

УДК 616.831-005.1/6:548.33]:616-074

В.Ю. Гарбузова

Сумський державний університет

АНАЛІЗ ЗВ'ЯЗКУ T2255C ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА ВІТАМІН К-ЕПОКСИДОРЕДУКТАЗИ ІЗ ГОСТРИМ КОРОНАРНИМ СИНДРОМОМ В ОСІБ З НОРМАЛЬНИМ І ПІДВИЩЕНИМ АРТЕРІАЛЬНИМ ТИСКОМ

Ключові слова: вітамін К-епоксидоредуктаза, алельний поліморфізм, гострий коронарний синдром, артеріальна гіпертензія.

Резюме. Наведено результати визначення T2255C (rs2359612) поліморфізму гена вітамін К-епоксидоредуктази у 118 хворих з гострим коронарним синдромом і 234 осіб контрольної групи, що мали нормальний і підвищений артеріальний тиск. Встановлено, що у представників T/C і C/C генотипів показники діастолічного і середнього артеріального тиску достовірно вищі у хворих, ніж у контролі. В осіб з артеріальною гіпертензією гострий коронарний синдром виявлявся частіше, ніж у пацієнтів з нормальним артеріальним тиском незалежно від варіантів T2255C поліморфізму гена вітамін К-епоксидоредуктази.

Вступ

Відкриття алельного поліморфізму генів поставило на порядок денний питання про роль цього явища у розвитку найпоширеніших мультифакторних хвороб людини, серед яких - склеротичні ураження кровоносних судин, що спричиняються до гострих порушень коронарного і мозкового кровообігу. Серед механізмів, які беруть участь у патогенезі артеріосклерозу та тромботичних його ускладнень, серед яких і гострий коронарний синдром (ГКС) називають гени, від яких залежить інтенсивність і спрямованість фосфорно-кальцієвого обміну як в організмі в цілому, так і в окремих тканинах. До таких, зокрема, належить ген вітамін К-епоксидоредуктази (VKORC1) - протеїну, що бере участь у процесах мінералізації м'яких тканин, підвищує кальцій-зв'язуючу активність білків, чим запобігає ектопічній мінералізації, а отже, і розвитку кальцифікації артерій [12,14].

Одним з важливих факторів ризику атеросклеротичного процесу і наслідків кальцифікації артерій є артеріальна гіпертензія, у патогенезі якої значне місце посідає спадкова схильність, зумовлена однонуклеотидним поліморфізмом багатьох генів [4,5,10]. У списку ще не досліджених генів-кандидатів, що можуть контролювати механізми підвищення артеріального тиску і наслідків артеріальної гіпертензії, зокрема порушень коронарного кровотоку, перебуває і ген VKORC1. Саме це спонукало нас до вивчення асоціації поліморфізму цього гена з розвитком гострого коронарного синдрому у хворих з артеріальною гіпертензією.

На сьогодні описано понад 117 поліморфізмів поодиноких нуклеотидів у гені VKORC1 людини. Більшість із них вивчається з огляду на роль ві-

тамін К-епоксидоредуктази у метаболізмі кумаринових антикоагулянтів. Дані про роль алельного поліморфізму гена VKORC1, зокрема T2255C поліморфізму, у розвитку серцево-судинних захворювань - малочисельні і суперечливі. Більшість опублікованих робіт, присвячено дослідженню зв'язку генотипів VKORC1 з розвитком ішемічної хвороби серця, інфаркту міокарда, інсульту та венозної тромбоемболії серед населення Західної Європи [6,14]. Що стосується впливу T2255C поліморфізму на розвиток гострого коронарного синдрому у хворих з артеріальною гіпертензією у українській популяції, то ця проблема вивчається вперше.

Представлену роботу виконано в рамках науково-дослідної теми "Роль алельного поліморфізму генів у розвитку патологічних процесів і хвороб", № держреєстрації 0110 U 005038.

Мета дослідження

Провести аналіз асоціації T2255C поліморфізму гена VKORC1 з розвитком гострого коронарного синдрому в осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском.

Матеріал і методи

У роботі використано венозну кров 118 хворих на ГКС (22% жінок і 78% чоловіків) віком від 40 до 73 років (середній вік - 55,9±0,89 роки), що перебували на лікуванні у кардіологічному відділенні Сумської міської клінічної лікарні №1 та 231 практично здорових осіб які проходили профілактичні огляди.

Діагноз гострого інфаркту міокарда та нестабільної стенокардії встановлювали на підставі даних клінічних, електрокардіографічних та біохімічних досліджень згідно з рекомендаціями

експертів ВООЗ, а також відповідно до рекомендацій європейського та американського товариств кардіологів [2,3]. Критерієм залучення до дослідження була наявність типового ангінозного больового синдрому в спокої тривалістю від 10 до 30 хв упродовж останніх 24 годин до госпіталізації із змінами ЕКГ без навантаження (депресія сегмента "ST" 1 мм та більше або інверсія зубця "Т" 2 мм та більше щонайменше у двох суміжних відведеннях). Заключний діагноз нестабільної стенокардії поставлено у 33,5% хворих, гострого інфаркту міокарда - 66,5 % хворих.

У контрольній групі пацієнтів відсутність серцево-судинної патології підтверджували шляхом збирання анамнестичних даних, проведення ЕКГ і вимірювання артеріального тиску. Контрольна група і група хворих на ГКС відрізнялися за віком: середній вік першої (66,0±0,95 років) був істотно вищим, ніж другої (P<0,001). Остання обставина збільшувала надійність контролю, оскільки зменшувалася ймовірність розвитку ГКС у пацієнтів контрольної групи в майбутніх періодах їхнього життя.

Визначення T2255C (rs2359612) поліморфізму гена VKORC1 проводили за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів при

виділенні їх шляхом електрофорезу в агарозному гелі. Деталі методики генотипування описано в одній з попередніх наших публікацій [1].

Статистичний аналіз проводили з використанням програми SPSS-17. Дані клінічних досліджень перевірялися на нормальний розподіл за допомогою тесту Шапіро-Вілка. Достовірність відмінностей середніх величин у групах з різними генотипами визначалася за допомогою методики однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) та апостеріорного критерію Дункана, а номінальних змінних - за χ^2 -тестом Пірсона. Значення P < 0,05 вважали достовірним.

Обговорення результатів дослідження

Завдяки проведеному генотипуванню хворих з ГКС та пацієнтів контрольної групи за T2255C поліморфізмом гена VKORC1 було встановлено частоту окремих варіантів цього гена, а також проведено порівняння її між групами за наявністю чи відсутністю в пацієнтів артеріальної гіпертензії.

У табл. 1 наведено дані про величини артеріального тиску (АТ) у хворих з ГКС і у пацієнтів контрольної групи, залежно від їхнього генотипу за T2255C поліморфізмом гена VKORC1. Як випливає з результатів дослідження, відмінності між

Таблиця 1

Показники артеріального тиску (АТ) у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за T2255C поліморфізмом гена VKORC1(M±m)

Показники		T/T	T/C	C/C	F	P ₁
Систолічний АТ мм рт. ст.	Контроль	141,5±2,35 (85)	139,1±2,53 (100)	135,7±2,97 (46)	0,956	0,386
	ГКС	136,6±2,86 (32)	142,4±2,74 (49)	142,43±2,92 (37)	1,225	0,298
	P ₂	0,247	0,428	0,111		
Діастолічний АТ мм рт. ст.	Контроль	84,1±1,07	83,2±1,16	82,7±1,54	0,266	0,767
	ГКС	87,2±1,78	89,7±1,50	91,2±1,46	1,436	0,242
	P ₂	0,112	0,002	0,0002		
Пульсовий АТ мм рт. ст.	Контроль	57,4±1,84	55,9±1,86	52,9±2,59	0,941	0,392
	ГКС	49,4±1,86	52,7±1,74	51,2±1,81	0,804	0,450
	P ₂	0,096	0,246	0,658		
Середній динамічний АТ мм рт. ст.	Контроль	103,2±1,36	101,8±1,50	100,4±1,74	0,672	0,512
	ГКС	103,7±2,02	107,2±1,83	108,3±1,88	1,405	0,250
	P ₂	0,859	0,031	0,002		

Примітка: F – критерій Фішера; P₁ і P₂ – значимість відмінностей (P₁ - між генотипами за даними однофакторного дисперсійного аналізу; P₂ - між контролем та ГКС за t-критерієм Стьюдента); у дужках – кількість пацієнтів

середніми величинами всіх видів АТ (систоличного, діастолічного, пульсового і середнього) були недостовірними як у контрольній групі, так і у хворих з ГКС ($P > 0,05$). При порівнянні між групами з'ясовано, що за вивченими поліморфізмами в представників Т/С і С/С генотипів показники діастолічного і середнього АТ були достовірно вищими у хворих із ГКС, ніж у контролі.

При розподілі пацієнтів на тих, що мають нормальний АТ, і тих, у кого виявлено артеріальну гіпертензію (систоличний АТ > 140 мм рт. ст., діастолічний АТ > 90 мм рт. ст.), порівняння частоти досліджуваних генотипів дало такі результати (табл. 2).

Як у контрольній групі, так і у хворих з ГКС, розподіл трьох можливих варіантів генотипу за Т2255С поліморфізмом гена VKORC1 не відрізнявся у пацієнтів з артеріальною гіпертензією і в осіб з нормальним АТ. Не виявлено відмінностей і при порівнянні хворих з ГКС та пацієнтів контрольної групи, що мали як нормальний АТ ($P = 0,574$), так і артеріальну гіпертензію ($P = 0,681$). Встановити статистично значиму відмінність між частотою артеріальної гіпертензії у пацієнтів з різним генотипом не вдалося і при об'єднанні наведених вище двох груп в одну ($P = 0,216$).

Аналіз зв'язку між величиною артеріального

Таблиця 2

Частота генотипів за Т2255С поліморфізмом гена VKORC1 у пацієнтів з нормальним артеріальним тиском (НАТ) і артеріальною гіпертензією (АГ) у контрольній групі і в хворих з гострим коронарним синдромом

Генотип	Контроль		ГКС		Контроль + ГКС	
	НАТ	АГ	НАТ	АГ	НАТ	АГ
Т/Т	60 (38,0%)	25 (34,3%)	16 (34,8%)	16 (22,2%)	76 (37,3%)	41 (28,3%)
Т/С	65 (41,1%)	35 (47,9%)	17 (37,0%)	32 (44,4%)	82 (40,2%)	67 (46,2%)
С/С	33 (20,9%)	13 (17,8%)	13 (28,3%)	24 (33,3%)	46 (22,5%)	37 (25,5%)
Разом	158 (100%)	73 (100%)	46 (100%)	72 (100%)	204 (100%)	145 (100%)
	$\chi^2 = 0,960$; $P = 0,619$		$\chi^2 = 2,242$; $P = 0,326$		$\chi^2 = 3,070$; $P = 0,216$	

Примітка: P – статистична значимість відмінностей за χ^2 -критерієм

тиску і ГКС у підгрупах пацієнтів, утворених на підставі їхнього генотипу (Т/Т, Т/С, С/С) виявив статистично значиму залежність між рівнем АТ і ймовірністю розвитку ГКС в усіх підгрупах пацієнтів (табл. 3). В осіб з артеріальною гіпертензією усіх генотипів ГКС виявлявся частіше, ніж у пацієнтів з нормальним АТ.

Підсумовуючи наведені вище дані, маємо підстави стверджувати, що Т2255С поліморфізм гена VKORC1, істотним чином не впливає на зв'язки між артеріальним тиском та ГКС. Будучи доведеним фактором ризику, артеріальна гіпертензія є асоційованою з ГКС незалежно від генотипу пацієнтів за цим SNP.

VKOR – інтегральний трансмембранний протеїн, який каталізує відновлення 2,3-епоксиду вітаміну К (КО) і вітаміну К до вітаміну К-гідроксину (КН₂). Молекула VKOR (молекулярна маса 18,2 кДа) складається із 163 амінокислотних залишків [9]. Ген VKORC1 у людини представлено однією копією, яка міститься в короткому плечі 16-ї хромосоми (16p11.2) на мінус-ланцюгу.

Довжина гена – 5126 нуклеотидів, він складається з 3 екзонів, розділених двома інтронами. У гені закодовано 163 амінокислотні залишки зрілого білка. [12]

Суть одноступінчастого поліморфізму Т2255С полягає в тому, що в 2-му інтроні гена VKORC1, у 2255 позиції, тимін заміщено на цитозин. Самі собою поліморфізми в інтронах не здатні змінювати послідовність азотистих основ у змістовній частині гена і, таким чином, впливати на якісні характеристики синтезованого протеїну, проте, будучи зчепленими з регуляторними ділянками, можуть зменшувати або збільшувати ступінь впливу тих речовин і молекул, які беруть участь у регуляції активності транскрипції зазначеного гена і тим самим змінювати кількісні характеристики білка.

Ураховуючи наявність серед вітамін К-залежних протеїнів тих, які беруть участь у підтриманні кальцієвого гомеостазу та процесів коагуляції крові в організмі, частина досліджень з вивчення одноступінчастих поліморфізмів гена VKORC1

Таблиця 3

Частота осіб з нормальним артеріальним тиском і артеріальною гіпертензією у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за T2255C поліморфізмом гена VKORC1

Генотип	Тиск	Контроль, n (%)	ГКС, n (%)
T/T	Нормальний АТ	60(70,6%)	16(50,0%)
	Артеріальна гіпертензія	25(29,4%)	16(50,0%)
	Разом	85(100%)	16(100%)
	$\chi^2 = 4,329; P = 0,037$		
T/C	Нормальний АТ	65 (65,0%)	17 (34,7%)
	Артеріальна гіпертензія	35 (35,0%)	32 (65,3%)
	Разом	100 (100%)	49 (100%)
	$\chi^2 = 12,205; P < 0,001$		
C/C	Нормальний АТ	33 (71,7%)	13 (35,1%)
	Артеріальна гіпертензія	13 (28,3%)	24 (64,9%)
	Разом	46 (100%)	37 (100%)
	$\chi^2 = 11,121; P = 0,001$		

були спрямовані на пошук зв'язку генетичної варіабельності останнього з розвитком уражень серцево-судинної та кісткової систем.

Так, Teitchert [et al.] виявили, що представники білої раси, які є носіями мінорного алеля за С1173Т поліморфізмом 1-го інтрону гена VKORC1 мають значно вищий ризик розвитку кальцифікації аорти, ніж носії основного алеля [12].

Wang [et al.] з'ясували, що наявність С-алеля в 2255-му положенні гена VKORC1 (С2255Т поліморфізм) підвищує більше ніж у два рази ризик розвитку інсульту та ішемічної хвороби серця і більше ніж у три рази - ризик розвитку розширення аорти. Також вчені виявили, що пацієнти з С/С та С/Т генотипами мали нижчий рівень карбоксильованого остеокальцину, ніж носії Т/Т генотипу [14]. Lemmens [et al.], на відміну від отриманих у японському дослідженні результатів, не виявили зв'язку С1173Т поліморфізму з розвитком ішемічної хвороби серця та інсультом серед населення Західної Європи [8].

Hindorff [et al.] досліджували зв'язок Т2255С, С698Т та G3730А поліморфізмів гена VKORC1 з розвитком інфаркту міокарда, інсульту та венозної тромбоемболії. Отримані результати показали, що жоден із трьох вивчених SNP не був асоційований із розвитком зазначених серцево-судинних захворювань [6]. Результати щодо відсутності зв'язку Т2255С поліморфізму VKORC1 з венозною тромбоемболією підтвердились і у дос-

лідженні Verstuyft [et al.] [13]. Smadja [et al.] також не виявили зв'язку поліморфізму гена VKORC1 з розвитком венозної тромбоемболії, але вже для G-1639А поліморфізму промотору [11]. Проте [Lacut et al.] встановили, що Т/Т генотип за С1173Т поліморфізмом пов'язаний зі зменшеним ризиком розвитку венозної тромбоемболії серед населення Франції [7].

Висновки

1. У представників Т/С і С/С генотипів за поліморфізмом Т2255С гена VKORC1 показники діастолічного і середнього динамічного АТ достовірно вищі у хворих із ГКС, ніж у контролі.

2. В осіб з артеріальною гіпертензією ГКС виявлявся частіше, ніж у пацієнтів з нормальним АТ, незалежно від варіантів поліморфізму Т2255С гена VKORC1.

3. Не існує зв'язку Т2255С поліморфізму гена VKORC1 з гострим коронарним синдромом в осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском.

Перспективи подальших досліджень

З урахуванням актуальності проблеми ускладнень атеросклерозу подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення асоціації інших поліморфізмів гена VKORC1 з гострим коронарним синдромом.

Література. 1. Дубовик С.І. Частота алельних варіантів гена вітаміну К-епоксидредуктази (VKORC1) у хворих з

гострим коронарным синдромом / С.І. Дубовик, В.Ю. Гарбузова, О.В. Атаман [та ін.] // Ж. клін. та експериментальних мед. досліджень. - 2013. - Т.1, №4. - С.403-407. 2. Bertrand M.E. Management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. The task force on the management of acute coronary syndromes of the European society of cardiology / M.E. Bertrand, M.L. Simoons, K.A. Fox [et al.] // Eur. Heart J. - 2002. - Vol.23. - P. 1809-1840. 3. Braunwald E. ACC/AHA guideline for the management of patients with unstable angina and non ST-elevation myocardial infarction: executive summary and recommendations. A report of the American college of cardiology / E. Braunwald, E.M. Antman, N.H. Brooks [et al.] / American Heart Association task force on practice guidelines (committee on management of patients with unstable angina) / Circulation. - 2000. - Vol.102. - P.1193-1209. 4. Butler M.G. Genetics of hypertension. Current status / Butler M.G. // J. Med. Liban. - 2010. - V. 58. - P. 175-178. 5. Garcia E.A. Genes and hypertension / Garcia E.A., Newhouse S., Caulfield M.J., Munroe P.B. // Curr. Pharm. Des. - 2003. - V. 9. - P. 1679-1689. 6. Hindorff A. Common VKORC1 variants are not associated with arterial or venous thrombosis / A. Hindorff, S.R. Heckbert, N. Smith [et al.] // Journal of Thrombosis and Haemostasis. - 2007. - Vol.5. - P. 2025-2027. 7. Lacut K. Vitamin K epoxide reductase genetic polymorphism is associated with venous thromboembolism: results from the EDITH Study / K. Lacut, C. Larramendy-Gozal, G. Le Gal [et al.] // J. Thromb. Haemost. - 2007. - Vol.5. - P.2020-2024. 8. Lemmens R. Lack of association between variants in the VKORC1 gene and cerebrovascular or coronary heart disease / R. Lemmens, S. Abboud, L. Vanhees [et al.] // Thromb. Haemost. - 2008. - Vol.12. - P. 2220-2223. 9. Oldenburg J. Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1): The key protein of the vitamin K cycle / J. Oldenburg, C.G. Bevens, C.R. Muller [et al.] // Antioxid. Redox Signal. - 2006. - Vol.8 - P. 347-353. 10. Ruppert V. Genetics of human hypertension / Ruppert V., Maisch B. // Herz. - 2003. - V. 28. - P. 655-662. 11. Smadja M.D. No clear link between VKORC1 genetic polymorphism and the risk of venous thrombosis or peripheral arterial disease / M.D. Smadja, M.A. Lorient, L.A. Hindorff [et al.] // Thromb. Haemost. - 2008. - Vol.99. - P. 970-972. 12. Teichert M. Vitamin K Epoxide Reductase Complex Subunit 1 (VKORC1) Polymorphism and Aortic Calcification / M. Teichert, L.E. Visser, R.H.N. van Schaik [et al.] // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. - 2008. - Vol.28. - P.771-776. 13. Verstuyft C. VKORC1 genetic polymorphism and risk of venous thromboembolism in postmenopausal women: new findings and meta-analysis / C. Verstuyft, M. Canonico, E. Bouazi [et al.] // J. Thromb. Haemost. - 2009. - Vol.7. - P.1034-1036. 14. Wang Y. VKORC1 Haplotypes Are Associated With Arterial Vascular Diseases (Stroke, Coronary Heart Disease, and Aortic Dissection) / Y. Wang, Z. Weili, Y. Zhang [et al.] // Circulation. - 2006. - Vol.113. - P. 1615-1621.

АНАЛИЗ СВЯЗИ T2255C ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ВИТАМИН К-ЭПОКСИДРЕДУКТАЗЫ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ У ПАЦИЕНТОВ С НОРМАЛЬНЫМ И ПОВЫШЕННЫМ АРТЕРИАЛЬНЫМ ДАВЛЕНИЕМ

В.Ю. Гарбузова

Резюме. Приведены результаты определения T2255C (rs2359612) полиморфизма гена витамин К-эпоксидоредуктазы у 118 пациентов с острым коронарным синдромом и 234 лиц контрольной группы с нормальным и повышенным артериальным давлением. Установлено, что у представителей T/C и C/C генотипов показатели диасто-

лического и среднего артериального давления достоверно выше у больных, чем в контроле. У лиц с артериальной гипертензией острый коронарный синдром развивается чаще, чем у пациентов с нормальным артериальным давлением, независимо от вариантов T2255C полиморфизма гена витамин К-эпоксидоредуктазы.

Ключевые слова: витамин К-эпоксидоредуктаза, аллельный полиморфизм, острый коронарный синдром, артериальная гипертензия.

ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF T2255C POLYMORPHISM OF VITAMIN K-EPOXIDE REDUCTASE GENE AND ACUTE CORONARY SYNDROME IN INDIVIDUALS WITH NORMAL AND HIGH BLOOD PRESSURE

V.Yu. Garbuzova

Abstract. The aim of the study was to analyze the association of T2255C polymorphism of VKORC1 gene with the development of acute coronary syndrome (ACS) in patients with normal and high blood pressure.

We used venous blood of 118 patients with ACS (22% women and 78% men) aged 40 to 73 years (mean age 55.9 ± 0.89 years). The control group consisted of 234 patients. Definition of T2255C polymorphism (rs2359612) of VKORC1 gene was performed using PCR with the following restriction fragment length analysis of the allocation of them by electrophoresis in agarose gel. Restriction endonuclease NcoI was used for restriction analysis. Statistical analysis was performed by using the software package SPSS-17. Thus, the significance of differences was determined by the χ^2 -criterion. The value of $P < 0.05$ was considered as significant.

The differences between the averages of all types of blood pressure (systolic, diastolic, pulse and mean) were not significant in control group and in patients with ACS ($P > 0.05$). A comparison between the groups revealed that the indices of diastolic and mean arterial pressure in representatives of T/C and C/C genotypes were significantly higher in patients with ACS than in controls. Distribution of genotype variants for T2255C polymorphism of the VKORC1 gene did not differ in patients with hypertension and with normal blood pressure both in control group, ($P = 0,619$) and in patients with ACS ($P = 0,326$). There were no differences when comparing patients with ACS and patients of the control group, who had both normal blood pressure ($P = 0,574$) and hypertension ($P = 0,681$). Analysis of the link between the magnitude of blood pressure and ACS in subgroups formed on the basis of their genotype (T/T, T/C, C/C) showed a statistically significant relationship between the level of blood pressure and the likelihood of ACS in all subgroups of patients: in persons with hypertension of all genotypes ACS detected more frequently than in patients with normal blood pressure.

Key words: vitamin K epoxide reductase, allelic polymorphism, acute coronary syndrome, hypertension.

Sumy State University

Clin. and experim. pathol. - 2014. - Vol.13, №4 (50). - P.27-31.

Надійшла до редакції 05.11.2014

Рецензент – проф. І.А. Плев

© В.Ю. Гарбузова, 2014