

## ГЕНЕТИЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА ІНГІБІТОРА АКТИВАТОРА ПЛАЗМІНОГЕНА 1 (PAI-1 4G/5G) У ВАГІТНИХ ІЗ ОЖИРІННЯМ

Булик Т.С.

Буковинський державний медичний університет

Проаналізовано частоту алелей і генотипів інсерційно-делеційного поліморфізму (4G/5G) гена інгібітора активатора плазміногену 1-го типу (PAI-1) у структурі вагітних із ожирінням та без ожиріння. Серед вагітних із ожирінням мутація у 675 позиції промоторної зони гена PAI-1 трапляється у 26,4% випадків. У вагітних із ожирінням «мутантний» 4G-алель гена PAI-1 зустрічається на 6,4% частіше, ніж у контролі. За алельною частотою 4G/5G поліморфізму гена PAI-1 переважає «дикий» 5G-алель.

**Ключові слова:** вагітність, ожиріння, ген PAI-1(4G/5G).

**Вступ.** Пандемічний характер ожиріння останніми роками вагомою часткою зумовлений способом життя населення. Рушійною силою є надмірна калорійність харчування при зменшенні фізичного навантаження. Вплив чинників довкілля реалізується в зв'язку з генотипом окремого індивідуума. Проблема полягає ще і в тому, що генотип, котрий раніше при певному способі життя себе не проявляв, у змінених соціально-побутових умовах починає реалізовувати своє потенційно патогенетичне призначення і стає індивідуальним фактором ризику.

У структурі жінок фертильного віку ожиріння займає приблизно 30-41% [2, с. 67] і супроводжується у 2-3 рази частішим розвитком гестозу, внутрішньоутробної затримки росту, передчасних пологів, передчасним розривом плодових оболонок, самовільного абортів та відшарування плаценти. Усі ці ускладнення асоціюються з порушенням глибини інвазії трофобласту [11, с. 193].

Одним із генів-кандидатів, що приймають участь у регуляції процесів інвазії трофобласту на ранніх термінах вагітності є ген інгібітора активатора плазміногену 1-го типу (PAI-1). PAI-1 вважають ключовим чинником формування матково-плацентарної циркуляції [3, с. 655], плазмовий рівень якого визначається генетичними, метаболічними (дисліпідемія), ендокринними, дієтичними чинниками і фізичною активністю [1, с. 2].

«Мутацію» у 675 позиції промотора гена PAI-1 пов'язують із підвищенням рівня власне PAI-1 та тромбофіліями [9, с. 280]. За даними ряду досліджень [6, с. 1081; 7, с. 2473, 8, с. 545], гомозиготний 4G/4G варіант спостерігають у 82-85% жінок зі звичним невиношуванням. Окремі дослідники встановили, що наявність 4G-алеля асоціює з підвищеною плазмовою та плацентарною концентрацією PAI-1 при ожирінні [4, 10] і метаболічному синдромі [5, с. 155].

Оскільки поліморфізм 4G/5G гена PAI-1 може бути однією з головних причин генетично зумовленої дисрегуляції фібринолітичної активності та порушення плацентарної у вагітних із ожирінням, було проведено визначення частоти алелей 4G/5G гена PAI-1 у вагітних із ожирінням та без ожиріння.

**Мета дослідження.** Встановити частоту алелей та генотипів інсерційно-делеційного (I/D) поліморфізму гена PAI-1 у структурі вагітних із ожирінням та без ожиріння.

**Матеріал та методи.** У проспективному дослідженні взяло участь 72 вагітні із ожирінням (дослідна група) та 21 практично здорова вагітна без надмірної маси тіла (контрольна група), котрі підписали інформовану згоду на участь у дослідженні. За віком обстежених та паритетом досліджені групи вірогідно не відрізнялись: середній вік склав  $24,9 \pm 5,31$  року.

Забір венозної крові для проведення лабораторно-генетичних досліджень проводили на 6-10-му тижні вагітності (ембріональний період гестації). Алелі гена PAI-1 вивчали шляхом виділення геномної ДНК із лейкоцитів периферійної крові. Ампліфікували поліморфну ділянку за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на ампліфікаторі «Amplify-4L» (Росія). Фрагменти ампліфікованої ДНК розділяли методом гель-електрофорезу, забарвлювали етидієм броміду, візуалізували за допомогою транслюмінатора у присутності маркера молекулярних мас (100-1000 bp).

Також всі вагітні пройшли комплекс об'язкових акушерських обстежень, консультації вузьких спеціалістів (ендокринолога, кардіолога), загально-клінічні та біохімічні дослідження, на TORCH – інфекцію, відповідно до Наказу Міністерства охорони здоров'я України 15.07.2011, № 417 «Про організацію амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні».

Статистичну обробку проводили за допомогою прикладних програм MS® Excel® 2003™, PrimerofBiostatistics® 6.05 та Statistica® 7.0 (StatSoftInc., США). Достовірністотриманих даних вираховували методом парного тесту із застосуванням t-критерію Стьюдента (розподіл за тестом Колмогорова-Смирнова був близьким до нормального); кореляційні зв'язки – за коефіцієнтами Pearson та рангової кореляції Spearman; аналіз якісних ознак – за критерієм  $\chi^2$  (за частоти менше 5 – точний тест Фішера). Різницю вважали вірогідною при  $p < 0,05$ .

### Результати дослідження та їх обговорення.

У таблиці 1 наведено дистрибуцію алелей та генотипів 4G/5G поліморфізму гена PAI-1. «Дикий» 5G-алель гена PAI-1 спостерігали у 104 (72,2%) випадках із 186 виділених алелей, де у 7 хромосоми промоторному регіоні гена PAI-1 q21.3-q22 у позиції -675bp була однонуклеотидна інерція гуанозину (rs1799768). Несприятливий алель делеції 4G виявляла у 2,6 рази рідше – 40 випадків (27,8%) ( $p < 0,05$ ). Вірогідних відмінностей у розподілі генотипів у гена PAI-1 не виявили ( $p > 0,05$ ). При цьому частка несприятливого 4G-алеля, як у дослідній, так і контрольній групах була меншою ( $P_{4G} = 0,28$  і  $P_{4G} = 0,21$ , відповідно), ніж у осіб європеїдної ( $P_{4G} = 0,58$ ) та монголоїдної ( $P_{4G} = 0,54$ ) рас, однак перевищувала таку в екваторіальній расі ( $P_{4G} = 0,13$ ) [2]. Частота зустрічання 4G/4G-генотипу співпадала, до прикладу, із такою у жителів Саудівської Аравії хворих на хронічну ниркову недостатність, що перебували на гемодіалізі, однак була вагомо меншою, ніж у популяції загалом [3]. У вагітних із ожирінням частота «мутантного» алеля була на 6,4% більшою ( $\chi^2 = 5,81$ ,  $p = 0,016$ ), ніж у групі контролю, без вірогідних відмінностей за кількістю гетерозигот, та меншою

Таблиця 1

## Дистрибуція алелей та генотипів гена PAI-1 (4G/5G поліморфізм)

Гени	Вагітні дослідної групи, n=72				Вагітні контрольної групи, n=21			
	Алелі, n (%)	p	Генотипи, n (%)	p	Алелі, n (%)	p	Генотипи, n (%)	p
PAI-1 4G/5G	4G, n=40 (27,8)	$x^2 < 1,0$ , $p > 0,05$	4G4G, n=4 (5,5)	$x^2 < 1,0$ , $p > 0,05$	4G, n=9 (21,4)	$x^2 < 1,0$ , $p > 0,05$	4G4G, n=0	$x^2 < 1,0$ , $p > 0,05$
			4G5G, n=32 (44,4)				4G5G, n=9 (42,9)	
	5G, n=104 (72,2)		5G5G, n=36 (50,0)		5G, n=33 (78,6)		5G5G, n=12 (57,1)	

Таблиця 2

## Аналіз гетерозиготності та алельного стану 4G/5G поліморфізму гена PAI-1

Групи	Генотипи, n(%)			P <sub>4G</sub>	P <sub>5G</sub>	H <sub>E</sub>	H <sub>0</sub>	F	x <sup>2</sup>	P
	4G4G	4G5G	5G5G							
Вагітні дослідної групи, n=72	4 (5,5)	32 (44,4)	36 (50,0)	0,28	0,72	0,40	0,44	-0,11	<1,0	>0,05
Вагітні контрольної групи, n=21	0	9 (42,9)	12 (57,1)	0,21	0,79	0,34	0,43	-0,27	<1,0	>0,05
Всього, n=93(%)	4 (4,3)	41 (44,1)	48 (51,6)	0,26	0,74	0,39	0,44	-0,14	<1,0	>0,05

**Примітки:** 1. P<sub>4G</sub> – відносна частота алелі 4G; P<sub>5G</sub> – відносна частота алелі 5G. 2. H<sub>0</sub> – фактична гетерозиготність (*heterozygosity observed*); H<sub>E</sub> – очікувана гетерозиготність (*heterozygosity expected*); F – коефіцієнт інбридингу (відносна відхилення частот генотипів від панміксії (випадкового схрещування) частот у межах гетерозиготного дефіциту, чи надлишку. 3. x<sup>2</sup>p – критерій справедливості «нульової» гіпотези між фактичною і очікуваною гетерозиготністю. 4. n (%) – кількість (відсоток) спостережень.

частотою 5G гомозигот на 7,1% ( $x^2=9,61$ ,  $p=0,002$ ). Розподіл генотипів серед обстежуваних відповідав очікуваній рівновазі Харді-Вайнберга (табл. 2) при незначній тенденції до збільшення гетерозиготності ( $p > 0,05$ ).

Серед осіб дослідної групи частота зустрічання гомозигот за домінантним 5G-алелем (50,0%) вірогідно не відрізнялась від кількості гетерозигот (44,4%). У контрольній групі розподіл генотипів за геном PAI-1 теж відповідав рівновазі Харді-Вайнберга (табл. 2) і мав невірогідну тенденцію до зростання гетерозиготності, без статистично значимої різниці із такою у дослідній групі.

Таким чином, серед обстежених жінок мутація у 675 позиції промоторної зони гена PAI-1 трапляється у 26,4% випадків. У вагітних із ожирінням «мутантний» 4G-алель гена PAI-1 спостерігається на 6,4% частіше, ніж у контролі ( $x^2=5,81$ ,  $p=0,016$ ). За алельною частотою 4G/5G поліморфізму гена PAI-1 переважає «дикий» 5G-алель (73,6% проти 26,3% випадків мінорного 4G-алеля).

Літературні повідомлення щодо особливостей розподілу генотипових варіантів I/D поліморфізму гена PAI-1 носять суперечливий характер і вагомо

відрізняються в окремих популяціях, етнічних групах [5, с. 156] та расах. У чисельних дослідженнях носійство 4G-алеля асоціюється з частішим розвитком преєклампсії [1, с. 4-5], звичного невиношування [7, с. 2476], синдрому затримки розвитку плода [9, с. 286], післяпологовими ускладненнями тощо. Окремі дослідники навпаки заперечують зв'язок 4G алеля з розвитком акушерських ускладнень [12, с. 285].

Дослідження 4G/5G поліморфізму гена PAI-1 у вагітних із ожирінням та без ожиріння виконано в Україні вперше.

**Висновки.** Серед обстежених вагітних мутація у 675 позиції промоторної зони гена PAI-1 трапляється у 26,4% випадків. У вагітних із ожирінням «мутантний» 4G-алель гена PAI-1 спостерігається на 6,4% частіше, ніж у контролі ( $x^2=5,81$ ,  $p=0,016$ ). За алельною частотою 4G/5G поліморфізму гена PAI-1 переважає «дикий» 5G-алель (73,6% проти 26,3% випадків мінорного 4G-алеля).

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується вивчити вплив поліморфізму генів ACE (I/D) та PAI-1 (4G/5G) окремо та у комбінації у вагітних із ожирінням на окремі показники гемокоагуляції.

## Список літератури:

1. Лоскутова Т.О. Генний поліморфізм залежно від ступеня тяжкості преєклампсії / Т.О. Лоскутова, Воронін К.В. // Медичні перспективи. – 2011. – Т. 16, – № 4. – С. 1-5.
2. Чернуха Г.Е. /Ожирение как фактор риска нарушений репродуктивной системы у женщин/ Г.Е. Чернуха // Consilium Medicum. – 2007. – Т.9, – № 6. – <http://www.consilium-medicum.com/article/13409>
3. Differential localization and expression of urokinase plasminogen activator (uPA), its receptor (uPAR), and its inhibitor (PAI-1) mRNA and protein in endometrial tissue during the menstrual cycle / J. Nordengren, R. Pilka, V. Noskova [et al.] // Mol. Hum. Reprod. – 2004. – Vol. 10. – P. 655-663.
4. Fernandes K.S. 4G/5G polymorphism modulates PAI-1 circulating levels in obese women / K.S. Fernandes, V.C. Sandrim // Mol. Cell. Biochem. – 2012. – Vol. 364, № 1-2. – P. 299-301.
5. Naran N.H. The influence of metabolic syndrome components on plasma PAI-1 concentrations is modified by the PAI-1 4G/5G genotype and ethnicity / N.H. Naran, N. Chetty, N. J. Crowther // Atherosclerosis. – 2008. – Vol. 196, № 1. – P. 155-163.
6. Plasminogen activator inhibitor 1 4G/5G polymorphism and coagulation factor XIII Val34Leu polymorphism: impaired fibrinolysis and early pregnancy loss / A. Dossenbach-Glaninger, M. van Trotsenburg, M. Dossenbach [et al.] // Clin. Chem. – 2003. – Vol. 49, – № 7. – P. 1081-1086.
7. Polymorphisms in the ACE and PAI-1 genes are associated with recurrent spontaneous miscarriages / T. Buchholz, P. Lohse, N. Roggenhofer [et al.] // Hum. Reprod. – 2003. – Vol. 18, – № 11. – P. 2473-2477.
8. Polymorphisms of plasminogen activator inhibitor-1, angiotensin converting enzyme and coagulation factor XIII genes in patients with recurrent spontaneous abortion / M. Aarabi, T. Memariani, S. Arefi [et al.] // J. Matern. Fetal. Neonatal. Med. – 2011. – Vol. 24, № 3. – P. 545-548.

9. Recurrent pregnancy loss and its relation to combined parental thrombophilic gene mutations / O.Ozdemir, G.I.Yenicesu, F. Silan // Genet. Test. Mol. Biomarkers. – 2012. – Vol.16, № 4. – P.279 – 286.
10. Role of the 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene promoter on PAI-1 levels in obese patients: influence of distribution and insulin-resistance / M.T.Sartori, R.Vettor, G.DePergola [et al.] // Thromb. Haemost. – 2001. – Vol.86, – № 5. – P. 1161-1169.
11. The «Great Obstetrical Syndromes» are associated with disorders of deep placentation / I. Brosens, R. Pijnenborg, L. Vercruyse [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2011. – Vol. 204, – №3. – P. 193-201.
12. The PAI-1 4G/5G polymorphism is not associated with an increased risk of adverse pregnancy outcome in asymptomatic nulliparous women / J.M. Said, R. Tsui, A.J. Borg [et al.] // Thromb. Haemost. – 2012. – Vol. 10, – № 5. – P. 881-886.

**Булык Т.С.**

Буковинский государственный медицинский университет

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ИНГИБИТОРА АКТИВАТОРА ПЛАЗМИНОГЕНА 1 (РАИ-1 4G/5G) У БЕРЕМЕННЫХ С ОЖИРЕНИЕМ

### Аннотация

Проанализированы частоты аллелей и генотипов инсерционно-делеционного полиморфизма (4G/5G) гена ингибитора активатора плазминогена 1 типа (РАИ-1) в структуре беременных с ожирением и без ожирения. Среди беременных с ожирением мутация в 675 позиции промоторной зоны гена РАИ-1 встречается в 26,4% случаев. У беременных с ожирением «мутантная» 4G-аллель гена РАИ-1 встречается на 6,4% чаще, чем в контроле. По аллельной частоте 4G/5G полиморфизма гена РАИ-1 преобладает «дикая» 5G-аллель.

**Ключевые слова:** беременность, ожирение, ген РАИ-1 (4G/5G).

**Bulyk T.S.**

Bukovina State Medical University

## GENETIC POLYMORPHISM GENE PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR 1 (PAI-1 4G/5G) IN PREGNANT WITH OBESITY

### Summary

Analyzed the frequency of alleles and genotypes of insertion-deletion polymorphism (4G/5G) of the gene plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) in the structure of pregnant women with and without obesity. Among pregnant women with obesity, mutation at position 675 of the gene promoter areas PAI-1 is found in 26,4% of cases. In pregnant women with obesity, «mutant» 4G-allele of PAI-1 gene occurs by 6,4% more than in controls. Among allele frequency of 4G/5G polymorphism of gene PAI-1 prevails «wild» 5G-allele.

**Keywords:** pregnancy, obesity, gene PAI-1 (4G/5G).

УДК 612

## ОШИБКИ В ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО АФТОЗНОГО СТОМАТИТА У ДЕТЕЙ

**Гончаренко В.А.**

Буковинский государственный медицинский университет

Проанализированы 84 истории болезни детей с хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом. Обнаружены типичные ошибки в диагностике и лечении: неполноценный сбор анамнеза, отсутствие результатов дополнительных методов обследования или неправильная их интерпретация, отсутствие консультаций других специалистов, необоснованные изменения в рационе питания, преобладание местного симптоматического лечения и отсутствие или некорректность общего лечения.

**Ключевые слова:** хронический рецидивирующий афтозный стоматит, дети, диагностика, лечение.

**Актуальность темы.** Одним из распространенных заболеваний слизистой оболочки полости рта у детей является хронический рецидивирующий афтозный стоматит (ХРАС). При этом до сих пор отсутствуют единые взгляды на этиологию данной патологии [1, с. 407; 6, с. 510]. В мировой литературе много сообщений посвящено этиологической роли микрофлоры полости рта и пищеварительного тракта в развитии этого заболевания. Некоторыми авторами установлена зависимость возникновения заболевания от витаминного баланса, конституционной предрасположенности [5, с. 162-164]. Вместе

с тем, клинические и экспериментальные данные свидетельствуют о том, что рецидивирующие афты полости рта возникают на фоне дисфункции и патологии органов пищеварительного тракта, иммунной системы и других сопутствующих заболеваний [2, с. 288]. Одной из наиболее распространенных теорий развития ХРАС у детей является сенсibilизация организма в ответ на воздействие какого-нибудь аллергена, т.е. аллергическая природа заболевания. Таким образом, достижения последних лет указывают на тот факт, что ХРАС не возникает как сугобо местное заболевание слизистой оболочки по-