

УРОВЕНЬ ГОМОЦИСТЕИНА И ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ОБМЕНА У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Э.В. Давыдчик¹, В.А. Снежицкий¹, Т.Л. Степура², Е.М. Дорошенко¹, В.Ю. Смирнов¹

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь¹
ГП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси», Гродно, Беларусь²

УДК 616.12-005.4:616.379-008.64:616-008.9

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет 2 типа, гомоцистеин, полиморфные варианты C677T, A1298C гена метилентетрагидрофолатредуктазы, A66G гена метионинсинтазы-редуктазы, A2756G гена метионинсинтазы.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ. Э.В. Давыдчик, В.А. Снежицкий, Т.Л. Степура, Е.М. Дорошенко, В.Ю. Смирнов. Уровень гомоцистеина и полиморфизмы генов фолатного обмена у пациентов с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа. *Неотложная кардиология и кардиоваскулярные риски*, 2019, Т. 3, № 2, С. 690–696.

Цель исследования. Изучить уровень гомоцистеина (Hcy), распределение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов C677T, A1298C гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), A66G гена метионинсинтазы-редуктазы (MTRR), A2756G гена метионинсинтазы (MTR) у пациентов с хронической ишемической болезнью сердца (ИБС) в сочетании с сахарным диабетом (СД) 2 типа.

Материал и методы. Обследовано 135 пациентов. Основную группу составили 65 пациентов с хронической ИБС и СД 2 типа, группу сравнения – 70 пациентов с хронической ИБС. В группу контроля вошли 30 относительно здоровых пациентов. Уровень Hcy (мкмоль/л) определяли в плазме крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с предколоночной дериватизацией SBD-F и детектированием по флуоресценции (Agilent 1100). Выявление полиморфных вариантов C677T, A1298C гена MTHFR, A66G гена MTRR, A2756G гена MTR проводили с помощью полимеразной цепной реакции.

Результаты. В плазме крови исследуемых пациентов определен уровень Hcy. По результатам молекулярно-генетического исследования выявлено распределение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов C677T, A1298C гена MTHFR, A66G гена MTRR, A2756G гена MTR у пациентов с хронической ИБС в сочетании с СД 2 типа, у пациентов с хронической ИБС, а также у практически здоровых пациентов.

Заключение. Получены достоверные различия по уровню Hcy между исследуемыми группами, причем наиболее высокий уровень Hcy выявлен у пациентов с хронической ИБС в сочетании с СД 2 типа. Изучено распределение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов C677T, A1298C гена MTHFR, A66G гена MTRR, A2756G гена MTR у исследуемых пациентов. Установлены достоверные различия между исследуемыми группами по содержанию в плазме крови Hcy в зависимости от генотипов и аллелей полиморфных вариантов C677T, A1298C гена MTHFR, A66G гена MTRR, A2756G гена MTR.

THE LEVEL OF HOMOCYSTEINE AND POLYMORPHISMS OF GENES OF FOLATE EXCHANGE IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE AND DIABETES MELLITUS TYPE 2

E.V. Davydchik¹, V.A. Snezhitskiy¹, T.L. Stepuro², E.M. Doroshenko¹, V.Yu. Smirnov¹

Educational Institution «Grodno State Medical University», Grodno, Belarus¹
Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the NAS of Belarus²

Key words: coronary heart disease, diabetes mellitus type 2, homocysteine, polymorphic options C677T, A1298C of gene MTHFR, A66G of gene MTRR, A2756G of gene MTR.

FOR REFERENCES. E.V. Davydchik, V.A. Snezhitskiy, T.L. Stepuro, E.M. Doroshenko, V.Yu. Smirnov. The level of homocysteine and polymorphisms of genes of folate exchange in patients with coronary heart disease and diabetes mellitus type 2. *Neotlozhnaya kardiologiya i kardiovaskulyarnye riski* [Emergency cardiology and cardiovascular risks], 2019, vol. 3, no. 2, pp. 690–696

The aim of the study is to investigate the level of homocysteine (Hcy), distribution of frequencies of alleles and genotypes of polymorphic options C677T, A1298C of gene MTHFR, A66G of gene MTRR, A2756G of gene MTR in patients with chronic coronary heart disease (CHD) in combination with diabetes mellitus (DM) type 2.

Material and methods. 135 patients have been examined. The main group was composed of 65 patients with CHD and DM type 2, the comparison group contained 70 patients with chronic CHD. The control group included 30 relatively healthy patients. The Hcy level (mcmol/l) was determined by the method of high-performance liquid chromatography. The detection of polymorphism of C677T, A1298C options of gene MTHFR, A66G option of gene MTRR, A2756G option of gene MTR was performed using polymerase chain reaction.

Results. The Hcy level was determined in blood plasma of the examined patients. The distribution of frequencies of genotypes and alleles of polymorphic options C677T, A1298C of gene MTHFR, A66G of gene MTRR, A2756G of gene MTR has been revealed in patients with CHD in combination with DM type 2, in patients with CHD and also practically healthy patients by the results of molecular and genetic studies.

Conclusion. Significant differences of the Hcy level were received between the study groups and the highest Hcy level was revealed in patients with CHD in combination with DM type 2. Distribution of frequencies of alleles and genotypes of polymorphic options C677T, A1298C of gene MTHFR, A66G of gene MTRR, A2756G of gene MTR were studied in patients. Reliable differences about the content of Hcy in blood plasma depending on genotypes and alleles of polymorphic options of C677T, A1298C of gene MTHFR, A66G of gene MTRR, A2756G of gene MTR were established between the study groups.

Гомоцистеин (Hcy) является серосодержащей аминокислотой, которая образуется в процессе обмена метионина и цистеина [1]. Гипергомоцистеинемия (ГГЦ) является одним из значимых, самостоятельных факторов риска раннего развития и быстрого прогрессирования атеросклероза. ГГЦ за счет окислительного стресса способствует развитию инсулинорезистентности и дисфункции β -клеток, значительно ускоряя переход инсулинорезистентности в сахарный диабет (СД) 2 типа [2]. Гены, участвующие в метаболизме Hcy, связаны с различными молекулярными и клеточными процессами: синтезом ДНК, метилированием, метаболизмом аминокислот и пролиферацией клеток. Выделяют несколько основных генов, продукты которых принимают участие в обмене Hcy. Один из них ген метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR). Кодированный им фермент является важным метаболитом в обмене Hcy, так как осуществляет переход 5,10-метилтетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат и относится к группе флавопротеинов [1]. Существует ряд однонуклеотидных полиморфных вариантов этого гена, ассоциированных со снижением активности фермента, но только два из них являются функционально значимыми: C677T в 4-м экзоне и A1298C в 7-м экзоне. Однонуклеотидная замена цитозина на тимин в положении 677 (C677T) вызывает замену аланина на валин (Ala222Val) в каталитическом домене белка. Вторым по распространенности полиморфным маркером является замена аденина на цитозин в положении 1298 (A1298C), вызывающая замену глутаминовой кислоты на аланин в регуляторном домене фермента (Glu429Ala) [2]. Ген метионинсинтазы-редуктазы (MTRR) кодирует аминокислотную последовательность фермента метионинсинтазы-редуктазы. Одной из функций MTRR является обратное превращение Hcy в метионин. В этом гене также описано большое количество мутаций и полиморфных маркеров, однако наиболее

важным из них является полиморфный маркер A66G (замена аденина на гуанин в положении 66, приводящая к замене аминокислотного остатка изолейцин на метионин (Ple22Met)). Ген метионинсинтазы (MTR) кодирует аминокислотную последовательность фермента метионинсинтазы – одного из ключевых ферментов обмена метионина, катализирующего образование метионина из Hcy путем его реметилирования. Одним из важнейших функциональных полиморфных маркеров гена MTR является однонуклеотидная замена гуанина на аденин в положении 2756 (A2756G) [3].

Цель исследования. Изучить уровень Hcy, распределение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов C677T, A1298C гена MTHFR, A66G гена MTRR, A2756G гена MTR у пациентов с хронической ишемической болезнью сердца (ИБС) в сочетании с СД 2 типа.

Материалы и методы. Обследовано 135 не состоящих в родстве пациентов мужского и женского пола, которые находились на стационарном лечении в кардиологическом отделении УЗ «Гродненский областной клинический кардиологический центр». Пациенты были разделены на 2 группы. Основную группу (группа 1) составили 65 пациентов с хронической ИБС и СД 2 типа, средний возраст 59 (55;61) лет. Группа сравнения (группа 2) представлена пациентами с хронической ИБС (n = 70), средний возраст 59 (53;64) лет. Группа контроля (группа 3) была сформирована из 30 человек (средний возраст 54 (52;56) лет), не родственных между собой, без клинических проявлений ИБС, СД, артериальной гипертензии. Набор пациентов контрольной группы осуществлен на базе УЗ «Поликлиника УВД» г. Гродно. В план обследования пациентов входило изучение анамнеза, физикальное обследование, инструментальная и лабораторная диагностика. Длительность СД 2 типа на момент исследования у пациентов 1 группы составила в среднем 10 лет. С целью компенсации угле-

водного обмена пациенты 1 группы получали препараты группы сульфаниламиды (глибенкламид, гликлазид), бигуаниды (метформин), инсулин. Значение гликированного гемоглобина составило 7,2 (6,8;7,8) %. Длительность ИБС у пациентов 1 группы составила 11 лет, у пациентов 2 группы – 10 лет ($p > 0,05$). Все пациенты были ознакомлены с протоколом исследования и дали свое согласие на участие в нем.

Критериями включения в исследование явились верифицированный диагноз хронической ИБС, СД 2 типа, отсутствие сопутствующих заболеваний в фазе обострения. В исследование не включались пациенты с наличием СД 1 типа, декомпенсации СД 2 типа, печёночной и почечной недостаточности, заболеваний щитовидной железы с нарушением функции, а также с наличием тяжёлых сопутствующих соматических и инфекционных заболеваний в стадии декомпенсации патологического процесса, острого коронарного синдрома.

Уровень общего Hcy определяли в плазме венозной крови. Использованный метод основан на предколоночной дериватизации SH-содержащих соединений с аммоний-7-фторбензол-2-оксо-1,3-диазола-4-сульфонатом (SBD-F) с последующим разделением полученных производных методом обращеннофазной ВЭЖХ с изократическим элюированием. Для восстановления тиолов из дисульфидов и высвобождения связанных с белками тиолов использовали трис-(карбокситил)фосфин гидрохлорид (ТСЕР). При определениях использовались приборы ВЭЖХ Agilent 1200 в конфигурации, включающей 4-канальную систему подачи растворителя с вакуумным дегазатором, термостатируемый автосамплер, термостат колонок, детектор флуоресценции, колонка Zorbax Eclipse Plus C18, 3,5 мкм, 2,1×150 мм. Прием данных

и обработка хроматограмм проводились с помощью программы Agilent ChemStation C01.03 с ручной коррекцией базовой линии, в режиме расчета по внутреннему стандарту с использованием одноуровневой калибровки [4]. Определение полиморфных вариантов С677Т, А1298С гена МТНFR, А66G гена МТRR, А2756G гена МТR осуществляли с помощью метода полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени с применением набора реагентов производства «Литех», Россия. Выделение геномной ДНК человека проводилось набором реагентов «ДНК-экспресс-кровь», производства «Литех», Россия.

Для статистического анализа данных использовались программы STATISTICA 10.0 и Microsoft Excel. Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей у разных групп пациентов осуществлялся с помощью точного критерия Фишера. Количественные данные, распределение которых не являлось нормальным, представлялись в виде медианы (верхняя/нижняя квартиль). Для оценки различий количественных признаков применялся непараметрический дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса. Различия считались достоверными при значении $p < 0,05$.

Результаты исследования. При определении уровня Hcy в плазме крови были получены достоверные различия между группами пациентов, включенных в исследование (рисунок 1).

Медиана уровня Hcy у пациентов 1 группы составила 12,09 (9,19;17,13) мкмоль/л, в группе 2 – 10,55 (7,88;15,58) мкмоль/л, у пациентов контрольной группы – 8,37 (6,79;11,44) мкмоль/л.

По результатам молекулярно-генетического исследования полиморфизмов исследуемых генов в общей выборке пациентов выявлены 3 вида генотипов: полиморфизм С677Т гена МТНFR – СС – гомозиготный дикий, СТ – гетерозиготный, ТТ – гомозиготный мутантный; полиморфизм А1298С гена МТНFR – АА – гомозиготный дикий, АС – гетерозиготный, СС – гомозиготный мутантный; полиморфизм А66G гена МТRR – АА – гомозиготный дикий, АG – гетерозиготный, GG – гомозиготный мутантный; полиморфизм А2756G гена МТR – АА – гомозиготный дикий, АG – гетерозиготный, GG – гомозиготный мутантный. Распределение частот генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга.

В таблице 1 представлены результаты генотипирования исследуемых пациентов по полиморфным вариантам изучаемых генов.

При выполнении сравнительного анализа выявлены достоверные различия по наличию генотипа ТТ и аллелей С и Т полиморфного варианта С677Т гена МТНFR,

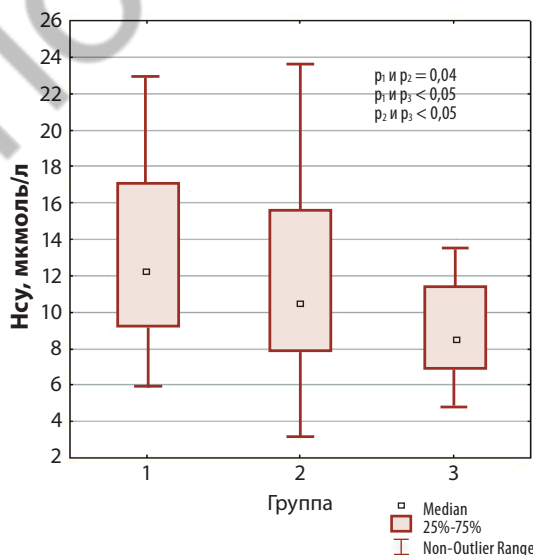


Рисунок 1. Уровень гомоцистеина (Hcy) у обследуемых пациентов

Примечание: p_1 и p_2 – наличие достоверных различий между пациентами 1-й и 2-й групп; p_1 и p_3 – наличие достоверных различий между пациентами 1-й и 3-й групп; p_2 и p_3 – наличие достоверных различий между пациентами 2-й и 3-й групп

Таблица 1.
Распределение
генотипов и аллелей
полиморфных
вариантов
изучаемых генов

Полиморфизм, генотип	1 группа (n = 65), абс (%)	2 группа (n = 70), абс (%)	3 группа (n = 30), абс (%)	p		
				1-2	1-3	2-3
MTHFR C677T						
CC	23 (35,4)	30 (42,9)	15 (50)	нд	нд	нд
CT	27 (41,5)	26 (37,1)	14 (46,7)	нд	нд	нд
TT	15 (23,1)	14 (20)	1 (3,3)	нд	p = 0,02	p = 0,03
Аллель С	73 (56,2)	86 (61,4)	44 (73,3)	нд	p = 0,02	нд
Аллель Т	57 (43,8)	54 (38,6)	16 (26,7)	нд	p = 0,02	нд
MTHFR A1298C						
AA	26 (40)	34 (48,6)	18 (60)	нд	нд	нд
AC	25 (38,5)	26 (37,1)	12 (40)	нд	нд	нд
CC	14 (21,5)	10 (14,3)	0	нд	p = 0,004	p = 0,03
Аллель А	77 (59,2)	94 (67,1)	48 (80)	нд	p = 0,005	нд
Аллель С	53 (40,8)	46 (32,9)	12 (20)	нд	p = 0,005	нд
MTRR A66G						
AA	14 (21,5)	15 (21,4)	5 (16,7)	нд	нд	нд
AG	30 (46,2)	39 (55,7)	18 (60)	нд	нд	нд
GG	21 (32,3)	16 (22,9)	7 (23,3)	нд	нд	нд
Аллель А	58 (44,6)	69 (49,3)	28 (46,7)	нд	нд	нд
Аллель G	72 (55,4)	71 (50,7)	32 (53,3)	нд	нд	нд
MTR A2756G						
AA	38 (58,5)	46 (65,7)	18 (60)	нд	нд	нд
AG	22 (33,8)	21 (30)	8 (26,7)	нд	нд	нд
GG	5 (7,7)	3 (4,3)	4 (13,3)	нд	нд	нд
Аллель А	98 (75,4)	113(80,7)	44 (73,3)	нд	нд	нд
Аллель G	32 (24,6)	27 (19,3)	16 (26,7)	нд	нд	нд

Примечание: нд – недостоверные межгрупповые различия.

а также генотипа СС и аллелей А и С полиморфного варианта А1298С гена МТНFR в опытных группах по отношению к контрольной.

В таблице 2 представлены результаты уровня Нсу у исследуемых пациентов в зависимости от полиморфизмов изучаемых генов.

Обсуждение. В клинических исследованиях было отмечено, что у пациентов с СД 2 типа очень часто наблюдается увеличение концентрации Нсу в крови, что способствует более раннему развитию сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Гомоцистеинемия за счёт окислительного стресса способствует развитию инсулинорезистентности и дисфункции β-клеток [5, 6]. В нашем исследовании получены достоверные различия по уровню Нсу среди исследуемых пациентов. Достоверно выше был уровень Нсу у пациентов с наличием хронической ИБС в сочетании с СД 2 типа.

В литературе имеются публикации по исследованию взаимосвязи функционально значимого полиморфизма С677Т гена МТНFR с риском развития ИБС, однако результаты их противоречивы. В частности, Р. Ramkaran et al. обнаружили ассоциацию полиморфизма С677Т с риском развития ИБС при анализе популяции жителей Южной Африки [7]. Также W. Chen et al. в своем исследовании подтвердили ассоциацию при исследовании китайской популяции [8]. Изучение связи между мутацией С677Т

и ССЗ показало, что носительство генотипа ТТ встречается гораздо чаще у пациентов с ССЗ, чем у здоровых [9, 10]. Сочетание генотипа ТТ с высоким уровнем Нсу оказывает более существенное влияние на патогенез заболевания, чем каждый из этих факторов отдельно. F. Сарруccio с соавт. получили данные о том, что уровень Нсу выше у лиц с ТТ-генотипом по сравнению с лицами с СС-генотипом [11]. Однако во многих исследованиях не удалось обнаружить ассоциации вариаций в гене МТНFR с развитием ИБС, в частности исследование данных индонезийской популяции А. Н. Sadewa et al., как и данные J. L. Anderson et al., подтверждают отсутствие корреляции [12]. Klerk и соавт. (2002) сообщили в своем мета-анализе об ассоциации между полиморфизмом С677Т и ИБС у европейского населения и отсутствии данной взаимосвязи в северо-американской популяции [13]. Nakai и соавт. (2001) не выявили ассоциации ТТ-генотипа с повышенным риском коронарного атеросклероза [14].

Анализ молекулярно-генетического исследования пациентов показал, что частота встречаемости гомозиготного мутантного генотипа ТТ полиморфизма С677Т гена МТНFR была достоверно выше в опытных группах по отношению к группе контроля. Достоверно чаще встречались аллели С и Т у пациентов с хронической ИБС и СД 2 типа в сравнении с пациентами контрольной группы (таблица 1). В нашем исследовании уста-

Таблица 2.
Уровень Нсу
(мкмоль/л)
в зависимости
от генотипов
полиморфных
вариантов
изучаемых генов

Полиморфизм, генотип	1 группа (n = 65)	2 группа (n = 70)	3 группа (n = 30)	P		
				1-2	1-3	2-3
МТНFR С677Т						
СС	9,06 (7,25;10,99)	9,71 (7,20;11,97)	8,77 (6,57;12,19)	нд	нд	нд
СТ	15,54 (11,42;17,66)	12,57 (8,08;15,58)	8,16 (7,26;11,44)	p = 0,04	p < 0,05	p = 0,04
ТТ	18,22 (12,09;19,92)	10,88 (9,08;17,34)	4,78	p = 0,03	нд	нд
Аллель С	11,39 (8,97;15,90)	10,43 (7,55;14,61)	8,56 (7,23;11,44)	нд	p = 0,003	нд
Аллель Т	16,19 (11,94;18,31)	11,70 (8,76;16,83)	7,76 (7,23;11,44)	p = 0,004	p < 0,05	p = 0,01
МТНFR А1298С						
АА	14,07 (11,12;17,66)	10,69 (8,63;15,80)	8,67 (6,79;11,44)	p = 0,03	p < 0,05	p = 0,02
АС	11,42 (7,96;14,89)	10,21 (7,13;15,58)	7,97 (7,1;11,81)	нд	нд	нд
СС	14,0 (7,81;20,99)	10,45 (7,20;13,82)	–	нд	–	–
Аллель А	12,09 (9,38;16,27)	10,54 (7,91;15,69)	8,37 (6,79;11,44)	нд	p < 0,05	p = 0,02
Аллель С	11,42 (7,81;17,13)	10,21 (7,16;14,82)	7,97 (7,10;11,81)	нд	нд	нд
МТRR А66G						
АА	13,11 (9,34;18,22)	11,30 (5,92;14,06)	8,19 (7,76;8,56)	нд	нд	нд
АG	13,07 (8,97;17,59)	10,64 (8,90;16,68)	7,73 (6,42;10,84)	нд	p < 0,05	p = 0,007
GГ	11,37 (9,19;15,54)	9,45 (7,34;14,89)	10,76 (7,63;13,29)	нд	нд	нд
Аллель А	13,11 (9,25;17,62)	10,97 (8,08;15,80)	7,76 (6,42;10,84)	нд	p < 0,05	p = 0,008
Аллель G	12,08 (9,06;17,11)	10,45 (8,08;15,80)	8,77 (6,79;11,44)	нд	p < 0,05	p = 0,03
МТR А2756G						
АА	14,18 (11,11;17,59)	11,0 (8,63;15,58)	7,97 (6,79;11,80)	p = 0,01	p < 0,05	p = 0,03
АG	11,28 (7,49;16,64)	9,82 (7,13;14,06)	8,67 (7,1;11,1)	нд	нд	нд
GГ	9,34 (9,06;10,92)	10,74 (9,81;20,4)	9,09 (6,97;10,64)	нд	нд	нд
Аллель А	12,28 (9,28;17,36)	10,45 (7,63;15,58)	8,37 (6,79;11,80)	p = 0,02	p < 0,05	p = 0,04
Аллель G	10,92 (7,81;16,64)	10,14 (7,16;15,24)	8,67 (7,10;10,64)	нд	нд	нд

Примечание: нд – недостоверные межгрупповые различия

новлено, что уровень Нсу достоверно выше у пациентов основной группы с наличием генотипа ТТ по отношению к группе сравнения, а также с наличием аллеля Т полиморфизма С677Т гена МТНFR (таблица 2).

Вторым по распространенности полиморфным маркером гена МТНFR является А1298С. Частота встречаемости минорного С-аллеля в европейской популяции составляет 10%. Следует отметить, что у людей, гомозиготных по двум предрасполагающим генотипам, активность фермента падает до 30%, тогда как гетерозиготы имеют 65% активности фермента [15, 16]. Минимальная частота аллеля С зафиксирована у жителей Сенегала (4%), максимальная – в популяциях Израиля и Новой Гвинеи (41%). У жителей России частота данного аллеля варьирует от 24 до 38% [17]. Вопрос о влиянии полиморфизма А1298С гена МТНFR на уровень Нсу остается открытым. Ряд исследований на эту тему показал достаточно противоречивые результаты [18, 19]. Было выдвинуто предположение, что генотип 677ТТ имеет значительно больший эффект на активность МТНFR, чем вариант 1298СС, в силу своего расположения в каталитическом домене фермента, в то время как полиморфизм А1298С, локализованный в участке, кодирующем С-терминальный регуляторный домен, способствует незначительному изменению активности МТНFR посредством нарушения связывания данного фермента с его инги-

битором S-аденозилметионином [20]. По результатам генотипирования исследуемых пациентов генотип СС полиморфизма А1298С гена МТНFR достоверно чаще встречался у пациентов с наличием хронической ИБС в сочетании и без СД 2 типа в сравнении с пациентами контрольной группы. Достоверные различия получены и по аллелям А и С между пациентами основной группы и группой контроля (таблица 1). Получены достоверные различия по уровню Нсу между исследуемыми пациентами с наличием гомозиготного генотипа АА полиморфизма А1298С гена МТНFR. Достоверно выше уровень Нсу у пациентами с наличием аллеля А основной группы и группы сравнения по отношению к группе контроля (таблица 2).

Фермент МТRR участвует в восстановлении активности МТR – фермента, непосредственно осуществляющего метилирование Нсу. Полиморфизм А66G в 4 раза снижает активность фермента МТRR [21]. Частота гетерозиготных носителей аллеля G полиморфизма А66G в европейской популяции составляет около 45–50%, а гомозиготных около 25–30% [22]. В исследование R. Gueant-Rodriguez и соавт. были включены 530 пациентов с ИБС и 248 больных – в группу контроля. Генотип АА полиморфизма А66G гена МТRR являлся независимым предиктором развития ИБС (ОР 4,5 при 95% ДИ от 1,5 до 13,1), а также ассоциировался с умеренной ГГЦ [23].

Одним из важнейших функциональных полиморфных маркеров гена MTR является A2756G. Частота predisposing G-аллеля широко варьирует у разных рас, у европейцев частота распространения составляет 20%. Для данного полиморфного маркера показана ассоциация с риском развития как ГГЦ, так и заболеваний сосудистого генеза [24]. Большинство исследований свидетельствуют о сниженном уровне Hcy чаще при гомозиготном носительстве полиморфизма A2756G гена MTR, чем при гетерозиготном [25].

В нашем исследовании при выполнении сравнительного анализа генотипов и аллелей полиморфных вариантов A66G гена MTRR и A2756G гена MTR достоверных различий у исследуемых пациентов получено не было (таблица 1).

У пациентов основной группы и группы сравнения с наличием генотипа AG и аллелей A и G полиморфизма A66G гена MTRR уровень Hcy достоверно выше по сравнению с группой контроля (таблица 2). Достоверные результаты по уровню Hcy были получены у исследуемых пациентов с наличием генотипа AA и аллеля A полиморфизма A2756G гена MTR (таблица 2).

Заключение. 1. У пациентов с наличием хронической ИБС, коморбидных по СД 2 типа, уровень Hcy статистически значимо выше (12,09 мкмоль/л) по сравнению с пациентами

группы сравнения (10,55 мкмоль/л) и группы контроля (8,37 мкмоль/л).

2. Изучено распределение частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов C677T, A1298C гена MTHFR, A66G гена MTRR, A2756G гена MTR у пациентов с хронической ИБС в сочетании с СД 2 типа, в группе сравнения, которая включала пациентов с ИБС без СД 2 типа, а также у практически здоровых пациентов Гродненского региона. В указанных группах были выявлены достоверные различия в частоте встречаемости гомозиготного генотипа TT, а также аллелей C и T полиморфного варианта C677T гена MTHFR. Достоверные различия между исследуемыми группами были получены по генотипу CC и аллелям A и C полиморфного варианта A1298C гена MTHFR. Не получено достоверных различий по распределению генотипов и аллелей A66G гена MTRR, A2756G гена MTR между группами пациентов.

3. Наиболее высокий уровень Hcy был у пациентов с хронической ИБС и СД 2 типа с наличием генотипа TT, аллеля T полиморфизма C677T, генотипа AA и аллеля A полиморфизма A1298C гена MTHFR, генотипа AA, аллеля A полиморфизма A2756G гена MTR.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, способного повлиять на результаты исследования или их трактовку.

REFERENCES

- Snezhitskiy V.A., Pyrochkin A.V., Spas V.V., Doroshenko E.M., Egorova T.Yu., Mironchik E.V., Naumov A.V., Yakubzevich R.E., Zuchovizkaya E.V., Plozkiy A.R., Yanushko T.V., Volod'ko Yu.S., Pizko D.V., Predko V.A., Deshko M.S. *Klinicheskie aspekty gipergomotsisteinemii* [Clinical aspects of hyperhomocysteinemia]. *Grodno: GSMU*, 2011, 291 p. (in Russian).
- Davydchik E.V., Snezhitskiy V.A., Nikonova L.V. *Vzaimosvyaz gipergomotsisteinemii s ishemiceskoy boleznju serdca i sahnarnym diabetom* [Relationship of hyperhomocysteinemia with coronary heart disease and diabetes mellitus]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*, 2015, № 1, pp. 9–13. (in Russian).
- Burdennii A.M., Loginov V.I., Zavarikina T.M., Braga E.A., Kubatiev A.A. *Molekulyarno-geneticheskie narusheniya genov folatnogo i gomotsisteinonovogo obmena v patogeneze ryada mnogofaktornih zabolevanii* [Molecular genetic disorders of folate and homocysteine metabolism in the pathogenesis of several multifactor diseases]. *Genetika*, 2017, vol. 53, № 5, pp. 526–540. (in Russian).
- Doroshenko E.M., Snezhitskiy V.A., Lelevich V.V. *Struktura pula svobodnih aminokislot i ih proizvodnih plazmi krovi u patsientov s ishemiceskoi bolezn'yu serdtsa i proyavleniyami hronicheskoi serdechnoi nedostatochnosti* [The structure of the pool of free amino acids and their derivatives of blood plasma in patients with ischemic heart disease and manifestations of chronic heart failure]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*, 2017, vol. 15, № 5, pp. 551–556. (in Russian).
- Song Y., Cook N.R., Albert C.M., Van Denburgh M., Manson J.E. Effect of homocysteine-lowering treatment with folic acid and B vitamins on risk of type 2 diabetes in women. *Diabetes*, 2009, vol. 58, pp. 1921–1928.
- Fonseca V., Dicker-Brown A., Ranganathan S., Song W., Barnard R.J., Fink L., Kern P.A. Effects of a high-fat-sucrose diet on enzymes in homocysteine metabolism in the rat. *Metabolism*, 2000, vol. 49, pp. 736–741.
- Ramkaran P., Phuludaree A., Khan S., Moodley D., Chuturgoon A.A. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism is associated with increased risk of coronary artery disease in young South African Indians. *Gene*, 2015, vol. 571, № 1, pp. 28–32.
- Chen W., Hua K., Gu H., Zhang J., Wang L. Methylenetetrahydrofolate reductase C667T polymorphism is associated with increased risk of coronary artery disease in a Chinese population. *Scand J Immunol*, 2014, vol. 80, pp. 346–353.
- Gariglio L., Riviere S., Morales A., Porcile R., Potenzoni M., Fridman O. Comparison of homocysteinemia and MTHFR 677CT polymorphism with Framingham Coronary Heart Risk Score. *Arch Cardiol Mex*, 2014, vol. 84, № 2, pp. 71–78.
- Wayne T.F. Methylenetetrahydrofolate reductase C667T polymorphism, venous thrombosis, cardiovascular risk, and other effects. *Angiology*, 2015, vol. 66, № 5, pp. 401–404.
- Mager A., Battler A., Birnbaum Y. Plasma homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase genotype, and age at onset of symptoms of myocardial ischemia. *Atherosclerosis*, 2002, vol. 89, № 8, pp. 919–923.
- Sadewa A.H., Sunarti, Sutomo R., Hayashi C., Lee M.J., Ayaki H., Sofro A.S., Matsuo M., Nishio H. The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene among the Indonesian Javanese population. *Kobe J Med Sci*, 2002, vol. 48, № 5, pp. 137–144.
- 1Klerk M., Verhoef P., Clarke R., Blom H.J., Kok F.J., Schouten E.G. MTHFR 677C→T polymorphism and risk of coronary heart disease: a metaanalysis. *JAMA*, 2002, vol. 288, pp. 2023–2031.
- Nakai K., Itoh C., Nakai K., Habano W., Gurwitz D. Correlation between C677T MTHFR gene polymorphism, plasma homocysteine levels and the incidence of CAD. *Am J Cardiovasc Drugs*, 2001, vol. 1, № 5, pp. 353–361.
- Stover P.J. Polymorphisms in 1-carbon metabolism, epigenetics and folate-related pathologies. *J Nutrigenet Nutrigenomics*, 2011, vol. 4, № 5, pp. 293–305.
- Marini D.N., Gin J., Ziegler J., Kehoe K.H., Ginzinger D., Gilbert D.A., Rine J. The prevalence of folate-remedial MTHFR enzyme variants in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, vol. 105, № 23, pp. 8055–8060.

17. Callejon J., Mayor-Olea A., Jimenez A.J., Gaitan M.J., Palomares A.R., Martinez F., Ruiz M., Reyes-Engel A. Genotypes of the C677T and A1298C polymorphisms of the MTHFR gene as a cause of human spontaneous embryo loss. *Hum Reprod*, 2007, vol. 22, pp. 3249–3254.
18. Poduri A., Mukherjee D., Sud K., Kohli H.S., Sakhuja V., Khullar M. MTHFR A1298C polymorphism is associated with cardiovascular risk in end stage renal disease in North Indians. *Mol Cell Biochem*, 2008, vol. 308, № 1–2, pp. 43–50.
19. Fung M.M., Salem R.M., Lipkowitz M.S., Bhatnagar V., Pandey B., Schork N.J., O'Connor D.T. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism A1298C (Glu429Ala) predicts decline in renal function over time in the African-American study of kidney disease and hypertension (AASK) trial and Veterans Affairs Hypertension Cohort (VAHC). *Nephrol Dial Transplan*, 2011, vol. 10, pp. 1–9.
20. Kolling K., Ndrepepa G., Koch W., Braun S., Mehilli J., Schömig A., Kastrati A. Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T and A1298C polymorphisms, plasma homocysteine, folate, and vitamin B12 levels and the extent of coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 2004, vol. 93, pp. 1201–1206.
21. Hobbs C.A., Sherman S.L., Yi P., Hopkins S.E., Torfs C.P., Hine R.J., Pogribna M., Rozen R., James S.J. Polymorphisms in genes involved in folate metabolism as maternal risk factors for Down syndrome. *Am J Hum Genet*, 2000, vol. 67, pp. 623–630.
22. Rai V., Yadav U., Kumar P., Yadav S.K. Analysis of methionine synthase reductase polymorphism (A66G) in Indian Muslim population. *Indian J Hum Genet*, 2013, vol. 19, № 2, pp. 183–187.
23. Gueant-Rodriguez R.M., Juilliere Y., Candito M., Adjalla C.E., Gibelin P., Herbeth B., Van Obberghen E., Gueant J.L. Association of MTRR A66G polymorphism (but not of MTHFR C677T and A1298C, MTR A2756G, TCN C776G) with homocysteine and coronary artery disease in the French population. *Thromb Haemost*, 2005, vol. 94, pp. 510–515.
24. Pangilinan F.I., Molloy A.M., Mills J.L., Troendle J.F., Parle-McDermott A., Signore C., O'Leary V.B., Chines P., Seay J.M., Geiler-Samerotte K. Evaluation of common genetic variants in 82 candidate genes as a risk factors for neural tube defects. *BMS Med Genet*, 2012, vol. 13, pp. 62–69.
25. Chen L., Liu L., Hong K. Three genetic polymorphisms of homocysteine-metabolizing enzymes and risk of coronary heart disease: a meta-analysis based on 23 case-control studies. *DNA Cell Biol*, 2012, vol. 31, № 2, pp. 238–249.

Поступила 16.07.2019