

УДК 616.34-002-053.2+575.1

В.С. Березенко, О.М. Ткалик, З.І. Россоха, М.Б. Діба

Оцінка розповсюдження поліморфізму генів системи детоксикації у дітей з запальними захворюваннями кишечника

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України», м. Київ, Україна
ДЗ «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України», м. Київ, Україна

PERINATOLOGIYA I PEDIATRIYA. 2016.3(67):118-122; doi 10.15574/PP.2016.67.118

Мета — дослідити поширеність поліморфізму генів детоксикації *GSTM1*, *GSTT1*, *MDR1* у дітей із запальними захворюваннями кишечника для оцінки перспективи використання отриманих результатів у клінічному аналізі та порівняти їх із даними літератури.

Пацієнти та методи. Обстежено 45 дітей із запальними захворюваннями кишечника віком від 3 до 18 років. Комплекс обстежень проведено згідно з наказом МОЗ України від 29.01.2013 р. № 59. Визначення делеційного поліморфізму *GSTM1*, *GSTT1* здійснено методом мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції, а поліморфних варіантів гена *MDR1* (С3435Т) — методом полімеразної ланцюгової реакції з подальшим аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів.

Результати. Делеційний варіант гена *GSTM1* спостерігався у 27 дітей із запальними захворюваннями кишечника (60%), а в популяції України — у 54,4% ($\chi^2=0,45$; $p=0,5$). Частота делеційного варіанта гена *GSTM1* при хворобі Крона та виразковому коліті зустрічалася відповідно у 71,5% та 54,8% ($\chi^2=1,1$; $p=0,34$). Делеційний варіант гена *GSTT1* у дітей із запальними захворюваннями кишечника відмічався у 26,7%, частота в популяції України становила 20,1% ($\chi^2=0,9$; $p=0,34$). При дослідженні поліморфізму гена *MDR1*, ТТ-генотип відмічався у 22,3% із запальними захворюваннями кишечника, а в популяції України — у 26,8% ($\chi^2=0,45$; $p=0,50$); СТ-генотип — відповідно у 53,4% та 59,0% ($\chi^2=0,1$; $p=0,74$).

Висновки. Поліморфні варіанти генів *GSTM1*, *GSTT1*, *MDR1* не є факторами ризику розвитку запальних захворювань кишечника в дітей.

Ключові слова: діти, запальні захворювання кишечника, виразковий коліт, хвороба Крона, гени детоксикації.

Вступ

Запальні захворювання кишечника (ЗЗК) — це мультифакторіальні захворювання шлунково-кишкового тракту, до яких відносять виразковий коліт (ВК) та хворобу Крона (ХК). Незважаючи на значний прогрес у дослідженні ЗЗК, етіопатогенез досі залишається нез'ясованим [9]. У розвиток цих захворювань значний внесок роблять генетичні фактори [11]. Вивчення молекулярних механізмів ризику розвитку та перебігу мультифакторіальних захворювань є однією з найбільш перспективних та досліджуваних галузей молекулярної медицини. Запальні захворювання кишечника в генетичному аспекті досліджуються майже два десятиріччя. Більшість із виконаних за цей період робіт присвячені аналізу генетичного поліморфізму в дорослих із метою виявлення генетичних маркерів ризику, а в дітей такі дослідження не проводились. Результати проведених досліджень мають відмінності, що пов'язано з гетерогенністю обстежених клінічних груп та популяційними особливостями у поширеності поліморфних варіантів досліджених генів. Найбільш досліджені гени, що кодують транспортні білки та ферменти біотрансформації ксенобіотиків, ендотоксинів, чужорідних сполук і ліків. Поліморфні варіанти цих генів розглядаються не лише як маркери ризику, але і як маркери несприятливого перебігу та відсутності відповіді на терапію [3, 4, 5, 6].

Ферменти біотрансформації перетворюють широкий спектр ксенобіотиків та біологічно активних ендогенних метаболітів у нешкідливі для організму речовини. Вони беруть активну участь у катаболізмі лейкотрієнів, простагландинів та інших медіаторів запалення. Ферменти детоксикації визначають індивідуальні реакції організму на різноманітні токсичні речовини, лікарські препарати залежно від генетично детермінованих особливостей, а також їх взаємодії з рецепторами та ферментними системами [1]. Як відомо, система захисту організму від ксенобіотиків, ендотоксинів представлена процесом, який складається з трьох фаз. Відомо, що після першої фази детоксикації чужорідних сполук та продуктів окисного стресу їх токсичність може суттєво зростати, тому ефективна детоксикація забезпечується лише злагодженим

функціонуванням усіх трьох фаз. Ряд робіт свідчить про те, що саме оксидативний дисбаланс посідає провідне місце в розвитку ЗЗК. Два члени сімейства ферментів глутатіон S-трансферази (GST) — *GSTM1* та *GSTT1* беруть участь у клітинному захисті від продуктів окисного стресу. В осіб із делеційним поліморфізмом генів *GSTT1*, *GSTM1* взагалі відсутні відповідні ферменти-ізомери глутатіон-S-трансфераз. Асоціація між делеційними генотипами *GSTM1* та *GSTT1* із ЗЗК виявлена в дослідженні Mittal D. et al. [4] в індійській популяції. Встановлено, що наявність делеційного поліморфізму генів *GSTT1*, *GSTM1* підвищує ризик розвитку ЗЗК в 4,8 разу при ХК (OR=4,875, 95% CI=1,321–17,993; $p=0,029$) та в 9,5 разу при ВК (OR=9,579, 95% CI=4,126–22,238; $p<0,001$). Ці дані також підтверджені в дослідженнях Karban A. et al. [14]. Встановлено взаємозв'язок делеційного поліморфізму гена *GSTT1* із розвитком ХК в осіб арабського походження ($p=0,007$). Також виявлено асоціацію між позакишковими проявами ХК та *GSTM1*-allele та *GSTM1*-allele/*GSTT1*-allele генотипами ($p=0,058$ та $p=0,05$ відповідно).

Поліморфізм гена *MDR1* (С3435Т) є найбільш дослідженим. Більшість авторів обрала його як об'єкт дослідження у зв'язку з можливим патогенетичним внеском у розвиток і перебіг ЗЗК, оскільки він контролює продукцію Р-глікопротеїну, який експресується і на епітеліальній поверхні кишечника та забезпечує трансмембранне перенесення різноманітних чужорідних сполук і ліків. У носіїв 3435ТТ-генотипу за геном *MDR1* та Т-алелю цей транспорт, у тому числі в гепатоцитах та ентероцитах, знижений. Аналізуючи літературні джерела, ми з'ясували, що дані щодо зв'язку між поліморфними варіантами гена *MDR1* (С3435Т) із ризиком розвитку чи особливостями перебігу ЗЗК досить суперечливі та в дитячій популяції не досліджувались. Palmieri O. et al. [12] одними з перших, аналізуючи вплив поліморфізму гена *MDR1* (С3435Т), не виявили асоціації певних генотипів ані з ризиком захворювання, ані з тяжким перебігом чи відповіддю на лікування у хворих із ВК чи ХК в італійській популяції. Однак Ho G. et al. [3] встановили переконливу асоціацію 3435ТТ-генотипу за геном *MDR1* і Т-алелю зі зростанням ризику розвитку ВК та розвитком тотального ВК. ТТ-генотип асо-

ціювався із ВК (OR=1,6, 95% CI=1,04–2,44; p=0,04), але ризик розвитку ХК не відмічався. В опублікованому мета-огляді, що базувалася на аналізі 15 досліджень, проведених у представників білої раси, Brinar M. et al. [11] довели роль поліморфізму гена *MDR1* (С3435Т) у розвитку ВК (OR=2,12, 95% CI=1,11–4,03; p=0,02) та ХК.

У дослідженні Carvalho A. et al. [13] вказано, що генотип за геном *MDR1* впливає на фенотипові прояви захворювання, а саме, встановлено асоціацію з ХК зі стриктурами (OR=4,13, 95% CI=1,04–2,44; p=0,009) і поганою відповіддю на терапію у хворих з ХК. Отже, як вказують результати закордонних досліджень, генетичний поліморфізм та імунна дизрегуляція є провідними чинниками в зростанні ризику розвитку ЗЗК [3, 11, 13].

Роль поліморфізму гена *MDR1* (С3435Т), *GSTM1*, *GSTT1* у розвитку ЗЗК не вивчалася в осіб до 18 років та не досліджувалася в Україні, що і визначило напрямком проведеного нами дослідження.

Мета роботи — дослідити поширеність поліморфізму генів *GSTM1*, *GSTT1*, *MDR1* у дітей із ЗЗК для оцінки перспективи використання отриманих результатів у клінічному аналізі та порівняти їх із даними літератури.

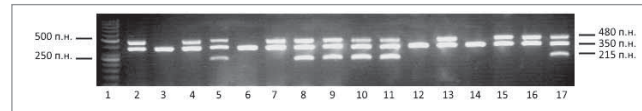
Матеріали та методи дослідження

Обстежено 45 дітей віком від 3 до 18 років із ВК (n=31) та ХК (n=14), з них група дівчаток становила 20 осіб, хлопчиків — 25. Середній вік хворих дітей з ВК дорівнював 11 років, із ХК — 11,5 року. Діти перебували на лікуванні у відділенні захворювань печінки та органів травлення ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України» в період 2014–2016 рр. У всіх дітей проведено стандартне клініко-лабораторне та інструментальне обстеження для встановлення діагнозу згідно з наказом від 29.01.2013 р. № 59 «Про затвердження уніфікованих клінічних протоколів медичної допомоги дітям із захворюваннями органів травлення» та Second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis Definitions and diagnosis, 2012 Consensus guidelines of ECCO/ESPGHAN on the medical management of pediatric Croh'n disease, 2014.

На проведення дослідження отримано інформовану згоду батьків дітей, а також дозвіл етичного комітету.

Для проведення молекулярно-генетичного дослідження ми здійснювали забір периферичної крові в стерильні моновети на 2,7 мл з антикоагулянтом ЕДТА. Зі зразків периферичної крові проводили виділення геномної ДНК із використанням набору ДНК-сорб-В. Визначення делеційного поліморфізму генів системи детоксикації *GSTM1*, *GSTT1* здійснювали методом мультиплексної полімеразної реакції, а поліморфних варіантів гену *MDR1* (С3435Т) — методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) із подальшим аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ) відповідно до адаптованих у молекулярно-генетичній лабораторії методик [2, 8]. Стан ампліфікаційних та рестрикційних фрагментів аналізували у 2% агарозному гелі, з додаванням бромистого етидію, маркера молекулярної ваги GeneRuler 50 bpDNA-Ladder («ThermoScientific», США). Отримані результати візуалізували в транслюмінаторі та реєстрували за допомогою комп'ютерної програми Vitran.

За наявності ампліфікованого фрагменту ДНК 480 п.н. реєстрували варіант *GSTT1*-allele (функціональна алель), а за фрагменту довжиною 480 п.н. — *GSTM1*-allele (функціональна алель). Якість виділення ДНК та умови постановки мультиплексної ПЛР контролювали ампліфікацією фрагменту гена альбуміну з молекулярною вагою 350 п.н.

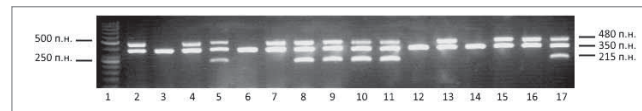


Електрофореграма розподілу продуктів ампліфікації генів *GSTM1/GSTT1*:

зразок 1 — маркер молекулярної ваги;
зразки 2, 4, 7, 13, 15, 16 — генотип *GSTT1* «+»/*GSTM1* «-»;
зразки 3, 6, 12, 14 — генотип *GSTT1* «-»/*GSTM1* «-»;
зразки 5, 8–11, 17 — генотип *GSTT1* «+»/*GSTM1* «+».

За відсутності ампліфікованих фрагментів 480 п.н. та 215 п.н. у досліджуваних генах реєстрували в пацієнтів варіанти *GSTT1*-deletion (нефункціональна алель) та *GSTM1*-deletion (нефункціональна алель) відповідно. Гетерозиготний варіант функціонального алелю при використанні цієї методики не визначали. Тому у варіантах *GSTT1*-allele та *GSTM1*-allele реєстрували наявність функціонального алелю як у гомозиготному, так і в гетерозиготному станах, а у варіантах *GSTT1*-deletion та *GSTM1*-deletion — у гомозиготному стані.

Після гідролітичного розщеплення продуктів ампліфікації гена *MDR1* (С3435Т) фрагменти ДНК із молекулярною вагою 172 п.н. та 60 п.н. відповідали генотипу СС, з молекулярною вагою 232 п.н., 172 п.н. та 60 п.н. — генотипу СТ, а 232 п.н. — генотипу ТТ.



Електрофореграма продуктів рестрикційного аналізу поліморфізму гена *MDR1* (С3435Т):

зразки 1, 4, 6–9, 11, 12, 14 — генотип СТ;
зразки 2, 3, 10 — генотип ТТ;
зразки 5, 13, 15 — генотип СС;
зразок 16 — маркер молекулярної ваги.

Отримані результати генотипування та клінічну характеристику пацієнтів вносили в таблицю Excel для подальшої статистичної обробки. Отримані дані обробляли статистично з використанням пакету програм Statistica 6.1 та Excell 7.0. Загальностатистичний аналіз включав розрахунок медіани (Me). Для номінальних змінних взаємозв'язок розраховували за допомогою критерію χ^2 .

Результати дослідження та їх обговорення

При проведенні пошуку наукових досліджень в PubMed, EMBASE, Cochrane Library нами не виявлено досліджень щодо поширеності поліморфізму генів *GSTM1*, *GSTT1*, *MDR1* у дітей із ЗЗК. Результати наукових досліджень наведено в таблиці.

За нашими даними, делеційний варіант гена *GSTM1* відмічався у 27 дітей із ЗЗК, що становило 60%, а у здорових дорослих України — 54,4% ($\chi^2=0,45$; p=0,5); частота делеційного варіанта гена *GSTM1* була дещо вищою в дітей із ХК порівняно з дітьми з ВК (71,5% та 54,8% відповідно), однак без вірогідної різниці ($\chi^2=1,1$; p=0,34).

Делеційний варіант гену *GSTT1* мали 12 обстежених дітей із ЗЗК (26,7%), за даними популяційних досліджень, частота цього варіанту серед дорослих жителів України становила 20,1% ($\chi^2=0,9$; p=0,34) [8]. Нами встановлено, що делеційний варіант гена *GSTT1* у хворих дітей з ВК та ХК зустрічався майже в однаковій кількості — відповідно 22,6% та 28,6% (p>0,05).

Дослідження поліморфізму генів третьої фази детоксикації *MDR1* (С3435Т) показало, що ТТ-генотип відмі-

Таблиця

**Частота розповсюдження поліморфних варіантів генів
GSTM1, GSTT1, MDR1 у популяційних дослідженнях, дослідженнях
за принципом випадок-контроль та пацієнтів із запальними захворюваннями кишковика**

Автор, рік, країна	Ген (поліморфізм)	Гено-тип	ЗЗК (загальне число, n (%), середній вік)	ВК (загальне число, n (%), середній вік)	ХК (загальне число, n (%), середній вік)	Контроль (загальне число, n (%), середній вік)
Palmieri O., 2005, Італія [12]	MDR1 (C3435T)	CC CT TT	(n=946) 48±15 249 (26,3) 493 (52,1) 204 (21,6)	(n=478) 48±15 124 (26,5) 240 (51,3) 104 (22,2)	(n=468) 43±14 125 (26,2) 253 (52,9) 100 (20,9)	(n=450) 115 (25,6) 240 (53,3) 95 (21,1)
Ho G.-T., 2005, Шотландія [3]	MDR1 (C3435T)	CC CT TT	(n=603) 35,0 (25,3–50,3) 117 (19,5) 298 (49,4) 188 (31,1)	(n=335) 35,0 (25,3–50,3) 61 (18,2) 158 (47,2) 116 (34,6)	(n=268) 26,6 (19,9–37,0) 56 (20,9) 140 (52,2) 72 (26,9)	(n=370) 82 (22,2) 190 (51,3) 98 (26,5)
Mittal D., 2006, Індія [4]	GSTM1	del allele	(n=105) (38±10,5) 61 (58,09) 44 (41,9)	(n=85) (38±10,5) 52 (61,2) 33(38,8)	(n=20) (38±10,5) 9 (45) 11 (55)	(n=164) (38±10,5) 49 (30) 115 (70)
	GSTT1	del allele	(n=105) 95 (90,5) 10 (9,5)	(n=85) 77 (91) 8 (9)	(n=20) 18 (90) 2 (10)	(n=164) 26 (16) 138 (64)
Urcelay E., 2006 Іспанія [10]	MDR1 (C3435T)	CC CT TT	(n=614) 209 (34) 268 (44) 137 (22)	(n=311) 87 (28) 143 (46) 81 (26)	(n=303) 122 (40) 125 (41) 56 (19)	(n=324) 97 (30) 150 (46) 77 (24)
Левкович Н.М., 2010, Україна [2]	MDR1 (C3435T)	CC CT TT				(n=912) 204 (22,37) 464 (50,88) 244 (26,75)
Karban A., 2010, Ізраїль [14]	GSTM1	del allele	(n=562) 270 (48) 292 (52)	(n=131) 30,44±14,80 65 (49,6) 66 (50,4)	(n=431) 24,95±12,28 205 (47,5) 226 (52,5)	(n=369) 205 (55,5) 164 (44,5)
	GSTT1	del allele	(n=562) 168 (29,8) 394 (70,2)	(n=131) 35 (26,7) 96 (73,3)	(n=431) 133 (30,8) 298 (69,2)	(n=369) 86 (23,3) 283 (76,9)
Marko Brinar, 2013, Хорватія [11]	MDR1 (C3435T)	CC CT TT	(n=306) 84 (27,5) 140 (45,8) 82 (26,7)	(n=108) 29,9 [26,0–35,70] 23 (21,3) 54 (50,0) 31 (28,7)	(n=198) 25,0 [18,50–31,10] 61 (30,8) 86 (43,4) 51 (25,8)	(n=119) 32 (26,9) 68 (57,1) 19 (16,0)
Kozovyi R.V., 2014, Україна [8]	GSTM1	del allele				(n=169) 92 (54,4) 77 (45,56)
	GSTT1	del allele				(n=169) 34 (20,12) 135 (79,88)
Nezha Senhaji, 2015, Марокко [7]	MDR1 (C3435T)	CC CT TT	(n=110) 46 (42) 53 (48) 11 (10)	(n=33) 16 (48) 13 (39) 4 (12)	(n=77) 30 (39) 40 (52) 7 (9)	(n=100) 39 (39) 51 (51) 10 (10)
	GSTM1	del allele	(n=110) 62 (56,4) 48 (43,6)	(n=33) 20 (60,6) 13 (39,4)	(n=77) 42 (54,5) 35 (45,5)	(n=100) 51 (51) 49 (49)
	GSTT1	del allele	(n=110) 40 (36,4) 70 (63,6)	(n=33) 14 (42,4) 19 (57,6)	(n=77) 26 (33,8) 51 (66,2)	(n=100) 17 (17) 83 (83)
Березенко, Ткалик, Россоха, 2016, Україна	GSTM1	del allele	(n=45) 27 (60) 18 (40)	(n=31) 17 (54,8) 14 (45,2)	(n=14) 10 (71,5) 4 (28,5)	
	GSTT1	del allele	(n=45) 12 (26,66) 33 (73,34)	(n=31) 8 (25,8) 23 (74,2)	(n=14) 4 (28,6) 10 (71,4)	
	MDR1 (C3435T)	CC CT TT	(n=45) 11 (24,44) 24 (53,33) 10 (22,23)	(n=31) 7 (22,6) 16 (51,6) 8 (25,8)	(n=14) 4 (28,6) 8 (57,2) 2 (14,2)	

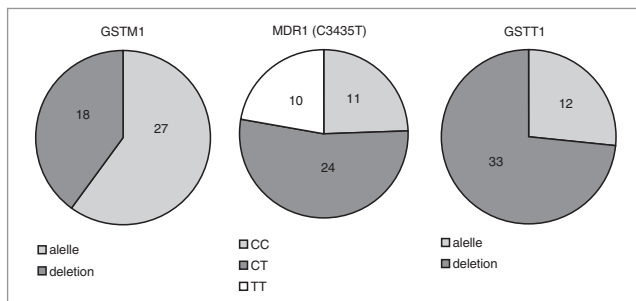


Рис. Частота розповсюдження поліморфних варіантів генів *GSTM1*, *GSTT1*, *MDR1* у дітей із запальними захворюваннями кишечника

чався у 10 дітей із ЗЗК (22,3%), що співвідносилося з проведеними популяційними дослідженнями в Україні — 26,8% ($\chi^2=0,45$; $p=0,50$) [2]. За результатами проведеного дослідження, відсоток дітей із СТ-генотипом практично не відрізнявся від популяційних даних — відповідно у 24 дітей із ЗЗК (53,4%) та у 59,0% здорових дорослих України ($\chi^2=0,1$; $p=0,74$). За нашими даними, генотип ТТ частіше зустрічався в дітей із ВК — 25,8% ($n=8$), ніж із ХК — 14,2% ($n=2$), але відмінність не достовірна ($p>0,05$), що, можливо, пов'язано з малою чисельністю досліджуваних груп. Гетерозиготний варіант (СТ) гена *MDR1* (C3435T)

спостерігався у 57,2% ($n=8$) дітей із ХК та 51,6% ($n=16$) дітей із ВК ($p>0,05$).

Встановлені результати свідчать, що дані генотипи при побудові дослідження за принципом випадок-контроль не асоційовані зі зростанням ризику ЗЗК у дітей. Тому більш перспективним, на нашу думку, є аналіз їх впливу на перебіг захворювання, наявність асоціації з провідними клінічними симптомами, лабораторними показниками, функціональний стан печінки в цих хворих, ефективність та побічні ефекти лікування ЗЗК у дітей.

Висновки

Визначено частоту генотипів за найбільш дослідженими поліморфними варіантами генів системи детоксикації, ксенобіотиків, ліків та транспортера Р-глікопротеїну в дітей із ЗЗК. Отримані дані щодо поширеності поліморфних варіантів генів *GSTM1*, *GSTT1*, *MDR1* у пацієнтів дитячого віку не відрізнялися від їх частоти, визначеної при популяційних дослідженнях.

Поліморфні варіанти генів *GSTM1*, *GSTT1*, *MDR1* не є факторами ризику розвитку ЗЗК у дітей.

Необхідні **подальші дослідження** щодо впливу досліджених нами поліморфних варіантів генів *GSTM1*, *GSTT1*, *MDR1* на перебіг ВК та ХК у дітей, клінічну симптоматику, лабораторні показники, функціональний стан печінки та результати лікування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины / под ред. В.С. Баранова. — Санкт-Петербург, 2009. — 528 с.
2. Левкович Н.М. Аналіз частоти алельного варіанта *4 гена CYP2D6 у жителів України / Н.М. Левкович, З.І. Россоха, Н.Г. Горовенко // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика. — 2010. — Вип. 19, кн. 3. — С. 224—234.
3. Allelic variations of the multidrug resistance gene determine susceptibility and disease behavior in ulcerative colitis Citation for published version / G.—T. Ho, E.R. Nimmo, A. Tenesa [et al.] // Gastroenterology. — 2005. — № 2. — P. 288—296.
4. Analysis of polymorphisms of tumor necrosis factor and polymorphic xenobiotic metabolizing enzymes in inflammatory bowel disease: Study from northern India / Rama D Mittal, Parmeet K. Manchanda, Hemant K. Bid [et al.] // Journal of Gastroenterology and Hepatology. — 2007. — № 22. — P. 920—924.
5. Autoantibodies to glutathione S-transferase theta 1 in patients with primary sclerosing cholangitis and other autoimmune diseases / B. Ardesjo, C.M. Hansson, C.E. Bruder [et al.] // J. Autoimmun. — 2008. — № 30. — P. 273—282.
6. Environment and the inflammatory bowel diseases / A. Frolkis, L.A. Dieleman, H.W. Barkema [et al.] // Canadian Journal of Gastroenterology. — 2013. — № 27 (3). — P. 18—24.
7. Genetic Polymorphisms of Multidrug Resistance Gene-1 (MDR1/ABC1) and Glutathione S-Transferase Gene and the Risk of Inflammatory Bowel Disease among Moroccan Patients / Nezha Senhaji, Yaya Kassogue, Mina Fahimi [et al.] // Mediators of Inflammation. — 2015. — Vol. 2015, Article ID 248060, 8.
8. Kozovyi R. V. The Frequency of Alleles in the GSTT1 and GSTM1 Genes Involved in Phase II of Xenobiotic Transformation in Long-Lived People of Subcarpathia / R.V. Kozoviy, S.V. Podolska, N.G. Gorovenko // Advances in Gerontology. — 2014. — № 2. — P. 123—127.
9. M'Koma A.E. Inflammatory bowel disease: an expanding global health problem / A.E. M'Koma // Clinical Medicine Insights: Gastroenterology. — 2013. — Vol. 6. — P. 33—47.
10. MDR1 gene: susceptibility in Spanish Crohn's disease and ulcerative colitis patients / E. Urcelay, J.L. Mendoza, M.C. Martin [et al.] // Inflammatory Bowel Dis. — 2006. — № 12. — P. 33—37.
11. MDR1 polymorphisms are associated with inflammatory bowel disease in a cohort of Croatian IBD patients / Marko Brinar, Silvija Cukovic-Cavka, Nada Bozina [et al.] // Gastroenterology. — 2013. — № 13. — P. 57.
12. Multidrug resistance 1 gene polymorphisms are not associated with inflammatory bowel disease and response to therapy in Italian patients / O. Palmieri, A. Latiano, R. Valvano [et al.] // Aliment Pharmacol Ther. — 2005. — № 22. — P. 1129—1138.
13. Multidrug resistance 1 gene polymorphisms may determine Crohn's disease behavior in patients from Rio de Janeiro / Ana Teresa P Carvalho, Renata S B Froes, Barbara C Esberard [et al.] // CLINICS. — 2014. — № 69 (5). — P. 327—334.
14. Non-Jewish Israeli IBD Patients Have Significantly Higher Glutathione S-Transferase GSTT1-Null Frequency / Amir Karban, Norberto Krivoy, Hela Elkin [et al.] // Dig. Dis. Sci. — 2011. — № 56. — P. 2081—2087.

Оценка распространенности полиморфизмов генов системы детоксикации у детей с воспалительными заболеваниями кишечника

В.С. Березенко, Е.Н. Ткалик, З.И. Россоха, М.Б. Дибя

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

ГУ «Референс-центр молекулярной диагностики МЗ Украины», г. Киев, Украина

Цель — исследовать распространенность полиморфизма генов детоксикации *GSTM1*, *GSTT1*, *MDR1* у детей с воспалительными заболеваниями кишечника для оценки перспективы использования полученных результатов в клиническом анализе и сравнить их с данными литературы.

Пациенты и методы. Обследованы 45 детей с воспалительными заболеваниями кишечника в возрасте от 3 до 18 лет. Комплекс обследований проведен согласно приказу МЗ Украины от 29.01.2013 г. № 59. Определение делеционного полиморфизма *GSTM1*, *GSTT1* осуществлено методом мульт-

иплексной полимеразной цепной реакции, а полиморфных вариантов гена *MDR1* (C3435T) — методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов.

Результаты. Делеционный вариант гена *GSTM1* наблюдался у 27 детей с воспалительными заболеваниями кишечника (60%), а в популяции Украины — у 54,4% ($\chi^2=0,45$; $p=0,5$). Частота делеционного варианта гена *GSTM1* при болезни Крона и язвенном колите встречалась соответственно у 71,5% та 54,8% ($\chi^2=1,1$; $p=0,34$). Делеционный вариант гена *GSTT1* у детей с воспалительными заболеваниями кишечника отмечался у 26,7%, частота в популяции Украины составляла 20,1% ($\chi^2=0,9$; $p=0,34$). При исследовании полиморфизма гена *MDR1*, ТТ-генотип отмечался у 22,3% с воспалительными заболеваниями кишечника, а в популяции Украины — у 26,8% ($\chi^2=0,45$; $p=0,50$); СТ-генотип — соответственно у 53,4% и 59,0% ($\chi^2=0,1$; $p=0,74$).

Выводы. Полиморфные варианты генов *GSTM1*, *GSTT1*, *MDR1* не являются фактором риска развития воспалительных заболеваний кишечника у детей.

Ключевые слова: дети, воспалительные заболевания кишечника, язвенный колит, болезнь Крона, гены детоксикации.

The study prevalence of polymorphisms of genes of detoxification system in children with inflammatory bowel disease

V.S. Berezenko, E.N. Tkalik, Z.I. Rossokha, M.B. Dyba

SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine

SI «Reference-centre for molecular diagnostic Ministry of Public Health of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Purpose — investigation of the detoxification genes (*GSTM1*, *GSTT1*, *MDR1*) polymorphism distribution in population of children with inflammatory bowel disease and evaluation of its potential clinical utility in comparison with the current publications in the field.

Patients and methods. The study involved 45 children with inflammatory bowel diseases in the age from 3 to 18 years old. Clinical study was conducted under the order of Ministry of Health of Ukraine (№ 59 from 29.01.2013). Deletions polymorphism detection of *GSTM1* and *GSTT1* genes was performed by multiplex polymerase chain reaction, while polymorphic variants of gene *MDR1* (C3435T) were detected by polymerase chain reaction, followed by analysis of restriction fragment length polymorphism.

Results. *GSTM1* gene deletion was detected in 27 children with inflammatory bowel disease (60%), while in Ukrainian population this value is a bit lower (54.4%, $\chi^2=0,45$; $p=0,5$). The frequency of *GSTM1* gene deletions in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis was observed at 71.5% and 54.8% respectively ($\chi^2=1,1$; $p=0,34$). *GSTT1* gene deletion was detected in 26.7% of children with inflammatory bowel disease, while frequency of this mutation in Ukrainian population is 20.1% ($\chi^2=0,9$; $p=0,34$). Study of *MDR1* gene polymorphism revealed TT-genotype at 22.3%, while in Ukrainian population this variant reaches 26.8% ($\chi^2=0,45$; $p=0,50$). ST-genotype was found in 53.4% of children with inflammatory bowel disease, while in Ukrainian population it is 59.0% ($\chi^2=0,1$; $p=0,74$).

Conclusions. No significant difference observed between distribution of the genetic variants of the genes *GSTM1*, *GSTT1*, *MDR1* in population of children with inflammatory bowel diseases and in the control group. Mutations of the noted genes cannot be considered to be the risk factors for development of inflammatory bowel diseases in children.

Key words: children, inflammatory bowel disease, ulcerative colitis, Crohn's disease, detoxification genes.

Сведения об авторах:

Береженко Валентина Сергеевна — д.мел.н., руководитель центра детской гепатологии ГУ «ИПАГ НАМН Украины».

Адрес: г. Киев, ул. П. Майбороды, 8; тел. (044) 489-07-55.

Ткалик Елена Николаевна — мл.н.с. центра детской гепатологии ГУ «ИПАГ НАМН Украины». Адрес: г. Киев, ул. П. Майбороды, 8; тел. (044) 489-07-55.

Россоха З.И. ГУ «ИПАГ НАМН Украины». Адрес: г. Киев, ул. П. Майбороды, 8.

Дыба Марина Борисовна — к.мел.н., ст.н.с. центра детской гепатологии ГУ «ИПАГ НАМН Украины». Адрес: г. Киев, ул. П. Майбороды, 8; тел. (044) 489-07-55.

Статья поступила в редакцию 09.09.2016 г.

НОВОСТИ

Кости напечатывают на 3D-принтере

Группа специалистов из Северо-Западного Университета (Northwestern University) во главе с Адамом Якусом (Adam Jakus) создали искусственную костную ткань, которую можно печатать на 3D-принтере.

Биоматериал получил название Huger-Elastic Bone (гиперэластичная кость). По словам разработчиков он обладает высокой прочностью, а сделать фрагмент нужной формы можно очень быстро.

Сейчас при проведении операций, например, челюстно-лицевых, врачам часто приходится брать костный фрагмент из бедренной кости пациента, что значительно увеличивает процесс восстановления больного, а также сопряжено с другими сложностями. Использование биоматериала позволяет избежать осложнений и многих проблем.

Ученые уже испытывали биоматериал на животных, напечатав участки позвонков крыс и фрагменты черепа обезьян. Отверстия в черепе макак резусов заросли

через 4 недели — ученые не заметили никаких признаков отторжения, инфекции или каких-либо других побочных эффектов. Кроме того искусственный костный материал после имплантации стимулировал рост собственных костей организма.

Авторы считают, что таким образом можно будет печатать фрагменты костей для проведения челюстно-лицевых, стоматологических и других операций. Кроме того, их можно будет использовать в неонатальной хирургии — для устранения врожденных дефектов.

Ученые отметили, что испытания искусственного костного материала на пациентах начнутся в течение ближайших пяти лет.

Идея печатать кости не нова. Этим занимаются ученые из разных стран, в том числе и из России. Красноярские исследователи уже создали материал «Биопластотан», из которого можно создавать биосовместимые кости, индивидуально подходящие для каждого пациента.

Источник: med-expert.com.ua