

Вплив препарату Лективір на вірус грипу

Вплив	Інфекційний титр в Іg ID ₅₀
Лективір + муцин + вірус грипу	5,5
Лективір + вірус грипу	3,0
Вірус грипу	6,0

оброблені препаратом Лективір в тій же дозі. Результати наведені в табл. 8.

Аналізуючи одержані дані, слід відмітити, що зняття спорідненості сіаловмісних зв'язків $\alpha 2,3$ з галактозою у препарату Лективір муцином підшелепної залози відміняла пригнічуючу дію Лективіру на репродукцію вірусу грипу.

Таким чином, в серії експериментів було показано, що інгібіція репродукції вірусу грипу здійснюється на стадії адсорбції вірусу грипу, шляхом пригнічення рецептора глікопротеїну вірусу грипу Лективіром та взаємодії нейрамінідази вірусу грипу з Лективіром як субстратом.

ЛІТЕРАТУРА

1. Блюмкин В.Н., Жданов В.М. Влияние вирусом на хромосомный аппарат и деление клеток. — М.: Медицина, 1973.
2. Горбунова А.С., Соколов М.И. Руководство по лабораторной диагностике гриппа, парагриппа и аденовирусных болезней. — М., 1960.
3. Коваленко Е.О. Позаклітинні лектини бактерій роду *Vacillus* / Автореф. докт. дис. — К., 1999. — 36 с.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. — К., 2001. — С. 371–396.
5. Aminoff D. Methods for the quantitative estimation of *N*-acetyl-neuraminic acid and their application to hydrolysates of sialomucoids // *Biochem. J.* — 1961. — Vol. 81. — P. 384–392.
6. Balzarini J, Neyts J., Schols D. et al. The mannose-specific plant lectins from *Cymbidium hybrid* and *Epipactis helleborine* and the (*N*-acetylglucosamine)*n*-specific plant lectin from *Urtica dioica* are potent and selective inhibitors of human immunodeficiency viruses and cytomegalovirus replication *in vitro* // *Antiviral Res.* — 2002. Vol. 18 (2). — P. 191–207.
7. Krivan H.C. et al Purification of *Clostridium difficile* toxin A by affinity chromatography on immobilized thyroglobulin // *Infect. Immun.* — 1987. — Aug, Vol. 55 (8). — P. 1873–1877.
8. Miller J. and Anders M. Virus-cell interactions in the induction of type 1 interferon by influenza virus in mouse spleen cells // *J. Gen. Virol.* — 2003. — Vol. 84. — P. 193–202.
9. Wellsh R., O'Donnel C., Reed D. Evaluation of Gala 1-3 Epitope as Host Modific Eliciting Natural Humoral Immunity to Enveloped Viru // *J. Virol.* — 1998. — June, Vol. 72 (6). — P. 4650–4656.
10. Varki A. Biological Roles of Oligosaccharides // *J. Biol. Chem.* — 1990. — Vol. 26, № 5. — P. 18713–18716.

АНТИВИРУСНА АКТИВНОСТЬ
ПРЕПАРАТА ЛЕКТИВИР

Л.Д. Жаркова, С.Л. Рыбалко, С.Т. Дядюн,
Э.А. Коваленко, К.И. Гетьман, В.С. Подгорский

В работе представлены результаты исследований по изучению антивирусной активности препарата Лективир

in vitro и *in vivo*. Исследования установили максимально переносимую концентрацию препарата, минимально активную концентрацию, химиотерапевтический индекс, что дает основание отнести этот препарат к высокоактивным антивирусным препаратам. Лективир угнетает репродукцию вируса гриппа на 2,0–3,0 Іg ID₅₀ и полностью защищает животных от экспериментальной гриппозной инфекции при профилактической и лечебной схеме введения препарата. В серии экспериментов было показано, что механизм действия осуществляется на стадии адсорбции вируса гриппа путем связывания рецептора гликопротеина вируса гриппа и взаимодействия нейраминидазы вируса гриппа с Лективиром как субстратом.

ANTIVIRAL ACTIVITY OF LECTIVIR

L.D. Zharkova, S.L. Rybalko, S.T. Diadiun,
E.O. Kovalenko, K.I. Hetman, V.S. Pidhorskyi

The results of the study of antiviral activity of Lectivir *in vitro* and *in vivo* have been presented. The maximal tolerable concentration of Lectivir is 2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the minimal active concentration — 1.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and chemotherapeutic index — 1604. Based on these data, the anti-influenza substance Lectivir is to be considered as highly active antiviral substance. Lectivir inhibits reproduction of influenza virus by 2.0–3.0 Іg ID₅₀ protecting completely the animals in the setting of the experimental influenza infection both in prophylactic and therapeutic treatment regimen. The mechanism of antiviral activity involves the binding of glycoprotein receptor of influenza virus at the stage of viral adsorption and the interaction of viral neuraminidase with Lectivir as a substrate.

УДК 616-005.6-056.7:575.224.2

Г.В. Макух, Л.Б. Чорна,
О.З. Гнатейко, Д.В. Заставна

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНА
ДІАГНОСТИКА СПАДКОВИХ ЧИННИКІВ
ТРОМБОФІЛІЇ: МУТАЦІЙ G1691A ГЕНА *FV*
ТА G20210A ГЕНА *FII*, АЛЕЛЬНОГО
ПОЛІМОРФІЗМУ 675 4G/5G ГЕНА *PAI-1*

ДУ "Інститут спадкової патології НАМН України",
Львів, Україна

Тромбофілія — підвищена схильність організму до розвитку тромбозів, яка обумовлена порушеннями регуляторних механізмів системи

гемостазу або зміною властивостей окремих її ланок, є етіологічною складовою найбільш частих захворювань людини. За даними ВООЗ, атеротромбоз — головна причина смертності у всьому світі [11]: атеросклеротичні процеси неможливі без утворення тромбу, тромбози коронарних судин ведуть до інфаркту міокарда, більшість мозкових інсультів є наслідком емболії тромбами; тромбози глибоких вен нижніх кінцівок є головною причиною розвитку тромбоемболії легеневої артерії (ТЕЛА). Безсумнівним є факт наявності генетичної компоненти у розвитку тромбофілії, яка є мультифакторною патологією [21]. Враховуючи складні взаємодії, необхідні для модуляції тромботичних і антитромботичних процесів, для функціонального контролю згортання має значення генетичний поліморфізм ключових рецепторів, ферментів і кофакторів. Виявлено декілька десятків алельних варіантів генів, що кодують компоненти плазмової та тромбоцитарної ланок гемостазу, носійство яких асоційоване з розвитком передтромботичних порушень і/або підвищеним ризиком тромбозу [9, 12].

Ріст числа тромбофілічних станів, який відмічається за останні роки, відкриття нових форм тромбофілії та внесок гіперкоагуляційних порушень в перебіг багатьох захворювань визначають важливість вивчення спадкової складової цієї патології.

Мета роботи: налагодити молекулярно-генетичний аналіз та встановити частоту мутацій G1691A гена *FV* (фактора *n'ять згортання крові*), G20210A гена *FII* (протромбіну) та алелів поліморфного локусу 4G/5G гена *PAI-1* (інгібітора активатора плазміногена I) в досліджуваних вибірках.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Контрольним матеріалом для проведення дослідження служили зразки банку ДНК ДУ “Інститут спадкової патології НАМНУ” мешканців західноукраїнського регіону. Для аналізу було відібрано 225 зразків ДНК: 120 практично здорових жінок без ускладненого генетичного та акушерського анамнезу, які народили двоє та більше здорових дітей (контрольна група I), 35 практично здорових дітей (контрольна група II) та 70 чоловіків. До першої групи дослідження увійшли 84 жінки з невиношуванням вагітності (НВ) — наявність двох і більше самовільних викиднів в анамнезі, до другої групи — 35 зразків

біологічного матеріалу самовільних викиднів (МСВ). Проводили виділення та очистку ДНК із лейкоцитів периферійної крові методом вищолування. На подальших етапах дослідження проводили ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro*, використовуючи метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Використовували олігонуклеотидні праймери, ендонуклеази рестрикції та термостабільну Taq-полімеразу (“Fermentas”, Вільнюс, Литва). Генетичне тестування мутацій G1691A гена *FV* та G20210A гена *FII*, та алелів поліморфного локусу 675 4G/5G гена *PAI-1* проводили методом ПДРФ [7, 10, 13]. У дослідженні розроблено та апробовано методику, яка дозволяє в одній “пробірці” проводити дослідження генетичних маркерів спадкових тромбофілій: мутації G1691A гена фактора V (Leiden) та G20210A гена фактора II (протромбін), що на 50% скоротило робочі та фінансові витрати на проведення молекулярно-генетичного аналізу. Електрофорез проводили у 2,5% агарозному гелі та сканували на УФ-трансліюмінаторі. Перевірку статистичних гіпотез та вірогідність відмінностей проводили з допомогою критерію χ^2 на рівні значущості $p < 0,05$ та застосовували точний критерій Фішера. Відносний ризик визначали за величиною співвідношення шансів (OR, 95% довірчий інтервал).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Молекулярно-генетичний аналіз мутації *FV* G1691A (Лейденська мутація). Частотою причиною тромбофілії є резистентність до активованого протеїну С (РАПС), 90% випадків якої обумовлені мутацією G1691A (Лейденська мутація, FVL) гена фактора V (*FV*) згортання крові, який локалізований в ділянці q23 хромосоми 1. Для дослідження мутації G1691A, проводили молекулярно-генетичний аналіз послідовності ДНК 10-го екзону гена *FV* згортання крові з використанням ендонуклеази рестрикції *HindIII*. Одночасно проводили аналіз мутації G20210A гена *FII* (рис.).

В результаті проведеного молекулярно-генетичного аналізу в контрольному матеріалі мутацію G1691A у гетерозиготному стані виявлено у 4,17% жінок, які народили двох і більше здорових дітей, у 3,11% осіб популяційної контрольної вибірки та у 2,86% практично здорових дітей (табл. 1). Аналогічні результати отримані у дослідженні Татарського та ін. 2010, де частота мутації *FV* G1691A становила 3,5% [18].

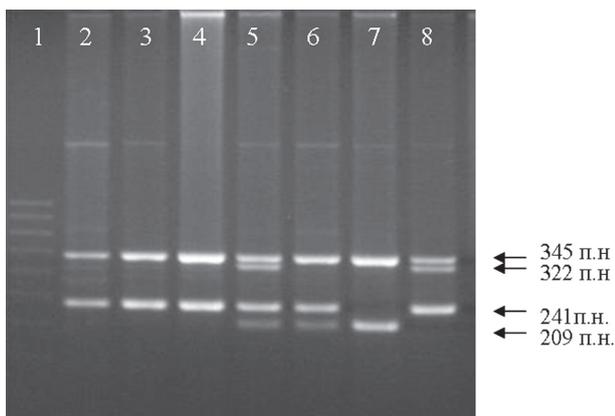


Рис. Електрофореграма рестрикційних *HindIII* фрагментів продуктів ампліфікації локусів G20210A гена *FII* та G1691A гена *FV* згортання крові (2,5% агарозний гель):

1 — маркер молекулярної ваги pUC19 DNA/MspI; 2 — продукти ПЛР без рестрикції; 3, 4 — особи з відсутністю мутацій *FII* G20210A та *FV* G1691A; 5 — особа з наявністю мутацій *FII* G20210A та *FV* G1691A у гетерозиготному стані; 6 — особа з наявністю мутації *FV* G1691A у гетерозиготному стані; 7 — контрольний зразок ДНК особи з мутацією *FV* G1691A у гомозиготному стані; 8 — особа з наявністю мутації *FII* G20210A у гетерозиготному стані

За даними літератури, ризик венозного тромбозу у гетерозиготних носіїв мутації *FV* G1691A підвищується у 5–10 разів, а у гомозигот — у 50–80 разів [4]. Слід зазначити, що для жінок носіїв мутації *FVL* ризик тромбозів на фоні прийому контрацептивів підвищується у 30–50 разів. У даному дослідженні наявність мутації *FV* G1691A виявлено у 7 осіб контрольних груп, що слід врахувати при плануванні проведення гормональної контрацепції та хірургічних втручань. У роботі не виявлено жодного випадку наявності мутації *FV* G1691A у гомозиготному стані ні в дослідних, ні в контрольних групах, що може бути пояснено низькою частотою гомозигот в популяціях, за окремими повідомленнями вона становить біля 0,02% [17].

У групі жінок з НВ виявлено вірогідно вищу частоту мутації G1691A (11,9%) у порівнянні з

даними контрольної групи I (4,17%) та загальнопопуляційної вибірки (3,11%) (табл. 1).

Як видно з табл. 1, частота мутантного 1691A алеля у дослідній групі жінок становила 0,060, у порівнянні з 0,021 у групі матерів здорових дітей. Середня частота гетерозиготних носіїв мутації *FVL* становить 5–7%, а гомозигот 0,02% при наявності регіональних та етнічних відмінностей в різних популяційних групах [4]. Поширеною є мутація *FVL* є у Європейській популяції та практично не зустрічається у африканців, індійців, китайців, японців [14]. Частота 1691A алеля за середньоевропейськими даними складає: від 0,015 у Нідерландах до 0,027 у Німеччині [20].

Обрахунок коефіцієнта відносного ризику показав, що наявність у жінки мутації *FVL* у гетерозиготному стані збільшує ризик НВ у 3 рази (OR=3,11, $p < 0,05$). За даними літератури, мутація *FVL* є одним з факторів ризику повторних викиднів і збільшує їх ризик у 2–3 рази, що співпадає з отриманими результатами [2]. Окремі повідомлення вказують на збільшення частоти мутації *FVL* у жінок з ідіопатичним НВ до 30% у порівнянні з 1–10% в контрольній групі (OR від 2 до 5) [3].

При вагітності РАПС може проявлятися тромбозом плацентарних судин та завмиранням вагітності. Відкритим є питання генетичних особливостей зародка з нормальним каріотипом, які можуть спричинитися до переривання вагітності. Проведено генетичне тестування мутації G1691A у зразках ДНК виділеної з ворсин хоріона самовільно елімінованих ембріонів. Встановлена частота Лейденської мутації у МСВ (2,86%) співпадає з таким показником у групі практично здорових дітей (2,86%) та з даними отриманими у загальнопопуляційній вибірці (3,11%). Отримані результати вказують на переважаче значення материнського генотипу,

Таблиця 1

Розподіл генотипів та алелів локусу G1691A гена *FV* згортання крові

Генотип <i>FVL</i>	Частота, %				
	Жінки з НВ, n=84	Контрольна група I, n=120	МСВ, n=35	Контрольна група II, n=35	Загальнопопуляційна вибірка, n=225
GG	88,10	95,83	97,14	97,14	96,89
AG	11,90*	4,17	2,86	2,86	3,11
AA	—	—	—	—	—
G алель	94,00	97,92	98,60	98,60	98,45
A алель	6,00*	2,08	1,40	1,40	1,55

* — статистично вірогідна відмінність.

ніж генотипу плоду щодо наявності мутації *FV G1691A* як одного із етіологічних чинників невиношування вагітності.

Молекулярно-генетичний аналіз мутації *G20210A* гена протромбіну (*FII*). Другим найбільш частим генетичним дефектом, який приводить до спадкових тромбозів після Лейденської мутації, є мутація *G20210A* гена протромбіну (*FII*), який локалізований в ділянці p11 хромосоми 11. Мутація *G20210A* гена протромбіну зумовлює підвищений рівень протромбіну та тромбіну, що провокує появу надмірної кількості фібринових згустків та підвищує ризик розвитку тромбозів [8].

В результаті проведеного молекулярно-генетичного аналізу мутацію *G20210A* гена *FII* згортання крові у гетерозиготному стані виявлено у однієї особи контрольної групи I та у трьох осіб загально-популяційної вибірки, що склало 0,83% та 1,57%, відповідно (табл. 2). У дослідженні Татарського та ін. 2010, частота мутації *FII G20210A* становила 3,0% [8]. За узагальненими даними літератури, мутація *FII G20210A* зустрічається з частотою від 0,70% до 4,00%, в середньому у 2,00% жителів Європи [1].

Частота мутантного *G20210A* алеля, за результатами дослідження, становила 0,004 у контрольній групі I та 0,007 у загально-популяційній вибірці жителів Західного регіону України. Як свідчать дані літератури, частота *G20210A* алеля варіює від 0,009 до 0,022 в різних популяційних та етнічних групах Європи [16].

У групі жінок з НВ мутацію *FII G20210A* виявлено у двох осіб, що склало 2,38%, у порівнянні з 0,83% у контрольній групі I. В анамнезі обох пацієнток спостерігалися по дві замерлі вагітності I триместру. При обрахунку коефіцієнта відношення шансів встановлено, що при наявності мутації *G20210A* у гетерозиготному стані, ризик НВ може зростати у 2,9 рази ($OR=2,90$, $p>0,05$).

У результаті проведеного молекулярно-генетичного аналізу зразків ДНК виділених з хоріона самовільно елімінованих ембріонів мутацію *FII G20210A* у гетерозиготному стані виявлено у одному зразку ДНК, при її відсутності у контрольній групі практично здорових дітей. За даними літератури, гетерозиготне носійство мутації *FII G20210A* асоціюється з порушенням плацентациї та зростанням ризику НВ до 12 разів [19] та за даними низки авторів є фактором ризику викиднів на ранніх термінах вагітності [15, 16]. В результаті проведеного дослідження, сумарно, мутації *FV G1691A* та *FII G20210A* виявлено у 14,28% жінок з двома та більше викиднями в анамнезі у порівнянні з 5,00% осіб контрольної групи, що вказує на значний внесок даних мутацій у ризик виникнення невиношування вагітності. Слід відмітити, що при цьому, не виявлено відмінностей у частоті даних мутацій у матеріалі самовільних викиднів від даних отриманих в контрольних вибірках.

Молекулярно-генетичний аналіз поліморфного локусу *675 4G/5G* гена інгібітора активатора плазміногена-1 (*PAI-1*). Основним ендогенним механізмом, що запобігає тромбоутворенню є фібриноліз. Інгібітор активатора плазміногена є центральним компонентом фібринолітичної системи кодується геном *PAI-1* (*SERPINE1*), який локалізований в локусі q21.3 хромосоми 7. 4G алель гена *PAI-1* (делеція гуаніну в позиції 675) характеризується підвищеною експресією, і, ймовірно, інгібує фібриноліз, тоді як 5G-алель зумовлює помірну транскрипцію мРНК, отже, середній рівень синтезу білка [5]. Підвищення продукції *PAI-1* супроводжується в кінцевому результаті посиленням внутрішньосудинного тромбоутворення та асоціюється з венозним тромбозом, хворобами судин головного мозку та різними ускладненнями перебігу вагітності [6].

Таблиця 2

Розподіл генотипів та алелів локусу *G 20210 A* гена *FII* згортання крові

Генотип <i>FII</i>	Частота, %				
	Жінки з НВ, n=84	Контрольна група I, n=120	МСВ, n=35	Контрольна група II, n=35	Загально-популяційна вибірка, n=225
GG	97,62	99,17	97,14	100	98,43
AG	2,38*	0,83	2,85	—	1,57
AA	—	—	—	—	—
G алель	98,8	99,58	98,57	100	99,33
A алель	1,20	0,42	1,43	—	0,67

* — статистично вірогідна відмінність.

Розподіл генотипів та алелів поліморфного локусу 675 4G/5G гена *PAI-1*

PAI-1 5G/4G генотип	Частота, %				
	Жінки з НВ, n=84	Контрольна група I, n=120	МСВ, n=35	Контрольна група II, n=35	Загально-популяційна вибірка, n=225
5G/5G	14,29**	26,67	14,29	17,14	21,33
4G/5G	45,24	43,33	45,71	45,71	45,33
4G/4G	40,48	30,00	40,00	37,14	33,33
5G	36,90	48,33	37,10	40,00	44,00
4G	63,10**	51,67	62,90	60,00	56,00
P_{HWE}^*	0,089	0,147	0,901	0,778	0,229

* P_{HWE} — рівень значущості відмінності від рівноваги Харді–Вайнберга; ** — статистично вірогідна відмінність.

Для встановлення розподілу генотипів та алелів поліморфного локусу 675 4G/5G ins/del гена *PAI-1* проводили молекулярно-генетичне дослідження послідовності ДНК промоторного регіону гена, де у випадку наявності 5G-алеля з'являється сайт розпізнавання для ендонуклеази BslI.

За результатами аналізу відповідності фактичних частот генотипів до теоретично очікуваних встановлено, що у досліджуваних та контрольних вибірках осіб має місце випадковий розподіл генотипів і статистично вірогідних відмінностей у розподілі генотипів локусу 675 4G/5G гена *PAI-1* від рівноваги Харді–Вайнберга не виявлено ($p_{HWE} > 0,05$).

Згідно даних проведеного молекулярно-генетичного аналізу поліморфного локусу 675 4G/5G гена *PAI-1*, у контрольній групі I частота мутантного 4G/4G генотипу становила 30,00%, контрольній групі II — 37,14%, загально-популяційній контрольній вибірці — 33,33%. Частота 4G алеля у контрольних групах склала 0,517, 0,600 та 0,560 (табл. 3).

Аналіз поліморфного локусу 675 4G/5G гена *PAI-1* у групі жінок з НВ показав статистично вірогідне зниження частки нормального генотипу 5G/5G у дослідній групі — 14,29%, у порівнянні з контрольною групою I — 26,67% ($p < 0,05$). У групі жінок з НВ частка гетеро- та гомозиготних носіїв генотипів даного локусу була вищою у порівнянні з контрольною групою I: 45,24% та 40,48%, проти 43,33% та 30,00%, відповідно, проте статистично вірогідних значень не досягла. Частота 4G алеля у дослідній групі жінок склала 0,630 і була статистично вірогідно вищою, ніж у групі матерів здорових дітей — 0,517 ($p < 0,05$). При обчисленні співвідношення шансів, виявлено, що наявність у генотипі жінки 4G алеля

статистично вірогідно збільшує ризик НВ у 1,6 рази ($OR = 1,6$, $p < 0,05$).

Результати проведеного молекулярно-генетичного аналізу поліморфного локусу 675 4G/5G гена *PAI-1* у контрольній групі II показали, що частота мутантного 4G/4G генотипу була незначно нижчою у групі здорових дітей — 37,14%, ніж у МСВ — 40,00%. Частота гетерозиготного генотипу 4G/5G не відрізнялася між дослідною та контрольною групами і становила 45,71%. Таким чином, не виявлено відмінностей у розподілі алелів та генотипів поліморфного локусу 4G/5G гена *PAI-1* у МСВ від даних отриманих у контролі.

ВИСНОВКИ

1. Частота досліджуваних спадкових чинників тромбофілії у загально-популяційній вибірці жителів Західного регіону України становить: 3,11% — мутація G1691A гена *FV* та 1,57% — мутація G20210A гена *FII*.

2. У досліджуваних та контрольних вибірках осіб має місце випадковий розподіл генотипів локусу 675 4G/5G гена *PAI-1*. У загально-популяційній вибірці частота мутантного 4G/4G генотипу поліморфного локусу 675 4G/5G гена *PAI-1* становить 33,33%.

3. У групі жінок з невиношуванням вагітності встановлено статистично вірогідно вищу частоту гетерозиготних носіїв мутації G1691A гена *FV* згортання крові, ніж у матерів здорових дітей та показано, що наявність у жінки мутації *FVL* збільшує ризик НВ у 3 рази ($p = 0,037$), а наявність у генотипі жінки 4G алеля поліморфного локусу 675 4G/5G гена *PAI-1* збільшує ризик НВ у 1,6 рази ($p = 0,022$).

4. Не виявлено відмінностей у частоті алелів та генотипів досліджуваних генетичних локусів

у зразках ДНК виділеної із хоріона самовільних викиднів від даних отриманих у контрольних групах. Отримані результати вказують на переважаче значення материнського генотипу, ніж генотипу плоду щодо наявності спадкових факторів тромбофілії як одного із етіологічних чинників невиношування вагітності.

ЛІТЕРАТУРА

- Alfirevic Z., Simundic A.M., Nikolac N. et al. Frequency of factor II G20210A, factor V Leiden, MTHFR C677T and PAI-1 4G/5G polymorphism in patients with venous thromboembolism: Croatian case control study // *Biochemia Medica*. — 2010. — Vol. 20, № 2. — P. 229–235.
- Brenner B. Inherited thrombophilia and pregnancy loss / B. Brenner // *Thromb. Haemost.* — 1999. — Vol. 82, № 2. — P. 634–641.
- Brenner B. Clinical management of thrombophilia-related placental vascular complications / B. Brenner // *Blood*. — 2004. — Vol. 103. — P. 4003–4009.
- Büller H.R., Deitchman D., Prins M. et al. Efficacy and safety of the oral direct factor Xa inhibitor apixaban for symptomatic deep vein thrombosis. The Botticelli DVT-dose-ranging study // *J Thromb Haemost.* — 2008. — Vol. 6, № 8. — P. 1313–1318.
- Burzotta F., Iacoviello L., Di Castelnuovo A. et al. 4G/5G PAI-1 promoter polymorphism and acute-phase levels of PAI-1 following coronary bypass surgery: a prospective study // *J. Thromb Thrombolysis*. — 2003. — Vol. 16. — P. 149–154.
- Coulam C.B., Jeyendran R.S., Fishel L.A. et al. Multiple thrombophilic gene mutations rather than specific gene mutations are risk factors for recurrent miscarriage // *Am. J. Reprod. Immunol.* — 2006. — Vol. 55, № 5. — P. 360–368.
- Gandrille S. A rapid screening method for the factor V Arg5063Gln mutation / S. Gandrille, M. Alhenc-Gelas, M. Aiach // *Blood Coagul Fibrinolysis*. — 1995. — Vol. 6. — P. 245–248.
- Gehring N.H., Frede U., Neu-Yilik G. et al. Increased efficiency of mRNA 3' end formation: a new genetic mechanism contributing to hereditary thrombophilia // *Nat. Genet.* — 2001. — Vol. 28. — P. 389–392.
- Lane D.A. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease / D.A. Lane, P.J. Grant // *Blood*. — 2000. — Vol. 95. — P. 1517–1532.
- Leipold H., Knoefler M., Gruber Ch. et al. Plasminogen Activator Inhibitor 1 Gene Polymorphism and Gestational Diabetes Mellitus // *Obstetrics Gynecology*. — 2006. — Vol. 107, № 3. — P. 651–656.
- Murray C.J. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990–2020: Global Burden of Disease Study / C.J. Murray, A.D. Lopez // *Lancet*. — 1997. — Vol. 349. — P. 1498–1504.
- Navarro-Nunez L., Lozano M.L., Rivera J. et al. The association of the beta1 — tubulin Q43 Ppolymorphism with intracerebral hemorrhage in men // *Haematologica*. — 2007. — Vol. 92, №1. — P. 513–518.
- Poort S.R., Rosendaal F.R., Reitsma P.H. et al. A Common Genetic Variation in the 3' Untranslated Region of the Prothrombin Gene Is Associated with Elevated Plasma Prothrombin Levels and Increase in Venous Thrombosis // *Blood*. — 1996. — Vol. 88, № 10. — P. 3698–3703.
- Rees D.C. World distribution of factor V Leiden / D. C. Rees, M. Cox, J. B. Clegg // *Lancet*. — 1995. — Vol. 346. — P. 1133–1134.
- Reznikoff-Etievant M.F., Cayol V., Carbonne B. et al. Factor V Leiden and G20210A prothrombin mutations are risk factors for very early recurrent miscarriage // *BJOG*. — 2001. — Vol. 108, № 12. — P. 1251–1254.
- Robertson L., Wu O., Langhorne P. et al. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review // *Br. J. Haematol.* — 2006. — Vol. 132. — P. 171–196.
- Spector E.B., Grody W.W., Matteson C.J. et al. Technical standards and guidelines: venous thromboembolism (factor V Leiden and prothrombin 20210G >A testing): a disease-specific supplement to the standards and guidelines for clinical genetics laboratories // *Genet. Med.* — 2005. — Vol. 7, № 6. — P. 444–453.
- Tatarsky P.F., Kucherenko A.M., Kravchenko S.A. et al. Ischemic stroke in Ukrainian population: possible involvement of the F2 20210A, F5 G1691A and MTHFR C677T gene variants // *Biopolymers and Cell*. — 2010. — Vol. 26, № 4. — P. 299–305.
- D'Uva M., Di Micco P., Strina I. et al. Recurrent Pregnancy Loss and Thrombophilia // *J. Clin. Med. Res.* — 2010. — Vol. 2, № 1. — P. 18–22.
- Zee R.Y.L., Cook N.R., Cheng S. et al. Multi-locus candidate gene polymorphisms and risk of myocardial infarction: a population-based, prospective genetic analysis // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. — 2006. — Vol. 4. — P. 341–348.
- Zoller S. Genetic variation within and among populations of the threatened lichen *Lobaria pulmonaria* in Switzerland and implications for its conservation / S. Zoller, F. Lutzoni, C. Scheidegger // *Molecular Ecology*. — 1999. — Vol. 8. — P. 2049–2059.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ФАКТОРОВ ТРОМБОФИЛИИ: МУТАЦИЙ G1691A ГЕНА FV И G20210A ГЕНА FII, АЛЛЕЛЬНОГО ПОЛИМОРФИЗМА 675 4G/5G ГЕНА PAI-1

Г.В. Макух, Л.Б. Чорна,
О.З. Гнатейко, Д.В. Заставна

Проведено генетическое тестирование мутаций G1691A гена FV и G20210A гена FII, и аллелей полиморфного локуса 4G/5G гена PAI-1 методом ПДРФ. Разработан и апробирован метод, позволяющий в одной “пробирке” проводить исследования двух генетических маркеров наследственных тромбофилий: мутации G1691A гена фактора V (Leiden) и G20210A гена фактора II (протромбин), что на 50% сократило рабочие и финансовые расходы на проведение молекулярно-генетического анализа. Не обнаружено различий в частоте аллелей и генотипов исследованных генетических локусов в материале самопроизвольных выкидышей от данных контрольных групп.

MOLECULAR-GENETIC DIAGNOSTICS OF HEREDITARY FACTORS OF THROMBOPHILIA: FV G1691A AND FII G20210A GENE MUTATIONS AND ALLELIC POLYMORPHISM 675 4G/5G OF PAI-1 GENE

H.V. Makukh, L.B. Chorna,
O.Z. Hnateyko, D.V. Zastavna

Genetic testing of FV G1691A and FII G20210A gene mutations, and PAI-1 675 4G/5G gene polymorphism was carried out by RFLP method. It has been elaborated method that allows testing of two genetic markers of hereditary thrombophilia in “one” tube”: mutations G1691A of factor V (Leiden) and G20210A of factor II (prothrombin), which reduced twice the performance and financial expenses. There were no differences in the frequency of alleles and genotypes of studied genetic loci in abortive genetic material in comparison with obtained data in the control groups.