УДК 618.2/3:612.017.1

ОСОБЛИВОСТІ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНУ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-8 (-781C/T) У ВАГІТНИХ ЖІНОК

І.І. Воробйова, Т.С. Наквасюк, С.М. Толкач, Т.С. Черненко, А.М. Кучеренко
ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України», м. Київ, Україна
ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету ім. Т. Шевченка, м. Київ, Україна

Мета: вивчити особливості розподілу поліморфізмів гену IL-8 у жінок з невиношуванням вагітності та у здорових жінок.
Пацієнти та методи. Основну дослідну групу становили 64 вагітні з невиношуванням вагітності в анамнезі, контрольну групу — 106 вагітних з фізіологічним перебігом вагітності та без репродуктивних втрат в анамнезі. Виконано молекулярно-генетичне дослідження методом полімеразної ланцюгової реакції з виділенням ДНК з периферійної крові. Проведено статистичний аналіз отриманих даних.
Результати. Встановлено, що шанс на розвиток ускладнень вагітності в 1,85 разу більший у носіїв алелі Т у локусі (-781 C/T) гену IL-8. Таким чином, маркером успішного перебігу вагітності у жінок української популяції репродуктивного віку є алель С в локусі (-781 C/T) гену IL-10. Гомозиготне носійство алелі ТТ має в 1,5 разу вищий ризик патології вагітності, ніж усі носії домінантного гену (гомозиготи та гетерозиготи). Всі носії рецесивного алельного гену (гомозиготи та гетерозиготи) мають втричі більший ризик розвитку невиношування, ніж гомозиготи за домінантною алеллю. Носії генотипів С/Т та Т/Т мають відповідно в 2 та в 1,5 разу вищі ризики розвитку патології порівняно з гомозиготними носіями домінантного гену.
Висновки. Невиношування вагітності є мультифакторним захворюванням, тому слід з'ясувати кумулятивні ефекти гену IL-8 з урахуванням проведених нами досліджень генів системи згортання крові, функції ендотелію судинної стінки, метаболізму, гормонів та їх рецепторів.
Ключові слова: невиношування вагітності, фізіологічний перебіг вагітності, гени, IL-8.

Вступ

Репродуктивне здоров'я та народжуваність — найбільш значущі показники благополуччя як окремого індивідума, так і популяції в цілому. В умовах несприятливої демографічної ситуації, коли стрімко зменшується число жінок, здатних народити дитину, особливо актуальним є збереження і підтримка розвитку вагітності в подружніх пар, які прагнуть мати дітей [9].

За даними статистики, щорічно в Україні кожна п'ята бажана вагітність завершується самовільним викиднем. Втрачені вагітності становлять майже 17% усіх бажаних вагітностей, при цьому 75–80% викиднів трапляється у ранніх строках (до 12 тижнів вагітності), і, на жаль, немає тенденції до зниження цих показників [8].

У більшості випадків самовільне припинення вагітності має повторюваний характер, що свідчить про наявність постійно присутніх факторів, які обумовлюють такий розвиток подій [4]. Виходячи з цього, невиношування вагітності можна розглядати як мультифакторне захворювання, що виникає внаслідок взаємодії функціонально слабких алелей багатьох генів на тлі несприятливих зовнішніх і внутрішніх факторів впливу на організм жінки.

Тому пошук генетичних маркерів мультифакторної патології, який базується на вивченні поліморфізму окремих генів, є дуже важливим. А визначення алелей генів, що певним чином впливають на перебіг вагітності, має величезне значення для виявлення груп ризику та попередження виникнення невиношування вагітності [3].

Саме поєднання неповноцінних, функціонально слабких алелей на тлі провокуючих факторів внутрішнього і зовнішнього середовища може призводити до патології вагітності та порушення розвитку ембріона. Враховуючи складність систем взаємодії матері і плода, що визначають гармонічне їх співіснування, ця функціональна слабкість різних генів може проявляти себе лише при вагітності [1].

Що ж стосовно ролі інтерлейкіну-8 (IL-8), то його основною функцією у створенні імунної відповіді є роль хемоатрактанту для гранулоцитарних лейкоцитів. Ця здатність цитокіну викликати міграцію клітин та посилювати їх адгезивні властивості визначає його як посередника у формуванні гострої запальної реакції. IL-8, який продукують клітини плаценти, потенціює імунну компетентність плацентарних клітин проти бактерій, що атакують фетоплацентарний комплекс [7].

У літературі існують дані, що IL-8 бере активну участь у підтримці розвитку трофобласту в ранні терміни вагітності. Інвазія трофобласта в децидуальну оболонку матки та внутрішню третину міометрію є переломним моментом в успішному формуванні плаценти. Одним з відповідальних факторів за процес успішної інвазії трофобласту є саме IL-8. Цей цитокін впливає на індукцію ангіогенезу в місці прикріплення зародка. Підвищення секреції IL-8 у системі «мати—плацента—плід» свідчить про його важливу роль у підтримці імунологічної толерантності під час вагітності [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 огляду на важливу роль IL-8 у підтримці фізіологічного перебігу вагітності, з метою ідентифікації молекулярно-генетичних маркерів схильності до невиношування проведено аналіз розподілу поліморфних варіантів гену IL-8 у вагітних жінок української популяції.

Мета дослідження — вивчити особливості розподілу поліморфізму гену інтерлейкіну-8 у жінок зі звичною втратою вагітності на ранніх термінах і з фізіологічним перебігом вагітності.

Матеріал і методи дослідження

Для визначення зв'язку поліморфізму гену IL-8 у локусі -781C/T та ризиком звичної втрати вагітності обстежено 64 жінки з однією та більше втратами клінічно доведеної вагітності та загрозою викидня невизначеної етіології. Критеріями виключення з молекулярно-генетичного дослідження була наявність у пацієнток анатомічних або хромосомних порушень. Контрольна група становила 106 здорових жінок з одним і більше живими дітьми. Середній вік осіб відповідав такому в дослідній групі.

ДНК виділяли з периферійної крові. Молекулярно-генетичне дослідження виконано методом полімеразної ланцюгової реакції та включало дослідження гену інтерлейкіну-8 (-781C/T). За допомогою лабораторного генетичного тесту з визначенням поліморфізму вищезазначеного гену отримано результати у вигляді фрагментів алельних генів. Для поліморфізму гену -781C/T IL-8 гомозигота за домінантним типом була означена як СС, гетерозигота — СТ, гомозигота за рецесивним типом — ТТ.

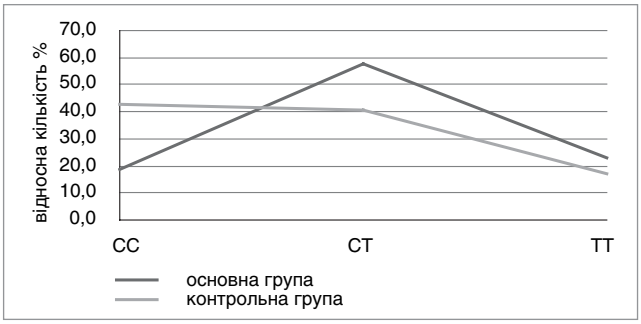

Рис. Розподіл алельного поліморфізму гену IL-8 (-781 C/T) у вагітних

Статистичний аналіз проведено з використанням GENEPOP і OpenEpi статистичних пакетів.

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

Розподіл генотипів за досліджуваними поліморфними локусами перевірено на відповідність рівновазі Харді-Вайнберга за допомогою тесту Фішера. Для порівняння частот алелей між різними групами використано критерій Пірсона χ^2. Відмінності вважалися статистично значущими при p?0.05. Для аналізу асоціації алелей і генотипів досліджуваних генів з ризиком розвитку акушерських ускладнень розраховано відношення шансів (OR) з 95% довірчими інтервалами.

Результати досліджень та їх обговорення

Середній вік досліджуваних осіб становив 27 років для дослідної групи та 25 років для контрольної групи. Середня кількість втрат вагітностей у дослідній групі становила 2,3. Середній гестаційний вік абортивних плодів дорівнював 7,4 тижня.

При проведенні дослідження розподілу поліморфізму гену IL-8 в локусі -781C/T у жінок зі звичною втратою вагітності отримано такі результати: CC — 12 (18,75%) випадків, CT — 37 (57,8%) випадків, TT — 15 (23,0%) випадків. У контрольній групі відповідні показники дорівнювали 45 (42,5%), 43 (40,5%) і 18 (17,0%).

Дослідження частоти розподілу генотипів і алелей гену IL-8 (-781C/T) між жінками основної та контрольної груп виявило певні розбіжності. Порівняно з контрольними показниками у жінок з невиношуванням вагітності виявлено значне зменшення кількості домінантних алельних генів у відповідному локусі за рахунок зменшення кількості гомозигот за домінантним типом. Оскільки для оцінки показників генетичних досліджень, враховуючи їх етнічні та інші особливості, використовуються методи статистичних моделей, нами проведено відповідний статистичний аналіз з визначенням відносних ризиків розвитку патології залежно від алельного складу досліджуваних генів.

У зв'язку з тим, що досліджуваний розподіл показників у вибірці генетичних досліджень у жінок основної та контрольної груп відповідає закону Харді—Вайнберга, можливо застосувати різні моделі наслідування для визначення ролі алельного складу гену в формуванні успішного перебігу вагітності у жінок української популяції.

За даними табл. 1, відношення шансів для алелі T становило більше одиниці, порівняно зі значенням цього показника для алелі C, що є значущим для перебігу вагітності, таким чином, шанс на розвиток ускладнень вагітності у вигляді невиношування в 1,85 разу вищий у носіїв алелі T.

За даними табл. 2, статистичні показники для загальної моделі наслідування показали, що генотип C/T мав найбіль-

Таблиця 1

Мультиплікативна модель наслідування (тест хі-квадрат, df=1)

Генотип	Основна група	Контрольна група	χ2	p	OR	
	n=64	n=106			значення	95% CI
Алель C	0,477	0,627	7,41	0,007	0,54	0,35–0,84
Алель T	0,523	0,373			1,85	1,19–2,88

Таблиця 2

Загальна модель наслідування (тест хі-квадрат, df=2)

Генотип	Основна група	Контрольна група	χ2	p	OR	
	n=64	n=106			значення	95% CI
Генотип C/C	0,188	0,425	10,07	0,007	0,31	0,15–0,65
Генотип C/T	0,578	0,406			2,01	1,07–3,77
Генотип T/T	0,234	0,170			1,50	0,69–3,23

Таблиця 3

Домінантна модель наслідування (тест хі-квадрат, df=1)

Генотип	Основна група	Контрольна група	χ2	p	OR	
	n=64	n=106			значення	95% CI
Генотип C/C	0,188	0,425	10,06	0,002	0,31	0,15–0,65
Генотип C/T + T/T	0,813	0,575			3,20	1,53–6,68

Таблиця 4

Рецесивна модель наслідування (тест хі-квадрат, df=1)

Генотип	Основна група	Контрольна група	χ2	p	OR	
	n=64	n=106			Значення	95% CI
Генотип C/C+C/T	0,766	0,820	1,06	0,3	0,67	0,31–1,44
Генотип T/T	0,234	0,170			1,50	0,69–3,23

шу серед вказаних вірогідність розвитку порушень вагітності, для цього генотипу відношення шансів щодо якості перебігу вагітності дорівнювало 2,01, що свідчить про майже вдвічі вищу вірогідність розвитку патологічних ускладнень.

Для генотипу T/T — таке відношення шансів становило 1,50, що дає змогу стверджувати, що вірогідність розвитку патології вагітності у разі наявності цього генотипу в 1,5 разу вища порівняно з іншими.

Розглядаючи домінантну модель наслідування, подану у таблиці 3, можна стверджувати, що всі генотипові варіанти, які містять у своєму складі алель T, з більшою вірогідністю матимуть ускладнення в перебігу вагітності, зокрема, у вигляді невиношування, порівняно з носіями домінантної алелі C. При цьому показник відношення шансів вказує на те, що у даної когорти осіб ризик розвитку невиношування вагітності сумарно майже втричі вищий за показник для тих, хто має в своєму генотипі гомозиготний за домінантним типом склад поліморфного гену.

Розрахунки відносного ризику патології вагітності у вигляді рецесивної моделі наслідування, за даними таблиці 4, показали, що підвищений ризик патології вагітності мають особи з гомозиготним за рецесивною алеллю складом поліморфного гену IL-8. В даному випадку відношення шансів дорівнює достовірно 1,50, тобто відносний ризик розвитку невиношування вибірково для носіїв рецесивного алельного варіанту гену в 1,5 разу вищий, ніж такий для осіб, що мають у складі поліморфного гену домінантну алель.

Отримані результати засвідчили, що частота алелі С високої експресії гену ІЛ-8 зустрічається переважно при фізіологічному перебігу вагітності порівняно з таким у жінок з невиношуванням. Водночас, алель Т зазначеного поліморфізму — 781 С/Т гену ІЛ-8 виявляється переважно у жінок з наявними гестаційними ускладненнями. За результатами підрахунків, при наявності алелі Т гену IL-8 (-781 C/T) відношення шансів для патологічного перебігу вагітності дорівнює 1,85, а при наявності алелі С — 0,54. Тобто шанс на ускладнений перебіг вагітності в 1,85 разу більший у носіїв алелі Т. Таким чином, саме алель С у гомозиготному стані (СС) може вважатися генетичним маркером успішної вагітності.

Таким чином, проведені дослідження дають змогу стверджувати, що носії усіх варіантів алелі Т (сумарно гомозиготи за рецесивною алеллю і гетерозиготи) мають втричі вищі шанси розвитку невиношування відносно носіїв домінантного гену в гомозиготному варіанті. А гомозиготи за рецесивним типом мають в 1,5 разу вищі шанси ускладнень щодо суми всіх носіїв домінантного гену (гомозигот за домінантним геном і гетерозигот).

Враховуючи те, що невиношування вагітності є мультифакторним захворюванням, дослідження будуть продовжені в напрямку з'ясування кумулятивних ефектів гену IL-8 з урахуванням проведених нами досліджень генів системи згортання крові, функції ендотелію судинної стінки, метаболізму, гормонів та їх рецепторів.

Висновки

1. У жінок репродуктивного віку України генетичним маркером успішного перебігу вагітності є наявність алелі С в локусі — 781 С/Т гену, що кодує IL-8. Носії алелі Т мають в 1,85 разу вищий ризик розвитку ускладнень вагітності.

2. Гомозигота за алеллю ТТ (-781 С/Т) має достовірно менші шанси на успішний перебіг вагітності, ніж сумарно всі носії домінантного гену (гомозигота за домінантною алеллю цього ж гену та гетерозигота), а саме в 1,5 разу.

3. Усі носії рецесивного алельного гену (сумарно гомозиготи за рецесивним типом та гетерозиготи) вірогідно мають втричі вищий ризик розвитку патології вагітності порівняно з гомозиготою за домінантною алеллю.

4. Носії генотипу С/Т та Т/Т мають відносні ризики в 2 та 1,5 разу вищі порівняно з носіями гомозиготного за домінантною алеллю гену стосовно розвитку такого ускладнення вагітності, як невиношування.

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. Маскова. — М., 2009.
3. Associations between cytokine gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss / S.Daher, N. Shulzhenko, A. Morgun [et al.] // J. 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 / E. Jauniaux, R.G. Farquharson, O.B. Christiansen, N. 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. — Vol 19, № 3. — P. 406—414.
8. Recurrent miscarriage: current concepts in diagnosis and treatment / B. Toth, U. Jeschke, N. Rogenhofer [et al.] // J. 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-8 (-781 C/T) У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН

И.И. Воробьева, Т.С. Наквасюк, С.Н. Толкач, Т.С. Черненко, А.М. Кучеренко
ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», г. Киев, Украина
ННЦ «Институт биологии» Киевского национального университета им. Т. Шевченка, г. Киев, Украина

Цель: изучить особенности распределения полиморфизмов гена IL-8 у женщин с невынашиванием беременности и у здоровых женщин.
Пациенты и методы. Основную группу обследованных составили 64 беременные женщины с невынашиванием беременности в анамнезе, контрольную группу — 106 беременных с физиологическим течением беременности и без репродуктивных потерь в анамнезе. Молекулярно-генетическое исследование выполнено методом полимеразной цепной реакции с выделением ДНК из периферической крови. Проведен статистический анализ полученных данных.
Результаты. Установлено, что шанс на развитие осложнений беременности в 1,85 раза выше у носителей аллели Т в локусе (-781 C/T) гена IL-8. Таким образом, маркером успешного течения беременности у женщин репродуктивного возраста украинской популяции является аллель С в локусе (-781 C/T) гена IL-8. Гомозиготное носительство аллели ТТ имеет в 1,5 раза выше риск патологии беременности, чем все носители доминантного гена (гомозиготы и гетерозиготы). Все носители рецессивного аллельного гена (гомозиготы и гетерозиготы) имеют в 3 раза больше риск развития невинашивания, чем гомозиготы по доминантной аллели. Носители генотипов C/T и T/T имеют соответственно в 2 и в 1,5 раза выше риск развития патологи по сравнению с гомозиготными носителями доминантного гена.
Выводы. Невынашивание беременности является мультифакторным заболеванием, поэтому необходимо выяснить кумулятивные эффекты гена IL-8 с учетом проведенных нами исследований генов системы свертывания крови, функции эндотелия сосудистой стенки, метаболизма, гормонов и их рецепторов.
Ключевые слова: невынашивание беременности, физиологическое течение беременности, гены, IL-8.

PATTERNS OF POLYMORPHISM OF IL-8 (-781 C/T) GENE IN gene in PREGNANT WOMEN

I.I. Vorobyeva, T.S. Nakvasyuk, S.M. Tolkach, T.S. Chernenko, A.M. Kucherenko
State University «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology, NAMS of Ukraine», Kiev, Ukraine
NSC «Institute of Biology» of Taras Shevchenko Kiev National University, Kiev, Ukraine

The purpose of the study — to examine main features of polymorphisms IL-10 gene distribution in women with recurrent miscarriages and in healthy women.
Patients and methods: in the main group of examinees were 64 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.
According to the study chance of developing of severe complications of pregnancy is 1.85 times greater in carriers of allele T in locus (-781 C/T) of gene IL-8. Thus a marker of successful pregnancy in women of reproductive age of Ukrainian population is allele C in locus (-781 C/T) of gene IL-8. Homozygous carriers of TT alleles have a 1.5 times greater risk of pregnancy pathology than all carriers of a dominant gene (homozygous and heterozygous). All carriers of recessive gene (homozygous and heterozygous) have three times greater risk of developing of miscarriage than homozygous carriers of the dominant alleles. Genotype C / T and T / T carriers have, respectively, a 2 and 1.5 times greater risk of disease compared to homozygous carriers of dominant gene.
Conclusions. Miscarriage is a multifactorial disease, so it is necessary to study out the cumulative effects of IL-8 gene taking into account conducted studies of genes of blood clotting system, vascular endothelial function, metabolism, hormones and their receptors.
Key words: miscarriage, physiological pregnancy, genes, IL-8.

НОВОСТИ

Под видом синдрома гиперактивности может скрываться нехватка сна

В последнее все большему числу детей ставят диагноз «синдром гиперактивности и дефицита внимания». Но, на самом деле, во многих случаях речь идет не о расстройстве поведения, а просто о недосыпе, говорит Ватсал Тхаккар из Медшколы Нью-Йоркского Университета. Если ребенок не высыпается, у него развиваются симптомы, напоминающие синдром (неспособность концентрироваться, агрессия, забывчивость, периоды апатии).

Обычно синдром лечат Риталином. За последние 10 лет его стали выписывать в четыре раза чаще. Как правило, синдром диагностируют в 3–7 лет (у мальчиков чаще). Несколько исследований доказали: у детей с синдромом были проблемы с дыханием во время сна. Это в целом негативно отражалось на качестве сна. Для детей же сон важен с точки зрения роста и развития. Более того, синдром может трансформироваться в другие отклонения во взрослом возрасте.

В частности, у детей с синдромом отмечается нехватка дельта-сна (самой глубокой медленной фазы). А исследование более 11000 британских детей выявило прямую связь проблем с дыханием во сне в детском возрасте с проблемами поведения в дальнейшем. Так, риск наличия проблем в 4 года повышался на 20–60%, а в 7 лет — на 40–100%. Есть основания полагать, что отклонения в поведении пропадают, если отрегулировать дыхание и сон.

Современные дети спят минимум на час меньше по сравнению с детьми, жившими 100 лет назад. Причина в распространении мобильных телефонов и планшетов. Свет от экранов нарушает механизм регуляции сна. Поэтому врачи советуют оградить детей от технических новинок. В норме школьники должны спать по 10–11 часов, а взрослые — по 7–8 часов.

Источник: http://medexpert.org.ua/