

TENILSON AMARAL OLIVEIRA¹
DANIELLE RENZONI DA CUNHA²
ADRIANA POLICASTRO³
ÉVELYN TRAINA⁴
MARIANO TAMURA GOMES⁵
EDUARDO CORDIOLI⁶

Polimorfismo do receptor de progesterona como fator de risco para o parto prematuro

The progesterone receptor gene polymorphism as factor of risk for the preterm delivery

Artigo original

Palavras-chave

Gravidez de alto risco
Trabalho de parto prematuro
Receptores de progesterona
Polimorfismo genético

Keywords

Pregnancy, high-risk
Obstetric labor, premature
Receptors, progesterone
Polymorphism, genetic

Resumo

OBJETIVO: investigar a associação entre o polimorfismo do gene do receptor da progesterona (PROGINS) e o risco de parto prematuro. **MÉTODOS:** estudo caso-controle, para o qual foram selecionadas 57 pacientes com antecedente de parto prematuro (Grupo Caso) e 57 pacientes com parto a termo na gravidez atual e sem antecedentes de parto prematuro (Grupo Controle). Foi realizada a coleta de 10 mL de sangue por venopunção de veia periférica para extração de DNA. As genotipagens foram feitas por reação em cadeia de polimerase (PCR) nas condições de ciclagem específicas para o polimorfismo em estudo seguida de eletroforese em gel de agarose a 2%. Foram determinados três genótipos: selvagem (T1/T1), heterozigoto (T1/T2) e mutado (T2/T2). As frequências genotípicas e alélicas dos dois grupos foram comparadas pelo teste do χ^2 adotando-se, com o nível de significância, valor $p < 0,05$. Calculou-se ainda o Odds Ratio (OR, razão de chances) com intervalos de confiança de 95% (IC95%). **RESULTADOS:** as frequências genotípicas do alelo selvagem (T1) e alelo mutante (T2) encontradas para o polimorfismo PROGINS foram de 75,4% T1/T1, 22,8% T1/T2 e 1,8% T2/T2 no Grupo com parto pré-termo e 80,7% T1/T1, 19,3% T1/T2 e 0% T2/T2 no Grupo com parto a termo. Não houve diferenças entre os grupos, analisando-se as frequências genotípicas e alélicas: $p = 0,4$ (OR=0,7) e $p = 0,4$ (OR=0,7). **CONCLUSÕES:** o presente estudo sugere que a presença do polimorfismo PROGINS em nossa população não está associado ao risco de parto prematuro.

Abstract

PURPOSE: to investigate the association between gene polymorphism of the progesterone receptor (PROGINS) and the risk of premature birth. **METHODS:** In this case-control study, 57 women with previous premature delivery (Case Group) and 57 patients with delivery at term in the current pregnancy and no history of preterm delivery (Control Group) were selected. A 10 mL amount of peripheral blood was collected by venipuncture and genomic DNA was extracted followed by the polymerase chain reaction (PCR) under specific conditions for this polymorphism and 2% agarose gel electrophoresis. The bands were visualized with an ultraviolet light transilluminator. Genotype and allele PROGINS frequencies were compared between the two groups by the χ^2 test, with the level of significance set at value $p < 0.05$. The Odds Ratio (OR) was also used, with 95% confidence intervals. **RESULTS:** PROGINS genotypic frequencies were 75.4% T1/T1, 22.8% T1/T2 and 1.8% T2/T2 in the Group with Preterm Delivery and 80.7% T1/T1, 19.3% T1/T2 and 0% T2/T2 in the term Delivery Group. There were no differences between groups when genotype and allele frequencies were analyzed: $p = 0.4$ (OR=0.7) and $p = 0.4$ (OR=0.7). **CONCLUSIONS:** the present study suggests that the presence of PROGINS polymorphism in our population does not constitute a risk factor for premature birth.

Correspondência:

Tenilson Amaral Oliveira
Avenida Celso Garcia, 2.477 – Belenzinho
CEP: 03015-000 – São Paulo (SP), Brasil
E-mail: tenilson@vol.com.br

Recebido

06/06/2011

Aceito com modificações

20/06/2011

Hospital Israelita Albert Einstein – HIAE - São Paulo (SP), Brasil; Maternidade Leonor Mendes de Barros – São Paulo (SP), Brasil.

¹ Diretor do Serviço de Obstetrícia do Hospital Leonor Mendes de Barros – São Paulo (SP), Brasil.

² Pesquisadora do Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein – IIEPAE – São Paulo (SP), Brasil.

³ Coordenadora da Enfermagem da Maternidade do Hospital Israelita Albert Einstein – HIAE – São Paulo (SP), Brasil.

⁴ Médica do Departamento Materno Infantil do Hospital Israelita Albert Einstein – HIAE – São Paulo (SP), Brasil.

⁵ Médico do Departamento Materno Infantil do Hospital Israelita Albert Einstein – HIAE – São Paulo (SP), Brasil.

⁶ Coordenador da Maternidade do Departamento Materno Infantil do Hospital Israelita Albert Einstein – HIAE – São Paulo (SP), Brasil.

Introdução

O parto prematuro é a principal causa de morbidade e mortalidade perinatal em todo o mundo¹. Em nosso meio, a prematuridade responde por cerca de 70% das mortes neonatais² e por aproximadamente 8% de recém-nascidos com muito baixo peso no Estado de São Paulo².

A prematuridade pode acontecer espontaneamente, decorrente do trabalho de parto prematuro (TPP), propriamente dito, ou eletivamente devido a complicações maternas e fetais que levam à inevitável interrupção da gravidez antes da 37ª semana. Entre 70% e 80% dos partos pré-termo são espontâneos. A prevenção da prematuridade eletiva exige a prevenção e/ou tratamento da pré-eclâmpsia, diabetes e outras doenças que levam à antecipação do parto. A prevenção do parto prematuro espontâneo, por sua vez, é um dos principais desafios do obstetra na assistência pré-natal³.

A incidência de prematuridade em relação às grávidas que tiveram o parto a termo é cerca de três vezes maior se o primeiro parto foi prematuro. Aproximadamente um terço das gestantes tem prematuridade em gravidez subsequente a dois partos prematuros. Os fatores de risco, entretanto, não permitiram, até o momento, obter uma redução acentuada na incidência do parto pré-termo³.

A progesterona é essencial para a manutenção da gravidez, porém o seu papel no mecanismo de controle da parturição continua incerto, pois não há demonstrações sobre a redução sérica da progesterona no momento do parto como ocorre em outros mamíferos. Contudo, o uso de 17- α -hidroxiprogesterona tem sido efetivo em prolongar a gestação em pacientes com parto prematuro prévio⁴⁻⁷, mostrando que o conceito de queda do bloqueio da progesterona no momento do parto permanece fundamental no mecanismo da parturição humana⁸.

Diferentes versões de uma certa sequência de DNA em um determinado local cromossômico (*locus*) são chamados de alelos. A coexistência de alelos múltiplos em um *locus* é chamada de polimorfismo genético. Qualquer sítio no qual existam alelos múltiplos como componentes estáveis da população é, por definição, polimórfico. Um alelo é geralmente definido =polimórfico se estiver presente em uma frequência maior que 1% na população⁸. Dentre os polimorfismos conhecidos, destaca-se o PROGINS, que consiste em uma inserção da família *Alu*, de 306 pares de bases (pb), no intron G, entre os exons 7 e 8 dos genes dos receptores de progesterona (região codificadora do domínio de ligação hormonal), frequentemente somada a duas mutações adicionais – substituição de uma base guanina (G) por timina (T) no exon 4, levando à troca de um aminoácido valina (Val) por leucina (Leu) no receptor, e substituição de uma base citosina (C) por timina (T) no exon 5⁹. Romano et al.¹⁰

observaram alterações fenotípicas decorrentes dos polimorfismos do gene do receptor de progesterona, sugerindo que esta inserção *Alu* seria responsável por alterações na transcrição do gene desse receptor, tanto por recombinação ou por alteração no *splicing* do transcrito primário. Pouco é conhecido, contudo, sobre as consequências funcionais desse polimorfismo sobre a parturição. Por outro lado, vários autores¹¹⁻¹⁴ mostraram que essa variante apresenta reduzida quantidade de transcrição gênica e decréscimo em sua atividade protéica, o que pode representar uma “redução funcional” da atividade da progesterona no mecanismo da parturição humana, com aumento da contratilidade uterina e risco de ocorrência de parto prematuro. Alguns autores¹⁵⁻¹⁷ encontraram associação com endometriose, câncer de mama e mioma uterino, sugerindo que a mudança do receptor causada pelo PROGINS pode afetar o sítio de ligação hormonal e, conseqüentemente, levar ao controle inadequado da proliferação estrogênica. Caso o polimorfismo PROGINS seja identificado predominantemente em gestantes com antecedentes de parto prematuro, isso pode constituir importante fator a ser analisado quanto ao seu papel na etiologia e terapêutica do parto prematuro. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar se presença da variante polimórfica PROGINS constitui um fator de risco para o parto prematuro.

Métodos

O estudo é do tipo observacional, de caso-controle, no qual analisamos dois grupos: mulheres com partos prematuros espontâneos anteriores ou na gestação atual e mulheres com gestação a termo. O estudo foi realizado no Hospital Leonor Mendes de Barros, onde as pacientes foram selecionadas entre a população de gestantes e puérperas atendidas na maternidade entre julho de 2008 e julho de 2010. O material coletado foi enviado para análise no Centro de Pesquisa Experimental do Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa. Todas as amostras foram coletadas no momento da entrevista da paciente, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Em seguida, as amostras foram refrigeradas para serem encaminhadas ao laboratório do Centro de Pesquisa Experimental do Hospital Israelita Albert Einstein (IIEPAE).

A idade gestacional das participantes do estudo foi determinada a partir da última menstruação, confirmada por ultrassonografia precoce (até a 20ª semana). Foram constituídos dois grupos de mulheres: pacientes com parto prematuro espontâneo em gestação anterior ou atual e pacientes com parto a termo na gravidez atual, sem antecedentes de parto prematuro. Foram excluídas as gestantes que apresentavam prematuridade eletiva,

malformações fetais, síndromes hipertensivas, diabetes gestacional, placenta prévia, incompetência istmo-cervical, gestação múltipla, malformações uterinas, polidrâmio ou oligoâmio,

O DNA genômico das pacientes foi obtido por meio de coleta de 10 mL de sangue, por venopunção de veia periférica, em tubos com EDTA. No laboratório, os frascos contendo o material coletado foram centrifugados a 2.000 rpm por 5 minutos; o sobrenadante foi descartado e o *pellet* formado, contendo as células polimorfonucleares, foi destinado à extração do DNA genômico utilizando-se o kit *GFX™ Genomic DNA Purification kit (GE Healthcare)*, seguindo as recomendações do fornecedor. O DNA genômico purificado foi mantido à temperatura de -20°C até a amplificação por PCR.

As amplificações do PCR foram realizadas sob condições padrão para PCR. As condições de ciclagem foram: desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos e 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento a 55°C por 1 minuto, polimerização a 72°C por 1 minuto seguido de uma extensão final a 72°C por 7 minutos. As seguintes seqüências de oligonucleotídeos foram utilizadas para a amplificação da região que contém o polimorfismo PROGINS no intron G do gene do receptor de progesterona: 5'-GGC AGA AAG CAA AAT AAA AAG A-3' (*primer 5'*) e 5'-AAA GTA TTT TCT TGC TAA ATG TC-3' (*primer 3'*). A amplificação da região do gene do receptor da progesterona gera dois produtos de PCR distintos. Um, denominado T1, de 149 pb, se refere ao alelo selvagem, ou seja, sem inserção Alu, e outro mutante, denominado T2, de 455 pb, resultado da inserção de 306 pb no intron G do gene do receptor. Desta forma, ao analisarmos os dois alelos, cada paciente pode ser considerada homocigota para a forma selvagem, heterocigota, contendo um alelo de cada tipo (T1/T2) ou ainda homocigota para o alelo T2.

O teste de Equilíbrio de Hardy-Weinberg foi aplicado calculando-se as frequências esperadas para cada genótipo e comparando-as com os valores observados. O teste de χ^2 foi usado para comparação de dados categóricos de cada grupo, adotando-se como nível de significância 5% ($p < 0,05$). Diferenças entre médias de dados demográficos e resultados perinatais foram testadas utilizando-se o teste *t* de Student. Para a análise do polimorfismo PROGINS, os genótipos PROGINS positivos – heterocigoto (T1/T2) e homocigoto mutante (T2/T2) – foram somados para a realização dos testes estatísticos em comparação com o genótipo PROGINS negativo – homocigoto selvagem (T1/T1). Foi calculada a razão de chances (OR) com intervalos de confiança de 95% para medir a associação entre as frequências alélicas e genotípicas e o parto prematuro. A análise foi realizada segundo o pacote estatístico SPSS (Statistical Package for Social Science).

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Israelita Albert Einstein e do Hospital Maternidade Leonor Mendes de Barros.

Resultados

As características demográficas das 114 pacientes, divididas entre o Grupo de Estudo (pré-termo) e o Grupo Controle (a termo), são mostradas na Tabela 1. Houve diferenças significantes em relação à idade gestacional do parto entre ambos os grupos, o que não ocorreu em relação à classificação por cor de pele, idade materna e paridade.

Não foram encontradas diferenças significantes entre os dois grupos quanto à frequência dos genótipos e alelos do polimorfismo PROGINS (Tabela 2). Houve dois óbitos neonatais no grupo de recém-nascidos prematuros e nenhum no grupo a termo. A via de parto predominante foi vaginal nos dois grupos, sem diferenças significativas. O peso médio dos recém-nascidos, assim como a média de dias de internação deles, foi estatisticamente diferente em ambos os grupos (Tabela 3).

Tabela 1 - Características demográficas das mulheres dos grupos de parto pré-termo (estudo) e termo (controle)

Características	Pré-termo (n = 57)	Termo (n = 57)	Valor p
Cor branca	42,0 (73,7%)	38,0 (66,7%)	0,400
Idade materna (anos)	25,8±6,9	27,8±7,7	0,100
Idade gestacional do parto (sem)	32,6±3,0	39,3±1,2	<0,001
Multiparas	31,0 (54,4%)	26,0 (45,6%)	0,300
Multiparas	26,0 (45,6%)	31,0 (54,4%)	

Tabela 2 - Distribuição dos genótipos dos receptores de progesterona quanto ao polimorfismo PROGINS em pacientes com parto pré-termo (estudo) e termo (controle)

Genótipos /Alelos	Parto pré-termo n=57	Parto a termo n=57	Valor p	OR (IC 95%)
T1/T1	43 (75,4%)	46 (80,7%)		
T1/T2	13 (22,8%)	11 (19,3%)		
T2/T2	1 (1,8%)	0 (0,0%)		
T1/T1 x (T1/T2 + T2/T2)			0,4	0,7 (0,2-1,9)
T1	99 (86,8%)	103 (90,4%)		
T2	15 (13,2%)	11 (9,6%)	0,4	0,7 (0,2-1,7)

Tabela 3 - Resultados perinatais dos grupos de parto pré-termo (estudo) e termo (controle)

Características	Pré-termo	Termo	Valor p
Parto vaginal	39,0 (68,4%)	35,0 (61,4%)	0,400
Parto cesárea	18,0 (31,6%)	22,0 (38,6%)	
Peso de nascimento	2.090,0±675,0	3.336,0±411,0	<0,001
Óbito neonatal	2,0	0,0	0,200
Dias de internação da mãe	2,7±1,0	2,5±0,5	0,300
Dias de internação do RN*	16,9±19,3	2,1±0,3	<0,001

* RN= recém-nascido

Discussão

A identificação dos mecanismos que impedem o início das contrações uterinas e o desencadeamento do parto prematuro é de suma importância, tendo em vista as dificuldades encontradas para o sucesso da tocolise, com o uso de medicamentos atualmente disponíveis. Esses medicamentos são pouco efetivos em prolongar a gravidez e, mesmo quando conseguem bloquear o trabalho de parto, o fazem por poucos dias¹⁸. Nesse caso, têm-se utilizado a corticoterapia para melhorar a sobrevivência dos recém-nascidos prematuros. Apesar disso, a mortalidade e a morbidade perinatal são superiores no Grupo de Recém-nascidos pré-termo, como ocorreu neste estudo.

Não encontramos associação entre PROGINS e a ocorrência de parto prematuro. Outros autores^{19,20}, que analisaram intercorrências obstétricas como abortamentos de repetição, também não verificaram correlação com o polimorfismo. As frequências genotípicas encontradas neste estudo estão em concordância com os demais trabalhos, inclusive na população brasileira. Três publicações avaliaram a associação entre variação genética no receptor de progesterona fetal e materno e a ocorrência de parto prematuro. Ehn et al.²¹ associaram o alelo PROGINS com o parto prematuro. Por outro lado, Guoyang et al.²² e Diaz-Cueto et al.²³, que pesquisaram a presença do alelo PROGINS nas mães e material placentário, respectivamente, não encontraram essa associação. No estudo de Ehn et al.²¹, o material obtido dos recém-nascidos e das mães mostrou que a modulação da expressão de receptores de progesterona na gravidez depende de vários fatores, relacionados à presença das duas isoformas desses receptores (PR-A e PR-b) nas membranas fetais, cuja predominância, no caso de PR-A, pode iniciar ou modular o bloqueio da progesterona e estimular o início do trabalho de parto. Os autores encontraram outros três polimorfismos de nucleotídeo único em desequilíbrio de ligação com o PROGINS, indicando que diferentes variantes polimórficas podem fazer parte dos mecanismos desencadeadores do parto prematuro.

A interação genética-ambiente pode se associar à suscetibilidade genética, interferindo na expressão gênica do receptor da progesterona. A raça, idade das

pacientes e a paridade foram variáveis controladas em nosso trabalho. Contudo, outros fatores ambientais não foram analisados, como a vaginose bacteriana, cuja presença, mesmo assintomática, em mulheres que apresentam variantes polimórficas em genes que controlam a resposta inflamatória foi associada ao risco de parto prematuro²⁴. Devemos analisar também as diferenças étnicas da população entre os diversos estudos. Os resultados obtidos por Diaz-Cueto et al.²³ na população mexicana mostraram que a presença de genótipos e os alelos foram muito próximos aos nossos. Os autores encontraram 79,6% para o genótipo T1/T1 e 89,8% para o alelo T1 (alelo selvagem) no Grupo a Termo e 73,3% de T1/T1 e 86,7% para o alelo T1 no Grupo Pré-termo. Apesar da miscigenação da nossa população, com forte influência africana e indígena²⁵, a frequência genotípica foi semelhante a encontrada na população hispânica. A frequência do alelo T2 (alelo mutante) do PROGINS em nosso estudo (13,2%) também foi próxima à encontrada nessa população (11,8%), porém menor que a da população branca americana (20,8%) e maior em relação às afro-americanas (2,1%)²⁶.

Devido à falta de análise da interação genética-ambiental em portadoras do polimorfismo PROGINS e do papel que diferentes polimorfismos associados podem eventualmente desempenhar no desencadeamento do trabalho de parto prematuro, não é possível excluir a questão genética na etiologia dessa patologia. Porém, este estudo sugere que a pesquisa isolada do polimorfismo PROGINS em nossa população não é necessária, pois não demonstramos associação entre o polimorfismo PROGINS e a ocorrência de parto prematuro. Provavelmente outros fatores, associados ou não à variação genética, são responsáveis pelo parto prematuro.

Agradecimentos

Ao Hospital Leonor Mendes de Barros pela cessão das amostras e ao Hospital Israelita Albert Einstein pelo suporte laboratorial e financeiro. À Elizabeth de Sá Marton, Cristiane Silva Santos e Roseli Mieko Yamaguchi Canegusuco, enfermeiras da maternidade, pela colaboração no desenvolvimento do estudo.

Referências

1. Wen SW, Smith G, Yang Q, Walker M. Epidemiology of preterm birth and neonatal outcome. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2004;9(6):429-35.
2. Prefeitura de São Paulo. Secretaria Municipal da Saúde. Coordenação de Epidemiologia e Informação [Internet]. Sistema de Informação sobre Nascidos Vivos - SINASC. São Paulo; 2007 [citado 2011 Abr 14]. Disponível em: <http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/saude/informacoes_em_saude/index.php?p=6479>
3. Oliveira TA, Carvalho CMP, Souza E, Santos JFK, Guaré SO, Mariani-Neto C, et al. Avaliação do risco de parto prematuro: teste da fibronectina fetal e medida do colo uterino. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2000;22(10):633-9.
4. Fonseca EB, Bittar RE, Carvalho MH, Zugaib M. Prophylactic administration of progesterone by vaginal suppository to reduce the incidence of spontaneous preterm birth in women at increased risk: a randomized placebo-controlled double-blind study. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;188(2):419-24.

5. Meis PJ, Klebanoff M, Thom E, Dombrowski MP, Sibai B, Moawad AH, et al. Prevention of recurrent preterm delivery by 17 alpha-hydroxyprogesterone caproate. *N Engl J Med.* 2003;348(24):2379-85.
6. Mackenzie R, Walker M, Armson A, Hannah ME. Progesterone for the prevention of preterm birth among women at increased risk: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;194(5):1234-42.
7. Society for Maternal Fetal Medicine Publications Committee. ACOG Committee Opinion number 419 October 2008 (replaces n. 291, November 2003). Use of progesterone to reduce preterm birth. *Obstet Gynecol.* 2008;112(4):963-5.
8. Mesiano S. Myometrial progesterone responsiveness and the control of human parturition. *J Soc Gynecol Investig.* 2004;11(4):193-202.
9. Tong D, Fabjani G, Heinze G, Obermair A, Leodolter S, Zeillinger R. Analysis of the human progesterone receptor gene polymorphism PROGINS in Austrian ovarian carcinoma patients. *Int J Cancer.* 2001;95(6):394-7.
10. 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.
11. How H, Huang ZH, Zuo J, Lei ZM, Spinnato JA 2nd, Rao CV. Myometrial estradiol and progesterone receptor changes in preterm and term pregnancies. *Obstet Gynecol.* 1995;86(6):936-40.
12. Henderson D, Wilson T. Reduced binding of progesterone receptor to its nuclear response element after human labor onset. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;185(3):579-85.
13. Oh SY, Kim JC, Park I, Romero R, Sohn Y, Moon KC, et al. Progesterone receptor isoform (A/B) ratio of human fetal membranes increases during term parturition. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193(3 Pt 2):1156-60.
14. 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.
15. Wieser F, Schneeberger C, Tong D, Tempfer C, Huber JC, Wenzl R. PROGINS receptor gene polymorphism is associated with endometriosis. *Fertil Steril.* 2002;77(2):309-12.
16. Johnatty SE, Spurdle AB, Beesley J, Chen X, Hopper JL, Duffy DL, et al. Progesterone receptor polymorphisms and risk of breast cancer: results from two Australian breast cancer studies. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;109(1):91-9.
17. Gomes MT, Castro RA, Villanova FE, da Silva ID, Baracat EC, de Lima GR, et al. The progesterone receptor gene polymorphism, PROGINS, may be a factor related to the development of uterine fibroids. *Fertil Steril.* 2007;87(5):1116-21.
18. Berkman ND, Thorp JM Jr, Lohr KN, Carey TS, Hartmann KE, Gavin NI, et al. Tocolytic treatment for the management of preterm labor: a review of the evidence. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;188(6):1648-59.
19. Traina E, Daher S, Franchim CS, Fuziy JA, Moron AF, Banzato PC, et al. Polimorfismo do gene dos receptores de progesterona e o aborto espontâneo de repetição. *Rev Bras Ginecol. Obstet.* 2010;32(5):299-33.
20. Kurz C, Tempfer CB, Boeckscoer S, Unfried G, Nagele F, Hefler LA. The PROGINS progesterone receptor gene polymorphism and idiopathic recurrent miscarriage. *J Soc Gynecol Investig.* 2001;8(5):295-8.
21. 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.
22. Guoyang L, Morgan T, Bahtiyar MO, Snegovskikh VV, Schatz F, Kuczynski E, et al. Single nucleotide polymorphisms in the human progesterone receptor gene and spontaneous preterm birth. *Reprod Sci.* 2008;15(2):147-55.
23. 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 Gynaecol Obstet.* 2008;103(2):153-7.
24. Gómez LM, Sammel MD, Appleby DH, Elovitz MA, Baldwin DA, Jeffcoat MK, et al. Evidence of a gene-environment interaction that predisposes to spontaneous preterm birth: a role for asymptomatic bacterial vaginosis and DNA variants in genes that control the inflammatory response. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(4):386.e1-6.
25. Ferreira LB, Mendes-Junior CT, Wiezel CE, Luizson MR, Simões AL. Genomic ancestry of a sample population from the state of São Paulo, Brazil. *Am J Hum Biol.* 2006;18(5):702-5.
26. Donaldson CJ, Crapanzano JP, Watson JC, Levine EA, Batzer MA. PROGINS Alu insertion and human genomic diversity. *Mutat Res.* 2002;501(1-2):137-41.