

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА *C677T* ГЕНА *MTHFR* В РАЗВИТИИ ОСЛОЖНЕННОГО ТЕЧЕНИЯ ИБС И ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ У ПАЦИЕНТОВ С ДИСЛИПИДЕМИЯМИ

Г.И. Мяндина, Е.Н. Касапова

Кафедра биологии и общей генетики
Медицинский факультет
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198

Т.Ю. Зотова, В.А. Фролов

Кафедра общей патологии и патологической физиологии
Медицинский факультет
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198

Работа проводилась с целью оценки прогностической значимости полиморфизма *C677T* гена метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*) в развитии осложненного течения ИБС и гипертонической болезни у пациентов с дислипидемиями. Для выявления мутации *C677T* использовали аллель-специфические ПЦР. Была выявлена корреляционная зависимость между носительством мутантного аллеля *677T* и частой развития ИБС в исследуемой группе больных ($p = 0,01$). Для пациентов с дислипидемиями не выявлено значимой корреляции между носительством мутантного аллеля *677T* гена *MTHFR* и частотой возникновения и интенсивностью развития гипертонической болезни ($p = 0,8$).

Полученные результаты имеют существенное значение для снижения риска осложненного и нестабильного течения сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с дислипидемиями, а также для выбора объема и продолжительности проводимой терапии и целесообразности применения гиполипидемических средств.

Ключевые слова: дислипидемия, ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь, полиморфизм *C677T*, ген *MTHFR*.

Одним из наиболее важных эндогенных факторов риска развития сердечно-сосудистой патологии, в том числе ишемической болезни сердца (ИБС) и гипертонической болезни (ГБ), являются нарушения липидного обмена [5, 11]. В связи с этим коррекция дислипидемических состояний с целью снижения риска развития осложнений и уровня смертности от сердечно-сосудистых заболеваний является весьма актуальной проблемой современной терапии. Однако терапия с применением гиполипидемических средств ограничивается наличием целого ряда побочных эффектов [3]. Поэтому применение индивидуальных диагностических и терапевтических подходов к пациенту, основанных на изучении его генетического статуса, позволит выявить среди больных с дислипидемиями группу риска, которая нуждается в более интенсивном наблюдении и терапии с применением гиполипидемических средств.

В последние годы активизировался поиск полиморфных маркеров генов, белковые продукты которых связаны с комплексными патофизиологическими процессами, в том числе с различными звеньями патогенеза сосудистых заболеваний [1, 2]. Недавние исследования показали, что даже незначительное повышение уровня гомоцистеина в плазме сопровождается высокой частотой развития острого инфаркта миокарда [4, 6]. Для нормального метаболизма гомоцистеина необходимы три ключевых фермента: цистатионин β -синтетаза, метилентетрагидрофолат гомоцистеин метилтрансфераза и метилентетрагидрофолатредуктаза (*MTHFR*). Нарушение функций фермента *MTHFR*, который катализирует процесс реметилирования гомоцистеина, сопровождается развитием гомоцистеинемии, которая служит независимым фактором риска развития атеросклероза и атеротромбоза [9, 10]. Точковая мутация *C677T* в гене метилентетрагидрофолатредуктазы сопровождается заменой аланина на валин (Ala $\rightarrow$ Val) в синтезируемом белке и коррелирует с термолабильностью фермента. Аллельный вариант гена *MTHFR*, контролирующего синтез фермента с пониженной активностью и повышенной термолабильностью, ассоциирован с риском развития коронарной болезни. Для гомозигот ТТ уровень цистеина в плазме намного превышает уровень этой аминокислоты в плазме пациентов с другим генотипом, что вероятно и определяет повышенный риск развития сердечно-сосудистой патологии [7, 8].

Цель исследования. Оценить прогностическую значимость полиморфизма *C677T* гена *MTHFR* в развитии осложненного течения ИБС и гипертонической болезни у пациентов с дислипидемиями.

Материалы и методы. Были обследованы 62 пациента с сердечнососудистыми заболеваниями с дислипидемиями (в группу включались пациенты с уровнем общего холестерина выше 5,0 ммоль/л и/или индексом атерогенности выше 3,0) в возрасте от 34 до 73 лет (средний возраст — 53,5 года). В контрольную группу были включены 46 человек с дислипидемиями без сердечно-сосудистых заболеваний в возрасте от 35 до 69 лет. Пациенты проходили обследование на базе терапевтического отделения Больницы Центросоюза РФ.

Молекулярно-генетические методы. Геномную ДНК получали из клеток периферической крови с использованием набора «Цитолизин» (Россия). Для выявления мутации *C677T* гена (*MTHFR*) использовались аллель-специфичные праймеры: (5'-CCGAAGGTGTCTGCGGGCGC-3') и (5'-GAGCTGGATCGTCGAGAAGGTGTCTGCGGGTGT-3'), и общий праймер *MTHFR*-R (5'-AAGATCCCGGGGACGATGG-3'). Подбор праймеров для амплификации ДНК-мишени проводили на основе программы «Primer 3»: (<http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/cgi>).

Электрофоретический анализ продуктов рестрикции. При анализе аллелей гена *MTHFR* разделение продуктов амплификации проводили электрофорезом в горизонтальных пластинах 15 $\times$ 20 см 2%-го агарозного геля. Гели окрашивали раствором бромистого этидия и фотографировали в ультрафиолетовом свете длиной волны 254 нм. Результаты электрофоретического анализа продуктов ПЦР показаны на рис. 1.

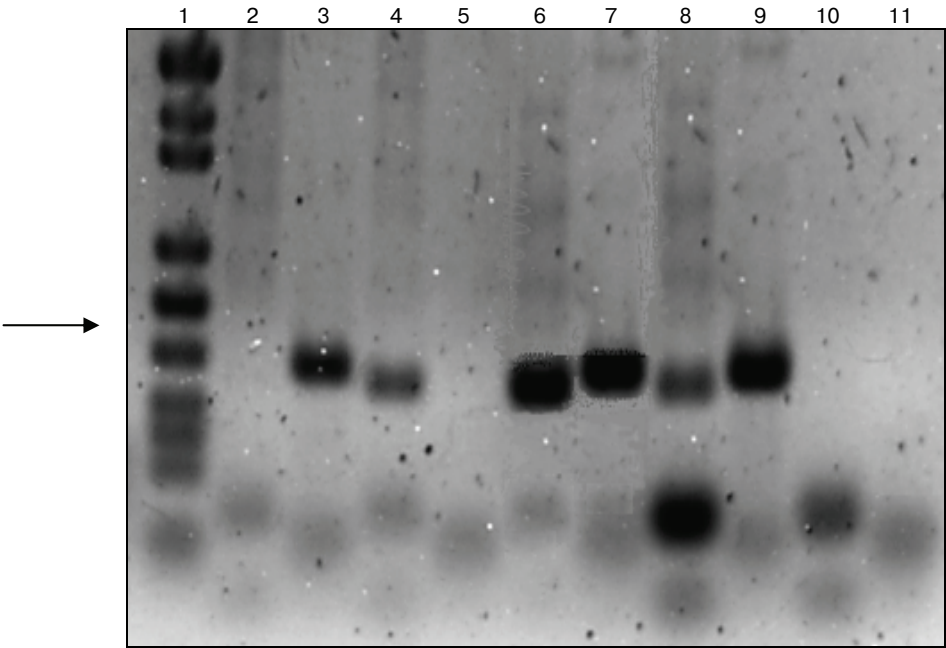


Рис. 1. Электрофореграмма разделения в 1,5%-м агарозном геле продуктов АС-ПЦР, полученных при анализе мутации C677T в гене *MTHFR* человека.

Фрагменты, полученные в результате использования праймеров **М-Н** и **М-С** (дорожки 2, 4, 6, 8, 10) и праймеров **М-М** и **М-С** (дорожки 3, 5, 7, 9, 11). Приведен анализ образцов: гомозигота мутантная (дорожки 2—3), гомозигота нормальная (4—5) и гетерозигота (6—9). Дорожки 10 и 11 — контроль чистоты реагентов (реакции без добавления ДНК). Дорожка 1 — маркер длины *pUC18/MspI*, фрагменты которого имеют размер — 501, 404, 331, 242, 190, 147, 111, 67 п.н.

Статистический анализ результатов. Корреляцию между полиморфизмом C677T и частотой заболеваемости выявляли с помощью анализа таблиц сопряженности по критерию χ^2 . Достоверными считали различия при $p < 0,05$. Полученные данные обрабатывали с использованием пакета программ STATISTICA 6.0, StatSoft, США.

Результаты обследования. Результаты анализа аллельного распределения гена *MTHFR* (полиморфизм C677T) среди пациентов с дислипидемиями, страдающих ИБС и ГБ, и контрольной группы представлены в табл. 1.

Таблица 1

Основные показатели контингента больных в зависимости от распределения полиморфизма C677T гена MTHFR

Показатель	Гомози- готы С/С	Гетерози- готы С/Т	Гомози- готы Т/Т	χ^2	P	Корре- ляция
Количество пациентов (% от $n = 62$ чел)	30 (48,3%)	24 (38,7%)	8 (13%)			
Средний возраст (годы)	55,3	54,8	56,1			
Уровень ХС (ммоль/л)	6,16	5,78	5,66			
Индекс атерогенности	3,17	3,45	3,53			
Частота ИБС (% от числа пациентов в группе)	16 (53,3%)	21 (87,5%)	7 (87,5%)	8,77	0,0124	Да 95*
Частота осложнений ИБС (ОИМ, МА) (% от общего числа больных ИБС в группе)	5 (31,25%)	9 (42,8%)	5 (71,4%)	3,21	0,2013	Нет
Артериальная гипертензия (частота в группе)	15 (93,75%)	20 (95,2%)	7 (100%)	0,44	0,8014	Нет
Контрольная группа, чел. (% от общего числа)	18 (50%)	12 (33%)	6 (16%)			

При сравнении частот распределения генотипов *MTHFR* в группе больных с дислипидемиями, страдающих ИБС и гипертонической болезнью, и пациентов с дислипидемиями без сердечно-сосудистой патологии (ИБС и ГБ) статистически достоверных отличий не выявлено ($p > 0,05$).

В то же время выявлена корреляционная зависимость между носительством мутантного аллеля 677T и частотой развития ИБС в исследуемой группе больных ($p = 0,01$). Для пациентов с дислипидемиями не выявлено корреляции между носительством мутантного аллеля 677T гена *MTHFR* и частотой возникновения и интенсивностью развития гипертонической болезни ($p = 0,8$). При этом для частоты возникновения осложнений ИБС и гипертонической болезни, таких как острый инфаркт миокарда, мерцательная аритмия, острые нарушения мозгового кровообращения, не установлены корреляционные зависимости от генотипа пациента. Степень выраженности гипертонической болезни среди пациентов с дислипидемиями несущественно различается для носителей аллеля 677T (генотипы 677T/T и 677C/T) и носителей генотипа 677C/C гена *MTHFR* ($p > 0,05$).

Выводы. Выявлена корреляционная зависимость между носительством мутантного аллеля 677T гена *MTHFR* и частотой развития ИБС у пациентов с дислипидемиями. Полученные результаты имеют существенное значение для снижения риска осложненного течения сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с дислипидемиями, а также для выбора объема и продолжительности проводимой терапии и целесообразности применения гиполипидемических средств.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Бондарь И.А., Воронина Е.Н., Алина А.Р. Связь полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы с развитием инфаркта миокарда у больных с сахарным диабетом // Проблемы эндокринологии. — 2007. — № 4. — С. 3—7.
- [2] Зотова Т.Ю., Касапова Е.Н., Мяндина Г.И., Фролов В.А. Генотипирование по генам GPIIb и протромбина пациентов с дислипидемиями, страдающих гипертонической болезнью и ишемической болезнью сердца // Вестник новых медицинских технологий. — 2007. — Т. XIV. — № 2. — С. 43—45.
- [3] Либов И.А., Гулькикова О.С. Некоторые клинические аспекты применения статинов для лечения больных ишемической болезнью сердца и гиперлипидемиями // Моск. мед. журнал. — 2001. — № 12. — С. 14—15.
- [4] Мирошниченко И.И., Кузнецова Н.Н., Калмыков Ю.М., Птицына С.Н. Гомоцистеин — предиктор патологических изменений в организме человека // Российский медицинский журнал. — 2009. — № 4. — С. 224—227.
- [5] Hill JS, Hayden MR, Frohlich J, Pritchard PH. Genetic and environmental factors affecting the incidence of coronary artery disease // Atherosclerosis. — 2005. — 179. — P. 333—338.
- [6] Jacobsen DW. Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease // Clin. Chem. — 1998. — 44. — P. 1833—1843.
- [7] Kawashiri M, Kajinami K, Nohara A, et al. Effect of common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation on coronary artery disease in familial hypercholesterolemia // Am. J. Cardiol. — 2000. — 86 (8). — P. 840—845.
- [8] Klerk M, Verhoef P, Clarke R, Blom HJ, Kok FJ, Schouten EG. MTHFR studies collaboration group. MTHFR 677C→T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis // JAMA. — 2002. — 288. — P. 2023—2031.

- [9] Kluijtmans LAJ, van den Heuvel LP, Boers GHJ, Frosst P, Stevens EMB, van Oost BA, den Heijer M, Trijbels FJM, Rozen R, Blom HJ. Molecular genetic analysis in mild hyperhomocysteinemia: a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for cardiovascular disease // *Am J Hum Genet.* — 1996. — 58. — P. 35—41.
- [10] Malinow M.R. Homocysteine and arterial occlusive diseases // *J Intern Med.* — 1994. — 236. — P. 603—617.
- [11] Thompson G.R. Handbook of Hyperlipidaemia // G.B.: Current Science. — 1994. — 258 p.

**THE POLYMORPHISM C677T OF THE GENE MTHFR
CORRELATES WITH THE COMPLICATIONS
OF THE CORONARY HEART DISEASE
AND ARTERIAL HYPERTENSION FOR THE PATIENTS
WITH DISLIPIDAEMIA**

**G.I. Myandina, E.N. Kasapova,
T.U. Zotova, V.A. Frolov**

Department of Biology and General Genetics
Department of general pathology patophiziology
Medical faculty
Peoples Friendship University of Russia
M.Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198

The present study was designed to determine the possibility of the application the genotyping of the patients with dislipidaemia as an additional factor for the prediction of the cardiovascular complications. The distribution of the polymorphism C677T of the gene MTHFR among the 62 patients with dislipidaemia was studied. Allele-specific PCR was applied for detection the C677T mutation/ These results provide the genetic evidence that 677T allele of the gene MTHFR correlates with the development of the complications of the coronary heart disease for the patients with dislipidaemia ($p = 0,01$). It was demonstrated that more complex and durable antihypertension and cardiotropic therapy must be applicated for the carries of the 677T allele among the dislipidaemia patients. These data indicate the appreciable role C677T polymorphism of MTHFR for the decreasing of the cardiovascular complications among the patients with dislipidaemia and for detection the complexity and longevity of the medical treatments.

Key words: dislipidaemia, gene MTHFR, polymorphism C677T, coronary heart disease, arterial hypertension.