)), a rezultati modulacije rizika sPP-a do sada su bili kontradiktorni (272,282–285). Na temelju prethodnih istraživanja izabrali smo šest varijanti *PGR*-a, a koji bi ipak mogli biti povezani s povišenim rizikom za sPP. Pretpostavlja se da promjene na *PGR*-u utječu kako na promjenu omjera unutarstaničnih progesterenskih receptora, osjetljivost nPR-a na djelovanje P4 i dalju P4/nPR signalizaciju, tako i na izražaj samog *PGR*-a.

Učestala genetička varijanta ljudskog *PGR*-a jest PROGINS varijanta. Smatra se da postoji u čak 20 % populacije. Istraživanja su pokazala da može modulirati rizik

## 1.Uvod

za nekoliko benignih i malignih ginekoloških stanja (286–289), kao što su karcinom jajnika (290), karcinom dojke (291) te karcinom endometrija (292). Sastoji se od 320 bp PV/HS-1 Alu insercije smještene na intronu G, između egzona 7 i 8 te dvije točkaste mutacije, V660L u egzonu 4 (rs1042838; 11\_101062681\_ C>A / C>G ; MAF A 0,196) i H770H u egzonu 5 (rs1042839; 11\_100922202\_ G>A; MAF A 0,203)(293). PROGINS varijanta nalazi se blizu ili u sklopu domene na koju se veže hormon te bi posljedično mogla utjecati na vezivanje P4 na domenu (273). Naime, gubitak bilo kojeg dijela LBD-a na koji se vežu hormoni rezultira smanjenim vezivanjem P4 te smanjenjem transkripcije gena na koji utječe P4 (294). Supstitucija aminokiselina (V600L) u egzonu 4 isto tako dovodi do razlike u fosforilaciji i degradaciji između dviju varijanti PR-a nakon vezanja liganda, vjerojatno zbog razlika u trodimenzionalnim strukturama tih dviju varijanti (295). Nadalje, varijanta PR-L660 (PROGINS) pokazuje smanjenu aktivnost u testu luciferaze te ima smanjenu sposobnost suprotstavljanja proliferaciji stanica u stanicama jajnika hrčaka koje eksprimiraju ljudski PR-A, u usporedbi s PR-V660 (najčešća varijanta)(295).

Alu insercija sadrži specifično mjesto koje polovično pripada E2, a djeluje kao *in-cis* intronski pojačivač koji u slučaju vezanja 17- $\beta$  estradiola dovodi do pojačane transkripcije PROGINS alela (295). Za Alu inserciju nekoliko je istraživača potvrdilo da bi mogla imati utjecaj na DNA metilaciju, transkripciju gena i vezanje transkripcijskih faktora (296,297) te stvaranje krnjih varijanti PR-a zbog alu egzonizacije (296,298,299). Slijedom toga, Alu insercija može utjecati i na transkripciju i na sazrijevanje pre-mRNA.

Tri navedene mutacije *PGR*-a uvijek se pojavljuju zajedno, u potpunoj neravnoteži alelne povezanosti te se povezuju sa smanjenom količinom genskog transkripta i slabijim odgovorom receptora na djelovanje P4 (293). U trudnoći njegov utjecaj vidimo u smanjenom odgovoru nPR-a na P4 te u povećanom riziku za stanja povezana s sPP-om.

Istraživanje Li i suradnika iz 2018. godine ukazalo je da je PROGINS varijanta *PGR*-a, odnosno promjena valina leucinom na mjestu 660 u obliku homozigota, postojala već u genomu neandertalaca (277). Uz nju je u haplotipu bila i varijanta H770H te S344T varijanta. Dotični haplotip neandertalaca, s ili bez alu insercije, postoji u većini populacije i danas (300). Zeberg sa suradnicima u svom istraživanju navedenog haplotipa htio je vidjeti ima li navedeni haplotip utjecaj na razne fenotipove i u današnjih nositelja dotične varijante. Uvidom u UK biobanku podataka te koristeći

## 1.Uvod

Gene ATLAS (301), zamijetio je negativnu povezanost neandertalnog haplotipa s krvarenjem u ranoj trudnoći te brojem pobačaja. To je djelovanje u suprotnosti s povezanošću tog haplotipa sa sPP-om, gdje je vidljiva pozitivna korelacija. Ta suprotna povezanost može se objasniti činjenicom da dotična neandertalna PROGINS varijanta pomaže održavanju trudnoća koje se prije ne bi održale te posljedično dovodi do povećanog broj PP-a (300).

+331 G/A varijanta *PGR*-a (rs10895068; 11\_101129483\_C>T; MAF T 0,051) jest novije otkrivena genetička varijanta, za koju se pretpostavlja da dovodi do poremećaja omjera nPR-A i nPR-B receptora prije termina poroda u korist nPR-B receptora. Ta mutacija rezultira u pojavi dodatne TATA regije koja omogućuje transkripciju nPR-B receptora te dovodi do navedenog poremećaja omjera nPR-B i nPR-A receptora (302). Do sada su istraživanja pokazala povezanost te varijante *PGR*-a s modulacijom rizika za karcinom dojke (303) te jajnika (304). Moguća važnost te mutacije u održavanju trudnoće mogla bi biti smanjena transkripcija gena na koje utječe P4, što dovodi do promjene putova te sPP-a (303).

rs1942836 (11\_101049347\_ T>C; MAF C 0,1677) varijanta je koja je locirana u potencijalnoj promotorskoj regiji *PGR*-a te se smatra da ta regija gena za nPR ima ulogu u promjeni genskog izražaja izoformi nPR-a (253). Do sada se u istraživanjima povezivala s modulacijom rizika za habitualni pobačaj (305). Istraživanje Manna i suradnika pokazalo je da je povezan s kasnim prijevremenim porodom (32-36 tjedana) (283).

rs4754732 (11\_101008502\_ T>A / T>C ; MAF C 0,313) varijanta je *PGR*-a, koja je također smještena u promotorskoj regiji *PGR*-a te ima sličan utjecaj kao i prethodno navedeni SNP (272).

rs653752 (11\_101077379\_C>G ; MAF C 0,356) lociran je u regulatornoj regiji *PGR*-a te se smatra da mu je utjecaj na PR nešto drugačiji, u smislu regulacije genskog izražaja *PGR*-a (272).

Uvidom u Haplo Reg v4.1 bazu utvrđeno je da su četiri SNP-a neovisna, a dva su u potpunoj neravnoteži alelne povezanosti i dio su jednog haplotipnog bloka (PROGINS): rs1042838 (LD(D')=1) i rs1042839 (LD(D')=0,98) (306). Istraživanje Ehn i suradnika ukazalo je da su prethodno navedena dva SNP-a u neravnoteži alelne povezanosti i sa SNP-om rs653752 (272). Bahia i suradnici ukazali su da postoji velika povezanost između rs590688, rs10895068 te rs1942836, koji su u neravnoteži alelne povezanosti (305).

## 1.Uvod

Pretražujući UK Biobank bazu podataka temeljem ICD/MKB10 koda za prijevremeni porod (060), pronađeno je da je samo varijanta rs1042838 prethodno analizirana u sprezi s prijevremenim porodom (301).

Navedeni SNP-ovi te njihova povezanost sa sPP-om istraživani su ili pojedinačno ili u skupinama. U dostupnim GWAS studijama odabrani SNP-ovi do sada se nisu istaknuli kao statistički značajni u modulaciji rizika za sPP.

Za sada u Hrvatskoj nije bilo istraživanja u kojima bi se prikazao utjecaj različitih varijanti *PGR*-a na modulaciju rizika za sPP.

## 2. Hipoteza

## 2. Hipoteza

Osnovna pretpostavka ovog istraživanja jest da se razdioba alelnih i genotipskih frekvencija ispitivanih polimorfizma jednog nuleotida (rs1042838, rs1042839, rs10895068, rs1942836, rs4574732 te rs653752) u *PGR* razlikuje između žena koje su rodile prijevremeno i žena koje su rodile u terminu, kao i između njihove djece.

### 3. Ciljevi istraživanja

Glavni cilj:

utvrditi imaju li odabrane genetičke varijante gena za progesteronski receptor kod majke i/ili novorođenčadi ulogu u modulaciji rizika za sPP

Specifični ciljevi:

1. odrediti serumsku koncentraciju P4 u trudnica koje su rodile prijevremeno i u terminu te istražiti odnos serumske koncentracije P4 i istraživanih genetskih varijanti
2. odrediti distribuciju i učestalost genotipova i alela 6 SNP-ova u *PGR* genu u skupina pacijenata i kontrola te skupinama terminski i prijevremeno rođene djece i to: rs1042838, rs1042839, rs10895068, rs1942836, rs4574732 te rs653752
3. odrediti alelne i genotipske frekvencije odabranih SNP-ova *PGR*-a u populaciji kontrolnih ispitanica i ispitanica sa sPP te terminski i prijevremeno rođene novorođenčadi te testirati neravnotežu alelne povezanosti proučavanih genskih polimorfizama *PGR*-a
4. ispitati povezanost šest proučavanih SNP-ova *PGR*-a s rizikom razvoja sPP-a
5. odrediti djeluje li šest istraživanih SNP-ova *PGR*-a neovisno ili čine dio haplotipnih blokova u neravnoteži alelne povezanosti (engl. *linkage disequilibrium*-LD)
6. ispitati međudjelovanja odabranih genetičkih varijanti u majki i novorođenčadi na modulaciju rizika za sPP

## 4. Ispitanici i metode

### 4.1. Etička načela i ustroj studije

U ovom istraživanju poštivali su se temeljni etički i bioetički principi i standardi, uključujući osobni integritet: autonomnost, pravednost, dobročinstvo, neškodljivost, kao i oni iz njih izvedeni, koji su u skladu s Nürnberškim kodeksom i najnovijom revizijom Helsinške deklaracije (307), Zakonom o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske (NN121/03) i Zakonom o pravima pacijenata Republike Hrvatske (NN 169/04). Medicinski podaci i humani materijal prikupljali su se u skladu s etičkim i bioetičkim principima te se osigurala privatnost (medicinska tajna) ispitanika uključenih u istraživanje i zaštita tajnosti podataka.

Prikupljanje biološkog materijala i medicinskih podataka odobrilo je Etičko povjerenstvo za biomedicinska istraživanja Medicinskog fakulteta u Osijeku (br.2158-61-07-18-133) i Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Osijek (br. R2:12272-4/2017).

Ustroj studije postavljen je kao istraživanje parova (engl. *case-control*).

### 4.2. Ispitanici

U istraživanje bile su uključene dvije nezavisne skupine ispitanika, ciljane ispitanice i njihova djeca te prilagođene kontrolne ispitanice i njihova djeca. U istraživanje je bilo uključeno 584 ispitanika iz Klinike za ginekologiju i porodništvo Kliničkog bolničkog centra u Osijeku u razdoblju od studenog 2017. do veljače 2022. godine. S obzirom na ustroj studije (istraživanje parova) ispitanici su bili podijeljeni u dvije skupine:

1. ispitivana skupina pacijenata (rodilje sa SPP-om) od ukupno 151 roditelja te 151 pripadajuće prijevremeno rođene novorođenčadi

Kriteriji za uključivanje ispitanika sa SPP-om u istraživanje bili su:



#### 4. Ispitanici i metode

- porođaj prije 37. tjedna trudnoće koji je započeo spontano te nije medicinski induciran
- jednoplodna trudnoća

Kriteriji za isključivanje ispitanika sa sPP-om iz istraživanja bili su svi poznati uzroci sPP-a:

- začeće pomoću medicinski potpomognute oplodnje
- višeplodna trudnoća
- raniji zahvati na vratu maternice
- dokazana upala donjeg reproduktivnog trakta
- bolesti bubrega
- gestacijski dijabetes melitus
- hipertenzija u trudnoći

Dodatno su bile isključene sve rodilje čija su djeca mrtvorodena i čija su novorođenčad imala prirodene anomalije i/ili dokazane infekcije laboratorijskom dijagnostikom, kliničkom slikom ili patohistološkom analizom posteljice.

2. kontrolna skupina (rodilje s terminskim porođajem) od ukupno 141 rodilja te 141 pripadajuće novorođenčadi. U istraživanje su bile uključene rodilje što sličnijih osobina skupini ispitanica; podjednake dobi, istog pariteta, socioekonomskog i demografskog statusa, etničke pripadnosti, mjesta stanovanja, antenatalne skrbi, kao i porođaja u istoj godini kao i pacijentice sa SPP-om.

Kriteriji za uključivanje ispitanika u kontrolnu skupinu bili su:

- porođaj od 37. do 41+3 tjedna gestacije
- jednoplodna trudnoća
- svi porođaji bili su dovršeni prirodnim putem nakon nekomplikirane trudnoće

## 4. Ispitanici i metode

Kriteriji za isključivanje ispitanika iz kontrolne skupine bili su:

- sve roditelje s pozitivnom osobnom i/ili obiteljskom anamnezom na PP
- sve roditelje s pozitivnom anamnezom na bilo kakav kirurški zahvat na vratu maternice prije ili tijekom trudnoće (npr. konizacija, serklaža)
- dodatno su bile isključene sve roditelje čija su djeca mrtvorodena i čija su novorođenčad imala prirođene anomalije i/ili dokazane infekcije

### 4.3. Metode

Klinički dio znanstvenog istraživanja proveden je u Klinici za ginekologiju i porodništvo Kliničkog bolničkog centra u Osijeku, a laboratorijski dio proveden je na Zavodu za kliničko-laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra u Osijeku te Laboratoriju za medicinsku genetiku Medicinskog fakulteta u Osijeku.

Svaka ispitanica uključena u istraživanje bila je upoznata sa svrhom i metodologijom istraživanja, a pristanak na sudjelovanje u istraživanju, kao i suglasnost za korištenje i pohranjivanje krvi i DNA uzoraka, potvrdila je davanjem pisane informirane suglasnosti ispitanice.

Gestacijska dob svih ispitanica određena je prvim danom zadnjeg menstrualnog ciklusa te potvrđena ultrazvučnim nalazom prvog tromjesečja. U slučaju da je došlo do nepodudaranja termina poroda s obzirom na prvi dan zadnjeg menstruacijskog ciklusa i ultrazvučni nalaz, izvršila se korekcija gestacijske dobi prema ultrazvučnom nalazu (308).

#### 4.3.1. Prikupljanje podataka

Sociodemografski, epidemiološki i klinički podaci prikupljeni su u suradnji sa roditeljama, a koristila se i dostupna medicinska dokumentacija o trudnoći i porodu roditelja i novorođenčadi. Prikupljeni su podaci vezani uz fizikalni status ispitanica tijekom trudnoće, obiteljsku i osobnu anamnezu ispitanica, navike i prethodne događaje u trudnoći.

## 4. Ispitanici i metode

### 4.3.2. Uzorkovanje krvi

Krv trudnica (venska) uzorkovala se jednokratno, nakon dobivenog informiranog pristanka, u drugoj fazi poroda, dok se venska krv novorođenčadi uzimala jednokratno iz pupkovine, u trećoj fazi poroda, uz informirani pristanak majke, roditelje.

Venska krv ispitanika za analizu genetičkih varijanti, ukupno 3 ml venske krvi majke te 3 ml venske krvi novorođenčeta iz pupkovine, izvađena je u epruvete s podtlakom (*Vacutainer, Becton Dickinson*) kojima je dodan antikoagulans EDTA (etilendiamintetraoctena kiselina).

Venska krv majki za analizu vrijednosti progesterona u krvi majke, ukupno 3 ml venske krvi majke, također je izvađena u epruvetu s podtlakom (*Vacutainer, Becton Dickinson*) bez antikoagulansa.

### 4.3.3. Izolacija DNA iz pune krvi

Za izolaciju DNA iz pune krvi korišten je komplet kemikalija s komercijalnim kolonama sa silika-membranom QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Koristio se priloženi protokol proizvođača reagensa (314).

Izdvajanje DNA započeto je inkubiranjem 200  $\mu$ L pune krvi u 200  $\mu$ L odgovarajućeg pufera za liziranje uz prisutnost 20  $\mu$ L proteinaze K (enzim koji neselektivno razgrađuje proteine). Smjesa je inkubirana u vremenu od 10 minuta pri 56 °C te je dodano 1000  $\mu$ L 100 %-tnog etanola pomoću kojega je došlo do precipitacije DNA. Nakon toga ista je prebačena na tzv. silika-membranu unutar kolone. Smjesa se nakon toga centrifugirala na 6000 g jednu minutu. DNA se vezala na membranu, a ostatak smjese prošao je kroz pore membrane. Tako izolirana DNA dodatno se pročišćavala dodavanjem različitih pufera. Prvo se dodalo 500  $\mu$ L AW1 pufera te se smjesa centrifugirala na 6000 g jednu minutu. Zatim se *QIAamp Mini spin* kolona prebacila u novu epruvetu te se dodalo 500  $\mu$ L pufera AW2 i ponovno se centrifugirala na 20 000 g tri minute. Tijekom postupka promijenila se ionska jakost.

#### 4. Ispitanici i metode

Naime, u uvjetima visoke ionske jakosti DNA se veže za kolonu i nečistoće se ispiru. U posljednjem koraku došlo je do otpuštanja DNA s kolone (zahvaljujući cijepanju veze između DNA i membrane), a zahvaljujući puferu niske jakosti koji se koristi.

*QiaAmp Mini spin* kolona nakon toga prebacila se u novu epruvetu te se dodalo 100 µL AE pufera. Ista se inkubirala na sobnoj temperaturi jednu minutu, a zatim centrifugirala na 6000 g jednu minutu. Izolirana DNA čuvala se u AE puferu pohranjena na -20 °C do analize.

Nakon izolacije određena je koncentracija DNA uzoraka pomoću Qubit 3.0 Fluorometra (*Life Technologies, Carlsbad, California, USA*) i programa APP v1.02+MCU v0.21, uz korištenje kompleta kemikalija za određivanje koncentracije dvolančane DNA širokog spektra.

##### 4.3.4. Analiza varijanti gena za progesteronski receptor u majke i novorođenčeta

Varijacije gena za progesteronski receptor (rs1042838, rs1042839, rs10895068, rs1942836, rs4574732 te rs653752) (tablica 4.1.) ispitane su primjenom komercijalno dostupnih TaqMan kompleta reagensa tvrtke Applied Biosystems (315).

#### 4. Ispitanici i metode

Tablica 4.1. Opis i karakterizacija izabranih polimorfizama jednog nukleotida gena za progesteronski receptor

SNP	Lokacija	Genska regija	Promjena baza	Literaturni navodi	Povezani fenotipovi
rs1942836	chr11:101178616 (GRCh38.p14)	Potencijalna promotorska regija	T/C>T/G	Bahia i sur. (305) Mann i sur.(283) Hackbart i sur.(309) Sheikh i sur.(35) Ehn i sur.(272)	Habitualni pobačaji Prijevremeni porod
rs1042838	chr11:101062681 (GRCh38.p14)	Pogrešna (engl. <i>Missense</i> ) mutacija Egzon 4	C/A>C/G	Ghali i sur. (310) Pearce i sur.(311) Khan i sur. (312) Su i sur. (313) Ehn i sur.(272) Luo i sur. (282)	Karcinom jajnika Karcinom dojke Habitualni pobačaji Prijevremeni porod
rs1042839	chr11:101051471 (GRCh38.p14)	Pogrešna (engl. <i>Missense</i> ) mutacija Egzon 5	G>A	Ghali i sur. (310) Pearce i sur.(311) Khan i sur. (312) Su i sur. (313) Ehn i sur.(272) Luo i sur. (282)	Karcinom jajnika Karcinom dojke Habitualni pobačaji Prijevremeni porod
rs10895068	chr11:101,129,483 (GRCh38.p14)	5'UTR regija (regija koja se ne prevodi)	C>T	Bahia i sur. (305) Ghali I sur. (310) Mulac-Jericević i sur. (303) Ehn i sur. (272)	Karcinom endometrija Epitelni karcinom jajnika Prijevremeni porod
rs4754732	chr11:101,137,771 (GRCh38.p14)	PGR-AS1: Intronska regija	T/A>T/C	Ehn i sur. (272)	Prijevremeni porod
rs653752	Chr11: 101,077,379 (GRCh38.p14)	Intronska regija	C>G	Ehn i sur. (272)	Prijevremeni porod

Varijante gena određene su na instrumentu za lančanu reakciju polimerazom u stvarnom vremenu: Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR uređaju (Thermo Fisher Scientific, Foster City, California, USA). PCR u stvarnom vremenu (eng. *real time PCR*)

#### 4. Ispitanici i metode

varijanta je PCR-a kod koje je moguće tijekom odvijanja PCR reakcije na monitoru uređaja pratiti nastajanje produkta. Usporedno s nastankom produkta intenzitet oslobođene fluorescencije bilježi se, obrađuje i analizira te pohranjuje u samom instrumentu. Po završetku analize rezultati su spremni za eksportiranje i daljnju obradu.

Sljedovi nukleotida specifičnih početnica korištenih za analizu *PGR* SNP-ova prikazani su u tablici 4.2.

Tablica 4.2. Sljedovi nukleotida ciljanih sekvenci korištenih za analizu *PGR* SNP-ova

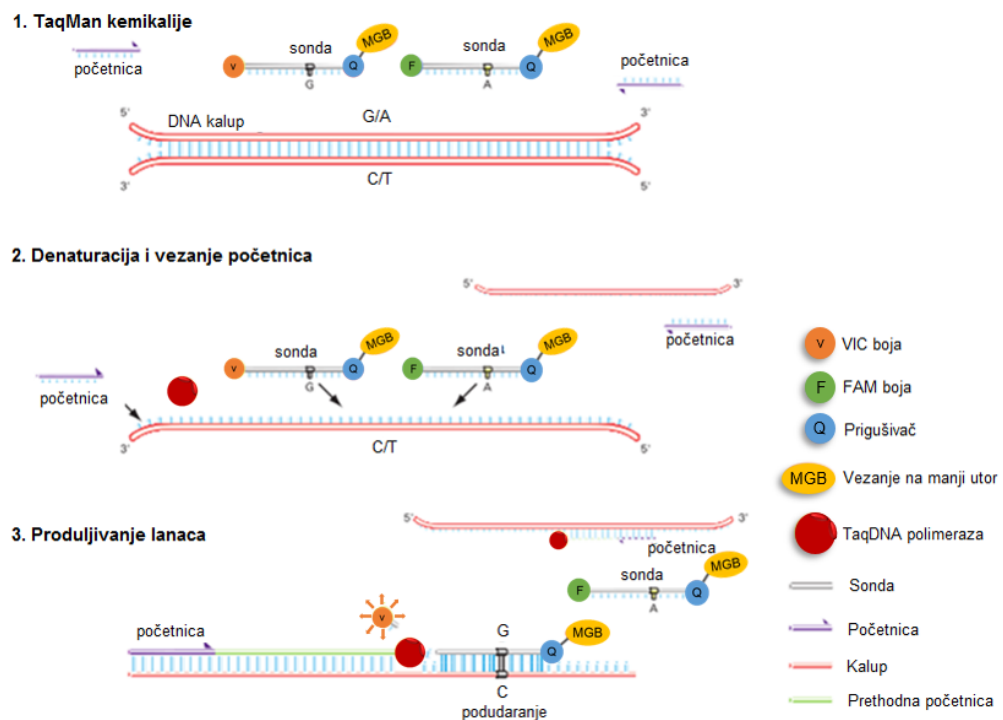
SNP	Kromosom	Sekvenca probe
rs1042838	11	GCTTGGCTTTTCATTTGGAACGCCCA[A/C]TGGCTGTGGGAGAGCAACAGCATCC
rs1042839	11	CAAATACAGCATCTGCCCACTGAC[A/G]TGTTTGTAGGATCTCCATCCTAGAC
rs4754732	11	ATAGTTTTACAGATAAATGTATTT[C/T]GGCACAAGCTGCTTTTTGGTGTGG
rs1942836	11	GCAGTAAATATATGGTATTTGTTAT[C/T]TGATTGATGGGGTCAAGGGAAGACT
rs10895068	11	ACGGCAATTTAGTGACACGCGGCTC[C/T]TTTATCTCCCGACTTTTTCTCTGGC
rs4754732	11	ATAGTTTTACAGATAAATGTATTT[C/T]GGCACAAGCTGCTTTTTGGTGTGG

Kemikalije korištene za PCR reakciju u stvarnom vremenu su TaqMan™ Genotyping Master Mix (Thermo Fisher Scientific, Foster City, California, USA) i TaqMan™ SNP Genotyping Assays (Thermo Fisher Scientific, Foster City, California, USA). Ukupni reakcijski volumen po svakoj jažici bio je 25 mikrolitara i sadržavao je 12,5 mikrolitara Master Mix-a, 10,5. mikrolitra genotyping assay-a i 2 mikrolitra DNA izolata.

TaqMan metodologija temelji se na 5'-3' egzonukleaznoj aktivnosti AmpliTaq Gold DNA Polimeraze. Na suprotnim krajevima sonde TaqMan sonda ima dva tipa fluorofora (reporter, R i prigušivač, Q). Sve dok su obje fluorofore vezane za sondu, neće doći do emitiranja fluorescencije. Nefluorescentni prigušivač (vezan na 3' kraju sonde) emitira svjetlost velike valne duljine i time prikriva signal koji emitira reporterska fluorescentna boja (manje valne duljine, vezane na 5' kraju sonde). To se postiže putem prijenosa fluorescentne rezonantne energije (FRET, engl. *Fluorescence Resonance Energy Transfer*), gdje dolazi do inhibicije jedne boje drugom bez emisije protona. Egzonukleaznom aktivnosti DNA polimeraze razgrađuje se hibridizirana

#### 4. Ispitanici i metode

TaqMan sonda samo onda kada je sonda vezana za ciljni odsječak između uzvodne i nizvodne početnice, odnosno ukoliko se ciljni odsječak umnožava. To uzrokuje razdvajanje reporterske fluorescentne boje od nefluorescentnog prigušivača, što za posljedicu ima emitiranje fluorescencije određene valne duljine. Polimerizacija se nastavlja nakon što se fragmenti sonde odstrane s ciljnog odsječka DNA. Preostali 3' kraj sonde blokiran je da bi se izbjeglo produljenje sonde za vrijeme PCR-a. Do povećanja fluorescentnog signala doći će samo onda kada je ciljna sekvenca komplementarna sondi i amplificirana tijekom PCR reakcije (slika 4.1.). Na taj se način ne detektiraju nespecifična umnažanja (314,315).



Slika 4.1. Shematski prikaz TaqMan metodologije. Prilagođeno prema TaqMan SNP Genotyping protokolu (314).

Na suprotnim krajevima sonde TaqMan sonda ima dva tipa fluorofora (reporter, R i prigušivač, Q). Sve dok su obje fluorofore vezane za sondu, neće doći do emitiranja fluorescencije. Nefluorescentni prigušivač (vezan na 3' kraju sonde) emitira svjetlost velike valne duljine i time prikriva signal koji emitira reporterska fluorescentna boja (manje valne duljine, vezane na 5' kraju sonde). Egzonukleaznom aktivnosti DNA polimeraze razgrađuje se hibridizirana TaqMan sonda samo onda kada je sonda vezana za ciljni odsječak između uzvodne i nizvodne početnice, odnosno ukoliko se ciljni odsječak umnožava. To uzrokuje razdvajanje reporterske fluorescentne boje od nefluorescentnog prigušivača, što za posljedicu ima emitiranje fluorescencije određene valne duljine. Polimerizacija se nastavlja nakon što se fragmenti sonde odstrane s ciljnog odsječka DNA. Preostali 3' kraj sonde blokiran je da bi se izbjeglo produljenje sonde za vrijeme PCR-a. Do povećanja fluorescentnog signala doći će samo onda kada je ciljna sekvenca komplementarna sondi i amplificirana tijekom PCR reakcije.

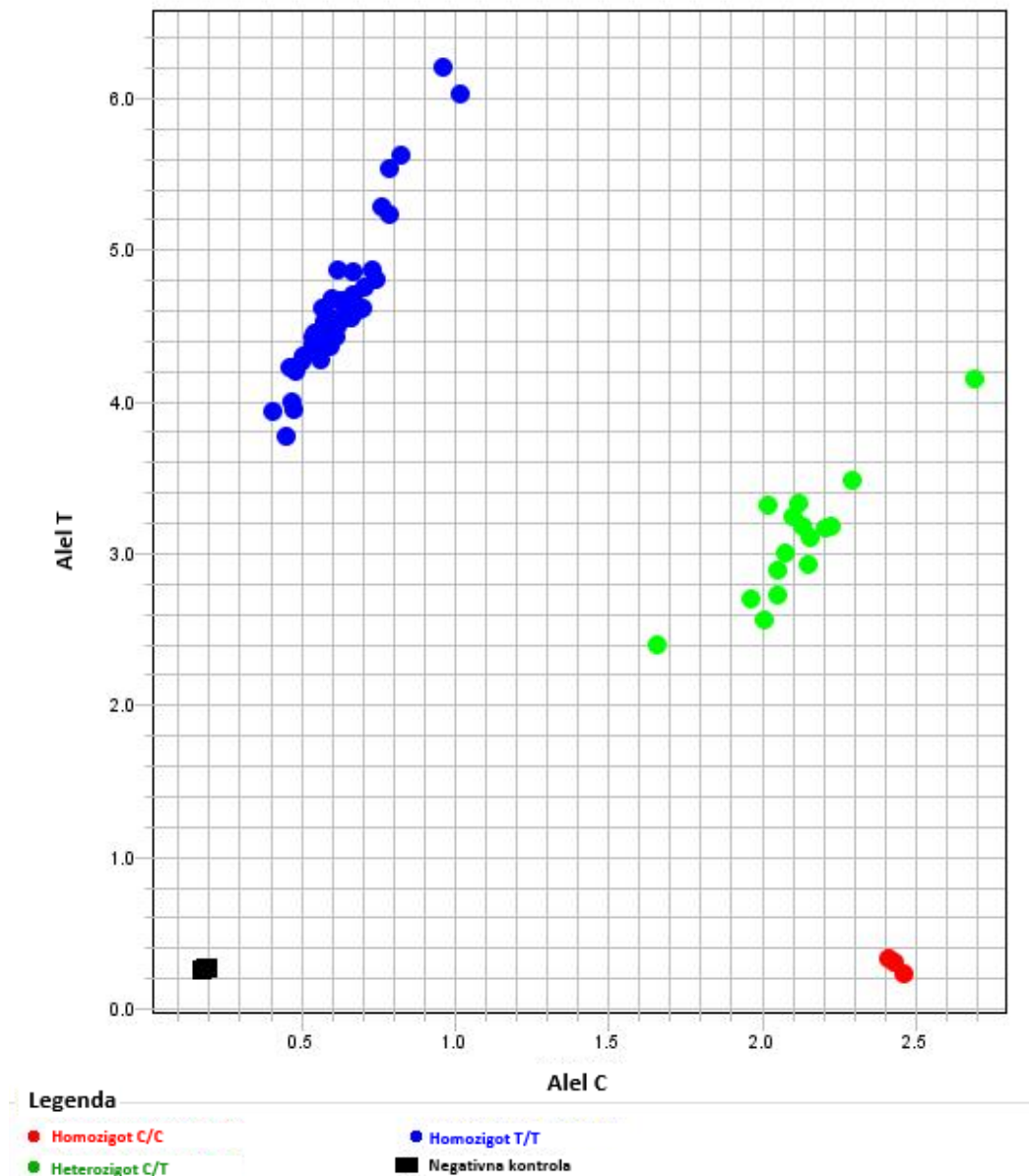
#### 4. Ispitanici i metode

Svaka TaqMan MGB (engl. *Minor Groove Binder*) sonda sastoji se od: reporterske boje na 5' kraju i VIC ili FAM (engl. *carboxyfluorescein*) boje vezane za 5' kraj sonde alela 1, odnosno alela 2; MGB koji povećava temperaturu taljenja sonde te nefluorescentnog prigušivača (NQF, engl. *nonfluorescent quencher*) na 3' kraju.

Očitavanje i analiza genotipova rađena je pomoću SDS 7500 programa verzija 2.3. Program istovremeno određuje genotipove svih DNA uzoraka. Prvo se normalizira fluorescencija reporterske boje prema fluorescenciji pasivne referentne boje u svakoj jažici. Zatim program odredi normalizirane intezitete reporterske boje svakog uzorka na grafu nasuprot intezitetima reporterske boje alela specifičnih sondi. Program algoritamski dodjeljuje genotipove uzorcima ovisno o njihovom položaju na grafu (slika 4.2.). Uz svaki set uzoraka istovremeno su analizirani i kontrolni uzorci.



#### 4. Ispitanici i metode



Slika 4.2. Primjer grafičkog prikaza distribucije genotipova

Slika predstavlja primjer grupiranja genotipova za SNP rs1942836. Legenda: crveno-homozigot C/C, zeleno-heterozigot C/T, plavo-homozigot T/T, crno-negativna kontrola. Grupiranje podataka mijenja se duž horizontalne osi (alel C), vertikalne osi (alel T) ili dijagonalno (aleli C/T).

#### 4.3.5. Određivanje serumske koncentracije progesterona iz venske krvi majke

Analizi na mjernom instrumentu prethodila je priprema uzoraka seruma uz primjenu steroidnog kita proizvođača ChromSystems (Muenchen, Njemačka) koji omogućava pripremu uzoraka za analizu. Koristio se predloženi protokol proizvođača reagensa (316). Priprema uzoraka seruma majke učinjena je uz primjenu steroidnog

#### 4. Ispitanici i metode

kita proizvođača ChromSystems (Muenchen, Njemačka) koji omogućava pripremu uzoraka za analizu steroidnih hormona, ili u ovom slučaju P4 (316). Primjenom navedenog kita pročišćeni su i ukoncentrirani uzorci seruma. Postavke navedenog mjernog instrumenta za mjerenje koncentracija steroida podešene su u skladu s preporukama proizvođača, a opisane analitičke i predanalitičke postupke validirali su proizvođač kita i proizvođač instrumenta. U svakoj seriji analiza korišteni su kalibratori i kontrolni uzorci proizvođača kita. Kalibratori su uključivali sedam koncentracijskih razina, dok su kontrolni materijali uključivali pet koncentracijskih razina za analizirani hormon. Ukoliko točnost analize temeljena na analizi kontrolnih uzoraka analiziranog steroida nije zadovoljila zadane kriterije (80 – 120 %), analize su ponovljene. Ukoliko niti nakon ponavljanja dobiveni rezultati nisu zadovoljili kriterij točnosti mjerenja, dobiveni rezultati nisu uvršteni u daljnju obradu. Osim uz primjenu kontrolnih uzoraka koje je dostavio proizvođač kita, analize steroidnih hormona periodički su kontrolirane i uz primjenu kontrolnih materijala nepoznatog sastava proizvođača RIQAS (Belfast, UK), što predstavlja neovisnu procjenu kvalitete.

##### 4.3.6. Statističke metode

Za statističku analizu korišteni su statistički paket MedCalc® Statistical Software version 20.100 (*MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2022*) i SPSS Statistics 23 (*IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.*), a dobiveni rezultati prikazani su tablično i grafički.

Kategorijski podatci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Razlike kategorijskih varijabli testirane su  $\chi^2$  testom, a po potrebi Fisherovim egzaktnim testom. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro-Wilkovim testom. Numerički su podatci opisani medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Razlike kontinuiranih varijabli između dviju nezavisnih skupina testirane su Mann-Whitneyevim U testom (Hodges Lehmannova razlika s pripadnim 95 % intervalom pouzdanosti razlike). Razlike normalno raspodijeljenih numeričkih varijabli za više od dvije nezavisne skupine testirane su Kruskal Wallisovim testom (Post hoc Conover). Logističkom regresijom (*backward metoda*) ocijenjen je utjecaj više čimbenika na vjerojatnost prijevremenog poroda.

#### 4. Ispitanici i metode

Statistička snaga alelnog testa povezanosti polimorfizma izračunata je Genetic Power kalkulatorom (<http://zzz.bwh.harvard.edu/gpc/cc2.html>), a testiranje Hardy-Weinberg ekvilibrija genotipskih frekvencija ( $\chi^2$  testom  $df=1$ ) Hardy-Weinberg equilibrium kalkulatorom (<https://wpcalc.com/en/equilibrium-hardy-weinberg/>). Za opis neravnoteže alelne povezanosti korišteni su  $D'$  koeficijent te kvadrat koeficijenta korelacije ( $r^2$ ). Analiza genotipova i haplotipska analiza (uz korekciju P vrijednosti Benjamini-Hochberg metodom) učinjena je online programima SNPstats (317) i SHEsisPlus (318,319). Kod analize međudjelovanja šest SNP-ova *PGR*-a u modulaciji rizika za sPP (SHEsis Plus online program, (319)), vrijednost P izračunava se permutacijskim testovima, uz korekciju P vrijednosti Benjamini-Hochberg metodom za višestruka testiranja. Za sve ostale analize korištena je Bonferronijeva korekcija P vrijednosti. Sve P vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti postavljena je na  $\alpha = 0,05$ .

## 5. Rezultati

U istraživanju, koje je obuhvatilo 151 majku s prijevremenim porodom i 151 pripadajuće prijevremeno rođeno novorođenče te 141 majku kontrolne skupine sa 141 pripadajućim terminski rođenim djetetom, nakon uzorkovanja krvi i izolacije genomske DNA, analizirano je šest genskih varijanti *PGR*-a, i to kako slijedi: rs10895068, rs1042838, rs1042839, rs1942836, rs4754732, rs653752. U istraživanju također je određena serumska koncentracija P4 iz krvi majki kako kontrolne skupine (n = 110), tako i skupine majki koje su rodile prijevremeno (n = 109).

### 5.1. Obilježja ispitanika

Odabrane epidemiološke i demografske značajke 292 pacijentice podijeljene u ispitivanu i kontrolnu skupinu prikazane su u tablici 5.1. Podaci su bili dostupni za sve ispitanice. Isto tako, prikazane su osnovne karakteristike pripadajuće novorođenčadi kao što su spol i tjelesna težina prilikom rođenja. Utvrđena je statistički značajna razlika u tjednima gestacijske dobi pri porodu te broju poroda između dvije grupe majki te porodnoj masi novorođenčeta.

Tablica 5.1. Opći podaci ispitanica uključenih u istraživanje

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika (95 % IP)	P*
	Prijevremeni porod (n = 151)	Terminski porod (n = 141)		
Dob majke [godine]	31 (26 - 36)	31 (26 - 34)	-1 (-2 do 1)	0,39
Gestacijski tjedan	34+6 (32+3 - 36+1)	39+3 (38+6 - 40+1)	4+5 (4+3 do 5+1)	<b>&lt;0,001</b>
Visina [cm]	165 (162 - 170)	166 (163 - 171,5)	1 (0 do 3)	0,08
Masa [kg]	73 (65 - 82,4)	75 (68,8 - 84,1)	3 (0 do 6)	<b>0,03</b>
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	26,4 (24 - 29,6)	27,3 (24,4 - 30,4)	0,72 (-0,25 do 1,67)	0,14
Broj poroda	1 (1 - 2)	2 (1 - 2)	0 (0 do 0)	<b>0,03</b>
Broj PP	1 (1 - 1)	-	-	-
Masa djeteta [g]	2440 (1830 - 2780)	3450 (3100 - 3735)	1057 (920 do 1200)	<b>&lt;0,001</b>

\*Mann Whitney U test (Hodges-Lehmannova razlika medijana); IP – interval pouzdanosti

## 5. Rezultati

Učestalost čimbenika rizika za PP prikazana je u tablici 5.2. Uočena je statistički značajna razlika između dviju skupina ispitanica u dobi majke, kada se iste podijele na dvije podskupine – podskupinu majki koja je mlađa od 35 godina i podskupinu majki koja je starija od 35 godina. Isto tako, za istaknuti je statistički značajnu razliku u broju pacijentica koje su imale izoliranog uzročnika u cervikalnom brisu između ispitivane i kontrolne skupine te statistički značajnu razliku u broju pacijentica koje su krvarile tijekom trudnoće između iste dvije skupine.

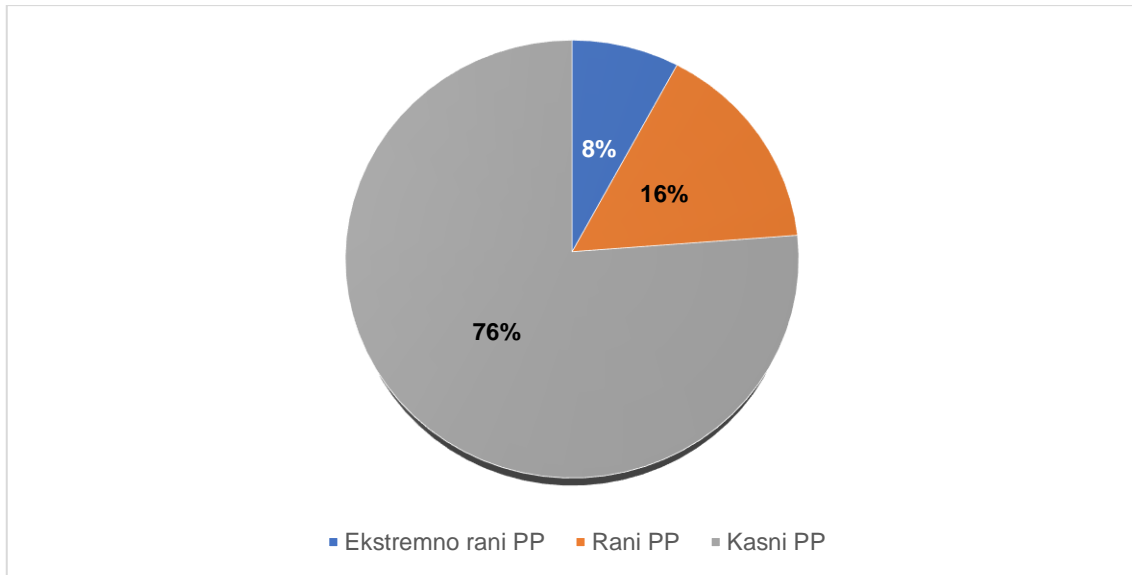
Tablica 5.2. Učestalost čimbenika rizika za prijevremeni porod među ispitanicama i kontrolama

	Broj (%)			P*
	Prijevremeni porod (n = 151)	Terminski porod (n = 141)	Ukupno (n = 292)	
Dob majke				
do 35	101 (67)	111 (79)	101 (67)	<b>0,02</b>
35 i više godina	50 (33)	30 (21)	50 (33)	
Spol djeteta				
Muški	87 (58)	69 (49)	156 (53)	0,13
Ženski	64 (42)	72 (51)	136 (47)	
Uhranjenost				
Pothranjena	0	1 (1)	1 (0)	0,14 <sup>†</sup>
Normalna	57 (38)	41 (29)	98 (34)	
Prekomjerna/pretili	94 (62)	99 (70)	193 (66)	
PP u anamnezi				
Ne	127 (84)	-	127 (84)	-
Da	24 (16)	-	24 (16)	
Kad su bili PP				
ekstra rani	6 (25)	-	6 (25)	-
Rani	2 (8)	-	2 (8)	
Kasni	16 (67)	-	16 (67)	
PP u obitelji				
Ne	120 (79)	-	120 (79)	-
Da	31 (21)	-	31 (21)	
Kad u obitelji PP				
ekstra rani	2 (7)	-	2 (7)	-
Rani	9 (29)	-	9 (29)	
Kasni	20 (64)	-	20 (64)	
Pušenje	48 (32)	31 (22)	79 (27)	0,07
Pozitivan CB	31 (21)	32 (23)	63 (22)	0,65
Uzročnik				
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	24 (77)	11 (35)	35 (56)	<b>0,007<sup>†</sup></b>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	0	1 (3)	1 (2)	
BHSB	1 (3)	3 (10)	4 (6)	
<i>Candida albicans</i>	2 (6)	10 (32)	12 (19)	
<i>Trichomonas vaginalis</i>	4 (12,9)	6 (19,4)	10 (16,1)	
Krvarenje	41 (27)	13 (9)	54 (18)	

\* $\chi^2$  test; <sup>†</sup>Fisherov egzakti test; BHSB- beta hemolitički streptokok grupe B, CB- cervikalni bris, PP-prijevremeni porod

## 5. Rezultati

Na slici 5.1. prikazan je udio ekstremno ranih, ranih te kasnih prijevremenih poroda u ukupnom broju prijevremenih poroda. Udio PP-a prema navršenim tjednima trudnoće u skladu je s objavljenim literaturnim navodima (43).



Slika 5.1. Udio prijevremenih poroda podijeljenih prema tjednima u ukupnom broju prijevremenih poroda

Udio ekstremno ranih prijevremenih poroda (PP) bio je 8 %, udio ranih prijevremenih poroda (PP) bio je 16 %, dok je udio kasnih prijevremenih poroda (PP) bio 76 %. PP-prijevreteni porod.

## 5.2. Progesteron

U tablici 5.3. prikazane su vrijednosti serumske koncentracije P4 u skupini ispitanica i kontrolnoj skupini. Nađena je statistički značajna razlika u vrijednostima P4 između dviju navedenih skupina ispitanica.

Tablica 5.3. Serumska koncentracija progesterona u skupinama ispitanica s prijevremenim porodom te kontrola

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika (95 % IP)	P*
	Prijevreteni porod (n = 107)	Terminski porod (n = 108)		
Progesteron	298,9 (64,3 – 481,2)	483,3 (370,0 – 600,3)	190,9 (115,4 – 261,1)	<b>&lt;0,001</b>

\*Mann Whitney U test (Hodges-Lehmannova razlika medijana); IP-interval pouzdanosti

U tablici 5.4. prikazane su vrijednosti serumske koncentracije progesterona kada se skupina majki podijelila na dvije skupine prema referentnim vrijednostima P4 u drugom

## 5. Rezultati

i trećem tromjesečju trudnoće. U tom slučaju ne nalazi se statistički značajna razlika u vrijednostima P4 između navedenih skupina.

Tablica 5. 4. Serumska koncentracija progesterona u dvije skupine ovisno o tromjesečjima trudnoće te raspodjeli ovisno o referentnim vrijednostima progesterona

Progesteron	Broj (%)			P*
	Ekstremno rani/rani PP (n = 23)	Kasni PP i terminski porod (n = 192)	Ukupno (n = 215)	
Ispod referentne	5 (22)	33 (17)	38 (18)	0,21
Referentna	10 (43)	56 (29)	66 (31)	
Iznad referentne	8 (35)	103 (54)	111 (52)	
Ukupno	23 (100)	192 (100)	215 (100)	

\*Fisherov egzaktni test; PP-prijevreteni porod

Analizirana je raspodjela vrijednosti serumske koncentracije P4 ovisno o različitim genotipovima šest SNP-ova *PGR*-a između ispitanika i kontrola, kako u skupinama ispitanica i kontrola, tako i u skupinama pripadajuće novorođenčadi. Rezultati su prikazani u tablici 5.5. te nije nađena statistički značajna razlika u raspodjeli vrijednosti serumske koncentracije P4 ovisno o različitim genotipovima između skupine ispitanica i skupine kontrola te skupina pripadajuće novorođenčadi.

## 5. Rezultati

Tablica 5. 5. Raspodjela serumske koncentracije progesterona ovisno o genotipovima u majki

<b>MAJKE</b>		Medijan (interkvartilni raspon) PROGESTERONA				<i>P</i> *	
<i>rs10895068</i>	n	AA	n	GA	n		GG
Prijevremeni porod	0	-	18	368,81 (55,8 - 544,9)	89	296,86 (65,6 - 478)	0,70
Kontrola	1	336,8	17	515,2 (452,3 - 613,5)	90	479,8 (368,3 - 601,5)	0,53
<i>rs1042838</i>	n	GG	n	TG	n	TT	
Prijevremeni porod	78	274,57 (61,8 - 509,2)	26	340,11 (109,1 - 477,1)	3	210,1 (165,2 - 311)	0,94
Kontrola	86	486,51 (364,8 - 601,5)	20	478,95 (374,7 - 594,9)	2	394,03 (142,8 - 538)	0,93
<i>rs1042839</i>	n	CC	n	TC	n	TT	
Prijevremeni porod	78	274,57 (61,8 - 509,2)	26	340,11 (109,1 - 477,1)	3	210,1 (165,2 - 311)	0,94
Kontrola	86	486,51 (364,8 - 601,5)	20	478,95 (374,7 - 594,9)	2	394,03 (142,8 - 538)	0,93
<i>rs1942836</i>	n	CC	n	CT	n	TT	
Prijevremeni porod	4	438,56 (361,7 - 544,5)	29	224,09 (59,7 - 378,5)	74	310,41 (62,8 - 520,8)	0,94
Kontrola	1	483,5	35	462,09 (353,2 - 576,6)	72	506,35 (369,6 - 605)	0,93
<i>rs4754732</i>	n	CC	n	CT	n	TT	
Prijevremeni porod	10	120,02 (47,6 - 823)	43	354,42 (74,8 - 556,7)	54	274,57 (61 - 463,2)	0,32
Kontrola	7	402,05 (359 - 603,2)	39	505 (324,3 - 646)	62	478,95 (372,2 - 598,1)	0,96
<i>rs653752</i>	n	CC	n	CG	n	GG	
Prijevremeni porod	17	155,82 (51 - 334,5)	31	355,3 (61,8 - 479,1)	59	309,8 (74,8 - 514,5)	0,19
Kontrola	25	471,7 (339,3 - 587,7)	29	489,52 (376,9 - 628)	54	464,81 (366,2 - 603,5)	0,67
<b>DJECA</b>							
<i>rs10895068</i>	n	AA	n	GA	n	GG	
Prijevremeni porod	0	-	11	70,54 (50,5 - 414,7)	96	305,38 (73,7 - 500,3)	0,15
Kontrola	1	336,8	13	545,17 (464,8 - 613,5)	94	475,7 (365,3 - 601,5)	0,20
<i>rs1042838</i>	n	GG	n	TG	n	TT	
Prijevremeni porod	78	353,27 (61,8 - 521,1)	27	189 (74,8 - 328,1)	2	399,02 (181 - 427,2)	0,24
Kontrola	80	471,53 (343,5 - 593,8)	25	507,69 (451,4 - 609,5)	3	384,63 (190,4 - 714,6)	0,40
<i>rs1042839</i>	n	CC	n	TC	n	TT	
Prijevremeni porod	78	353,27 (61,8 - 521,1)	27	189 (74,8 - 328,1)	2	399,02 (181 - 427,2)	0,24
Kontrola	80	471,53 (343,5 - 593,8)	25	507,69 (451,4 - 609,5)	3	384,63 (190,4 - 714,6)	0,40
<i>rs1942836</i>	n	CC	n	CT	n	TT	
Prijevremeni porod	3	355,3 (296,9 - 397,5)	29	282,89 (51,8 - 474,3)	75	298,87 (70,5 - 506)	0,75
Kontrola	-	-	19	507,69 (382,4 - 599,6)	89	474,8 (363,2 - 602,1)	0,53
<i>rs4754732</i>	n	CC	n	CT	n	TT	
Prijevremeni porod	12	428,59 (132,7 - 807,4)	38	238,18 (62,8 - 477,8)	57	296,86 (59,7 - 478)	0,20
Kontrola	7	560,5 (324,3 - 652,8)	46	474,15 (366,2 - 603,5)	55	483,1 (371,4 - 599,6)	0,79
<i>rs653752</i>	n	CC	n	CG	n	GG	
Prijevremeni porod	18	367,34 (56,6 - 475,6)	51	296,86 (57,6 - 476,4)	38	262,37 (81,3 - 577,2)	0,60
Kontrola	20	465 (306,5 - 632,5)	49	483,5 (374,4 - 588,6)	39	505 (384,6 - 605,2)	0,94

\*Kruskal Wallis test (post hoc Conover)



## 5. Rezultati

### 5.3. Analiza varijanti gena za progesteronski receptor

Učestalost genotipova istraživanih polimorfizama jednog nukleotida u ispitivanoj i kontrolnoj skupini u skladu je sa predviđenima prema Hardy Weinbergovoj jednadžbi ( $p < 0.05$ ).

U tablici 5.6. prikazana je raspodjela rjeđeg alela šest istraživanih SNP-ova *PGR-a* u odnosu na referentnu populaciju *1000 Genomes Project Phase 3* baze podataka kod stanovnika države Utah porijeklom iz sjeverne i zapadne Europe (CEU).

Tablica 5. 6. Učestalost rjeđeg alela šest izabranih SNP-ova gena za progesteronski receptor

SNP	Rjeđi alel	MAF* kontrole	MAF* <i>1000 genomes Project Phase 3</i> **
rs1042838	T	0,15	0,217
rs1042839	T	0,11	0,179
rs1942836	C	0,17	0,157
rs10895068	A	0,07	0,066
rs4754732	C	0,27	0,318
rs653752	C	0,43	0,343

\*MAF – engl. minor allele frequency \*\*Učestalost MAF alela kod stanovnika države Utah porijeklom iz sjeverne i zapadne Europe (CEU) u bazi *1000 genomes Project Phase 3*; SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. single nucleotide polymorphism)

Tablice 5.7. i 5.8. prikazuju učestalost i raspodjelu genotipova i alela šest SNP-ova *PGR-a* u skupinama ispitanica i kontrola te u skupinama pripadajuće prijevremeno rođene i terminski rođene novorođenčadi.

## 5. Rezultati

Tablica 5.7. Učestalost genotipova i alela šest analiziranih SNP-ova *PGR*-a između skupine prijevremenih i terminskih poroda u skupini majki

	Genotip [n (%)]	MAJKE		Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*
		Prijevremeni porod (n = 151)	Terminski porod (n = 141)		
<sup>a</sup> <i>rs10895068</i>	AA	0	2 (1)	-	0,33
	GA	22 (15)	17 (12)	0,82 (0,41 – 1,61)	
	GG	129 (85)	122 (87)	1,0	
Aleli	A	22 (7)	21 (7)	0,98 (0,52 – 1,82)	0,94
	G	280 (93)	261 (93)		
<sup>b</sup> <i>rs1042838</i>	GG	109 (72)	111 (78)	1,0	0,39
	TG	38 (25)	28 (21)	0,72 (0,42 – 1,26)	
	TT	4 (3)	2 (1)	0,49 (0,09 – 2,74)	
Aleli	G	256 (85)	250 (85)	0,71 (0,44 – 1,46)	0,17
	T	46 (15)	32 (15)		
<sup>c</sup> <i>rs1042839</i>	CC	111 (73)	111 (79)	1,0	0,51
	TC	36 (24)	28 (20)	0,78 (0,44 – 1,36)	
	TT	4 (3)	2 (1)	0,50 (0,09 – 2,79)	
Aleli	C	258 (85)	250 (89)	0,75 (0,46 – 1,22)	0,25
	T	44 (15)	32 (11)		
<sup>d</sup> <i>rs1942836</i>	CC	5 (3)	2 (1)	0,44 (0,08 – 2,31)	0,54
	CT	41 (27)	43 (30)	1,15 (0,69 – 1,91)	
	TT	105 (70)	96 (68)	1,0	
Aleli	C	51 (17)	47 (17)	1,02 (0,66 – 1,57)	0,94
	T	251 (83)	235 (83)		
<sup>e</sup> <i>rs4754732</i>	CC	16 (11)	10 (7)	0,64 (0,27 – 1,51)	0,59
	CT	59 (39)	57 (40)	0,99 (0,61 – 1,61)	
	TT	76 (50)	74 (52)	1,0	
Aleli	C	91 (30)	77 (27)	1,22 (0,86 – 1,75)	0,27
	T	211 (70)	205 (73)		
<sup>f</sup> <i>rs653752</i>	CC	23 (15)	31 (22)	1,61 (0,84 – 3,09)	0,33
	CG	66 (44)	58 (41)	1,05 (0,63 – 1,75)	
	GG	62 (41)	52 (37)	1,0	
Aleli	C	112 (37)	120 (43)	1,26 (0,90 – 1,75)	0,18
	G	190 (63)	162 (57)		

a - Hardy-Weinberg equilibrium: prijevremeni P > 0,99; terminski P = 0,09

b - Hardy-Weinberg equilibrium: prijevremeni P > 0,99; terminski P = 0,72

c - Hardy-Weinberg equilibrium: prijevremeni P > 0,99; terminski P = 0,71

d - Hardy-Weinberg equilibrium: prijevremeni P > 0,99; terminski P = 0,67

e - Hardy-Weinberg equilibrium: prijevremeni P = 0,17; terminski P = 0,43

f - Hardy-Weinberg equilibrium: prijevremeni P > 0,99; terminski P = 0,60

\* $\chi^2$  test; SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

Utvrđena je statistički značajna razlika u raspodjeli rjeđeg T alela SNP-a rs1042838 (OR 1,97, CI 95 % 1,23 – 3,17, P 0,005) između dviju skupina – skupine prijevremeno rođene te skupine terminski rođene novorođenčadi (tablica 5.8.).

## 5. Rezultati

Tablica 5.8. Učestalost genotipova i alela šest analiziranih SNP-ova *PGR*-a između prijevremenih i terminskih poroda u skupini djece

	Genotip (n (%))	DJECA		Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*
		Prijevremeni porod (n = 151)	Terminski porod (n = 141)		
<sup>a</sup> <i>rs10895068</i>	AA	0	2 (1)	-	0,54
	GA	16 (11)	14 (10)	0,94 (0,44 – 2,0)	
	GG	134 (89)	125 (89)	1,0	
Aleli	A	16 (5)	18 (6)	0,83 (0,41 – 1,65)	0,59
	G	284 (95)	264 (94)		
<sup>b</sup> <i>rs1042838</i>	GG	106 (71)	106 (75)	1,0	0,64
	TG	41 (27)	32 (23)	0,78 (0,46 – 1,33)	
	TT	3 (2)	3 (2)	1,0 (0,20 – 5,07)	
Aleli	G	253 (84)	244 (87)	1,97 (1,23 – 3,17)	<b>0,005</b>
	T	47 (16)	38 (13)		
<sup>c</sup> <i>rs1042839</i>	CC	108 (72)	107 (76)	1,0	0,76
	TC	39 (26)	31 (22)	0,80 (0,47 – 1,38)	
	TT	3 (2)	3 (2)	1,01 (0,20 – 5,11)	
Aleli	C	255 (85)	245 (87)	1,17 (0,73 – 1,87)	0,52
	T	45 (15)	37 (13)		
<sup>d</sup> <i>rs1942836</i>	CC	3 (2)	2 (1)	0,64 (0,10 – 3,89)	0,25
	CT	40 (27)	27 (19)	0,64 (0,37 – 1,12)	
	TT	107 (71)	112 (79)	1,0	
Aleli	C	46 (15)	31 (11)	1,47 (0,90 – 2,39)	0,12
	T	254 (85)	251 (89)		
<sup>e</sup> <i>rs4754732</i>	CC	17 (11)	11 (8)	0,78 (0,34 – 1,77)	0,22
	CT	55 (37)	65 (46)	1,42 (0,87 – 2,31)	
	TT	78 (52)	65 (46)	1,0	
Aleli	C	89 (30)	87 (31)	0,95 (0,66 – 1,35)	0,76
	T	211 (70)	195 (69)		
<sup>f</sup> <i>rs653752</i>	CC	23 (15)	24 (17)	1,10 (0,56 – 2,19)	0,91
	CG	71 (47)	64 (45)	0,95 (0,57 – 1,58)	
	GG	56 (37)	53 (38)	1,0	
Aleli	C	117 (39)	112 (40)	0,97 (0,70 – 1,35)	0,86
	G	183 (61)	170 (60)		

a - Hardy-Weinberg equilibrium: prijevremeni P > 0,99; terminski P = 0,09

b - Hardy-Weinberg equilibrium: prijevremeni P > 0,99; terminski P = 0,72

c - Hardy-Weinberg equilibrium: prijevremeni P > 0,99; terminski P = 0,71

d - Hardy-Weinberg equilibrium: prijevremeni P > 0,99; terminski P = 0,67

e - Hardy-Weinberg equilibrium: prijevremeni P = 0,17; terminski P = 0,43

f - Hardy-Weinberg equilibrium: prijevremeni P > 0,99; terminski P = 0,60

\* $\chi^2$  test; SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

Učestalost dominantnih, recesivnih te superdominantnih modela nasljeđivanja u skupinama majki s terminskim i prijevremenim porodom te skupinama pripadajuće prijevremeno i terminski rođene novorođenčadi prikazana je u tablicama 5.9. i 5.10. Nije bilo statistički značajne razlike u raspodjeli niti jednog modela nasljeđivanja između dviju navedenih skupina ispitanica s terminskim i prijevremenim porodom te dviju skupina pripadajuće novorođenčadi.

## 5. Rezultati

Tablica 5.9. Modeli nasljeđivanja šest ispitivanih SNP-ova *PGR*-a te njihova raspodjela između grupa prijevremenih i terminskih poroda u skupini majki

	Genotip [n (%)]	Genotip [n (%)] MAJKE		Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*
		Prijevreteni porod (n = 151)	Terminski porod (n = 141)		
<i>rs10895068</i> DOMINANTNO	GG	127 (85)	122 (87)	0,89 (0,46 – 1,74)	0,75
	AA/GA	22 (15)	19 (13)		
RECESIVNO	GG/GA	151 (100)	139 (98,6)	1,0	0,09
	AA	0	2 (1,4)	-	
SUPERDOMINANTNO	GG/AA	129 (85,4)	124 (87,9)	1,0	0,53
	GA	22 (14,6)	17 (12,1)	0,80 (0,041 – 1,59)	
<i>rs1042838</i> DOMINANTNO	GG	109 (72)	110 (78)	0,73 (0,43 – 1,25)	0,25
	TG/TT	42 (28)	31 (22)		
RECESIVNO	G/G-T/G	147 (97,3)	139 (98,6)	1,0	0,45
	T/T	4 (2,6)	2 (1,4)	0,53 (0,10 – 2,93)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-T/T	113 (74,8)	113 (80,1)	1,0	0,28
	T/G	38 (25,2)	28 (19,9)	0,74 (0,42 – 1,28)	
<i>rs1042839</i> DOMINANTNO	CC	113 (75)	111 (79)	0,80 (0,47 – 1,39)	0,43
	TC/TT	38 (25)	30 (21)		
RECESIVNO	C/C-T/C	147 (97,3)	139 (98,6)	1	0,45
	T/T	4 (2,6)	2 (1,4)	0,53 (0,10-2,93)	
SUPERDOMINANTNO	C/C-T/T	115 (76,2)	113 (80,1)	1	0,45
	T/C	36 (23,8)	28 (19,9)	0,79 (0,45-1,38)	
<i>rs1942836</i> DOMINANTNO	TT	105 (70)	96 (68)	1,07 (0,65 – 1,76)	0,79
	CC/CT	46 (30)	45 (32)		
RECESIVNO	T/T-C/T	146 (96,7)	139 (98,6)	1	0,28
	C/C	5 (3,3)	2 (1,4)	0,42 (0,08-2,20)	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	110 (72,8)	98 (69,5)	1	0,53
	C/T	41 (27,1)	43 (30,5)	1,18 (0,71-1,95)	
<i>rs4754732</i> DOMINANTNO	TT	76 (50)	74 (52)	0,92 (0,58 – 1,45)	0,71
	CC/CT	75 (50)	67 (48)		
RECESIVNO	T/T-C/T	135 (89,4)	131 (92,9)	1	0,29
	C/C	16 (10,6)	10 (7,1)	0,64 (0,28-1,47)	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	92 (60,9)	84 (59,6)	1	0,81
	C/T	59 (39,1)	57 (40,4)	1,06 (0,66-1,69)	
<i>rs653752</i> DOMINANTNO	GG	62 (41)	52 (37)	1,19 (0,74 – 1,91)	0,46
	CC/CG	89 (59)	89 (63)		
RECESIVNO	G/G-C/G	128 (84,8)	110 (78)	1	0,14
	C/C	23 (15,2)	31 (22)	1,57 (0,86-2,85)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-C/C	85 (56,3)	83 (58,9)	1	0,66
	C/G	66 (43,7)	58 (41,1)	0,90 (0,57-1,43)	

\* $\chi^2$  test; SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

## 5. Rezultati

Tablica 5.10. Modeli nasljeđivanja šest SNP-ova *PGR*-a te njihova raspodjela između grupa prijevremenih i terminskih poroda u skupini novorođenčadi

	Genotip [n (%)]	DJECA		Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*
		Prijevreteni porod (n = 151)	Terminski porod (n = 141)		
<i>rs10895068</i> DOMINANTNO	GG			1	0,85
	A/A-G/A	134 (89)	125 (89)	1,07 (0,51 – 2,24)	
RECESIVNO	G/G-G/A	16 (11)	16 (11)		0,09
	A/A	150 (100)	139 (98,6)	1	
SUPERDOMINANTNO	G/G-A/A	0	2 (1,4)	-	0,84
	G/A	134 (89,3)	127 (90,1)	1	
<i>rs1042838</i> DOMINANTNO	G/G	16 (10,7)	14 (9,9)	0,92 (0,43-1,97)	0,39
	T/G-T/T	106 (70,7)	106 (75,2)	1	
RECESIVNO	G/G-T/G	44 (29,3)	35 (24,8)	0,80 (0,47-1,34)	0,94
	T/T	147 (98)	138 (97,9)	1	
SUPERDOMINANTNO	G/G-T/T	3 (2)	3 (2,1)	1,07 (0,21-5,37)	0,36
	T/G	109 (72,7)	109 (77,3)	1	
<i>rs1042839</i> DOMINANTNO	C/C	41 (27,3)	32 (22,7)	0,78 (0,46-1,33)	0,54
	T/C-T/T	108 (72)	106 (75,2)	1	
RECESIVNO	C/C-T/C	42 (28)	35 (24,8)	0,85 (0,50-1,43)	0,94
	T/T	147 (98)	138 (97,9)	1	
SUPERDOMINANTNO	C/C-T/T	3 (2)	3 (2,1)	1,07 (0,21-5,37)	0,51
	T/C	111 (74)	109 (77,3)	1	
<i>rs1942836</i> DOMINANTNO	T/T	39 (26)	32 (22,7)	0,84 (0,49-1,43)	0,11
	C/T-C/C	107 (71,3)	112 (79,4)	1	
RECESIVNO	T/T-C/T	43 (28,7)	29 (20,6)	0,64 (0,38-1,11)	0,70
	C/C	147 (98)	139 (98,6)	1	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	3 (2)	2 (1,4)	0,71 (0,12-4,28)	0,13
	C/T	110 (73,3)	114 (80,8)	1	
<i>rs4754732</i> DOMINANTNO	C/T	40 (26,7)	27 (19,1)	0,65 (0,37-1,13)	0,31
	T/T	78 (52)	65 (46,1)	1	
RECESIVNO	C/T-C/C	72 (48)	76 (53,9)	1,27 (0,80-2,01)	0,31
	T/T-C/T	133 (88,7)	130 (92,2)	1	
SUPERDOMINANTNO	C/C	17 (11,3)	11 (7,8)	0,66 (0,30-1,47)	0,10
	T/T-C/C	95 (63,3)	76 (53,9)	1	
<i>rs653752</i> DOMINANTNO	C/T	55 (36,7)	65 (46,1)	1,48 (0,92-2,36)	0,96
	G/G	56 (37,3)	53 (37,6)	1	
RECESIVNO	C/G-C/C	94 (62,7)	88 (62,4)	0,99 (0,62-1,59)	0,70
	G/G-C/G	127 (84,7)	117 (83)	1	
SUPERDOMINANTNO	C/C	23 (15,3)	24 (17)	1,13 (0,61-2,12)	0,74
	G/G-C/C	79 (52,7)	77 (54,6)	1	
	C/G	71 (47,3)	64 (45,4)	0,92 (0,58-1,47)	

\* $\chi^2$  test; SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphysm*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

Ispitivanu skupinu majki i ispitivanu skupinu djece podijelila sam u tri podskupine: podskupinu ekstremno ranih prijevremenih poroda, podskupinu ranih prijevremenih poroda te podskupinu kasnih prijevremenih poroda. Usporedila sam genotipove i alele šest odabranih SNP-ova *PGR*-a unutar tri navedene podskupine. Tablice 5.11. i 5.12. prikazuju učestalost i raspodjelu genotipova i alela navedenih šest SNP-ova *PGR*-a između tri navedene podskupine u majki i novorođenčadi.

## 5. Rezultati

Tablica 5.11. Raspodjela i učestalost genotipova i alela šest SNP-ova *PGR*-a u tri podskupine prijevremenih poroda u majki

		Genotip [n (%)] prema PP			P*
		MAJKE			
		Ekstremno rani PP (n = 12)	Rani PP (n = 24)	Kasni PP (n = 115)	
<b>rs10895068</b>	AA	0	0	0	0,26
	GA	1 (8)	1 (4)	20 (17)	
	GG	11 (92)	23 (96)	95 (83)	
<b>rs1042838</b>	GG	8 (67)	18 (75)	83 (72)	0,07
	TG	2 (17)	5 (21)	31 (27)	
	TT	2 (17)	1 (4)	1 (1)	
<b>rs1042839</b>	CC	8 (67)	18 (75)	85 (74)	0,08
	TC	2 (17)	5 (21)	29 (25)	
	TT	2 (17)	1 (4)	1 (1)	
<b>rs1942836</b>	CC	0	0	5 (4)	0,97
	CT	3 (25)	7 (29)	31 (27)	
	TT	9 (75)	17 (71)	79 (69)	
<b>rs4754732</b>	CC	2 (17)	4 (17)	10 (9)	0,25
	CT	3 (25)	6 (25)	50 (43)	
	TT	7 (58)	14 (58)	55 (48)	
<b>rs653752</b>	CC	3 (25)	6 (25)	14 (12)	0,27
	CG	3 (25)	10 (42)	53 (46)	
	GG	6 (50)	8 (33)	48 (42)	

\*Fisherov egzaktni test; PP- prijevremeni porod, SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

Tablica 5.12. Raspodjela i učestalost genotipova i alela šest SNP-ova *PGR*-a u tri podskupine prijevremenih poroda u novorođenčadi

		Genotip [n (%)] prema PP			P*
		DJECA			
		Ekstremno rani PP (n = 12)	Rani PP (n = 24)	Kasni PP (n = 115)	
<b>rs10895068</b>	AA	0	0	0	0,72
	GA	1 (8)	1 (4)	14 (12)	
	GG	11 (92)	23 (96)	100 (88)	
<b>rs1042838</b>	GG	5 (45)	19 (79)	82 (71)	0,28
	TG	6 (55)	5 (21)	30 (26)	
	TT	0	0	3 (3)	
<b>rs1042839</b>	CC	5 (45)	19 (79)	84 (73)	0,25
	TC	6 (55)	5 (21)	28 (24)	
	TT	0	0	3 (3)	
<b>rs1942836</b>	CC	0	1 (4)	2 (2)	0,74
	CT	2 (18)	7 (29)	31 (27)	
	TT	9 (82)	16 (67)	82 (71)	
<b>rs4754732</b>	CC	2 (17)	2 (8)	13 (11)	0,57
	CT	3 (25)	12 (50)	40 (35)	
	TT	7 (58)	10 (42)	61 (54)	
<b>rs653752</b>	CC	1 (9)	3 (13)	19 (17)	0,58
	CG	5 (45)	15 (63)	51 (44)	
	GG	5 (45)	6 (25)	45 (39)	

\*Fisherov egzaktni test; PP- prijevremeni porod, SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

## 5. Rezultati

Nakon podjele skupine majki s prijevremenim porodom te pripadajuće prijevremeno rođene novorođenčadi u tri podskupine, svaku od navedenih podskupina i u majki i u novorođenčadi usporedila sam s kontrolnom skupinom majki s terminskim porodom te terminski rođene novorođenčadi.

Utvrđena je statistički značajna razlika u raspodjeli i učestalosti TT genotipa SNP-a rs1042838 (OR 13,7, CI 95 % 1,71 – 110,9, P 0,04) i TT genotipa SNP-a rs1042839 (OR 13,9, CI 95 % 1,72 – 111,9, P 0,04) u majki između skupine majki s ekstremno ranim porodom i kontrolne skupine majki, doprinoseći 13.7 te 13.9 puta većem izgledu za ekstremno rani prijevremeni porod prema recesivnom genetičkom modelu nasljeđivanja za oba polimorfizma (OR 13,9, CI 95 % 1,8 – 109,3, P 0,02 za oba navedena polimorfizma) (tablice 5.13. i 5.14.).

## 5. Rezultati

Tablica 5.13. Raspodjela i učestalost genotipova i alela šest SNP-ova *PGR*-a u skupinama ekstremno ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u majki

MAJKE	Ekstremno rani PP (n = 12)	Kontrola (n = 141)	Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*
<i>rs10895068</i>				
AA	0	2 (1)	-	>0,99
GA	1 (8)	17 (12)	1,53 (0,19 – 12,63)	
GG	11 (92)	122 (87)	1,0	
G	23 (96)	261 (93)		
A	1 (4)	21 (7)	0,54 (0,07 – 4,20)	0,56
<i>rs1042838</i>				
GG	8 (66)	110 (78)	1,0	<b>0,04</b>
TG	2 (17)	29 (21)	1,05 (0,21 – 5,24)	
TT	2 (17)	2 (1)	13,7 (1,71-110,9)	
G	18 (75)	249 (88)		
T	6 (25)	33 (12)	2,52 (0,93 – 6,78)	0,07
<i>rs1042839</i>				
CC	8 (67)	111 (79)	1,0	<b>0,04</b>
TC	2 (17)	28 (20)	1,01 (0,20 – 5,02)	
TT	2 (17)	2 (1)	13,9 (1,72-111,9)	
C	18 (75)	250 (89)		
T	6 (25)	32 (11)	2,60 (0,96 – 7,04)	0,06
<i>rs1942836</i>				
CC	0	2 (1)	-	>0,99
CT	3 (25)	43 (30)	1,34 (0,35 – 5,21)	
TT	9 (75)	96 (68)	1,0	
T	21 (88)	235 (83)		
C	3 (12)	47 (17)	0,71 (0,20 – 2,49)	0,60
<i>rs4754732</i>				
CC	2 (17)	10 (7)	1,19 (0,28 – 5,11)	0,28
CT	3 (25)	57 (40)	2,23 (0,53 – 9,37)	
TT	7 (58)	74 (52)	1,0	
T	17 (71)	205 (73)		
C	7 (29)	77 (27)	1,09 (0,44 – 2,75)	0,84
<i>rs653752</i>				
CC	3 (25)	31 (22)	1,19 (0,28 – 5,11)	0,59
CG	3 (25)	58 (41)	2,23 (0,53 – 9,37)	
GG	6 (50)	52 (37)	1,0	
G	15 (62)	162 (57)		
C	9 (38)	120 (43)	0,81 (0,34 – 1,91)	0,63

\*  $\chi^2$  test, PP-prijevrmeni porod, SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphysm*), *PGR*-gen za progesteronski receptor



## 5. Rezultati

Tablica 5.14. Raspodjela i učestalost modela nasljeđivanja genotipova šest SNP-ova *PGR*-a u skupinama ekstremno ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u majki

	Genotip	Genotip (n (%)) MAJKE		Omjer izgleda (95 % raspon pouzdanosti)	P*
		Ekstremno rani PP (n =12)	Kontrola (n = 141)		
<i>rs10895068</i> DOMINANTNO	G/G	11 (91,7)	122 (86,5)	1	0,59
	G/A-A/A	1 (8,3)	19 (13,5)	1,71 (0,21-14,04)	
RECESIVNO	G/G-G/A	12 (100)	139 (98,6)	1	0,57
	A/A	0	2 (1,4)	NA (0,00-NA)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-A/A	11 (91,7)	124 (87,9)	1	0,69
	G/A	1 (8,3)	17 (12,1)	1,51 (0,18-12,43)	
<i>rs1042838</i> DOMINANTNO	G/G	8 (66,7)	110 (78)	1	0,39
	T/G-T/T	4 (33,3)	31 (22)	0,56 (0,16-2,00)	
RECESIVNO	G/G-T/G	10 (83,3)	139 (98,6)	1	<b>0,02</b>
	T/T	2 (16,7)	2 (1,4)	13,9 (1,8 – 109,3)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-T/T	10 (83,3)	112 (79,4)	1	0,74
	T/G	2 (16,7)	29 (20,6)	1,29 (0,27-6,24)	
<i>rs1042839</i> DOMINANTNO	C/C	8 (66,7)	111 (78,7)	1	0,36
	T/C-T/T	4 (33,3)	30 (21,3)	0,54 (0,15-1,92)	
RECESIVNO	C/C-T/C	10 (83,3)	139 (98,6)	1	<b>0,02</b>
	T/T	2 (16,7)	2 (1,4)	13,9 (1,8 – 109,3)	
SUPERDOMINANTNO	C/C-T/T	10 (83,3)	113 (80,1)	1	0,79
	T/C	2 (16,7)	28 (19,9)	1,24 (0,26-5,98)	
<i>rs1942836</i> DOMINANTNO	T/T	9 (75)	96 (68,1)	1	0,61
	C/T-C/C	3 (25)	45 (31,9)	1,41 (0,36-5,45)	
RECESIVNO	T/T-C/T	12 (100)	139 (98,6)	1	0,57
	C/C	0	2 (1,4)	NA (0,00-NA)	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	9 (75)	98 (69,5)	1	0,69
	C/T	3 (25)	43 (30,5)	1,32 (0,34-5,10)	
<i>rs4754732</i> DOMINANTNO	T/T	7 (58,3)	74 (52,5)	1	0,70
	C/T-C/C	5 (41,7)	67 (47,5)	1,27 (0,38-4,18)	
RECESIVNO	T/T-C/T	10 (83,3)	131 (92,9)	1	0,29
	C/C	2 (16,7)	10 (7,1)	0,38 (0,07-1,98)	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	9 (75)	84 (59,6)	1	0,28
	C/T	3 (25)	57 (40,4)	2,04 (0,53-7,85)	
<i>rs653752</i> DOMINANTNO	G/G	6 (50)	52 (36,9)	1	0,38
	C/G-C/C	6 (50)	89 (63,1)	1,71 (0,52-5,58)	
RECESIVNO	G/G-C/G	9 (75)	110 (78)	1	0,81
	C/C	3 (25)	31 (22)	0,85 (0,22-3,31)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-C/C	9 (75)	83 (58,9)	1	0,26
	C/G	3 (25)	58 (41,1)	2,10 (0,54-8,08)	

\*  $\chi^2$  test, PP-prijevreteni porod, SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphysm*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

Uspoređujući podskupinu majki s ranim prijevremenim porodom s kontrolnom skupinom majki, nije se našla statistički značajna razlika, kako u raspodjeli i učestalosti genotipova i alela između navedenih dviju skupina, tako i u raspodjeli i učestalosti genetičkih modela nasljeđivanja između dviju skupina (tablice 5.15. i 5.16.).

## 5. Rezultati

Tablica 5.15. Raspodjela i učestalost genotipova i alela šest SNP-ova *PGR*-a u skupinama ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u majki

<b>MAJKE</b>	Rani PP (n = 24)	Kontrola (n = 141)	Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	<i>P</i> *
<b><i>rs10895068</i></b>				
AA	0	2 (1)	-	0,62
GA	1 (4)	17 (12)	3,2 (0,41 – 25,3)	
GG	23 (96)	122 (87)	1,0	
G	47 (98)	261 (93)	0,26 (0,03 – 2,01)	0,20
A	1 (2)	21 (7)		
<b><i>rs1042838</i></b>				
GG	18 (75)	110 (78)	1,0	0,48
TG	5 (21)	29 (21)	0,95 (0,32 – 2,77)	
TT	1 (4)	2 (1)	0,33 (0,03 – 3,8)	
G	41 (85)	249 (88)	1,29 (0,53 – 3,11)	0,57
T	7 (15)	33 (12)		
<b><i>rs1042839</i></b>				
CC	18 (75)	111 (79)	1,0	0,40
TC	5 (21)	28 (20)	1,68 (0,47 – 6,06)	
TT	1 (4)	2 (1)	0,36 (0,03 – 4,16)	
C	43 (90)	250 (89)	0,91 (0,33 – 2,46)	0,85
T	5 (10)	32 (11)		
<b><i>rs1942836</i></b>				
CC	0	2 (1)	-	>0,99
CT	7 (29)	43 (30)	1,09 (0,42 – 2,82)	
TT	17 (71)	96 (68)	1,0	
T	41 (85)	235 (83)	0,85 (0,36 – 2,029)	0,72
C	7 (15)	47 (17)		
<b><i>rs4754732</i></b>				
CC	4 (17)	10 (7)	0,47 (0,13 – 1,72)	0,15
CT	6 (25)	57 (40)	1,80 (0,65 – 4,97)	
TT	14 (58)	74 (52)	1,0	
T	34 (71)	205 (73)	1,09 (0,56 – 2,15)	0,79
C	14 (29)	77 (27)		
<b><i>rs653752</i></b>				
CC	6 (25)	31 (22)	0,79 (0,25 – 2,51)	0,96
CG	10 (42)	58 (41)	0,89 (0,33 – 2,43)	
GG	8 (33)	52 (37)	1,0	
G	26 (54)	162 (57)	1,14 (0,62 – 2,119)	0,67
C	22 (46)	120 (43)		

\* $\chi^2$  test; PP- prijevremeni porod, SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

## 5. Rezultati

Tablica 5.16. Raspodjela i učestalost modela nasljeđivanja genotipova šest SNP-ova *PGR*-a u skupinama ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u majki

	Genotip	Genotip [n (%)] MAJKE		Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*
		Rani PP (n = 24)	Kontrola (n = 141)		
<i>rs10895068</i> DOMINANTNO	G/G	23 (95,8)	122 (86,5)	1	0,15
	G/A-A/A	1 (4,2)	19 (13,5)	3,58 (0,46-28,09)	
RECESIVNO	G/G-G/A	24 (100)	139 (98,6)	1	0,43
	A/A	0	2 (1,4)	-	
SUPERDOMINANTNO	G/G-A/A	23 (95,8)	124 (87,9)	1	0,20
	G/A	1 (4,2)	17 (12,1)	3,15 (0,40-24,87)	
<i>rs1042838</i> DOMINANTNO	G/G	18 (75)	110 (78)	1	0,75
	T/G-T/T	6 (25)	31 (22)	0,85 (0,31-2,31)	
RECESIVNO	G/G-T/G	23 (95,8)	139 (98,6)	1	0,41
	T/T	1 (4,2)	2 (1,4)	0,33 (0,03-3,80)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-T/T	19 (79,2)	112 (79,4)	1	0,98
	T/G	5 (20,8)	29 (20,6)	0,98 (0,34-2,86)	
<i>rs1042839</i> DOMINANTNO	C/C	18 (75)	111 (78,7)	1	0,69
	T/C-T/T	6 (25)	30 (21,3)	0,81 (0,30-2,22)	
RECESIVNO	C/C-T/C	23 (95,8)	139 (98,6)	1	0,41
	T/T	1 (4,2)	2 (1,4)	0,33 (0,03-3,80)	
SUPERDOMINANTNO	C/C-T/T	19 (79,2)	113 (80,1)	1	0,91
	T/C	5 (20,8)	28 (19,9)	0,94 (0,32-2,74)	
<i>rs1942836</i> DOMINANTNO	T/T	17 (70,8)	96 (68,1)	1	0,79
	C/T-C/C	7 (29,2)	45 (31,9)	1,14 (0,44-2,94)	
RECESIVNO	T/T-C/T	24 (100)	139 (98,6)	1	0,43
	C/C	0	2 (1,4)	-	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	17 (70,8)	98 (69,5)	1	0,90
	C/T	7 (29,2)	43 (30,5)	1,07 (0,41-2,76)	
<i>rs4754732</i> DOMINANTNO	T/T	14 (58,3)	74 (52,5)	1	0,59
	C/T-C/C	10 (41,7)	67 (47,5)	1,27 (0,53-3,04)	
RECESIVNO	T/T-C/T	20 (83,3)	131 (92,9)	1	0,15
	C/C	4 (16,7)	10 (7,1)	0,38 (0,11-1,33)	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	18 (75)	84 (59,6)	1	0,14
	C/T	6 (25)	57 (40,4)	2,04 (0,76-5,44)	
<i>rs653752</i> DOMINANTNO	G/G	8 (33,3)	52 (36,9)	1	0,74
	C/G-C/C	16 (66,7)	89 (63,1)	0,86 (0,34-2,14)	
RECESIVNO	G/G-C/G	18 (75)	110 (78)	1	0,75
	C/C	6 (25)	31 (22)	0,85 (0,31-2,31)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-C/C	14 (58,3)	83 (58,9)	1	0,96
	C/G	10 (41,7)	58 (41,1)	0,98 (0,41-2,35)	

\*  $\chi^2$  test, PP-prijevremani porod, SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphysm*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

Uspoređujući podskupinu majki s kasnim prijevremenim porodom te majki s terminskim porodom, utvrđena je statistički značajna razlika u raspodjeli i učestalosti CC genotipa SNP-a *rs653752*, doprinoseći dvaput većem izgledu za sPP u recesivnom modelu nasljeđivanja genotipova (CC vrs CC+CG)(OR 2,03, CI 95 % 1,02 – 4,04, P 0,03) (tablice 5.17. te 5.18.).

## 5. Rezultati

Tablica 5.17. Raspodjela i učestalost genotipova i alela šest SNP-ova *PGR*-a u skupinama kasnih prijevremenih poroda i kontrolnoj skupini u majki

<b>MAJKE</b>	Kasni PP (n = 114)	Kontrola (n = 141)	Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*
<b>rs10895068</b>				
AA	0	2 (1)	-	0,26
GA	20 (17)	17 (12)	0,66 (0,33 – 1,33)	
GG	95 (83)	122 (87)	1,0	
G	210 (91)	261 (93)	1,18 (0,62 – 2,24)	0,60
A	20 (9)	21 (7)		
<b>rs1042838</b>				
GG	83 (72)	110 (78)	1,0	0,48
TG	31 (27)	29 (21)	0,71 (0,39 – 1,26)	
TT	1 (1)	2 (1)	1,51 (0,13 – 16,97)	
G	197 (86)	249 (88)	1,26 (0,75 – 2,12)	0,37
T	33 (14)	33 (12)		
<b>rs1042839</b>				
CC	85 (74)	111 (79)	1,0	0,56
TC	29 (25)	28 (20)	0,74 (0,41 – 1,34)	
TT	1 (1)	2 (1)	1,53 (0,14 – 17,17)	
C	199 (87)	250 (89)	1,22 (0,72 – 2,06)	0,47
T	31 (13)	32 (11)		
<b>rs1942836</b>				
CC	5 (4)	2 (1)	0,33 (0,06 – 1,74)	0,37
CT	31 (27)	43 (30)	1,14 (0,66 – 1,98)	
TT	79 (69)	96 (68)	1,0	
T	189 (82)	235 (83)	1,08 (0,68 – 1,72)	0,73
C	41 (18)	47 (17)		
<b>rs4754732</b>				
CC	10 (9)	10 (7)	0,74 (0,29 – 1,91)	0,73
CT	50 (43)	57 (40)	0,85 (0,51 – 1,42)	
TT	55 (48)	74 (52)	1,0	
T	160 (70)	205 (73)	1,16 (0,79 – 1,71)	0,44
C	70 (30)	77 (27)		
<b>rs653752</b>				
CC	14 (12)	31 (22)	2,04 (0,97 – 4,30)	0,12
CG	53 (46)	58 (41)	1,01 (0,59 – 1,74)	
GG	48 (42)	52 (37)	1,0	
G	149 (65)	162 (57)	0,73 (0,51 – 1,05)	0,09
C	81 (35)	120 (43)		

\*  $\chi^2$  test, PP-prijevremani porod, SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

## 5. Rezultati

Tablica 5.18. Raspodjela i učestalost modela nasljeđivanja genotipova šest SNP-ova *PGR*-a u skupinama kasnih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u majki

	Genotip	Genotip [n (%)] MAJKE		Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*
		Kasni PP (n = 114)	Kontrola (n = 141)		
<i>rs10895068</i> DOMINANTNO	G/G	95 (82,6)	122 (86,5)	1	0,39
	G/A-A/A	20 (17,4)	19 (13,5)	0,74 (0,37-1,46)	
RECESIVNO	G/G-G/A	115 (100)	139 (98,6)	1	0,12
	A/A	0	2 (1,4)	-	
SUPERDOMINANTNO	G/G-A/A	95 (82,6)	124 (87,9)	1	0,23
	G/A	20 (17,4)	17 (12,1)	0,65 (0,32-1,31)	
<i>rs1042838</i> DOMINANTNO	G/G	83 (72,2)	110 (78)	1	0,28
	T/G-T/T	32 (27,8)	31 (22)	0,73 (0,41-1,29)	
RECESIVNO	G/G-T/G	114 (99,1)	139 (98,6)	1	0,68
	T/T	1 (0,9)	2 (1,4)	1,64 (0,15-18,32)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-T/T	84 (73)	112 (79,4)	1	0,23
	T/G	31 (27)	29 (20,6)	0,70 (0,39-1,25)	
<i>rs1042839</i> DOMINANTNO	C/C	85 (73,9)	111 (78,7)	1	0,37
	T/C-T/T	30 (26,1)	30 (21,3)	0,77 (0,43-1,37)	
RECESIVNO	C/C-T/C	114 (99,1)	139 (98,6)	1	0,68
	T/T	1 (0,9)	2 (1,4)	1,64 (0,15-18,32)	
SUPERDOMINANTNO	C/C-T/T	86 (74,8)	113 (80,1)	1	0,31
	T/C	29 (25,2)	28 (19,9)	0,73 (0,41-1,33)	
<i>rs1942836</i> DOMINANTNO	T/T	79 (68,7)	96 (68,1)	1	0,92
	C/T-C/C	36 (31,3)	45 (31,9)	1,03 (0,61-1,75)	
RECESIVNO	T/T-C/T	110 (95,7)	139 (98,6)	1	0,15
	C/C	5 (4,3)	2 (1,4)	0,32 (0,06-1,66)	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	84 (73)	98 (69,5)	1	0,53
	C/T	31 (27)	43 (30,5)	1,19 (0,69-2,05)	
<i>rs4754732</i> DOMINANTNO	T/T	55 (47,8)	74 (52,5)	1	0,46
	C/T-C/C	60 (52,2)	67 (47,5)	0,83 (0,51-1,36)	
RECESIVNO	T/T-C/T	105 (91,3)	131 (92,9)	1	0,64
	C/C	10 (8,7)	10 (7,1)	0,80 (0,32-2,00)	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	65 (56,5)	84 (59,6)	1	0,62
	C/T	50 (43,5)	57 (40,4)	0,88 (0,54-1,45)	
<i>rs653752</i> DOMINANTNO	G/G	48 (41,7)	52 (36,9)	1	0,43
	C/G-C/C	67 (58,3)	89 (63,1)	1,23 (0,74-2,03)	
RECESIVNO	G/G-C/G	101 (87,8)	110 (78)	1	<b>0,03</b>
	C/C	14 (12,2)	31 (22)	2,03 (1,02-4,04)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-C/C	62 (53,9)	83 (58,9)	1	0,43
	C/G	53 (46,1)	58 (41,1)	0,82 (0,50-1,34)	

\*  $\chi^2$  test, PP-prijevremani porod, SNP-polimorfizam jednog nukleotida ( engl. *single nucleotide polymorphysm*), *PGR*-gen za progesteronski receptor.

Uspoređujući rezultate podskupine ekstremno rano prijevremeno rođene djece i kontrolne skupine terminski rođene djece, iako nije utvrđena statistički značajna razlika u učestalosti i razdiobi alela SNP-ova *rs1042838* te *rs1042839*, utvrđena je statistički značajna razlika u učestalosti i razdiobi genotipova oba spomenuta SNP-a, kako u dominantnom ( OR 3,6, CI 95 % 1,04 – 12,6, P 0,04 za *rs1042838* za oba SNP-a) ( TT+GT vrs GG kod *rs1042838* te TT+CT vrs CC kod *rs1042839*), tako i u superdominantnom ( OR 4,08, CI 95 % 1,17 – 14,3, P 0,03 za oba SNP-a ) (TG vrs

## 5. Rezultati

GG+TT u rs1042838 te TC vrs CC+TT u rs1042839) genetičkom modelu, doprinoseći riziku za sPP od 3,6 – 4,08 puta, ovisno o genetičkom modelu nasljeđivanja (tablice 5.19. i 5.20.).

Tablica 5.19. Raspodjela i učestalost alela i genotipova šest SNP-ova *PGR*-a u skupinama ekstremno ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u novorođenčadi

DJECA	Ekstremno Rani PP (n = 12)	Kontrola (n = 141)	Omjer izgleda (95 % raspon pouzdanosti)	P*
<b>rs10895068</b>				
AA	0	2 (1)	-	>0,99
GA	1 (8)	14 (10)	1,23 (0,15 – 10,27)	
GG	11 (92)	125 (89)	1,0	
G	23 (96)	264 (94)	0,64 (0,08 – 4,99)	0,67
A	1 (4)	18 (6)		
<b>rs1042838</b>				
GG	5 (45)	106 (75)	1,0	0,06
TG	6 (55)	32 (23)	0,25 (0,07 – 0,88)	
TT	0	3 (2)	-	
G	16 (73)	244 (87)	2,41 (0,89 – 6,54)	0,08
T	6 (27)	38 (13)		
<b>rs1042839</b>				
CC	5 (45)	106 (75)	1,0	0,08
TC	6 (55)	32 (23)	0,25 (0,07 – 0,88)	
TT	0	3 (2)	-	
C	16 (73)	245 (87)	2,48 (0,91 – 6,75)	0,07
T	6 (27)	37 (13)		
<b>rs1942836</b>				
CC	0	2 (1)	-	>0,99
CT	2 (18)	27 (19)	1,08 (0,22 – 5,31)	
TT	9 (82)	112 (79)	1,0	
T	20 (91)	251 (89)	0,81 (0,18 – 3,63)	0,78
C	2 (9)	31 (11)		
<b>rs4754732</b>				
CC	2 (17)	11 (8)	0,59 (0,11 – 3,23)	0,23
CT	3 (25)	65 (46)	2,33 (0,58 – 9,42)	
TT	7 (58)	65 (46)	1,0	
T	17 (71)	195 (69)	0,92 (0,37 – 2,31)	0,86
C	7 (29)	87 (31)		
<b>rs653752</b>				
CC	1 (9)	24 (17)	2,26 (0,25 – 20,44)	0,52
CG	5 (45)	64 (45)	1,21 (0,33 – 4,40)	
GG	5 (45)	53 (38)	1,0	
G	15 (68)	170 (60)	0,71 (0,28 – 1,79)	0,47
C	7 (32)	112 (40)		

\*  $\chi^2$  test, PP-prijevrmeni porod, SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphysm*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

## 5. Rezultati

Tablica 5.20. Raspodjela i učestalost modela nasljeđivanja genotipova šest SNP-ova *PGR*-a u skupinama ekstremno ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u novorođenčadi

	Genotip (n (%))	DJECA		Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*
		Ekstremno Rani PP (n = 12)	Kontrola (n = 141)		
<i>rs10895068</i> DOMINANTNO	G/G	11 (91,7)	125 (88,7)	1	0,74
	G/A-A/A	1 (8,3)	16 (11,3)	1,41 (0,17-11,64)	
RECESIVNO	G/G-G/A	12 (100)	139 (98,6)	1	0,57
	A/A	0	2 (1,4)	-	
SUPERDOMINANTNO	G/G-A/A	11 (91,7)	127 (90,1)	1	0,86
	G/A	1 (8,3)	14 (9,9)	1,21 (0,15-10,10)	
<i>rs1042838</i> DOMINANTNO	G/G	5 (45,5)	106 (75,2)	1	<b>0,04</b>
	T/G-T/T	6 (54,5)	35 (24,8)	3,6 (1,04 – 12,6)	
RECESIVNO	G/G-T/G	11 (100)	138 (97,9)	1	0,50
	T/T	0	3 (2,1)	-	
SUPERDOMINANTNO	G/G-T/T	5 (45,5)	109 (77,3)	1	<b>0,03</b>
	T/G	6 (54,5)	32 (22,7)	4,08 (1,17 – 14,3)	
<i>rs1042839</i> DOMINANTNO	C/C	5 (45,5)	106 (75,2)	1	<b>0,04</b>
	T/C-T/T	6 (54,5)	35 (24,8)	3,6 (1,04 – 12,6)	
RECESIVNO	C/C-T/C	11 (100)	138 (97,9)	1	0,50
	T/T	0	3 (2,1)	-	
SUPERDOMINANTNO	C/C-T/T	5 (45,5)	109 (77,3)	1	<b>0,03</b>
	T/C	6 (54,5)	32 (22,7)	4,08 (1,17 – 14,3)	
<i>rs1942836</i> DOMINANTNO	T/T	9 (81,8)	112 (79,4)	1	0,85
	C/T-C/C	2 (18,2)	29 (20,6)	1,17 (0,24-5,69)	
RECESIVNO	T/T-C/T	11 (100)	139 (98,6)	1	0,58
	C/C	0	2 (1,4)	-	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	9 (81,8)	114 (80,8)	1	0,94
	C/T	2 (18,2)	27 (19,1)	1,07 (0,22-5,22)	
DOMINANTNO	T/T	7 (58,3)	65 (46,1)	1	0,42
	RECESIVNO	C/T-C/C	5 (41,7)	76 (53,9)	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/T	10 (83,3)	130 (92,2)	1	0,34
	C/C	2 (16,7)	11 (7,8)	0,42 (0,08-2,18)	
<i>rs653752</i> DOMINANTNO	T/T-C/C	9 (75)	76 (53,9)	1	0,15
	C/T	3 (25)	65 (46,1)	2,57 (0,67-9,88)	
RECESIVNO	G/G	5 (45,5)	53 (37,6)	1	0,61
	C/G-C/C	6 (54,5)	88 (62,4)	1,38 (0,40-4,76)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-C/G	10 (90,9)	117 (83)	1	0,46
	C/C	1 (9,1)	24 (17)	2,05 (0,25-16,78)	
	G/G-C/C	6 (54,5)	77 (54,6)	1	>0,99
	C/G	5 (45,5)	64 (45,4)	1,00 (0,29-3,42)	

\*  $\chi^2$  test, PP-prijevremani porod, SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphysm*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

Nije utvrđena statistički značajna razlika učestalosti i raspodjele alela te genotipova između skupine rano rođene novorođenčadi i kontrolne skupine terminski rođene djece te skupine kasno rođene novorođenčadi i kontrolne skupine terminski rođene novorođenčadi. Isto tako, nije utvrđena statistički značajna razlika u razdiobi različitih genetičkih modela nasljeđivanja između skupina rano prijevremeno rođene djece i kontrolne skupine terminski rođene djece te između skupine kasno prijevremeno

## 5. Rezultati

rođene djece i kontrolne skupine terminski rođene djece. Rezultati su prikazani u tablicama 5.21. do 5.24.

Tablica 5.21. Raspodjela i učestalost alela i genotipova šest SNP-ova *PGR*-a u skupinama ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u novorođenčadi

DJECA	Rani PP (n = 24)	Kontrola (n = 141)	Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*
<i>rs10895068</i>				
AA	0	2 (1)	-	0,78
GA	1 (4)	14 (10)	2,58 (0,32 – 20,56)	
GG	23 (96)	125 (89)	1,0	
G	47 (98)	264 (94)	0,31 (0,04 – 2,39)	0,26
A	1 (2)	18 (6)		
<i>rs1042838</i>				
GG	19 (79)	106 (75)	1,0	>0,99
TG	5 (21)	32 (23)	1,15 (0,40 – 3,32)	
TT	0	3 (2)	-	
G	43 (90)	244 (87)	0,75 (0,28 – 2,00)	0,56
T	5 (10)	38 (13)		
<i>rs1042839</i>				
CC	19 (79)	106 (75)	1,0	0,60
TC	5 (21)	32 (23)	1,15 (0,40 – 3,32)	
TT	0	3 (2)	-	
C	43 (90)	245 (87)	0,77 (0,29 – 2,07)	0,60
T	5 (10)	37 (13)		
<i>rs1942836</i>				
CC	1 (4)	2 (1)	0,29 (0,02 – 3,33)	0,18
CT	7 (29)	27 (19)	0,55 (0,21 – 1,47)	
TT	16 (67)	112 (79)	1,0	
T	39 (81)	251 (89)	1,87 (0,83 – 4,22)	0,13
C	9 (19)	31 (11)		
<i>rs4754732</i>				
CC	2 (8)	11 (8)	0,85 (0,16 – 4,39)	0,95
CT	12 (50)	65 (46)	0,83 (0,34 – 2,06)	
TT	10 (42)	65 (46)	1,0	
T	32 (67)	195 (69)	1,12 (0,58 – 2,15)	0,73
C	16 (33)	87 (31)		
<i>rs653752</i>				
CC	3 (13)	24 (17)	0,91 (0,21 – 1,48)	0,35
CG	15 (63)	64 (45)	0,48 (0,18 – 1,33)	
GG	6 (25)	53 (38)	1,0	
G	27 (56)	170 (60)	1,18 (0,64 – 2,19)	0,60
C	21 (44)	112 (40)		

\*  $\chi^2$  test, PP-prijevremani porod, SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*), *PGR*-gen za progesteronski receptor



## 5. Rezultati

Tablica 5.22. Raspodjela i učestalost modela nasljeđivanja genotipova šest SNP-ova *PGR*-a u skupinama ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u novorođenčadi

	Genotip	Genotip [n (%)] <b>DJECA</b>		Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*
		Rani PP (n = 24)	Kontrola (n = 141)		
<i>rs10895068</i> DOMINANTNO	G/G	23 (95,8)	125 (88,7)	1	0,24
	G/A-A/A	1 (4,2)	16 (11,3)	2,94 (0,37-23,30)	
RECESIVNO	G/G-G/A	24 (100)	139 (98,6)	1	0,43
	A/A	0	2 (1,4)	-	
SUPERDOMINANTNO	G/G-A/A	23 (95,8)	127 (90,1)	1	0,32
	G/A	1 (4,2)	14 (9,9)	2,54 (0,32-20,23)	
<i>rs1042838</i> DOMINANTNO	G/G	19 (79,2)	106 (75,2)	1	0,67
	T/G-T/T	5 (20,8)	35 (24,8)	1,25 (0,44-3,61)	
RECESIVNO	G/G-T/G	24 (100)	138 (97,9)	1	0,33
	T/T	0	3 (2,1)	-	
SUPERDOMINANTNO	G/G-T/T	19 (79,2)	109 (77,3)	1	0,84
	T/G	5 (20,8)	32 (22,7)	1,12 (0,39-3,22)	
<i>rs1042839</i> DOMINANTNO	C/C	19 (79,2)	106 (75,2)	1	0,67
	T/C-T/T	5 (20,8)	35 (24,8)	1,25 (0,44-3,61)	
RECESIVNO	C/C-T/C	24 (100)	138 (97,9)	1	0,33
	T/T	0	3 (2,1)	-	
SUPERDOMINANTNO	C/C-T/T	19 (79,2)	109 (77,3)	1	0,84
	T/C	5 (20,8)	32 (22,7)	1,12 (0,39-3,22)	
<i>rs1942836</i> DOMINANTNO	T/T	16 (66,7)	112 (79,4)	1	0,18
	C/T-C/C	8 (33,3)	29 (20,6)	0,52 (0,20-1,33)	
RECESIVNO	T/T-C/T	23 (95,8)	139 (98,6)	1	0,41
	C/C	1 (4,2)	2 (1,4)	0,33 (0,03-3,80)	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	17 (70,8)	114 (80,8)	1	0,28
	C/T	7 (29,2)	27 (19,1)	0,58 (0,22-1,53)	
<i>rs4754732</i> DOMINANTNO	T/T	10 (41,7)	65 (46,1)	1	0,69
	C/T-C/C	14 (58,3)	76 (53,9)	0,84 (0,35-2,01)	
RECESIVNO	T/T-C/T	22 (91,7)	130 (92,2)	1	0,93
	C/C	2 (8,3)	11 (7,8)	0,93 (0,19-4,49)	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	12 (50)	76 (53,9)	1	0,72
	C/T	12 (50)	65 (46,1)	0,86 (0,36-2,03)	
<i>rs653752</i> DOMINANTNO	G/G	6 (25)	53 (37,6)	1	0,22
	C/G-C/C	18 (75)	88 (62,4)	0,55 (0,21-1,48)	
RECESIVNO	G/G-C/G	21 (87,5)	117 (83)	1	0,57
	C/C	3 (12,5)	24 (17)	1,44 (0,40-5,20)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-C/C	9 (37,5)	77 (54,6)	1	0,12
	C/G	15 (62,5)	64 (45,4)	0,50 (0,20-1,21)	

\*  $\chi^2$  test, PP-prijevremani porod, SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphysm*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

## 5. Rezultati

Tablica 5.23. Raspodjela i učestalost alela i genotipova šest SNP-ova *PGR*-a u skupinama kasnih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u novorođenčadi

DJECA	Kasni PP (n = 114)	Kontrola (n = 141)	Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*
<i>rs10895068</i>				
AA	0	2 (1)	-	0,52
GA	14 (12)	14 (10)	0,80 (0,36 – 1,76)	
GG	100 (88)	125 (89)	1,0	
G	214 (94)	264 (94)	0,96 (0,47 – 1,97)	0,91
A	14 (6)	18 (6)		
<i>rs1042838</i>				
GG	82 (71)	106 (75)	1,0	0,77
TG	30 (26)	32 (23)	0,83 (0,46 – 1,47)	
TT	3 (3)	3 (2)	0,77 (0,15 – 3,93)	
G	194 (84)	244 (87)	1,19 (0,73 – 1,95)	0,49
T	36 (16)	38 (13)		
<i>rs1042839</i>				
CC	84 (73)	106 (75)	1,0	0,92
TC	28 (24)	32 (23)	0,91 (0,61 – 1,62)	
TT	3 (3)	3 (2)	0,79 (0,16 – 4,03)	
C	196 (85)	244 (87)	1,19 (0,73 – 1,95)	0,49
T	34 (15)	38 (13)		
<i>rs1942836</i>				
CC	2 (2)	2 (1)	0,73 (0,10 – 5,31)	0,31
CT	31 (27)	27 (19)	0,64 (0,35 – 1,15)	
TT	82 (71)	112 (79)	1,0	
T	195 (85)	251 (89)	1,45 (0,87 – 2,44)	0,16
C	35 (15)	31 (11)		
<i>rs4754732</i>				
CC	13 (11)	11 (8)	0,79 (0,33 – 1,91)	0,18
CT	40 (35)	65 (46)	1,52 (0,90 – 2,58)	
TT	61 (54)	65 (46)	1,0	
T	162 (71)	195 (69)	0,91 (0,62 – 1,34)	0,64
C	66 (29)	87 (31)		
<i>rs653752</i>				
CC	19 (17)	24 (17)	1,07 (0,52 – 2,21)	0,97
CG	51 (44)	64 (45)	1,07 (0,62 – 1,83)	
GG	45 (39)	53 (38)	1,0	
G	141 (61)	170 (60)	0,96 (0,67 – 1,37)	0,81
C	89 (39)	112 (40)		

\*  $\chi^2$  test, PP-prijevrmeni porod, SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphysm*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

## 5. Rezultati

Tablica 5.24. Raspodjela i učestalost modela nasljeđivanja genotipova šest SNP-ova *PGR*-a u skupinama kasnih prijevremenih poroda i kontrolne skupine u novorođenčadi

	Genotip	Genotip [n (%)] <b>DJECA</b>		Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*
		Kasni PP (n = 114)	Kontrola (n = 141)		
<i>rs10895068</i> DOMINANTNO	G/G	100 (87,7)	125 (88,7)	1	0,82
	G/A-A/A	14 (12,3)	16 (11,3)	0,91 (0,43-1,96)	
RECESIVNO	G/G-G/A	114 (100)	139 (98,6)	1	0,12
	A/A	0	2 (1,4)	-	
SUPERDOMINANTNO	G/G-A/A	100 (87,7)	127 (90,1)	1	0,55
	G/A	14 (12,3)	14 (9,9)	0,79 (0,36-1,73)	
<i>rs1042838</i> DOMINANTNO	G/G	82 (71,3)	106 (75,2)	1	0,49
	T/G-T/T	33 (28,7)	35 (24,8)	0,82 (0,47-1,43)	
RECESIVNO	G/G-T/G	112 (97,4)	138 (97,9)	1	0,80
	T/T	3 (2,6)	3 (2,1)	0,81 (0,16-4,10)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-T/T	85 (73,9)	109 (77,3)	1	0,53
	T/G	30 (26,1)	32 (22,7)	0,83 (0,47-1,48)	
<i>rs1042839</i> DOMINANTNO	C/C	84 (73)	106 (75,2)	1	0,70
	T/C-T/T	31 (27)	35 (24,8)	0,89 (0,51-1,57)	
RECESIVNO	C/C-T/C	112 (97,4)	138 (97,9)	1	0,80
	T/T	3 (2,6)	3 (2,1)	0,81 (0,16-4,10)	
SUPERDOMINANTNO	C/C-T/T	87 (75,7)	109 (77,3)	1	0,76
	T/C	28 (24,4)	32 (22,7)	0,91 (0,51-1,63)	
<i>rs1942836</i> DOMINANTNO	T/T	82 (71,3)	112 (79,4)	1	0,13
	C/T-C/C	33 (28,7)	29 (20,6)	0,64 (0,36-1,14)	
RECESIVNO	T/T-C/T	113 (98,3)	139 (98,6)	1	0,84
	C/C	2 (1,7)	2 (1,4)	0,81 (0,11-5,86)	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	84 (73)	114 (80,8)	1	0,14
	C/T	31 (27)	27 (19,1)	0,64 (0,36-1,16)	
<i>rs4754732</i> DOMINANTNO	T/T	61 (53,5)	65 (46,1)	1	0,24
	C/T-C/C	53 (46,5)	76 (53,9)	1,35 (0,82-2,21)	
RECESIVNO	T/T-C/T	101 (88,6)	130 (92,2)	1	0,33
	C/C	13 (11,4)	11 (7,8)	0,66 (0,28-1,53)	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	74 (64,9)	76 (53,9)	1	0,08
	C/T	40 (35,1)	65 (46,1)	1,58 (0,95-2,63)	
<i>rs653752</i> DOMINANTNO	G/G	45 (39,1)	53 (37,6)	1	0,80
	C/G-C/C	70 (60,9)	88 (62,4)	1,07 (0,64-1,77)	
RECESIVNO	G/G-C/G	96 (83,5)	117 (83)	1	0,92
	C/C	19 (16,5)	24 (17)	1,04 (0,54-2,00)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-C/C	64 (55,6)	77 (54,6)	1	0,87
	C/G	51 (44,4)	64 (45,4)	1,04 (0,64-1,71)	

\*  $\chi^2$  test, PP-prijevremani porod, SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphysm*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

## 5. Rezultati

### 5.4. Raspodjela genotipova i alela u skupini prijevremenih poroda u odnosu na obilježja

U nastavku podijelila sam ispitivanu skupinu majki s prijevremenim porodom te skupinu pripadajuće prijevremeno rođene novorođenčadi na dvije podskupine ovisno o postojanju ili nepostojanju određenog rizičnog čimbenika za sPP. U analizu sam od rizičnih čimbenika uključila spol djeteta, BMI majke, starosnu dob majke, uživanje duhanskog dima majke, prethodni PP u osobnoj anamnezi, postojanje sPP-a u obiteljskoj anamnezi majke te vaginalno krvarenje majke tijekom trudnoće.

Analizirana je raspodjela genotipova i alela šest izabranih SNP-ova *PGR*-a između podskupina ispitanica i pripadajuće novorođenčadi koje su podijeljene ovisno o navedenim kliničkim čimbenicima majke i novorođenčeta.

U podskupinama majki s prijevremenim porodom nije nađena statistički značajna razlika u raspodjeli i učestalosti alela i genotipova te genetičkih modela nasljeđivanja između dviju podskupina ispitanica vezano niti za jedan navedeni rizični čimbenik PP-a.

U podskupinama prijevremeno rođene novorođenčadi utvrđena je statistički značajna razlika u raspodjeli i učestalosti genotipova između dviju podskupina u slučaju triju rizičnih čimbenika za sPP: spol novorođenčeta, starosna dob majke te krvarenja majke tijekom trudnoće.

Utvrđena je statistički značajna razlika u raspodjeli genotipova SNP-a rs4754732 s većom učestalošću CC genotipa između podskupina prijevremeno rođene djece ovisno o spolu novorođenčeta, doprinoseći skoro 2.5 puta većem izgledu za prijevremeni porod u majki koje nose muško dijete s navedenim genotipom, a prema recesivnom genetičkom modelu nasljeđivanja (TT+CT *vrs* CC) (OR 2,4, CI 95 % 1,01-5,57, P 0,04) (tablica 5.25.).

## 5. Rezultati

Tablica 5.25. Raspodjela i učestalost genetičkih modela nasljeđivanja šest SNP-ova *PGR*-a u skupini prijevremeno rođene novorođenčadi podijeljene ovisno o spolu novorođenčeta

	Genotip (n (%))	DJECA		Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*
		SPOL DJETETA MUŠKI (n = 156)	SPOL DJETETA ŽENSKI (n = 136)		
<i>rs10895068</i> DOMINANTNO	G/G	138 (89)	121 (89)	1	0,99
	G/A-A/A	17 (11)	15 (11)	1,01 (0,48-2,10)	
RECESIVNO	G/G-G/A	154 (99,3)	135 (99,3)	1	0,93
	A/A	1 (0,6)	1 (0,7)	1,14 (0,07-18,41)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-A/A	139 (89,7)	122 (89,7)	1	0,99
	G/A	16 (10,3)	14 (10,3)	1,00 (0,47-2,13)	
<i>rs1042838</i> DOMINANTNO	G/G	115 (73,7)	97 (71,8)	1	0,72
	T/G-T/T	41 (26,3)	38 (28,1)	1,10 (0,65-1,84)	
RECESIVNO	G/G-T/G	153 (98,1)	132 (97,8)	1	0,86
	T/T	3 (1,9)	3 (2,2)	1,16 (0,23-5,84)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-T/T	118 (75,6)	100 (74,1)	1	0,76
	T/G	38 (24,4)	35 (25,9)	1,09 (0,64-1,85)	
<i>rs1042839</i> DOMINANTNO	C/C	115 (73,7)	99 (73,3)	1	0,94
	T/C-T/T	41 (26,3)	36 (26,7)	1,02 (0,61-1,72)	
RECESIVNO	C/C-T/C	153 (98,1)	132 (97,8)	1	0,86
	T/T	3 (1,9)	3 (2,2)	1,16 (0,23-5,84)	
SUPERDOMINANTNO	C/C-T/T	118 (75,6)	102 (75,6)	1	0,99
	T/C	38 (24,4)	33 (24,4)	1,00 (0,59-1,72)	
<i>rs1942836</i> DOMINANTNO	T/T	116 (74,4)	103 (76,3)	1	0,70
	C/T-C/C	40 (25,6)	32 (23,7)	0,90 (0,53-1,54)	
RECESIVNO	T/T-C/T	152 (97,4)	134 (99,3)	1	0,21
	C/C	4 (2,6)	1 (0,7)	0,28 (0,03-2,57)	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	120 (76,9)	104 (77)	1	0,98
	C/T	36 (23,1)	31 (23)	0,99 (0,57-1,72)	
<i>rs4754732</i> DOMINANTNO	T/T	73 (47,1)	70 (51,5)	1	0,46
	C/T-C/C	82 (52,9)	66 (48,5)	0,84 (0,53-1,33)	
RECESIVNO	T/T-C/T	135 (87,1)	128 (94,1)	1	0,04
	C/C	20 (12,9)	8 (5,9)	2,4 (1,01 – 5,57)	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	93 (60)	78 (57,4)	1	0,65
	C/T	62 (40)	58 (42,6)	1,12 (0,70-1,78)	
<i>rs653752</i> DOMINANTNO	G/G	65 (41,7)	44 (32,6)	1	0,11
	C/G-C/C	91 (58,3)	91 (67,4)	1,48 (0,91-2,39)	
RECESIVNO	G/G-C/G	132 (84,6)	112 (83)	1	0,70
	C/C	24 (15,4)	23 (17)	1,13 (0,60-2,11)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-C/C	89 (57)	67 (49,6)	1	0,21
	C/G	67 (43)	68 (50,4)	1,35 (0,85-2,14)	

\*  $\chi^2$  test; SNP-polimorfizam jednog nukleotida ( engl. *single nucleotide polymorphysm*), *PGR*-gen za progesteronski receptor.

Nakon toga usporedila sam skupine ispitivane i kontrolne skupine novorođenčadi majki koje su rodile muško novorođenče te nisam uočila statistički značajnu razliku u raspodjeli alela i genotipova među navedenim podskupinama niti jednog od šest istraživanih SNP-ova (tablica 5.26.).

## 5. Rezultati

Tablica 5.26. Raspodjela i učestalost genotipova i alela šest SNP-ova *PGR*-a u skupinama terminski i prijevremeno rođene novorođenčadi majki koje su rodile mušku novorođenčad

<b>DJECA</b>					
		Genotip [n (%)]		Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	<i>P</i> *
		Muški spol djeteta			
		prijevremeni porod (n = 86)	kontrola (n = 69)		
<i>rs10895068</i>	G/G	76 (88,4)	62 (89,9)	1	0,38
	G/A	10 (11,6)	6 (8,7)	0,74 (0,25-2,14)	
	A/A	0 (0)	1 (1,4)	-	
Aleli	G	162 (94)	130 (94)	1,0 (0,38 – 2,6)	0,99
	A	10 (6)	8 (6)		
<i>rs1042838</i>	G/G	64 (73,6)	51 (73,9)	1	0,93
	T/G	21 (24,1)	17 (24,6)	1,02 (0,49-2,12)	
	T/T	2 (2,3)	1 (1,4)	0,63 (0,06-7,12)	
Aleli	G	149 (86)	119 (86)	1,05 (0,55 – 1,9)	0,88
	T	25 (14)	19 (14)		
<i>rs1042839</i>	C/C	64 (73,6)	51 (73,9)	1	0,93
	T/C	21 (24,1)	17 (24,6)	1,02 (0,49-2,12)	
	T/T	2 (2,3)	1 (1,4)	0,63 (0,06-7,12)	
Aleli	C	64 (74)	51 (74)	0,98 (0,47 – 2,1)	0,97
	T	21 (24)	17 (25)		
<i>rs1942836</i>	T/T	60 (69)	56 (81,2)	1	0,20
	C/T	24 (27,6)	12 (17,4)	0,54 (0,24-1,17)	
	C/C	3 (3,5)	1 (1,4)	0,36 (0,04-3,53)	
Aleli	T	144 (83)	124 (90)	1,85 (0,94 – 3,6)	0,08
	C	30 (17)	14 (10)		
<i>rs4754732</i>	T/T	41 (47,7)	32 (46,4)	1	0,57
	C/T	32 (37,2)	30 (43,5)	1,20 (0,61-2,37)	
	C/C	13 (15,1)	7 (10,1)	0,69 (0,25-1,93)	
Aleli	T	114 (66)	94 (68)	1,09 (0,7 – 1,8)	0,73
	C	58 (34)	44 (32)		
<i>rs653752</i>	G/G	37 (42,5)	28 (40,6)	1	0,97
	C/G	37 (42,5)	30 (43,5)	1,07 (0,54-2,13)	
	C/C	13 (14,9)	11 (15,9)	1,12 (0,44-2,87)	
Aleli	G	111 (64)	86 (62)	0,94 (0,59-1,49)	0,79
	C	63 (36)	52 (38)		

\*  $\chi^2$  test; SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

Isto tako, utvrđena je statistički značajna razlika u raspodjeli modela nasljeđivanja genotipova SNP-a *rs653752* s većom učestalošću CC genotipa u skupini prijevremeno rođene novorođenčadi, doprinoseći 2,27 puta većem izgledu za prijevremeni porod u majki starijih od 35 godina čije je novorođenče nositelj navedenog genotipa, a prema recesivnom genetičkom modelu nasljeđivanja (TT+CT vs CC) (OR 2,27, CI 95 % 1,19 – 4,34, P 0,02) (tablica 5.27.).

## 5. Rezultati

Tablica 5.27. Raspodjela i učestalost genetičkih modela nasljeđivanja šest SNP-ova *PGR*-a u skupini prijevremeno rođene novorođenčadi podijeljene ovisno o dobi majke

	Genotip	Genotip (n (%)) <b>DJECA</b>		Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*
		dob do 35 (n = 212)	dob 35 i više (n = 79)		
<i>rs10895068</i> DOMINANTNO	G/G	188 (88,7)	71 (89,9)	1	0,77
	G/A-A/A	24 (11,3)	8 (10,1)	0,88 (0,38-2,06)	
RECESIVNO	G/G-G/A	210 (99,1)	79 (100)	1	0,26
	A/A	2 (0,9)	0	0,00 (0,00-NA)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-A/A	190 (89,6)	71 (89,9)	1	0,95
	G/A	22 (10,4)	8 (10,1)	0,97 (0,41-2,29)	
<i>rs1042838</i> DOMINANTNO	G/G	155 (73,5)	57 (71,2)	1	0,71
	T/G-T/T	56 (26,5)	23 (28,8)	1,12 (0,63-1,98)	
RECESIVNO	G/G-T/G	208 (98,6)	77 (96,2)	1	0,24
	T/T	3 (1,4)	3 (3,8)	2,70 (0,53-13,67)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-T/T	158 (74,9)	60 (75)	1	0,98
	T/G	53 (25,1)	20 (25)	0,99 (0,55-1,80)	
<i>rs1042839</i> DOMINANTNO	C/C	156 (73,9)	58 (72,5)	1	0,80
	T/C-T/T	55 (26,1)	22 (27,5)	1,08 (0,60-1,92)	
RECESIVNO	C/C-T/C	208 (98,6)	77 (96,2)	1	0,24
	T/T	3 (1,4)	3 (3,8)	2,70 (0,53-13,67)	
SUPERDOMINANTNO	C/C-T/T	159 (75,4)	61 (76,2)	1	0,87
	T/C	52 (24,6)	19 (23,8)	0,95 (0,52-1,74)	
<i>rs1942836</i> DOMINANTNO	T/T	163 (77,2)	56 (70)	1	0,21
	C/T-C/C	48 (22,8)	24 (30)	1,46 (0,82-2,59)	
RECESIVNO	T/T-C/T	209 (99)	77 (96,2)	1	0,13
	C/C	2 (1)	3 (3,8)	4,07 (0,67-24,83)	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	165 (78,2)	59 (73,8)	1	0,43
	C/T	46 (21,8)	21 (26,2)	1,28 (0,70-2,32)	
<i>rs4754732</i> DOMINANTNO	T/T	101 (47,6)	42 (53,2)	1	0,40
	C/T-C/C	111 (52,4)	37 (46,8)	0,80 (0,48-1,35)	
RECESIVNO	T/T-C/T	193 (91)	70 (88,6)	1	0,54
	C/C	19 (9)	9 (11,4)	1,31 (0,56-3,02)	
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	120 (56,6)	51 (64,6)	1	0,22
	C/T	92 (43,4)	28 (35,4)	0,72 (0,42-1,22)	
<i>rs653752</i> DOMINANTNO	G/G	78 (37)	31 (38,8)	1	0,78
	C/G-C/C	133 (63)	49 (61,2)	0,93 (0,55-1,57)	
RECESIVNO	G/G-C/G	184 (87,2)	60 (75)	1	<b>0,02</b>
	C/C	27 (12,8)	20 (25)	2,27 (1,19-4,34)	
SUPERDOMINANTNO	G/G-C/C	105 (49,8)	51 (63,8)	1	<b>0,03</b>
	C/G	106 (50,2)	29 (36,2)	0,56 (0,33-0,96)	

\*  $\chi^2$  test; SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

Nakon toga usporedila sam skupine terminski i prijevremeno rođene novorođenčadi majki starijih od 35 godina te nisam našla statistički značajnu razliku u raspodjeli alela i genotipova niti jednog od šest SNP-ova *PGR* (tablica 5.28.).

## 5. Rezultati

Tablica 5.28. Učestalost i raspodjela alela i genotipova šest SNP-ova *PGR*-a u podskupinama majki ispitanica te majki kontrola koje su starije od 35 godina te podskupina pripadajuće novorođenčadi

		DJECA			<i>P</i> *
		Genotip (n (%)) 35 godina i više		Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	
		PP (n = 51)	kontrola (n = 29)		
<b>rs10895068</b>	G/G	44 (86)	28 (97)	1	0,11
	G/A	7 (14)	1 (3)	0,22 (0,03-1,8)	
	A/A	0	0		
Aleli	G	93 (93)	57 (98)	4,29 (0,5 – 35,8)	0,18
	A	7 (7)	1 (2)		
<b>rs1042838</b>	G/G	36 (70,6)	21 (72,4)	1	0,47
	T/G	14 (27,4)	6 (20,7)	0,73 (0,25-2,20)	
	T/T	1 (2)	2 (6,9)	3,43 (0,29-40,13)	
Aleli	G	86 (84)	48 (83)	0,89 (0,38 – 2,1)	0,80
	T	16 (16)	10 (17)		
<b>rs1042839</b>	C/C	37 (72,5)	21 (72,4)	1	0,52
	T/C	13 (25,5)	6 (20,7)	0,81 (0,27-2,46)	
	T/T	1 (2)	2 (6,9)	3,52 (0,30-41,23)	
Aleli	C	87 (85)	48 (83)	0,83 (0,35 – 1,9)	0,67
	T	15 (15)	10 (17)		
<b>rs1942836</b>	T/T	33 (64,7)	23 (79,3)	1	0,10
	C/T	17 (33,3)	4 (13,8)	0,34 (0,10-1,13)	
	C/C	1 (2)	2 (6,9)	2,87 (0,25-33,55)	
Aleli	T	83 (81)	50 (86)	1,43 (0,58 – 3,5)	0,43
	C	19 (19)	8 (14)		
<b>rs4754732</b>	T/T	26 (52)	16 (55,2)	1	0,96
	C/T	18 (36)	10 (34,5)	0,90 (0,33-2,44)	
	C/C	6 (12)	3 (10,3)	0,81 (0,18-3,71)	
Aleli	T	70 (70)	42 (72)	1,1 (0,55 – 2,31)	0,75
	C	30 (30)	16 (28)		
<b>rs653752</b>	G/G	21 (41,2)	10 (34,5)	1	0,83
	C/G	18 (35,3)	11 (37,9)	1,28 (0,44-3,71)	
	C/C	12 (23,5)	8 (27,6)	1,40 (0,43-4,51)	
Aleli	G	60 (59)	31 (53)	0,80 (0,42 – 1,5)	0,51
	C	42 (41)	27 (47)		

\*  $\chi^2$  test; PP-prijevremeni porod, SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphysm*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

Na kraju, utvrđena je statistički značajna razlika u raspodjeli genotipova SNP-a rs1942836 s većom učestalošću heterozigotnog CT genotipa u skupini prijevremeno rođene novorođenčadi čije majke nisu krvarile tijekom trudnoće, doprinoseći oko triput manjem izgledu za prijevremeni porod kod istih majki, a prema recesivnom genetičkom modelu nasljeđivanja (TT+CT vs CC) (OR 0,38, CI 95 % 0,15 – 0,98, P 0,03) (tablica 5.29.).



## 5. Rezultati

Tablica 5.29. Raspodjela i učestalost modela nasljeđivanja genotipova šest SNP-ova *PGR-a* u skupini prijevremeno rođene novorođenčadi podijeljene ovisno o krvarenju majke tijekom trudnoće

	Genotip (n (%))	DJECA		Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*	
		Ne (n = 109)	Da (n = 41)			
<i>rs10895068</i> DOMINANTNO	G/G			-	-	
	G/A-A/A	-	-			
	RECESIVNO	G/G-G/A				
	A/A	-	-	-	-	
SUPERDOMINANTNO	G/G-A/A					
	G/A	-	-	-	-	
<i>rs1042838</i> DOMINANTNO	G/G	78 (71,6)	28 (68,3)	1	0,70	
	T/G-T/T	31 (28,4)	13 (31,7)	1,17 (0,54-2,54)		
	RECESIVNO	G/G-T/G	107 (98,2)	40 (97,6)	1	0,82
	T/T	2 (1,8)	1 (2,4)	1,34 (0,12-15,16)		
SUPERDOMINANTNO	G/G-T/T	80 (73,4)	29 (70,7)	1	0,75	
	T/G	29 (26,6)	12 (29,3)	1,14 (0,52-2,53)		
<i>rs1042839</i> DOMINANTNO	C/C	80 (73,4)	28 (68,3)	1	0,54	
	T/C-T/T	29 (26,6)	13 (31,7)	1,28 (0,59-2,80)		
	RECESIVNO	C/C-T/C	107 (98,2)	40 (97,6)	1	0,82
	T/T	2 (1,8)	1 (2,4)	1,34 (0,12-15,16)		
SUPERDOMINANTNO	C/C-T/T	82 (75,2)	29 (70,7)	1	0,58	
	T/C	27 (24,8)	12 (29,3)	1,26 (0,56-2,80)		
<i>rs1942836</i> DOMINANTNO	T/T	74 (67,9)	33 (80,5)	1	0,12	
	C/T-C/C	35 (32,1)	8 (19,5)	0,51 (0,21-1,22)		
	RECESIVNO	T/T-C/T	108 (99,1)	39 (95,1)	1	0,15
	C/C	1 (0,9)	2 (4,9)	5,54 (0,49-62,80)		
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	75 (68,8)	35 (85,4)	1	<b>0,03</b>	
	C/T	34 (31,2)	6 (14,6)	0,38 (0,15-0,98)		
<i>rs4754732</i> DOMINANTNO	T/T	56 (51,4)	22 (53,7)	1	0,80	
	C/T-C/C	53 (48,6)	19 (46,3)	0,91 (0,44-1,87)		
	RECESIVNO	T/T-C/T	98 (89,9)	35 (85,4)	1	0,44
	C/C	11 (10,1)	6 (14,6)	1,53 (0,53-4,44)		
SUPERDOMINANTNO	T/T-C/C	67 (61,5)	28 (68,3)	1	0,44	
	C/T	42 (38,5)	13 (31,7)	0,74 (0,35-1,59)		
<i>rs653752</i> DOMINANTNO	G/G	38 (34,9)	18 (43,9)	1	0,31	
	C/G-C/C	71 (65,1)	23 (56,1)	0,68 (0,33-1,42)		
	RECESIVNO	G/G-C/G	92 (84,4)	35 (85,4)	1	0,88
	C/C	17 (15,6)	6 (14,6)	0,93 (0,34-2,54)		
SUPERDOMINANTNO	G/G-C/C	55 (50,5)	24 (58,5)	1	0,38	
	C/G	54 (49,5)	17 (41,5)	0,72 (0,35-1,49)		

\*  $\chi^2$  test; PP-prijevremani porod, SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

Nakon toga usporedila sam skupine prijevremeno i terminski rođene novorođenčadi majki koje su krvarile tijekom trudnoće te nisam našla statistički značajnu razliku u raspodjeli alela i genotipova niti jednog od šest istraživanih SNP-ova *PGR-a* (tablica 5.30.).

## 5. Rezultati

Tablica 5.30. Učestalost i raspodjela alela i genotipova šest SNP-ova *PGR*-a u skupinama prijevremeno i terminski rođene novorođenčadi majki koje su krvarile u trudnoći

		DJECA		Omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)	P*
		Genotip (n [%]) Krvarenje u trudnoći			
		Prijevremeni porod (n = 42)	kontrola (n = 12)		
<i>rs10895068</i>	G/G	37 (90,2)	10 (83,3)	1	0,22
	G/A	4 (9,8)	1 (8,3)	0,93 (0,09-9,23)	
	A/A	0 (0)	1 (8,3)	-	
Aleli	G	78 (95)	21 (88)	0,36 (0,07 – 1,73)	0,20
	A	4 (5)	3 (12)		
<i>rs1042838</i>	G/G	29 (69)	10 (83,3)	1	0,52
	T/G	12 (28,6)	2 (16,7)	0,48 (0,09-2,54)	
	T/T	1 (2,4)	0 (0)	-	
Aleli	G	70 (83)	22 (92)	2,2 (0,46 – 10,4)	0,32
	T	14 (17)	2 (8)		
<i>rs1042839</i>	C/C	29 (69)	10 (83,3)	1	0,52
	T/C	12 (28,6)	2 (16,7)	0,48 (0,09-2,54)	
	T/T	1 (2,4)	0 (0)	-	
Aleli	C	70 (83)	22 (92)	2,2 (0,46 – 10,4)	0,32
	T	14 (17)	2 (8)		
<i>rs1942836</i>	T/T	34 (81)	11 (91,7)	1	0,49
	C/T	6 (14,3)	1 (8,3)	0,52 (0,06-4,76)	
	C/C	2 (4,8)	0 (0)	-	
Aleli	T	74 (88)	23 (96)	3,1 (0,38 – 25,6)	0,29
	C	10 (12)	1 (4)		
<i>rs4754732</i>	T/T	22 (53,7)	4 (33,3)	1	0,43
	C/T	13 (31,7)	6 (50)	2,54 (0,60-10,70)	
	C/C	6 (14,6)	2 (16,7)	1,83 (0,27-12,54)	
Aleli	T	57 (70)	14 (58)	0,61 (0,24 – 1,57)	0,31
	C	25 (30)	10 (42)		
<i>rs653752</i>	G/G	18 (42,9)	5 (41,7)	1	>0,99
	C/G	17 (40,5)	5 (41,7)	1,06 (0,26-4,32)	
	C/C	7 (16,7)	2 (16,7)	1,03 (0,16-6,59)	
Aleli	G	53 (63)	15 (62)	0,97 (0,38 – 2,49)	0,96
	C	31 (37)	9 (38)		

\*  $\chi^2$  test; SNP-polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*), *PGR*-gen za progesteronski receptor

### 5.5. Analiza neravnoteže alelne povezanosti i analiza haplotipova šest izabranih SNP-ova *PGR*-a

Analiza haplotipova utvrdila je da je povezanost samo jednog haplotipa *PGR*-a u novorođenčadi sa sPP-om (tablica 5.31.). Ovaj haplotip djeluje protektivno, na način da majke čija novorođenčad je nositelj G C T haplotipa kombinacije polimorfizama ima nešto manje od dvaput niži omjer izgleda za sPP-om. Međutim, nakon korekcije P vrijednosti ova povezanost više nije bila statistički značajna.

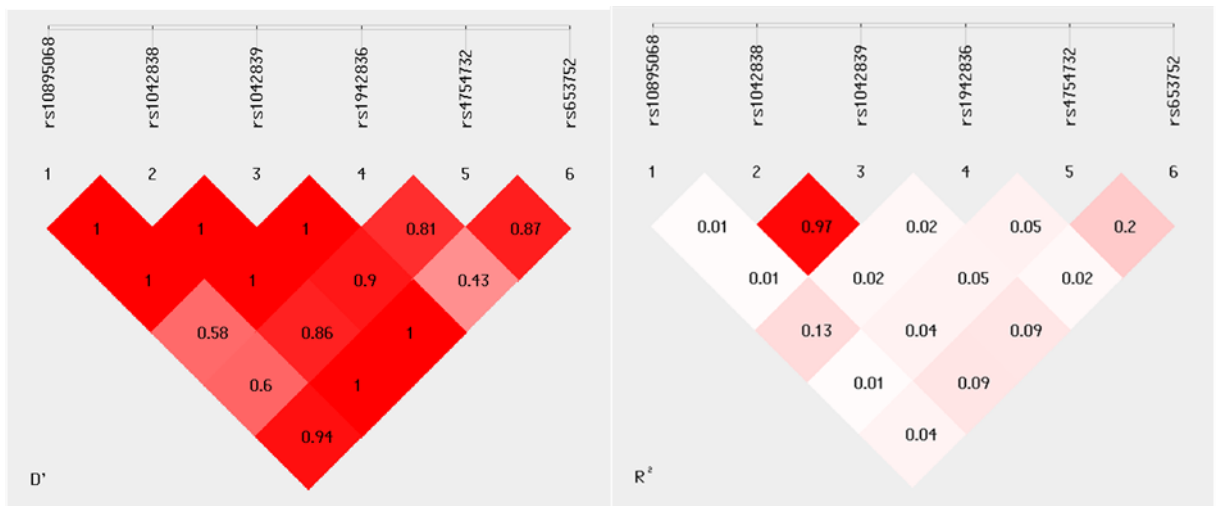
## 5. Rezultati

Tablica 5.31. Učestalost haplotipova tri SNP-a PGR (rs1042838, rs1042839, rs1942836) i njihov utjecaj na predispoziciju za sPP u ispitanica i pripadajuće novorođenčadi te kontrola i pripadajuće novorođenčadi

Haplotip			Broj (%)		OR (95 % IP)	$\chi^2$	P*	adjP†
			Prijevremeni porod	Kontrole				
<b>MAJKE</b>			$\chi^2 = 1,89$ df = 2					
			P = 0,39					
rs1042838	rs1042839	rs1942836						
G	C	G	144 (48)	133 (47)	1,021 (0,74 – 1,41)	0,02	0,90	0,90
G	C	C	112 (37)	117 (41)	0,831 (0,59 – 1,16)	1,19	0,28	0,37
T	T	G	44 (15)	32 (11)	1,332 (0,82 – 2,17)	1,34	0,25	0,37
<b>DJECA</b>			$\chi^2 = 3,56$ df = 2					
			P = 0,17					
rs1042838	rs1042839	rs1942836						
G	C	T	205 (69)	214 (76)	0,671 (0,47 – 0,97)	2,24	<b>0,03</b>	0,06
T	T	T	45 (15)	37 (13)	1,159 (0,73 – 1,85)	0,38	0,54	0,54
G	C	C	46 (15)	31 (11)	1,454 (0,89 – 2,37)	2,29	0,13	0,17

\* $\chi^2$  test; † Benjamini-Hochberg metoda korigiranja P vrijednosti ; OR- omjer izgleda (engl. *odds ratio*) , IP- interval pouzdanosti

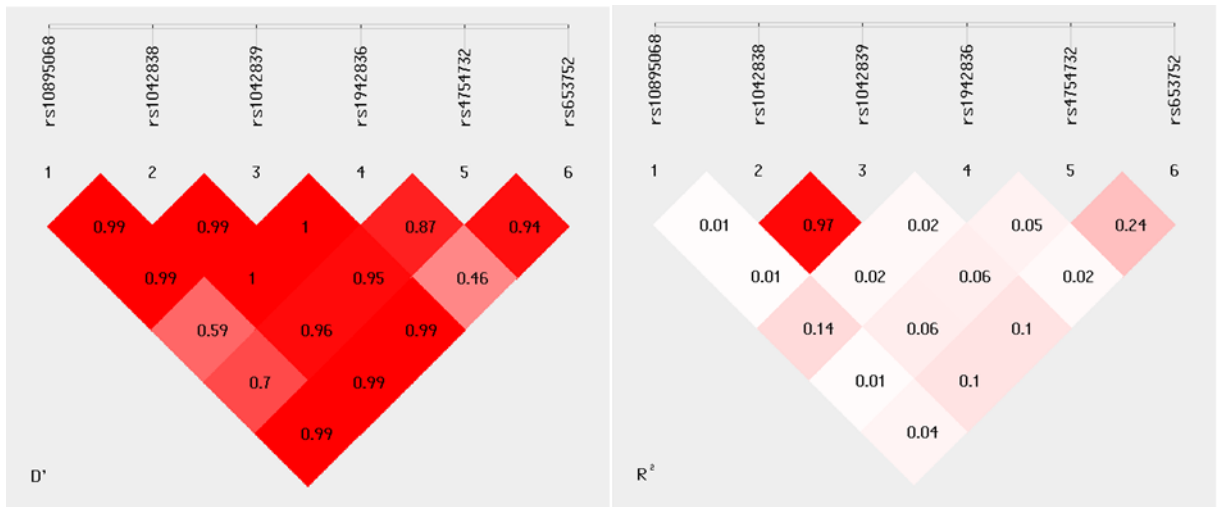
Neravnoteža alelne povezanosti između šest izabranih SNP-ova PGR i skupinama majki i novorođenčadi vidi se na slikama 5.2. te 5.3. Za istaknuti je da su i u skupini majki i u skupini novorođenčadi jedino SNP-ovi rs1042838 te rs1042839 u gotovo potpunoj neravnoteži alelne povezanosti ( $D'$  1,0 te  $r^2$  0,971 u skupini majki te  $D'$  1,0 te  $r^2$  0,972 u skupini novorođenčadi).



Slika 5.2. Uzorak analize neravnoteže alelne povezanosti (LD, engl. *linkage disequilibrium*) šest izabranih SNP-ova PGR-a u skupini majki

Izračuni u programu SHEsis plus na vrhu prikazuju šest izabranih SNP-ova PGR-a. Donji dio slike prikazuje vrijednosti neravnoteže alelne povezanosti (LD, engl. *linkage disequilibrium*) za parove navedenih polimorfizama vrijednostima  $r^2$  te  $D'$ . Obje su vrijednosti standardizirane vrijednosti za LD. Što su vrijednosti koeficijenta korelacije  $r^2$  te  $D'$  bliže nuli, populacija je bliže ravnoteži. Uočena je gotovo potpuna neravnoteža alelne povezanosti samo između SNP-ova rs1042838 te rs1042839 s obzirom na vrijednosti  $r^2$  te  $D'$ .

## 5. Rezultati



Slika 5.3. Uzorak analize neravnoteže alelne povezanosti (LD, engl. *linkage disequilibrium*) šest izabranih SNP-ova *PGR*-a u skupini novorođenčadi

Izračuni u programu SHEsis plus na vrhu prikazuju šest izabranih SNP-ova *PGR*-a. Donji dio slike prikazuje vrijednosti neravnoteže alelne povezanosti (LD, engl. *linkage disequilibrium*) za parove navedenih polimorfizama vrijednostima  $r^2$  te  $D'$ . Obje su vrijednosti standardizirane vrijednosti za LD. Što su vrijednosti koeficijenta korelacije  $r^2$  te  $D'$  bliže nuli, populacija je bliže ravnoteži. Uočena je gotovo potpuna neravnoteža alelne povezanosti samo između SNP-ova rs1042838 te rs1042839 s obzirom na vrijednosti  $r^2$  te  $D'$ .

### 5.6. Analiza međudjelovanja šest SNP-ova *PGR*-a u modulaciji rizika za sPP

Analizirane su interakcije SNP-ova u utjecaju na modulaciju rizika za sPP u skupinama ispitanica te pripadajuće prijevremeno rođene novorođenčadi te kontrola te terminski rođene novorođenčadi. Nakon analize uspoređene su interakcije između skupina ispitanica i kontrola te je nađena statistički značajna razlika samo u dva slučaja interakcija SNP-ova *PGR*-a, i to u skupini majke. Navedene negativne interakcije odvale su se između rs10895068, rs1042839 te rs1942836 u jednoj kombinaciji te između rs10895068, rs1042838 te rs1942836 u drugoj (tablici 5.32.). Međutim, nakon korekcije p vrijednosti metodom prema Benjamini Hochbergu ta razlika u interakciji između dviju skupina više nije bila statistički značajna.

## 5. Rezultati

Tablica 5.32. Prikaz međudjelovanja polimorfizama *PGR*-a u skupinama majki i novorođenčadi

	Skupina PP interakcija	Kontrola interakcija	razlika	P	adjP*
<b>MAJKE</b>					
rs10895068,rs1042839,rs1942836	-0,005	-0,014	0,009	0,02	0,629
rs10895068,rs1042838,rs1942836	-0,005	-0,014	0,009	0,046	0,629
<b>DJECA</b>					
nema					

\*Benjamini-Hochberg metoda korigiranja P vrijednosti; PP-prijevreteni porod

Na kraju je učinjena bivarijantna i multivarijantna logistička regresija predviđanja vjerojatnosti za sPP šest navedenih SNP-ova *PGR*-a u majki i u novorođenčadi, uz korekciju za rizične čimbenike (pušenje, dob majke, spol djeteta, krvarenje u trudnoći), kao mogućih prediktora sPP-a. Multivarijantnom logističkom regresijom (*backward* metoda) postoji značajan model u predikciji PP, od kojih je djetetov rs1942836 (C/T – +C/C vrs TT) značajan (OR = 10,8). Model je u cijelosti značajan ( $\chi^2$  test = 25,9, df=8 P = 0,02) i objašnjava od 40,1 % (po Cox&Snell) do 54 % (po Nagelkerke) nastanka PP i točno klasificira 73 % slučajeva (tablica 5.33.).

Tablica 5.33. Predviđanje vjerojatnosti prijevremenog poroda (bivarijantna i multivarijantna (*backward* metoda) regresijska analiza)

	$\beta$	Wald	P	omjer izgleda (95 % interval pouzdanosti)
<b>Bivarijantna regresija</b>				
<b>Majke</b>				
rs10895068 (G/A-A/A vs. GG )	-0,14	0,026	0,87	0,86 (0,14 – 5,36)
rs1042838 (T/G-T/T vs. GG)	-0,47	0,47	0,49	0,62 (0,16 – 2,40)
rs1042839 (T/C-T/T vs. CC)	-0,60	0,72	0,39	0,55 (0,14 – 2,19)
rs1942836 (C/T-C/C vs. TT)	-0,43	0,39	0,53	0,65 (0,17 – 2,48)
rs4754732 (C/T-C/C vs. TT)	0,59	0,89	0,34	1,8 (0,53 – 6,1)
rs653752 (C/G-C/C vs. GG)	0,04	0,005	0,94	1,04 (0,32 – 3,38)
<b>Djeca</b>				
rs10895068 (G/A-A/A vs. GG )	1,51	1,22	0,27	4,5 (0,31 – 65,2)
rs1042838 (T/G-T/T vs. GG)	1,25	2,97	0,08	3,5 (0,84 – 14,6)
rs1042839 (T/C-T/T vs. CC)	1,18	2,56	0,11	3,2 (0,77 – 13,7)
rs1942836 (C/T-C/C vs. TT)	1,29	3,46	0,06	3,6 (0,93-14,2)
rs4754732 (C/T-C/C vs. TT)	-0,12	0,04	0,84	0,88 (0,27 – 2,93)
rs653752 (C/G-C/C vs. GG)	-0,98	0,25	0,12	0,37 (0,11 – 1,31)
<b>Multivarijantna regresija</b>				
Djeca rs1942836 (C/T-C/C vs. TT)	2,4	5,51	<b>0,02</b>	10,8 (1,48 – 79,3)
Konstanta	-1,8	5,70	<b>0,02</b>	

$\beta$  – koeficijent regresije

## 6. Rasprava

Prijevremeni porod je, unatoč velikom broju istraživanja vezanih uz mehanizme nastanka te preventivne i terapijske mjere koje bi mogle i trebale utjecati na njegovu incidenciju, i dalje jedan od glavnih uzroka velikom postotku perinatalnog mortaliteta i morbiditeta (37). K tomu, unatoč preventivnim mjerama koje se koriste, incidencija PP-a se na svjetskoj razini ne smanjuje (37,38). Djelomično je tomu uzrok veći broj MIPP-a zbog različitih indikacija vezanih za druge patološke promjene vezane za trudnoću (39), a djelomično je moguće posljedica snižavanja granice vijabilnosti trudnoće te, posljedično tome, rađanja određenog broja novorođenčadi ekstremno prijevremeno i to u prozoru od 20. do 24. tjedana trudnoće.

PP se naziva i velikim obstetričkim sindromom (46), zbog svoje multifaktorijalne etiologije te niza mehanizama koji, preklapajući se, dovode do sPP-a. Upravo zbog multifaktorijalne etiologije, istraživanja o uzrocima i mogućim terapijskim djelovanjima u prevenciji sPP-a iznimno su kompleksna.

U cijelom dijapazonu etioloških čimbenika koji uzrokuju sPP, genetička predispozicija za sPP sve je više u djelokrugu istraživača. Tako je dokazano da je povećan rizik za PP u majki koje su ili same imale PP u anamnezi ili su imale PP u obiteljskoj anamnezi (152–154).

Istraživan je cijeli niz gena i SNP-ova te njihova povezanost sa sPP-om, a sve u svrhu istraživanja patofizioloških puteva koji posljedično dovode do sPP-a (168,171). Isto tako, posljedično novim saznanjima o SNP-ovima koji dovode do sPP-a, moguće je da se shodno saznanju prilagode terapijske mjere ili čak prevenira sam PP. Najčešće su istraživani SNP-ovi koji moduliraju upalni odgovor majke te aktiviraju mehanizme obrane domaćina (168). Uz upalni odgovor majke kao jedan od glavnih mehanizama koji dovodi do sPP-a, svakako valja istaknuti i utjecaj P4 na održavanje trudnoće te moguće promjene u njegovoj signalizaciji koje bi mogle dovesti do sPP-a.

Poznato je, naime, da za razliku od ostalih sisavaca u ljudi ne dolazi do klasičnog pada serumske koncentracije P4 koja, između ostalih čimbenika, dovodi do poroda. U ljudi pak prepoznajemo FPW fenomen uzrokovan promjenom funkcije ili

## 6. Rasprava

izražaja PR-a na koje se P4 veže. Taj proces posljedično može biti jedan od okidača za sPP (7,320,321). U duhu prethodnih navoda započela sam istraživanje o SNP-ovima gena za progesteronski receptor te istraživanje o njihovoj povezanosti sa sPP-om, pod pretpostavkom da su određeni polimorfizmi jednog nukleotida *PGR*-a barem djelomično odgovorni za povišen omjer izgleda za sPP. Isto tako, određivanjem serumske koncentracije P4 u krvi majke neposredno pred porod htjela sam potvrditi FPW teoriju.

Istraživanje je provedeno kao istraživanje povezanosti genotipa i fenotipa, kako bi se odredilo koji su SNP-ovi *PGR*-a povezani sa sPP-om. Također, cilj je bio pokazati utječe li samo majčin genotip na rizik za sPP ili na isti djeluje i fetalni genotip te djeluju li određeni SNP-ovi samostalno ili u okviru haplotipa te postoji li određeno međudjelovanje pojedinih SNP-ova u modulaciji rizika za sPP.

Izvornost ovog istraživanja vidi se u činjenici da je prvi put istraživana izabrana kombinacija SNP-ova *PGR*-a te njihova zasebna ili zajednička modulacija rizika za sPP. Uvidom u dostupnu literaturu ovo je prvo istraživanje koje je analiziralo kombinaciju ovih šest SNP-ova *PGR*-a samostalno ili u sklopu haplotipova u odnosu na moguću modulaciju rizika za sPP. Jednako tako, ovo je prvo istraživanje koje je u ovom opsegu istražilo povezanost navedenih šest SNP-ova *PGR*-a u kombinaciji s čimbenicima rizika za sPP. Također, temeljem uvida u dostupnu literaturu, ovo je prvo istraživanje koje je za navedenih šest SNP-ova istražilo međudjelovanje te utjecaj na sPP, kako u majki, tako i u pripadajuće novorođenčadi.

Svakako je bitno istaknuti da sam u ovom istraživanju uključila SNP-ove *PGR*-a i u majke i u djeteta te time neizravno uključila i mogući utjecaj očevih gena na početak sPP-a.

SNP-ovi *PGR*-a, rs10895068, rs1042838, rs1042839, rs1942836, rs4754732 te rs653752 izabrani su na temelju svoga dokazanog utjecaja na promjenu izražaja samog *PGR*-a na razini transkripcije te posttranslacijskih modifikacija, što dovodi do promjene razine PR-a te posljedično do povećane mogućnosti za PP-om. Jednako tako, neka od dosadašnjih istraživanja upućivala su na moguću povezanost navedenih SNP-ova sa sPP-om (272,282,283,322).

## 6. Rasprava

### 6.1. Analiza serumske koncentracije P4 između skupina ispitanica i kontrolne skupine te izabrane podskupina

Progesteron je bitan čimbenik u održavanju trudnoće te je poznato njegovo, kako protuupalno i imunomodulacijsko djelovanje, tako i njegov utjecaj na kontraktilnost maternice (203) te sazrijevanje vrata maternice (212). U literaturnim navodima navedena je činjenica da prije samog poroda u ljudi, za razliku od ostalih sisavaca, dolazi do funkcionalnog smanjenja koncentracije P4, koji, uz ostale mehanizme, dovodi do početka, kako terminskog, tako i prijevremenog poroda (215). Ovim istraživanjem htjela sam na neki način potvrditi FPW teoriju.

Rezultati ovog istraživanja, doduše, jesu pokazali statistički značajnu razliku u serumskoj koncentraciji P4 između skupine ispitanica i kontrolne skupine. Međutim, treba uzeti u obzir da se vrijednosti P4 razlikuju prema tromjesečjima trudnoće (323) te da klasična podjela na kontrolnu i ispitivanu skupinu majki nije najadekvatnija za usporedbu vrijednosti P4. Shodno tomu, pokušala sam najadekvatnije rasporediti majke s obzirom na tjedne gestacije te referentne vrijednosti P4 ovisno o tromjesečjima, te ustrojila nove dvije skupine za usporedbu vrijednosti P4, prema kojima razlike s obzirom na raspodjelu prema referentnim vrijednostima nije bilo.

Određivanjem vrijednosti P4 htjela sam potvrditi teoriju prema kojoj je pad P4 i prestanak njegovih učinaka na održavanje trudnoće i mirnoću maternice samo funkcionalan (215–217). Teorija je počela svoj razvoj još 60-ih godina prošlog stoljeća, kada je Csapo sa suradnicima (198,324) utvrdio da u ljudi nema klasičnog pada serumske koncentracije P4 u majki pred sam porod. U međuvremenu daljnja su istraživanja temeljena na pronalaženju načina na koji dolazi do funkcionalnog pada P4, proučavajući progesteronske receptore, postranslacijske modifikacije te utjecaj koaktivatora i korepresora na P4/PR signalizaciju te zajednički utjecaj na početak poroda (259,325). Serumske koncentracije P4 pred sam porod uglavnom su istraživane u okviru validacije novih metoda određivanja serumske koncentracije steroidnih hormona (323,326). I ta su istraživanja utvrdila da serumska koncentracija P4 u trećem tromjesečju nije niža od serumske koncentracije u prva dva tromjesečja.

Iako je sama FPW teorija već potvrđena kako prije, tako neizravno i ovim istraživanjem, moguće je da bi se osjetno točnije isto dokazalo serijskim vađenjem razine P4 kroz



## 6. Rasprava

određeno vremensko razdoblje prije samog poroda, a gdje bi se uočila krivulja vrijednosti P4 te njegova tendencija rasta ili pada serumske koncentracije, a neovisno o tromjesečju trudnoće te referentnim vrijednostima istog.

Također, usporedila sam vrijednosti P4 ovisno o raspodjeli alela i genotipova šest izabranih SNP-ova *PGR*-a između skupina ispitanica i kontrola te pripadajućih skupina novorođenčadi. Nije uočena statistički značajna razlika u raspodjeli serumske koncentracije P4 ovisno o genotipovima svih šest SNP-ova *PGR*-a niti u skupinama majki niti i u skupinama pripadajuće novorođenčadi. Rezultat je očekivan s obzirom na činjenicu da su ove varijante *PGR*-a ipak odgovorne za izražaj gena za PR, ne za sam P4.

### 6.1. Analiza raspodjele i učestalosti šest izabranih SNP-ova *PGR*-a

Genske varijacije, kao što su polimorfizmi jednoga nukleotida (SNP), odnosno mutacije, mogu imati utjecaj na transkripcijsku efikasnost gena, poluživot mRNA, i strukturu proteinskoga produkta, a samim time i na njegovu funkciju (327). Proučavajući mehanizme te genske varijante koje su uključene u patofiziološke mehanizme sPP-a, uočen je velik broj SNP-ova koji su istraživani, a isto tako i veliki broj SNP-ova koji su povezani sa sPP-om. Najčešće su proučavani SNP-ovi gena koji su povezani s imunološkim odgovorom majke te SNP-ovi gena koji su povezani s upalnom reakcijom u majke (168). SNP-ovi gena za progesteronski receptor koji dovode do promjene u signalizaciji P4 ovisno o varijantama samog receptora, istraživani su nešto rjeđe. Proučavajući dostupne literaturne navode vezane uz izabranih šest SNP-ova *PGR*-a, nađeno je svega 10-ak uglavnom asocijacijskih istraživanja parova između skupina ispitanica i kontrola te u nekim istraživanjima i skupina pripadajuće novorođenčadi ili čak cijelih obitelji (272,282–284). Navedena istraživanja razmatrala su povezanost određenih varijanti *PGR*-a u majki ili novorođenčadi samostalno ili u okviru haplotipova sa sPP-om.

U ovom istraživanju učestalost i raspodjela alela i genotipova svih šest navedenih SNP-ova *PGR* u kontrolnoj skupini bila je u skladu s podacima za ostale europske populacije (328).

## 6. Rasprava

U istraživanju je uočena statistički značajna razlika u raspodjeli mutiranog T alela SNP-a rs1042838 između skupina terminski i prijevremeno rođene novorođenčadi. Utvrđeno je da majke čija novorođenčad ima rjeđi T alel SNP-a rs1042838 *PGR*-a imaju nešto manje od dvaput veći izgled za sPP-om. Isto tako, utvrđena je statistički značajna razlika u raspodjeli homozigotnog TT genotipa rjeđih alela dva SNP-a *PGR*-a, rs1042838 i rs1042839, između podskupina ekstremno ranih prijevremenih poroda i kontrolne skupine i kod majki i kod novorođenčadi.

Naime, utvrđeno je da majke koje nose homozigotni TT genotip rs1042838 i homozigotni TT genotip rs1042839 u aditivnom ili recesivnom modelu nasljeđivanja imaju nešto manje od 14 puta veći izgled za ekstremno ranim prijevremenim porodom. Za razliku od njih majke čija je novorođenčad nositelj TG ili TT genotipa SNP-a rs1042838 te TC ili TT genotipa SNP-a rs1042839 *PGR*-a, imaju 3.6 do 4.08 puta veću mogućnost za ekstremno ranim prijevremenim porodom, ovisno o modelu nasljeđivanja genotipova (dominantni ili superdominantni model nasljeđivanja).

U konačnici, uspoređujući podskupinu majki s kasnim prijevremenim porodom te kontrolnu skupinu majki, utvrđeno je da majke koje nose homozigotni CC genotip SNP-a rs652753 *PGR*-a u recesivnom modelu nasljeđivanja, imaju oko dvaput veći izgled za kasnim sPP-om.

rs1042838 i rs1042839 dvije su točkaste mutacije koje se nalaze na egzonima 4 i 5 *PGR*-a, a zajedno s alu insercijom čine dio PROGINS varijante *PGR*-a (293). Dok se za rs1042838 pretpostavlja da djeluje na samu aktivnost proteina te na posttranslacijske modifikacije u P4/PR signalizaciji, za rs1042839 zna se da je tiha mutacija koja ne mijenja uvelike aktivnost proteina PR-a (293). Dosad su uglavnom povezivane s povećanim rizikom za određena ginekološka stanja, kao što su karcinom jajnika, karcinom endometrija te karcinom dojke (292,310,311). S obzirom da su oba navedena SNP-a locirana u blizini ili u predjelu domene gena koji kodira LBD PR-a, pretpostavka je da ti polimorfizmi, između ostalog, mogu utjecati na promjenu mogućnosti vezivanja P4 na PR (273). Gubitak bilo kojeg dijela LBD dovodi do smanjenja vezanja liganda te smanjenja transkripcije gena na koje utječe P4 (294). Za te dvije mutacije pretpostavlja se da smanjuju stabilnost transkripcije *PGR*-a, što posljedično može dovesti do manje osjetljivosti PR-a na P4, promjene omjera

## 6. Rasprava

progesteronskih receptora, promjena u signalizaciji P4/PR-a te u konačnici do FPW i početka poroda (293).

Li i suradnici u istraživanju iz 2018. godine ukazali su da je PROGINS varijanta *PGR*-a, odnosno promjena valina leucinom na mjestu 660 u obliku homozigota, postojala već u genomu neandertalaca (277). Uz nju je u haplotipu bila i varijanta H770H te S344T varijanta. Dotični haplotip neandertalaca, s ili bez alu insercije, postoji u većini populacije i danas (300). Zeberg sa suradnicima u svom istraživanju navedenog haplotipa htio je vidjeti ima li navedeni haplotip utjecaj na razne fenotipove i u današnjih nositelja dotične varijante. Uvidom u UK biobanku podataka te koristeći Gene ATLAS (301), zamijetio je manju učestalost krvarenjem u ranoj trudnoći te manji broj pobačaja u opstetričkoj anamnezi majki nositeljica dotičnog haplotipa. To je djelovanje u suprotnosti s povezanošću tog haplotipa sa sPP-om, gdje je vidljiva pozitivna korelacija te veći broj sPP-a u majki nositeljica dotičnog haplotipa. Ta suprotna povezanost može se objasniti činjenicom da dotična neandertalna PROGINS varijanta pomaže održavanju trudnoća koje se prije ne bi održale te posljedično dovodi do povećanog broj PP-a (300).

Nekoliko je istraživanja do sada pokušalo utvrditi povezanost ta dva SNP-a s povećanim izgledima za sPP-om. Rezultati su različiti.

Tako je Ehn sa suradnicima (272) u svom istraživanju na 415 obitelji uočila povećan rizik za sPP-om samo kod majki nositeljica ta dva SNP-a, ne i kod djece. Zamijetila je povećan rizik za sPP-om u majki nositeljica ove dvije polimorfne varijante, kako u skupini svih prijevremenih poroda u odnosu na kontrolu, tako i u odnosu podskupine ranih prijevremenih poroda prema kontrolnoj skupini.

Luo sa suradnicima (282) u svom istraživanju na 78 ispitanica i 415 kontrola nije uočio povezanost ova dva SNP-a s prijevremenim porodom u majki, osim u podskupini majki s BMI manjim od  $18.5 \text{ kg/m}^2$ , gdje je relativni rizik u podskupini pothranjenih majki nositeljica ovih polimorfnih varijanti za sPP-om bio 10.8 viši od iste podskupine majki u kontrolnoj skupini.

Treće istraživanje koje je pokazalo povezanost ta dva SNP-a s većim izgledima za sPP bilo je istraživanje Panikkar i suradnika (322). Naime, ona je u svom istraživanju, u koje je uključila 150 ispitanica i 150 kontrola, uočila povezanost kako te

## 6. Rasprava

dvije polimorfne varijante s povišenim rizikom za sPP generalno, tako i povišenim rizikom za sve tri podskupne sPP-a zasebno (ekstremno rani, rani i kasni sPP).

Nasuprot ovim trima istraživanjima postoji i određen broj istraživanja koja istu povezanost nisu dokazala, kao što su istraživanje Manuck i suradnika (329), Diaz Cueto i suradnika (294), Oliveire i suradnika (285), Tiwari i suradnika (284) te Kolanowske sa suradnicima (330).

S druge strane, SNP rs653752 *PGR*-a dosad je osjetno manje istraživano u kontekstu sPP-a. Radi se o intronskoj varijanti koja je locirana u regulatornoj regiji *PGR*-a te se pretpostavlja da utječe na izražaj *PGR*-a.

Ehn i suradnici su u svom istraživanju uočili da je ovaj SNP u potpunoj neravnoteži alelne povezanosti s *PROGINS* varijantom *PGR*-a te se pretpostavlja da, kao i u slučaju *PROGINS* varijante, i ova varijanta *PGR*-a kodira PR nešto manje osjetljive na utjecaj P4 (272). Dosad se istraživao zbog moguće povezanosti samo u slučaju karcinoma dojke (331) te sPP-a (272).

Dosad su provedena četiri istraživanja u kojima se proučavala povezanost SNP-a rs653752 sa sPP-om. Samo je Ehn sa suradnicima pronašla povezanost i to povezanost navedenog SNP-a u majke s ranim prijevremenim porodom (272).

U istraživanju Bustos i suradnika (332) ovaj SNP nije bio u HW ekvilibriju te je isključen iz dalje analize, dok u ostala dva istraživanja, Mann i suradnika (283) te Manuck i suradnika (329), nije dokazana njegova povezanost sa sPP-om.

Ovi rezultati u jednom dijelu potvrdili su rezultate prethodnih istraživanja koja su proučavala povezanost ova tri SNP-a sa sPP-om. Isto tako, pokazano je da i SNP-ovi majke i SNP-ovi novorođenčeta iskazuju određenu povezanost sa sPP-om, a time i mogući utjecaj na modulaciju rizika za isti. K tomu, uzimajući u obzir lokaciju te sličan učinak ta tri SNP-a na osjetljivost PR-a na P4 te njihov sličan utjecaj na izražaj *PGR*-a, možda i ne iznenađuje da su se baš ta tri SNP-a istaknula rezultatima te statističkom značajnošću u povezanosti sa sPP-om. Ehn sa suradnicima pokazala je čak u svom istraživanju da su ta tri SNP-a u neravnoteži alelne povezanosti, što ne znači nužno jednaku funkciju sva tri polimorfizma, ali može ukazati na mogućnost zajedničkog nasljeđivanja te djelovanja. Ipak, treba napomenuti da je uzorak u podskupini ekstremno ranih prijevremenih poroda u majke i djeteta bio malen, svega 12 ispitanica.

## 6. Rasprava

Gledajući udio u ukupnom broju sPP-a, udio ekstremno ranih prijevremenih poroda ne odskaka od udjela ekstremno ranih sPP-a u ukupnom broju sPP-a na globalnoj razini koji iznosi oko 5 % (43). Međutim, s obzirom na malen uzorak trebalo bi rezultate povezane s tom podskupinom sPP-a možda uzeti sa dozom rezerve. Da bi se potvrdila povezanost PROGINS varijante sa ekstremno ranim sPP-om i u majke i u djeteta, svakako bi trebalo provesti istraživanja na većem broju ispitanica i pripadajuće novorođenčadi.

Ono što bi još moglo biti zanimljivo za buduća istraživanja, a vezano za mehanizam djelovanja ta tri navedena SNP-a *PGR*-a te njihov mogući utjecaj na smanjenu osjetljivost PR-a, jest kakav je odgovor na terapiju sintetskim progesteronom u prevenciji sPP-a u majki s navedenim polimorfizmima. Naime, Manuck je sa suradnicima 2011. godine provela istraživanje na 463 ispitanice koje su u anamnezi imale sPP te je istraživana interakcija terapija/genotip (329). U terapiji su koristili 17  $\alpha$ -hydroxyprogesteron caproat u obliku injekcija koje su davane na tjednoj bazi kao prevencija sPP-a. Uočili su različiti odgovor na terapiju ovisno o određenim SNP-ovima *PGR*-a, a kojih su majke bili nositelji. Vezujući se za navedeno istraživanje, potencijalno bi se mogao istraživati odgovor majki nositeljica određenih SNP-ova ili majki čija je novorođenčad u prethodnim trudnoćama bila nositelj navedenih polimorfizama jednog nukleotida, a koji su u našem istraživanju istaknuti kao rizični za sPP, na terapiju sintetskim progesteronom u budućim trudnoćama.

Ostala tri proučavana SNP-a *PGR*-a nisu pokazala statistički značajnu povezanost sa sPP-om. Time nismo potvrdili rezultate Ehn i suradnika, koji su utvrdili povezanost SNP-ova rs1942836 te rs10895968 varijante u novorođenčadi s ranim sPP-om u majke te povezanost SNP-a rs4754732 u majke sa sPPom (272).

SNP rs1942836 smješten je u potencijalnoj promotorskoj regiji *PGR*-a te se smatra da ima ulogu u promjeni izražaja izoformi PR-a (253), dok je SNP rs4754732 također smješten u promotorskoj regiji *PGR*-a te ima sličan utjecaj kao i prethodno navedeni SNP, utječući na promjenu razine PR izoformi A i B.

## 6. Rasprava

### 6.1. Analiza povezanost izabranih šest SNP-ova s kliničkim značajkama majki i novorođenčadi

Genetička predispozicija za sPP svakako je bitan čimbenik rizika. Međutim, ne treba zanemariti i okolišne čimbenike te kliničke značajke majki i djece, koji međudjelovanjem s genetičkom predispozicijom u majki mogu utjecati na rizik za sPP. Postoji cijela jedna epidemiološka grana znanosti koja proučava način na koji polimorfizmi ljudskog genoma mogu modificirati utjecaje okolišnih čimbenika i rizičnih čimbenika za određeni događaj te obrnuto (333).

Povezanost šest izabranih SNP-ova *PGR*-a s kliničkim značajkama pacijentica i pripadajuće novorođenčadi ispitana je u skupini ispitanica i pripadajuće prijevremeno rođene novorođenčadi. Od čimbenika rizika koji su dokazano povezani s češćom pojavnosću sPP-a, izabrala sam starosnu dob majke, spol novorođenčeta, BMI majke, uživanje duhanskog dima majke, krvarenje u trudnoći majke, anamnestički podatak prethodnog prijevremenog poroda u majke te anamnestički podatak prijevremenog poroda u obiteljskoj anamnezi majke.

Starosna dob majke pokazuje U krivulju rizika za sPP-om te su u zoni najvećeg rizika žene mlađe od 17 te starije od 35 godina (97,99). Velik je broj istraživanja ukazao na povezanost sPP-a s dobi trudnice. Tako je Fuchs sa suradnicima pokazao da je i nakon prilagodbe kovarijabli rizik u majki starijih od 40 godina za sPP-om povišen za 1.5 puta (334). Slične rezultate imala je i Lawlor sa suradnicima (335). Povišeni omjer izgleda za sPP-om u majki starije životne dobi svakako je posljedica ostalih komplikacija vezanih za trudnoću, kao što su preeklampsija i gestacijski dijabetes, a koje se pojavljuju u starijoj životnoj dobi.

Budući da u ovom istraživanju nije bilo majki mlađih od 17 godina, ostala je mogućnost podijeliti skupinu ispitivanih majki prema starosnoj dobi na dvije skupine – one starije te one mlađe od 35 godina. Prema starosnoj dobi majke podijelila sam i skupinu pripadajuće prijevremeno rođene novorođenčadi. Uočena je statistički značajna razlika u raspodjeli homozigotnog CC genotipa SNP-a rs653752 *PGR*-a između podskupina prijevremeno rođene novorođenčadi čije su majke starije te podskupina prijevremeno rođene novorođenčadi čije su majke mlađe od 35 godina. Navedeni genotip u recesivnom modelu nasljeđivanja 2.27 puta povećava omjer izgleda za sPP-om u majki starijih od 35 godina. Međutim, kada je uspoređen navedeni

## 6. Rasprava

genotip između ispitivane i kontrolne podskupine novorođenčadi čije su majke starije od 35 godina, nije zamijećena statistički značajna razlika u raspodjeli genotipova spomenutog SNP-a, što je svakako zanimljiv podatak.

Spol je također jedan od rizičnih čimbenika za sPP. Velika meta-analiza Zeitlina i suradnika pokazala je da je vjerojatnost za sPP-om u majki koje nose mušku novorođenčad uvećana za 1,1 do 1,3 puta (336). Slične rezultate u svom istraživanju pokazali su i Vatten i suradnici (337). Mehanizmi koji dovode do veće vjerojatnosti sPP-a u muške novorođenčadi nisu još do kraja razjašnjeni, ali mogli bi uključivati proinflamatorne uvjete koji se češće javljaju u trudnoćama s muškom novorođenčadi. Tako je Challis sa suradnicima u svojem istraživanju pokazao pojačan izražaj TLR-4 u posteljici trudnoća s muškom novorođenčadi (338). Isto tako, utvrdio je da bi odgovor trofoblasta na te proinflamatorne utjecaje barem djelomično mogao objasniti povezanost sPP-a i muškog spola novorođenčeta. Ostala objašnjenja te povezanosti uključuju promjene u razini androgena u slučaju muške novorođenčadi, koje dovode do povišene razine estrogena te početka poroda te u povišenoj razini IL -1 u plodovoj vodi muške novorođenčadi koja su rođena prijevremeno (339).

U ovom je istraživanju utvrđena povezanost CC homozigotnog genotipa SNP-a rs4754732 *PGR*-a u djece s prijevremenim porodom čije majke nose muško novorođenče, i to u recesivnom modelu nasljeđivanja. Omjer izgleda za prijevremenim porodom povećava se za 2.5 puta. Po dobivenim rezultatima analizirana je učestalost alela i genotipova navedenog SNP-a sa statusom nošenja muškog spola između podskupina prijevremeno i terminski porođene djece te nije nađena statistički značajna razlika između tih dviju skupina.

SNP rs4754732 *PGR*-a nalazi se u promotorskoj regiji *PGR*-a te svojim djelovanjem utječe na omjer PR - A i PR - B. Dosad je njegova povezanost sa sPP-om istaknuta samo u dva istraživanja, tako da je Ehn sa suradnicima istaknula njegovu povezanost sa sPP-om (272), dok Manuck sa suradnicima nije (329). Također ga se povezuje s karcinomom dojke (340). S obzirom na činjenicu da je jedan od mogućih mehanizama sPP-a na koje utječe muški spol novorođenčeta mehanizam koji uključuje metabolizam steroidnih hormona, a sam mehanizam na koji SNP rs4754732 djeluje jest utjecaj na omjer PR-a, moguće da njihovo međudjelovanje te utjecaj na progesteronski put održavanja trudnoće zajednički dovodi do modulacije rizika za sPP-om, dok svaki od

## 6. Rasprava

njih samostalno neće biti dovoljno adekvatan da to učini. To je jedan aspekt koji bi svakako trebalo detaljnije istražiti.

Krvarenje u trudnoći povezano je, kako s pojavnošću abrupcije posteljice, preeklampsije, unutarmaternih zastoja rasta u ploda, prijevremenog prsnuća plodovih ovoja, tako i sa samim prijevremenim porodom (341,342). U slučaju ranog krvarenja u trudnoći veća je vjerojatnost pojave teške preeklampsije te ranog sPP-a. Pacijentice s konstantnim povremenim krvarenjem tijekom cijele trudnoće u većem su riziku za sPP-a od onih koje su krvarile samo izolirano po tromjesečjima.

Mehanizam koji dovodi do sPP-a, a posljedično krvarenju u trudnoći, povezan je sa stvaranjem trombina u predjelu decidue. Posljedično povećanoj količini trombina dolazi do inhibicije izražaja PR-a u stanicama decidue, što posljedično dovodi do PPRM-a ili odlupljenja posteljice te posljedično sPP-a (343,344).

Za razliku od ostalih polimorfizama, SNP rs1942836 *PGR*-a u novorođenčeta pokazao je protektivno djelovanje. U superdominantnom modelu nasljeđivanja heterozigotni CT genotip SNP-a rs1842836 u novorođenčeta doprinio je 2.5 puta manjem riziku za sPP-om u podskupini majki koje nisu krvarile, a njihovo je novorođenče bilo nositelj navedenog polimorfizma. Kada sam zatim usporedila ispitivane podskupine majki koje su krvarile i pripadajuće prijevremeno rođene novorođenčadi s podskupinama terminskih majki koje su krvarile i pripadajuće novorođenčadi, opet nije uočena statistički značajna razlika u raspodjeli genotipova dotičnog SNP-a.

SNP rs1942836 *PGR*-a polimorfizam je jednog nukleotida koji već sam po sebi utječe na promjenu izražaja PR-a u korist PR-B te time može neizravno utjecati na pojavnost sPP-a. U tom slučaju, a s obzirom na isti mehanizam djelovanja koji ima on te krvarenje tijekom trudnoće u majki, to bi mogao dobar dodatni marker za sPP u majki koje tijekom trudnoće imaju nekakav oblik krvarenja tijekom trudnoće.

Ono što je mene osobno iznenadilo u rezultatima jest da nije bilo statistički značajne razlike u raspodjeli alela i genotipova niti jednog od šest SNP-ova *PGR*-a između podgrupa ispitanica i pripadajuće prijevremeno rođene novorođenčadi niti ovisno o anamnestičkom podatku ranijih prijevremenih poroda u osobnoj anamnezi majki niti u slučaju anamnestičkog podatka o prijevremenom porodu u obiteljskoj anamnezi majke. Naime, samo u slučaju SNP-a rs653752, i to uspoređujući dvije



## 6. Rasprava

podskupine prijevremeno rođene djece, razlika između CC homozigota rjeđeg alela imala je tendenciju statističke značajnosti ( $p < 0,06$ ). Svi ostali SNP-ovi niti između podskupina ispitanica niti između podskupina pripadajuće novorođenčadi nisu imali niti tendenciju ka statističkoj značajnosti u razlici raspodjele genotipova i alela. Sam je podatak pomalo neočekivan s obzirom da je poznato da se pozitivna obiteljska i osobna anamneza same po sebi smatraju jednim od najsnažnijih prediktora za sPP (345,346). Mogući razlog za te rezultate može biti u činjenici da je u našem istraživanju samo 16 % ispitanica imalo u osobnoj anamnezi prethodni sPP i to u 2/3 slučajeva kasni sPP, dok je samo 20 % ispitanica imalo sPP u obiteljskoj anamnezi, također u 64 % slučajeva u podskupini kasnih sPP-a. Naime, Boivin sa suradnicima pokazala je u svom istraživanju da je omjer vjerojatnosti za aktualnim sPP-om viši što je sPP u osobnoj ili obiteljskoj anamnezi raniji (346), tako da s obzirom na brojeve sPP-a u osobnoj i obiteljskoj anamnezi, postoji mogućnost izostanka povezanosti sPP-a s tim dvjema stavkama.

Ono što je još zanimljivo u ovim rezultatima jest da unatoč činjenici da je utvrđeno da su određeni SNP-ovi potencijalni udruženi markeri za sPP s rizičnim čimbenicima dobi majke, spola djeteta te krvarenja tijekom trudnoće u majke, s obzirom na statističku neznačajnost u raspodjeli genotipova tih istih SNP-ova između podskupina ispitanica i kontrolne skupine s obzirom na te iste rizične čimbenike, potencijalni udruženi markeri ipak ne predstavljaju neovisne rizične čimbenike za sPP. U skladu s tim, opet treba istaknuti multifaktorijalnu i vrlo heterogenu etiologiju sPP-a te interakciju više mehanizama koji istovremeno mogu dovesti do sPP-a, a koji se u izabranim istraživanim skupinama majki i novorođenčadi mogu preklapati. Poznato je, naime, da se u međudjelovanju između gena i utjecaja okolišnih čimbenika nekada teško može razdvojiti koji utjecaj na neki fenomen jače ili samostalno utječe. Primjer može biti istraživanje Macones i suradnika u kojoj je bakterijska vaginoza utjecala na povišen omjer izgleda za sPP u majki nositeljica polimorfizma jednog nukleotida gena za TNF $\alpha$  (347).

U dostupnim literaturnim navodima dosad je samo Luo sa suradnicima istraživao između ostaloga i povezanost određenih rizičnih čimbenika za sPP s određenim SNP-ovima *PGR*-a (282). U svom istraživanju na 78 ispitanica i 415 kontrola Luo je istraživao povezanost tri SNP-a *PGR*-a, *PROGINS* varijante (rs1042838 te rs1042839) i rs10895068 te je u analizu uključio i rizične čimbenike

## 6. Rasprava

starosne dobi majke, pariteta majke, rase, BMI majke, bakterijske vaginoze u majke te muškog spola novorođenčeta. Pronašao je povezanost PROGINs varijante sa sPP-om samo u skupini ispitanica s BMI manjim od 18.5 kg/m<sup>2</sup>.

S obzirom na važnost međudjelovanja gena i okolišnih čimbenika te čimbenika rizika u majke i/ili djeteta u patofiziološkom mehanizmu nastanka sPP-a, te malen broj istraživanja koja su taj segment istraživala vezano uz interakciju okolišnih čimbenika i SNP-ova *PGR*-a, ovi rezultati mogli bi dati doprinos saznanjima o istom, ali i biti temelj za novo, selektivnije istraživanje na većem broju ispitanika.

### 6.2. Analiza neravnoteže alelne povezanosti te analiza haplotipova

Neravnoteža alelne povezanosti jedna je od informacija koja nam ukazuje na povezanost između dva SNP-a. U slučaju visoke vrijednosti neravnoteže alelne povezanosti između dva SNP-a, poznavanjem genotipa jednog SNP-a, s velikom sigurnošću možemo pretpostaviti genotip drugog SNP-a.

Ispitivanjem neravnoteže alelne povezanosti između šest SNP-ova *PGR*-a i u majki i u novorođenčadi istaknula se gotovo potpuna neravnoteža alelne povezanosti između SNP-ova rs1042838 te rs1042839, dok isto nije uočeno između ostalih SNP-ova.

Ehn i suradnici u svom su istraživanju također utvrdili gotovo potpunu neravnotežu alelne povezanosti između ta dva SNP-a, dok su za SNP-ove rs1942836 i rs4754732 utvrdili da su nešto manje u neravnoteži alelne povezanosti s dva prethodno navedena SNP-a(272).

Taj rezultat našeg istraživanja nije iznenađujući te smo istim potvrdili prethodno utvrđenu činjenicu o velikoj povezanosti SNP-ova rs1042838 i rs1042839.

Nadalje, ispitana je učestalost haplotipova za šest SNP-ova *PGR*-a. Haplotip čini skup alela koji su smješteni na različitim lokusima istog kromosoma, a nasljeđuju se zajedno (348). Određivanje haplotipova omogućuje analizu zajedničkog učinka nekoliko alela na različitim lokusima istog kromosoma, koji često ne dolaze do izražaja kao kada se ti lokusi posebno istražuju (348). U ovom su istraživanju istražene kombinacije SNP-ova u slijedu od po tri, četiri te šest SNP-ova. Uočena je jedino

## 6. Rasprava

povezanost G C T haplotipa SNP-ova rs1042838 - rs1042839 - rs1942836 u skupini novorođenčadi sa smanjenom pojavnosću sPP-a ( $p = 0,03$ ).

Moguće zaštitno djelovanje navedenog haplotipa u novorođenčadi može se objasniti činjenicom da je navedeni haplotip sastavljen od tri češća alela pripadajućih SNP-ova čiji izražaj ne mijenja izražaj *PGR*-a. Međutim, korekcija  $p$  vrijednosti po Benjamini-Hochbergu, koja se koristi prilikom višestrukih testiranja, korigirala je  $p$  vrijednost ( $p = 0,06$ ) u ovom istraživanju te time isključila moguće lažno pozitivne rezultate, što je ovaj zaštitni učinak haplotipa isključilo kao mogućnost.

Istraživanje Ehn i suradnika (272) jedino je, između ostalog, istraživalo učestalost određenih haplotipova u ispitivanoj i kontrolnoj skupini te njihovu potencijalnu povezanost sa sPP-om. Najviše omjer izgleda za sPP iskazan je u slučajevima kada su četiri SNP-a povezivana u haplotip te je u tim slučajevima posebno naglašen povišen omjer izgleda za sPP u slučaju haplotipa rs1042838 - rs1042839 – rs578029 - rs666553. Ostala istraživanja koja su uključivala navedene SNP-ove nisu uključivala istraživanje haplotipova.

Unatoč činjenici da je raspodjela učestalosti G C T haplotipa SNP-ova rs1042838 - rs1042839 - rs1942836 između skupina prijevremeno i terminski rođene novorođenčadi nakon korekcije  $p$  vrijednosti prestala biti statistički značajna, može se reći da ova tri SNP-a u sklopu haplotipa i to u kombinaciji češćih alela imaju tendenciju k protektivnoj ulozi i smanjenom omjeru izgleda za sPP u majki čija novorođenčad je nositelj istog. S obzirom da istraživanja do sada nisu upućivala na povezanost ovog haplotipa sa sPP-om niti u majki niti u novorođenčadi, ovaj rezultat daje mogućnost daljnjih istraživanja istog na većem broju ispitanica.

### 6.3. Analiza međudjelovanja SNP-ova *PGR*-a u skupinama majki i pripadajuće novorođenčadi

Koncept epistaze ili međudjelovanja gena/genskih lokusa nije koncept koji je novost. Ideja o međudjelovanju gena stara je već stotinjak godina, otkad su prvi genetičari pokušali objasniti odstupanja od klasičnih Mendelovih zakona (349). Samo međudjelovanje gena uključuje grupu funkcionalnih veza između gena, kojih je epistaza samo dio. Epistaza obuhvaća jedan niz mogućih međudjelovanja između

## 6. Rasprava

gena, a sama se međudjelovanja najčešće dijele na pozitivne i negativne (350). Negativno ili sinergijsko međudjelovanje gena iskazuje promatrani fenotip u težem obliku nego što ga iskazuje svaki gen zasebno te se pretpostavlja da svaki gen djeluje zasebno. Suprotno tomu, pozitivno međudjelovanje gena dijeli se na ublaženo međudjelovanje, gdje jedan gen ublažava biološko djelovanje drugog, te supresivno međudjelovanje u kojemu je osoba s oba mutirana gena zdravija od osobe koja posjeduje samo jedan mutirani gen (350).

Rezultati ovog istraživanja ukazali su na statistički značajnu razliku između ispitivane i kontrolne skupine majki u interakciji dviju skupina od po tri SNP-a: rs10895068 - rs1042838 - rs1942836 te rs10895068 - rs1042839 - rs1942836. U oba slučaja međudjelovanje SNP-ova bilo je negativno, s tim da je jače međudjelovanje bilo u skupini majki s prijevremenim porodom. Po učinjenoj korekciji p vrijednosti po Benjamini-Hochbergu ta razlika između interakcija više nije bila statistički značajna.

U literaturnim navodima nisam pronašla radove koji su opisivali usporedbu međudjelovanja izabranih SNP-ova *PGR*-a ili međudjelovanja *PGR*-a s nekim drugim genom te posljedično zajednički utjecaj na povišen omjer rizika sa sPP. Najveće istraživanje koje je proučavalo između ostalog međudjelovanja gena koji bi mogli utjecati na višu pojavnost sPP-a, bilo je ono Romera i suradnika iz 2010. godine (351), gdje je nakon analize utvrdio da jedino međudjelovanje jednog majčinog i dva fetalna SNP-a djeluje na omjer vjerojatnosti za sPP. SNP-ovi su bili povezani s genima za kolagen tip IV  $\alpha 4$  (*COL4A4*, engl. *collagen type IV  $\alpha 4$* ), kolagen tip IV  $\alpha 1$  (*COL4A1*, engl. *collagen type IV  $\alpha 1$* ) te čimbenik rasta fibroblasta (*FGF1*, engl. *fibroblast growth factor 1 gene*).

U konačnici, metodom logističke regresije kojom se predviđa model vjerojatnosti za sPP, uključivši šest navedenih SNP-ova *PGR*-a u majki i u novorođenčadi, uz uključenu korekciju za rizične čimbenike (pušenje, dob majke, spol djeteta, krvarenje u trudnoći), djetetov rs1942836 (C/T + C/C vrs TT), pokazao se značajnim prediktorom za sPP, povećavajući omjer izgleda za istim skoro 11 puta (OR = 10,8). U literaturnim navodima nisam pronašla istraživanje s kojim bih mogla usporediti taj rezultat, tako da bi za potvrdu ovog rezultata svakako trebalo učiniti dodatna istraživanja na većem uzorku ispitanika.

## 6. Rasprava

Ono što je zanimljivo za istaknuti za SNP rs1942836 *PGR*-a novorođenčeta jest njegova pojavnost u jednom dijelu analiziranih rezultata. Naime, taj se SNP nije istaknuo kao onaj koji bi modulirao rizik za sPP u dijelu analiziranih rezultata raspodjele alela i genotipova između skupina ispitanica i kontrola te skupina pripadajuće novorođenčadi te u usporedbi podskupina ispitanica i pripadajuće skupine kontrola. Međutim, u usporedbi raspodjele genotipova i alela navedenog SNP-a između podskupina majki i pripadajuće novorođenčadi, kada smo uključili i rizične faktore majke za sPP (krvarenje tijekom trudnoće), SNP rs1942836 istaknuo se kao potencijalni marker s povišenim omjerom izgleda za sPP. Isto tako, istaknuo se kao značajan marker za sPP u logističkoj multivarijantnoj regresiji, a isto tako iskazao se i njegov mogući utjecaj na rizik za sPP u sklopu haplotipa. Iz ovih navoda dalo bi se zaključiti da ovaj SNP *PGR*-a samostalno nema utjecaj na povišeni omjer izgleda za sPP-om, nego u međudjelovanju s dodatnim čimbenicima rizika ili drugim SNP-ovima.

### 6.4. Prednosti i ograničenja istraživanja

Rezultati provedenog istraživanja pridonose boljem razumijevanju povezanosti šest izabranih SNP-ova *PGR*-a te pridruženih čimbenika sa sPP-om, kao i stjecanju temeljnih znanja o međudjelovanju polimorfizama jednog nukleotida i njihovoj povezanosti sa sPP-om.

Prednost su provedenog istraživanja strogi uključni i isključni kriteriji za ispitivanu skupinu majki s prijevremenim porodom. Također, kontrolna skupina dobro je uparena s grupom pacijenata s obzirom na dob, paritet, socio-ekonomski i demografski status, mjesto stanovanja, antenatalnu skrb, kao i porod u istoj godini kao pacijentice s sPP-om. Važna je prednost istraživanja da su sve ispitanice pripadale europskoj populaciji.

Isto tako, prednost je istraživanja što su u istraživanje uključene i majke i novorođenčad. Osnovno ograničenje ovog istraživanja jest relativno malen broj ispitanika.

Također, u ovom istraživanju nije uključeno istraživanje epigenetičkih mehanizama koji modificiraju strukturu DNA bez da utječu na DNA slijed, kao što su DNA-metilacija i remodeliranje kromatina te promjene u izražaju miRNA (352), koji

## 6. Rasprava

upravljaju izražajom gena balansirajući između genetičkih i okolišnih čimbenika povezanih sPP-om (353).

Isto tako, mišljenja sam da je jedno od ograničenja studije i samo jednokratno uzimanje P4 u drugoj fazi poroda. Naime, za eventualno dokazivanje da je pad razine P4 samo funkcionalan, bilo bi bolje serijski uzimati uzorke majčine krvi za analizu P4 neposredno pred porod. Međutim, to je često proces koji je otežan samom otežanom predikcijom točnog vremena poroda.

Iako je činjenica da sam u istraživanje uključila i majke i pripadajuću novorođenčad, u obliku majčino-fetalnog para, što je upotpunilo kompleksnu priču genetičke veze sudionika prijevremenog poroda, ono što bi bila još bolja mogućnost jest uključenje reproduktivnog partnera te proširenje istraživanja na veći uzorak, kako bi se sveobuhvatnije sagledala kompleksna problematika genetičke predispozicije za sPP.

K tomu, treba uzeti u obzir sve mane asocijacijskog istraživanja parova. Poznato je da je jedna od mana istraživanja parova takozvana pristranost (engl. *bias*) koja se stvara kao posljedica nejednakog uzorkovanja pacijentica za kontrolnu i ispitivanu skupinu. Naime, više autora smatra da zbog nejednake vjerojatnosti odabira ispitanika i kontrola iz njihovih pripadajućih subpopulacija uzorak parova ustvari nije slučajan uzorak iz opće populacije. Kao rezultat navedenog, ne samo da će populacijska povezanost između SNP-a i sekundarnih osobina koje se često analiziraju biti iskrivljena u uzorku parova, standardna statistička analiza sekundarnih fenotipskih obilježja može biti izrazito zavaravajuća. Može se dokazati povezanost SNP-a i sekundarnih osobina u svim analiziranim skupinama, a da povezanost zapravo na populacijskoj razini ne postoji. Pristranost uzorkovanja može se izbjeći zasebnim analiziranjem skupine ispitanika i kontrola ili uključivanjem statusa parova kao kovarijante prilikom analize (354,355).

Zaključno, ovim istraživanjem potvrdila se hipoteza o utjecaju određenih SNP-ova *PGR*-a, kako u majki, tako i u pripadajuće novorođenčadi, na modulaciju rizika za spontani prijevremeni porod. Isto tako, istraživanje je pokazalo da određeni SNP-ovi *PGR*-a utječu na modulaciju rizika za sPP samo u sklopu haplotipa ili međudjelovanjem sa određenim rizičnim čimbenicima majke i/ili djeteta ili drugim SNP-ovima *PGR*-a. Svakako će biti potrebna daljnja istraživanja ovih i drugih SNP-ova

## 6. Rasprava

*PGR*-a, uz uključivanje većeg broja ispitanika koji bi potvrdili ove rezultate. Također, ovim istraživanjem ponovno dolazi do izražaja koliko je prijevremeni porod kompleksna bolest te se samo genetičkom osnovom neće moći objasniti etiopatogeneza same bolesti.

## 7. Zaključak

Prema rezultatima koji su dobiveni ovim istraživanjima, može se zaključiti slijedeće:

1. Serumska koncentracija progesterona statistički se ne razlikuje između dviju skupina majki kada ih podijelimo prema tromjesečjima trudnoće u dvije skupine. Isto tako, nije nađena statistički značajna razlika u serumskoj koncentraciji P4 s obzirom na genotip šest SNP-ova *PGR*-a niti u majke niti u novorođenčeta.
2. Majke čija novorođenčad nosi T alel SNP-a rs1042838 *PGR*-a čini se da imaju gotovo dvaput veći omjer izgleda za sPP-om.
3. Majke nositeljice TT genotipa za SNP rs1042838 *PGR*-a prema recesivnom modelu nasljeđivanja (TT vrs GT+GG) čini se da imaju 13.9 puta veće izgleda za ekstremno ranim sPP-om.
4. Majke nositeljice TT genotipa za SNP rs1042839 *PGR*-a prema recesivnom modelu nasljeđivanja (TT vrs CT+CC) čini se da također imaju 13.9 puta veće izgleda za ekstremno ranim sPP-om.
5. Majke čija je novorođenčad nositelj TT i/ili TG genotipa SNP-a rs1042838 *PGR*-a u superdominantnom (GG+TT vrs TG) ili dominantnom (GG vrs TG+TT) modelu nasljeđivanja čini se da imaju 3.6 do 4.08 puta veće izgleda za ekstremno ranim sPP-om, ovisno o modelu nasljeđivanja. Također, majke čija novorođenčad je nositelj TT i/ili TC genotipa SNP-a rs1042839 *PGR*-a u superdominantnom (CC+TT vrs.CT) ili dominantnom (CC vrs CT+TT) modelu nasljeđivanja čini se da imaju 3.6 do 4.08 puta veće izgleda za ekstremno ranim sPP-om, ovisno o modelu nasljeđivanja.
6. Majke nositeljice homozigotnog CC genotipa SNP-a rs653752 *PGR*-a prema recesivnom modelu nasljeđivanja (CC vrs CG+GG) čini se da imaju dvaput veće izgleda za kasnim sPP-om.
7. Statistički značajno veća učestalost homozigotnog CC genotipa SNP-a rs4754732 *PGR*-a u recesivnom modelu nasljeđivanja u novorođenčadi ispitanica sa sPP-om koje nose mušku novorođenčad, u usporedbi s



## 7. Zaključak

ispitanicama koje također nose mušku djecu, a njihova novorođenčad nosi ostale genotipove, upućuje na značajnu ulogu navedenog SNP-a u sPP-u.

8. Ispitanice sa sPP-om starije od 35 godina čija je novorođenčad nositelj homozigotnog CC genotipa SNP-a rs653752 *PGR*-a u recesivnom modelu nasljeđivanja također čini se da imaju veći omjer izgleda za sPP-om.
9. Ispitanice sa sPPom koje nisu krvarile tijekom trudnoće, a njihova je novorođenčad nositelj CT heterozigotnog genotipa za rs1942836 *PGR*-a u superdominantnom modelu nasljeđivanja (CT vrs TT+CC), čini da imaju manji omjer izgleda za sPP.
10. G C T haplotip SNP-ova rs1042838 - rs1042839 - rs1942836 u novorođenčadi mogao bi imati protektivnu ulogu u majki za sPP.
11. Nije uočeno statistički značajno epistatsko međudjelovanje između različitih kombinacija analiziranih SNP-ova *PGR*-a niti u majki niti u novorođenčadi.
12. Nakon korekcije za rizične faktore za sPP, multivarijatnom logističkom regresijom (*backward metoda*) nađen je značajan model SNP-ova *PGR*-a u predikciji sPP-a, od kojih je djetetov SNP rs1942836 i to homozigotni TT genotip *PGR*-a značajan (OR = 10,8).

## 8. Sažetak

Cilj istraživanja: Prijevremeni je porod najčešći uzrok perinatalnog mortaliteta i morbiditeta. Progesteron (P4) je steroidni hormon koji sudjeluje u održavanju trudnoće preko progesteronskih receptora (PR). Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi ima li šest odabranih polimorfizama jednog nukleotida (SNP) gena za progesteronski receptor (*PGR*) (rs10895068, rs1042838, rs1042839, rs1942836, rs4754732, rs654752) kod majke i/ili novorođenčadi ulogu u modulaciji rizika za spontani prijevremeni porod (sPP).

Nacrt studije: U istraživanje su uključene ukupno 292 majke (141 majka u kontrolnoj skupini te 151 majka sa sPP) te 292 pripadajuće novorođenčadi (141 terminsko novorođenče i 151 prijevremeno novorođenče). U ispitivanoj i kontrolnoj skupini majki izmjerena je serumska koncentracija P4. Analizirane su varijante gena za progesteronski receptor kod svih majki i novorođenčadi. Studija je ustrojena kao istraživanje parova.

Ispitanici i metode: Određivanje P4 učinjeno je kombinacijom metoda tekućinske kromatografije i tandemске masene spektrometrije. Varijante gena za progesteronski receptor određene su metodom lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu uz primjenu Taqman kompleta reagensa.

Rezultati: Prisutnost rjeđeg T alela rs1042838 *PGR*-a u novorođenčadi povezan je s većim omjerom izgleda za sPP u njihovih majki, dok je prisutnost homozigotnog CC genotipa rs653752 u majke u recesivnom modelu nasljeđivanja povezana s većim omjerom izgleda za kasni sPP. Prisutnost TT genotipa rs10423848 te TT genotipa rs1042839 kod majke u aditivnom i recesivnom modelu nasljeđivanja povezani su s većim omjerom izgleda za ekstremno rani sPP-om. Prisutnost heterozigotnog TG genotipa rs1042838 te heterozigotnog TC genotipa rs1042839 u superdominantnom modelu nasljeđivanja u novorođenčadi povezani su s većim omjerom izgleda za ekstremno rani sPP u majki. Prisutnost TG i TT genotipova rs1042838 te TC i TT genotipova rs1042839 u dominantnom modelu nasljeđivanja u novorođenčadi povezani su s većim omjerom izgleda za ekstremno rani sPP. Prisutnost CC genotipa rs4754732 u novorođenčadi majki koje nose mušku novorođenčad u recesivnom

## 8. Sažetak

modelu nasljeđivanja povezana je s većom omjerom izgleda za sPP. Prisutnost CC genotipa rs653752 u novorođenčadi majki starijih od 35 godina u recesivnom modelu nasljeđivanja također je povezana s većim omjerom izgleda za sPP. Prisutnost CT genotipa rs1942836 u novorođenčadi majki koje nisu krvarile tijekom trudnoće djeluje protektivno u slučaju sPP-a. Prisutnost TT genotipa rs1942836 u novorođenčeta u multivarijantnoj regresiji istaknula se kao mogući prediktor za sPP.

Zaključak: Rs1042838 i rs1042839 u majke i novorođenčeta te rs653752 u majke povezani su u ovom istraživanju sa sPP-om. Rs1942836, rs653752 te rs4754732 povezani su sa sPPom u kombinaciji s određenim rizičnim čimbenicima majke i/ili djeteta za sPP.

Ključne riječi: gen za progesteronski receptor; polimorfizam jednog nukleotida (SNP); prijevremeni porod; progesteron; progesteronski receptor

## 9. Summary

### **Progesterone receptor gene polymorphisms in modulation of risk for idiopathic spontaneous premature birth**

**Objective:** Premature birth (PB) is the most common cause of perinatal mortality and morbidity. Progesterone is a steroid hormone that participates in maintaining pregnancy through progesterone receptors. The objective of this research was to determine whether six selected single nucleotide polymorphisms (SNP) of the progesterone receptor gene (*PGR*) in mothers and neonates (rs10895068, rs1042838, rs1042839, rs1942836, rs4754732, rs654752) has a role in modulation of the risk for PB.

**Study draft:** The study included a total of 292 mothers (141 mothers in the control group and 151 mothers with PB) and 292 newborns (141 term newborns and 151 premature newborns). Progesterone serum concentrations were measured in the case and control groups of mothers. SNPs of the *PGR* have been determined in mothers and newborns. The study was conducted as a case control study.

**Subjects and methods:** Progesterone serum concentrations were determined using liquid chromatography and tandem mass spectrometry. SNPs of the *PGR* were analyzed using a real time polymerase chain reaction instrument and TaqMan reagents kits.

**Results:** The presence of the minor T allele of rs1042838 in newborns was associated with a higher odds ratio for PB, while the presence of the homozygous CC genotype of rs653752 (recessive model of inheritance) in mother was associated with a higher odds ratio for late PB. The presence of the TT genotype of rs10423848 and the TT genotype of rs1042839 (additive and recessive model of inheritance) in mothers is associated with a higher odds ratio for extremely early sPB. The presence of the heterozygous TG genotype of rs1042838 and the heterozygous TC genotype of rs1042839 (superdominant inheritance model) in newborns is associated with a higher odds ratio for extremely early PB. The presence of the TG and TT genotypes of

## 9. Summary

rs1042838 and the TC and TT genotypes of rs1042839 (dominant inheritance model) in newborns is associated with a higher odds ratio for extremely early PB. Mothers with male newborns, whose newborns are carriers of CC genotype of rs4754732 (recessive inheritance model), are at higher risk of PB. Mothers above 35 years of age carrying newborns with the rs653752 CC genotype (recessive inheritance model) are at higher risk of PB. Mothers who did not have vaginal bleeding during pregnancy and carry newborns with the rs1942836 CT genotype (overdominant model of inheritance) have a lower risk of PB. The presence of TT genotype of the rs1942836 in newborns in multivariate regression was highlighted as a possible predictor for PB.

Conclusion: Rs1042838 and rs1042839 in mothers and newborns and rs653752 in the mothers are associated with higher risk of PB. Rs1942836, rs653752 and rs4754732 in newborns have been associated with PB only when there are certain mothers' or newborns' risk factors for PB.

Key words: premature birth; progesterone; progesterone receptor; progesterone receptor gene (*PGR*); single nucleotide polymorphism (SNP)

## 10. Literatura

1. Challis JRG, Matthews SG, Gibb W, Lye SJ. Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm. *Endocr Rev.* 2000;21(5):514–50.
2. Mendelson CR. Minireview: Fetal-Maternal Hormonal Signaling in Pregnancy and Labor. *Mol Endocrinol.* 2009;23(7):947-54.
3. Cox SM, Casey ML, MacDonald PC. Accumulation of interleukin-1 $\beta$  and interleukin-6 in amniotic fluid: A sequela of labour at term and preterm. *Hum Reprod Update.* 1997;3(5):517-27.
4. Thomson AJ, Telfer JF, Young A, Campbell S, Stewart CJR, Cameron IT, i sur. Leukocytes infiltrate the myometrium during human parturition: further evidence that labour is an inflammatory process. *Hum Reprod.* 1999;14(1):229–36.
5. Osman I, Young A, Ledingham MA, Thomson AJ, Jordan F, Greer IA, i sur. Leukocyte density and pro-inflammatory cytokine expression in human fetal membranes, decidua, cervix and myometrium before and during labour at term. *Mol Hum Reprod.* 2003;9(1):41–5.
6. Condon JC, Jeyasuria P, Faust JM, Mendelson CR. Surfactant protein secreted by the maturing mouse fetal lung acts as a hormone that signals the initiation of parturition. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(14):4978–83.
7. Condon JC, Hardy DB, Kovaric K, Mendelson CR. Up-Regulation of the Progesterone Receptor (PR)-C Isoform in Laboring Myometrium by Activation of Nuclear Factor-B May Contribute to the Onset of Labor through Inhibition of PR Function. *Mol Endocrinol.* 2006; 20(4):764-75.
8. Lee YS, Terzidou V, Lindstrom T, Johnson M, Bennett PR. The role of CCAAT/enhancer-binding protein beta in the transcriptional regulation of COX-2 in human amnion. *Mol Hum Reprod.* 2005;11(12):853–8.
9. Elliott CL, Allport VC, Loudon JAZ, Wu GD, Bennett PR. Nuclear factor-kappa B is essential for up-regulation of interleukin-8 expression in human amnion and cervical epithelial cells. *Mol Hum Reprod.* 2001;7(8):787–90.
10. Allport VC, Pieber D, Slater DM, Newton R, White JO, Bennett PR. Human labour is associated with nuclear factor- $\kappa$ B activity which mediates cyclo-oxygenase-2 expression and is involved with the “functional progesterone withdrawal.” *Mol Hum Reprod.* 2001;7(6):581-6.
11. Olson DM. The role of prostaglandins in the initiation of parturition. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2003;17(5):717–30.
12. Chow L, Lye SJ. Expression of the gap junction protein connexin-43 is increased in the human myometrium toward term and with the onset of labor. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;170(3):788–95.
13. Fuchs AR, Fuchs F, Husslein P, Soloff MS. Oxytocin receptors in the human uterus during pregnancy and parturition. *Am J Obstet Gynecol.* 1984;150(6):734–41.

## 10. Literatura

14. Soloff MS, Cook DL, Jeng YJ, Anderson GD. In situ analysis of interleukin-1-induced transcription of cox-2 and il-8 in cultured human myometrial cells. *Endocrinology*. 2004;145(3):1248–54.
15. Shynlova O, Tsui P, Dorogin A, Lye SJ. Monocyte chemoattractant protein-1 (CCL-2) integrates mechanical and endocrine signals that mediate term and preterm labor. *J Immunol*. 2008;181(2):1470–9.
16. Sooranna SR, Lee Y, Kim LU, Mohan AR, Bennett PR, Johnson MR. Mechanical stretch activates type 2 cyclooxygenase via activator protein-1 transcription factor in human myometrial cells. *Mol Hum Reprod*. 2004;10(2):109–13.
17. Shaw G, Renfree MB. Fetal control of parturition in marsupials. *Reprod Fertil Dev*. 2001;13(7–8):653–9.
18. Challis JR. Endocrinology of parturition. *Mead Johnson Symp Perinat Dev Med*. 1980;17(15):8–15.
19. Mitchell MD, MacDonald PC, Linette Casey M. Stimulation of prostaglandin E2 synthesis in human amnion cells maintained in monolayer culture by a substance(s) in amniotic fluid. *Prostaglandins Leukot Med*. 1984;15(3):399–407.
20. Rauk PN, Chiao JP. Interleukin-1 stimulates human uterine prostaglandin production through induction of cyclooxygenase-2 expression. *Am J Reprod Immunol*. 2000;43(3):152–9.
21. Gibb W, Challis JR. Mechanisms of term and preterm birth. *J Obstet Gynaecol Can*. 2002;24(11):874–83.
22. Norwitz ER, Robinson JN, Challis JRG. The Control of Labor. *NEJM*. 1999;41(9):660–6.
23. Lye SJ, Ou CW, Teoh TG, Erb G, Stevens Y, Casper R, i sur. The molecular basis of labour and tocolysis. *Fetal Matern Med Rev*. 1998;10(3):121–36.
24. Liggins GC, Fairclough RJ, Grieves SA. The Mechanism of Initiation of Parturition in the Ewe. *Recent Prog Horm Res*. 1973;29:111–59.
25. Liggins GC. Premature delivery of foetal lambs infused with glucocorticoids. *J Endocrinol*. 1969;45(4):515–23.
26. Gardner MO, Goldenberg RL, Cliver SP, Tucker JM, Nelson KG, Copper RL. The origin and outcome of preterm twin pregnancies. *Obstet Gynecol*. 1995;85(4):553–7.
27. Mitchell MD. The mechanism(s) of human parturition. *J Dev Physiol*. 1984;6(1):107–18.
28. Mahendroo M. Cervical remodeling in term and preterm birth: insights from an animal model. *Reprod*. 2012;143(4):429–38.
29. WHO: Recommended Definitions, Terminology and Format for Statistical Tables Related to The Perinatal Period And Use of A New Certificate For Cause of Perinatal Deaths. *Acta Obst Gynecol Scand*. 1977;56(3):247–53.
30. Quinn JA, Munoz FM, Gonik B, Frau L, Cutland C, Mallett-Moore T, i sur. Preterm birth: Case definition & guidelines for data collection, analysis, and presentation of immunisation safety data. *Vaccine*. 2016;34(49):6047-56.

## 10. Literatura

31. Vogel JP, Chawanpaiboon S, Moller AB, Watananirun K, Bonet M, Lumbiganon P. The global epidemiology of preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018;52:3–12.
32. WHO. Preterm birth (Internet). Geneve. Geneve: World Health Organisation. (citirano 24.01.2022). Dostupno na adresi: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth>.
33. Stanojević M. Prevencija prijevremenog poroda-gledište neonatologa. *Pediatr Croat*. 2016;60:137-45.
34. Blencowe H, Cousens S, Oestergaard MZ, Chou D, Moller AB, Narwal R, i sur. National, Regional, and Worldwide Estimates of Preterm Birth Rates in the Year 2010 With Time Trends Since 1990 for Selected Countries. *Lancet*. 2012;379(9832):2162-72.
35. Sheikh IA, Ahmad E, Jamal MS, Rehan M, Assidi M, Tayubi IA, i sur. Spontaneous preterm birth and single nucleotide gene polymorphisms: A recent update. *BMC Genom*. 2016; 17(Suppl 9):759.
36. Đelmiš J, Juras J, Rodin U. Perinatalni mortalitet u Republici Hrvatskoj u 2015. godini. *Gynaecol Perinatol*. 2017;25(2):S37-S52.
37. Beck S, Wojdyla D, Say L, Betran AP, Merialdi M, Requejo JH, i sur. The worldwide incidence of preterm birth: A systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bull World Health Organ*. 2010;88(1):31–8.
38. Langhoff-Roos J, Kesmodel U, Jacobsson B, Rasmussen S, Vogel I. Spontaneous preterm delivery in primiparous women at low risk in Denmark: Population based study. *BMJ*. 2006;332(7547):937–9.
39. Ananth C v., Joseph KS, Oyelese Y, Vintzileos AM. Trends in preterm birth and perinatal mortality among singletons: united states, 1989 through 2000. *Obstet Gynecol*. 2005;105(5):1084–91.
40. Simmons LVE, Rubens CE, Darmstadt GL, Gravett MG. Preventing Preterm Birth and Neonatal Mortality: Exploring the Epidemiology, Causes, and Interventions. *Semin Perinatol*. 2010;34(6):408–15.
41. Wen SW, Smith G, Yang Q, Walker M. Epidemiology of preterm birth and neonatal outcome. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2004;9(6):429-35.
42. Kramer MS, Papageorghiou A, Culhane J, Bhutta Z, Goldenberg RL, Gravett M, et al. Challenges in defining and classifying the preterm birth syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 2012;206:108–12.
43. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet*. 2008;371(9606):75–84.
44. Vogel JP, Lee AC, Souza JP. Maternal morbidity and preterm birth in 22 low-and middle-income countries: a secondary analysis of the WHO Global Survey dataset. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2014; 31;14:56.
45. Jiang M, Mishu MM, Lu D, Yin X. A case control study of risk factors and neonatal outcomes of preterm birth. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2018;57(6):814–8.



## 10. Literatura

46. Romero R, Espinoza J, Kusanovic JP, Gotsch F, Hassan S, Erez O, et al. The preterm parturition syndrome. *BJOG: Int J Obstet Gynaecol.* 2006;113:17–42.
47. Petraglia F, Giardino L, Coukos G, Calza L, Vale W, Genazzani AR. Corticotropin-releasing factor and parturition: plasma and amniotic fluid levels and placental binding sites. *Obstet Gynecol.* 1990;75(5):784–9.
48. McLean M, Bisits A, Davies J, Woods R, Lowry P, Smith R. A placental clock controlling the length of human pregnancy. *Nat Med.* 1995;1(5):460-3.
49. Hobel CJ, Dunkel-Schetter C, Roesch SC, Castro LC, Arora CP. Maternal plasma corticotropin-releasing hormone associated with stress at 20 weeks' gestation in pregnancies ending in preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180(1):257–63.
50. Jones SA, Challis JRG. Local stimulation of prostaglandin production by corticotropin-releasing hormone in human fetal membranes and placenta. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989;159(1):192–9.
51. Sandman CA, Glynn L, Schetter CD, Wadhwa P, Garite T, Chic-DeMet A, i sur. Elevated maternal cortisol early in pregnancy predicts third trimester levels of placental corticotropin releasing hormone (CRH): Priming the placental clock. *Peptides.* 2006;27(6):1457–63.
52. Bennett P. The Pathogenesis of Preterm Birth: A Guide to Potential Therapeutic Targets. U: Kilby MD, Johnson A i Oepkes D. *Fetal Therapy: Scientific Basis and Critical Appraisal of Clinical Benefits.* Cambridge: Cambridge University Press;2019. str.302.-310.
53. Gonçalves LF, Chaiworapongsa T, Romero R. Intrauterine infection and prematurity. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2002;8(1):3–13.
54. Romero R, Salafia CM, Athanassiadis AP, Hanaoka S, Mazor M, Sepulveda W, et al. The relationship between acute inflammatory lesions of the preterm placenta and amniotic fluid microbiology. *Am J Obstet Gynecol.* 1992;166(5):1382–8.
55. Romero R, Mazor M, Munoz H, Gomez R, Galasso M, Sherer DM. The Preterm Labor Syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 1994;734(1):414–29.
56. Berry SM, Romero R, Gomez R, Puder KS, Ghezzi F, Cotton DB, i sur. Premature parturition is characterized by in utero activation of the fetal immune system. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;173(4):1315–20.
57. Romero R, Maymon E, Pacora P, Gomez R, Mazor M, Yoon BH, et al. Further observations on the fetal inflammatory response syndrome: A potential homeostatic role for the soluble receptors of tumor necrosis factor  $\alpha$ . *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(5):1070–7.
58. Romero R, Gomez R, Ghezzi F, Bo Hyun Yoon, Mazor M, Edwin SS, i sur. A fetal systemic inflammatory response is followed by the spontaneous onset of preterm parturition. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179(1):186–93.
59. Gomez R, Romero R, Ghezzi F, Bo Hyun Yoon, Mazor M, Berry SM. The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179(1):194–202.
60. Poisner AM. The Human Placental Renin–Angiotensin System. *Front Neuroendocrinol.* 1998;19(3):232–52.

## 10. Literatura

61. Woods LL, Brooks VL. Role of the renin-angiotensin system in hypertension during reduced uteroplacental perfusion pressure. *Am J Physiol.* 1989;257(1):204-9.
62. Katz M, Shapiro WB, Porush JG, Chou SY, Israel V. Uterine and renal renin release after ligation of the uterine arteries in the pregnant rabbit. *Am J Obstet Gynecol.* 1980;136(5):676–8.
63. Lalanne C, Mironneau C, Mironneau J, Savineau JP. Contractions of rat uterine smooth muscle induced by acetylcholine and angiotensin II in Ca<sup>2+</sup>-free medium. *Br J Pharmacol.* 1984;81(2):317.
64. Rosen T, Kuczynski E, O'Neill LM, Funai EF, Lockwood CJ. Plasma levels of thrombin-antithrombin complexes predict preterm premature rupture of the fetal membranes. *J Matern Fetal Med.* 2001;10(5):297–300.
65. Chaiworapongsa T, Espinoza J, Yoshimatsu J, Kim YM, Bujold E, Edwin S, i sur. Activation of coagulation system in preterm labor and preterm premature rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009;11(6):368–73.
66. Rosen T, Schatz F, Kuczynski E, Lam H, Koo AB, Lockwood CJ. Thrombin-enhanced matrix metalloproteinase-1 expression: a mechanism linking placental abruption with premature rupture of the membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009;11(1):11–7.
67. Elovitz MA, Saunders T, Ascher-Landsberg J, Phillippe M. Effects of thrombin on myometrial contractions in vitro and in vivo. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(4):799–804.
68. Blickstein I, Louis GK, ur. *Multiple Pregnancy: Epidemiology, Gestation, and Perinatal Outcome.* Boca Raton/FL:CRC Press;2005.
69. Phelan JP, Park YW, Ahn MO, Rutherford SE. Polyhydramnios and perinatal outcome. *J Perinatol.* 1990;10(4):347–50.
70. Speroff L, Fritz MA, ur. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility.* Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2005.
71. Sladek SM, Westerhausen-Larson A, Roberts JM. Endogenous Nitric Oxide Suppresses Rat Myometrial Connexin 43 Gap Junction Protein Expression during Pregnancy. *Biol Reprod.* 1999;61(1):8–13.
72. Laudanski T, Rocki W. The effects on stretching and prostaglandin F<sub>2</sub>alpha on the contractile and bioelectric activity of the uterus in rat. *Acta Phys Pol.* 1975;26(4):385–93.
73. Ou CW, Orsino A, Lye SJ. Expression of Connexin-43 and Connexin-26 in the Rat Myometrium during Pregnancy and Labor Is Differentially Regulated by Mechanical and Hormonal Signals. *Endocrinol.* 1997;138(12):5398–407.
74. Kloeck FK, Jung H. In vitro release of prostaglandins from the human myometrium under the influence of stretching. *Am J Obstet Gynecol.* 1973;115(8):1066–9.
75. Ou CW, Chen ZQ, Qi S, Lye SJ. Increased Expression of the Rat Myometrial Oxytocin Receptor Messenger Ribonucleic Acid during Labor Requires Both Mechanical and Hormonal Signals. *Biol Reprod.* 1998;59(5):1055–61.

## 10. Literatura

76. Nemeth E, Millar LK, Bryant-Greenwood G. Fetal membrane distention: II. Differentially expressed genes regulated by acute distention in vitro. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182(1):60–7.
77. Chwalisz K, Benson M, Scholz P, Daum J, Beier HM, Hegele-hartung C. Pregnancy: Cervical ripening with the cytokines interleukin 8, interleukin 1 $\beta$  and tumour necrosis factor  $\alpha$  in guinea-pigs. *Hum Reprod.* 1994;9(11):2173–81.
78. Barclay CG, Brennand JE, Kelly RW, Calder AA. Interleukin-8 production by the human cervix. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;169(3):625–32.
79. el Maradny E, Kanayama N, Halim A, Maehara K, Sumimoto K, Terao T. Interleukin-8 induces cervical ripening in rabbits. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;171(1):77–83.
80. Sennstrom MB. Human cervical ripening, an inflammatory process mediated by cytokines. *Mol Hum Reprod.* 2000;6(4):375-81.
81. Rajabi M, Solomon S, Robin Poole A. Hormonal Regulation of Interstitial Collagenase in the Uterine Cervix of the Pregnant Guinea Pig. *Endocrinol.* 1991;128(2):863–71.
82. Calder AA. Prostaglandins and Biological Control of Cervical Function. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 1994;34(3):347–51.
83. Stjernholm YM, Sahlin L, Eriksson HA, Byström BE, Stenlund PM, Ekman GE. Cervical ripening after treatment with prostaglandin E2 or antiprogestin (RU486). Possible mechanisms in relation to gonadal steroids. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1999;84(1):83–8.
84. Denison FC, Calder AA, Kelly RW. The action of prostaglandin E2 on the human cervix: Stimulation of interleukin 8 and inhibition of secretory leukocyte protease inhibitor. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180(3):614–20.
85. Ekerhovd E, Weijdegård B, Brännström M, Mattsby-Baltzer I, Norström A. Nitric oxide induced cervical ripening in the human: Involvement of cyclic guanosine monophosphate, prostaglandin F(2  $\alpha$ ), and prostaglandin E(2). *Am J Obstet Gynecol.* 2002;186(4):745–50.
86. Kelly RW, Leask R, Calder AA. Choriodecidual production of interleukin-8 and mechanism of parturition. *Lancet.* 1992;339(8796):776–7.
87. Stjernholm Y, Sahlin L, Akerberg S, Elinder A, Eriksson HA, Malmstrom A, i sur. Cervical ripening in humans: Potential roles of estrogen, progesterone, and insulin-like growth factor-I. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;174(3):1065–71.
88. Chwalisz K. The use of progesterone antagonists for cervical ripening and as an adjunct to labour and delivery. *Hum Reprod.* 1994;9:131–61.
89. Gorodeski IG, Geier A, Lunenfeld B, Beery R, Bahary CM. Progesterone (P) receptor dynamics in estrogen primed normal human cervix following P injection. *Fertil Steril.* 1987;47(1):108–13.
90. Mitchell MD, Trautman MS, Dudley DJ. Immunoendocrinology of preterm labour and delivery. *Baillière's Clin Obstet Gynaecol.* 1993;7(3):553–75.
91. Haluska GJ, Kaler CA, Cook MJ, Novy MJ. Prostaglandin Production during Spontaneous Labor and after Treatment with RU486 in Pregnant Rhesus Macaques. *Biol Reprod.* 1994;51(4):760–5.

## 10. Literatura

92. Klimaviciute A, Calciolari J, Bertucci E, Abelin-Tornblöm S, Stjernholm-Vladic Y, Byström B, i sur. Corticotropin-releasing hormone, its binding protein and receptors in human cervical tissue at preterm and term labor in comparison to non-pregnant state. *Reprod Biol Endocrinol*. 2006;4(1):1–11.
93. Gravett MG, Hitti J, Hess DL, Eschenbach DA. Intrauterine infection and preterm delivery: Evidence for activation of the fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;182(6):1404–13.
94. Romero R, Espinoza J, Gonçalves LF, Kusanovic JP, Friel L, Hassan S. The role of inflammation and infection in preterm birth. *Semin Reprod Med*. 2007;25(1):21–39.
95. Romero R, Dey SK, Fisher SJ. Preterm labor: One syndrome, many causes. *Science*. 2014;345(6198):760-5.
96. Muglia LJ, Katz M. The Enigma of Spontaneous Preterm Birth. *NEJM*. 2010;362(6):529–35.
97. Carolan M. Maternal age  $\geq 45$  years and maternal and perinatal outcomes: a review of the evidence. *Midwifery*. 2013;29(5):479–89.
98. Smith GCS, Pell JP. Teenage pregnancy and risk of adverse perinatal outcomes associated with first and second births: population based retrospective cohort study. *BMJ*. 2001;323(7311):476–9.
99. Waldenström U, Aasheim V, Nilsen ABV, Rasmussen S, Pettersson HJ, Shytt E. Adverse pregnancy outcomes related to advanced maternal age compared with smoking and being overweight. *Obstet Gynecol*. 2014;123(1):104–12.
100. Kozuki N, Lee AC, Silveira MF, Sania A, Vogel JP, Adair L, i sur. The associations of parity and maternal age with small-for-gestational-age, preterm, and neonatal and infant mortality: a meta-analysis. *BMC Public Health*. 2013;13(3):1-10.
101. Fiscella K. Race, perinatal outcome, and amniotic infection. *Obstet Gynecol Surv*. 1996;51(1):60–6.
102. Goldenberg RL, Cliver SP, Mulvihill FX, Hickey CA, Hoffman HJ, Klerman L v., i sur. Medical, psychosocial, and behavioral risk factors do not explain the increased risk for low birth weight among black women. *Am J Obstet Gynecol*. 1996;175(5):1317–24.
103. Ruiz M, Goldblatt P, Morrison J, Kukla L, Švancara J, Riitta-Järvelin M, i sur. Mother's education and the risk of preterm and small for gestational age birth: a DRIVERS meta-analysis of 12 European cohorts. *J Epidemiol Community Health*. 2015;69(9):826–33.
104. Faber T, Kumar A, Mackenbach JP, Millett C, Basu S, Sheikh A, i sur. Effect of tobacco control policies on perinatal and child health: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Public Health*. 2017;2(9):e420–37.
105. Forray A. Substance use during pregnancy. *F1000Res*. 2016;5.
106. Cnattingius S. The epidemiology of smoking during pregnancy: Smoking prevalence, maternal characteristics, and pregnancy outcomes. *Nicotine Tob Res*. 2004;6:125-40.
107. Wickstrom R. Effects of nicotine during pregnancy: human and experimental evidence. *Curr Neuropharmacol*. 2007;5(3):213–22.

## 10. Literatura

108. Scholl TO. Iron status during pregnancy: setting the stage for mother and infant. *Am J Clin Nutr.* 2005;81(5):1218-22.
109. Tamura T, Goldenberg RL, Freeberg LE, Cliver SP, Cutter GR, Hoffman HJ. Maternal serum folate and zinc concentrations and their relationships to pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr.* 1992;56(2):365-70.
110. Hendler I, Goldenberg RL, Mercer BM, Iams JD, Meis PJ, Moawad AH, i sur. The Preterm Prediction study: Association between maternal body mass index and spontaneous and indicated preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192(3):882-6.
111. Neggers Y, Goldenberg RL. Some Thoughts on Body Mass Index, Micronutrient Intakes and Pregnancy Outcome. *J Nutr.* 2003;133(5):1737-40.
112. Goldenberg RL. The Plausibility of Micronutrient Deficiency in Relationship to Perinatal Infection. *J Nutr.* 2003;133(5):1645-8.
113. Conde-Agudelo A, Rosas-Bermú Dez A, Kafury-Goeta AC. Birth Spacing and Risk of Adverse Perinatal Outcomes A Meta-analysis. *JAMA.* 2006;295(15):1809-23.
114. Smith GCS, Pell JP, Dobbie R. Interpregnancy interval and risk of preterm birth and neonatal death: retrospective cohort study. *BMJ : Brit Med J.* 2003;327(7410):313.
115. Krohn MA, Hillier SL, Nugent RP, Cotch MF, Carey JC, Gibbs RS, i sur. The Genital Flora of Women with Intraamniotic Infection. *J Infect Dis.* 1995;171(6):1475-80.
116. Hillier SL, Krohn MA, Cassen E, Easterling TR, Rabe LK, Eschenbach DA. The Role of Bacterial Vaginosis and Vaginal Bacteria in Amniotic Fluid Infection in Women in Preterm Labor with Intact Fetal Membranes. *Clin Infect Dis.* 1995;20:276-8.
117. Cotch MF, Pastorek JG, Nugent RP, Hillier SL, Gibbs RS, Martin DH, i sur. *Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Sex Transm Dis.* 1997;24(6):353-60.
118. Sweet RL, Landers D v., Walker C, Schachter J. Chlamydia trachomatis infection and pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol.* 1987;156(4):824-33.
119. Donders GGG, Desmyter J, de Wet DH, van Assche FA. The association of gonorrhoea and syphilis with premature birth and low birthweight. *Genitourin Med.* 1993;69(2):98-101.
120. Sheiner E, Mazor-Drey E, Levy A. Asymptomatic bacteriuria during pregnancy. *J Matern-Fetal Neonatal Med.* 2009;22(5):423-7.
121. Goldenberg RL, Culhane JF, Johnson DC. Maternal infection and adverse fetal and neonatal outcomes. *Clin Perinatol.* 2005;32(3):523-59.
122. Knox IC, Hoerner JK. The role of infection in premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1950;59(1):190-4.
123. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine Infection and Preterm Delivery. *NEJM.* 2009;342(20):1500-7.
124. Copper RL, Goldenberg RL, Das A, Elder N, Swain M, Norman G, i sur. The preterm prediction study: Maternal stress is associated with spontaneous preterm birth at less than thirty-five weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;175(5):1286-92.

## 10. Literatura

125. Lobel M, Dunkel-Schetter C, Scrimshaw SC. Prenatal maternal stress and prematurity: a prospective study of socioeconomically disadvantaged women. *Health Psychol.* 1992;11(1):32–40.
126. Sheldon J, Riches P, Gooding R, Soni N, Hobbs JR. C-reactive protein and its cytokine mediators in intensive-care patients. *Clin Chem.* 1993;39(1):147–50.
127. Gavin NI, Gaynes BN, Lohr KN, Meltzer-Brody S, Gartlehner G, Swinson T. Perinatal depression: A systematic review of prevalence and incidence. *Obstet Gynecol.* 2005;106(5):1071–83.
128. Dayan J, Creveuil C, Marks MN, Conroy S, Herlicoviez M, Dreyfus M, i sur. Prenatal depression, prenatal anxiety, and spontaneous preterm birth: A prospective cohort study among women with early and regular care. *Psychosom Med.* 2006;68(6):938–46.
129. Hoffman S, Hatch MC. Stress, social support and pregnancy outcome: a reassessment based on recent research. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 1996;10(4):380–405.
130. Orr ST, Miller CA. Maternal Depressive Symptoms and the Risk of Poor Pregnancy Outcome: Review of the Literature and Preliminary Findings. *Epidemiol Rev.* 1995;17(1):165–71.
131. Gennaro S, Fehder W, Nuamah IF, Campbell DE, Douglas SD. Caregiving to Very Low Birthweight Infants: A Model of Stress and Immune Response. *Brain behav immun.* 1997;11(3):201-15.
132. Krupa FG, Faltin D, Cecatti JG, Surita FGC, Souza JP. Predictors of preterm birth. *Intern J Gynecol Obstet.* 2006;94(1):5–11.
133. Many A, Hill LM, Lazebnik N, Martin JG. The association between polyhydramnios and preterm delivery. *Obstet Gynecol.* 1995;86(3):389–91.
134. Fox NS, Roman AS, Stern EM, Gerber RS, Saltzman DH, Rebarber A. Type of congenital uterine anomaly and adverse pregnancy outcomes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2013; 27(9):949–53.
135. Chen YH, Lin HC, Chen SF, Lin HC. Increased risk of preterm births among women with uterine leiomyoma: a nationwide population-based study. *Hum Reprod.* 2009;24(12):3049-56.
136. Qin JB, Sheng XQ, Wu DI, Shi-You Gao , You YP, Yang TB, i sur. Worldwide prevalence of adverse pregnancy outcomes among singleton pregnancies after in vitro fertilization/ intracytoplasmic sperm injection: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet.* 2017;295(2):285-301.
137. Vujic J, Marsoner K, Lipp-Pump AH, Klaritsch P, Mischinger HJ, Kornprat P. Non-obstetric surgery during pregnancy-an eleven-year retrospective analysis. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2019;19(1):382.
138. Andrews WW, Copper R, Hauth JC, Goldenberg RL, Neely C, Dubard M. Second-trimester cervical ultrasound: associations with increased risk for recurrent early spontaneous delivery. *Obstet Gynecol.* 2000;95(2):222–6.
139. Iams JD, Goldenberg RL, Meis PJ, Mercer BM, Moawad A, Das A, i sur. The length of the cervix and the risk of spontaneous premature delivery. *National Institute of Child*

## 10. Literatura

- Health and Human Development Maternal Fetal Medicine Unit Network. *N Engl J Med.* 1996;334(9):567–72.
140. Copper RL, Goldenberg RL, Davis RO, Cutter GR, DuBard MB, Corliss DK, i sur. Warning symptoms, uterine contractions, and cervical examination findings in women at risk of preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;162(3):748–54.
  141. Souza RT, Costa ML, Mayrink J, Feitosa FE, Filho EAR, Leite DF, i sur. Clinical and epidemiological factors associated with spontaneous preterm birth: a multicentre cohort of low risk nulliparous women. *Sci Rep.* 2020;10(1):855.
  142. Varner MW, Esplin MS. Current understanding of genetic factors in preterm birth. *BJOG: Int J Obstet Gynaecol.* 2005;112:28–31.
  143. Bezold KY, Karjalainen MK, Hallman M, Teramo K, Muglia LJ. The genomics of preterm birth: From animal models to human studies. *Genome Med.* 2013;5(4):34.
  144. Fortunato SJ, Menon R, Velez DR, Thorsen P, Williams SM. Racial disparity in maternal-fetal genetic epistasis in spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198(6):666.e1-666.e10.
  145. Kistka ZAF, Palomar L, Lee KA, Boslaugh SE, Wangler MF, Cole FS, i sur. Racial disparity in the frequency of recurrence of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196(2):131.e1-131.e6.
  146. Palomar L, DeFranco EA, Lee KA, Allsworth JE, Muglia LJ. Paternal race is a risk factor for preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;197(2):152.e1-152.e7.
  147. Menon R, Pearce B, Velez DR, Merialdi M, Williams SM, Fortunato SJ, i sur. If Racial disparity in pathophysiologic pathways of preterm birth based on genetic variants. *Reprod Biol Endocrinol.* 2009;7:1–16.
  148. Patel RR, Steer P, Doyle P, Little MP, Elliott P. Does gestation vary by ethnic group? A London-based study of over 122,000 pregnancies with spontaneous onset of labour. *Int J Epidemiol.* 2004;33(1):107–13.
  149. Manuck TA. Racial and ethnic differences in preterm birth: A complex, multifactorial problem. *Semin Perinatol.* 2017;41(8):511–8.
  150. Esplin MS, O'Brien E, Fraser A, Kerber RA, Clark E, Simonsen SE, i sur. Estimating recurrence of spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol.* 2008;112(3):516–23.
  151. Mercer BM, Goldenberg RL, Moawad AH, Meis PJ, Ianis JD, Das AF, i sur. The Preterm Prediction Study: Effect of gestational age and cause of preterm birth on subsequent obstetric outcome. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;181:1216-21.
  152. Svensson AC, Sandin S, Cnattingius S, Reilly M, Pawitan Y, Hultman CM, i sur. Maternal Effects for Preterm Birth: A Genetic Epidemiologic Study of 630,000 Families. *Am J Epidemiol.* 2009;170(11):1365–72.
  153. Boyd HA, Poulsen G, Wohlfahrt J, Murray JC, Feenstra B, Melbye M. Maternal Contributions to Preterm Delivery. *Am J Epidemiol.* 2009;170(11):1358.
  154. Porter TF, Fraser AM, Hunter CY, Ward RH, Varner MW. The risk of preterm birth across generations. *Obstet Gynecol.* 1997;90(1):63-7.

## 10. Literatura

155. Winkvist A, Mogren I, Högberg U. Familial patterns in birth characteristics: Impact on individual and population risks. *Int J Epidemiol.* 1998;27(2):248-54.
156. Swaggart KA, Pavlicev M, Muglia LJ. Genomics of preterm birth. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015;5(2):a023127.
157. York TP, Eaves LJ, Lichtenstein P, Neale MC, Svensson A, Latendresse S, i sur. Fetal and maternal genes' influence on gestational age in a quantitative genetic analysis of 244,000 swedish births. *Am J Epidemiol.* 2013;178(4):543-50.
158. Wilcox AJ, Skjærven R, Lie RT. Familial patterns of preterm delivery: Maternal and fetal contributions. *Am J Epidemiol.* 2008;167(4):474-9.
159. Wu W, Witherspoon DJ, Fraser A, Clark EAS, Rogers A, Stoddard GJ, i sur. The heritability of gestational age in a two-million member cohort: Implications for spontaneous preterm birth. *Hum Genet.* 2015;134(7):803–8.
160. Lunde A, Melve KK, Gjessing HK, Skjærven R, Irgens LM. Genetic and environmental influences on birth weight, birth length, head circumference, and gestational age by use of population-based parent-offspring data. *Am J Epidemiol.* 2007; 165(7):734-41.
161. Clausson B, Lichtenstein P, Cnattingius S. Genetic influence on birthweight and gestational length determined by studies in offspring of twins. *BJOG: Int J Obstet Gynaecol.* 2000;107(3):375–81.
162. Kistka ZAF, DeFranco EA, Lighthart L, Willemsen G, Plunkett J, Muglia LJ, i sur. Heritability of parturition timing: an extended twin design analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;199(1):43.e1-5.
163. Plunkett J, Muglia LJ. Genetic contributions to preterm birth: Implications from epidemiological and genetic association studies. *Ann Med.* 2009;40(3):167-95.
164. York TP, Eaves LJ, Neale MC, Strauss JF. The contribution of genetic and environmental factors to the duration of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;210(5):398-405.
165. Lunde A, Melve KK, Gjessing HK, Skjærven R, Irgens LM. Genetic and environmental influences on birth weight, birth length, head circumference, and gestational age by use of population-based parent-offspring data. *Am J Epidemiol.* 2007;165(7):734-41.
166. Lie RT, Wilcox AJ, Skjærven R. Maternal and paternal influences on length of pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2006;107(4):880-5.
167. Yan J, Su R, Ao D, Wang Y, Wang H, Yang H. Genetic variants and clinical relevance associated with gestational diabetes mellitus in Chinese women: a case-control study. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018; 31(16):2115-21.
168. Strauss JF, Romero R, Gomez-Lopez N, Haymond-Thornburg H, Modi BP, Teves ME, i sur. Spontaneous preterm birth: advances toward the discovery of genetic predisposition. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;218(3):294-314.e2.
169. Pearson TA, Manolio TA. How to interpret a genome-wide association study. *JAMA.* 2008; 299(11):1335-44.
170. Myking S, Boyd HA, Myhre R, Feenstra B, Jugessur A, Devold Pay AS, i sur. X-Chromosomal Maternal and Fetal SNPs and the Risk of Spontaneous Preterm



## 10. Literatura

- Delivery in a Danish/Norwegian Genome-Wide Association Study. *Plos One*. 2013;8(4):e61781.
171. Zhang H, Baldwin DA, Bukowski RK, Parry S, Xu Y, Song C, i sur. A Genome-Wide Association Study of Early Spontaneous Preterm Delivery. *Genet Epidemiol*. 2015;39(3):217-26.
172. Zhang G, Feenstra B, Bacelis J, Liu X, Muglia LM, Juodakis J, i sur. Genetic associations with gestational duration and spontaneous preterm birth. *N Engl J Med* 2017; 377:1156-67.
173. Rappoport N, Toung J, Hadley D, Wong RJ, Fujioka K, Reuter J, i sur. A genome-wide association study identifies only two ancestry specific variants associated with spontaneous preterm birth. *Sci Rep*. 2018;8(1):226.
174. Liu X, Helenius D, Skotte L, Beaumont RN, Wielscher M, Geller F, i sur. Variants in the fetal genome near pro-inflammatory cytokine genes on 2q13 associate with gestational duration. *Nat Commun*. 2019;10(1):1–13.
175. Barbitoff YA, Tsarev AA, Vashukova ES, Maksiutenko EM, Kovalenko LV, Belotserkovtseva LD, i sur. A data-driven review of the genetic factors of pregnancy complications. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(9):3384.
176. McElroy JJ, Gutman CE, Shaffer CM, Busch TD, Puttonen H, Teramo K, i sur. Maternal coding variants in complement receptor 1 and spontaneous idiopathic preterm birth. *Hum Genet*. 2013;132(8):935–42.
177. Uzun A, Schuster J, McGonnigal B, Schorl C, Dewan A, Padbury J. Targeted Sequencing and Meta-Analysis of Preterm Birth. *PloS One*. 2016;11(5):e0155021.
178. Huusko JM, Karjalainen MK, Graham BE, Zhang G, Farrow EG, Miller NA, i sur. Whole exome sequencing reveals HSPA1L as a genetic risk factor for spontaneous preterm birth. *PloS Genet*. 2018;14(7):e1007394.
179. Modi BP, Teves ME, Pearson LN, Parikh HI, Chaemsaitong P, Sheth NU, i sur. Rare mutations and potentially damaging missense variants in genes encoding fibrillar collagens and proteins involved in their production are candidates for risk for preterm premature rupture of membranes. *PloS One*. 2017;12(3):e0174356.
180. Modi BP, Teves ME, Pearson LN, Parikh HI, Haymond-Thornburg H, Tucker JL, i sur. Mutations in fetal genes involved in innate immunity and host defense against microbes increase risk of preterm premature rupture of membranes (PPROM). *Mol Genet Genomic Med*. 2017;5(6):720–9.
181. Modi BP, Parikh HI, Teves ME, Kulkarni R, Liyu J, Romero R, i sur. Discovery of rare ancestry-specific variants in the fetal genome that confer risk of preterm premature rupture of membranes (PPROM) and preterm birth. *BMC Med Genet*. 2018;19(1):1–13.
182. Čvorišćec D, Debelak I, ur. Štrausova medicinska biokemija. Zagreb:Medicinska naklada; 2009.
183. Brucker MC, King TL, ur. Pharmacology for women's health. Burlington,MA:Jones & Bartlett Learning;2017.
184. Jameson JL, De Groot LJ. Endocrinology-E-Book: Adult and Pediatric. Amsterdam:Elsevier Health Sciences; 2010.

## 10. Literatura

185. Baulieu EE, Schumacher M. Progesterone as a neuroactive neurosteroid, with special reference to the effect of progesterone on myelination. *Steroids*. 2000;65(10–11):605–12.
186. Hitchcock CL, Prior JC. Oral micronized progesterone for vasomotor symptoms-a placebo-controlled randomized trial in healthy postmenopausal women. *Menopause*. 2012;19(8):886–93.
187. Aruna M, Nagaraja T, Andal S, Tarakeswari S, Sirisha PVS, Reddy AG, i sur. Role of progesterone receptor polymorphisms in the recurrent spontaneous abortions: Indian case. *PLoS ONE*. 2010;5(1):e8712.
188. Taraborrelli S. Physiology, production and action of progesterone. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2015;94:8–16.
189. Csapo AI, Pulkkinen MO, Wiest WG. Effects of luteectomy and progesterone replacement therapy in early pregnant patients. *Am J Obstet & Gynecol*. 1973;115(6):759–65.
190. Schneider MA, Davies MC, Honour JW. The timing of placental competence in pregnancy after oocyte donation. *Fertil Steril*. 1993;59(5):1059–64.
191. di Renzo GC, Tosto V, Tsibizova V. Progesterone: History, facts, and artifacts. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2020;69:2–12.
192. Van Dongen JA, ur. *De mulierum organis generationi inservientibus, 1672 – Facsimile*. Leiden:Brill;1965.
193. Corner GW. The Early History of Progesterone. *Gynecol Obstet Invest*. 1974;5(2):106–12.
194. Allen WM. My life with progesterone. *Am J Obstet Gynecol*. 2005;193(4):1575–7.
195. Shampo MA, Kyle RA, Steensma DP. Adolf Butenandt—Nobel Prize for Chemistry. *Mayo Clin Proc*. 2012; 87(4):e27.
196. Fischer J, Ganellin, CR,ur. *Analogue-based drug discovery*. Hoboken,NJ:Wiley;2006.
197. di Renzo GC, Giardina I, Clerici G, Mattei A, Alajmi AH, Gerli S. The role of progesterone in maternal and fetal medicine. *Gynecol Endocrinol*. 2012;28(11):925–32.
198. Csapo AI, Pinto-Dantas CA. The effect of progesterone on the human uterus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1965;54(4):1069–76.
199. Csapo A. The luteo-placental shift, the guardian of pre-natal life. *Postgrad Med J*. 1969;45(519):57–64.
200. Druckmann R, Druckmann MA. Progesterone and the immunology of pregnancy. *J. Steroid Biochem Mol Biol*. 2005;97(5):389–96.
201. Szekeres-Bartho J, Barakonyi A, Par G, Polgar B, Palkovics T, Szereday L. Progesterone as an immunomodulatory molecule. *Int Immunopharmacol*. 2001;1(6):1037–48.
202. di Renzo GC, Giardina I, Clerici G, Brillo E, Gerli S. Progesterone in normal and pathological pregnancy. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2016; 27(1):35-48.

## 10. Literatura

203. Schwartz N, Xue X, Elovitz MA, Dowling O, Metz CN. Progesterone suppresses the fetal inflammatory response ex vivo. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;201(2):211.e1-211.e9.
204. Chanrachakul B, Pipkin FB, Warren AY, Arulkumaran S, Khan RN. Progesterone enhances the tocolytic effect of ritodrine in isolated pregnant human myometrium. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192(2):458–63.
205. Perusquía M, Jasso-Kamel J. Influence of 5 $\alpha$ - and 5 $\beta$ -reduced progestins on the contractility of isolated human myometrium at term. *Life Sciences.* 2001 May 18;68(26):2933–44.
206. Fanchin R, Ayoubi JM, Olivennes F, Righini C, de Ziegler D, Frydman R. Hormonal influence on the uterine contractility during ovarian stimulation. *Hum Reprod.* 2000;15:90–100.
207. Czajkowski K, Sienko J, Mogilinski M, Bros M, Szczecina R, Czajkowska A. Uteroplacental circulation in early pregnancy complicated by threatened abortion supplemented with vaginal micronized progesterone or oral dydrogesterone. *Fertil Steril.* 2007;87(3):613–8.
208. Liu J, Matsuo H, Laoag-Fernandez JB, Xu Q, Maruo T. The effects of progesterone on apoptosis in the human trophoblast-derived HTR-8/SV neo cells. *Mol Hum Reprod.* 2007;13(12):869–74.
209. Kumar D, Springel E, Moore RM, Mercer BM, Philipson E, Mansour JM, i sur. Progesterone inhibits in vitro fetal membrane weakening. *Am J Obstet Gynecol.* 2015; 213(4):520.e1-9.
210. Luo G, Abrahams VM, Tadesse S, Funai EF, Hodgson EJ, Gao J, i sur. Progesterone inhibits basal and tnf- $\alpha$ -induced apoptosis in fetal membranes: A novel mechanism to explain progesterone-mediated prevention of preterm birth. *Reprod Sci.* 2010;17(6):532-9.
211. Renthal NE, Williams KC, Mendelson CR. MicroRNAs—mediators of myometrial contractility during pregnancy and labour. *Nat Rev Endocrinol.* 2013;9(7):391–401.
212. Kirby MA, Heuerman AC, Custer M, Dobyms AE, Strilaeff R, Stutz KN, i sur. Progesterone Receptor-Mediated Actions Regulate Remodeling of the Cervix in Preparation for Preterm Parturition. *Reprod Sci.* 2016 Nov 1;23(11):1473–83.
213. Polgar B, Kispal G, Lachmann M, Paar G, Nagy E, Csere P, i sur. Molecular cloning and immunologic characterization of a novel cDNA coding for progesterone-induced blocking factor. *J Immunol.* 2003;171(11):5956–63.
214. di Renzo GC, Rosati A, Mattei A, Gojnic M, Gerli S. The changing role of progesterone in preterm labour. *BJOG: Int J Obstet Gynaecol.* 2005;112:57–60.
215. Zakar T, Hertelendy F. Progesterone withdrawal: key to parturition. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196(4):289–96.
216. Casey ML, Macdonald PC. The endocrinology of human parturition. *Ann N Y Acad Sci.* 1997;828:273–84.
217. Mittal P, Romero R, Tarca AL, Gonzalez J, Draghici S, Xu Y, i sur. Characterization of the myometrial transcriptome and biological pathways of spontaneous human labor at term. *J Perinat Med.* 2010;38(6):617.

## 10. Literatura

218. Mazor M, HersHKovitz R, Chaim W, Levy J, Sharony Y, Leiberman JR, i sur. Human preterm birth is associated with systemic and local changes in progesterone/17 beta-estradiol ratios. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;171(1):231–6.
219. Willcox DL, Bruce NW. Protein binding of progesterone in rat plasma. *J Reprod Fertil.* 1983;69(1):105–12.
220. Vrachnis N, Malamas FM, Sifakis S, Tsikouras P, Iliodromiti Z. Immune aspects and myometrial actions of progesterone and CRH in labor. *Clin Dev Immunol.* 2012;2012:937618.
221. Karteris E, Zervou S, Pang Y, Dong J, Hillhouse EW, Randeva HS, i sur. Progesterone Signaling in Human Myometrium through Two Novel Membrane G Protein-Coupled Receptors: Potential Role in Functional Progesterone Withdrawal at Term. *Mol Endocrinol.* 2006;20(7):1519–34.
222. Merlino AA, Welsh TN, Tan H, Li JY, Cannon V, Mercer BM, i sur. Nuclear progesterone receptors in the human pregnancy myometrium: Evidence that parturition involves functional progesterone withdrawal mediated by increased expression of progesterone receptor-A. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(5):1927-33.
223. Safran M, Rosen N, Twik M, BarShir R, Iny Stein T, Dahary D, i sur. The GeneCards Suite. U: Abugessaisa I, Kasukawa T. *Practical Guide to Life Science Databases.* Heidelberg:Springer Verlag;2021.str. 27-56.
224. Gotsch F, Romero R, Erez O, Vaisbuch E, Kusanovic JP, Mazaki-Tovi S, i sur. The preterm parturition syndrome and its implications for understanding the biology, risk assessment, diagnosis, treatment and prevention of preterm birth. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009;22:5-23.
225. Li X, Feng Y, Billig H, Shao LR. Endometrial progesterone resistance and PCOS Hyperandrogenism-induced pregnancy complications in PCOS patient. *J Biomed Sci.* 2014;21(1):2.
226. Pieber D, Allport VC, Hills F, Johnson M, Bennett PR. Interactions between progesterone receptor isoforms in myometrial cells in human labour. *Mol Hum Reprod.* 2001;7(9):875-9.
227. Lavery DN, McEwan IJ. Structure and function of steroid receptor AF1 transactivation domains: induction of active conformations. *Biochem J.* 2005;391:449.
228. Abdel-Hafiz H, Takimoto GS, Tung L, Horwitz KB. The inhibitory function in human progesterone receptor N termini binds SUMO-1 protein to regulate autoinhibition and transrepression. *J Biol Chem.* 2002;277(37):33950–6.
229. Sartorius CA, Melville MY, Hovland AR, Tung L, Takimoto GS, Horwitz KB. A third transactivation function (AF3) of human progesterone receptors located in the unique N-terminal segment of the B-isoform. *Mol Endocrinol.* 1994;8(10):1347–60.
230. Li X, O'Malley BW. Unfolding the Action of Progesterone Receptors. *J Biol Chem.* 2003;278(41):39261–4.
231. Lonard DM, O'Malley BW. Nuclear Receptor Coregulators: Judges, Juries, and Executioners of Cellular Regulation. *Mol Cell.* 2007;27(5):691–700.
232. Takimoto GS, Tung L, Abdel-Hafiz H, Abel MG, Sartorius CA, Richer JK, i sur. Functional properties of the N-terminal region of progesterone receptors and their

## 10. Literatura

- mechanistic relationship to structure. *J. Steroid Biochem Mol Biol.* 2003;85(2–5):209–19.
233. Dong X, Challis JRG, Lye SJ. Intramolecular interactions between the AF3 domain and the C-terminus of the human progesterone receptor are mediated through two LXXLL motifs. *J Mol Endocrinol.* 2004;32(3):843–57.
234. Africander D, Verhoog N, Hapgood JP. Molecular mechanisms of steroid receptor-mediated actions by synthetic progestins used in HRT and contraception. *Steroids.* 2011;76(7):636–52.
235. Bourguet W, Germain P, Gronemeyer H. Nuclear receptor ligand-binding domains: three-dimensional structures, molecular interactions and pharmacological implications. *Trends Pharmacol Sci.* 2000;21(10):381–8.
236. Hill KK, Roemer SC, Churchill MEA, Edwards DP. Structural and functional analysis of domains of the progesterone receptor. *Mol Cell Endocrinol.* 2012;348(2):418–29.
237. Beato M, Klug J. Steroid hormone receptors: an update. *Hum Reprod Update.* 2000;6(3):225–36.
238. Schatz F, Guzeloglu-Kayisli O, Basar M, Buchwalder LF, Ocak N, Guzel E, i sur Enhanced Human Decidual Cell-Expressed FKBP51 May Promote Labor-Related Functional Progesterone Withdrawal. *Am J Pathol.* 2015;185(9):2402–11.
239. Gellersen B, Fernandes MS, Brosens JJ. Non-genomic progesterone actions in female reproduction. *Hum Reprod Update.* 2009;15(1):119–38.
240. Kastner P, Krust A, Turcotte B, Stropp U, Tora L, Gronemeyer H, i surl. Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B. *EMBO J.* 1990;9(5):1603-14.
241. Vegeto E, Shahbaz MM, Wen DX, Goldman ME, O'Malley BW, McDonnell DP. Human progesterone receptor A form is a cell- and promoter-specific repressor of human progesterone receptor B function. *Mol Endocrinol.* 1993;7(10):1244–55.
242. Wei LL, Hawkins P, Baker C, Norris B, Sheridan PL, Quinn PG. An amino-terminal truncated progesterone receptor isoform, PRc, enhances progestin-induced transcriptional activity. *Mol Endocrinol.* 1996;10(11):1379–87.
243. Wei LL, Norris BM, Baker CJ. An N-terminally truncated third progesterone receptor protein, PR(C), forms heterodimers with PR(B) but interferes in PR(B)-DNA binding. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1997;62(4):287–97.
244. Fernandes MS, Pierron V, Michalovich D, Astle S, Thornton S, Peltoketo H, et al. Regulated expression of putative membrane progestin receptor homologues in human endometrium and gestational tissues. *J Endocrinol.* 2005;187(1):89–101.
245. Mesiano S, Wang Y, Norwitz ER. Progesterone receptors in the human pregnancy uterus: Do they hold the key to birth timing? *Reprod Sci.* 2011;18(1):6–19.
246. Boonyaratankornkit V, Scott MP, Ribon V, Sherman L, Anderson SM, Maller JL, et al. Progesterone Receptor Contains a Proline-Rich Motif that Directly Interacts with SH3 Domains and Activates c-Src Family Tyrosine Kinases. *Mol Cell.* 2001;8(2):269–80.

## 10. Literatura

247. Saner KJ, Welter BH, Zhang F, Hansen E, Dupont B, Wei Y, i sur. Cloning and expression of a novel, truncated, progesterone receptor. *Mol Cell Endocrinol.* 2003;200(1–2):155–63.
248. Wetendorf M, Demayo FJ. Progesterone receptor signaling in the initiation of pregnancy and preservation of a healthy uterus. *Int J Dev Biol.* 2014;58(2-4):95-106.
249. Parker MG, Christian M, White R. The nuclear receptor co-repressor RIP140 controls the expression of metabolic gene networks. *Biochem Soc Trans.* 2006;34(6):1103–6.
250. Lonard DM, Lanz RB, O'Malley BW. Nuclear Receptor Coregulators and Human Disease. *Endocr Rev.* 2007;28(5):575–87.
251. Wen SW, Smith G, Yang Q, Walker M. Epidemiology of preterm birth and neonatal outcome. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2004;9(6):429-35.
252. Blanks AM, Brosens JJ. Progesterone action in the myometrium and decidua in preterm birth. *Facts Views Vis Obgyn.* 2012;4(3):33-43.
253. Tan H, Yi L, Rote NS, Hurd WW, Mesiano S. Progesterone receptor-A and -B have opposite effects on proinflammatory gene expression in human myometrial cells: Implications for progesterone actions in human pregnancy and parturition. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(5):E719-30.
254. Siiteri PK, Febres F, Clemens LE, Chang RJ, Gondos B, Stites D. Progesterone and maintenance of pregnancy: is progesterone nature's immunosuppressant? *Ann N Y Acad Sci.* 1977;286(1):384–97.
255. Hardy DB, Janowski BA, Corey DR, Mendelson CR. Progesterone Receptor Plays a Major Antiinflammatory Role in Human Myometrial Cells by Antagonism of Nuclear Factor- $\kappa$ B Activation of Cyclooxygenase 2 Expression. *Mol Endocrinol.* 2006;20(11):2724–33.
256. Pieber D, Allport VC, Bennett PR. Progesterone receptor isoform A inhibits isoform B-mediated transactivation in human amnion. *Eur J Pharmacol.* 2001;427(1):7-11.
257. Yellon SM. Contributions to the dynamics of cervix remodeling prior to term and preterm birth. *Biol Reprod.* 2017;96(1):13–23.
258. Wu SP, DeMayo FJ. Progesterone Receptor Signaling in Uterine Myometrial Physiology and Preterm Birth. *Curr Top Dev Biol.* 2017;125:171–90.
259. Grimm SL, Hartig SM, Edwards DP. Progesterone Receptor Signaling Mechanisms. *J Mol Biol.* 2016; 428(19):3831-49.
260. Patel B, Elguero S, Thakore S, Dahoud W, Bedaiwy M, Mesiano S. Role of nuclear progesterone receptor isoforms in uterine pathophysiology. *Human Reproduction Update.* 2015.
261. Williams KC, Renthal NE, Condon JC, Gerard RD, Mendelson CR. MicroRNA-200a serves a key role in the decline of progesterone receptor function leading to term and preterm labor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(19):7529–34.
262. Nadeem L, Shynlova O, Matysiak-Zablocki E, Mesiano S, Dong X, Lye S. Molecular evidence of functional progesterone withdrawal in human myometrium. *Nat Commun.* 2016;7:11565.

## 10. Literatura

263. Runnebaum B, Zander J. Progesterone and 20 $\alpha$ -dihydroprogesterone in human myometrium during pregnancy. *European J Endocrinol.* 1971;65:S5–50.
264. Nadeem L, Balendran R, Dorogin A, Mesiano S, Shynlova O, Lye SJ. Pro-inflammatory signals induce 20 $\alpha$ -HSD expression in myometrial cells: A key mechanism for local progesterone withdrawal. *J Cell Mol Med.* 2021;25(14):6773–85.
265. Leitao B, Jones MC, Fusi L, Higham J, Lee Y, Takano M, i sur. Silencing of the JNK pathway maintains progesterone receptor activity in decidualizing human endometrial stromal cells exposed to oxidative stress signals. *FASEB J.* 2010;24(5):1541.
266. Daniel AR, Gaviglio AL, Czaplicki LM, Hillard CJ, Housa D, Lange CA. The Progesterone Receptor Hinge Region Regulates the Kinetics of Transcriptional Responses Through Acetylation, Phosphorylation, and Nuclear Retention. *Mol Endocrinol.* 2010;24(11):2126–38.
267. Abdel-Hafiz HA, Horwitz KB. Post-translational modifications of the progesterone receptors. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;140:80-9.
268. McKenna NJ, Lanz RB, O'Malley BW. Nuclear Receptor Coregulators: Cellular and Molecular Biology. *Endocr Rev.* 1999;20(3):321–44.
269. Giangrande PH, Kimbrel EA, Edwards DP, McDonnell DP. The Opposing Transcriptional Activities of the Two Isoforms of the Human Progesterone Receptor Are Due to Differential Cofactor Binding. *Mol Cell Biol.* 2000;20(9):3102.
270. Condon JC, Jeyasuria P, Faust JM, Wilson JW, Mendelson CR. A decline in the levels of progesterone receptor coactivators in the pregnant uterus at term may antagonize progesterone receptor function and contribute to the initiation of parturition. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(16):9518-23.
271. Leite RS, Brown AG, Strauss III JF. Tumor necrosis factor- $\alpha$  suppresses the expression of steroid receptor coactivator-1 and -2: A possible mechanism contributing to changes in steroid hormone responsiveness. *FASEB J.* 2004;18(12):1418–20.
272. Ehn NL, Cooper ME, Orr K, Shi M, Johnson MK, Caprau D, et al. Evaluation of fetal and maternal genetic variation in the progesterone receptor gene for contributions to preterm *birth.* *Pediatr Res.* 2007;62(5):630-5.
273. Misrahi M, Venencie PY, Saugier-Veber P, Sar S, Dessen P, Milgrom E. Structure of the human progesterone receptor gene. *Biochim Biophys Acta.* 1993; 1216(2):289-92.
274. Cork DMW, Lennard TWJ, Tyson-Capper AJ. Alternative splicing and the progesterone receptor in breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2008;10(3):1–8.
275. Buniello A, MacArthur JAL, Cerezo M, Harris LW, Hayhurst J, Malangone C, i sur. The NHGRI-EBI GWAS Catalog of published genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics 2019. *Nucleic Acids Res.* 2019;47: D1005-D1012.
276. Thornton JW. Evolution of vertebrate steroid receptors from an ancestral estrogen receptor by ligand exploitation and serial genome expansions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(10):5671-6.
277. Li J, Hong X, Mesiano S, Muglia LJ, Wang X, Snyder M, i sur. Natural Selection Has Differentiated the Progesterone Receptor among Human Populations. *Am J Hum Genet.* 2018;103(1):45.

## 10. Literatura

278. Wang X, Tomso DJ, Liu X, Bell DA. Single nucleotide polymorphism in transcriptional regulatory regions and expression of environmentally responsive genes. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005;207(2):84–90.
279. Chorley BN, Wang X, Campbell MR, Pittman GS, Noureddine MA, Bell DA. Discovery and verification of functional single nucleotide polymorphisms in regulatory genomic regions: Current and developing technologies. *Mutat Res.* 2008;659(1–2):147.
280. Bell JI. Single nucleotide polymorphisms and disease gene mapping. *Arthritis Res Ther.* 2002;4(3):1–6.
281. Albert PR. What is a functional genetic polymorphism? Defining classes of functionality. *J Psychiatry Neurosci.* 2011;36(6):363.
282. Luo G, Morgan T, Bahtiyar MO, Snegovskikh V v., Schatz F, Kuczynski E, i sur. Single nucleotide polymorphisms in the human progesterone receptor gene and spontaneous preterm birth. *Reprod Sci.* 2008;15(2):147-55.
283. Mann PC, Cooper ME, Ryckman KK, Comas B, Gili J, Crumley S, i sur. Polymorphisms in the fetal progesterone receptor and a calcium-activated potassium channel isoform are associated with preterm birth in an Argentinian population. *J Perinatol.* 2013;33(5):336-40.
284. Tiwari D, Bose PD, Das S, Das CR, Datta R, Bose S. MTHFR (C677T) polymorphism and PR (PROGINS) mutation as genetic factors for preterm delivery, fetal death and low birth weight: A Northeast Indian population based study. *Meta Gene.* 2015;3:31-42.
285. Oliveira TA, Cunha DRD, Policastro A, Traina É, Gomes MT, Cordioli E. The progesterone receptor gene polymorphism as factor of risk for the preterm delivery. *Rev bras ginecol obstet.* 2011;33(6):271-5.
286. Dunning AM, Healey CS, Pharoah PDP, Dawn Teare M, Ponder BAJ, Easton DF. A Systematic Review Of Genetic Polymorphisms and Breast Cancer Risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1999;8(10):843-54.
287. Lattuada D, Somigliana E, Viganò P, Candiani M, Pardi G, di Blasio AM. Genetics of endometriosis: a role for the progesterone receptor gene polymorphism PROGINS? *Clin Endocrinol.* 2004;61(2):190–4.
288. Modugno F. Ovarian Cancer and Polymorphisms in the Androgen and Progesterone Receptor Genes: A HuGE Review. *Am J Epidemiol.* 2004;159(4):319–35.
289. Romano A, Lindsey PJ, Fischer DC, Delvoux B, Paulussen ADC, Janssen RG, i sur. Two functionally relevant polymorphisms in the human progesterone receptor gene (+331 G/A and progins) and the predisposition for breast and/or ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2006;101(2):287–95.
290. Yuan C, Wang C, Liu X, Kong B. Analyze association of the progesterone receptor gene polymorphism PROGINS with ovarian cancer risk. *Mol Biol Rep.* 2013; 40(10):6001-10.
291. Albalawi IA, Mir R, Abu-Duhier FM. Molecular Evaluation of PROGINS Mutation in Progesterone Receptor Gene and Determination of its Frequency, Distribution Pattern and Association with Breast Cancer Susceptibility in Saudi Arabia. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2020;20(5):760-770.



## 10. Literatura

292. O'Mara TA, Fahey P, Ferguson K, Marquart L, Lambrechts D, Despierre E, i sur. Progesterone receptor gene variants and risk of endometrial cancer. *Carcinogenesis*. 2011;32(3):331-5.
293. Romano A, Delvoux B, Fischer DC, Groothuis P. The PROGINS polymorphism of the human progesterone receptor diminishes the response to progesterone. *J Mol Endocrinol*. 2007;38(1-2):331-50.
294. Diaz-Cueto L, Dominguez-Lopez P, Cantillo-Cabarcas J, Perez-Figueroa G, Arechavaleta-Velasco M, Arechavaleta-Velasco F. Progesterone receptor gene polymorphisms are not associated with preterm birth in a Hispanic population. *Int J Gynecol Obstet*. 2008;103(2):153-7.
295. Kadivnik M, Muller A, Vranješ IM, Šijanović S, Wagner J. PROGINS mutation of progesterone receptors and its role in premature birth-an overview. *SEEMEDJ*. 2017;1(2):55-70.
296. Deininger PL, Batzer MA. Alu Repeats and Human Disease. *Mol Genet Metab*. 1999;67(3):183–93.
297. Gibbons R, Dugaiczuk A. Phylogenetic roots of Alu-mediated rearrangements leading to cancer. *Genome*. 2005;48(1):160–7.
298. Sorek R, Lev-Maor G, Reznik M, Dagan T, Belinky F, Graur D, et al. Minimal conditions for exonization of intronic sequences: 5' splice site formation in Alu exons. *Mol Cell*. 2004;14(2):221–31.
299. Lev-Maor G, Sorek R, Shomron N, Ast G. The birth of an alternatively spliced exon: 3' Splice-site selection in Alu exons. *Science*. 2003;300(5623):1288–91.
300. Zeberg H, Kelso J, Paabo S. The neandertal progesterone receptor. *Molecular Biology and Evolution*. 2020;37(9):2655–60.
301. Canela-Xandri O, Rawlik K, Tenesa A. An atlas of genetic associations in UK Biobank. *Nature Genetics*. 2018;50(11):1593–9.
302. de Vivo I, Hankinson SE, Colditz GA, Hunter DJ. A functional polymorphism in the progesterone receptor gene is associated with an increase in breast cancer risk. *Cancer Res*. 2003;63(17):5236-8.
303. Mulac-Jericevic B, Mullinax RA, DeMayo FJ, Lydon JP, Conneely OM. Subgroup of reproductive functions of progesterone mediated by progesterone receptor-B isoform. *Science*. 2000; 289(5485):1751-4.
304. Risch HA, Bale AE, Beck PA, Zheng W. PGR +331 A/G and increased risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15(9):1738-41.
305. Bahia W, Finan RR, Al-Mutawa M, Haddad A, Soua A, Janhani F, i sur. Genetic variation in the progesterone receptor gene and susceptibility to recurrent pregnancy loss: a case–control study. *BJOG: Int J Obstet Gynaecol*. 2018; 125(6):729-735.
306. Ward LD, Kellis M. HaploReg: a resource for exploring chromatin states, conservation, and regulatory motif alterations within sets of genetically linked variants. *Nucleic Acids Res*. 2012;40:930-4.
307. World Medical Association declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*. 2013;310(20):2191-4.

## 10. Literatura

308. Blondel B, Morin I, Platt RW, Kramer MS, Usher R, Bréart G. Algorithms for combining menstrual and ultrasound estimates of gestational age: consequences for rates of preterm and postterm birth. *BJOG: Int J Obstet Gynaecol.* 2002;109(6):718–20.
309. Hackbarth BB, Ferreira JA, Carstens HP, Amaral AR, Silva MR, Silva JC, i sur. Preterm birth susceptibility: Investigation of behavioral, genetic, medical and sociodemographic factors. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2015;37(8):353-8.
310. Ghali RM, Al-Mutawa MA, Ebrahim BH, Jrah HH, Zaied S, Bhiri H, i sur. Progesterone Receptor (PGR) Gene Variants Associated with Breast Cancer and Associated Features: a Case-Control Study. *Pathol Oncol Res.* 2020;26(1):141-7.
311. Pearce CL, Wu AH, Gayther SA, Bale AE, Beck PA, Beesley J, i sur. Progesterone receptor variation and risk of ovarian cancer is limited to the invasive endometrioid subtype: Results from the ovarian cancer association consortium pooled analysis. *Br J Cancer.* 2008;98(2):282-8.
312. Khan N, Zargar MH, Ahmed R, Godha M, Ahmad A, Afroze D, i sur. Effect of steroid hormone receptor gene variants PROGINS (Alu insertion) and PGR C/T (rs1042839) as a risk factor for recurrent pregnancy loss in Kashmiri population (North India). *J Obstet Gynaecol Res.* 2021;47(12):4329–39.
313. Su MT, Lee IW, Chen YC, Kuo PL. Association of progesterone receptor polymorphism with idiopathic recurrent pregnancy loss in Taiwanese Han population. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics.* 2011.
314. Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System. Genotyping Experiments. Foster City, California, USA: Applied Biosystems; 2010.
315. Malkki M, Petersdorf EW. Genotyping of Single Nucleotide Polymorphisms by 5' Nuclease Allelic Discrimination. *Methods Mol Biol.* 2012;882:173-82.
316. Instruction Manual for LC-MS/MS Determination MassChrom ® Steroids in serum/plasma. Gräfelfing, Germany: Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH.
317. Solé X, Guinó E, Valls J, Iniesta R, Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics.* 2006;22(15):1928–9.
318. Li Z, Zhang Z, He Z, Tang W, Li T, Zeng Z, i sur. A partition-ligation-combination-subdivision em algorithm for haplotype inference with multiallelic markers: Update of the SHEsis (<http://analysis.bio-x.cn>). *Cell Research.* 2009;19(4):519–23.
319. Shi YY, He L. SHEsis, a powerful software platform for analyses of linkage disequilibrium, haplotype construction, and genetic association at polymorphism loci. *Cell Research.* 2005;15(2):97–8.
320. Haluska GJ, Wells TR, Hirst JJ, Brenner RM, Sadowsky DW, Novy MJ. Progesterone receptor localization and isoforms in myometrium, decidua, and fetal membranes from rhesus macaques: Evidence for functional progesterone withdrawal at parturition. *J Soc Gynecol Investig.* 2002;9(3):125-36.
321. Brown AG, Leite RS, Strauss JF. Mechanisms underlying “functional” progesterone withdrawal at parturition. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1034:36-49.
322. Panikkar S, Jadhav S, Sharma S, Thakur M. Progins progesterone receptor gene polymorphism as a risk factor for preterm delivery. *J Med Pharm Allied Sci.* 2021;10(6):3942-6.

## 10. Literatura

323. Soldin OP, Guo T, Weiderpass E, Tractenberg RE, Hilakivi-Clarke L, Soldin SJ. Steroid hormone levels in pregnancy and 1 year postpartum using isotope dilution tandem mass spectrometry. *Fertil Steril*. 2005;84(3):701–10.
324. Csapo A. Progesterone “block.” *Am J Anat*. 1956;98(2):273–91.
325. Renthal NE, Williams C, Montalbano AP, Chen CC, Gao L, Mendelson CR. Molecular Regulation of Parturition: A Myometrial Perspective. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015;5(11):a023069.
326. Guo T, Taylor RL, Singh RJ, Soldin SJ. Simultaneous determination of 12 steroids by isotope dilution liquid chromatography-photospray ionization tandem mass spectrometry. *Clinica Chimica Acta*. 2006;372(1–2):76–82.
327. Huebner C, Petermann I, Lam WJ, Shelling AN, Ferguson LR. Characterization of single-nucleotide polymorphisms relevant to inflammatory bowel disease in commonly used gastrointestinal cell lines. *Inflamm Bowel Dis*. 2010;16(2):282–95.
328. 1000 Genomes Project Consortium, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Garrison EP, Kang HM, Korbel JO, i sur. A global reference for human genetic variation. *Nature*. 2015;526(7571):68-74.
329. Manuck TA, Lai Y, Meis PJ, Dombrowski MP, Sibai B, Spong CY, i sur. Progesterone receptor polymorphisms and clinical response to 17-alpha-hydroxyprogesterone caproate. *Am J Obstet Gynecol*. 2011;205(2):135.e1-9.
330. Kolanowska D, Kurzawińska G, Szpera-Goździewicz A, Malewski Z, Kamiński A, Sulikowski T, et al. Genetic Variants of Progesterone Receptor in Etiology of Preterm Delivery Martyna Kozłowska-Wytyk Holy Family Hospital in Poznan. 2021; doi: 10.21203/rs.3.rs-924874/v1.
331. Gabriel CA, Mitra N, Demichele A, Rebbeck T. Association of progesterone receptor gene (PGR) variants and breast cancer risk in African American women. *Breast Cancer Res Treat*. 2013;139(3):833–43.
332. Bustos ML, Caritis SN, Jablonski KA, Reddy UM, Sorokin Y, Manuck T, i sur. The association among cytochrome P450 3A, progesterone receptor polymorphisms, plasma 17-alpha hydroxyprogesterone caproate concentrations, and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;217(3):369.e1-369.e9.
333. Kelada SN, Eaton DL, Wang SS, Rothman NR, Khoury MJ. The role of genetic polymorphisms in environmental health. *Environ Health Perspect*. 2003;111(8):1055.
334. Fuchs F, Monet B, Ducruet T, Chaillet N, Audibert F. Effect of maternal age on the risk of preterm birth: A large cohort study. *Obstet Gynecol Surv*. 2018;73(6):340–2.
335. Lawlor DA, Mortensen L, Andersen AMN. Mechanisms underlying the associations of maternal age with adverse perinatal outcomes: a sibling study of 264 695 Danish women and their firstborn offspring. *Int J Epidemiol*. 2011;40(5):1205–14.
336. Zeitlin J, Saurel-Cubizolles MJ, de Mouzon J, Rivera L, Ancel PY, Blondel B, i sur. Fetal sex and preterm birth: Are males at greater risk? *Hum Reprod*. 2002;17(10):2762–8.
337. Vatten LJ, Skjærven R. Offspring sex and pregnancy outcome by length of gestation. *Early Hum Dev*. 2004;76(1):47–54.

## 10. Literatura

338. Challis J, Newnham J, Petraglia F, Yeganegi M, Bocking A. Fetal sex and preterm birth. *Placenta*. 2013;34(2):95–9.
339. Bry K, Teramo K, Lappalainen U, Waffarn F, Hallman M. Interleukin-1 receptor antagonist in the fetomaternal compartment. *Acta Pædiatrica*. 1995;84(3):233–6.
340. Koleck TA, Bender CM, Clark BZ, Ryan CM, Ghotkar P, Brufsky A, i sur. Breast Cancer-Targets and Therapy Dovepress An exploratory study of host polymorphisms in genes that clinically characterize breast cancer tumors and pretreatment cognitive performance in breast cancer survivors. *Breast Cancer (Dove Med Press)*. 2017;9:95-110.
341. Szymusik I, Bartnik P, Wypych K, Kolackowska H, Kosinska-Kaczynska K, Wielgos M. The association of first trimester bleeding with preterm delivery. *J Perinat Med*. 2015;43(5):525–9.
342. Lykke JA, Dideriksen KL, Lidegaard Ø, Langhoff-Roos J. First-trimester vaginal bleeding and complications later in pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2010;115(5):935–44.
343. Lockwood CJ, Kayisli UA, Stocco C, Murk W, Vatandaslar E, Buchwalder LF, i sur. Abruption-induced preterm delivery is associated with thrombin-mediated functional progesterone withdrawal in decidual cells. *Am J Pathol*. 2012;181(6):2138-48.
344. Lockwood CJ, Stocco C, Murk W, Kayisli UA, Funai EF, Schatz F. Human labor is associated with reduced decidual cell expression of progesterone, but not glucocorticoid, receptors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(5):2271-5.
345. Koire A, Chu DM, Aagaard K. Family history is a predictor of current preterm birth. *Am J Obstet Gynecol MFM*. 2021;3(1):100277.
346. Boivin A, Luo ZC, Audibert F, Mâsse B, Lefebvre F, Tessier R, i sur. Risk for preterm and very preterm delivery in women who were born preterm. *Obstet Gynecol*. 2015;125(5):1177-84.
347. Macones GA, Parry S, Elkousy M, Clothier B, Ural SH, Strauss JF. A polymorphism in the promoter region of TNF and bacterial vaginosis: preliminary evidence of gene-environment interaction in the etiology of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;190(6):1504–8.
348. Crawford DC, Nickerson DA. Definition and clinical importance of haplotypes. *Annual Review of Medicine*. 2005;56:303–20.
349. Gilbert-Diamond D, Moore JH. Analysis of gene-gene interactions. *Curr Protoc Hum Genet*. 2011;70:1.14.1.-1.14.12.
350. Boucher B, Jenna S. Genetic interaction networks: Better understand to better predict. *Front Genet*. 2013;4:290.
351. Romero R, Velez Edwards DR, Kusanovic JP, Hassan SS, Mazaki-Tovi S, Vaisbuch E, i sur. Identification of fetal and maternal single nucleotide polymorphisms in candidate genes that predispose to spontaneous preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;202(5):431.e1-431.e34.
352. Ribeiro B, Ramos A, Guimarães Da Silva M. The Burden of Genetic and Epigenetic Traits in Prematurity. *Reprod Sci*. 2018;25(4):471–9.

## 10. Literatura

353. Winham SJ, Biernacka JM. Gene-environment interactions in genome-wide association studies: Current approaches and new directions. *J. Child Psychol Psychiatry Allied Discip.* 2013;54(10):1120–34.
354. Zhou F, Zhou H, Li T, Zhu H. Analysis of Secondary Phenotypes in Multi-group Association Studies. *Biometrics.* 2020;76(2):606.
355. He J, Li H, Edmondson AC, Rader DJ, Li M. Advance Access publication on. *Biostatistics.* 2011;13(3):497–508.

## 11. Životopis

### OPĆI PODACI:

**Ime i prezime:** Mirta Kadivnik

**Datum i mjesto rođenja:** 14. ožujka 1979., Vinkovci

**Adresa:** Gornjodravaska obala 90a, 31000 Osijek

e-mail: [mirta.kadivnik@gmail.com](mailto:mirta.kadivnik@gmail.com); [mirta.kadivnik@mefos.hr](mailto:mirta.kadivnik@mefos.hr)

**Telefon:** +385989348249

### OBRAZOVANJE

**travanj 2017.:** položen ispit iz uže specijalizacije, fetalne medicine

**travanj 2015. – travanj 2017.:** usavršavanje iz uže specijalizacije fetalne medicine

**16. studenog 2012. – danas:** Poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo, Medicinski fakultet u Osijeku

**20. rujna 2010.:** položen specijalistički ispit iz ginekologije i porodništva

**ožujak 2006. – rujna 2010.:** usavršavanje iz specijalizacije ginekologije i porodništva

**prosinač 2004.:** položen stručni i državni ispit

**listopad 1997. – listopad 2003.:** studij medicine, Medicinski fakultet u Osijeku, Sveučilište u Zagrebu

**rujan 1993. – lipanj 1997.:** Gimnazija M. A. Reljkovića u Vinkovcima, Prirodoslovno-matematički smjer

**rujan 1987. – lipanj 1991.:** Glazbena škola J. Runjanina u Vinkovcima, smjer violina

**rujan 1985. – lipanj 1993.:** Osnovna škola Ivana Mažuranića u Vinkovcima

### RADNO ISKUSTVO

**rujan 2018. – danas:** asistentica (naslovno suradničko zvanje asistenta) u znanstvenom području Biomedicina i zdravstvo, znanstveno polje kliničke medicinske znanosti (znanstvena grana ginekologija i opstetricija) na Medicinskome fakultetu u Osijeku, Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku

## 11. Životopis

**prosinac 2017. – danas:** voditeljica Odjela rađaoane i rodilišta na Klinici za ginekologiju i porodništvo KBC-a Osijek

**travanj 2017. – danas:** subspecijalistica fetalne medicine na Klinici za ginekologiju i porodništvo KBC-a Osijek

**16. veljače 2015. – danas:** specijalistica ginekologije i porodništva, Klinika za ginekologiju i porodništvo KBC-a Osijek

**20. rujna 2010. – 15. veljače 2015.:** specijalistica ginekologije i porodništva, Dom zdravlja Vinkovci

**1. ožujka 2006. – 19. rujna 2010.:** specijalizantica ginekologije i porodništva prema programu Ministarstva zdravlja

**1. siječnja 2005. – 28. veljače 2006.:** doktorica medicine, liječnica u Hitnoj medicinskoj pomoći Osječko-baranjske županije

**1. studenog 2004. – 31. listopada 2005.:** doktorica medicine, pripravnički staž, KBC Osijek

### **AKADEMSKO NAPREDOVANJE**

**2018. – danas:** asistentica (naslovno suradničko zvanje asistenta) u znanstvenom području Biomedicina i zdravstvo, znanstveno polje kliničke medicinske znanosti (znanstvena grana ginekologija i opstetricija) na Medicinskom fakultetu u sastavu Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku

### **ZNANSTVENO I STRUČNO USAVRŠAVANJE**

**2021.:** 14. Kongres europskog društva za ginekologiju (14th Congress of the European Society of Gynecology), 10. – 13. studenog 2021., Venecija, Italija

**2021.:** 5. izdanje kongresa ECIC (5th European Congress in Intrapartum Care), 27. – 29. svibnja 2021., virtualni događaj

**2020.:** 6. izdanje kongresa *Clinical Challenges in Labor and Delivery, a Virtual Experience*, 1. – 3. listopada 2020.

**2019.:** Izobrazba o postupku prikupljanja krvi iz pupkovine za Banku krvi iz pupkovine KBC-a Zagreb, 22. veljače 2019., Osijek

**2018.:** 26. Europski kongres Perinatalne medicine (ECPM - XXVI European Congress of Perinatal Medicine), 5. – 8. rujna 2018., St. Petersburg, Rusija

**2018.:** Tečaj prve kategorije: Dijabetes i trudnoća, 16. i 17. ožujka 2018., Medicinski fakultet u Zagrebu

## 11. Životopis

**2017.:** 13. Svjetski kongres Perinatalne medicine (13th World Congress of Perinatal Medicine), 26 do 29. listopada 2017., Beograd, Srbija

**2016.:** 4. Istočnoeuropski simpozij o slobodnoj DNA u neinvazivnoj prenatalnoj dijagnostici, 25. – 26. svibnja 2016., Split, Hrvatska

**2015.:** 16. poslijediplomski tečaj ginekološke endoskopije *Kurt Semm*, prosinac 2015., Zabok, Hrvatska

**2015.:** 3D/4D Visus ultrazvučni tečaj, 27. – 28. studenog 2015., Zagreb, Hrvatska

**2011.:** Poslijediplomski tečaj stalnog medicinskog usavršavanja *Hitna stanja u ginekologiji, opstetriciji i anesteziologiji*, listopad, Medicinski fakultet Zagreb, Zagreb, Hrvatska

**2008.:** Poslijediplomski tečaj stalnoga medicinskoga usavršavanja *Ultrazvuk u ginekologiji i porodništvu*, veljača, Medicinski fakultet Zagreb, Zagreb, Hrvatska

**2004.:** *EMSA Summer School – Emergency Medicine*, 15. – 23. srpnja 2004., Dubrovnik, Hrvatska

### **OSTALE ZNANSTVENE I STRUČNE AKTIVNOSTI**

**2020.:** gostujuća voditeljica radionice interdisciplinarnoga simpozija *Stvari koje nismo smjeli reći... o seksualnosti*, veljača, Filozofski fakultet u Osijeku, Osijek, Hrvatska

**2019.:** XXXIII. Perinatalni dani *Ante Dražančić*, XXVII. Savjetovanje o perinatalnome mortalitetu u Republici Hrvatskoj, 11. – 13. listopada 2019., Osijek, Hrvatska; član lokalnog organizacijskoga odbora

### **ČLANSTVO U ZNANSTVENIM I STRUČNIM DRUŠTVIMA:**

Hrvatska liječnička komora – članica

Hrvatski liječnički sindikat – članica

Hrvatski liječnički zbor – članica

Hrvatsko društvo za perinatalnu medicinu – članica

**2002. – 2004.** EMSA (Europsko udruženje studenata medicine)

**2002. – 2004.** SHLZ (Studentski hrvatski liječnički zbor)

### **OSTALA ČLANSTVA:**

**2004. – danas:** članica Hrvatskog pjevačkog društva „Lipa“



**PUBLIKACIJE:**

1. **Kadivnik M**, Muller A, Milić Vranješ I, Šijanović S, Wagner J. PROGINS mutation of progesterone receptors and its role in premature birth – an overview. *SEEMEDJ* 2017; 1(2); 55-70.
2. **Kadivnik M**, Debeljak Ž, Mandić D, Wagner J, Kralik K, Šijanović S, Muller A, Šerić V. Requirement for oxytocin augmentation in spontaneous parturition is associated with the maternal serum steroid hormones assessed by liquid chromatography coupled to the tandem mass spectrometry. *J Obstet Gynaecol Res* 2021;47(7):2347-2355.
3. **Kadivnik M**, Milić Vranješ I, Košuta Petrović M, Teodosić A, Lončar G, Kralik K. The influence of maternal and foetal factors on the success of medically induced labour. *Med Flum* 2021;57(3):275-282.
4. Omazić J, Viljetić B, Ivić B, **Kadivnik M**, Zibar L, Müller A, Wagner J. Early markers of gestational diabetes mellitus: what we know and which way forward? *Biochem Med (Zagreb)* 2021;31(3):030502
5. **Kadivnik, M**, Kralik, K, Muller-Vranješ, A, Vučemilović-Jurić, V, Šijanović, S and Wagner, J. (2022), Progesterone receptor genetic variants in pregnant women and fetuses as possible predictors of spontaneous premature birth: A preliminary case–control study. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* <https://doi.org/10.1111/jog.15194>

**KONGRESNA PRIOPĆENJA (recentna):**

1. Bauman R., **Kadivnik M.**, Turudić T., Opstetrički ishod u trudnica koje su zanijele nekom od metoda medicinski potpomognute oplodnje//*Gynecologia et Perinatologia*, Zbornik radova, Split, Hrvatska: HLZ, 2010. str. 152-153.
2. **Kadivnik M.**, Košuta Petrović M., Milić Vranješ I., Lončar G., Špika Miljanović I.,Rubin M., Muller A., Farmakološka indukcija porođaja – iskustva na Klinici za ginekologiju i porodništvo KBC-a Osijek u periodu od 2012.-2016., *Gyanaecol Perinatol*, Zbornik radova, Opatija, Hrvatska: 2017.; 26 (Suppl.2): S103-S124.
3. **Kadivnik M.**, Milić Vranješ I., Košuta Petrović M., Kardum D., Teodosić A., Metzger A, Muller A., Rubin M., Wagner Kostadinović J., The role of neuroprophylaxis in preterm birth, *J. Perinatal Med.* 2019. 47., (Suppl).
4. **Kadivnik M.**, Milić Vranješ I., Košuta Petrović M., Kardum D., Teodosić A., Metzger A, Muller A., Rubin M., Wagner Kostadinović J., Uloga neuroprofilakse u prijevremenom porodu ; *Gyanaecol Perinatol* 2019.; 28 ( Supp.2): S103-S117

11. Životopis

5. **Kadivnik M.**, Milić Vranješ I., Košuta Petrović M., Muller A., Kralik K., Arvaj N.,Bebek D., Krstanović I., Šijanović S.,Wagner J. Role of progesterone receptor gene variations in preterm birth; *J. Perinatal Med.* 2019., 47., (Suppl).
6. **Kadivnik, M.**; Kralik, K.; Wagner, J.. Progesterone receptor gene variants in mothers and fetuses as possible predictors of spontaneous premature birth // *Venice, Italy, 2021., Book of abstracts of 14° Congress of the European Society of Gynecology; 2021., p. 48-49*