

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

Прогрес у розвитку медицини призводить до відносного зростання частки генетично обумовленої патології [1]. Одним з найбільш поширених полігенних спадкових захворювань є цукровий діабет (ЦД) 2 типу. Дослідження генетичної схильності до ЦД 2 типу показують, що є декілька генів-кандидатів, поліморфізм яких поєднується з підвищенням ризику розвитку ішемічної хвороби серця (ІХС) і інших атеротромботичних станів. До таких генів-кандидатів можна віднести ген параоксонази [2-4]. Параоксоназа (*PON1*) – антиоксидантний фермент, асоційований з ліпопротеїнами високої щільності (ЛПВЩ), який відіграє важливу роль у детоксикації орґанофосфатів і попередженні окислення ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) та попереджує розвиток атеросклерозу [5, 6]. Доведено, що поліморфізм гена *PON1* по 192 кодону глутамін-Gln (Q) → аргінін-Arg (R) (проявляється амінокислотною заміною глутаміна на аргінін у 192 позиції ферменту параоксонази) визначає міжіндивідуальну варіабельність активності параоксонази; із зміною активності *PON1* змінюється ризик атеросклерозу і кардіоваскулярних захворювань [7, 8]. Мутації в даному гені призводять до його низької експресії і використовуються як маркери ризику атерогенної макросудинної патології, в першу чергу, ішемічної хвороби серця (ІХС) [9]. Поліморфізм гена *PON-1* в кодоні 192 (глутамін/аргінін) пов'язують із продукцією двох ізоферментів, один з яких, асоційований з В формою (аргінін), виказує низьку активність та обумовлює високий ризик розвитку ІХС у хворих на ЦД 2 типу [10]. Наявні повідомлення, що наголошують патогенетичну роль у зниженні активності ферменту за умов діабету, поряд з генетичними факторами, і надбаними метаболічними порушеннями, а також такі, що засвідчують суттєву різницю в активності параоксонази за наявності та відсутності діабетичної протеїнурії [5, 10]. Повідомлення про зв'язок між поліморфізмом гена *PON-1* 192 (Q/R) та ІХС в загальній популяції різноспрямовані, так, істотні асоціації були описані у білих мешканців Північної Америки [11] і в мешканців Індії [11], а їх відсутність - у фінів [12] і китайців, які проживають в Сінгапурі [13]. Зниження активності параоксонази асоціювалося з підвищенням ризику ІХС у індійців [14]. Низька активність *PON-1* у поєднанні з ознаками оксидативного стресу (навіть за умов глікемічної компенсації) може складати патогенетичне підґрунтя передчасного атеросклерозу у хворих на ЦД 2 типу із дисліпідемією [15]. Особи, які гомозиготні по Q, мають суттєво знижену параоксоназну активність, ніж особи гомозиготні по R, в той час, як гетерозиготні особи мають середній рівень активності параоксонази [16]. Асоціацію між алелем 192(R) *PON-1* було виявлено у французьких [11] і японських [17, 18] пацієнтів, хворих на ЦД 2 типу та ІХС і в північно-американській загальній популяції [11], але не спостерігалось у етнічних фінів [12] та етнічних китайців, за наявності ЦД 2 типу [19]. Вивчення поліморфізму генів-кандидатів проведено в різних популяціях, проте молекулярно-генетичні дослідження ЦД 2 типу на території України не проводилися. Разом з тим, оскільки, схильність до захворювань слід розглядати з урахуванням того, що кожний індивід є складовою частиною популяції, має генетичну пристосованість до того середовища, в якому відбувалася її природна історія, то генетичне прогнозування обмежується рамками конкретної популяції [20, 21]. Основною метою дослідження, що проводиться, є вивчення одиночного нуклеотидного поліморфізму гена параоксонази у хворих на ЦД 2 типу за умов співставлення до недіабетичного загалу для визначення внеску генетичної та метаболічної складової до біохімічного фенотипу параоксонази, обґрунтування груп ризику щодо ІХС та розробки більш ефективних алгоритмів антидіабетичної терапії, спрямованої на зниження макросудинних ускладнень. Оскільки дослідження тільки розпочалося, на першому етапі заплановано розглянути поліморфізм гена параоксонази *PON1-192Q/R* серед відносно здорових мешканців м. Харкова.

Матеріали і методи

Зібрана генеалогічна інформація про 110 практично здорових мешканців м. Харкова (79 – чоловіків, 31 – жінка), віком від 20 до 60 років (середній вік на момент обстеження для чоловіків 32,83±1,12, для жінок 36,34±2,45). У вибірці виключені ознаки ІХС, вказівки на ЦД і артеріальну гіпертензію. Зразки крові були отримані на базі Харківської обласної станції переливання крові. Відповідно до вимог біоетики була отримана добровільна згода мешканців м. Харкова на участь

у дослідженні і проведено анкетування. ДНК виділена з лейкоцитів периферичної крові [22, 23]. Аналіз поліморфних маркерів проводили методом ПЛР (полімеразна ланцюгова реакція) і ПДРФ (поліморфізм довжин рестриктних фрагментів) з використанням відповідних праймерів. Розділення фрагментів ДНК після ампліфікації і рестрикції проводили за допомогою електрофорезу в агарозному гелі. Статистичний аналіз проведено методом χ^2 .

Результати та обговорення

На рисунку представлено розподіл результатів електрофорезу. Зразки 1 і 2 демонструють 2 смужки, що відповідає довжині рестриктних фрагментів 135 та 64 пар нуклеотидів та характеризує генотип *R/R*. Зразок 3 має одну смужку розміром 199 пар нуклеотидів, що відповідає гомозиготному генотипу *Q/Q*. Зразки 4 та 5 представлені трьома смужками розміром 199, 135 та 64 пари нуклеотидів, що свідчить про гетерозиготний генотип – *Q/R*.

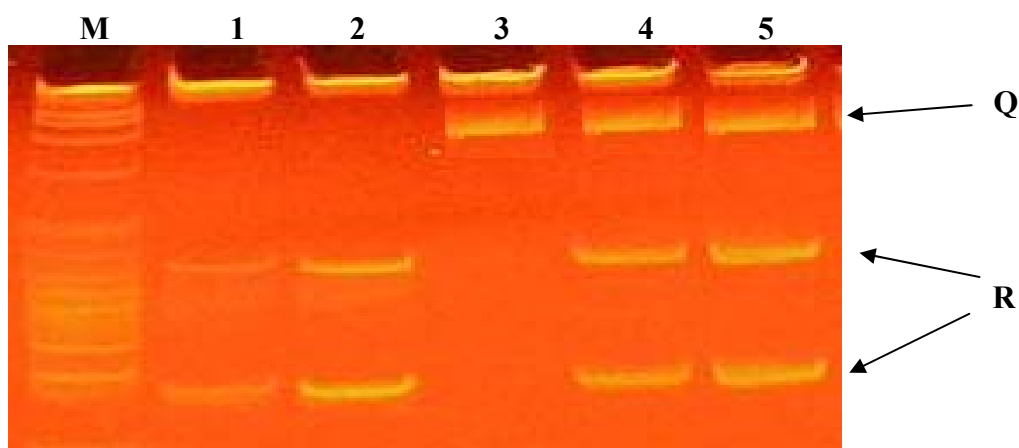


Рис. ПЛР-ПДРФ аналіз генотипів параоксонази.

1,2- *R/R* генотип; 3 - *Q/Q* генотип; 4, 5 - *Q/R* генотип; Для визначення розмірів рестриктних фрагментів ДНК використовують маркер молекулярної маси (М) *pUC19/MspI* (501; 489; 404; 331; 242; 190; 147; 111; 110; 67; 34; 26 пар нуклеотидів) ДНК, рестриційованої ферментом *Msp I*.

Результати аналізу електрофореграм 110 осіб представлені в табл.1. Частоти алелей розраховані прямим шляхом. Між групами чоловіків та жінок для даної вибірки виявлена достовірна різниця по розподілу частот алелей, у жінок в даній вибірці частота алеля *Q* була декілька вищою ($P < 0,05$). Розподіл частот генотипів серед чоловіків і жінок відповідає рівноважному розподілу, очікуваному по рівнянню Харді-Вайнберга ($\chi^2 = 4,33$; $P < 0,05$).

Таблиця 1

Розподіл частот генотипів та алелей гена параоксонази (*PON-1*)

Генотипи	Чоловіки		Жінки		Середнє популяційне	
	n	p (%)	n	p (%)	n	p (%)
<i>Q/Q</i>	31	39,2	16	51,6	47	45,4
<i>Q/R</i>	39	49,4	15	48,4	54	48,9
<i>R/R</i>	9	11,4	0	0,0	9	11,4
Частота алеля <i>Q</i>	0,64		0,76		0,70	
Частота алеля <i>R</i>	0,36		0,24		0,30	

Примітка: n – кількість індивідів; p (%) – частота у відсотках;

Частоти виявлених алелей *PON-1(Q)* та *PON-1(R)* серед здорових осіб харківської популяції співпадають з дослідженнями російських вчених щодо поліморфізму гена *PON-1* серед етнічних татар, відповідно *PON-1(Q)* – 68,58% (0,69) та *PON-1(R)* – 31,42% (0,31) [24], а також серед італійців – 0,73 та 0,27 [25]. В той час у японській популяції частоти *Q* та *R* були протилежні до нашого дослідження і склали 0,31 та 0,69 [26]. В популяції Сербії генотипи гена *PON-1* розподілені таким чином: *QQ* – 0,55; *QR* – 0,38; *RR* – 0,07 [27], а в США – 0,30; 0,48; 0,22, відповідно [28], і є подібними до наших результатів, а саме *QQ* – 45,4% (0,45); *QR* – 48,9% (0,49),

RR – 11,4% (0,11). Відмінності у розподілі генотипів в різних популяціях можуть пояснюватися особливостями популяцій, їх етнічними характеристиками та генетичною різноманітністю [20, 21]. Порівняння частот генотипів показало міжетнічне та міжпопуляційне різноманіття.

Висновки

Переважання частоти алеля Q гена PON-1 (Q – 0,70, R – 0,30) серед здорових мешканців м. Харкова, за відсутності ІХС, обґрунтовує асоціацію цього поліморфізму з ангіопротективною дією ферменту параоксонази. Подальшого дослідження потребує визначення поліморфізму гена параоксонази у хворих на ЦД 2 типу з проявами макросудинних ускладнень, а також дослідження механізму зниженої активності параоксонази у діабетичного загалу.

Література.

1. Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко Т.Э., Асеев М.В. Геном человека и гены предрасположенности. - СПб.: «Интермедика». - 2000. - 271 с.
2. Imai Y., Morita H., Kurihara H. et. al. Evidence for association between paraoxonase gene polymorphisms and atherosclerotic diseases//Atherosclerosis. – 2000. – V.149. – P.435–442.
3. Mackness B., Mackness M.I., Arrol S. Serum paraoxonase (PON1) 55 and 192 polymorphism and paraoxonase activity and concentration in non-insulin dependent diabetes mellitus // Atherosclerosis. – 1998. - V.139. – P.341-349.
4. Ruiz J., Blanche H., James R. et. al. Gln-Arg192 polymorphism of paraoxonase and coronary heart disease in type 2 diabetes.//Lancet. – 1995 – Vol. 346. – P.869-872
5. Mackness M.I., Durrington P.N., Mackness B. How high density lipoprotein protects against the effect of lipid peroxidation//Curr Opin Lipidol. - 2000. - Vol. 11,N4.-P. 383-388.
6. Navab M., Imes S., Hama et.al. Monocyte transmigration induced by modification of LDL in cultures of human aortic endothelial cells is due to induction of MCP-1 synthesis and is abolished by HDL // J.Clin.Invest. – 1991. – Vol.88., N6. – P. 2039-2046.
7. Voetsch B., Kelly M., Benke S. et.al. Paraoxonase 192 Gln-Arg Polymorphism An Independent Risk Factor for Nonfatal Arterial Ischemic Stroke Among Young Adults //Stroke. - 2002. –Vol. 33. – P. 1459-1464
8. Humbert R., Adler D., Distèche C. et.al. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism//Nat. Genet. - 1993. - Vol. 3. – P. 73–76.
9. Sanghera D., Saha N., Aston C. et. al. Genetic polymorphism of paraoxonase and the risk of coronary heart disease//Arterioscler Thromb Vase Biol. – 1997. – Vol.1. – P.1067-1073.
10. Ikeda Y., Suchiro T., Inoue M. et al. Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetes complication in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus//Metabolism. - 1998. - Vol. 47., N5. - P. 598-602.
11. Dharambir K. Sanghera; Nilmani Saha; Christopher E. Aston Genetic Polymorphism of Paraoxonase and the Risk of Coronary Heart Disease //Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.- 1997. - Vol. 17. – P.1067-1073.
12. Antikainen M, Murtomaki S, Syvanne M. et. al. The Gln-Arg 191 polymorphism of the human paraoxonase gene (HUMPONA) is not associated with the risk of coronary artery disease in Finns.//J Clin Invest. – 1996. – Vol. 98. – P.883-885.
13. Hughes K, Lun KC, Yeo P. Cardiovascular disease in Chinese, Malays and Indians in Singapore, I: differences in mortality//J Epidemiol Commun Health. – 1990. - Vol. 44. – P.24-28.
14. Martin Pfohl, Matthias Koch, Marckus D. Enderle et.al. Paraoxonase 192 Gln/Arg gene polymorphism, coronary artery disease, and myocardial infarction in type 2 diabetes //Diabetes. – 1999. – Vol.48. – P. 623-627.
15. Гориунська М.Ю. Активність параоксонази у жінок, хворих на цукровий діабет 2 типу: кореляція з параметрами оксидативного стресу, ліпідного профілю та глікемічного контролю //Ендокринологія. – 2001. – Т.6., № 2. – С. 160-165.
16. Koch M, Hering S, Barth C, Paraoxonase1 192 Gln/Arg gene polymorphism and cerebrovascular disease: interaction with type 2 diabetes.//Exp Clin Endocrinol Diabetes. - 2001. - Vol. 109. – P.141–145.
17. Odawara M, Tachi Y, Yamashitya K. Paraoxonase polymorphism (Gln 192-Arg) is associated with

- coronary heart disease in Japanese noninsulin-dependent diabetes mellitus//J Clin Endocrinol Metab - 1997. - Vol. 82. – P. 2257-2260.
18. Suehiro T, Nakauchi Y, Yamamoto M et al. Paraoxonase gene polymorphism in Japanese subjects with coronary heart disease//Int J Cardiol. – 1996. – Vol.57. – P.69-73.
 19. Huang Q, Lui Y.H., Yang Q.D. et al Human serum paraoxonase gene polymorphism, Q192R and L55M, are not associated with the risk of cerebral infarction in Chinese Han population//Neurol.Res. – 2006. – Vol 28(5). – P. 549-554.
 20. Cavalli-Sforza L., Bodmer W. The genetics of human populations. - San Francisco: Freeman, 1971. - 962 p.
 21. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях.– М.: Наука, 2003.– 431 с.
 22. Walsh P., Metzger D., Higuchi R. Chelex 100 as a Medium for Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material // BioTechniques. – 1991.– №10. – P.506.
 23. СОУ85.2-37-206:2004 Методи виділення ДНК із біопроб за допомогою гуанідинізоціонату та реагенту “Chelex-100” для проведення полімеразної ланцюгової реакції.
 24. Мустафина О.Е., Данилова В.В., Зуева Л.П. и др.Полиморфизм 192Q/R гена параоксоназы 1 в популяции татар: анализ ассоциаций с сердечно-сосудистыми заболеваниями, содержанием липидов в крови и грациями возраста//Медицинская генетика: Материалы V съезда Российского общества медицинских генетиков. – 2005. - № 5. – С.223.
 25. Ombres D., Pannitteri G., Montali A. et al. Gln-Arg192 polymorphism of human paraoxonase gene is not associated with coronary artery disease in Italian patients //Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 1998. – V.18. – P.1611–1616.
 26. Sakai T., Matsuura B., Onji M. Serum paraoxonase activity and genotype distribution in Japanese patients with diabetes mellitus // Internal.Medicine. – 1998. – Vol.37, №7. – P. 581-584.
 27. Kotur-Stevuljevic J., Spasic S., Stefanovic A. et al. Paraoxonase-1 (PON1) activity, but not PON1 (Q192R) phenotype, is a predictor of coronary artery disease in a middle-ages Serbian population // Clin.Chem.Lab.Med. – 2006. – Vol. 44(10). – P.1206-1213
 28. Gan K., Smolen A., Eskerson H. et al. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase Evidense for one esterase catalyzing both activities//Drug.Metab.Dispos. – 1991. – Vol. 19. – P. 100-106.

Резюме

Зібрана інформація про 110 (79 – чоловіків, 31 – жінка) практично здорових мешканців м. Харкова, віком від 20 до 60 років. Частота алеля *Q* гена параоксонази серед здорових мешканців м.Харкова складає 0,70; частота алеля *R* – 0,30. Розподіл частот генотипів серед чоловіків і жінок відповідає розподілу, очікуваному по рівнянню Харді-Вайнберга ($\chi^2=4,33$; $P<0,05$).

Собрана информация о 110 (79 – мужчины, 31 – женщина) практически здоровых жителях г.Харькова, в возрасте от 20 до 60 лет. Частота алеля *Q* гена параоксоназы среди здоровых жителей составляет 0,70; частота алеля *R* – 0,30. Распределение частот генотипов среди мужчин и женщин соответствует распределению, ожидаемому по уравнению Харди-Вайнберга ($\chi^2=4,33$; $P<0,05$).

The data about 110 (male/female: 79/31, age from 20 to 60 years) healthy Kharkov habitants were collected. Frequency of *Q* allele of paraoxonase gene is 0,70; frequency of *R* allele - 0,30. Distributions of genotype frequencies among men and women did not deviate from Hardy-Weinberg's equilibrium ($\chi^2=4,33$; $P<0,05$).

ТИРКУС М.Я., МАКУХ Г.В., БІЛЕВИЧ О.Б., ЗАСТАВНА Д.В.

ДУ "Інститут спадкової патології АМН України",

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

ВНЕСОК ОСНОВНИХ ГЕНЕТИЧНИХ ЧИННИКІВ В ЕТІОЛГІЇ ПОРУШЕНЬ СПЕРМАТОГЕНЕЗУ

Близько 15% подружніх пар є неплідними. Внесок чоловічого фактору в структуру непліддя складає 30 – 50%. Причини чоловічого непліддя – різноманітні та