

- of chronic hepatitis C in the United States /G.L.Davis, J.E.Albright, S.F.Cook, D.M.Rosenberg //Liver Transpl.- 2003.- Vol.9.- P.331-338.
- Deuffic-Burban S. Comparing the public health burden of chronic hepatitis C and HIV infection in France /S.Deuffic-Burban, J.B.Wong, A.J.Valleron [et al.] //J. Hepatol.- 2004.- Vol.40.- P.319-326.
- Matiegka J. The testing of physical efficiency /J.Matiegka //Amer. J. Phys. Antropol.- 1921.- Vol.2, №3.- P.25-38.
- National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of Hepatitis C: 2002 //Hepatology.- 2002.- Vol.36.- P.2-20.
- Ohki T. Obesity is an independent risk factor for hepatocellular carcinoma development in chronic hepatitis C patients/T.Ohki, R.Tateishi, T.Sato [et al.] //Clin. Gastroenterol. Hepatol.- 2008.- Vol.6(4).- P.459-464.
- Shephard R. Body composition in biological anthropology /R.Shephard. - Cambridge University Press, 1991.- 348 p.- ISBN-13: 9780521362672.
- The continuing increase in the incidence of hepatocellular carcinoma in the United States: an update /H.B.El-Seraq, J.A.Davila, N.J.Petersen, K.A.Mc-Glynn //Ann. Intern. Med.- 2003.- Vol.139.- P.817-823.
- Yu M.W. Body-mass index and progression of hepatitis B: a population-based cohort study in men /M.W.Yu, W.L.Shih, C.L.Lin [et al.] // J. Clin. Oncol.- 2008.- Vol.26 (34).- P.5576-5582.
- Weber E. Grundriss der biologischen statistik //Aufll. Jena.- 1961.- Vol.4.- P.13-42.

СОМАТОТИП И КОМПОНЕНТНЫЙ СКЛАД МАССЫ ТЕЛА ЗДОРОВЫХ И БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ "В" ИЛИ "С" ГОРОДСКИХ МУЖЧИН И ЖЕНЩИН ПОДОЛЬЯ

Гунас И.В., Дугельный А.Г., Прокопенко С.В., Даценко Г.В.

Резюме. В работе проведено сравнение поперечных размеров тела между 84 практически здоровыми мужчинами и 144 практически здоровыми женщинами Подолья первого зрелого возраста и 107 больными хроническими вирусными гепатитами В (ХГВ) или С (ХГС) мужчинами и 74 больными женщинами аналогичного возраста и места проживания. Статистически значимые отличия величины вышеуказанных показателей установлены как между здоровыми и больными мужчинами, или женщинами, так и между больными ХГВ и ХГС мужчинами или женщинами. В большинстве случаев установлены выраженные проявления полового диморфизма компонентов и типов соматотипа и компонентного состава массы тела как между здоровыми, так и между больными мужчинами и женщинами.

Ключевые слова: соматотип, компонентный склад массы тела, здоровое население Подолья, больные хроническими вирусными гепатитами, половой диморфизм.

SOMATOTYPE AND COMPONENT COMPOSITION OF BODY MASS IN HEALTHY AND PATIENTS WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS "B" OR "C" CITY MEN AND WOMEN OF PODILLYA

Gunas I.V., Dugelnyy A.G., Prokopenko S.V., Datsenko G.V.

Summary. Comparison of components of somatotype, component composition of mass of body and types of somatotype is conducted between 84 healthy men and 144 by healthy city women and 107 by patients with chronic viral hepatitis B (CHB) and C (CHC) by men and 74 by the patient with women habitants of the Podillya region of Ukraine. Statistically the meaningful differences of size of foregoing indexes are set as between healthy and sick men, or women, so between patients on CHB and CHC by men, or women. Also in most cases the set is expressed displays of sex dimorphism of components and types of somatotype and component composition of mass of body both between healthy and between sick men and women.

Key words: somatotype, component composition of mass of body, healthly population of Podillya, patients with chronic viral hepatitis, sex dimorphism.

© Харченко О.В.

УДК: 575.21:611.33:[577.215]

**ДИНАМІКА ПРОЯВІВ ФЕНОТИПУ ДИСПЛАЗІЙ ЕПІТЕЛІЮ СЛИЗОВОЇ
ОБОЛОНКИ ШЛУНКА У ВІДПОВІДНОСТІ З ЇХ ГЕНОТИПОМ НА
МАТЕРІАЛІ ВИВЧЕННЯ СВІТЛОВОЇ МІКРОСКОПІЇ ТА ДНК-ТИПУВАННЯ ЗА
МЕТОДОМ ISSR-PCR**

Харченко О.В.

Полтавський державний педагогічний університет імені В.Г.Короленка, кафедра медико-біологічних основ (вул. Остроградського, 2, м.Полтава, 36003, Україна)

Резюме. За 5 років повторних досліджень гастробіпсій вияснилось, що під впливом лікування фенотипи дисплазій епітелію слизової оболонки шлунка змінюються. Метод ISSR-PCR за вказаний період дослідження показав зміну структури ДНК (дезоксирибонуклеїнова кислота) слизової оболонки шлунка. В групі з дисплазією третього ступеня, у пацієнтів яких розвинувся рак, відбулися наступні зміни. Їх ДНК слизової оболонки шлунка показали наявність ампліконів розміром 620 та 520п.н.(пар нуклеотидів), та низький ступінь подібності геномів(37,6%) відповідно інших представників даної групи. Ці зміни є специфічними для виявлення новоутворення.

Ключові слова: фенотип, ДНК, геном, амплікони.

Вступ

Дисплазія епітелію слизової оболонки шлунка (СОШ), зазвичай, виявляється морфологічно. При цьому треба

мати на увазі, що існують нові діагностичні методи, такі як молекулярно-біологічний, із застосуванням числен-

них маркерів пренеопластичних і неопластичних змін у крові і тканинах. Для вивчення фенотипів диспластичних змін якісно виконана ендоскопічна біопсія з фарбуванням зрізів гематоксиліном і еозином є достатньо ефективним методом. Фоном для дисплазії завжди є хронічний атрофічний гастрит, при цьому ступінь тяжкості дисплазії зазвичай корелює з вираженням гастриту [Аруин і др., 1998].

У залежності від вираження структурних змін виділяють три ступеня дисплазії: перший ступінь слабкий (Д-I), другий помірний (Д-II), третій виражений або тяжкий (Д-III) [Смоляников, 1990]. Вивчення дисплазії слизової оболонки шлунка сьогодні є одним з пріоритетних серед передракових змін.

Незважаючи на багаторічне вивчення дисплазії СОШ не зовсім зрозуміло, чому не в усіх випадках Д-III розвивається рак шлунка, при тому, що за фенотипом вони мають однаковий вигляд. Це зумовлює необхідність впровадження нових методів вивчення існуючої проблеми. Велику перспективу для таких досліджень відкривають молекулярно-біологічні маркери, зокрема, ISSR-PCR (Inter-Simple Sequence Repeat - ампліфікація послідовностей між простими повторами), що відрізняється високим рівнем інформативності.

При використанні одного ISSR-праймеру в одній реакції можна аналізувати одразу 8-20 ДНК-локусів. Використання двох ISSR-систем з різними праймерами дає можливість проаналізувати від 16 до 40 локусів. Таким чином, ISSR-PCR є ефективним інструментом для пошуку змін у геномі клітини завдяки можливості швидкого аналізу великої кількості ДНК-локусів.

Вперше PCR була використана для ампліфікації подібних малокопійних районів. Потім стало можливим аналізувати райони ДНК, притулені до вже секвенованих послідовностей, і на решті, невідомі ДНК і РНК-експресивні послідовності [Mullis, Faloona, 1987; Tsanev, 1996; Tsanev, 2005]. Завдяки ISSR-PCR отримані геномні маркери злоякісних пухлин.

Метою дослідження було вивчення морфологічної характеристики фенотипу СОШ з ознаками Д-III у хворих на виразку шлунка і дванадцятипалої кишки та їх молекулярно-генетичні особливості і виявити перетворення Д-III у рак за допомогою методу ISSR-PCR.

Матеріали та методи

Для вивчення динаміки частоти виявлення дисплазій у хворих із хронічною виразкою шлунка (ХВШ) та хронічною виразкою дванадцятипалої кишки (ХВДПК) досліджували повторні гастробіопсії. Результати представлені в таблиці 1.

Гастробіоптати СОШ для дослідження фенотипу дисплазій брали за загальноприйнятою схемою. Фенотипи дисплазій епітелію СОШ вивчали за результатами вивчення гістологічних препаратів. Із парафінових блоків різних топографо-анатомічних відділів слизової оболонки шлунка на мікротомі МПС-2 отримували зрізи, котрі фар-

Таблиця 1. Розподілення гастробіоптатів за строками дослідження у хворих на ХВШ, ХВДПК.

Строки дослідження та кількість	Група дослідження			
	№1-2	ХВШ	ХВДПК	Всього
	1	124	149	273
	2	654	674	1328
3 міс.	1	135	115	250
	2	585	538	1123
6 міс.	1	97	51	148
	2	390	197	587
1 рік.	1	27	20	47
	2	112	85	197
1,5 роки	1	25	20	45
	2	109	83	192
2 роки	1	17	10	27
	2	66	30	96
2,5 роки	1	12	10	22
	2	50	25	75
3 роки	1	18	-	18
	2	34	-	34
3,5 роки	1	15	-	15
	2	29	-	29
4 роки	1	18	-	18
	2	34	-	34
4,5 роки	1	15	-	15
	2	26	-	26
5 років	1	14	-	14
	2	22	-	22

Примітка: 1 - кількість хворих, 2 - кількість гастробіоптатів.

бували гематоксиліном і еозином [Меркулов, 1969].

Паралельно із гістологічним дослідженням проводили індивідуальне ДНК-типуння (генотипуння) зразків СОШ шляхом ампліфікації ДНК у полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР) із використанням ISSR-праймеру S2 зі структурою: (AGC)6G [Mullis, Faloona, 1987].

Ампліфікацію проводили в 25 мкл реакційної суміші, що містила 1хреакційний буфер з трифосфатами, праймер наведеної структури, Таг-полімераза ("Тапотілі", ВНДІ генетики, Росія), ДНК додавали в кількості 10-20 нг на реакцію. Температура відпалу праймеру становила 57°C, синтез фрагментів ДНК проходив в 30 циклах ампліфікації на термоциклері (ампліфікаторі) "Терцик" ТП4-ПЦР01 ("ДНК - технологія", Росія) в режимі: I - 95° - 2хв., II - 94° - 30с, 57° - 2 хв, 72° - 2 хв., III - 72° - 10 хв.

Електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації проводили в 2% горизонтальному агарозному гелі в 1хTBE-буфері з наступним їх фарбуванням протягом 10 хв у 0,5 мкг/мл розчині бромистого етидію і багаторазовою промивкою у проточній воді.

Візуалізацію електрофореграм проводили на транслюмінаторі в УФ світлі з довжиною хвилі 365 нм із фотографуванням. Розміри ампліконів визначали за

Таблиця 2. Частота виявлення фенотипу Д епітелію в гастробіоптатах при повторних спостереженнях.

Строки	Група	Кількість хворих	Частота Д епітелію та РШ				
			Д не знайдено	Д-I	Д-II	Д-III	РШ
1	2	3	4	5	6	7	8
3 міс	Д-I	160	48,12%(77)	49,3%(79)	2,58%(4)	-	-
	Д-II	68	33,8%(23)	22,0%(15)	41,2%(28)	3%(2)	-
	Д-III	22	-	-	36,3%(8)	63,7%(14)	-
6 міс	Д-I	88	56,8%(50)	40,9%(36)	2,3%(2)	-	-
	Д-II	45	4,4%(2)	40%(18)	51,1%(23)	4,4%(2)	-
	Д-III	15	-	13,3%(2)	20%(3)	66,7%(10)	-
1 рік	Д-I	28	39,2%(11)	50%(14)	10,8%(3)	-	-
	Д-II	12	8,3%(1)	16,7%(2)	58,3%(7)	16,7%(2)	-
	Д-III	7	-	-	14,3%(1)	85,7%(6)	-
1,5 року	Д-I	18	50%(9)	50%(9)	-	-	-
	Д-II	15	-	18,75%(3)	68,75%(11)	12,5%(1)	-
	Д-III	12	-	-	13,3%(2)	86,7%(10)	-
2 роки	Д-II	13	-	7,1%(1)	85,8%(11)	7,1%(1)	-
	Д-III	14	-	-	6,7%(1)	93,3%(13)	-
2,5 роки	Д-II	10	-	10%(1)	90%(9)	-	-
	Д-III	12	-	-	8,3%(1)	91,7%(11)	-
3 роки	Д-II	8	-	12,5%(1)	75%(6)	12,5%(1)	-
	Д-III	10	-	-	10%(1)	90%(9)	-
3,5 роки	Д-II	8	-	12,5%(1)	75%(6)	12,5%(1)	-
	Д-III	10	-	-	10%(1)	90%(9)	-
4 роки	Д-II	8	-	12,5%(1)	75%(6)	12,5%(1)	-
	Д-III	10	-	-	10%(1)	90%(9)	-
4,5 років	Д-II	7	-	-	100%(7)	-	-
	Д-III	8	-	-	-	87,5%(7)	12,5%(1)
5 років	Д-II	7	-	-	85,7%(6)	14,3%(1)	-
	Д-III	7	-	-	-	85,7%(6)	14,3%(1)

допомогою маркерів молекулярної маси 1000вр DNA-Ledder, рUC 19 DNA/ Msp I ("Fermentas", Літва).

Ступінь подібності між профілями ампліконів оцінювали за формулою: $2N_x / (N_x + N_y)$, де N_x - число співпадаючих смуг на спектрах зразків; N_x і N_y - загальна кількість фрагментів зразків x та y.

Зміну частоти виявлення фенотипів дисплазій (Д) епітелію на окремі ділянки слизової оболонки спостерігали за повторними гастробіоптатами. У дослідженні був використаний молекулярно-біологічний метод ISSR-PCR, за допомогою котрого є можливість виявити зміни, які спостерігаються при повторних гастробіоптатах на рівні ДНК, тобто виявити частоту змін останньої при повторних дослідженнях і за методом ISSR-PCR і світловій мікроскопії встановити відповідність змін фенотипів СОШ змінам генотипів.

Першочергово вивчено 1328 гастробіоптатів, що отримані від 273 пацієнтів хворих на ХВШ (124 хворих) та ХВДПК (149 хворих). Фенотипи дисплазії епітелію СОШ були виявлені при ХВШ - у 69 хворих (Д-I - в 44, Д-II - у

19, Д-III - у 6), а при ХВДПК в 58 хворих (Д-I - 38 хворих, Д-II - у 15, Д-III - у 5). Підрахунок проводили за найбільшим ступенем Д епітелію. Хворі, відповідно до ступеня вираження Д епітелію, були розділені на 3 групи, що включали з Д-I - 82 спостереження, з Д-II - 34 і з Д-III - 11. При виявленні в біоптатах Д-III хворим для виключення РШ через 2 тижня проводили повторне ендоскопічне обстеження, в інших випадках обстеження проводили через 3 місяці. У 5 пацієнтів з Д-III в гастробіоптатах виявлена підозра на пухлинний ріст, а в повторних дослідженнях діагностований рак. Ці випадки були виключені із подальших спостережень.

У подальшому обстеження хворим проводили 1 раз на 3 місяці. Якщо в гастробіоптатах не було виявлено диспластичних змін, то цих пацієнтів виключали із подальших спостережень. Але при виявленні вищого, ніж у попередньому гастробіоптаті, ступеня вираження Д епітелію, хворого одразу переводили до відповідної групи. В силу зрозумілих причин частина хворих випала із спостережень. Через 2 роки після першого обстеження під наглядом були оставлені тільки хворі з Д-II та Д-III, котрим виконували гастрофіброскопію 1 раз у півроку. Всього було вивчено 3683 повторних біопсій у 859 випадках (табл. 2).

Відсутність Д епітелію у повторних гастробіоптатах, або виявлення менш

вираженого її ступеня, ніж у попередньому обстеженні, ми умовно позначаємо як покращення стану, при виявленні більш вираженого ступеня Д (а при Д-III раку) - погіршення стану, якщо той же ступінь Д, що в попередньому гастробіоптаті - стабільний стан.

Результати. Обговорення

У групах в різні строки спостереження показники динаміки фенотипу Д епітелію наведені в таблиці 3. Аналіз цих даних свідчить про існування окремих тенденцій в динаміці змін фенотипів Д епітелію, що залежать, у значній мірі, від ступеня їх вираження.

При Д-I на всіх етапах спостереження частина хворих з поліпшенням стану та стабільним станом була практично однаковою. При Д-II аналогічна картина спостерігалась протягом першого півріччя, а при подальших обстеженнях достовірно переважав стабільний стан ($p < 0,01$). Д-III була більш інертною, але при ній перевага стабільного стану відмічена вже через 3 місяці, в подальших обстеженнях ці переваги стають статистич-

Таблиця 3. Динаміка фенотипу Д епітелію слизової оболонки шлунка за результатами дослідження повторних гастробіоптатів.

Строки досліджу	Дослідна група	Характер змін СОШ		
		Позитивні	Стабільні	Негативні
3 міс	Д-I	48,12±3,5%	49,3±3,5%	2,58±0,7%
	Д-II	55,8±3,4%	41,2±3,4%	3,0±1,7%
	Д-III	36,3±10,1%	63,7±10,1%	-
6 міс	Д-I	56,8±5,2%	40,9±5,1%	4,4±2,8%
	Д-II	44,4±7,9%	51,1±7,9%	4,4±2,8%
	Д-III	33,3±11,5%	66,7±11,5%	-
1 рік	Д-I	39,2±8%	50,0±8,1%	10,8±4,9%
	Д-II	25,0±9,2%	58,3±10,5%	16,7±7,5%
	Д-III	14,3±9,6%	85,7±9,6%	-
1,5 року	Д-I	50,0±13,9%	50,0±13,9%	-
	Д-II	18,75±9,1	68,75±10,9%	12,5±7,6%
	Д-III	13,3±9,0%	86,7±9,0%	-
2 роки	Д-II	7,1±7,1%	85,8±9,6%	7,1±7,1%
	Д-III	6,7±6,7%	93,3±6,7%	-
2,5 роки	Д-II	10,0±10,0%	90,0±10,0%	-
	Д-III	8,3±8,3%	91,7±8,3%	-
3 роки	Д-II	12,5±12,5%	75,0±16,4%	12,5±12,5%
	Д-III	10,0±10,0%	90,0±10,0%	-
3,5 роки	Д-II	12,5±12,5%	75,0±16,4%	12,5±12,5%
	Д-III	10,0±10,0%	90,0±10,0%	-
4 роки	Д-II	12,5±12,5%	75,0±16,4%	12,5±12,5%
	Д-III	10,0±10,0%	90,0±10,0%	-
4,5 років	Д-II	-	100%	-
	Д-III	-	87,5±12,5%	12,5±12,5%
5 років	Д-II	-	85,7±14,3%	14,3±14,3%
	Д-III	-	85,7±14,3%	14,3±14,3%

но значимими.

Більшість пацієнтів з покращенням стану відмічено в першому півріччі. Статистично достовірної різниці між представленими показниками не виявлено ($p > 0,05$), але вони, ймовірно, ілюструють динаміку розвитку фенотипу Д епітелію різного ступеня.

У порівнянні з ВХШ диспластичні зміни були більш лабільними при ВХДПК, остання мала прояви покращення стану, тоді як ВХШ демонструвала прояви стабільного стану, а при Д-I і Д-III різниця між групами була статистично достовірною. Протягом подальших досліджень ця різниця нівелювалась (табл. 4).

Таблиця 4. Динаміка фенотипу Д епітелію слизової оболонки шлунка за результатами дослідження гастробіоптатів хворих на ВХДПК та ВХШ протягом першого року спостереження.

Дослідна група	Характер змін фенотипу Д епітелію								
	Позитивні			Стабільні			Негативні		
	Д-I	Д-II	Д-III	Д-I	Д-II	Д-III	Д-I	Д-II	Д-III
ВХДПК	57±4,6	51,4±6,2	55±11,2	37,1±4,6	38,3±6,1	44±11,2	2,7±1,4	3,2±3,1	-
	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,01$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	-
ВХШ	41,2±3,1	42,6±5,2	14,3±4,6	51,7±3,3	48,7±5,3	86,7±6,2	3,8±1,2	5,6±2,4	-

У 2 пацієнтів з ВХШ через 4,5 і 5 років від початку спостереження виявили рак шлунка. Ці хворі неодноразово проходили ендоскопічне дослідження з численними біопсіями. Тобто, найбільш ймовірно, що на початок дослідження пухлина в них була відсутня. Після проведеної резекції шлунка в обох випадках знайдений внутрішньослизовий рак шлунка.

При первинному обстеженні в гастробіопсіях в обох спостереженнях виявлена Д-III, яка постійно спостерігалась протягом всього періоду дослідження. За п'ятирічний період спостереження розвиток раку шлунка із Д-III виявлено у 18,18±1,18% хворих. Виявити морфологічну різницю Д-III епітелію у випадках, де розвинувся рак шлунка і де він не розвинувся нам не вдалося, тобто за фенотипом вони схожі, це підтверджують дослідження, що були проведені у хворих з хронічними гастритами [Садчиков, 1995].

Результати проведеного ДНК-типуювання (генотипування) СОШ пацієнтів з ВХШ та ВХДПК продемонстрували різноманітність ампліфікаційних профілів зразків ДНК СОШ, в яких можна було простежити ряд спільних рис і виділити декілька ПЛР-типів.

Для зручності типи ДНК-профілів зразків СОШ аналізували, попередньо згрупувавши їх за відповідністю до фенотипічних ознак: тип норми відповідав - фенотипу СОШ, що відповідала нормі; перший тип - фенотипу СОШ з ознаками Д-I; другий тип - фенотипу СОШ з ознаками Д-II; третій тип - фенотипу СОШ з ознаками Д-III.

ДНК-типи СОШ, що відповідали нормі, можна було умовно об'єднати у два ПЛР-підтипи: один - з наявністю серед ПЛР-продуктів фрагментів молекулярною масою 90 та 70 п.н. (пар нуклеотидів), та другий без цих фрагментів (рис. 1).

У межах першого ПЛР-типу ступінь подібності ампліфікаційних профілів коливався від 77,8% до 100%, у межах другого - від 71,4% до 77,0%. При порівнянні між собою ДНК-профілів СОШ різних типів ступінь подібності складав 48,3%, що свідчить про їх значну генотипічну відмінність.

Профіль маркеру СОШ у нормі містив фрагменти розміром 190, 180, 160, 140, 120, 110, 90, 70, 60 п.н. (рис. 1, ампліфікаційні профілі перший та другий зліва), не виявивши повного співпадіння з жодним із інших типів досліджуваних ДНК-профілів.

Встановлена подібність профілю маркеру норми (рис. 1) з ДНК-профілями СОШ першого типу Д-I (75,5% подібності) та низький ступінь подібності (35,5%) з ДНК-профілями СОШ Д-II третього типу (рис. 2).

Ампліфікаційні профілі СОШ Д-III (рис. 3, рис. 4) загалом характеризувались більшою кількістю високомолекулярних фрагментів (розміром

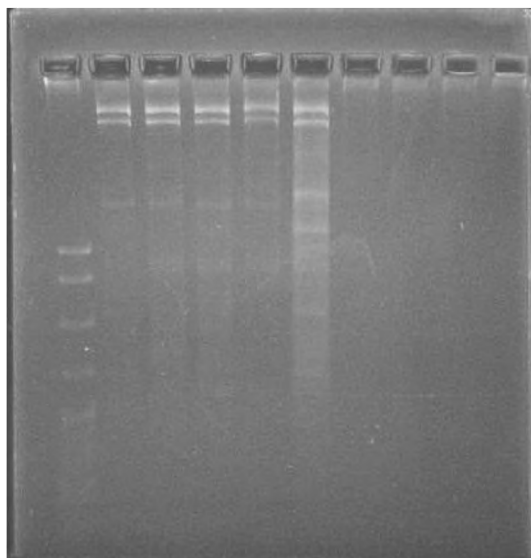


Рис. 1. Ампліфікаційні профілі ДНК СОШ у нормі.

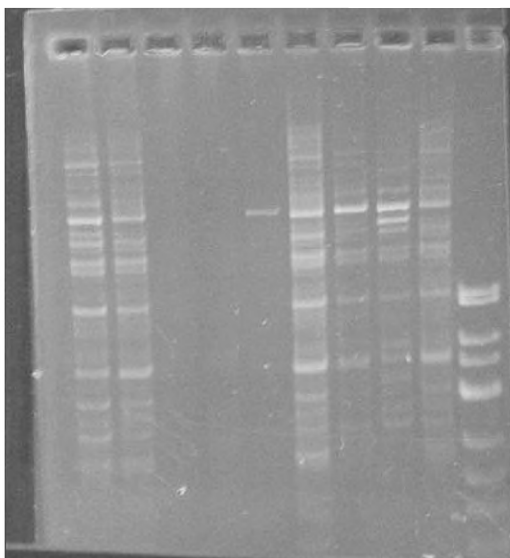


Рис. 2. Ампліфікаційні профілі ДНК СОШ першого, другого та третього типів.

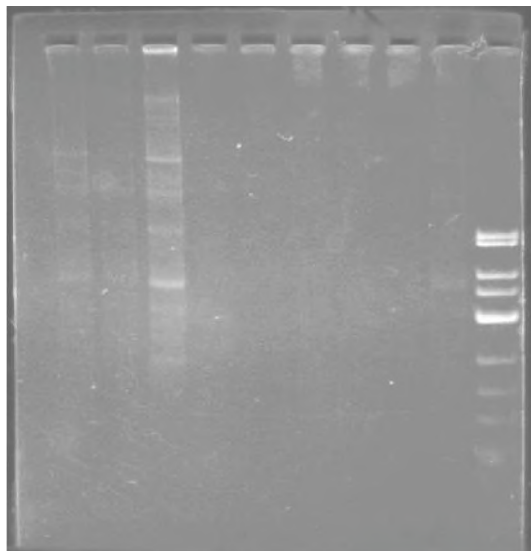


Рис. 3. Ампліфікаційні профілі ДНК СОШ третього типу.

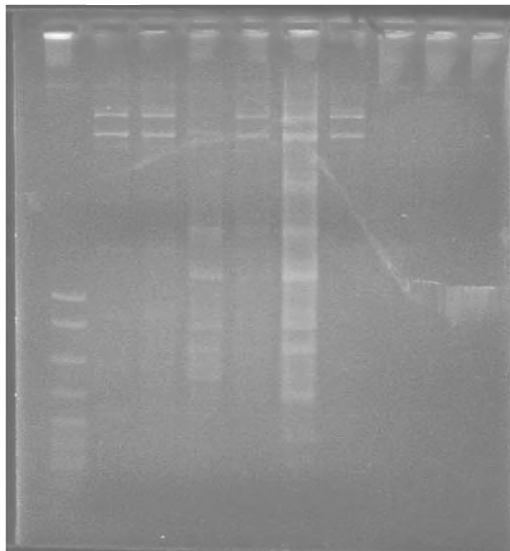


Рис. 4. Ампліфікаційні профілі ДНК СОШ третього типу.

620 та 520 п.н.) у порівнянні з профілями СОШ Д-II, де превалювали амплікони менше за 400 п.н.: високомолекулярні амплікони виявлено у 90,0% та 45,5% зразків СОШ відповідно.

У свою чергу ДНК-профілі СОШ Д-II поділились на 2 варіанти - з присутністю серед ПЛР-продуктів ампліконів розміром 620 та 520 п.н. та без них. СОШ Д-II, профілі яких містили фрагменти 620 та 520 п.н., виявили подібність між собою на рівні 78,0 - 100% (ДНК-профілі на рис. 2), а також значну подібність (на рівні 74,2%) з ДНК-профілями СОШ типу Д-III. Це дозволило визначити перехід СОШ Д-II, з наявністю у профілях ДНК високомолекулярних ампліконів, до ПЛР-типу Д-III (рис. 4).

Ампліфікаційні ДНК-профілі СОШ Д-II, які не містили високомолекулярних фрагментів, продемонструва-

ли досить високий ступінь подібності між собою (82,3%). Порівняння даних профілів з профілями СОШ Д-III показало невисокий ступінь подібності їх геномів - 56,8%.

СОШ Д-II, профілі яких не містили фрагментів 620 та 520 п.н., складала окремий ПЛР-підтип зі спектром ампліконів 300, 240, 210, 200, 190, 180, 160, 140, 120, 110, 90, 70, 60 п.н. До даного підтипу було включено 12,5% вивчених ДНК СОШ.

Порівняння ампліфікаційних ДНК-профілів СОШ різних груп показало, що застосування ISSR-PCR дало можливість визначити характерні особливості профілів, за якими СОШ можна віднести до цієї, або іншої групи.

Співставлення, отриманих в ході даної роботи ампліфікаційних ДНК-

профілів СОШ за методом ISSR-PCR, продемонструвало значні відмінності в генетичній структурі цих груп. Так, підтип ДНК-профілів СОШ, віднесених до Д-II, характеризувався наявністю в ампліфікаційних профілях фрагментів 620 та 520 п. н. Фрагменти такого розміру були відсутні в ампліфікаційних профілях ДНК СОШ із фенотипом Д-I.

Амплікони розміром 620 та 520 п. н. були переважно виявлені у ДНК-профілях СОШ з фенотипом Д-III. Це підтверджує значну генетичну відмінність СОШ, що належать до різних фенотипічних груп.

При порівнянні між собою профілів різних типів, ступінь подібності складав 48,3%, що також свідчить про їх значну генетичну відмінність. Відносна ідентичність ДНК-профілів між собою спостерігалась лише у зразків

ДНК СОШ, віднесених до ПЛР першого типу.

Отримані результати дослідження ампліфікаційних профілів корелювали з результатами гістологічного дослідження гастробіоптатів. Тому після 2 років спостереження кількість хворих різко зменшилась, тобто за ПЛР-типами залишились лише ті хворі, котрі були віднесені до другого та третього типу та які відповідали фенотипам СОШ Д-II та Д-III. При повторних дослідженнях ампліфікаційні профілі другого (Д-II) і третього (Д-III) типів мали певний ступінь подібності в своїх групах.

Звертають на себе увагу ампліфікаційні профілі ДНК СОШ пацієнтів, у котрих через 4,5 і 5 років розвинувся рак шлунка, які продемонстрували досить високий ступінь подібності між собою (82,3%), але порівняння цих ампліфікаційних профілів з профілями інших представників належної їм групи показало дуже невисокий ступінь подібності їх геномів - 37,6%. В ампліфікаційних профілях цих випадків переважали фрагменти 620 та 520 п. н. Ступінь подібності їх ампліфікаційних профілів був стабільно низьким в межах своєї групи протягом всього дослідного періоду.

Висновки та перспективи подальших розробок

Таким чином, узагальнюючи результати даної роботи, п'ятирічний аналіз повторних гастробіопсій показав, що в динаміці під впливом лікування фенотипи Д можуть змінюватися і змінюються в кращу сторону. Однак, у дослідній групі Д-III існують випадки, які фенотипічно не відрізняються від таких в її межах, але звертає увагу

стабільність їх стану, що не змінюється під впливом лікування. Подальше розв'язання цієї проблеми видно за результатами повторних досліджень ДНК-типування.

Генотипування структури ДНК СОШ за допомогою ПЛР за 5 років спостереження виявило достатньо різноманітну картину. Зразки було поділено на чотири ПЛР-типи, в межах котрих спостерігали досить високу подібність ампліфікаційних профілів ДНК СОШ. Співставлення отриманих в ході даної роботи ампліфікаційних профілів між виділеними групами продемонструвало значні відмінності в їх генетичній структурі. В групі Д-III ампліфікаційні профілі ДНК СОШ пацієнтів, у яких за п'ятирічний період розвинувся рак, показали наявність високомолекулярних ампліконів розміром 620 та 520 п. н. та низький ступінь подібності геномів відносно інших представників групи - 37,6%, що можна вважати ознаками виникнення новоутворення.

ПЛР (ISSR-PCR) є інформативним методом для виявлення зміни генетичної структури СОШ, яка змінюється під впливом внутрішнього і зовнішнього середовища. Даний варіант ПЛР, враховуючи його доступність та відносну простоту постановки, а також можливість візуального зчитування результатів без застосування спеціальної апаратури, з успіхом використаний при вивченні ДНК-типування СОШ з фенотипами дисплазії епітелію і дозволяє виявляти їх генетичну однотипність, або розбіжність, або перехід останніх в рак.

Цей маркер можна використати в подальшому на практиці з метою ранньої діагностики злоякісних новоутворень СОШ, що дасть змогу вчасного і оптимального лікування.

Література

- | | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Аруин Л.И. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника /Л.И.Аруин, Л.Л.Капуллер, В.А.Исаков.- М.: Триада, 1998.- 483с. | рак слизистой оболочки желудка: Дисс... докт. мед. наук: 14.01.39 / В.Д.Садчиков.- Харьков, 1995.- 263с. | DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction //Meth. Enzymol.- 1987.- №155.- С.335-350. |
| Меркулов А.Т. Курс патологической техники /А.Т.Меркулов.- Л.: Медицина, 1969.- 243с. | Смоляников А.В. Опухолевый рост; в кн: Общая патология человека ; ред. Струков А.И.- М. : Медицина, 1990.- С.323-401. | Tsanev R. Evolution and genetic network - the role of nonlinearity //Evol. Cognit.- 1996.- №2.- P.59-64. |
| Садчиков В.Д. Дисплазии эпителия и | Mullis K.B., Faloona F. Specific synthesis of | Tsanev R. Molecular mechanisms of cancer cells survival //J. BUON.- 2005.- №10.- P.309-318. |

ДИНАМИКА ПРОЯВЛЕНІЙ ФЕНОТИПА ДИСПЛАЗІЙ ЕПІТЕЛІЯ СЛИЗИСТОЇ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА В СООТВЕТСТВИИ С ИХ ГЕНОТИПОМ НА МАТЕРИАЛЕ ИЗУЧЕНИЯ СВЕТОВОЙ МИКРОСКОПИИ И ДНК-ТИПИРОВАНИЯ ПО МЕТОДУ ISSR-PCR

Харченко А.В.

Резюме. За 5 лет повторных исследований гастробипсий выяснилось, что под влиянием лечения фенотипы дисплазий эпителия слизистой оболочки желудка изменяются. Метод ISSR-PCR за указанный период исследования показал изменения структуры ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) слизистой оболочки желудка. В группе с дисплазией третьей степени, у пациентов которых развился рак, произошли следующие изменения. Их ДНК слизистой оболочки желудка показали наличие ампликонов размером 620 та 520 п.н. (пар нуклеотидов) и низкую степень подобия геномов (37,6%) относительно других представителей данной группы. Эти изменения являются специфичными для выявления новообразований.

Ключевые слова: фенотип, ДНК, геном, ампликоны.

DYNAMICS OF DISPLAYS OF PHENOTYPES OF EPITHELIUM DYSPLASIA MUCOUS COAT OF STOMACH IN ACCORDANCE WITH THEIR GENOTYPE ON MATERIAL OF STUDY OF LIGHT MICROSCOPY AND DNA-TYPES AFTER METHOD OF ISSR-PCR

Kharchenko A.V.

Summary. It turned out for 5 years of the repeated researches of gastrobiopsy, that under influencing of treatment of phenotype dysplasia of epithelium of mucous coat of stomach change. The method of ISSR-PCR, for the mentioned period of research, showed

the changes of structure DNA (deoxyribonucleic acid) of mucous coat of stomach. In a group with dysplasia of the third degree, for the patients of which a cancer developed, next changes happened. Their DNA of mucous coat of stomach showed a presence an amplicones size 620 and 520 p.n. (pair of nucleotides), and low degree of similarity of genomes(37,6%) in relation to other representatives of this group. These changes show specific for the exposure of neoplasms.

Key words: *phenotype, DNA, genomes, amplicones.*

© Ізюмець С.О.

УДК: 612.621.31:577.169:618.145:618.19:616-006.36:616.43/.45

ОСОБЛИВОСТІ КЛІНІКО-ГОРМОНАЛЬНОГО МОНІТОРИНГУ ПОЄДНАНОЇ ПАТОЛОГІЇ: ДИСГОРМОНАЛЬНІ ЗАХВОРЮВАННЯ МОЛОЧНИХ ЗАЛОЗ ТА МІОМА МАТКИ У ЖІНОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ НА ФОНІ ГІПОТИРЕОЗУ

Ізюмець С.О.

Вінницький національний медичний університет ім М.І.Пирогова (вул.Пирогова, 56, м.Вінниця, 21018, Україна)

Резюме. *За результатами скрінінгу жінок репродуктивного віку з гіпотиреозом встановлено значну розповсюдженість дисгормональних захворювань молочних залоз та міоми матки, і поєднання зазначених захворювань зокрема. Запропоновано систему моніторингу зазначених патологічних станів серед жінок з гіпотиреозом.*

Ключові слова: *міома матки, дисгормональні захворювання молочних залоз, гіпотиреоз.*

Вступ

Невпинний ріст рівня захворюваності на патологію щитовидної залози, що спостерігається протягом останніх років, змусив практичних лікарів різного фаху привернути увагу до тиреології. Разом із тим, зростання темпу соціально-економічних та суспільно-політичних змін у нашому суспільстві, високий рівень психологічної напруги та особливості репродуктивної функції зумовлюють подальше зростання кількості дисгормональних розладів репродуктивної системи та міоми матки і дисгормональних захворювань молочних залоз зокрема. Часте поєднання патології щитовидної залози з дисгормональними захворюваннями молочних залоз та матки викликає інтерес у багатьох науковців. Так, гіпотиреоз виявлено у 43-64% жінок з дисгормональними захворюваннями молочних залоз [Пиддубний і др., 2001]. Частота гіпотиреозу у хворих з міомою матки за даними деяких вчених складає 28-32% [Дуда, Герасимова, 1996]. Згідно роботам І.В.Дуда та Л.Н.Герасимовой [1996], відмічається найбільш суттєве зниження функції щитовидної залози на фоні поєднаної патології: міома матки та дисгормональні захворювання молочних залоз на фоні окремо дисгормональних захворювань молочних залоз та окремо міоми матки.

Незважаючи на велику кількість досліджень, патогенез розвитку та шляхи профілактики поєднаної патології: дисгормональних захворювань молочних залоз та міоми матки у жінок репродуктивного віку на фоні гіпотиреозу ще й досі залишаються остаточно не вивченими. Наявні літературні дані щодо даної проблеми іноді суперечливі та неоднозначні [Сидорова, Ардус, 2002; Грекова і др., 2003; Cattaneo et al. 2001; Atsushi, 2004; Cosulari et al., 2006].

Зазначені патологічні стани суттєво впливають на

якість життя, працездатність та репродуктивне здоров'я жінок репродуктивного віку. Тому метою нашого дослідження стало вивчення патогенетичних особливостей розвитку дисгормональних захворювань молочних залоз та міоми матки на фоні гіпотиреозу та розробка системи клініко-гормонального моніторингу вказаних патологічних станів у жінок даної групи.

Матеріали та методи

В результаті проведених досліджень встановлено, що у пацієток основної групи поєднана патологія - дисгормональні захворювання молочних залоз та матки мала місце у 25,16% випадків, а частота дисгормональної патології молочних залоз, з урахуванням пацієток із поєднаною патологією - міомою матки та дисгормональними захворюваннями молочних залоз на фоні гіпотиреозу (I група) та пацієток з дисгормональними захворюваннями молочних залоз на фоні гіпотиреозу (III група), склала 50,31% випадків. Частота міоми матки склала 49,68% (з урахуванням пацієток з поєднаною патологією - міомою матки та дисгормональними захворюваннями молочних залоз на фоні гіпотиреозу (I група) та з міомою матки на фоні гіпотиреозу (II група).

Результати. Обговорення

Згідно отриманих даних щодо високої частоти міоми матки та дисгормональних захворювань молочних залоз у зазначених жінок нами запропоновано наступну систему клініко-гормонального моніторингу жінок репродуктивного віку при встановленні діагнозу гіпотиреозу (рис. 1) з метою раннього виявлення, своєчасного лікування, первинної та вторинної профілактики, що буде сприяти збереженню здоров'я жінок репро-

the changes of structure DNA (deoxyribonucleic acid) of mucous coat of stomach. In a group with dysplasia of the third degree, for the patients of which a cancer developed, next changes happened. Their DNA of mucous coat of stomach showed a presence an amplicones size 620 and 520 p.n. (pair of nucleotides), and low degree of similarity of genomes(37,6%) in relation to other representatives of this group. These changes show specific for the exposure of neoplasms.

Key words: *phenotype, DNA, genomes, amplicones.*

© Ізюмець С.О.

УДК: 612.621.31:577.169:618.145:618.19:616-006.36:616.43/.45

ОСОБЛИВОСТІ КЛІНІКО-ГОРМОНАЛЬНОГО МОНІТОРИНГУ ПОЄДНАНОЇ ПАТОЛОГІЇ: ДИСГОРМОНАЛЬНІ ЗАХВОРЮВАННЯ МОЛОЧНИХ ЗАЛОЗ ТА МІОМА МАТКИ У ЖІНОК РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ НА ФОНІ ГІПОТИРЕОЗУ

Ізюмець С.О.

Вінницький національний медичний університет ім М.І.Пирогова (вул.Пирогова, 56, м.Вінниця, 21018, Україна)

Резюме. *За результатами скрінінгу жінок репродуктивного віку з гіпотиреозом встановлено значну розповсюдженість дисгормональних захворювань молочних залоз та міоми матки, і поєднання зазначених захворювань зокрема. Запропоновано систему моніторингу зазначених патологічних станів серед жінок з гіпотиреозом.*

Ключові слова: *міома матки, дисгормональні захворювання молочних залоз, гіпотиреоз.*

Вступ

Невпинний ріст рівня захворюваності на патологію щитовидної залози, що спостерігається протягом останніх років, змусив практичних лікарів різного фаху привернути увагу до тиреології. Разом із тим, зростання темпу соціально-економічних та суспільно-політичних змін у нашому суспільстві, високий рівень психологічної напруги та особливості репродуктивної функції зумовлюють подальше зростання кількості дисгормональних розладів репродуктивної системи та міоми матки і дисгормональних захворювань молочних залоз зокрема. Часте поєднання патології щитовидної залози з дисгормональними захворюваннями молочних залоз та матки викликає інтерес у багатьох науковців. Так, гіпотиреоз виявлено у 43-64% жінок з дисгормональними захворюваннями молочних залоз [Пиддубний і др., 2001]. Частота гіпотиреозу у хворих з міомою матки за даними деяких вчених складає 28-32% [Дуда, Герасимова, 1996]. Згідно роботам И.В.Дуда та Л.Н.Герасимовой [1996], відмічається найбільш суттєве зниження функції щитовидної залози на фоні поєднаної патології: міома матки та дисгормональні захворювання молочних залоз на фоні окремо дисгормональних захворювань молочних залоз та окремо міоми матки.

Незважаючи на велику кількість досліджень, патогенез розвитку та шляхи профілактики поєднаної патології: дисгормональних захворювань молочних залоз та міоми матки у жінок репродуктивного віку на фоні гіпотиреозу ще й досі залишаються остаточно не вивченими. Наявні літературні дані щодо даної проблеми іноді суперечливі та неоднозначні [Сидорова, Ардус, 2002; Грекова і др., 2003; Cattaneo et al. 2001; Atsushi, 2004; Cosulari et al., 2006].

Зазначені патологічні стани суттєво впливають на

якість життя, працездатність та репродуктивне здоров'я жінок репродуктивного віку. Тому метою нашого дослідження стало вивчення патогенетичних особливостей розвитку дисгормональних захворювань молочних залоз та міоми матки на фоні гіпотиреозу та розробка системи клініко-гормонального моніторингу вказаних патологічних станів у жінок даної групи.

Матеріали та методи

В результаті проведених досліджень встановлено, що у пацієток основної групи поєднана патологія - дисгормональні захворювання молочних залоз та матки мала місце у 25,16% випадків, а частота дисгормональної патології молочних залоз, з урахуванням пацієток із поєднаною патологією - міомою матки та дисгормональними захворюваннями молочних залоз на фоні гіпотиреозу (I група) та пацієток з дисгормональними захворюваннями молочних залоз на фоні гіпотиреозу (III група), склала 50,31% випадків. Частота міоми матки склала 49,68% (з урахуванням пацієток з поєднаною патологією - міомою матки та дисгормональними захворюваннями молочних залоз на фоні гіпотиреозу (I група) та з міомою матки на фоні гіпотиреозу (II група).

Результати. Обговорення

Згідно отриманих даних щодо високої частоти міоми матки та дисгормональних захворювань молочних залоз у зазначених жінок нами запропоновано наступну систему клініко-гормонального моніторингу жінок репродуктивного віку при встановленні діагнозу гіпотиреозу (рис. 1) з метою раннього виявлення, своєчасного лікування, первинної та вторинної профілактики, що буде сприяти збереженню здоров'я жінок репро-