

генотип медленного ацетилювання мали 57,1% індивидів. С увеличением возраста наблюдалась определенная тенденция к уменьшению доли медленных ацетиляторв как мужчин, так и женщин среди больных туберкулезом.

**Ключевые слова:** N-ацетилтрансфераза 2, полиморфизм, ацетилювання, туберкулез.

**Antonenko P.B., Kresun V.I.**

#### GENOTYPE POLYMORPHISM N-ACETYLTRANSFERASE 2 IN PATIENTS WITH TUBERCULOSIS

**Summary.** The important differences concerning N-acetyltransferase 2 (NAT2) are observed among different ethnic groups that determine a significant variation of the medical drugs acetylation, for instance of antituberculous agent isoniazid. The aim of the present work was to investigate NAT2 polymorphism in the patients with pulmonary tuberculosis (TB) on the base of Odesa region. NAT2 polymorphisms C>T 481 NAT2\*5A, G>A 590 NAT2\*6A, G>A 857 NAT2\*7A/B were analyzed with the help of polymerase chain reaction. The blood samples were obtained from patients with new cases of pulmonary TB from Odesa regional antituberculous dispensary and healthy donors in Odesa district station of blood transfusion in 2010-12 yy. Among patients with pulmonary TB according to NAT2 genotype 3,6% individuals were rapid acetylator, 34,6% were moderate acetylators and 61,8% individuals were slow acetylators. In healthy donors before mentioned categories included 8,4%; 38,7 and 52,9% correspondently. Around 66,7% of female patients with TB were slow acetylators that is in 2,3 times more than in healthy donors. Among male patients with TB around 57,1% were slow acetylators. With ageing it was observed a tendency of dropping of slow acetylators amount.

**Key words:** N-acetyltransferase 2, polymorphism, acetylation, tuberculosis.

Стаття надійшла до редакції 02.10.2012р.

© Безсмертний Ю.О.

УДК: 575.224.22:612.398.192:616.71-001.59

**Безсмертний Ю.О.**

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, НДІ реабілітації інвалідів (вул. Хмельницьке шосе, 104, м. Вінниця, Україна, 21029)

## КОМБІНУВАННЯ МУТАЦІЙ ГЕНІВ ФЕРМЕНТІВ ОБМІНУ ГОМОЦИСТЕЇНУ МЕТИЛЕНТЕТРАГІДРОФОЛАТРЕДУКТАЗИ С677Т ТА СИНТАЗИ ОКСИДУ АЗОТУ Т786С У ХВОРИХ З ХИБНИМИ СУГЛОБАМИ ДОВГИХ КІСТОК

**Резюме.** У статті представлені порівняльні результати поширеності мутації генів ферментів метилентетрагідрофолатредуктази MTHFR С677Т та синтази оксиду азоту eNOS Т786С у 118 хворих з хибними суглобами довгих кісток та у осіб з консолидованими переломами. Встановлено, що одним з патогенетичних механізмів впливу мутації MTHFR С677Т та eNOS Т786С на структурно-функціональний стан кісткової тканини, порушення репаративного остеогенезу є акселерація несприятливого патерну у вигляді гіпергомоцистеїнемії, запального синдрому, атерогенної дисліпідемії, ендотеліальної дисфункції та ремоделювання судин.

**Ключові слова:** мутація, метилентетрагідрофолатредуктаза, С677Т, синтаза оксиду азоту Т786С, хибний суглоб, гіпергомоцистеїнемія.

### Вступ

З кожним роком накопичується все більше доказів, що гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) - один із факторів судинних уражень і тромбозів, асоціюється з високим ризиком остеопорозу та остеопоротичних переломів [Андрушко, 2012; Elshorbagy et al., 2009; Yilmaz, Eren, 2009]. Негативний вплив високих рівнів гомоцистеїну на кісткову тканину пов'язують з активацією процесів демінералізації кісток, деградації колагену, розвитком оксидативного стресу, гіпометилуванням та хімічною модифікацією білків [Herrmann et al., 2009; Xu et al., 2011]. Значною мірою цей вплив реалізується через судинні механізми, шляхом оксидативного та проатерогенного ушкодження периферичних судин, порушення судинної продукції оксиду азоту [Ocarino et al., 2008; Wang et al., 2009]. У проведених клінічних дослідженнях з'ясовано [Безсмертний, 2012; Shiraki et al., 2008], що розлади репаративного остеогенезу довгих кісток, що супроводжуються формуванням хибних суглобів, пов'язано з порушенням обміну гомоцистеїну та дисбалансом в системі оксиду азоту. Значимість вказаних метаболічних порушень

підтверджується і тим, що їх поширеність як і мутацій генів ферментів обміну гомоцистеїну метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR С677Т) та промотору гена синтази оксиду азоту (eNOS Т786С) серед хворих з хибними суглобами значно вище, ніж серед осіб з консолидованими переломами [Shiraki et al., 2008; Zhu et al., 2009]. Цілком очевидно, що поліморфізми вказаних генів можуть поєднуватись, особливо з урахуванням зростання поширеності патологічних алелей серед хворих з хибними суглобами, але така інформація відсутня.

**Мета роботи** - дослідити частоту комбінування мутацій генів ферментів обміну гомоцистеїну метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR С677Т) та синтази оксиду азоту (eNOS Т786С) у осіб з консолидованими переломами та хибними суглобами довгих кісток, оцінити їх зв'язок з рівнем гомоцистеїну, ліпідів та станом судин.

### Матеріали та методи

До групи спостереження увійшло 118 (20,13%) з 586 обстежених хворих з хибними суглобами довгих кісток

на рівні діафізу, які не мали встановлених об'єктивних та ятрогенних чинників порушень репаративного остеогенезу. Середній вік становив 39,34 ± 11,01 роки. Осіб чоловічої статі було - 91 (77,12%), жіночої - 27 (22,88%). Тривалість захворювання від 11 до 126 міс. За клініко-рентгенологічною характеристикою хибного суглобу нормопластичний тип діагностовано у 24 (20,34%), гіперпластичний - у 21 (17,8%), гіпопластичний - у 36 (30,5%), атрофічний - у 37 (31,36%) хворих. До групи контролю увійшли 48 хворих з консолідованими діафізарними переломами, репрезентативні групі хворих з хибними суглобами за віком, статтю, локалізацією ушкодження, частотою супутньої патології.

Вміст загального холестерину, холестерину ліпопротеїнів високої густини (ЛПВГ) та тригліцеридів в сироватці крові визначали уніфікованими методами з використанням вітчизняних стандартних наборів "Холестерин-Ф", "Тригліцериди" (Філісіт-Діагностика, Україна), "Альфа-холестерин" (Реагент, Україна). Рівень холестерину ліпопротеїнів низької густини (ЛПНГ) розраховувався за формулою W. Friedwald: Холестерин ЛПНГ = Загальний холестерин - холестерин ЛПВГ - (0,45 x Тригліцериди). При ранжируванні рівнів ліпідів в сироватці крові користувались критеріями Європейського товариства кардіологів та Європейського товариства гіпертензії (2007), рекомендаціями Асоціації кардіологів України (2011). Критеріями дисліпідемії вважали рівень загального холестерину >5,0 ммоль/л, холестерину ЛПНГ >3,0 ммоль/л, холестерину ЛПВГ <1,0 та 1,2 ммоль/л (для чоловіків та жінок, відповідно), тригліцеридів >1,7 ммоль/л [Андрушко, 2008]. Рівень загального ГЦ визначали набором "Homocysteine EIA" (Axis-Shield, Англія), інтерлейкіну-6 - набором "IL-6 ELISA" (Diaclone, Франція) імуноферментними методами у відповідності до інструкції фірми-виробника на аналізаторі STAT FAX 303/PLUS [Андрушко, 2012].

Товщину комплексу інтима-медіа (ТІМ) плечових, стегнових та загальних сонних артерій оцінювали в мм методом дуплексного ультразвукового сканування з лінійним датчиком 7 МГц на апараті "Sonoline 6000 C" (Medisson, Південна Корея). Ендотеліязалежну вазодилатацію правої плечової артерії визначали (ЕЗВД ПА) за стандартною методикою. Нормальними показниками вважали приріст діаметра досліджуваної артерії після реакції гіперемії через 30 та 90 с більше 10%.

Для генетичних досліджень відбирали проби цільної

крові, стабілізованої цитратом натрію, які до тестування зберігали при -20°C. Генотипування проводилось методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з наступним рестрикційним аналізом продуктів ПЛР. Вивчалась мутація генів ендотеліальної синтази нітроген монооксиду T786C та метилентетрагідрофолатредуктази C677T.

Статистичний аналіз матеріалу проводився за допомогою стандартних методів із застосуванням пакету прикладних програм "MS Excel XP" та "Statistica SPSS 10.0 for Windows" (ліцензійний № 305147890).

### Результати. Обговорення

Проведені дослідження показали, що в групі осіб з консолідованими переломами виявилось лише 16,6% нормальних гомозигот 677-CC MTHFR + 786-TT eNOS, 33,3% "чистих" носіїв алелю 677-T MTHFR, 35,4% "чистих" носіїв алелю 786-C eNOS та 14,6% носіїв обох поліморфізмів 677-T MTHFR + 786-C eNOS в гетеро- та гомозиготному варіантах (табл. 1).

Серед хворих з хибними суглобами реєстрували стійку тенденцію до зниження частоти нормальних гомозигот 677-CC MTHFR + 786-TT eNOS і до зростання частоти асоційованих поліморфізмів (677-T MTHFR + 786-C eNOS). В той же час, частоти "чистих" носіїв алелей 677-T MTHFR та 786-C eNOS в групах хворих з хибними суглобами та осіб з консолідованими переломами були зіставними.

Аналіз біохімічних показників у хворих з ізольованими та комбінованими поліморфізмами гена MTHFR C677T та промотору гена eNOS T786C показав, що наявність алелю 677-T MTHFR достовірно асоціюється зі збільшенням вмісту ГЦ в сироватці крові, викликає тенденцію до зменшення вмісту ЛПВГ, але практично не відображається на рівні загального холестерину та інтерлейкіну-6 (табл. 2). Наявність алелю 786-C eNOS суттєво не впливала на рівні ГЦ, холестерину та інтерлейкіну-6 у хворих з хибними суглобами. Поряд з цим, поліморфізм 786-C eNOS потенціював гіпергомоцистеїнемічний, прозапальний та проатерогенний вплив поліморфізму 677-T MTHFR. Про це свідчать достовірно більш високі рівні ГЦ, інтерлейкіну-6, ЛПНГ та нижчий рівень ЛПВГ у носіїв обох патологічних алелей 677-T MTHFR + 786-C eNOS, ніж у нормальних гомозигот та носіїв одного з поліморфізмів.

Встановлено, що наявність патологічних алелей MTHFR 677-T і eNOS 786-C тісно асоціюється з пору-

**Таблиця 1.** Частота комбінування поліморфізму генів MTHFR C677T та eNOS T786C у осіб з консолідованими переломами та хибними суглобами довгих кісток.

Характеристика групи		Нормальні гомозиготи			
		Носії поліморфних алелей, n (%)			
		677-CC MTHFR + 786-TT eNOS	677-T MTHFR	786-C eNOS	677-T MTHFR + 786-C eNOS
1	Хворі з консолідованими переломами, n=48	8 (16,6%)	16 (33,3%)	17 (35,4%)	7 (14,6%)
2	Хворі з хибними суглобами, n=118	7 (5,9%)	41 (34,7%)	39 (33,1%)	31 (26,3%)
	$P_{1,2}$	0,1	>0,05	>0,05	0,1

**Таблиця 2.** Вміст гомоцистеїну, ліпідів та інтерлейкіну-6 в сироватці крові у хворих з хибними суглобами залежно від комбінування поліморфізмів MTHFR C677T та eNOS T786C (M±m).

Характеристика групи		ГЦ, мкмоль/л	Загальний холестерин, ммоль/л	Холестерин ЛПНГ, ммоль/л	Холестерин ЛПВГ, ммоль/л	Інтерлейкін-6, нг/л
1	677-CC MTHFR + 786-TT eNOS, n=7	11,0±1,18	5,40±0,24	3,51±0,22	1,14±0,05	7,63±1,30
Носії поліморфних алелей						
2	677-T MTHFR, n=41	14,7±0,31	5,38±0,15	3,58±0,16	1,06±0,03	7,69±0,34
	p <sub>2,1</sub>	<0,01	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
3	786-C eNOS, n=39	13,4±0,50	5,47±0,13	3,62±0,14	1,09±0,04	8,47±0,34
	p <sub>3,1</sub>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p <sub>3,2</sub>	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
4	677-T MTHFR + 786-C eNOS, n=31	16,0±0,41	5,78±0,17	4,08±0,17	0,93±0,03	10,0±0,38
	p <sub>4,1</sub>	<0,01	>0,05	<0,05	<0,01	>0,05
	p <sub>4,2</sub>	<0,05	>0,05	<0,05	<0,01	<0,05
	p <sub>4,3</sub>	<0,01	>0,05	<0,05	<0,01	<0,05

**Таблиця 3.** Стан ендотеліальної функції у хворих з хибними суглобами довгих кісток залежно від комбінування поліморфізму генів MTHFR C677T та eNOS T786C (M±m).

Характеристика групи	Товщина ІМ судин, мм		ЕЗВД ПА на 90 сек.	
	ЗСА	Стегнова		
1	677-CC MTHFR + 786-TT eNOS, n=7	0,757±0,053	0,714±0,035	8,49±0,69
Носії поліморфних алелей				
2	677-T MTHFR, n=41	0,839±0,028	0,883±0,031	8,22±0,44
	p <sub>2,1</sub>	>0,05	<0,05	>0,05
3	786-C eNOS, n=39	0,926±0,026	0,953±0,026	8,26±0,34
	p <sub>3,1</sub>	<0,05	<0,05	>0,05
	p <sub>3,2</sub>	<0,05	>0,05	>0,05
4	677-T MTHFR + 786-C eNOS, n=31	1,03±0,03	1,06±0,03	6,69±0,44
	p <sub>4,1</sub>	<0,001	<0,001	<0,05
	p <sub>4,2</sub>	<0,01	<0,01	<0,05
	p <sub>4,3</sub>	<0,05	<0,05	<0,05

шенням структурно-функціонального стану судин. При цьому, виразність ендотеліальної дисфункції у носіїв алелю 677-T MTHFR була меншою, ніж у носіїв алелю 786-C eNOS (табл. 3).

Про це свідчить наявність достовірно більш високих показників ТІМ судин у носіїв алелю 786-C NOS на 20-30%, ніж у нормальних гомозигот (677-CC MTHFR + 786-TT eNOS) і на 10%, ніж у носіїв алелю 677-T MTHFR. При асоціації поліморфізмів 677-T MTHFR + 786-C eNOS їх небажаний вплив на структурно-функціональний стан судин істотно потенціювався, що підтверджується найвищими показниками ТІМ судин та найнижчими значеннями ЕЗВД ПА в цій групі хворих з хибними суглобами.

Таким чином, результати досліджень свідчать про

патогенетичну роль поліморфізму гена ферменту обміну ГЦ - метилентетрагідрофолатредуктази C677T та промотору гена ендотеліальної синтази оксиду азоту T786C в процесах репаративного остеогенезу. Одним із патогенетичних шляхів впливу мутацій MTHFR C677T та eNOS T786C на структурно-функціональний стан кісток є акселерація формування несприятливого патерна: ГЦ, запального синдрому, атерогенної дисліпідемії, ендотеліальної дисфункції та ремоделювання судин.

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. У хворих з хибними суглобами довгих кісток відмічається тенденція до зниження частоти нормальних гомозигот 677-CC MTHFR + 786-TT eNOS та зростання частоти асоційованих поліморфізмів (677-T MTHFR + 786-C eNOS). При цьому, частки "чистих" носіїв алелей 677-T MTHFR та 786-C eNOS в групах хворих з хибними суглобами та осіб з консолідованими переломами були зіставними.

2. Наявність алелю 677-T MTHFR достовірно асоціюється зі збільшенням вмісту ГЦ в сироватці крові, викликає тенденцію до зменшення вмісту ЛПВГ, але практично не відображається на рівні загального холестерину та інтерлейкіну-6.

3. Мутація 786-C eNOS потенціє гіпергомоцистеїнемічний, прозапальний та проатерогенний вплив поліморфізму 677-T MTHFR і асоціюється зі збільшенням частки осіб з високими рівнями ГЦ, інтерлейкіну-6, ЛПНГ та структурно-функціональними змінами центральних та периферичних судин.

Перспективи подальших досліджень направлені на розробку та впровадження патогенетично обґрунтованих методів профілактики та лікування порушень репаративної регенерації довгих кісток при гіпергомоцистеїнемії та асоційованих станах.

**Список літератури**

- Андрушко І.І. Гіпергомоцистеїнемія як фактор патогенезу атеросклерозу та ішемічної хвороби серця; механізми її проатерогенної дії: автореф. дис. на здобуття наук. ступ. докт. мед. наук: спец. 14.01.11 "Кардіологія" / І.І.Андрушко. - Київ, 2012. - 34 с.
- Андрушко І.І. Рівні С-реактивного білка та інтерлейкіну-6 у здорових осіб та у хворих на ішемічну хворобу серця /І.І.Андрушко //Буковинський медичний вісник. - 2008. - Т.12, №3. - С. 12-17.
- Безсмертний Ю.О. Ендотеліальна секреція вазоактивних молекул у різні періоди репаративного остеогенезу при гіпергомоцистеїнемії /Ю.О.Безсмертний /Буковинський медичний вісник. - 2012. - Т.16, №2 (62). - С. 3-6.
- Cysteine, homocysteine and bone mineral density: a role for body composition? / A.K.Elshorbagy, C.G.Gjesdal, E.Nurk [et al.] //Bone. - 2009. - №5. - P. 954-8.
- Hydrogen sulfide protects MC3T3-E1 osteoblastic cells against H(2)O(2)-induced oxidative damage-implications for the treatment of osteoporosis //Free Radic Biol Med. - 2011. - Vol.50, №10. - P. 1314-1323.
- Hyperhomocysteinemia induces a tissue specific accumulation of homocysteine in bone by collagen binding and adversely affects bone /M.Herrmann, A.Tami, B.Wildemann [et al.] //Bone. - 2009. - Vol.44, №3. - P.467-475.
- Ocarino N.M. Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells from osteopenic rats subjected to physical activity with and without nitric oxide synthase inhibition / N.M.Ocarino, J.N.Boeloni, A.M.Goes //Nitric. Oxide. - 2008. - Vol.19, №4. - P. 320-325.
- Shiraki M. The synergistic effect of bone mineral density and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism (C677T) on fractures / M.Shiraki, T.Urano, T.Kuroda //J. Bone Miner. Metab. - 2008. - Vol.26, №6. - P. 595-602.
- The effects of homocysteine and MTHFR genotype on hip bone loss and fracture risk in elderly women /K.Zhu, J.Beilby, I.M.Dick [et al] //Osteoporos Int. - 2009. - Vol.20, №7. - P. 1183-1191.
- The effects of shockwave on bone healing and systemic concentrations of nitric oxide (NO), TGF-beta1, VEGF and BMP-2 in long bone non-unions /C.J.Wang, K.D.Yang, J.Y.Ko [et al.] //Nitric Oxide. - 2009. - Vol.20. - P. 298-303.
- Yilmaz N. Homocysteine oxidative stress and relation to bone mineral density in post-menopausal osteoporosis / N.Yilmaz, E.Eren //Aging Clin. Exp. Res. - 2009. - Vol.21. - P. 353-7.

**Безсмертний Ю. А.**

**КОМБИНИРОВАНИЕ МУТАЦИЙ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ ОБМЕНА ГОМОЦИСТЕИНА МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРОФОЛАТРЕДУКТАЗЫ С677Т И СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА Т786С У БОЛЬНЫХ С ЛОЖНЫМИ СУСТАВАМИ ДЛИННЫХ КОСТЕЙ**

**Резюме.** В статье представлены сравнительные результаты распространенности мутации генов ферментов метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR C677T и синтазы оксида азота eNOS T786C у 118 больных с ложными суставами длинных костей и у лиц с консолидированными переломами. Установлено, что одним из патогенетических механизмов влияния мутации MTHFR C677T и eNOS T786C на структурно-функциональное состояние костной ткани, нарушение репаративного остеогенеза есть акселерация неблагоприятного паттерна в виде гипергомоцистеинемии, воспалительного синдрома, атерогенной дислипидемии, эндотелиальной дисфункции и ремоделирования сосудов.

**Ключевые слова:** мутация, метилентетрагидрофолатредуктаза C677T, синтаза оксида азота T786C, ложный сустав, гипергомоцистеинемия.

**Bezsmertniy I.A.**

**COMBINATION GENE MUTATION ENZYMES OF HOMOCYSTEINE METHYLENTETRAHYDROFOLATEREDUCTASE C677T AND NITRIC OXIDE SYNTHASE T786S IN PATIENTS WITH PSEUDARTHROSIS OF LONG BONES**

**Summary.** In the article the research of the comparative results of the gene mutation of enzymes methylenetetrahydrofolatreductase MTHFR C677T and nitric oxide synthase eNOS T786C of the 118 patients with pseudarthrosis of long bones and in those with consolidated fractures were described. There was established that the pathogenetic mechanisms of the effect of mutation MTHFR C677T and eNOS T786C on the structural and functional state of bone tissue, impaired reparative osteogenesis acceleration is negative pattern in the form of hyperhomocysteinemia, inflammation syndrome, atherogenic dyslipidemia, endothelial dysfunction and vascular remodeling.

**Key words:** mutation, methylenetetrahydrofolatreductase C677T, nitric oxide synthase T786C, pseudoarthrosis, hyperhomocysteinemia.

Стаття надійшла до редакції 12.11.2012р.

© Мороз Л.В., Кириченко Д.Ф., Андросова О.С.

УДК: 611-018.5:616.36:616-022.36

**Мороз Л.В., Кириченко Д.Ф., Андросова О.С.**

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра інфекційних хвороб (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

**ЗМІНИ ВМІСТУ ПОКАЗНИКІВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ХВОРИХ З ВІЛ-ІНФЕКЦІЄЮ НА ТЛІ ВИСОКОАКТИВНОЇ АНТИРЕТРОВІРУСНОЇ ТЕРАПІЇ**

**Резюме.** У роботі вивчено частоту та глибину враження печінки у хворих з синдромом набутого імунodefіциту людини в залежності від віку, статі, тривалості захворювання, впливу ВААРТ. Виявлено, що у хворих на ВІЛ-інфекцію з ІІІ ступенем гепатотоксичності під впливом ВААРТ в більшій мірі виснажується система антиоксидантного захисту. Більш суттєве зниження показників системи антиоксидантного захисту реєструється на тлі прийому схем ВААРТ, що містять невірапін.