

Поліморфізм гена GP IIIa у дівчат-підлітків, хворих на ювенільні маткові кровотечі на тлі тиреопатій

О.А. Андрієць, Ю.В. Цисар, Л.П. Сидорчук

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

У статті наведені особливості перебігу ювенільних маткових кровотеч у дівчат при супутній патології щитоподібної залози та особливості генетичних предикторів розвитку даної патології. Проаналізовано частоту генотипів гена глікопротеїну GP IIIa у структурі пубертатних менорагій у дівчат із супутньою патологією щитоподібної залози.

Ключові слова: маткові кровотечі, дівчата-підлітки, щитоподібна залоза, поліморфізм гена GP IIIa.

Ювенільні маткові кровотечі – один з провідних розладів менструальної функції в період становлення менструального циклу у дівчат пубертатного віку. Генетичне дослідження даної патології у дівчат-підлітків у поєднанні із визначенням гормонального та імунологічного статусу мають не тільки медичне, але й велике соціальне значення.

На сьогодні відомо безліч спадкових факторів, у тому числі генетичних, що опосередковано призводять до порушень тромбоцитарно-судинного гемостазу або є тригерчинниками порушень фібринолізу [8, 10, 19, 20].

Особливий інтерес представляє ряд поліморфізмів генів системи гемостазу, зокрема: мутація гена інгібітору активатора плазміногену PAI-1 β-ланцюга фібриногену, поліморфізм тромбоцитарного рецептора фібриногену (GP IIIa), мутація тромбоцитарного глікопротеїну 1Bα (GP1Bα) [9, 11, 14], що асоціюють із порушенням метаболізму гомоцистеїну, низька концентрація якого викликає кровотечі, а висока – тромбози [17].

Також важливу роль серед факторів, що визначають активність анти- чи прокоагуляційного потенціалу і фібринолізу у патогенезі ранніх пубертатних менорагій, відіграють фонові соматичні (пубертатна гіпертензія) та інфекційні захворювання (бактеріальні токсини, вірусна інфекція, окремі цитокіни – TNFα, IL-1β та ін.), наявність пухлинного процесу, системних запальних захворювань сполучної тканини (окиснені ліпопротеїни, імунні комплекси), гемолітична анемія, гіпергомоцистеїнемія, дисліпідемія, мезенхімальні (сполучнотканинні) дисплазії, антифосфоліпідний синдром, хронічні стреси, гормональний дисбаланс тощо [8, 17]. За дисфункції III стадії гемостазу (агрегації тромбоцитів) на рівні глікопротеїнових рецепторів тромбоцита GP IIIa (зменшення кількості та активності даного глікопротеїну), які є єдиними, що забезпечують вищеописаний зв'язок тромбоцита з фібриногеном, виникають дисрегуляторні проблеми коагуляції – кровотеча чи тромбоз [13].

Мета дослідження – встановити частоту алелей і генотипів поліморфізму гена GP IIIa у структурі пубертатних менорагій у дівчат із супутньою патологією щитоподібної залози.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстежено 70 дівчат-підлітків, хворих на пубертатні менорагії, які лікувались у гінекологічному відділенні міського клінічного пологового будинку № 1 (МКПБ № 1) м. Чернівці. Дівчата були розподілені на дві групи: I (основна) – 30 дівчат-підлітків з діагнозом пубертатні менорагії на тлі супутньої патології щитоподібної залози, II група (порівняння) – 40 дівчат-підлітків з діагнозом пубертатні менорагії. Контрольна група – 26 практично здорових дівчат-підлітків.

Поліморфізм гена GP IIIa (PLA1/PLA2) вивчали 1 раз після включення пацієнтів у дослідження шляхом виділення геномної ДНК з лейкоцитів периферійної крові із наступною ампліфікацією поліморфної ділянки шляхом ПЛР на термоциклері «Amplify-41» («Biokom», Москва) з індивідуальною температурною програмою для праймеру відповідного гена. Осіб, гомозиготних за алелем інсерції гена GP IIIa, перевіряли за допомогою додаткової пари праймерів, локалізованих на довгому плечі відповідної хромосоми. Фрагменти ампліфікованої ДНК розділяли методом гел-електрофорезу, забарвлювали етидієм броміду, візуалізували за допомогою транслюмінатора у присутності маркера молекулярних мас (100–1000bp). Статистичне оброблення проводили за допомогою прикладних програм MS® 2003™, Statistica® 7.0.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановили, що частота виявлення «дикого» A1 алеля гена GP IIIa у дівчат-підлітків із менорагіями у 2,41 разу більша, ніж «мутантного» A2 алеля (табл. 1): 99 (70,7%) проти 41 (29,3%) випадки із 140 виділених алелей ($\chi^2=9,64$, $p=0,002$). Аналогічну тенденцію спостерігали у контрольній групі: A1 ідентифікували у 35 (70%) випадків, що було у 2,33 разу частіше, ніж A2 алель – 15 (30%) випадків із 50 виділених алелей ($\chi^2=5,63$, $p=0,018$). Вірогідних відмінностей у частоті виявлення A1 та A2 алелей між особами дослідної та контрольної груп не встановили (OR [95%CI]=0,97–1,03 [0,48–2,1], $\chi^2<1,0$, $p>0,05$). Отриманий розподіл по групам спостереження віддзеркалював загальний в обстеженій популяції, де перевагував «дикий» алель над «мутантним» у 2,39 разу ($\chi^2=9,01$, $p=0,003$) – див. табл. 1.

Розподіл генотипів засвідчив, що A1A1-генотип вірогідно частіше реєструється у підлітків дослідної групи, ніж у контрольній, – у 1,25 разу ($\chi^2=10,14$, $p=0,001$). Натомість відносна частота A1A2-генотипу, навпаки, переважала у групі контролю в 1,45 разу ($\chi^2=12,03$, $p<0,001$). Гомозиготну мутацію A2A2 реєстрували тільки у дівчат-підлітків із менорагіями – 8,6% (6 осіб). Відносна частота «дикого» A1 алеля вірогідно переважала над A2A2-генотипом у 7,5 разу ($\chi^2=45,6$, $p<0,001$).

ПОДРОСТКОВАЯ ГИНЕКОЛОГИЯ

Таблиця 1

Частота виявлення алелей поліморфного маркера A1/A2 гена ITGB3 (GPIIIa)

№	Генотипи, алелі	Групи дослідження, n (%)			
		Пацієнти, n=70 (%)	Контроль, n=25 (%)	OR [95% CI]	
1	A1A1 генотип, n=45 (%)	35 (50)	10 (40)	2,5 [0,59–4,79]	$\chi^2=10,14$ p=0,001
2	A1A2 генотип, n=44 (%)	29 (41,4)	15 (60)	3,47 [0,79–7,2]	$\chi^2=12,03$ p<0,001
3	A2A2, n=6 (%)	6 (8,6)	0	–	–
4	A1 алель, n=134 (%)	99 (70,7)	35 (70)	1,03 [0,51–2,1]	$\chi^2<1,0$ p>0,05
5	A2 алель, n=56 (%)	41 (29,3)	15 (30)	0,97 [0,48–1,96]	$\chi^2<1,0$ p>0,05

Примітка: n – абсолютна кількість алелей.

Таблиця 2

Дистрибуція генотипів A1/A2 поліморфізму гена ITGB3 (GPIIIa) з урахуванням обтяженості пубертатних менорагій патологією щитоподібної залози

Групи дослідження		Генотипи гена GPIIIa, n (%)			χ^2 p
		A1A1	A1A2	A2A2	
Дослідна група	Пубертатні менорагії, n=40 (57,1%)	22 (55)	15(37,5)	3 (7,5)	$\chi^2=18,8$ p<0,001
	Пубертатні менорагії + патологія ЩЗ, n=30 (42,9%)	13 (43,3)	14(46,7)	3 (10,0)	$\chi^2=22,4$ p<0,001
Загалом дослідна група, n=70 (%)		35 (50)	29 (41,4)	6 (8,6)	$\chi^2=33,5$ p<0,001
Контрольна група, n=25 (%)		10 (40)	15 (60)	0	$\chi^2<1,0$ p>0,05
Усього, n=95 (%)		45 (47,4)	44 (46,8)	6 (6,3)	$\chi^2=2,85$ p>0,05

Таблиця 3

Расові, популяційні та етнічні відмінності частоти виявлення A1/A2 поліморфізму гена ITGB3 (GPIIIa)

Раси, етнічні групи	Популяції (n)	A1A1 генотип, %	A1A2-генотип, %	A2A2-генотип, %
Екваторіальна	Нігерія ^[15]	A1 алель – 92,5		A2 алель – 7,5
	Афроамериканці ^[21]	A1 алель – 91,3		A2 алель – 8,7
Європеїдна (кавказіанці)	Австрія ^[22]	72,4-78,6	21,4-27,2	0,7-1,7
	Польща ^[12]	75,0	24,0	1,0
	Росія ^[7]	62,0	33,0	5,0
	США ^[21]	A1 алель – 86,0		A2 алель – 14,0
	США ^[18]	35,7	35,7	28,6
	Ірландія ^[12]	66,7	31,25	2,1
	Данія ^[16]	69,9	27,3	2,7
Монголоїдна (азіатська)	Італія ^[25]	53,6-70,0	28,9-39,3	1,1-7,1
	Франція ^[23]	67,3-72,2	A1A2+A2A2 – 27,8-32,7	
	Індія ^[21]	A1 алель – 92,0		A2 алель – 8,0
	Туніс ^[24]	47,7-65,4	39,4	5,3

Примітка: n – кількість спостережень.

A1/A2 поліморфізму гена ITGB3 (GPІІа) у дівчат-підлітків із менорагіями на тлі патології щитоподібної залози (ЩЗ) наведено у табл. 2. Спостерігали вірогідне превалювання частоти осіб зі «сприятливим» А1 алелем над такими із А2А2-генотипом як без патології ЩЗ, так і з нею у 12,3 і 9 разів відповідно ($\chi^2=35,9-41,8$, $p<0,001$). У підлітків без патології ЩЗ А1А1-генотип спостерігали на 11,7% частіше, ніж у таких із захворюваннями ЩЗ ($\chi^2=4,01$, $p=0,041$) та на 15% частіше, ніж у контрольній групі ($\chi^2=4,54$, $p=0,033$). Натомість у дівчаток із менорагіями та патологією ЩЗ погранично переважала відносна частота А1А2-генотипу на 9,2% ($\chi^2=3,97$, $p=0,052$) та А2А2-генотипу на 2,5% ($p>0,05$), над такими у підлітків дослідної групи без проблем зі ЩЗ. При цьому частота А1А2 гетерозигот у контролі була більшою, ніж в осіб дослідних груп, на 22,5% ($\chi^2=7,78$, $p=0,005$) у таких без патології ЩЗ і на 13,3% ($\chi^2=3,42$, $p=0,053$) у підлітків із захворюваннями ЩЗ (див. табл. 2). Аналогічну тенденцію спостерігали при порівнянні загалом дослідної та контрольної груп: у дівчат із пубертатними менорагіями на 10% частіше реестрували носіїв А1А1-генотипу, ніж у контролі ($\chi^2=9,86$, $p=0,002$), тоді як у контролі на 18,6% більше було гетерозиготних носіїв А1А2-генотипу, ніж у дослідних групах загалом ($\chi^2=12,03$, $p<0,001$). Вірогідних відмінностей за частотою виявлення А2А2 гомозигот серед осіб дослідних груп не встановили (див. табл. 2).

Популяційний, етнічний та расовий аналіз засвідчив, що частота виявлення «мутантного» А2А2-генотипу та А2-алеля гена GPІІа серед обстежених дівчат-підлітків становила 0–8,6% і 29,3–30% відповідно, що відповідає таким в окремих популяціях європеїдної раси (0,7–5,0% і 27,8–32,7% відповідно), перевищуючи відповідний усереднений показник у більшості етнічних груп монголоїдної і екваторіальної рас ($p<0,05$) [7, 12, 16, 18, 21–25].

ВИСНОВКИ

Серед підлітків із менорагіями мутація у 17-й хромосомі гена GPІІа (SNP id.: rs 5918) зустрічається у 8,6%

випадків, проте в контрольній групі її не спостерігали взагалі. За алейним розподілом А1/А2 поліморфізму гена GPІІа переважає «дикий» А1 алель як у дослідній, так і у контрольній групі у 2,4 і 2,3 рази (70,7% і 70% відповідно проти 29,3% і 30% носіїв «мутантного» А2 алеля, $\chi^2=9,01$, $p=0,003$), що призводить до невірогідного надлишку гетерозиготності, але не порушує загалом нормального популяційного розподілу ($F=-0,11$, $\chi^2=2,28$, $p>0,05$).

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується комплексне вивчення генетичних предикторів, гормонального профілю та цитокинового статусу дівчат, хворих на пубертатні менорагії на тлі патології ЩЗ.

Полиморфизм гена GP IIIa у девушек-подростков с ювенильными маточными кровотечениями на фоне тиреопатий

О.А. Андриец, Ю.В. Цысар, Л.П. Сидорчук

В статье приведены особенности течения ювенильных маточных кровотечений у девушек при сопутствующей патологии щитовидной железы и особенности генетических предикторов развития данной патологии. Проанализирована частота генотипов гена гликопротеина GP IIIa в структуре пубертатных менорагий у девушек с сопутствующей патологией щитовидной железы.

Ключевые слова: маточные кровотечения, девушки-подростки, щитовидная железа, полиморфизм гена GP IIIa.

Gene polymorphism GP IIIa in adolescent girls patients with juvenile uterine bleeding with thyroid pathologies

O.Andriets, Y. Tsysar, L. Sydorчук

The paper presents the peculiarities of juvenile uterine bleeding in women with concomitant thyroid disease and peculiarities of genetic predictors of this disease. Analyzed the frequency of genotypes gene glycoprotein GP IIIa structure in pubertal menorrhahy Women with concomitant thyroid pathologies.

Key words: uterine bleeding, teenage girls, thyroid gland, gene polymorphism of GP IIIa.

Сведения об авторах

Андриец Оксана Анатольевна – Буковинский государственный медицинский университет, 58021, г. Черновцы, ул. Головна, 129; тел.: 52-34-49

Цысар Юлия Васильевна – Буковинский государственный медицинский университет, 58021, г. Черновцы, ул. Головна, 129; тел.: (095) 606-11-44

Сидорчук Лариса Петровна – Буковинский государственный медицинский университет, 58001, г. Черновцы, ул. Театральная, 2, 129; тел.: (099) 149-39-69

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андриец О.А. Взаемозависимость пубертатных менорагий та запальних захворювань геніталій у дівчат / О.А. Андриец // Бук. мед. вісник. – 2001. – Т. 5, № 1–2. – С. 195–197.
2. Андриец О.А. Репродуктивне здоров'я дівчаток та підлітків Буковини / О.А. Андриец // Бук. мед. вісник. – 2004. – Т. 8, № 2. – С. 195.
3. Акмурадова Г.Р. Роль иммунологических и генетических детерминант в возникновении гиперпластических заболеваний репродуктивной системы женщин: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: Спец. 14.00.01 «акушерство и гинекология». – М., 2005. – 87 с.
4. Бакун О.В. Гормональні та імуніологічні зміни в дівчаток із пубертатними матковими кровотечами / О.В. Бакун // Бук. мед. вісник. – 2004. – Т. 8, № 2. – С. 18–20.
5. Буканова С.В. Функциональный стан тиреоидной та репродуктивной систем у дівчаток-підлітків із дифузним ендемічним зобом / С.В. Буканова, Л. Самсонова, О. Уварова // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2004. – № 2. – С. 80–81.
6. Вплив лікування дівчат із пубертатними матковими кровотечами на стан їх репродуктивного здоров'я, якість життя та шляхи вирішення медико-соціального значення цих технологій / В. Подольский, І. Вовк, В. Петербурзька [та ін.] // Здоровье женщины. – 2009. – № 3. – С. 149–151.
7. Помогайбо Б.В. Особенности структурно-функционального состояния сердечно-сосудистой системы и показателей метаболизма у больных ишемической болезнью сердца пожилого, старческого возраста и долгожителей при разных вариантах полиморфизма отдельных генов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: Сек. 14.01.05 – «Кардиология». – СПб., 2011. – 21 с.
8. Факторы патологического тромбообразования у детей и подростков с тромбозами, не связанными с катетеризацией сосудов / П.В. Свирин, В.В. Вдовин, Г.А. Суханова [и др.] // Педиатрия. – 2009. – Т. 87, № 4. – С. 73–79.
9. A2 allele of GpIIIa gene is a risk factor for stroke caused by large-vessel disease in males / A. Slowik, T. Dziedzic, W. Turaj [et al.] // Stroke. – 2004. – Vol. 35. – P. 1589–1593.
10. Genome-Wide Association Study in BRCA1 Mutation Carriers Identifies Novel Loci Associated with Breast and Ovarian Cancer Risk. / F.J. Couch, X. Wang, L. McGuffog [et al.] // PLoS Genet. – 2013. – Vol. 9 (3). – P. e1003212. – Режим доступу до журн.: 10.1371/journal.pgen.1003212
11. An overview of premenstrual syndrome / F. Zaafrane, R. Falen, W. Melki et al. // J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris). – 2007. – Vol. 36, № 7. – P. 642–652.
12. Anti-thrombotic action of clopidogrel and P1(A1/A2) polymorphism of beta3 integrin in patients with coronary artery disease not being treated

- with aspirin. / J. Dropinski, J. Musial, B. Jakiela [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 2005. – Vol. 94 (6). – P. 1300–1305
13. Espindola D. Management of abnormal uterine bleeding and the pathology of endometrial hyperplasia/ D. Espindola, K.A. Kennedy, E.G. Fischer // *Obstet. Gynecol. Clin. North. Am.* – 2007 Dec. – Vol. 34 (4). – P. 717–37.
14. Hernandez O.T. Endometriosis. Is it a problem of the immunological signs/ O.T. Hernandez // *Ginccol. Obstct. Mex.* – 2005 Sep. – № 73 (9). – P. 92–99.
15. Increased frequency of subclinical hypothyroidism and thyroid – associated antibodies in siblings of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus / A. Mohn, S.D. Michele, R. Faricelli, S. Martinotti // *European journal of endocrinology.* – 2005. – P. 717–718.
16. Integrin beta3 Leu33Pro polymorphism and risk of hip fracture: 25 years follow-up of 9233 adults from the general population / C.L. Tofteng, P. Bach-Mortensen, S.E. Bojesen [et al.] // *Pharmacogenet. Genomics.* – 2007. – Vol. 17 (1). – P. 85–91.
17. Mailer K. IgG, IgA and IgM antibodies against I SI I: serological markers of pathogenic autoimmunity or of normal immunoregulation / K. Mailer // *Reprod. Immunol.* – 2005. – № 54 (5). – P. 62–69.
18. Mansour D. Modern management of abnormal uterine bleeding: the levonorgestrel intra-uterine system / D. Mansour // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2007 Dec. – Vol. 21 (6). – P. 1007–10.
19. Menstruation among adolescent girls in Malaysia: a cross-sectional school survey / L.K. Lee, P.C.Y. Chen, K.K. Lee, J. Kaur // *Singapore med. Journal.* – 2006. – Vol. 47 (10). – P. 869–874.
20. Milne R.L. Genetic modifiers of cancer risk for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers / R.L. Milne, AC. Antoniou // *Ann. Oncol.* – 2011. – Vol. 22 Suppl 1. – P. 11–17.
21. Morreale de Escobar G. Role of Thyroid hormone during early brain development / G. Morreale de Escobar, M.J. Obregon, F. Escobar de Rey // *Eur. J. Endocrinol.* – 2004. – Vol. 51, Suppl. 3. – P. 25–37.
22. Progesterone-threated lymphocytes of healthy pregnant women release a factor inhibiting cytotoxicity and prostaglandin synthesis / J. Szekeres-Bartho, E. Kilar, G. Falkay, V. Cscrnus // *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.* – 2001. – № 9. – P. 15–19.
23. Resistance in vitro to low-dose aspirin is associated with platelet PIA1 (GP IIIa) polymorphism but not with C807T(GP Ia/IIa) and C-5T kozak (GP Iib6) polymorphisms / Laurent Macchi, Luc Christiaens, Severine Brabant [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2003. – Vol. 42 (6). – P. 1115–1119.
24. The Children reference range of thyroid hormones in Northen Iran / A.R. Mansourian, A.R. Ahmadi, A. Safi, S. Bakhshandehnosrat // *Pakistan journal of biological sciences.* – 2010. – Vol. 13 (17). – P. 862–865.
25. The Leu33Pro polymorphism in the ITGB3 gene does not modify BRCA1/2-associated breast or ovarian cancer risks: results from a multicenter study among 15,542 BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. / A. Jakubowska, D. Rozkrut, A. Antoniou [et al.] // *Breast Cancer. Res. Treat.* – 2010. – Vol. 121 (3). – P. 639–649.

Статья поступила в редакцию 18.05.2013

НОВОСТИ МЕДИЦИНЫ

ХРОМОСОМНЫЕ НЕПОЛАДКИ ЗАРОДЫША МОЖНО ОПРЕДЕЛИТЬ ПО ЕГО ВНЕШНЕМУ ВИДУ

При экстракорпоральном оплодотворении можно проверить наличие или отсутствие у эмбриона хромосомных мутаций, не отбирая у него клетки на биопсию.

Одна из основных проблем в экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО) связана с возможными хромосомными аномалиями развивающегося эмбриона. При ЭКО оплодотворение происходит в буквальном смысле в пробирке: яйцеклетка и сперматозоид встречаются под присмотром врачей, после чего зародыш до определённой стадии развивается там же, в пробирке, а потом его пересаживают в матку. ЭКО помогает стать родителями бесплодным парам, однако если в зародыше произошла хромосомная неполадка, то он просто не сможет продолжить развитие. А даже если и сможет - полноценный человек из него вряд ли полу-

чится (тут достаточно вспомнить синдром Дауна).

До сих пор возможные мутации у зародыша выявляли с помощью биопсии, которую брали перед пересадкой зародыша в матку. Но для биопсии нужно отобрать у будущего человечка клетки, а на той стадии развития, когда происходит пересадка зародыша матери, у него каждая клетка на счету. Обычно берут те, что требуются для формирования плаценты, однако в идеале хорошо бы вообще ничего не трогать...

Исследователям из биомедицинской компании CARE Fertility (Ноттингем, Великобритания) пришло в голову, что состояние зародыша можно оценить, не отбирая у него клетки для хромосомного анализа. Технология для этого, собственно говоря, уже была создана: это так называемая TLI (time-lapse imaging), суть которой сводится к поклад-

ровой съёмке развивающегося эмбриона. TLI позволяет проводить морфокинетический анализ, следя за тем, как у зародыша появляются новые клетки, с какой скоростью и в каком порядке.

Свой метод авторы описывают в Reproductive BioMedicine Online. Нельзя сказать, чтобы он был так уж прост: за пять дней развития эмбриона нужно сделать и проанализировать около пяти тысяч его фотографий.

Тем не менее этот способ, каким бы трудоёмким он ни был, оставляет зародыша в покое, не трогая его клеток. Что особенно важно, когда зародыш здоров и его можно пересаживать будущей матери. Надёжность ЭКО от этого только повышается, и это даёт возможность уменьшить силы, время, да и просто деньги, которые на него тратятся.

compulenta.computerra.ru