

Імуноцитохімічна детекція експресії p53 та bcl-2 у пацієнтів з новоутворами товстої кишки, які мають спадково обтяжений анамнез за цими захворюваннями показала значне підвищення цих показників порівняно з контрольними. В результаті проведених досліджень виявлено збільшення експресії CD95 у пацієнтів з новоутворами товстої кишки, які мають спадково обтяжений анамнез за цими захворюваннями..

Имуноцитохимическая детекция экспрессии p53 и bcl-2 у пациентов с новообразованиями толстой кишки, которые имеют наследственно отягощенный анамнез по этому заболеванию, показала увеличение этих показателей по сравнению с нормой. В результате проведенных исследований выявлено увеличение экспрессии CD95 с данным заболеванием.

It was carried out the evaluation of expression of p53, bcl-2 and CD95, using immunocytochemical method in patients with neoplasia of large bowel that have relatives with the same oncopathology in anamnesis. The obtained results showed the increased expression of p53, bcl-2 and CD95 in these patients, comparing with the control group.

ТЕРПИЛЯК О.І.

ДУ Інститут спадкової патології АМН України

Україна, 79000, м. Львів, вул.М.Лисенка, 31а, e-mail:root@ihp.lviv.ua

РОЗПОДІЛ ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ SNP –1082 G →A ПРОМОТОРНОЇ ДІЛЯНКИ ГЕНА ІЛ–10 ПРИ ВТОРИННОМУ НЕПЛІДДІ

Непліддя це проблема, яка торкається 15% подружніх пар. Причини непліддя – різноманітні і до кінця не з'ясовані. Серед причин непліддя найбільш загадковою є «поведінка» імунітету. Більше того, цілий ряд авторів взагалі вважають, що втрата плоду на ранніх термінах вагітності (вторинне непліддя) має переважно імунну етіологію і базується на зсуві функціонального балансу Т–лімфоцитів–хелперів в бік клітин 1–го типу [1, 2, 3, 4, 5].

Відомо, що реалізація схильності організму до того, чи іншого захворювання відбувається при виключній участі генів імунорегуляторних структур, найбільш визнаними серед яких є цитокіни. Особливий інтерес викликає протизапальний цитокін інтерлейкін–10 (ІЛ–10). Він є одним з найважливіших регуляторних цитокінів, який в значній мірі визначає напрямок імунної відповіді: під впливом ІЛ–10 пригнічується клітинний імунітет, який регулюється Т–хелперами 1–го типу і стимулюється гуморальна відповідь з участю Т–хелперів 2–го типу, що власне і є необхідною умовою нормального протікання вагітності [5, 6]. Промоторна ділянка гена ІЛ–10 (пІЛ–10) містить ряд крапкових нуклеотидних варіацій, які відповідають за високу/низьку експресію ІЛ–10, ці ж SNP (single nucleotide polymorphism) формують алелі схильності до ряду захворювань. Найбільш дослідженими є SNP –1082 G →A, –819 T→C та –592 A→C [7], і зокрема показано, що генотип “високої” експресії –1082 GG асоціюється з мимовільними викиднями [8].

Отже, виходячи з вище сказаного, метою роботи було вивчення особливостей розподілу поліморфних варіантів SNP –1082 G →A промоторної ділянки гена ІЛ–10 в групі подружніх пар з вторинним непліддям, зумовленим мимовільними викиднями.

Матеріали і методи

Матеріалом дослідження служила ДНК, виділена з периферичної крові подружніх пар з вторинним непліддям (ВН). Обстежено 35 індивідів (21 жінка і 14 чоловіків, що склали групу подружніх пар) з вторинним непліддям, в анамнезі котрих було 2–а і більше мимовільних викидні у І триместрі вагітності. Контроль складала 73 практично здорові індивіди із здоровими дітьми.

Досліджувану промоторну ділянку гена ІЛ-10, що містить SNP 1082-G→A ампліфікували за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) згідно методу, описаного Giordani L. et al. [9] з використанням реактивів “МВІ Fermentas”. Детекцію SNP – 1082 G→A проводили методом ПДРФ з використанням ендонуклеази рестрикції Eam1401 (“МВІ Fermentas”) згідно інструкцій фірми-виробника. Фрагменти ПЛР-продукту, отримані методом ПДРФ, розділяли у агарозному гелі (3%, 0,5 мг бромистого етидію).

Отримані дані піддавались обробці методами варіаційної статистики: визначали критерій Пірсона χ^2 . [10].

Результати та обговорення

В процесі роботи вивчали розподіл та частоти алелей низької (А) та високої (G) експресії гена ІЛ-10 та генотипів, які вони формують (AA, GG, AG) в групі подружніх пар з ВН. Отримані результати, які представлені в таблиці 1, засвідчили, що співвідношення частот А– та G– алелей становило 27 : 43 (в абсолютних значеннях), або 38,6% до 61,4% алелей. Таким чином, обстежувана група подружніх пар з вторинним непліддям характеризується суттєво підвищеною частотою алелі G (61,4%) SNP –1082 G→A, тобто алелі високої експресії гена ІЛ-10 в порівнянні з алеллю А (38,6%) – низька експресія гена ІЛ-10. Слід зазначити, що ці дані діаметрально протилежно відрізняються від показників контрольної групи, де підвищена частота належала алелі А (55%), а алель G характеризувалася заниженою частотою (45%). Оцінювання вірогідності відмінностей показників контрольної групи від обстежуваної групи з ВН підтвердили статистично вірогідну різницю при розподілі частот алелей в групі з ВН, а саме, зниження частоти алелі А та підвищення частоти G – алелі ($\chi^2=4.98, p<0,05$).

Таблиця 1

Розподіл та частота SNP –1082 G→A пІЛ-10 у групі подружніх пар з ВН

№ п/п	Алелі	Контрольна група (73 особи, 146 алелей)		Подружні пари з ВН (35 осіб, 70 алелей)		χ^2	p
		Абсолютні значення	%	Абсолютні значення	%		
1.	A	80	55	27	38,6	4,98	<0,05
2.	G	66	45	43	61,4	4,98	<0,05

Далі було проведено аналіз розподілу та встановлення частоти генотипів SNP – 1082 G→A пІЛ-10. Результати представлені в таблиці 2. Як видно, в обстежених осіб з групи подружніх пар з вторинним непліддям з найвищою частотою (45,7%) зустрічається генотип високої експресії гена ІЛ-10, а саме GG-генотип. Генотип низької експресії гена ІЛ-10, тобто AA-генотип, зустрічається з частотою 22,9%, а частота генотипу нормальної експресії (AG-генотип) становить 31,6%. Отже, генотип низької експресії характеризується найнижчою частотою. Що ж стосується контрольних показників, то вони суттєво відрізняються від дослідних: частота генотипу нормальної експресії гена ІЛ-10 (AG-генотип) становить 49%, частота генотипу низької експресії (AA-генотип) – 30 %, а частота генотипу високої експресії (GG-генотип) – 21%. Таким чином, в контрольній групі найвищою частотою характеризується генотип нормальної експресії (AG-генотип), а найнижчою генотип високої експресії (GG-генотип). Статистичне опрацювання отриманих результатів з використанням критерію Пірсона χ^2 показало вірогідно значиме зростання частоти GG-генотипу ($\chi^2=7,3, p<0,01$), який асоціюється з високою експресією гена ІЛ-10 в групі подружніх пар з ВН.

Розподіл та частота генотипів SNP –1082 G→A пІЛ–10 у подружніх пар з ВН

№ п/п	Генотип	Контрольна група (73 особи)		Подружні пари з ВН (35 осіб)		χ^2	р
		Абсолютні значення	%	Абсолютні значення	%		
1.	AA	22	30	8	22,9	0,62	>0,05
2.	GG	15	21	16	45,7	7,3	<0,01
3.	AG	36	49	11	31,4	3,1	>0,05

При розподілі обстежуваної групи подружніх пар з вторинним непліддям за статтю попередньо встановлені закономірності частот алелей та генотипів SNP–1082G→A пІЛ10 зберігаються. Як у жінок, так і в чоловіків обстежуваної групи з найвищою частотою зустрічається алель високої експресії G (61,9% та 60,7%, відповідно) та генотип високої експресії гена ІЛ–10 – GG (42,9% та 50%, відповідно). Наші дані принципово співпадають з результатами Daher із співавт. [8], які передбачають, що саме ІЛ–10 може бути задіяний в патогенезі звиклого невиношування вагітності.

Крім вивчення розподілу і частот генотипів SNP–1082 G→A пІЛ–10 у подружніх пар з ВН, ми проаналізували встановлені генотипи на їх гомологічність в межах подружніх пар. Таким чином ми встановили, що 38,5% подружніх пар з ВН володіють однаковими генотипами SNP –1082 G→A пІЛ–10, з них 23,1% становить генотип високої експресії GG. Отже, отримані результати дають підстави думати, що гомологічність генотипів SNP–1082 G→A пІЛ–10 є негативним прогностичним фактором для нормального протікання вагітності.

Висновки.

1. В результаті вивчення частот алелей низької (A) та високої (G) експресії гена ІЛ–10 в групі подружніх пар з вторинним непліддям встановлено, що дана група характеризується достовірно підвищеною частотою алелі G.
2. При аналізі розподілу генотипів SNP–1082 G→A пІЛ–10 з'ясували, що в групі подружніх пар з вторинним непліддям достовірно найвищою частотою володіє генотип високої експресії (GG–генотип).
3. Встановлено, що 38,5% подружніх пар з вторинним непліддям є гомологічними по генотипах SNP–1082 G→A пІЛ–10.
4. Передбачаємо, що ІЛ–10 може бути задіяний в патогенезі звиклого невиношування вагітності.

Література

1. Старостина Т.А., Демидова Е.М., Анкирская А.С. и др. Современные вопросы патогенеза и терапии невынашивания беременности // Акуш. и гинекол. – 2002. – №5. – С.61–63.
2. Chou S.W. Cytomegalovirus and its clinical implication // *Traspl. Infect. Dis.* – 2001. – vol.5, No. – P.20–24.
3. Emmer P.M., Nelen W., Steegers E. Et al. Peripheral natural killer cytotoxicity CD56posCD16pos cells increase during early pregnancy in women with a history of recurrent spontaneous abortion // *Hum. Reprod.* – 2000. – vol.15, P.1163–1169.
4. Ntrivalas E.I., Kwak–Kim J.Y.H., Gilman–Sachs A. Et al. Status of peripheral blood natural killer cells in women with recurrent spontaneous abortions and infertility of unknown aetiology // *Hum. Reprod.* – 2001. – vol.16. – P.855–861.
5. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. – Москва. – 2003. – 604 с.

6. *Mocellin S., Panelli M.C., Wang E., Nagorsen D., Marincola F.M.* The dual role of IL-10 // *Trends Immunol.* – 2003. – vol.24, №1. – P.36–43.
7. *Brenner S., Prosch S., Schenke-Layland K., Riese U., Gausmann U., Platzer C.* cAMP-induced interleukin-10 promoter activation depends on CCAAT/enhancer-binding protein expression and monocytic differentiation // *J.Biol.Chem.* – 2003. – vol.278, №8. – P.–5597–5604.
8. *Daher S., Shulzhenko N., Morgun A., Mattar R., Rampim GF., Camano L., DeLima M.G.* Assotiations between cytokine gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss // *J.Reprod. Immunol.* – 2003 – vol.58, No 1. – P.69–77.
9. *Giordani L., Bruzzi P., Lasalandra C., Quaranta M., Schittulli F., Ragione F. D., Iolascon A.* Association of breast cancer and polymorphisms of Interleukin-10 and Tumor Necrosis Factor- α genes // *Clin. Chem.* – 2003. – vol.49. – P. 1664–1667.
10. *Певницкий Л.А.* Статистическая оценка ассоциаций HLA-антигенов с заболеваниями // *Вестник АМН СССР.* – 1988. – №7. – С.48–51.

Резюме

Вивчали крапкові нуклеотидні поліморфізми промоторної ділянки гена ІЛ-10 в групі подружніх пар з вторинним непліддям, обумовленим звиклим невиношуванням вагітності в І триместрі. Встановлено, що дана група характеризується достовірно підвищеною частотою алелі G – алелі високої експресії ІЛ-10 та генотипу високої експресії (GG-генотип). Встановлено, що 38,5% подружніх пар з вторинним непліддям є гомологічними по генотипах SNP-1082 G→A пІЛ-10. Передбачаємо, що ІЛ-10 може бути задіяний в патогенезі звиклого невиношування вагітності.

Изучали точечные нуклеотидные полиморфизмы промоторного участка гена ИЛ-10 в группе супружеских пар с вторичным бесплодием, обусловленным привычным невынашиванием беременности в I триместре. Установлено, что данная группа характеризуется достоверно повышенной частотой аллеля G – аллеля высокой экспрессии ИЛ-10 и генотипа высокой экспрессии (GG-генотип). Установлено, что 38,5% супружеских пар с вторичным бесплодием являются гомологичными по генотипам SNP-1082 G→A пИЛ-10. Допускаем, что ИЛ-10 может быть задействован в патогенезе привычного невынашивания беременности.

We studied the SNP1082 G→A of the gene IL-10 promotor region in couples with secondary infertility which was caused by first trimester reccurent pregnancy lost. As a result of studying was determined statistically significant increase of both IL-10 high expression allele frequency (G-allele) and IL-10 high expression genotype frequency (GG-genotype). The result also showed, that 38,5% investigated couples had homologous SNP-1082 G→A pIL-10 genotypes. We suppose that IL-10 gene may be active in pathogenesis of first trimester reccurent pregnancy lost.

ТИЖНЕНКО Т.В.¹, ПОЧЕРНЯЄВ А.К.¹, ГОРШУНСЬКА М.Ю.², ПОЛТОРАК В.В.¹, АТРАМЕНТОВА Л.А.³, КРАВЧУН Н.О.¹

¹ ДУ “Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського АМН України”
Україна, 61002, Харків, вул. Артема 10

² Харківська медична академія післядипломної освіти
Україна, 61176, м. Харків, вул. Корчагінців 58

³ Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна
Україна, 61077, м. Харків, пл. Свободи 4, e-mail: Tyzhnenko@ukr.net

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА ПАРАОКСОНАЗИ (PON-1) У НАСЕЛЕННЯ М. ХАРКОВА