

Міністерство охорони здоров'я України
Вищий державний навчальний заклад України
«Буковинський державний медичний університет»

БУКОВИНСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ВІСНИК

Український науково-практичний журнал

Заснований у лютому 1997 року

Видається 4 рази на рік

Включений до Ulrichsweb™ Global Serials Directory, наукометричних і спеціалізованих баз даних Google Scholar, Index Copernicus International (Польща), Scientific Indexing Services (США), Infobase Index (Індія), Ukrainian research & Academy Network (URAN), НБУ ім. Вернадського, “Джерело”

ТОМ 23, № 3 (91)

2019

Редакційна колегія:

головний редактор Т.М. Бойчук,
О.Б. Беліков, О.І. Годованець, І.І. Заморський,
О.І. Івашук (перший заступник головного редактора),
Т.О. Ілащук, А.Г. Іфтодій, Г.Д. Коваль, О.К. Колоскова,
В.В. Кривецький (заступник головного редактора),
В.В. Максим'юк, Т.В. Мохорт, Н.В. Пашковська, Л.П. Сидорчук,
С.В. Сокольник, В.К. Тащук (відповідальний секретар), С.С. Ткачук,
О.І. Федів (відповідальний секретар), О.В. Цигикало

Наукові рецензенти:

проф. Т.О. Ілащук, проф. Г.Д. Коваль, проф. О.В. Цигикало

Редакційна рада:
К.М. Амосова (Київ), В.В. Бойко (Харків),
А.І. Гоженко (Одеса), В.М. Запорожан (Одеса),
В.М. Коваленко (Київ), З.М. Митник (Київ),
В.І. Паньків (Київ), В.П. Черних (Харків),
Герхард Дамман (Швейцарія),
Збігнев Копанські (Польща),
Дірк Брутцерт (Бельгія),
Раду Крістіан Дабіша (Румунія)
Віктор Ботнару (Респ. Молдова)

Рекомендовано до друку та до поширення через мережу Інтернет рішенням вченої ради
Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний
університет»
(протокол №1 від 29.08.2019 року)

Буковинський медичний вісник
(Бук. мед. вісник) –
науково-практичний журнал, що
рецензується
Bukovinian Medical Herald
(Buk. Med. Herald)
Заснований у лютому 1997 р. Видається 4
рази на рік
Founded in February, 1997 Published four
times annually
Мова видання: українська, російська,
англійська
Сфера розповсюдження загальнодержавна,
зарубіжна
Свідоцтво про державну реєстрацію:
серія КВ №15684-4156 ПР від 21.09.2009

Наказом
Міністерства освіти і науки України від 06
листопада 2014 року № 1279 журнал
“Буковинський медичний вісник”
включено до переліку наукових фахових
видань України
Адреса редакції: 58002, Чернівці,
пл. Театральна, 2
Тел.: (0372) 55-37-54,
52-40-78
Факс: (0372) 55-37-54
e-mail: bmh@bsmu.edu.ua
Адреса електронної версії журналу в
Internet:
<http://www.bsmu.edu.ua>
Секретар редакції
І.І. Павлуник
Тел.: (0372) 52-40-78

ПОЛІМОРФІЗМ G43A ГЕНА ІНГІБІТОРУ АКТИВАТОРА ПЛАЗМІНОГЕНА 1 (PAI-1) У ХВОРИХ НА ГОСТРІ УСКЛАДНЕННЯ ВИРАЗКОВОЇ ХВОРОБИ*І.І. Дутка¹, І.І. Панчук², Р.А. Волков², Ф.В. Гринчук¹*¹ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна²Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, Інститут біології, хімії та біоресурсів, м. Чернівці**Ключові слова:**

виразкова хвороба,
виразкова кровотеча,
ген інгібітору
активатора
плазміногена 1
(SERPINE 1),
генетичний
поліморфізм.

Буковинський медичний
вісник. Т.23, № 3 (91).
С. 34-40.

DOI:

10.24061/2413-0737.
XXIV.3.91.2019.59

E-mail: dutkamed@ukr.net,
fedir_grynychuk@ukr.net

Мета роботи. Провести порівняльний аналіз частоти поліморфізму G43A гена PAI-1 у жителів Чернівецької області, які хворіють на різні форми виразкової хвороби, та вивчити можливі взаємозв'язки між різними видами генотипу і розвитком ускладнень.

Матеріал і методи. Обстежено 60 хворих на виразкову хворобу: 42 (70%) чоловіки, 18 (30%) жінок. У 37 (61,67%) пацієнтів була виразка дванадцятипалої кишки, у решти (38,33%) – шлунка. У 12 (20%) осіб діагностували неускладнену виразкову хворобу. У 5 (8,33%) пацієнтів виявили перфорацію виразки. У 43 (71,67%) осіб була виразка, ускладнена гострою кровотечею. У 29 (67,44%) пацієнтів кровотеча була зупинена. У 14 (32,56%) хворих виник рецидив кровотечі.

Генотипування PAI за мутацією G43A проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). ПЛР-ампліфікацію відповідного фрагмента гена PAI здійснювали з використанням специфічної пари праймерів 5'-CCA ACA GAG GAC TCT TGG TC-3' та 5'-CAC AGA GAG AGT CTG GCC ACG-3'. ПЛР проводили з використанням ампліфікатора CFX96 (Bio-Rad, США). Аналіз результатів ПЛР проводили методом електрофорезу у 2% агарозному гелі з використанням трис-боратного буфера. Для візуалізації фрагментів ДНК гель забарвлювали етидієм бромідом та фотографували в ультрафіолетовому світлі на установці GelDoc 2000 (BioRad, США). Для визначення довжини отриманих фрагментів їхню електрофоретичну рухливість порівнювали з рухливістю ДНК-маркера Gene Ruler DNA Leader Mix (Thermoscientific). Статистичну залежність між величинами перевіряли шляхом визначення критерію Фішера, χ^2 -критерію за Пірсоном, зокрема, відповідність розподілу генотипів рівновазі Харді-Вайнберга.

Результати. Встановлено, що 94,12% хворих без гострої кровотечі й 91,67% осіб без гострих ускладнень мають генотип GG. В однієї пацієнтки (8,33%) без гострих ускладнень виявлено гомозиготний за мутантним алелем генотип AA. Жоден пацієнт з перфорацією виразки не був носієм алеля A. У жодного з пацієнтів без кровотечі не виявлено гетерозиготного генотипу GA. Генотип GA виявлений у 25,58% хворих на гостру виразкову кровотечу, що статистично істотно перевищує показники у хворих без кровотечі. Серед осіб із рецидивом кровотечі алель A траплявся частіше, ніж у осіб без рецидиву.

Висновки. 1. Серед жителів Чернівецького регіону, хворих на виразкову хворобу без гострих ускладнень, 91,67% мають гомозиготний генотип GG за поліморфізмом G43A гена PAI-1, а 8,33% – генотип AA; у жодному випадку не виявлено гетерозиготного генотипу GA.

2. Усі обстежені пацієнти з перфорацією виразки мають генотип GG.

3. Поміж хворих на гостру виразкову кровотечу 27,91% є носіями мутантного алеля A (серед них 25,58% мають гетерозиготний генотип GA, а 2,33% – гомозиготний генотип AA), що статистично істотно перевищує показники у хворих на виразкову хворобу без кровотечі і засвідчує роль

спадкових порушень гена PAI-1 у розвитку виразкових геморагій.

4. Урахування поліморфізму G43A гена PAI-1 може стати складовою комплексу з прогнозування виникнення виразкових кровотеч у клінічних умовах.

Ключевые слова:

язвенная болезнь,
язвенное кровотечение,
ген ингибитора
активатора
плазминогена 1
(SERPINE 1),
генетический
полиморфизм.

Буковинский медицинский вестник. Т.23, № 3 (91). С. 34-40.

ПОЛИМОРФИЗМ G43A ГЕНА ИНГИБИТОРА АКТИВАТОРА ПЛАЗМИНОГЕНА 1 (PAI-1) У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ

И.И. Дутка, И.И. Панчук, Р.А. Волков, Ф.В. Гринчук

Цель работы. Провести сравнительный анализ частоты полиморфизма G43A гена PAI-1 у жителей Черновицкой области, которые болеют различными формами язвенной болезни, и изучить возможные взаимосвязи между разными видами генотипа и развитием осложнений.

Материал и методы. Обследовано 60 больных язвенной болезнью: 42 (70%) мужчины, 18 (30%) женщин. У 37 (61,67%) больных была язва двенадцатиперстной кишки, у остальных (38,33%) - желудка. У 12 (20%) больных диагностировали не осложненную язвенную болезнь. У 5 (8,33%) больных обнаружили перфорацию язвы. У 43 (71,67%) больных была язва, осложненная острым кровотечением. У 29 (67,44%) больных кровотечение было остановлено. У 14 (32,56%) больных возник рецидив кровотечения. Генотипирование PAI за мутацией G43A проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). ПЦР-амплификацию соответствующего фрагмента гена PAI осуществляли с использованием специфической пары праймеров 5'-ССА АСА GAG GAC TCT TGG TC-3' и 5'САС АГА GAG AGT CTG GCC АСG-3'. ПЦР проводили с использованием амплификатора CFX96 (Bio-Rad, США). Анализ результатов ПЦР проводили методом электрофореза в 2% агарозном геле с использованием трис-боратного буфера. Для визуализации фрагментов ДНК гель окрашивали этидием бромидом и фотографировали в ультрафиолетовом свете на установке GelDoc 2000 (BioRad, США). Для определения длины полученных фрагментов их электрофоретическую подвижность сравнивали с подвижностью ДНК-маркера Gene Ruler DNA Leader Mix (Thermoscientific). Статистическую зависимость между величинами проверяли путем определения критерия Фишера, χ^2 -критерия по Пирсону, в частности, соответствие распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга.

Результаты. Установлено, что 94,12% больных без острого кровотечения и 91,67% больных без острых осложнений имеют генотип GG. У одной больной (8,33%) без острых осложнений обнаружен гомозиготный по мутантным генам генотип AA. Ни один пациент с перфорацией язвы не был носителем аллеля A. Ни у одного из больных без кровотечения не обнаружен гетерозиготный генотип GA. Генотип GA обнаружен у 25,58% больных с острым язвенным кровотечением, что статистически достоверно превышает показатели у больных без кровотечения. Среди больных с рецидивом кровотечения аллель A встречался чаще, чем у больных без рецидива.

Выводы. 1. Среди жителей Черновицкого региона больных язвенной болезнью без острых осложнений 91,67% имеют гомозиготный генотип GG по полиморфизму G43A гена PAI-1, а 8,33% - генотип AA; ни в одном случае не обнаружен гетерозиготный генотип GA.

2. Все обследованные пациенты с перфорацией язвы имели генотип GG.

3. Среди больных с острым язвенным кровотечением 27,91% являются носителями мутантного аллеля A (среди них 25,58% имеют гетерозиготный генотип GA, а 2,33% - гомозиготный генотип AA), что статистически существенно превышает показатели у больных с язвенной болезнью без

Оригінальні дослідження

кровотечения и свидетельствует о роли наследственных нарушений гена PAI-1 в развитии язвенных геморрагий.

4. Учет полиморфизма G43A гена PAI-1 может стать составной частью комплекса по прогнозированию возникновения язвенных кровотечений в клинических условиях.

Keywords: ulcer disease, ulcerative bleeding, inhibitor gene of plasminogen activator 1 (SERPINE 1), genetic polymorphism.

Bukovinian Medical Herald. V.23, № 3 (91). P. 34-40.

POLYMORPHISM OF PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR GENE G43A 1 (PAI-1) IN PATIENTS WITH ACUTE COMPLICATIONS OF ULCER DISEASE

I.I Dutka, I.I Panchuk, R.A. Volkov, F.V. Grynychuk

Objective of the study. To carry out a comparative analysis of the frequency of PAI-1 gene G43A polymorphism in citizens of Chernivtsi region who suffer from various forms of ulcer disease, and to study the possible relationship between different types of genotype and the development of complications.

Material and methods. 60 patients with ulcer disease were examined: 42 (70%) men, 18 (30%) women. 37 (61.67%) patients had a duodenal ulcer, the rest ones (38.33%) had a gastric ulcer. Uncomplicated ulcer disease was diagnosed in 12 (20%) patients. 5 (8.33%) patients were found to have an ulcer perforation. In 43 (71.67%) patients there was an ulcer complicated by acute bleeding. In 29 (67.44%) patients the bleeding was stopped. In 14 (32.56%) patients there was a relapse of bleeding.

PAI genotyping by G43A mutation was performed by using polymerase chain reaction (PCR). PCR amplification of the corresponding PAI gene fragment was performed by using a specific pair of primers 5'-CCA ACA GAG GAC TCT TGG TC-3' and 5'-CAC AGA GAG AGT CTG GCC ACG-3'. PCR was performed by using a CFX96 amplifier (Bio-Rad, USA). PCR results were carried out by electrophoresis in 2% agarose gel using a tris-borate buffer. For DNA fragments visualization the gel was stained with ethidium bromide and photographed using ultraviolet light on the GelDoc 2000 installation (BioRad, USA). To determine the length of the obtained fragments, their electrophoretic mobility was compared with the mobility of the DNA marker Gene Ruler DNA Leader Mix (Thermoscientific). The statistical dependence between the values was tested by determining the Fisher criterion, χ^2 -criterion by Pearson, in particular, the correspondence of the genotype distribution to the Hardy-Weinberg equilibrium.

Results. 94.12% patients without acute bleeding and 91.67% patients without acute complications were found to have GG genotype. One female patient (8.33%) without any acute complications was found to have homozygous AA genotype by the mutant allele. No patient with an ulcer perforation was a carrier of allele A. None of the patients without bleeding had a heterozygous GA genotype. GA genotype was found in 25.58% of patients with an acute ulcerative bleeding, which is statistically significantly higher than in patients without any bleeding. Allele A was more common among patients with recurrent bleeding than in ones without it.

Conclusions. 1. Among patients with ulcer disease without acute complications of Chernivtsi region 91.67% of whom have homozygous GG genotype by polymorphism G43A PAI-1 gene, and 8.33% – AA genotype; no heterozygous genotype GA was found in any case.

2. All examined patients with a perforated ulcer had the GG genotype.

3. Patients with acute ulcerative bleeding, 27.91% of whom are carriers of mutant allele A (among them 25.58% have heterozygous GA genotype, and 2.33% – homozygous AA genotype), which is statistically significantly higher than in patients with ulcer disease without any bleeding and it shows the role of hereditary disorders of the PAI-1 gene in the development of ulcerative hemorrhages.

4. Accounting for G43A polymorphism of PAI-1 gene may become a component of the whole complex for predicting the occurrence of ulcerative bleeding in clinical conditions.

Вступ. Одним із ключових механізмів виникнення виразкових гастродуоденальних кровотеч вважають надмірну активацію фібринолізу та пригнічення антифібринолітичних факторів [1], що, зокрема, підтверджено в наших дослідженнях [2]. Проте причини таких девіацій до кінця не вивчені. Водночас відомо, що серед чинників, які спричиняють виникнення аномальних кровотеч, є мутації гена PAI-1 (SERPINE 1). Даний ген розташований на хромосомі 7 (7q21.3-q22) [3] та кодує білок PAI-1, інгібітор-1 активатора плазміногена, який є критичним регулятором фібринолітичної системи [4,5]. PAI-1 – основний інгібітор тканинного активатора плазміногена (tPA) і урокінази (uPA) [6]. У свою чергу, ці два білки є головними активаторами плазміногена, які перетворюють плазміноген у протеолітичний фермент плазмін [7].

У разі природженого дефіциту PAI-1 відзначають виникнення геморагічного діатезу, схильність до збільшеної кровоточивості тканин у травмованих пацієнтів [5,8]. Відомо також, що поліморфізм 4G/5G у промоторі гена PAI-1 може бути фактором ризику рецидивних виразкових кровотеч [9]. Проте клінічне значення інших варіантів поліморфізму гена PAI-1 не досліджене, хоча відзначено, що це може спричинити різноманітні порушення процесів тромбоутворення, регенерації тощо [10,4,6]. Невідома також можлива роль гена PAI-1 у розвитку інших ускладнень виразкової хвороби.

Мутація G43A (rs6092) у гені PAI-1, яка спричиняє заміну чотирнадцятої амінокислоти аланін на треонін у молекулі білка PAI-1 (Ala14Thr), є широко розповсюдженою, але можливі наслідки цієї мутації все ще залишаються недостатньо вивченими [11,12,13].

Мета роботи. Провести порівняльний аналіз частоти поліморфізму G43A гена PAI-1 у жителів Чернівецької області, які хворіють на різні форми виразкової хвороби, та вивчити можливі взаємозв'язки між різними видами генотипу і розвитком ускладнень.

Матеріал і методи. У дослідження залучили 60 хворих на виразкову хворобу, що надходили на лікування до ОКУ «Лікарня швидкої медичної допомоги», яким після підписання інформованої згоди проводили генетичні дослідження. Серед них було 42 (70%) чоловіки і 18 (30%) жінок віком від 21 до 83 років, середній вік становив (52,08±2,12) років. У 37 (61,67%) обстежених виявили виразку дванадцятипалої кишки, у решти (38,33%) – шлунка. У 12 (20%) осіб діагностували неускладнену виразкову хворобу (діагностована за допомогою фіброгастродуоденоскопії (ФГДС)). У 5 (8,33%) обстежених виявили перфорацію виразки (всі прооперовані). У 43 (71,67%) осіб була виразка, ускладнена гострою кровотечею (всім виконували ФГДС).

У 14 (32,56%) осіб виник рецидив кровотечі. З них: у 5 осіб на ФГДС під час надходження виявили клас

IA за Forest, у 2 – IB, у 1 – IIA, у 4 – IIB, у 2 – IIC. У половини пацієнтів кровотеча зупинена ін'єкційним гемостазом, у решти – хірургічним втручанням. У 29 (67,44%) пацієнтів кровотеча була зупинена консервативно і не відновлювалася. З них: в 11 (18,33%) осіб виразка вперше виявлена, у 9 (15%) – виразкова хвороба в анамнезі, у 9 – кровотечі з виразки в анамнезі.

Генотипування PAI за мутацією G43A проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Для цього з використанням набору реагентів для виділення ДНК з клінічного матеріалу «ДНК-сорб В» з крові пробандів виділяли загальну геномну ДНК.

ПЛР-ампліфікацію відповідного фрагмента гена PAI здійснювали з використанням специфічної пари праймерів 5'-CCA ACA GAG GAC TCT TGG TC-3' та 5'-CAC AGA GAG AGT CTG GCC ACG-3', які відомі з літератури [13]. Кількість ДНК для проведення ПЛР становила 50 нг на реакцію. Реакційна суміш для ампліфікації також містила 1x стандартну реакційну суміш Maxima Hot Start Green PCR Master Mix (Thermoscientific, США) та праймери по 1 мМ кожного. Загальний об'єм реакційної суміші складав 50 мкл. ПЛР проводили з використанням ампліфікатора CFX96 (Bio-Rad, США) за такою програмою: (1) початкова активація ДНК-полімерази – 95°C, 4 хв; (2) денатурація ДНК – 94°C, 45 с; (3) гібридизація праймерів – 58°C, 30 с; (4) синтез ДНК – 72°C, 1 хв; (5) закінчення ампліфікації – 72°C, 8 хв; (6) припинення реакції – 4°C. Загальна кількість циклів ампліфікації – 35. Аналіз результатів ПЛР проводили методом електрофорезу у 2% агарозному гелі з використанням трис-боратного буфера [14]. Для візуалізації фрагментів ДНК гель забарвлювали етидієм бромідом та фотографували в ультрафіолетовому світлі на установці GelDoc 2000 (BioRad, США). Для визначення довжини отриманих фрагментів їхню електрофоретичну рухливість порівнювали з рухливістю ДНК-маркера Gene Ruler DNA Leader Mix (Thermoscientific). Довжина отриманого продукту складала 266 пн, що відповідало очікуваному.

Мутація G43A у гені PAI – заміна залишку гуаніну (G) на залишок аденіну (A) у позиції 43 кодуєчої послідовності – призводить до того, що в алелі, який містить A, виникає сайт розпізнавання рестриктази *VoxI* (GACNNNGTC), який відсутній в алелі G. Отже, рестриктаза *VoxI* може бути використана для того, щоб відрізнити алелі G та A гена PAI. Отримані в нашому дослідженні продукти ПЛР обробляли рестриктазою *VoxI* (Thermoscientific). При цьому за наявності алеля A рестриктаза *VoxI* розщеплювала ПЛР-продукт на два фрагменти довжиною 172 та 94 пн, тоді як за наявності алеля G ПЛР-продукт не розщеплювався. Обробку ПЛР-продукту рестриктазою проводили згідно з рекомендаціями виробника фермента (Thermoscientific).

Оригінальні дослідження

Таблиця 1
Варіанти поліморфізму G43A гена PAI-1 в обстежених хворих

№ з/п	Клінічні варіанти виразкової хвороби	Генотип PAI-1 (G43A)		
		G43G, % (n)	G43A, % (n)	A43A, % (n)
1	Без гострих ускладнень (n=12)	91,67 (11)	0	8,33 (1)
2	З перфорацією (n=5)	100 (5)	0	0
3	Без кровотечі (n=17)	94,12 (16)	0	5,88 (1)
З гострою кровотечею				
4	Вперше виявлена виразка (n=11)	63,64 (7)	36,36 (4)	0
5	З виразковим анамнезом (n=9)	66,67 (6)	33,33 (3)	0
6	З кровотечами в анамнезі (n=9)	100 (9)	0	0
7	З рецидивом кровотечі (n=14)	64,28 (9)	28,57 (4)	7,14 (1)
8	З кровотечею всього (n=43)	72,09 (31)	25,58 (11) p 3-8=0,02	2,33 (1)
9	З вперше виявленою кровотечею всього (n=34)	64,71 (22)	32,35 (11) p 6-9=0,04	2,94 (1)
10	Без рецидиву кровотечі (n=29)	75,86 (22)	24,14 (7)	0

Таблиця 2
Відмінності генотипу PAI-1 в обстежених хворих

№ з/п	Клінічні варіанти виразкової хвороби	Генотип PAI-1 (G43A)	
		Гомозиготний (сприятливий), % (n)	Гетерозиготний (мутаційний), % (n)
1	Без кровотечі всього (n=17)	94,12 (16)	5,88 (1)
2	З кровотечею всього (n=43)	72,09 (31)	27,91 (12) p 1-2=0,01
3	Без рецидиву кровотечі (n=29)	75,86 (22)	24,14 (7)
4	З рецидивом кровотечі (n=14)	64,29 (9)	35,71 (5) p 1-4=0,04
5	З кровотечами в анамнезі (n=9)	100 (9)	0
6	З вперше виявленою кровотечею всього (n=34)	64,71 (22)	35,29 (12) p 5-6=0,04

Отримані рестриктні фрагменти аналізували методом електрофорезу в 4% агарозному гелі [14].

Дослідження з генотипування проведені на кафедрі молекулярної генетики та біотехнології (зав. – проф. Волков Р.А.) Інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету ім. Ю. Федьковича.

Статистичну залежність між величинами перевіряли шляхом визначення критерію Фішера, χ^2 -критерію за Пірсоном, зокрема, відповідність розподілу генотипів рівновазі Харді-Вайнберга. Критичний рівень значущості за перевірки статистичних гіпотез у даному дослідженні приймали рівним 0,05. Аналіз проводили з використанням таблиць Microsoft® Office Excel (build 11.5612.5703).

Наукова робота проведена з урахуванням основних «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінкською декларацією (1964-2013 рр.), ICH GCP (1996 р.), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 р.),

наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р., за позитивним висновком комісії з біоетики Буковинського державного медичного університету.

Результати дослідження та їх обговорення. Генотипування поліморфізму G43A гена PAI-1 в обстежених хворих встановило такий розподіл за генотипом: GG, гомозигота за алелем дикого типу – 45, GA, гетерозигота – 11 та AA, гомозигота за мутантним алелем – 2 особи. Відповідно, частота алеля G=0,870, а частота алеля A=0,130. Фактична гетерозиготність $H_o=0,19$, теоретична (очікувана) гетерозиготність $H_e=0,226$.

Розподіл генотипів PAI-1 у хворих залежно від варіанта перебігу виразкової хвороби, наведено в таблиці 1. Як видно з представлених даних, абсолютна більшість хворих без кровотечі 94,12% (16 осіб) і без гострих ускладнень 91,67% (11) мають гомозиготний генотип GG. Лише в одній пацієнтки (8,33%) без гострих ускладнень було виявлено генотип AA. Жоден пацієнт з перфорацією виразки не був носієм мутантного алеля

А. Жоден з обстежених без кровотечі не мав гетерозиготного генотипу GA.

Поміж пацієнтів із гострими кровотечами генотип GG виявлений у 72,09% (31 особа), а генотип GA – у 25,58% (11 осіб), що статистично істотно більше, ніж у хворих без кровотечі. Генотип AA був виявлений у одного пацієнта (2,33%) з кровотечею.

Для оцінювання можливого впливу мутантного алеля А на перебіг виразкової хвороби було розраховано статистичну вірогідність різниці в зустрічальності різних генотипів PAI-1 серед хворих з відсутністю або наявністю кровотечі (таблиця 2). Встановлено, що носії мутантного алеля А (генотипи GA та AA) у 4,75 разів частіше ($p < 0,05$) трапляються серед пацієнтів з кровотечею, ніж без кровотечі.

Кількість носіїв мутантного алеля А серед пацієнтів з рецидивами кровотеч також статистично істотно переважала таку серед хворих без рецидивів кровотеч ($p < 0,05$).

Таким чином, проведений аналіз дозволяє стверджувати, що в обстежених жителів Чернівецького регіону наявність мутантного алеля А гена PAI-1 асоціюється з виникненням гострих виразкових кровотеч як вперше виявлених, так і повторних. Це підтверджує думку про визначальну роль мутацій гена PAI-1, який кодує інгібітор активатора плазміногена 1 у виникненні виразкових кровотеч.

Отримані результати мають важливе практичне значення, оскільки дозволяють, з одного боку, прогнозувати перебіг виразкової хвороби і застосовувати заходи для запобігання кровотечам. З іншого боку, наявність мутантного алеля А гена PAI-1 у пацієнтів з гострими виразковими кровотечами слід розцінювати як чинник ризику виникнення рецидиву геморагії.

Висновки

1. Серед жителів Чернівецького регіону, хворих на виразкову хворобу без гострих ускладнень, 91,67% мають гомозиготний генотип GG за поліморфізмом G43A гена PAI-1, а 8,33% – генотип AA; у жодному випадку не виявлено гетерозиготного генотипу GA.

2. Усі обстежені пацієнти з перфорацією виразки мали генотип GG.

3. Поміж хворих на гостру виразкову кровотечу 27,91% є носіями мутантного алеля А (серед них 25,58% мають гетерозиготний генотип GA, а 2,33% – гомозиготний генотип AA), що статистично істотно перевищує показники у хворих на виразкову хворобу без кровотечі і засвідчує роль спадкових порушень гена PAI-1 у розвитку виразкових геморагій.

4. Урахування поліморфізму G43A гена PAI-1 може стати складовою комплексу з прогнозування виникнення виразкових кровотеч у клінічних умовах.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення ролі інших генетичних мутацій у виникненні гострих ускладнень виразкової хвороби та оцінка їхнього прогностичного значення.

Список літератури

1. Maggio D, Barkun AN, Martel M, Elouali S, Gralnek IM. Pre-

- dictors of early rebleeding after endoscopic therapy in patients with nonvariceal upper gastrointestinal bleeding secondary to high-risk lesions. *Can J Gastroenterol.* 2013;27(8):454–58.
- Дутка ІІ, Гринчук ФВ. Аналіз факторів ризику розвитку рецидиву гастродуоденальної кровотечі виразкового генезу. *Вісник Вінницького національного медичного університету.* 2017;21(1), Ч.1:31–4.
- Mimuro J. Type 1 plasminogen activator inhibitor: its role in biological reactions. *Rinsho Ketsueki.* 1991;32(5):487–9.
- Lijnen HR. Pleiotropic functions of plasminogen activator inhibitor-1. *J Thromb Haemost.* 2005;3(1):35–45.
- Cesari M, Pahor M, Incalzi RA. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1): a key factor linking fibrinolysis and age-related subclinical and clinical conditions. *Cardiovasc Ther.* 2010;28(5):72–91. doi: 10.1111/j.1755-5922.2010.00171.x.
- Khan SS, Shah SJ, Klyachko E, Baldrige AS, Eren M, Place AT, et al. A null mutation in SERPINE1 protects against biological aging in humans. *Sci Adv.* 2017; 3(11): 1617. doi: 10.1126/sciadv.aao1617
- Schleef RR, Loskutoff DJ. Fibrinolytic system of vascular endothelial cells. Role of plasminogen activator inhibitors. *Haemostasis* 1988;18:328–41.
- Kruithof EK. Regulation of plasminogen activator inhibitor type 1 gene expression by inflammatory mediators and statins. *Thromb Haemost.* 2008;100(6):969–75.
- Kim HS, Hwang KY, Chung IK, Park SH, Lee MH, Kim SJ, et al. Tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1 gene polymorphism in patients with gastric ulcer complicated with bleeding. *J Korean Med Sci.* 2003;18(1):58–64.
- Lau JY, Sung J, Hill C, Henderson C, Howden CW, Metz DC. Systematic review of the epidemiology of complicated peptic ulcer disease: incidence, recurrence, risk factors and mortality. *Digestion.* 2011;84(2):102–13. doi: 10.1159/000323958.
- Kathiresan S, Gabriel SB, Yang Q, Lochner AL, Larson MG, Levy D, et al. Comprehensive survey of common genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus and relations to circulating plasminogen activator inhibitor-1 levels. *Circulation.* 2005;112:1728–35. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.547836
- French D, Hamilton LH, Mattano LA, Sather HN, Devidas M, Nachman JB, et al. APAI-1 (SERPINE1) polymorphism predicts osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Blood.* 2008;111(9):4496–99.
- Jeon YJ, Kim YR, Lee BE, Cha SH, Moon MJ, Oh D, et al. Association of five common polymorphisms in the plasminogen activator inhibitor-1 gene with primary ovarian insufficiency. *Fertility and Sterility.* 2014;101(3):825–32.
- Панчук ІІ, Волков ПА. Практикум з молекулярної генетики. Чернівці: Рута; 2007. 120 с.

References

- Maggio D, Barkun AN, Martel M, Elouali S, Gralnek IM. Predictors of early rebleeding after endoscopic therapy in patients with nonvariceal upper gastrointestinal bleeding secondary to high-risk lesions. *Can J Gastroenterol.* 2013;27(8):454–58.
- Dutka II, Hrynchuk FV. Analiz faktoriv ryzyku rozvytku retsydyvu hastrroduodenalnoi krvotechi vyrazkovoho genezu [The analysis of the gastroduodenal ulcerous bleeding relapse emergence risk factors]. *Visnyk Vynnytskoho natsionalnoho medychnoho universytetu.* 2017;21(1), Ch.1:31–4. (in Ukrainian).
- Mimuro J. Type 1 plasminogen activator inhibitor: its role in biological reactions. *Rinsho Ketsueki.* 1991;32(5):487–9.
- Lijnen HR. Pleiotropic functions of plasminogen activator inhibitor-1. *J Thromb Haemost.* 2005;3(1):35–45.
- Cesari M, Pahor M, Incalzi RA. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1): a key factor linking fibrinolysis and age-related subclinical and clinical conditions. *Cardiovasc Ther.*

Оригінальні дослідження

- 2010;28(5):e72–91. doi: 10.1111/j.1755-5922.2010.00171.x.
6. Khan SS, Shah SJ, Klyachko E, Baldrige AS, Eren M, Place AT, et al. A null mutation in SERPINE1 protects against biological aging in humans. *Sci Adv.* 2017; 3(11): 1617. doi: 10.1126/sciadv.aao1617
 7. Schleef RR, Loskutoff DJ. Fibrinolytic system of vascular endothelial cells. Role of plasminogen activator inhibitors. *Haemostasis* 1988;18:328–41.
 8. Kruithof EK. Regulation of plasminogen activator inhibitor type 1 gene expression by inflammatory mediators and statins. *Thromb Haemost.* 2008;100(6):969–75.
 9. Kim HS, Hwang KY, Chung IK, Park SH, Lee MH, Kim SJ, et al. Tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1 gene polymorphism in patients with gastric ulcer complicated with bleeding. *J Korean Med Sci.* 2003;18(1):58–64.
 10. Lau JY, Sung J, Hill C, Henderson C, Howden CW, Metz DC. Systematic review of the epidemiology of complicated peptic ulcer disease: incidence, recurrence, risk factors and mortality. *Digestion.* 2011;84(2):102–13. doi: 10.1159/000323958.
 11. Kathiresan S, Gabriel SB, Yang Q, Lochner AL, Larson MG, Levy D, et al. Comprehensive survey of common genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus and relations to circulating plasminogen activator inhibitor-1 levels. *Circulation.* 2005;112:1728–35. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.547836
 12. French D, Hamilton LH, Mattano LA, Sather HN, Devidas M, Nachman JB, et al. APAI-1 (SERPINE1) polymorphism predicts osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Blood.* 2008;111(9):4496–99.
 13. Jeon YJ, Kim YR, Lee BE, Cha SH, Moon MJ, Oh D, et al. Association of five common polymorphisms in the plasminogen activator inhibitor-1 gene with primary ovarian insufficiency. *Fertility and Sterility.* 2014;101(3):825–32.
 14. Panchuk II, Volkov RA. *Praktykum z molekuliarnoi henetyky [Practice on molecular genetics].* Chernivtsi: Ruta; 2007. 120 s. (in Ukrainian).

Відомості про авторів:

Дутка І. І. — асистент кафедри догляду за хворими та вищої медсестринської освіти, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна.

Панчук І. І. — доктор біологічних наук, професор кафедри молекулярної генетики та біотехнології, Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, Інститут біології, хімії та біоресурсів, м. Чернівці, Україна.

Волков Р. А. — доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри, молекулярної генетики та біотехнології, Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, Інститут біології, хімії та біоресурсів, м. Чернівці, Україна.

Гринчук Ф. В. — доктор медичних наук, професор кафедри хірургії № 1, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна.

Сведения об авторах:

Дутка И. И. — ассистент кафедры ухода за больными и высшего медсестринского образования, ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина.

Панчук И. И. — доктор биологических наук, профессор кафедры молекулярной генетики и биотехнологии, Черновицкий национальный университет имени Юрия Федьковича, Институт биологии, химии и биоресурсов, г. Черновцы, Украина.

Волков Р. А. — доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой молекулярной генетики и биотехнологии, Черновицкий национальный университет имени Юрия Федьковича, Институт биологии, химии и биоресурсов, г. Черновцы, Украина.

Гринчук Ф. В. — доктор медицинских наук, профессор кафедры хирургии № 1, ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина.

Information about the authors:

Dutka I. I. — Assistant Professor, Department of Care for Patients and Higher Nursing Education, HSEI of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi, Ukraine.

Panchuk I. I. — Doctor of Biological Sciences, Professor, Department of Molecular Genetics and Biotechnology, Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University, Institute of Biology, Chemistry and Bioresources, Chernivtsi, Ukraine.

Volkov R. A. — Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department, Department of Molecular Genetics and Biotechnology, Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University, Institute of Biology, Chemistry and Bioresources, Chernivtsi, Ukraine.

Grynchuk F. V. — MD, Professor, Department of Surgery № 1, HSEI of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi, Ukraine.

Надійшла до редакції 10.04.2019

Рецензент — проф. Польовий В.П.

© І.І. Дутка, І.І. Панчук, Р.А. Волков, Ф.В. Гринчук, 2019