

У.В. Бергер¹, В.И. Ларионова², Д.В. Черкашин¹

Структурные полиморфизмы С677Т в гене 5, 10-метилентетрагидрофолатредуктазы и А2756G в гене метионинсинтазы у мужчин, страдающих ишемической болезнью сердца

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург²Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург

Резюме. Представлена оценка морфофункционального состояния сосудов и центральной гемодинамики, показателей метаболизма липидов в зависимости от уровня гомоцистеина и полиморфизма генов метилентетрагидрофолатредуктазы и метионинсинтазы у мужчин, страдающих ишемической болезнью сердца. Выявлено, что гипергомоцистеинемия наблюдается у 32,2% больных ишемической болезнью сердца, у здоровых мужчин контрольной группы гипергомоцистеинемии не выявлено. Установлено, что полиморфные варианты генов метилентетрагидрофолатредуктазы и метионинсинтазы ассоциированы с уровнем гомоцистеина в крови. Наиболее выраженное влияние на уровень гомоцистеина оказывают полиморфные варианты С677Т гена метилентетрагидрофолатредуктазы. Но влияния полиморфизма А2756G гена метионинсинтазы на содержание гомоцистеина у обследованных пациентов, страдающих ишемической болезнью сердца, и у здоровых мужчин контрольной группы, не выявлено. Таким образом, исследуемые полиморфные варианты генов ассоциированы с уровнем гомоцистеина в крови. Что касается ассоциации изученных полиморфных вариантов генов метилентетрагидрофолатредуктазы и метионинсинтазы с общеизвестными факторами, способствующими риску развития ишемической болезни сердца, такими как уровень холестерина, липопротеидов низкой плотности, триглицеридов, а также избыточная масса тела и возраст, то статистически значимых результатов не получено. Также не было выявлено зависимости между толщиной комплекса интима-медиа общей сонной артерии и исследуемыми вариантами генотипов генов метилентетрагидрофолатредуктазы и метионинсинтазы. Отсутствие ассоциации исследованных полиморфных вариантов генов с известными факторами, участвующими в развитии ишемической болезни сердца свидетельствует о том, что гомоцистеин имеет самостоятельное значение как фактор риска развития ишемической болезни сердца, уровень которого находится под генетическим контролем. Уровень гомоцистеина является маркером, а не причиной сердечно-сосудистых заболеваний.

Ключевые слова: гомоцистеин, факторы риска, ишемическая болезнь сердца, толщина комплекса интима-медиа сонных артерий, ген метилентетрагидрофолатредуктаза, ген метионин синтаза, индекс массы тела.

Введение. Распространенность болезней, вызванных атеросклерозом, приняла глобальный характер. По оценке экспертов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2020 г. общая численность умерших от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) может достигнуть 25 млн человек. В связи с этим продолжается поиск новых факторов риска (ФР), идентификация которых позволила бы влиять на уровень смертности от этих заболеваний. Своевременное изучение механизмов возникновения и прогрессирования ишемической болезни сердца (ИБС) и выявление ФР развития атеросклероза и тромбоза коронарных артерий, оценка значимости их влияния на течение заболевания открывает реальные пути улучшения сложившейся ситуации. Как показали результаты одного из крупнейших международных исследований MONICA [39], классические ФР развития атеросклероза не могут полностью объяснить развитие сердечно-сосудистых осложнений. Вследствие этого интенсивно продолжается поиск других причин атеротромбоза [11, 13]. Свыше 80 клинических и эпидемиологических исследований подтвердили,

что одним из значимых, самостоятельных ФР раннего развития и быстрого прогрессирования атеросклероза [13, 6–9] и тромбоза коронарных, церебральных и периферических артерий является гипергомоцистеинемия (ГГЦ) [22, 23]. Полученные достоверные доказательства послужили основанием для создания гомоцистеиновой теории патогенеза развития атеросклероза [1, 5, 17] и выделения ее отдельной строкой в классификации тромбофилий [2]. В настоящее время известно, что гомоцистеин может способствовать окислению липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), нарушению функции эндотелия, пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, активации тромбоцитов и коагуляционного каскада. В связи с этим в последние годы активно изучаются метаболизм гомоцистеина и влияющие на него факторы. Остается открытым вопрос, является ли ГГЦ самостоятельным фактором риска ССЗ или повышение уровня гомоцистеина является следствием других состояний, предрасполагающих к развитию сердечно-сосудистой патологии. Остается неясным вопрос, существует ли прямая корреляция

между нарушениями системы свертывания крови и фибринолиза, липидного обмена, эндотелиальной дисфункции и присутствием полиморфных повреждающих аллелей в генах, продукты которых оперируют в метаболизме гомоцистеина.

Цель исследования. Оценить морфо-функциональное состояние сосудов и центральной гемодинамики, показателей метаболизма липидов в зависимости от уровня гомоцистеина и полиморфизма генов метилентетрагидрофолатредуктазы (MTGFR) и метионин синтазы (MTR) у мужчин, страдающих ИБС.

Материалы и методы. Работа выполнена на клинической базе кафедры военно-морской терапии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, на базе медицинского центра «МедЛаб», лаборатории молекулярной диагностики с расширенной группой по экогенетике научно-исследовательского центра Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета.

Отбор больных ИБС для включения в исследование проводился в два этапа. На первом этапе (поликлиническом) было отобрано 90 мужчин больных ИБС в возрасте от 35 до 60 лет. Основными критериями включения в исследование больных послужили наличие ИБС: атеросклероз аорты и коронарных артерий, атеросклеротический кардиосклероз без клинических проявлений стенокардии, стенокардия напряжения I–III функциональных классов (ФК), атеросклеротический и постинфарктный кардиосклероз, состояние после аортокоронарного шунтирования (АКШ) либо стентирования коронарных сосудов не ранее, чем через 6 месяцев после вмешательства.

Критериями исключения пациентов из исследования явились: врожденные и приобретенные пороки сердца; указания на перенесенный ранее миокардит; кардиомиопатия; заболевания эндокринной системы; заболевания системы крови; острое инфекционное заболевание или обострение хронической инфекции на момент обследования; прием лекарств (карбамазепин, метотрексат, фенитоин); нестабильная стенокардия, перенесенные менее 6 месяцев инфаркт миокарда (ИМ) и/или острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), гипертрофическая и дилатационная кардиомиопатии, также A-V блокады II–III степени, выраженная брадикардия (менее 50 уд/мин), недостаточность кровообращения III стадии, сахарный диабет; другие тяжелые заболевания, протекающие с выраженными нарушениями функции почек и печени. Кроме этого, в исследование не включались больные ИБС, участвовавшие в рандомизированных многоцентровых исследованиях или других клинических испытаниях.

Второй (стационарный) этап исследования проводился на клинической базе кафедры военно-морской терапии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. На нем также было отобрано 90 мужчин, страдающих ИБС такого же возраста.

В контрольную группу вошли 50 мужчин, проходящих военную службу по контракту в возрасте от 28 до 45 лет,

которым ежегодно проводилось углубленное медицинское обследование в поликлиниках по месту прохождения службы и не имеющих на момент исследования явных и скрытых признаков сердечно-сосудистой патологии. У кандидатов отсутствовали заболевания дыхательной системы, сахарного диабета, болезней печени и почек. Все обследуемые принадлежали к белой расе и проживали в Северо-Западном регионе России не менее 10 лет. Все члены группы не были связаны узами родства.

Всем больным и лицам из контрольной группы проведено клинико-лабораторное обследование в соответствии с Российскими рекомендациями «Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза» (V пересмотр, 2012 г.) [3] и Российскими рекомендациями «Диагностика и лечение стабильной стенокардии» (2009) [4].

Исследование биохимических показателей крови проводилось на анализаторе «Spectrum» фирмы «Abbott Series II Reagent» (Соединенные Штаты Америки – США).

Уровень гомоцистеина (ГЦ) в плазме крови определяли, используя высокоэффективную жидкостную хроматографию [40]. Эхокардиографическое исследование (ЭхоКГ) выполняли на эхокамере «Acuson Sequoia 512» (США). Для вычисления объемов левого желудочка (ЛЖ) использовали модифицированный алгоритм Симпсона [37]. Для оценки массы миокарда левого желудочка (ММ) использовали формулу, рекомендованную Американским эхокардиографическим обществом [28]. Индекс массы миокарда (ИММ) определяли по формуле Dubois [24]. Фракцию выброса (ФВ) крови из ЛЖ рассчитывали по формуле: $ФВ = (КДО - КСО) / КДО$ [31]. Для расчета общего периферического сопротивления сосудов (ОПСС) применяли формулу Пуазейля.

Изучение функции эндотелия проводили, используя пробы с реактивной гиперемией и нитроглицерином по методике, описанной D. Celermajer et al [21]. Для оценки толщины комплекса интима-медиа (ТИМ) общей сонной артерии визуализировались общие сонные артерии слева и справа в В-режиме в положении больного на спине с запрокинутой головой. Измерения проводились в продольном сечении общей сонной артерии на расстоянии 1 см от ее бифуркации. Измерялось расстояние между границей просвета артерии и адвентиции сосуда спереди и сзади, результат усреднялся.

Идентификация мутации С677Т (rs1801133) в гене 5,10-MTHFR и А2756G (rs1805087) в гене MTR проводилась с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующей детекцией результатов амплификации с помощью электрофореза в агарозном геле. Выделение дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) из лимфоцитов периферической крови проводили с помощью набора «ДНК-экспресс-кровь» (Общество с ограниченной ответственностью Научно-производственная фирма «Литех», Россия, кат. № 02100). Амплификацию осуществляли соответствующими наборами для определения полиморфизмов в геноме человека производства ООО НПФ «Литех», Россия (кат. № 01103-100 и 01143-100). Результат

оценивали визуально по наличию светящихся полос на геле под ультрафиолетовым светом.

Для статистической обработки показателей была создана матрица данных с использованием электронной таблицы «Excel». Математическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакета прикладных статистических программ ССС версии 3.1 «Statistica for Windows». Оценка значимости различия средних величин осуществлялась с помощью t-критерия. Корреляционный анализ применялся для выявления количественной и качественной взаимосвязи между переменными. Факторный анализ (главные компоненты) использовался для выделения групп из наиболее значимых переменных и классификации признаков.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что у 50 здоровых мужчин и 83 мужчин, страдающих ИБС, уровень ГЦ был в пределах нормальных значений и в среднем составил $12,0 \pm 1,9$ и $12,2 \pm 5,0$ мкмоль/л соответственно. Нормальными значениями ГЦ считают его содержание в плазме крови в диапазоне от 5 до 15 мкмоль/л [19, 25]. ГГЦ ($16,1 \pm 0,11$ мкмоль/л) наблюдалась у 32,2% пациентов ИБС, у лиц контрольной группы ГГЦ не выявлено. Однако в среднем в группе пациентов, страдающих ИБС, средний уровень ГЦ достоверно не отличался от этого показателя контрольной группы.

Представляет интерес оценка возможной роли полиморфных аллелей генов 5,10-МТНFR и МTR в развитии ИБС. Нами проведено исследование структурного полиморфизма этих генов, оперирующих в метаболизме ГЦ. С677Т полиморфизм гена МТНFR и А2756G полиморфизм гена МTR был определен у всех больных ИБС и мужчин контрольной группы. Встречаемости С и Т аллелей гена МТНFR (табл. 1) и аллелей А и G (табл. 2) у больных ИБС и здоровых мужчин достоверно не отличалась.

Частота встречаемости аллелей С и Т гена МТНFR и аллелей А и G гена МTR у больных ИБС представлена в таблице 3.

Таблица 1

Распределение генотипов и встречаемости С и Т аллелей гена МТНFR у больных ИБС и здоровых лиц, %

Группа	Генотип			Частота встречаемости аллелей	
	СС	СТ	ТТ	С	Т
ИБС	42,7	49,7	7,4	0,74	0,26
Здоровые	55,9	34,6	9,5	0,73	0,27

Таблица 2

Распределение генотипов и встречаемости А и G аллелей гена МTR у больных ИБС и здоровых лиц, %

Группы	Генотип			Частота встречаемости аллелей	
	AA	AG	GG	A	G
ИБС	12,1	59,7	28,2	0,72	0,22
Здоровые	18,4	52,7	28,9	0,64	0,29

Таблица 3

Частота встречаемости аллелей С и Т гена МТНFR и аллелей А и G гена МTR и частота их совместного проявления, абс. (%)

Ген МТНFR	Ген МTR			Всего
	AA	AG	GG	
СС	27 (30)	10 (11,1)	0(0)	37 (41,1)
СТ	36(40)	10 (11,1)	0(0)	46 (51,1)
ТТ	0(0)	5 (5,6)	2 (2,3)	7 (7,8)

Показано, что в группе пациентов, страдающих ИБС, ни разу не встретились три сочетания генотипов: ТТ – АА, СС – GG и СТ – GG. В то же время более частым (чем при независимости генов) оказалось сочетание СТ – АА. Дальнейшие исследования учитывали взаимодействие генов, наличие среди всех комбинаций только комбинаций, включающих аллели С и А. Анализ с использованием критерия χ^2 выявил достоверно значимое ($p=0,002$) взаимодействие генов. Связь С677Т полиморфизма гена МТНFR и А2756G полиморфизм гена МTR с выявлением зонгипо- и акинезии при проведении ЭхоКГ представлена в таблицах 4 и 5.

Выявлено, что у больных ИБС связь генотипов С и Т гена МТНFR с зонами гипо- и акинезии при ЭхоКГ, статистически значимо отличается от средней доли выявленных зон ($p=0,004$) за счет аллеля Т. При этом, хотя при генотипе ТТ выявление оказалось 100%, из-за малого числа пациентов с этим генотипом оно статистически не значимо.

У больных ИБС связь генотипов А и G гена МTR с зонами гипо- и акинезии при ЭхоКГ статистически значимо отличается от средней доли выявленных зон ($p=0,03$) фактически за счет генотипа АА. При этом хотя при генотипе GG выявление оказалось 100%, из-за малого числа пациентов с этим генотипом, оно статистически не значимо.

Таблица 4

Связь генотипов С и Т гена МТНFR с зонами гипо- и акинезии при ЭхоКГ у больных ИБС

Генотип	n	Число выявленных зон	Доля, %
СС	17	0	0,0
СТ	21	8	38,1
ТТ	3	3	100

Таблица 5

Связь генотипов А и G гена МTR с зонами гипо- и акинезии при ЭхоКГ у больных ИБС

Генотип	n	Число выявленных зон	Доля, %
AA	28	4	14,3
AG	12	6	50,0
GG	1	1	100

Взаимосвязь между аллельным полиморфизмом генов MTHFR, MTR и уровнем ГЦ у пациентов ИБС, а также среднее значение концентрации ГЦ для каждого генотипа представлены в таблице 6.

Таблица 6

Взаимосвязь между генотипами по генам MTHFR и MTR и содержанием ГЦ в плазме крови у пациентов, страдающих ИБС

Полиморфизм, генотип	Концентрация ГЦ* мкмоль/л (90% ДИ)	p	Различия между гомозиготными генотипами	
			ΔГЦ, мкмоль/л	p
MTHFR C677T CC CT TT	10,4 (9,0 – 12,0) 13,3 (11,6 – 15,1) 16,4 (11,5 – 23,3)	0,008	9,0	0,03
MTR A2756G AA AG GG	11,7 (8,3 – 16,6) 11,8 (10,4 – 13,5) 13,0 (11,0 – 15,3)	0,54	1,3	0,83

Примечание: * – концентрация ГЦ выражена как среднее арифметическое; ΔГЦ – различие между средними значениями концентрации для гомозиготных вариантов.

Из таблицы 6 следует, что наиболее выраженное влияние на уровень ГЦ оказывают полиморфные варианты C677T гена MTHFR (p=0,008).

Анализ попарных множественных сравнений нуклеотидной замены 677C->T выявил статистически значимые (p=0,03) различия по уровню ГЦ между группами лиц с гомозиготным носительством T и C аллельных вариантов (TT против CC). Различия между средними значениями концентраций ГЦ для гомозиготных вариантов составило 6 мкмоль/л. Уровень ГЦ являлся существенно повышенным не только у лиц с генотипом 677TT, но и в группе гетерозигот 677CT, по сравнению с 677CC вариантом. Значения уровня ГЦ в группах с генотипами AA, AG, GG по полиморфизму MTR A2756G оказались статистически однородными (p=0,54), что свидетельствует об отсутствии влияния данного полиморфизма на содержание ГЦ в группах.

Таким образом, средний уровень ГЦ у больных ИБС с носительством различных генотипов по полиморфным вариантам генов MTHFRCT и MTRAG свидетельствует о том, что изменение уровня ГЦ в плазме крови может быть ассоциировано с полиморфными вариантами CT. Для полиморфизма MTRAG значения по уровню ГЦ не достигли пределов статистической значимости.

Так как ряд полиморфных вариантов по изучаемым генам оказывает влияние на содержание ГЦ в крови, анализ особенностей в распределении частот генотипов по генам MTHFR и MTR у больных ИБС был выполнен в общей группе, а с учетом содержания ГЦ (пациенты были разделены на две группы – с повышенной и нормальной концентрацией данного метаболита). Было принято, что уровень ГЦ повышен при

его содержании в плазме свыше 15 мкмоль/л. Средняя концентрация ГЦ (90% ДИ) в плазме у пациентов в вышеуказанных группах достоверно различалась (p<0,0001) и составила 16,1 (12–18,4) мкмоль/л у больных с ГГЦ по сравнению с 12 (9,9–13,2) мкмоль/л у лиц с нормальным содержанием ГЦ. Соотношение между лицами с ГГЦ и без таковой составило 0,65.

Данные о частоте встречаемости генотипов по генам MTHFR и MTR в группе здоровых и больных ИБС в целом, а также с учетом содержания ГЦ представлены в таблице 7.

Таблица 7

Распределение частот генотипов по генам MTHFR и MTR у больных ИБС и здоровых лиц

Ген/полиморфизм	Генотип	Частота встречаемости		
		больные ИБС		здоровые
		с ГГЦ	без ГГЦ	
MTHFR	CC	28,2	55,0**	52,1
	CT	51,3	41,7	39,6
	TT	20,5*	3,3	8,3
MTR	AA	12,8	10	14,9
	AG	46,2	65	62,0
	GG	41,0*	25	23,1

Примечание: * – различие с группой здоровых лиц; ** – между группами пациентов с ГГЦ и без ГГЦ, p<0,01.

Распределения генотипов по изучаемым полиморфизмам во всех группах статистически не отличались от канонического распределения Харди – Вайнберга. В целом, статистически значимые различия в распределении генотипов по генам MTHFR и MTR между пациентами, страдающими ИБС, и группой здоровых лиц отсутствовали. В то же время аналогичный анализ, выполненный с учетом уровня ГЦ среди больных ИБС, позволил выявить целый ряд различий. Так, у пациентов с ИБС при наличии ГГЦ частота встречаемости аллеля T MTHFR (генотипы CT и TT) составила 71,8%, что существенно превысило таковую в группе пациентов без ГГЦ – 45% (p=0,01) и в группе здоровых лиц – 47,9% (p=0,01). В то же время в группе пациентов с нормальным содержанием ГЦ и в контрольной группе различия по частоте встречаемости носителей аллеля T гена MTHFR не являлись статистически значимыми.

Частота встречаемости генотипа GG гена MTR в группе пациентов с ГГЦ была существенно выше, чем у пациентов с нормальным содержанием ГЦ (41% против 25%; p=0,12). При сравнении с группой здоровых лиц различие по данному показателю оказалось статистически значимым (41% против 23,1%; p<0,01).

Таким образом, у пациентов, страдающих ИБС с ГГЦ, по сравнению с группой здоровых лиц, частота встречаемости носителей генетических вариантов TT гена MTHFR и GG гена MTR повышена. В то же время доля лиц с носительством генотипического сочетания GG гена MTR повышена у пациентов, страдающих

ИБС, по сравнению с группой здоровых, вне зависимости от концентрации ГЦ в плазме.

Поскольку предрасполагающими факторами к развитию ИБС помимо ГЦ могут служить также возраст, избыточный вес, повышенное содержание холестерина, ЛПНП и ТГ, был проведен сравнительный анализ между больными ИБС и здоровыми лицами по генотипам гена MTHFR, уровню ГЦ и показателям липидного спектра крови, возраста, ИМТ и ТКИМ.

В таблице 8 представлены результаты вычислений влияния трех генотипов (СС, СТ, ТТ) гена MTHFR на все непрерывные (количественные) показатели ИМТ, возраста, липидного спектра крови и ТКИМ. Вычисления проведены с помощью параметрического ANOVA (F-критерий) и двух непараметрических (критерий Краскела – Уоллиса и медианный) методов.

Статистически значимые различия ген MTHFR оказывает только на уровень ГЦ ($p < 0,0001$). При этом парные параметрические сравнения по Шеффе показали, что различия имеются во всех трех парах генотипов: генотип СС дает сильно значимые отличия от генотипов СТ и ТТ ($p < 0,0001$), а различия между генотипами СТ и ТТ слабо значимы ($p = 0,03$). Непараметрические парные сравнения по Краскелу – Уоллесу подтвердили различия между генотипами СС и СТ ($p = 0,0001$) и СС и ТТ ($p = 0,001$), различий между генотипами СТ и ТТ не выявлено.

Концентрация ГЦ для генотипа СС равна $10,9 \pm 1,0$ мкмоль/л ($n = 17$), для генотипа СТ – $12,7 \pm 1,2$ мкмоль/л ($n = 21$) и для генотипа ТТ – $14,6 \pm 0,8$ мкмоль/л ($n = 3$).

Результаты влияния генотипов (АА и АG) гена MTR на непрерывные (количественные) показатели ИМТ, возраста, липидного спектра крови и ТКИМ представлены в таблице 9. Генотип GG не анализировался, потому как был представлен только одним пациентом.

Выявлено, что генотипы гена MTR оказывают статистически значимое влияние только на уровень ГЦ ($p = 0,01$) и только по критерию Фишера. Концентрация ГЦ для генотипа АА равна $11,7 \pm 1,2$ мкмоль/л ($n = 28$), для генотипа АG – $12,8 \pm 1,9$ мкмоль/л ($n = 12$), и для генотипа GG (у единственного пациента) равен $16,1$ мкмоль/л, но его отличие от среднего уровня генотипов АА ($p = 0,17$) и АG ($p = 0,54$) статистически не значимо.

Таблица 8

Результаты вычислений влияния трех генотипов (СС, СТ, ТТ) гена MTHFR на ИМТ, возраст, показатели липидного спектра крови и ТКИМ

Показатель	Метод		
	ANOVA	Краскела – Уоллиса	медианный
ИМТ	0,92	0,98	0,38
Возраст	0,53	0,41	0,19
ГЦ	<0,0001	<0,0001	0,0002
Холестерин	0,15	0,12	0,17
ЛПНП	0,33	0,40	0,48
ТГ	0,71	0,80	0,37
ТКИМ	0,28	0,42	0,50

Таблица 9

Результаты влияния генотипов АА и АG гена MTR на ИМТ, возраст, показатели липидного спектра крови и ТКИМ

Показатель	Метод		
	ANOVA	Краскела-Уоллиса	медианный
ИМТ	0,58	0,93	0,56
Возраст	0,94	0,96	0,67
ГЦ	0,01	0,91	0,12
Холестерин	0,37	0,21	0,92
ЛПНП	0,24	0,58	0,07
ТГ	0,47	0,74	0,33
ТКИМ	0,73	0,53	0,51

Так как чаще всего встречаются две пары генотипов (СС, СТ) гена MTHFR и (АА, АG) гена MTR, взаимодействие генов на ИМТ, возраст, ТКИМ и уровень ГЦ показатели липидного спектра крови оценивалось с участием именно этих генотипов. Поскольку непараметрические критерии хорошо согласуются с критерием Фишера, мы ограничились только методом ANOVA (дисперсионный анализ), таблица 10.

Выявлено статистически значимое ($p < 0,0001$) влияние изучаемых генотипов на уровень ГЦ в крови пациентов, страдающих ИБС. При этом статистически значимыми ($p = 0,004$) оказались различия между следующими парами: СС – АА и СС – АG, СС – АА и СТ – АG ($p = 0,0001$), СТ – АА и СТ – АG ($p = 0,008$). Средние значения уровня ГЦ в группах с различными сочетаниями генотипов представлены в таблице 11.

Из таблицы 11 видно, что два варианта сочетаний генотипов – СТ – GG и ТТ – GG, хотя и имеют наиболее высокие значения, значимо отличаются только от первой группы ($p = 0,005$ и $p = 0,02$ соответственно) вследствие малой их численности. Также обнаружено, что ТКИМ общей сонной артерии статистически значимо не была связана ни с одним из рассмотренных вариантов генотипов генов MTHFR и MTR.

Таким образом, изучаемые полиморфные варианты генов MTHFR и MTR ассоциированы с уровнем ГЦ в крови. Что касается ассоциации изученных полиморфных вариантов генов MTHFR и MTR с общеизвестными факторами, способствующим риску развития ИБС,

Таблица 10

Результаты влияния взаимодействия генотипов (СС, СТ) гена MTHFR и (АА, АG) гена MTR на уровень ГЦ

Показатель	F	P
ИМТ	0,20	0,90
Возраст	0,69	0,56
ЛПНП	1,75	0,18
ГЦ	11,22	<0,0001
Холестерин	0,55	0,65
ТГ	0,32	0,81
ТКИМ	1,22	0,32

Таблица 11
Средние значения уровня ГЦ в группах с различными сочетаниями генотипов генов MTHFR и MTR

Сочетание генотипов	n	M±m	P
CC – AA	12	10,8±1,0	0,004
CC – AG	16	12,4±0,7	0,004
CT – AA	5	11,2±0,9	0,008
CT – AG	5	13,7±2,0	0,0001
CT – GG	2	14,4±1,0	0,005
TT – GG	1	15,1	0,02

такими как уровень холестерина, ЛПНП, ТГ, а также избыточный вес и возраст, то статистически значимых результатов получено не было. Также не было выявлено зависимости между ТКИМ общей сонной артерии и изучаемыми вариантами генотипов генов MTHFR и MTR.

Заключение. Атеросклероз, являющийся ведущим фактором кардиоваскулярного риска, относится к сложным мультифакториальным заболеваниям. В настоящее время не вызывает сомнения существенный вклад генетических факторов в развитие атеросклеротического поражения сосудов при ИБС.

Изучение молекулярно-генетических детерминант ИБС является одним из перспективных направлений современной кардиологии, поскольку верификация генетических маркеров развития атеросклероза и тромбоза позволит уточнить патогенетические механизмы возникновения заболевания, что будет способствовать оптимизации профилактики и дальнейшей разработке дифференцированных подходов к терапии. Об интенсивности поиска генетических маркеров атеросклероза свидетельствует большое число научных исследований, зачастую имеющие диаметрально противоположные результаты, что затрудняет формирование общей концепции о роли молекулярно-генетических детерминант в развитии атеросклероза. По нашему мнению, это обусловлено гетерогенностью, ассоциативным характером (*vis-a-vis*) большинства генетических исследований и отсутствием строгой рандомизации групп обследуемых, в том числе по полу. В связи с этим нами было проведено исследование структурного полиморфизма генов MTHFR, MTR, а также его роли для развития ИБС, с учетом пола.

Установлено, что С677Т полиморфизм гена MTHFR и А2756G полиморфизм гена MTR ассоциированы с уровнем ГЦ в крови. Отсутствие ассоциации изученных полиморфных вариантов генов с общеизвестными факторами, способствующими риску развития ИБС (показатели липидного обмена, избыточный вес, возраст), свидетельствует о том, что ГЦ имеет самостоятельное значение как ФР развития ишемической болезни сердца, уровень которого находится под генетическим контролем. Однако данные вопросы

требуют дальнейшего изучения, в том числе и в группе лиц, страдающих ИБС, но не имеющих факторов, ассоциированных с развитием ИБС, в том числе и ГЦ. Кроме того, требуется проведение длительных популяционных исследований для определения места ГЦ в патогенезе ССЗ. Необходимо решить вопрос о целесообразности и способах коррекции этого состояния.

Своевременное выявление факторов риска развития атеросклероза и тромбоза коронарных артерий, оценка значимости их влияния на течение заболевания открывают реальные пути улучшения сложившейся ситуации.

Литература

1. Баркаган, З.С. Гипергомоцистеинемия как самостоятельный фактор риска поражения и тромбирования кровеносных сосудов / З.С. Баркаган [и др.] // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2002. – № 1. – С. 65–71.
2. Баркаган, З.С. Учение о тромбофилиях на современном этапе / З.С. Баркаган // Консилиум. – 2000. – № 6. – С. 61–65.
3. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза. Российские рекомендации. V пересмотр. – РКО. НОА. РосОКР. – М., 2012. – 50 с.
4. Диагностика и лечение стабильной стенокардии. Российские рекомендации. – М.: ВНОК, 2009. – 37 с.
5. Ефимов, В.С. Гомоцистеинемия в патогенезе тромбоваскулярной болезни и атеросклероза / В.С. Ефимов, А.К. Цакалов // Лаб. мед. – 1999. – № 2. – С. 44–48.
6. Кули, Д.А. Сердечно-сосудистые заболевания; устранение факторов риска и другие профилактические мероприятия / Д.А. Кули // Междунар. мед. журн. – 1999. – № 1. – С. 15–19.
7. Лысенко, М.Э. Коррекция гипергомоцистеинемии у больных ИБС / М.Э. Лысенко // Украинский терапев. журн. – 2004. – № 1. – С. 69–73.
8. Марри, Р. Биохимия человека / Р. Марри [и др.]. – М.: Мир, 1993. – 305 с.
9. Мухин, Н.А. Гипергомоцистеинемия как фактор риска развития заболеваний сердечно-сосудистой системы / Н.А. Мухин [и др.] // Клини. мед. – 2001. – № 6. – С. 7–13.
10. Окорочков, А.Н. Диагностика болезней внутренних органов: Т.6. Диагностика болезней сердца и сосудов / А.Н. Окорочков // М.: Мед. лит., 2003. – 464 с.
11. Решетняк, Т.М. Мутация в гене 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы при системной красной волчанке и антифосфолипидном синдроме / Т.М. Решетняк [и др.] // Терап. архив. – 2002. – Т. 74. – С. 28–32.
12. Сидоренко, Г.И. Гомоцистеин – важный фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний / Г.И. Сидоренко [и др.] // Кардиология. – 2001. – № 1. – С. 6–11.
13. Скворцов, Ю.И. Гомоцистеин как фактор риска развития ИБС (обзор) / Ю.И. Скворцов, А.С. Королькова // Саратовский научн.-мед. журн. – 2011. – Т. 7, № 3. – С. 619–624.
14. Спиридонова, М. Г. Анализ генных комплексов подверженности к коронарному атеросклерозу / М.Г. Спиридонова [и др.] // Генетика. – 2002. – Т. 38, № 3. – С. 383–392
15. Спиридонова, М.Г. Популяционное исследование частоты полиморфизма С677Т гена метилентетрагидрофолатредуктазы в Якутии / М.Г. Спиридонова [и др.] // Генетика. – 2004. – Т. 40, № 5. – С. 704–708.
16. Шмелева, В.М. Гипергомоцистеинемия и тромбоз / В.М. Шмелева // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2000. – № 4. – С. 26–29.
17. Blacher, J. Relation of plasma homocysteine to cardiovascular mortality in a French population / J. Blacher [et al.] // Am. j. cardiol. – 2002. – Vol. 90 (6). – P. 591–595.

18. Bostom, A.G. Post-methionine load hyperhomocysteinemia in persons with normal fasting total plasma homocysteine: initial results from the NHLBI Family Heart Study / A.G. Bostom [et al.] // *Atheroscler.* – 1995. – Vol. 116. – P. 147–151.
19. Botto, L.D. 5, 10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review / L.D. Botto, Q. Yang // *Am. j. epidemiol.* – 2000. – Vol. 151. – P. 862–877.
20. Celermajer, D.S. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis / D.S. Celermajer [et al.] // *Lancet.* – 1992. – Vol. 340. – P. 1111–1115.
21. Dallongeville, J. Cigarette smoking is associated with unhealthy patterns of nutrient intake: a meta-analysis / J. Dallongeville [et al.] // *J. Nutr.* – 1998. – № 128. – P. 1450–1457.
22. de Jong, S.C. Normohomocysteinaemia and vitamintreated hyperhomocysteinaemia are associated with similar risks of cardiovascular events in patients with premature peripheral arterial occlusive disease. A prospective cohort study / S.C. de Jong [et al.] // *J. intern. med.* – 1999. – № 246. – P. 87–96.
23. Dubios, D. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight are known / D. Dubios, F. Dubios // *Arch. intern. med.* – 1916. – Vol. 17. – P. 863–871.
24. Finkelstein, J.D. Methionine metabolism in mammals / J.D. Finkelstein // *J. nutr. biochem.* – 1990. – № 1. – P. 228–237.
25. Friso, S. A1298C methylenetetrahydrofolatereductase mutation and coronary artery disease: relationships with C677T polymorphism and homocysteine/folate metabolism / S. Friso [et al.] // *Clin. exp. med.* – 2002. – Vol. 2. – P. 7–12.
26. Hackam, D.G. What level of plasma homocyst (e) ine should be treated? Effects of vitamin therapy on progression of carotid atherosclerosis in patients with homocyst (e) ine levels above and below 14 mcml/l / D.G. Hackam [et al.] // *Amer. j. hypertens.* – 2000. – Vol. 13. – P. 105–110.
27. Ilıcil, A. Reference values for echocardiographic measurements in urban and rural populations of differing ethnicity: the Strong Heart Study / A. Ilıcil [et al.] // *J. Am. soc. echocardiogr.* – 2001. – № 14. – P. 601–611.
28. Jamison, R.L. Effect of Homocysteine Lowering on Mortality and Vascular Disease in Advanced Chronic Kidney Disease and End-stage Renal Disease. A Randomized Controlled Trial / R.L. Jamison [et al.] // *JAMA.* – 2007. – Vol. 298. – P. 1163–1170.
29. Kraus, J.P. Biochemistry and molecular genetics of cystathionine beta – synthase deficiency / J.P. Kraus // *Eur. j. pediatr.* – 1998. – Vol. 157. – P. 50–53.
30. Lang, R.M. Recommendations for chamber quantification / R.M. Lang [et al.] // *Eur. j. echocardiography.* – 2006. – Vol. 7 (2). – P. 79–108.
31. Malinow, M.R. Plasma concentrations of total homocysteine predict mortality risk / M.R. Malinow // *Am. j. clin. nutr.* – 2001. – Vol. 74. – P. 3.
32. Moat, S.J. Plasma total homocysteine: instigator or indicator of cardiovascular disease? / S.J. Moat // *Ann. clin. biochem.* – 2008. – Vol. 45. – P. 345–348.
33. Naess, I.A. Prospective study of homocysteine and MTHFR 677TT genotype and risk for venous thrombosis in a general population – results from the HUNT 2 study / I.A. Naess [et al.] // *Br. j. haematol.* – 2008. – Vol. 141. – P. 529–535.
34. Nygard, O. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study / O. Nygard [et al.] // *JAMA.* – 1995. – Vol. 274. – P. 1526–1533.
35. Potter, K. Homocysteine and cardiovascular disease: should we treat? / K. Potter // *Clin. biochem. rev.* – 2008. – Vol. 29. – P. 27–30.
36. Schiller, N.B. Two-dimensional echocardiographic determination of left ventricular volume, systolic function, and mass. Summary and discussion of the 1989 recommendations of the American Society of Echocardiography / N.B. Schiller // *Circulation.* – 1991. – Vol. 84 (Suppl. 3). – P. 280.
37. Trabetti, E. Homocysteine, MTHFR gene polymorphisms, and cardio-cerebrovascular risk / E. Trabetti // *J. appl. genet.* – 2008. – Vol. 49. – P. 267–282.
38. Yarnell, J.W.G. The MONICA Optional Haemostasis Study Investigators. Association of European population levels of thrombotic and inflammatory factors with risk of coronary heart disease: the MONICA Optional Haemostasis Study. J.W.G. Yarnell [et al.] // *Eur. heart j.* – 2005. – Vol. 26. – P. 332–342.
39. Zhloba, A.A. Liquid chromatographic determination of total homocysteine in blood plasma with photometric detection / A.A. Zhloba, E.L. Blashko // *J. chrom. b.* – 2004. – Vol. 800. – P. 275–280.

U.V. Berger, V.I. Larionova, D.V. Cherkashin

Structural polymorphisms C677T in gene 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase and A2756G in gene for methionine synthase in men suffering from coronary heart disease

Abstract. We provided assessment of the morphological and functional state of blood vessels and central hemodynamics, indicators of lipid metabolism depending on the level of homocysteine and gene polymorphism in methylenetetrahydrofolate and methionine synthase in men suffering from coronary heart disease. According to the results, it was found that hyperhomocysteinemia was observed in 32,2% of patients with coronary heart disease in healthy men in the control group did not reveal hyperhomocysteinemia. It was established that polymorphic variants and methionine synthase genes methylenetetrahydrofolate associated with homocysteine in the blood. The most pronounced effect on homocysteine levels have polymorphic variants C677T methylenetetrahydrofolate gene. But the influence of methionine synthase gene A2756G polymorphism on homocysteine in the examined patients suffering from coronary heart disease in healthy men in the control group was identified. Thereby, the analyzed polymorphic variants of genes associated with the level of homocysteine in the blood. Regarding the association of the studied polymorphisms of methylenetetrahydrofolate and methionine synthase genes with well-known contributors to the risk of coronary heart disease, such as cholesterol, low density lipoprotein, triglycerides, and excess weight and age, the statistically significant results have been received. Also we found no relationship between the thicknesses of the intima-media of the common carotid artery and is exploring options for the genotypes of methylenetetrahydrofolate and methionine synthase gene. Lack of association of the studied polymorphic variants of genes with known factors involved in the development of coronary heart disease suggests that homocysteine is an independent value as a risk factor for coronary heart disease, the level of which is under genetic control. Homocysteine level is a marker rather than a cause of cardiovascular disease.

Key words: homocysteine, risk factors, coronary heart disease, common carotid intima-media thickness, methylenetetrahydrofolatereductase gene, methionine synthase gene, body mass index.

Контактный телефон: +7-921-950-28-22; e-mail: dm-cherk@yandex.ru