УДК 616.127-005.8:575.174.015.3:547.313.2

Н.П. Митьковская[1], Т.В. Статкевич[1], Е.М. Балыш[1], А.А. Гусина[2], И.В. Патеюк[1], Л.В. Картун[1], Е.А. Сулимчик[2]

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРОФОЛАТРЕДУКТАЗЫ(*C677T*)УПАЦИЕНТОВ С КРУПНООЧАГОВЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА И РЕЦИДИВИРУЮЩИМИ КОРОНАРНЫМИ СОБЫТИЯМИ

[1]УО «Белорусский государственный медицинский университет»
Республика Беларусь, 220116, г. Минск, пр-т. Дзержинского, 83
[2]ГУ «Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя»
Республика Беларусь, 220053, г. Минск, ул. Орловская, 66

Введение

Развитие атеросклероза является полиэтиологическим процессом, в котором клинические проявления детерминируются средовыми и генетическими факторами. В дополнение к классическим факторам риска атеросклероза (артериальная гипертензия, дислипидемия, сахарный диабет и курение) клинические проявления могут быть обусловлены вариантами энзимов, участвующих в обеспечении эндотелиальной функции и синтезе протромботических факторов [1].

В настоящее время активно изучается прогностическая значимость полиморфизмов генов, кодирующих различные классы белков, участвующих в патогенезе атеросклероза (С- реактивного белка [2], интерлейкина-6 [3, 4], металлопротеиназы-1 и -12 [5], металлопротеиназы-3 и -9 [6], липопротеинов [7], фактора некроза опухоли-альфа [8] и т.д.). Генотипы *G-1607GG* металлопротеиназы – 1 и *A-82G, A1082G* металлопротеиназы -12 ассоциированы с развитием рестеноза и значимых клинических событий [5]. Выявлена взаимосвязь между полиморфизмом гена, кодирующего синтез интерлейкина-6, и развитием инфаркта миокарда (ИМ) [3, 4].

Учитывая тесную взаимосвязь процессов атерогенеза и тромбообразования, особое внимание привлекает полиморфизм генов системы гемостаза. На сегодняшний день доказана связь некоторых из них (в первую очередь – мутации фактора V Лейден и полиморфизма гена протромбина) с возникновением венозных тромбозов и эмболий, а также системных тромбоэмболических осложнений мерцательной аритмии [9,10]. На популяции 248 пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) выявлена ассоциация генетического полиморфизма ингибитора тромбин-активированного фибринолиза *C+1542G* и *Thr325/Ile* с развитием у их носителей ОКС с подъемом сегмента ST [11]. По результатам изучения полиморфизма гена, кодирующего синтез ингибитора активатора плазминогена-1, получены данные об ассоциации 4G аллели гена с развитием ИМ у молодых пациентов [12]. Имеются данные о взаимосвязи полиморфизма рецепторов GPIIb/IIIa тромбоцитов с вероятностью развития будущих кардиоваскулярных событий [13].

По данным исследования, включившего 503 больных (387 мужчин и 116 женщин), средний возраст которых составил 59,4 лет помимо совокупности клинических факторов риска (наличие стенокардии II–III функционального класса и постинфарктного кардиосклероза, поражение трех основных коронарных артерий либо ствола левой коронарной артерии, сопутствующие проявления атеротромбоза в церебральном и периферическом сосудистых бассейнах, высокая масса тела (индекс массы тела (ИМТ) $\geq$ 31,6 кг/м^2), нарушение функции почек (клиренс креатинина < 67 мл/мин) и анамнез эрозивного гастрита независимым влиянием на прогноз обладают такие генетические показатели, как носительство некоторых вариантов генов, кодирующих синтез белков цикла реметилирования гомоцистеина *TCN 776 CC*, а также *MTHFR C667 TT/CT* и *1298 AA* [14].

Метилентетрагидрофолатредуктаза (*MTHFR*) играет ключевую роль в метаболизме фолиевой кислоты. Фермент катализирует восстановление 5,10-метилентетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат. Последний является активной формой фолиевой кислоты необходимой для образования метионина из гомоцистеина и

далее S-аденозилметионина, играющего ключевую роль в процессе метилирования ДНК. Ген *MTHFR* локализован на хромосоме 1p36.3. Известно около двух десятков мутаций этого гена, нарушающих функцию фермента. Наиболее изученной мутацией является вариант, в котором нуклеотид цитозин (C) в позиции 677 заменен тимидином (T). Такой полиморфизм *MTHFR* обозначается как мутация *C677T*. У лиц, гомозиготных по данной мутации (генотип T/T), отмечается термолабильность *MTHFR* и снижение активности фермента примерно до 35% от среднего значения, что проявляется повышением концентрации гомоцистеина в сыворотке крови на 20% [15, 16]. Мутация *677T* гена *MTHFR* распространена достаточно широко: около 10% в популяции являются мутантными гомозиготами (TT), 47% – неизмененными гомозиготами (CC) и 43% – гетерозиготами (CT) [15]. Однако распространенность данной мутации различается в разных этнических когортах. Так, удельный вес носителей мутантной гомозиготы *MTHFR 677TT* в популяции американцев – выходцев из Африки – ниже, чем в европейской популяции (1,3% и 12,8% соответственно) [16].

В исследовании, включившем 271 пациента с ИМ и 141 здорового индивида в возрасте до 45 лет, получены данные о более высоком риске атеросклероза у носителей мутантной аллели *MTHFR*. Исследователи выявили, что носительство полиморфных аллелей *C677T MTHFR* оказывает значимое влияние на формирование атеросклеротических бляшек[17].

При изучении полиморфизма гена *MTHFR* у 384 здоровых лиц, 260 пациентов с сахарным диабетом (СД) и 348 пациентов с атеросклерозом без сахарного диабета выявлено, что у носителей мутантной аллели *MTHFR C677T* достоверно чаще в анамнезе был предшествующий ИМ [1].

Мета-анализ 30 исследований, включивших 8,140 пациентов с ИМ и 10,522 здоровых лиц, показал, что полиморфизм *MTHFR C677T* ассоциирован с риском развития ИМ у европейцев молодого и зрелого возраста [18].

У пациентов с острым ИМ персистирующая окклюзия инфаркт-связанной артерии после реперфузии связана с неблагоприятным прогнозом. Гомозиготное носительство *MTHFR 677TT* независимо ассоциировано с персистирующей окклюзией инфаркт-связанной артерии после тромболитической терапии (ТЛТ)[19].

Цель работы: изучить распространенность полиморфизма *C677T* гена 5,10-*MTHFR* у пациентов с острым крупноочаговым инфарктом миокарда, течение которого осложнилось развитием рецидивирующих коронарных событий.

Материалы и методы

В исследование были включены 92 пациента в возрасте от 35 до 78 лет с острым крупноочаговым ИМ, получившие в качестве реперфузионной терапии тромболизис.

Эффективность ТЛТ оценивалась с использованием неинвазивных (электрокардиографических, клинических и лабораторных) и инвазивных (градация кровотока TIMI по данным коронароангиографии) критериев. Неинвазивные маркеры эффективного тромболизиса оценивались через 90 минут и включали снижение сегмента ST более чем на 50% в отведении с максимальным подъемом, раннее многократное увеличение уровня кардиоспецифических ферментов (МВ-КФК, миоглобин, тропонин), значительное уменьшение интенсивности либо исчезновение болевого синдрома, появление реперфузионных аритмий.

В зависимости от развития рецидивирующих коронарных событий (РКС) были сформированы 2 группы: с РКС (основная группа, n = 45) и без РКС (группа сравнения, n = 47). В качестве РКС после проведения реперфузионной терапии рассматривались рецидивирующий ИМ, ранняя постинфарктная стенокардия, ретромбоз инфаркт-связанной артерии.

Использованы клинические, антропометрические, лабораторные, инструментальные и статистические методы исследования.

Пациентам проводилось измерение антропометрических показателей (определение роста и веса). Для выявления нарушений жирового обмена использовалось вычисление ИМТ.

Проводился расчет значения ИМТ (индекса Кетле) по формуле:

$$ИМТ = Вес\ (кг) / Рост^2\ (м^2)$$

Инструментальное исследование сердечно-сосудистой системы включало использование электрокардиографии, проведение ультразвукового исследования сердца, селективной рент-

геноконтрастной коронароангиографии (КАГ). Электрокардиогафическое исследование проводилось при первичном медицинском контакте и через 90 мин после тромболизиса. Ультразвуковое исследование сердца проводилось в 1–2-е сутки заболевания в трех режимах: М-, В-модальном и цветном доплеровском.

Лабораторные методы исследования включали проведение общеклинического анализа крови при поступлении в стационар, определение уровня гликемии, кардиоспецифических ферментов, показателей системы гемостаза, эндотелиальной дисфункции, провоспалительных цитокинов, липидного спектра крови. Концентрацию гомоцистеина определяли в плазме крови иммуноферментным методом с использованием набора DRG International, Inc. (США).

Для детекции мутации *C677T* в гене *5,10-MTHFR* использовали набор Pronto ThromboRisk™ (Pronto Diagnostics Ltd., Израиль). В этом наборе для идентификации мутации применяется метод амплификции и гибридизации с аллель-специфичными олигонуклеотидами с последующей визуализацией продуктов гибридизации с помощью иммуноферментного анализа [20].

Статистическая обработка данных проводилась с использованием статистических пакетов Statistica 10.0, Excel. Для того, чтобы определить правомочность использования в дальнейшем того или иного способа представления данных и статистического метода необходимо определение типов данных: качественные или количественные, а также является ли количественный признак дискретным или непрерывным. Качественные данные представлены текстовыми значениями, которые автоматически кодируются числовыми значениями. Для описания количественных признаков проанализированы параметры распределения (соответствие вида распределения значений изучаемого признака закону нормального распределения), что регламентировало выбор способа описания центральной тенденции и рассеяния значений признака и выбор методов дальнейшего анализа данных. Применялся критерий Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения признака данные представлялись в виде среднего значения признака (M) и значения стандартной ошибки среднего значения (m). В случае распределения признака, отличного от нормального, данные представлялись в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала между 25-м и 75-м процентилями. Сравнение двух независимых групп по количественному признаку в случае распределения значений изучаемого признака по закону нормального распределения проводилось при помощи t-критерия Стьюдента. Для сравнения двух независимых групп, не соответствующих закону нормального распределения, использовали критерий Манна-Уитни. Для сравнения групп по качественному признаку использовали тест χ^2. Различия в группах считали значимыми при вероятности безошибочного прогноза 95,5% ($p < 0,05$) [21].

Результаты и обсуждение

При изучении основных кардиоваскулярных факторов риска в группе пациентов с РКС выявлен больший удельный вес курильщиков и лиц с сахарным диабетом, чем в группе сравнения (см. табл).

Таблица

Характеристика исследуемых групп

Показатель	Группа с РКС, (n=45)	Группа без РКС, (n=47)
Возраст, лет; M±m	56,31 ±1,67	57,7±1,93
Мужской пол, % (n)	93,33 (42)	82,98 (39)
Курение, % (n)	68,89 (31) *	40,43 (19)
АГ, % (n)	84,44 (38)	89,36 (42)
Семейный анамнез ранней ИБС, % (n)	11,11 (5)	6,38 (3)
Сахарный диабет, % (n)	24,44 (11) *	8,51 (4)
ИМТ, кг/м^2; Me (25%;75%)	28,73 (26,17;32,02)	27,17 (24,22;31,24)
Общий холестерол, ммоль/л; M±m	4,7 (4,31;5,2)	4,5 (4,0;5,1)

* – достоверность различия показателей при сравнении с группой без РКС при $p < 0,05$.

Курение является одним из неблагоприятных факторов, способствующих ускоренному развитию атеротромбоза. Существует мнение, что у курильщиков активация свертывающей системы и тромбообразование имеют основное значение в патогенезе ИМ, таким образом ТЛТ будет особенно эффективна у этой категории пациентов. Косвенно это предположение подтверждает тот факт, что у курящих намного чаще удается полностью восстановить коронарный кровоток (TIMI 3) [22]. Определены предикторы госпитальной летальности или реинфаркта, такие как возраст, класс острой сердечной недостаточности по Killip, уровень систолического и диастолического артериального давления, частота сердечных сокращений, передняя локализация ИМ, статус курения, предшествующий ИМ, пол, проживание в сельской местности [23]. Шкала риска TIMI (Thrombolysis in Myocardial Infarction), которая используется для прогнозирования кардиоваскулярных событий как в период до 30 дней, так и в течение 1 года после ОКС, включает 7 независимых клинических предикторов: 1) возраст старше 65 лет; 2) наличие ≥3 сердечно-сосудистых факторов риска (отягощенная наследственность по КБС, СД, артериальная гипертензия, гиперхолестеринемия); 3) стенозы >50% при КАГ; 4) тяжелая стенокардия (2 эпизода за последние 24 ч); 5) применение аспирина в течение последних 7 суток; 6) смещение сегмента ST > 0,05 мВ; 7) повышенный уровень маркеров некроза [24].

Временной интервал от появления симптомов до начала реперфузионной терапии в группах пациентов с и без РКС достоверно не различался (2,25 (2,0;3,5) и 2,0 (1,5;3,5) часов соответственно).

При изучении структуры использованных тромболитических препаратов в группах пациентов с и без РКС достоверных различий не выявлено (стрептокиназа – 13,33% (n = 6) и 12,77% (n = 6) соответственно, $\chi^2 = 0,0$, $p > 0,05$, альтеплаза – 8,89% (n = 4) и 14,89% (n = 7) соответственно, $\chi^2 = 0,8$, $p > 0,05$, тенектеплаза – 77,78% (n = 35) и 72,34% (n = 34) соответственно, $\chi^2 = 0,4$, $p > 0,05$). Данные представлены на рис. 1.

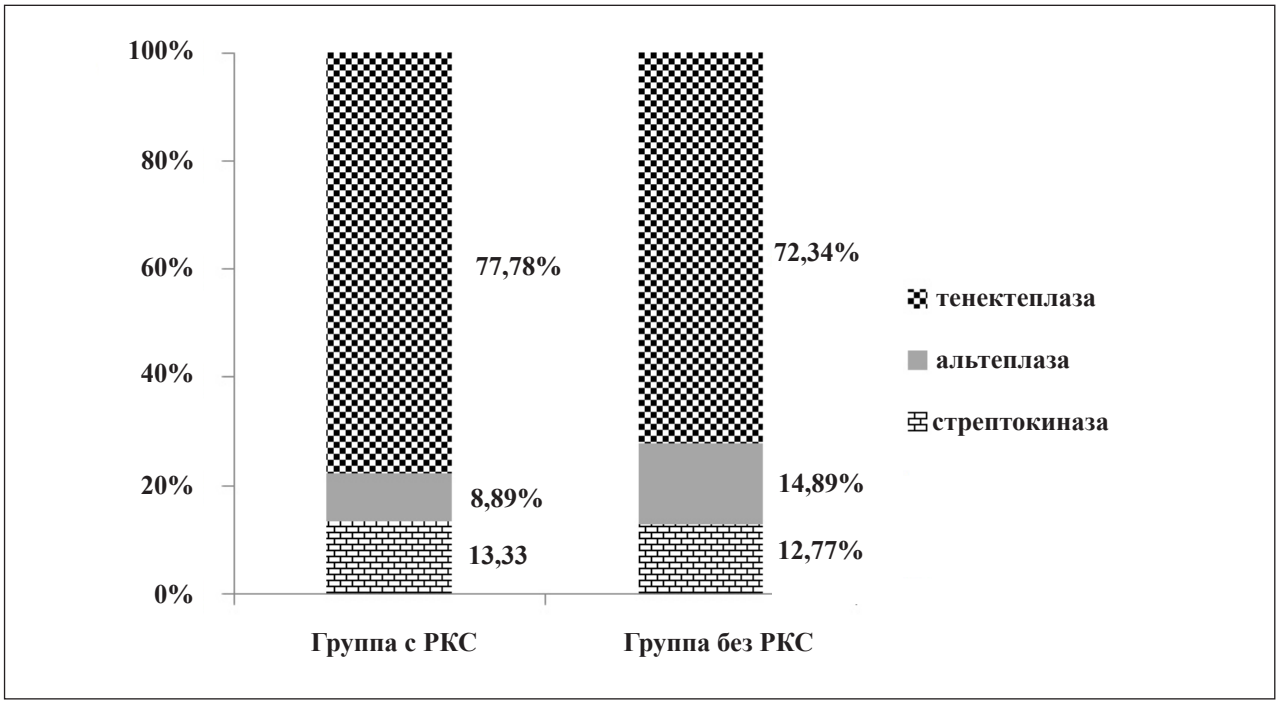

Рис. 1. Структура использованных тромболитических препаратов в исследуемых группах

Согласно полученным нами данным, у пациентов с острым крупноочаговым ИМ, включенных в исследование, удельный вес носителей двух полиморфных аллелей (генотип *MTHFR 667 TT*) составил 14,58%, одной полиморфной аллели (генотип *MTHFR 667 CT*) – 62,5% и генотипа *MTHFR 667 CC* – 22,92%. Эти данные не противоречат резуль-

татам исследования Gábor Viktor Szabó, посвященного изучению распространенности данного генетического полиморфизма среди пациентов с атеросклерозом и с и без СД. По данным автора, гетерозиготное носительство *MTHFR C677T* встречалось в контрольной группе у 32% исследуемых, тогда как среди пациентов с СД и ИМ этот показатель составил 53,5%, а среди пациентов с ИМ без СД – 55,1%. Частота гомозиготного носительства мутантной аллели *TT* составила у пациентов с СД и ИМ 16,8% , а в группе пациентов с ИМ без СД – 21,2% [1].

При изучении распространенности полиморфизма *C677T* гена 5,10- *MTHFR* у пациентов с острым крупноочаговым ИМ в зависимости от развития РКС нами выявлено, что частота носительства генотипа *MTHFR 667 TT* в группе пациентов с РКС была достоверно выше, чем в группе с неосложненным течением заболевания (31,58% и 3,45% соответственно, $\chi^2 = 7,3$, $p < 0,01$, рис. 2).

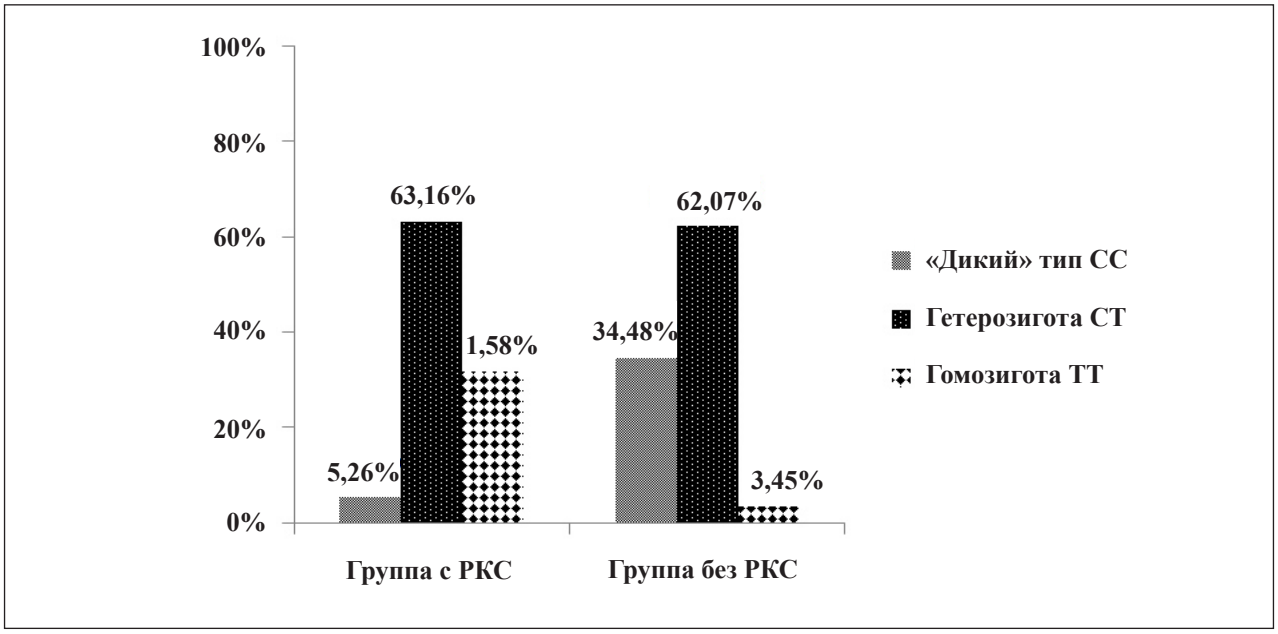

Рис. 2. Распространенность полиморфизма *C677T* гена 5,10-*MTHFR* в исследуемых группах

По имеющимся данным, мутация *677C>T* в гене *MTHFR* ведет к снижению функциональной активности белка MTHFR, что выражается в повышенном уровне гомоцистеина плазмы крови [15, 16, 25–27]. Повышенный уровень гомоцистеина является серьезным предиктором смертности лиц с предшествующими сердечно-сосудистыми заболеваниями или выявленными другими факторами риска. У больных с гипергомоцистеинемией после системного тромболизиса в 2,6 раз чаще отмечается развитие рецидивирующих расстройств коронарного кровообращения [28, 29].При изучении концентрации гомоцистеина в сыворотке крови получены данные о достоверно более высоких среднегрупповых значениях этого показателя у пациентов с РКС, чем в группе сравнения (20,0 (17,5;27,0) и 17,5(15,0;21,0) мкмоль/л соответственно, $p < 0,05$).

Заключение

Гомозиготное носительство двух полиморфных аллелей (генотип *MTHFR 667TT*) достоверно более часто выявлялось в группе пациентов с крупноочаговым инфарктом миокарда, осложнившемся развитием рецидивирующих коронарных событий, чем у лиц с неосложненным течением заболевания. Уровень гомоцистеинемии у пациентов с рецидивирующими коронарными событиями был выше, чем в группе сравнения, что может быть связано не только с влиянием средовых факторов, но и с функциональной несостоятельностью белка метилентетрагидрофолатредуктазы вследствие наличия мутации *677C>T*.

Список использованных источников

1. Szabó, V. The role and importance of gene polymorphisms in the development of atherosclerosis / V. Szabó // Interv Med Appl Sci. – 2013. – Vol. 5 (1). – P. 46–51.
2. Prognostic value of levels of brain natriuretic peptide and genetic factors in patients after acute coronary syndrome/ M.A. Evdokimova [et al.]// Kardiologiia. – 2011. – Vol. 51 (2) P. 26–33.
3. Genetic polymorphism of interleukin-6 gene and susceptibility to acute myocardial infarction./ H. Vakili [et al.] // Coron Artery Dis. – 2011. – Vol. 22 (5) – P. 299–305.
4. Mälarstig, A. Genetic variation in the interleukin-6 gene in relation to risk and outcomes in acute coronary syndrome / A. Mälarstig, L. Wallentin, A. Siegbahn // Thromb Res. – 2007 – Vol. 119 (4) – P. 467–473.
5. Matrix metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-12 gene polymorphisms and the outcome of coronary artery disease / I. Jguirim-Souissi [et al.] // Coron Artery Dis. – 2011. – Vol. 22 (6) – P. 388–393.
6. Polymorphisms of matrix metalloproteinases in myocardial infarction: a meta-analysis / J. Wang [et al.] // Heart – 2011 – Vol. 97 – P. 1542–1546.
7. Transcriptional fingerprint of human whole blood at the site of coronary occlusion in acutemyocardial infarction / O. Muller [et al.] // EuroIntervention. – 2011 – Vol. 7 (4) – P. 458–466
8. Tumor necrosis factor-alpha gene -308G>A polymorphism is associated with ST-elevationmyocardial infarction and with high plasma levels of biochemical ischemia markers / Antonicelli R [et al.] // Coron Artery Dis. – 2005 – Vol. 16 (8) – P. 489–493.
9. Prothrombotic polymorphisms and long-term prognosis of patients with stable ischemic heart disease / A.L. Komarov [et al.] // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии – 2011. – № 7 (4) – С. 409–425.
10. Analysis of polymorphisms Leiden Factor V G1691A and prothrombin G20210A as risk factors for acute myocardial infarction./ G.I. Forte [et al.] // Biogerontology. – 2011. – Vol. 12 (5) – P. 485–490.
11. Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor genetic polymorphisms as markers of the type of acutecoronary syndrome./ D. Tàssies [et al.] // Thromb Res. - 2009 - 124(5) – P. 614-8.
12. Association of the plasminogen activator inhibitor-1 gene 4G/5G polymorphism with ST elevationacute myocardial infarction in young patients / I. Isordia-Salas [et al.]// Rev Esp Cardiol. – 2009 – Vol. 62 (4) – P. 365–372.
13. Platelet glycoprotein IIb HPA-3 polymorphism and acute coronary syndromes / J. Lekakis [et al.] // Int J Cardiol. – 2008 – Vol. 127 (1) – P. 46–50.
14. Prothrombotic polymorphisms and long-term prognosis of patients with stable ischemic heart disease/ A.L. Komarov [et al.] // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2011. – № 7 (4) – С. 409–425.
15. Wald, D.S. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis / D.S. Wald, M. Law, J.K. Morris// BMJ – 2002. – Vol. 325 (7374). – P. 1202.
16. Polygenic Association with Total Homocysteine in the Post Folic Acid Fortification Era: the CARDIA Study/ M.Y. Tsai [et al.] // Mol.Genet. Metab. – 2009. – Vol. 98 (1–2) – P. 181–186.
17. Genetic Polymorphisms and the Risk of Myocardial Infarction in Patients Under 45 Years of Age / A. Sakowicz [et al.] // Biochem Genet. – 2013. – Vol. 51 (3–4) – P. 230–242.
18. Association between polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) C677T and risk ofmyocardial infarction: a meta-analysis for 8,140 cases and 10,522 controls / C. Xuan [et al.] // Arch. Med. Res. – 2011. – Vol. 42 (8) – P. 677–685.
19. Methylenetetrahydrofolatereductase(*MTHFR*) C677T genetic polymorphism and late infarct-related coronary artery patency after thrombolysis/ G. Patti [et al.] // J. Thromb.Thrombolysis. – 2009. – Vol. 27 (4) – P. 413–420.
20. Pronto ThromboRisk – a novel primer-extension ELISA based assay for the detection of mutations associated with increased risk for thrombophilia / N. Carmi [et al.] // J. Clin. Lab. Anal. – 2004. – Vol. 18 (5) – P. 259–264.
21. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
22. Шахнович, Р.М. Острый коронарный синдром с подъемом сегмента ST: руководство для врачей / Р.М. Шахнович. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 376 с.

23. Early reinfarction after fibrinolysis: experience from the global utilization of streptokinase and tissue plasminogen activator (alteplase) for occluded coronary arteries (GUSTO I) and global use of strategies to open occluded coronary arteries (GUSTO III) trials / M.P. Hudson [et al.] // Circulation. – 2001. – Vol. 104 (11). – P. 1229–1235.

24. TIMI Risk Score accurately predicts risk of death in 30-day and one-year follow-up in STEMI patients treated with primary percutaneous coronary interventions/ A. Kozieradzka [et al.] // Kardiol Pol. – 2007. – Vol. 65 (7). – P. 788–795.

25. *MTHFR* 677C-->T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis/ M. Klerk [et al.] // JAMA. – 2002. – Vol. 288 (16) – P. 2023–2031.

26. Biological and clinical implications of the *MTHFR* C677T polymorphism / P.M. Ueland [et al.] // Trends Pharmacol. Sci. – 2001. – Vol. 22(4) – P. 195–201.

27. Peripheral arterial disease and methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) C677T mutations: A case-control study and meta-analysis / N. Khandanpour [et al.] // J. Vasc. Surg. – 2009. – Vol. 49 (3) – P. 711–718.

28. Михайлова, К.В. Влияние гипергомоцистеинемии на нарушения внутрисосудистого свертывания крови и клиническое течение инфаркта миокарда: автореф. дис. … канд. мед. наук: 14.00.06 / К.В. Михайлова. – М., 2008. – 143 с.

29. Лебедева, А.Ю. Клинические, биохимические и инструментальные аспекты прогнозирования течения инфаркта миокарда после тромболитической терапии: автореф. дис. … д-р мед. наук: 14.00.06 / А.Ю. Лебедева. – М., 2009. – 228 с.

Дата поступления статьи 29 апреля 2014 г.