

ОСОБЛИВОСТІ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНУ IL-10 (-592 C/A) ТА (-1082 G/A) У ВАГІТНИХ ЖІНОК

І.І. Воробйова, Т.С. Толкач, В.Б. Ткаченко, С.М. Толкач, А.М. Кучеренко
ДУ «Інститут педіатрії акушерства і гінекології НАМН України» м. Київ, Україна
ННЦ «Інститут біології» Київський національний університет ім. Т. Шевченка, Україна

Мета: вивчити особливості розподілу поліморфізмів гена IL-10 у жінок з невиношуванням вагітності та у здорових.

Пацієнти та методи. Основну групу обстежених склали 54 вагітні з невиношуванням вагітності в анамнезі, а контрольну — 106 вагітних з фізіологічним перебігом вагітності та без репродуктивних втрат в анамнезі. Виконано молекулярно-генетичне дослідження методом полімеразної ланцюгової реакції з виділенням ДНК з периферичної крові. Проведено статистичний аналіз отриманих даних.

Результати. Встановлено, що у носіїв алеля G в локусі (-1082 G/A) гена IL-10 шанси на фізіологічний перебіг вагітності зростають в 1,49 разу, а в носіїв алеля C в локусі (-592 C/A) гена IL-10 — в 1,827 разу.

Висновки. Отже, маркерами успішного перебігу вагітності є алель G в локусі (-1082 G/A) та алель C в локусі (-592 C/A) гена IL-10.

Ключові слова: невиношування вагітності, фізіологічний перебіг вагітності, гени, IL-10.

Вступ

Перед сучасною медициною особливо гостро поставило питання стосовно необхідності розвитку новітніх методик виявлення, профілактики та лікування акушерсько-гінекологічної патології, спрямованих на забезпечення та всебічне сприяння реалізації жінкою функції материнства, починаючи з етапу запліднення й до народження здорової дитини. В умовах несприятливої демографічної ситуації з негативним природним приростом населення набуває державного значення питання щодо відтворення населення.

На сьогодні невиношування вагітності залишається однією з провідних проблем у сучасному акушерстві, що зумовлено високою частотою даної патології (за даними ВООЗ, 15–20% результатів усіх вагітностей). В Україні останніми роками цей показник у загальній кількості бажаних вагітностей зріс з 7,3% до 17,0%, що набуває не тільки медичного, але й соціального значення [9].

Відомо, що в 25–57% випадків генез невиношування вагітності не визначений [4, 8].

Останніми роками доведено, що в патогенезі невиношування вагітності важлива роль належить порушенням імунного гомеостазу, у т.ч. генетично обумовленим, які спричиняють певну відповідь імунної системи матері на алоантигени плода [3].

Обов'язковою умовою для успішного перебігу вагітності є індукція гестаційної цитокін-опосередкованої імуносупресії. А однією з найбільш значущих причин передчасного переривання вагітності є дисбаланс у цитокіновій системі [1].

Встановлено, що основну роль у процесах індукції толерантності до алоантигенів плода відіграє протизапальний IL-10.

Світові дослідження показали, що IL-10 пригнічує продукцію цитокінів прозапального ряду й призводить до зниження рівня ПГЕ2 у тканинах. Крім того, IL-10 посилює катаболізм простагландинів. У досліджах на мавпах доведено, що IL-10 блокує розвиток передчасних пологів, індукованих IL-1β. Зниження рівня IL-10 в крові і цервікальному слизу у вагітних з загрозою передчасного переривання вагітності свідчить про його безпосередню участь у процесах імунологічного контролю фізіологічного перебігу вагітності [7].

Функціонування цитокінової ланки при вагітності залежить від багатьох причин, серед яких — індивідуальні відмінності в продукції імунорегуляторних молекул, що також можуть обумовлюватися рядом генетичних особливостей [2].

Методами молекулярної медицини встановлено, що гени цитокінів характеризуються наявністю одного чи кількох структурних поліморфізмів, які впливають на функціональну активність чи рівень експресії білків, що ними кодуються [5].

З метою ідентифікації молекулярно-генетичних маркерів схильності до невиношування вагітності проаналізовано розподіл поліморфних варіантів гена IL-10 у вагітних жінок української популяції.

Мета дослідження — вивчити особливості розподілу поліморфізмів гена IL-10 у жінок зі звичною втратою вагітності різних термінів і фізіологічним перебігом вагітності.

У дослідженні вивчено поліморфізми -592C/A та -1082G/A гена IL-10, з огляду на його важливу роль у регуляції та підтримці імунологічного балансу при успішній вагітності.

Матеріал і методи дослідження

Для даного дослідження обрано 54 жінки з однією та більше втратами клінічно доведеної вагітності та загрозою викидня невизначеної етіології (основна група). Критеріями виключення з молекулярно-генетичного дослідження була наявність анатомічних, хромосомних порушень у пацієнток. Контрольна група становила 106 здорових жінок з однією та більше живими дітьми (середній вік осіб відповідав такому в дослідній групі).

ДНК виділено з периферичної крові. Молекулярно-генетичне дослідження виконано методом полімеразної ланцюгової реакції та включало дослідження гена IL-10 (-592C/A IL-10) та (-1082G/A IL-10).

За допомогою лабораторного генетичного тесту з визначенням поліморфізму вищезазначеного гена отримано результати у вигляді фрагментів алельних генів. Для поліморфізму гена -592C/A IL-10 гомозигота за домінантним типом означена як CC, гетерозигота — CA, гомозигота за рецесивним типом — AA. Для поліморфізму гена -1082G/A IL-10 гомозигота за домінантним типом була означена як GG, гетерозигота — GA, а гомозигота за рецесивним типом — AA.

Статистичний аналіз проведено з використанням GENEPPOP і OpenEpi статистичних пакетів.

Підраховано частоти алелів для кожного генотипу і різницю в частотах алелів у дослідній групі жінок зі звичною втратою вагітності та в контрольній групі.

Розподіл генотипів за досліджуваними поліморфними локусами перевірено на відповідність рівновазі Харді–Вайнберга за допомогою тесту Фішера. Для порів-

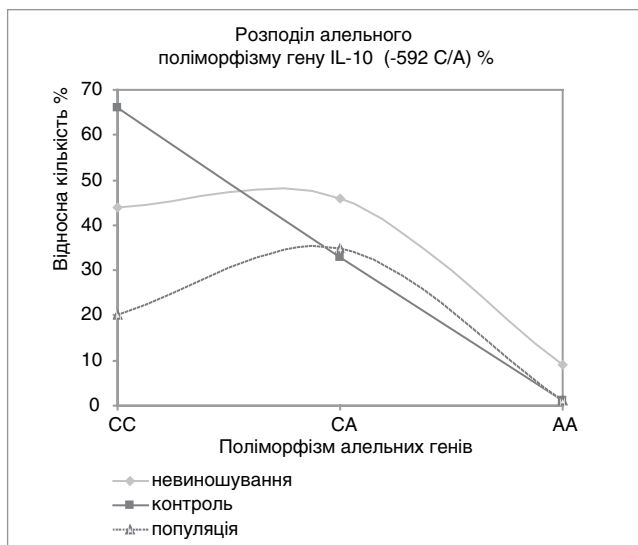


Рис. 1. Розподіл алейного поліморфізму гену IL-10 (-592C/A), %

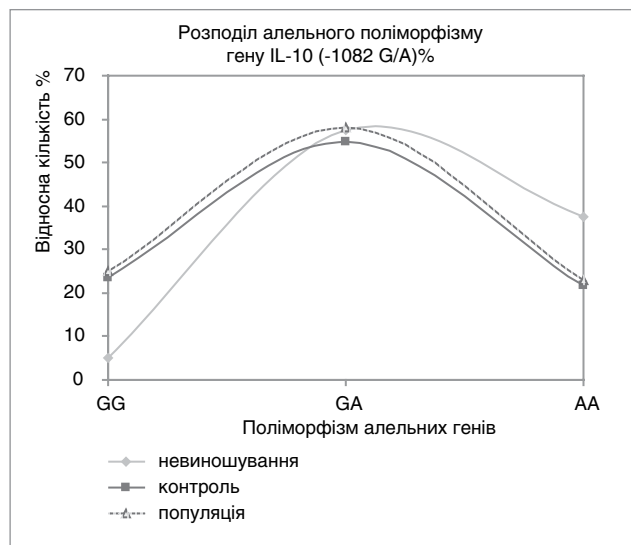


Рис. 2. Розподіл алейного поліморфізму гену IL-10 (-1082G/A), %

няння частот алелів між різними групами використано критерій Пірсона χ^2 . Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0.05$. Для аналізу асоціації алелів і генотипів досліджуваних генів з ризиком розвитку акушерських ускладнень розраховано відношення шансів (OR) з 95% довірчими інтервалами.

Результати досліджень та їх обговорення

У 54 жінок основної групи та 106 жінок контрольної групи проведено генотипування для визначення поліморфізмів гену IL-10 в локусах -592C/A і -1082G/A з метою встановлення зв'язку між цими послідовностями та ризиком звичної втрати вагітності. Середній вік досліджуваних осіб становив 27 років в основній групі та 25 років – у контрольній. Середня кількість втрат вагітностей в основній групі склала 2,3. Середній гестаційний вік абортивних плодів становив 7,4 тижня.

У 54 жінок основної групи отримано такі результати поліморфізмів гену IL-10 в локусі -592C/A: CC – 24 (44,4%) випадки, CA – 25 (46,3%) випадків, AA –

5 (9,3%) випадків; у контрольній групі – відповідно 70 (66%), 35 (33%) та 1 (3%) для цього локусу. Для поліморфізмів гену IL-10 в локусі -1082G/A в основній групі: GG – 3 (5%) випадки, GA – 31 (57,4%) випадок, AA – 20 (37,5%) випадків; у контрольній – відповідно 25 (23,6%), 58 (54,7%) і 23 (21,7%).

Оскільки для оцінки показників генетичних досліджень, враховуючи етнічні та інші особливості, використовуються методи статистичних моделей, нами проведено відповідний статистичний аналіз відносних ризиків розвитку патології залежно від алейного складу досліджуваних генів.

Дослідження частоти розподілу генотипів і алелів гену IL-10 (-592C/A та -1082G/A) між жінками основної та контрольної груп виявило певні розбіжності. Порівняно з контрольною групою, в жінок з невіношуванням вагітності значно знизилася кількість домінуючих алейних генів у відповідних локусах за рахунок збільшення сумарної кількості рецесивних алейних генів у вигляді гетерозигот і гомозигот за рецесивним типом.

Таблиця 1

Відносний ризик невіношування вагітності при наявності в генотипі алеля А гену IL-10 (-592 C/A)

Алейний поліморфізм	p	χ^2	OR
Ризик розвитку патології при гетерозиготному носійстві CC/CA	0,03605	4,39	2,083 (1,043–4,160)
Ризик розвитку патології при гомозиготному носійстві CC/AA	0,00248	9,15	14,583 (1,622–131,157)
Ризик розвитку патології при наявності алеля А CC/CA+AA	0,00870	6,88	2,431 (1,243–4,753)

Таблиця 2

Відносний ризик невіношування вагітності при наявності в генотипі алеля С гену IL-10 (-592 C/A)

Алейний поліморфізм	p	χ^2	OR
Ризик розвитку патології при гетерозиготному носійстві AA/CA	0,05066	3,82	0,143 (0,016–1,299)
Ризик розвитку патології при гомозиготному носійстві AA/CC	0,00248	9,15	0,069 (0,008–0,617)
Ризик розвитку патології при наявності алеля С CC+CA/AA	0,00884	6,85	0,093 (0,011–0,820)

Таблиця 3

Відносний ризик невиношування вагітності при наявності в генотипі алеля А гена IL-10 (-1082 G/A)

Алельний поліморфізм	p	χ^2	OR
Ризик розвитку патології при гетерозиготному носійстві GG/GA	0,01423	6,01	4,454 (1,245–15,931)
Ризик розвитку патології при гомозиготному носійстві GG/AA	0,00163	9,92	7,246 (1,899–27,650)
Ризик розвитку патології при наявності алеля А GG/GA+AA	0,00454	8,05	5,247 (1,507–18,272)

Таблиця 4

Відносний прогнозований ризик невиношування вагітності при наявності в генотипі алеля G гена IL-10 (-1082 G/A)

Алельний поліморфізм	p	χ^2	OR
Ризик розвитку патології при гетерозиготному носійстві AA/GA	0,19649	1,67	0,615 (0,293–1,290)
Ризик розвитку патології при гомозиготному носійстві AA/GG	0,00163	9,92	0,138 (0,036–0,527)
Ризик розвитку патології при наявності алеля А GG+GA/AA	0,03849	4,28	0,471 (0,229–0,968)

Таблиця 5

Прогнозування невиношування вагітності залежно від алельного поліморфізму гена IL-10 (-592 C/A) в обстежених жінок

Алельний поліморфізм	p	χ^2	OR
Ризик при наявності алеля С	0,00245	9,18	0,441 (0,258–0,754)
Ризик при наявності алеля А	0,00245	9,18	2,268 (1,326–3,879)

Таблиця 6

Прогнозування невиношування вагітності залежно від алельного поліморфізму гена IL-10 (-1082 G/A) в обстежених жінок

Алельний поліморфізм	p	χ^2	OR
Ризик при наявності алеля G	0,00458	8,04	0,502 (0,311–0,811)
Ризик при наявності алеля А	0,00458	8,04	1,993 (1,233–3,221)

Отримані дані (табл. 1, 2) вказали, що наявність алеля А в локусі -592 C/A привела до підвищеного ризику невиношування вагітності.

При гетерозиготному носійстві ризик невиношування майже вдвічі зріс порівняно з гомозиготним носійством за домінантним алельним геном. При гомозиготному носійстві алельного гена А ризик невиношування достовірно підвищився в 14 разів порівняно з гомозиготним носійством домінантного гена. Сумарно при носійстві рецесивного алельного гена ризик невиношування вагітності був удвічі вищим, ніж у випадках носійства домінантного гена.

За даними таблиць 3 та 4, при гетерозиготному носійстві алелю А в локусі гена IL-10 (-1082 G/A) ризик невиношування вагітності зріс у 3,8 разу порівняно з гомозиготним за домінантним геном носійством.

При гомозиготному складі гена за рецесивним алельним геном ризик патології під час вагітності збільшився у 7 разів. У цілому при носійстві рецесивного алельного гена у всіх варіантах ризик невиношування вагітності зріс порівняно з домінантним варіантом гена у 4,7 разу.

Отримані результати засвідчили, що частота алеля G високої експресії гена IL-10 зустрічалася переважно при фізіологічному перебігу вагітності порівняно з таким у жінок з невиношуванням. Тоді як алель А зазначеного

поліморфізму -1082 G/A гена IL-10 виявлявся здебільшого в жінок з гестаційними ускладненнями.

За результатами підрахунків, при наявності алеля G гена IL-10 (-1082 G/A) відношення шансів для патологічного перебігу вагітності становило 0,502, а при наявності алеля А — 1,993. Тобто шанс на фізіологічний перебіг вагітності у 1,49 разу був більшим у носіїв алеля G. Таким чином, саме цей алель у гомозиготному стані (GG) можна вважати генетичним маркером успішної вагітності.

Поліморфізм алеля С високої експресії гена -592 C/A IL-10 у гомозиготному стані (CC) зустрічався переважно у жінок з фізіологічним перебігом вагітності. Поліморфізм алеля А у гомозиготному (AA) та гетерозиготному (CA) стані — переважно при ускладненій вагітності. Допускають, що алель А послаблює продукцію IL-10 мононуклеарами, що характерно для жінок зі звичним невиношуванням вагітності. Крім того, недостатня продукція IL-10 призвела до дисбалансу в імунній системі, що, своєю чергою, порушило експресію молекул 1 та 2 класу головного комплексу гістосумісності. При цьому в надмірній кількості синтезувалися великі гранулоцити і моноцити, які відіграють провідну роль у передчасному перериванні вагітності [6].

Для гену IL-10 (-592 C/A) при алелю С відношення шансів патологічного перебігу вагітності складало 0,441, а при наявності алелю А — 2,268. Таким чином, вагітність

перебігає без ознак невиношування в більшості випадків у носіїв алеля С. Тобто в цьому випадку маркером успішної вагітності є алель С. Шанс на успішний перебіг вагітності у жінок носіїв алеля С більший у 1,827 разу.

Невиношування вагітності є мультифакторним захворюванням, тому слід продовжити дослідження щодо встановлення кумулятивних ефектів гена IL-10 з урахуванням проведених нами попередніх досліджень генів системи згортання крові, функції ендотелію судинної стінки, метаболізму, гормонів та їх рецепторів.

Висновки

1. У жінок української популяції генетичним маркером успішного перебігу вагітності є наявність алеля G в

локусі -1082G/A гену, що кодує IL-10, і наявність алеля С в локусі -592 C/A гену, що кодує IL-10.

2. Гомозигота за алеллю G (-1082 G/A) має достовірно вищі шанси на успішний перебіг вагітності, ніж гомозигота за рецесивною алеллю цього ж гену, а саме у 1,49 разу. При цьому наявність гетерозиготного складу алельних генів не виявила достовірної різниці у ризику невиношування вагітності.

3. Гомозигота за алеллю С (-592 C/A) також має вищі шанси на успішний перебіг вагітності, ніж гомозигота за рецесивною алеллю, в цьому випадку фізіологічний перебіг вагітності прогнозується у 1,827 разу частіше. Гетерозигота за даним локусом також має підвищений ризик невиношування вагітності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дубоссарская З.М. Основные вопросы иммунологии репродукции / З.М. Дубоссарская, Ю.А. Дубоссарская // Здоровье Украины. — 2010. — №4(31). — С. 15—21.
2. Радзинський В.Е. Неразвивающаяся беременность / В.Е. Радзинський, В.И. Дмитрова, И.Ю. Майскова. — М., 2009.
3. Associations between cytokine gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss / S. Daher, N. Shulzhenko, A. Morgun [et al.] // Journal of Reproductive Immunology. — 2003. — Vol. 58, №1. — P. 69—77.
4. Bombell S. Cytokine polymorphisms in women with recurrent pregnancy loss: meta-analysis / S. Bombell, W. McGuire // Aust N Z J Obstet Gynaecol. — 2008. — №48(2). — P. 147—154.
5. Evidence-based guidelines for the investigation and medical treatment of recurrent miscarriage / Eric Jauniaux, Roy G. Farquharson, Ole B. Christiansen and Niek Exalto // Human Reproduction. — 2006. — Vol. 21, №9. — P. 2216—2222.
6. Kimatrai M. Contractile activity of human decidual stromal cells. Effect of interleukin-10 / M. Kimatrai, O. Blanco, R. Munoz-Fernandez // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2005. — Vol. 90. — P. 6126—6130.
7. Medica I. Association between genetic polymorphisms in cytokine genes and recurrent miscarriage — a meta-analysis / I. Medica // Reproductive BioMedicine. — 2009. — №3, Vol. 19. — P. 406—414.
8. Recurrent miscarriage: current concepts in diagnosis and treatment / B. Toth, U. Jeschke, N. Rogenhofner [et al.] // Journal of Reproductive Immunology. — 2010. — Vol. 85, №1. — P. 25—32.
9. Rull K. Genetics of recurrent miscarriage: challenges, current knowledge, future directions / K. Rull, L. Nagirnaja, M. Laan // Front Genet. — 2012. — №3. — P. 34—39.

ОСОБЕННОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА IL-10 (-592 C/A и -1082 G/A) У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН

И.И. Воробьева, Т.С. Толкач, В.Б. Ткаченко, С.Н. Толкач, А.М. Кучеренко

ГУ «Институт педиатрии акушерства и гинекологии НАМН Украины», г. Киев, Украина

ННЦ «Институт биологии» Киевский национальный университет им. Т. Шевченка, Украина

Цель: изучить особенности распределения полиморфизмов гена IL-10 у женщин с невынашиванием беременности и у здоровых.

Пациенты и методы. Основную группу обследованных составили 54 беременные женщины с невынашиванием беременности в анамнезе, а контрольную — 106 беременных с физиологическим течением беременности и без репродуктивных потерь в анамнезе. Выполнено молекулярно-генетическое исследование методом полимеразной цепной реакции с выделением ДНК из периферической крови. Проведен статистический анализ полученных данных.

Результаты. Установлено, что у носителей аллеля G в локусе (-1082 G/A) гена IL-10 шансы на физиологическое течение беременности увеличиваются в 1,49 раза, а у носителей аллеля С в локусе (-592 C/A) гена IL-10 — в 1,827 раза.

Выводы. Таким образом, маркерами успешного течения беременности являются аллель G в локусе (-1082 G/A) гена IL-10 и аллель С в локусе (-592 C/A) гена IL-10.

Ключевые слова: невынашивание беременности, физиологическое течение беременности, гены, IL-10.

PATTERNS OF POLYMORPHISM OF IL-10 (-592 C/A and -1082 G/A) GENE IN PREGNANT WOMEN

I.I. Vorobyeva, T.S. Tolkach, V.B. Tkachenko, S.M. Tolkach, A.M. Kucherenko

SU «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology, NAMS of Ukraine», Kiev, Ukraine

ESC «Institute of Biology» T. Shevchenko Kyiv National University, Ukraine

The purpose of the study: to explore main features of the distribution of polymorphisms of IL-10 gene in women with recurrent miscarriages and healthy women.

Patients and methods. The main group of examinees were 54 pregnant women with a history of miscarriage, the control group consisted of 106 pregnant women with physiological pregnancy and without a history of reproductive loss. Molecular genetic testing by polymerase chain reaction of DNA from peripheral blood was carried out. The statistical analysis of the data obtained.

Results: according to the study the physiological chance for pregnancy is 1.49 times higher in carriers of allele G at a locus (-1082 G / A) of IL-10 gene and 1.827 times higher the chances of the physiological course of pregnancy are in carriers of allele C at locus (-592 C / A) of IL-10 gene.

In conclusion: thus markers of successful pregnancy are G allele at the locus (-1082 G / A) of IL-10 gene, and C allele at a locus (-592 C / A) of IL-10 gene.

Key words: miscarriage, physiological pregnancy, genes, IL-10.