

# Оригінальні дослідження

УДК 575.224.22:612.398.192:616.71-001.59

*Ю.О. Безсмертний*

## ГЕНЕТИЧНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ МЕТИЛЕНТЕТРАГІДРОФОЛАТ-РЕДУКТАЗИ C677T У ХВОРИХ ІЗ ХИБНИМИ СУГЛОБАМИ ДОВГИХ КІСТОК: ЗВ'ЯЗОК ІЗ ЛІПІДНИМ ПРОФІЛЕМ ТА ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЮ ФУНКЦІЄЮ

НДІ реабілітації інвалідів Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова

**Резюме.** Досліджено поширеність генетичного поліморфізму метилентетрагідрофолатредуктази C677T (MTHFR C677T) у 130 хворих із хибними суглобами довгих кісток. Встановлено, що в осіб із розладами репаративного остеогенезу частота виявлення дефекту гена MTHFR C677T в 1,4 раза вище ніж серед осіб із консолидованими переломами. Патологічний генотип гена MTHFR C677-TT асоціювався зі збільшенням

частки осіб із гіпо- та апластичним типами хибних суглобів, дисліпідемією та ендотеліальною дисфункцією центральних та периферичних судин.

**Ключові слова:** генетичний поліморфізм, метилентетрагідрофолатредуктаза, хибний суглоб, дисліпідемія, ендотеліальна дисфункція.

**Вступ.** Порушення обміну сірковмісних амінокислот – гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) є незалежним фактором розвитку серцево-судинних захворювань, неврологічних розладів, ниркової недостатності тощо [4]. В останні роки широко обговорюється роль ГГЦ як одного з провідних та незалежних чинників, які порушують метаболізм кісткової тканини [1, 7]. Згідно з даними [6, 9], підвищений рівень гомотеїну стимулює остеокластогенез, зумовлює розвиток остеопорозу та підвищує ризик остеопоротичних переломів. У проведених експериментальних та клінічних дослідженнях з'ясовано [1, 7, 11], що ГГЦ є одним із вагомих об'єктивних чинників порушень репаративного остеогенезу. За умов ГГЦ посилювались процеси резорбції кісткової тканини, сповільнювалось утворення кісткової мозолі, пригінчувалися колагеноутворення та зрощення переломів.

До найбільш поширених генетично-детермінованих причин ГГЦ належить поліморфізм гена метилентетрагідрофолатредуктази C677T (MTHFR C677T), частота якого в Україні є високою і сягає в цілому 40-42 % [3]. Проведені дослідження в європейських країнах продемонстрували можливість зв'язку генетичного поліморфізму за MTHFR C677T з підвищеним ризиком переломів у жінок літнього віку [8, 10]. Поряд із цим, поширеність поліморфізму за MTHFR C677T в українській популяції хворих із порушеннями регенерації кісткової тканини залишається нез'ясованою.

**Мета дослідження.** Вивчити генетичний поліморфізм метилентетрагідрофолатредуктази C677T у осіб із консолидованими переломами та хибними суглобами довгих кісток, оцінити його зв'язок із клінічно-рентгенологічними типами хибних суглобів, ліпідним профілем та ендотеліальною функцією.

**Матеріал і методи.** Обстежено 130 хворих із хибними суглобами кісток стегна та гомілки на рівні діафіза, які не мали встановлених об'єктивних та ятрогенних чинників порушень репаративного остеогенезу. Середній вік становив  $39,34 \pm 11,01$  року. Осіб чоловічої статі було – 101 (77,69 %), жіночої – 29 (22,31 %). Тривалість захворювання від 11 до 126 місяців. За клінічно-рентгенологічною характеристикою хибного суглоба нормопластичний тип діагностовано у 24 (18,46 %), гіперпластичний – у 21 (16,15 %), гіпопластичний – у 42 (32,31 %), атрофічний – у 43 (33,08 %) пацієнтів. До групи контролю увійшли 48 осіб із консолидованими діафізарними переломами на рівні стегна і гомілки. Група осіб із консолидованими переломами була репрезентативна групі пацієнтів із хибними суглобами за віком, статтю, локалізацією ушкодження, частотою супутньої патології.

Вміст загального холестерину, холестерину ліпопротеїнів високої густини (ЛПВГ) та тригліцеридів у сироватці крові визначали уніфікованими методами з використанням вітчизняних стандартних наборів «Холестерин-Ф», «Тригліцериди» (Філісит-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) [4]. При ранжируванні рівнів ліпідів у сироватці крові користувалися 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.

Інструментальні дослідження включали вимірювання товщини комплексу інтима-медіа (ТІМ) плечових, стегнових та загальних сонних артерій (ЗСА) у мм та визначення судинорухливої функції плечових артерій проводили на апараті "Sonoline 6000 C" (Medisson, Південна Корея) за допомогою методу дуплексного ультразвукового сканування з лінійним датчиком 7 МГц. Оцінювали ендотеліязалежну вазодилатацію плечової артерії (ЕЗВД ПА) на тлі проби з декомпресією за стандартною методикою D. Selertmaier [5].

Для генетичного дослідження відбирали проби цільної крові, стабілізованої цитратом натрію, які до тестування зберігали при  $-20^{\circ}\text{C}$ . Генотипування проводилося методом полімеразноланцюгової реакції (ПЛР) з подальшим рестрикційним аналізом продуктів ПЛР та визначенням поліморфізму гена MTHFR C677T.

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

#### Результати дослідження та їх обговорення.

Дослідження поліморфізму гена MTHFR C677T показало, що серед осіб із консолюдованими переломами співвідношення нормальних гомозигот (677-CC), гетерозигот (677-CT) та гомозигот з патологічним генотипом 677-TT становило 52,1, 39,6 та 8,3 % відповідно (табл. 1).

Розподіл частот генотипів CC / CT / TT у групі осіб із консолюдованими переломами відповідав рівновазі Харді-Вайнберга і узгоджувався з даними щодо поширеності поліморфізму гена MTHFR C677T серед практично здорових осіб –

мешканців Подільського регіону [3] та Східної України [2]. Розподіл частот зустрічальності вказаних генотипів у групі хворих із хибними суглобами також підлягав закону Харді-Вайнберга, однак відрізнявся від такого в групі порівняння. Серед осіб із хибними суглобами спостерігалася тенденція до зменшення частки нормальних гомозигот 677-CC, натомість зростала частка гетерозигот 677-CT та гомозигот 677-TT. Відповідно частота зустрічальності Т-алеля серед хворих із хибними суглобами була вищою, ніж серед осіб із консолюдованими переломами, і становила 38,5 % проти 28,1 %.

Типологічний аналіз показав, що серед пацієнтів із нормопластичним типом поширеність Т-алеля MTHFR та співвідношення генотипів CC / CT / TT практично відповідала такій у групі осіб із консолюдованими переломами (50,0, 41,7 та 8,3 %). Розподіл частоти зустрічальності генотипів у групі пацієнтів із гіперпластичним типом наближався до такого при нормопластичному типі. Водночас серед осіб із гіпопластичним та атрофічним типом частка нормальних гомозигот 677-CC була меншою, ніж серед осіб із нормопластичним типом, натомість частіше виявлялися гетерозиготи 677-CT і більш ніж удвічі зростала частка патологічних гомозигот 677-TT. Частота Т-алеля при авітальних типах хибних суглобів сягала 40-45 % порівняно з 29-31 % при вітальних типах.

Аналіз показників ліпідного обміну залежно від поліморфізму MTHFR C677T показав, що носійство Т-алеля асоціювалося з достовірним зниженням вмісту ЛПВГ (табл. 2).

Зокрема, у гетерозигот CT і гомозигот TT середній вміст холестерину ЛПВГ був достовірно

Таблиця 1

#### Частота генотипів MTHFR C677T у осіб із консолюдованими переломами та у хворих із хибними суглобами довгих кісток

Характеристика групи		Частота генотипів MTHFR C677T, n (%)			Частота Т-алеля, %
		677-CC	677-CT	677-TT	
1	Консолюдовані переломи, n=48	25 52,1%	19 39,6%	4 8,3%	28,1
2	Хворі з хибними суглобами, n=130	52 40,0%	56 43,1%	22 16,9%	38,5
	$p_{1,2}$	>0,05	>0,05	0,1	>0,05
У тому числі залежно від клінічно-рентгенологічного типу хибного суглоба					
3	Нормопластичний тип, n=24	12 50,0%	10 41,7%	2 8,3%	29,2
4	Гіперпластичний тип, n=21	10 47,6%	9 42,9%	2 9,5%	31,0
	$p_{3,4}$	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
5	Гіпопластичний тип, n=42	16 38,1%	18 42,9%	8 19,0%	40,5
	$p_{3,5}$	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
6	Атрофічний тип, n=43	14 32,6%	19 44,2%	10 23,3%	45,3
	$p_{3,6}$	>0,05	>0,05	0,1	>0,05

Таблиця 2

Вміст ліпідів у сироватці крові у хворих із хибними суглобами довгих кісток залежно від генотипу MTHFR C677T (M±m)

Генотип MTHFR C677T		Вміст ліпідів у сироватці крові, ммоль/л			
		Загальний холестерин	Холестерин ЛПНГ	Холестерин ЛПВГ	Тригліцериди
1	Гомозиготи 677-CC, n=52	5,22±0,12	3,66±0,12	1,10±0,03	1,69±0,08
2	Гетерозиготи 677-CT, n=56	5,63±0,14	3,86±0,14	1,01±0,03	1,70±0,09
	p <sub>1,2</sub>	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05
3	Гомозиготи 677-TT, n=22	5,46±0,17	3,69±0,19	0,98±0,04	1,72±0,12
	p <sub>3,1</sub>	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05
	p <sub>3,2</sub>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Таблиця 3

Частота виявлення аберантних рівнів ліпідів у сироватці крові у хворих із хибними суглобами залежно від генотипу MTHFR C677T, n (%)

Генотип MTHFR C677T		Частота виявлення аберантних рівнів ліпідів, n (%)			
		Загальний холестерин	Холестерин ЛПНГ	Холестерин ЛПВГ	Тригліцериди
		> 5,0 ммоль/л	> 3,0 ммоль/л	< 1,0 ммоль/л	>1,7 ммоль/л
1	Гомозиготи 677-CC, n=52	35 67,3 %	34 65,3 %	19 36,5 %	19 36,5 %
2	Гетерозиготи 677-CT CT, n=56	34 60,7 %	33 58,9 %	25 44,6 %	21 37,5 %
	p <sub>1,2</sub>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
3	Гомозиготи 677-TT, n=22	14 63,6 %	15 68,2 %	10 45,5 %	9 40,9 %
	p <sub>3,1</sub>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p <sub>3,2</sub>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Таблиця 4

Стан ендотеліальної функції у хворих із хибними суглобами довгих кісток залежно від генотипу MTHFR C677T (M±m)

Генотип MTHFR C677T		Товщина ІМ судин, мм			ЕЗВД ПА на 90 с
		Загальна сонна артерія	Плечова	Стегнова	
1	Гомозиготи 677-CC, n=52	0,883±0,023	0,392±0,012	0,904±0,024	8,48±0,39
2	Гетерозиготи 677-CT, n=56	0,877±0,026	0,388±0,011	0,918±0,028	7,80±0,38
	p <sub>1,2</sub>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
3	Гомозиготи 677-TT, n=22	1,01±0,030	0,450±0,014	1,03±0,003	6,84±0,56
	p <sub>3,1</sub>	<0,01	<0,01	<0,01	<0,05
	p <sub>3,2</sub>	<0,01	<0,01	<0,05	>0,05

нижчим на 8,9 та 12,2 %, ніж у нормальних гомозигот CC. Водночас, суттєвих відмінностей за рівнем загального холестерину, ЛПНГ та тригліцеридів у носіїв поліморфних алелів не виявлялось.

Результати ранжирування рівнів ліпідів у сироватці крові пацієнтів із хибними суглобами підтвердили, що серед гомо- та гетерозиготних носіїв T-алеля спостерігається недостовірне зрос-

тання частки осіб із низьким рівнем холестерину ЛПВГ (табл. 3).

Частки осіб з аберантними рівнями загального холестерину, холестерину ЛПНГ та тригліцеридів серед носіїв поліморфних генів MTHFR C677T суттєво не відрізнялись.

Аналіз стану ендотеліальної функції у пацієнтів із хибними суглобами залежно від генотипу

MTHFR C677T показав, що гомозиготне носійство Т-алеля асоціювалося з погіршенням структурно-функціонального стану центральних та периферичних судин (табл. 4).

Наприклад, ТІМ загальної сонної, плечової та стегнової артерії гомозигот ТТ були достовірно вищими на 14,4, 14,7 та 13,9 %, ніж у нормальних гомозигот СС, та на 15,1, 15,9 та 12,2 %, ніж у гетерозигот СТ. У гомозигот ТТ показник ЕЗВД ПА на 90 с після гіперемії виявився достовірно нижчим (на 24,0 %), ніж у гомозигот СС.

Таким чином, за поширеністю поліморфізму гена MTHFR C677T пацієнти з хибними суглобами відрізняються від осіб із консолидованими переломами: спостерігається суттєве зростання частоти зустрічальності Т-алеля, зростає частка патологічних гомозигот ТТ і зменшується частка нормальних гомозигот СС.

### Висновки

1. Порушення репаративної регенерації довгих кісток асоціюється з поліморфізмом гена MTHFR C677T та збільшенням частки осіб із патологічним генотипом ТТ. Гомозиготи ТТ накопичуються переважно в групах хворих із гіпопластичним та атрофічним типом хибних суглобів, у той час як частотний розподіл генотипів серед осіб із нормопластичним типом наближається до такого в пацієнтів із консолидованими переломами.

2. В осіб із розладами репаративного остеогенезу гомозиготне носійство Т-алеля асоціювалося з достовірним зниженням вмісту ліпопротеїнів високої густини в сироватці крові та погіршенням структурно-функціонального стану центральних та периферичних судин.

**Перспективи подальших досліджень** направлені на розробку та впровадження патогенетично обґрунтованих методів профілактики та лікування порушень репаративної регенерації довгих кісток у осіб із ГТЦ.

### Література

1. Безсмертний Ю.О. Вплив гіпергомоцистеїнії на стан стегнових артерій у різні терміни репаративного остеогенезу: можливості корекції декамевітом та глутаргіном / Ю.О. Безсмертний, Н.В. Заїчко // Клін. та експерим. патол. – 2011. – Т. X, № 3 (37). – С. 55-61.
2. Гречанина Е.Я. Сравнительная характеристика частот алелей C677T MTHFR, A66C MTRR генов системы фолатного цикла и ВПР ЦНС / Е.Я. Гречанина, В.А. Гусар, Ю.Б. Гречанина //

Ультразвук. перинат. діагност. – 2009. – № 27-28. – С. 4-12.

3. Заїчко Н. В. Поширеність мутацій по фактору V Лейден, протромбіну G20210A та метилентетрагідрофолатредуктази C677T у здорових осіб та у пацієнтів з венозними тромбозами Подільського регіону / Н.В. Заїчко: Зб. наук. праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика». Випуск 17, кн.3. – К., 2008. – С. 169-177.
4. Коваленко В.М. Асоціація гіпергомоцистеїнії з метаболічними факторами ризику у хворих на ішемічну хворобу серця / В.М. Коваленко, І.І. Андрушко, Т.В. Талаєва // Укр. кардіол. ж. – 2011. – № 6. – С. 66-70.
5. Celermajer D. Noninvasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis / D. Celermajer, K. Sorensen // Lancet. – 1992. – Vol. 340. – P. 1111-1115.
6. Hydrogen sulfide protects MC3T3-E1 osteoblastic cells against H(2)O(2)-induced oxidative damage-implications for the treatment of osteoporosis / Z.S. Xu, X.Y. Wang, D.M. Xiao [et al.] // Free Radic Biol Med. – 2011. – Vol. 50, № 10. – P. 1314-1323.
7. 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.
8. 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.
9. The role of hyperhomocysteinemia as well as folate, vitamin B(6) and B(12) deficiencies in osteoporosis: a systematic review / M. Herrmann, J. Peter Schmidt, N. Umanskaya [et al.] // Clin. Chem. Lab. Med. – 2007. – Vol. 45, № 12. – P. 1621-1632.
10. 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.
11. Vitamin B(12) deficiency stimulates osteoclastogenesis via increased homocysteine and methylmalonic acid / B.L. Vaes, C. Lute, H.J. Blom [et al.] // Calcif. Tissue Int. – 2009. – Vol. 84, № 5. – P. 413-422.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРОФОЛАТРЕДУКТАЗЫ C677T У БОЛЬНЫХ С ЛОЖНЫМИ СУСТАВАМИ ДЛИННЫХ КОСТЕЙ: ВЗАИМОСВЯЗЬ С ЛИПИДНЫМ ПРОФИЛЕМ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ФУНКЦИЕЙ

Ю.А. Бессмертный

**Резюме.** Исследована распространенность генетического полиморфизма метилентетрагидрофолатредуктазы C677T (MTHFR C677T) у 130 больных с ложными суставами длинных костей. Установлено, что у больных с нарушением репаративного остеогенеза частота выявления дефекта гена MTHFR C677T в 1,4 раза выше нежели среди

лиц с консолидированными переломами. Патологический генотип гена MTHFR C677T ассоциировался с увеличением доли лиц с гипо- и апластическим типами ложных суставов, дислипидемией и эндотелиальной дисфункцией центральных и периферических сосудов.

**Ключевые слова:** генетический полиморфизм, метилентетрагидрофолатредуктаза, ложный сустав, дислипидемия, эндотелиальная дисфункция.

## GENETIC POLYMORPHISM OF METHYLENETETRAHYDROFOLATE-REDUCTASE C677T IN PATIENTS WITH PSEUDARTHROSIS OF THE LONG BONES: RELATIONSHIP WITH THE LIPID PROFILE AND ENDOTHELIAL FUNCTION

*Yu. O. Bezsmertnyi*

**Abstract.** The prevalence of genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase C677T (MTHFR C677T) in 130 patients with pseudoarthrosis of the long bones has been investigated. It has been established that the rate of detecting a defect of the MTHFR C677T gene is 1.4 times higher in patients with impairments of reparative osteogenesis than in patients with consolidated fractures. An abnormal genotype of the MTHFR C677-CT gene was associated with an increase in the share of persons with hypo- and aplastic types of false joints, dyslipidemia and endothelial dysfunction of the central and peripheral vessels.

**Key words:** genetic polymorphism, methylenetetrahydrofolate reductase, pseudoarthrosis, dyslipidemia, endothelial dysfunction.

Scientific Research Institute of Invalid Rehabilitation of National Pyrohov Memorial Medical University (Vinnytsia)

Рецензент – проф. Ю.Є. Роговий

Buk. Med. Herald. – 2013. – Vol. 17, № 1 (65). – P. 11-15

Надійшла до редакції 21.01.2013 року

© Ю.О. Безсмертний, 2013

УДК 616.153-022.6

*М.Ю. Бессараб*

## КОНЦЕНТРАЦІЯ ІНТЕРФЕРОНУ-АЛЬФА, ІМУНОГЛОБУЛІНІВ ОСНОВНИХ КЛАСІВ ТА КІЛЬКІСТЬ ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИН ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ХВОРИХ НА РЕСПІРАТОРНО-СИНЦИТІАЛЬНУ ВІРУСНУ ІНФЕКЦІЮ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

**Резюме.** За допомогою імуноферментного аналізу показано, що у хворих на респіраторно-синцитіальну вірусну інфекцію формується дисбаланс кількості імунокомпетентних клітин, суттєво знижується малоспецифічний IgM і зростає концентрація IgG та IgA, що призводить до зниження неспецифічного протиінфекційного захисту, на тлі якого розвивається захворюван-

ня. Тому при лікуванні таких осіб необхідно провести замісну терапію інтерфероном- $\alpha$  (ІФН- $\alpha$ ), концентрація якого суттєво знижена.

**Ключові слова:** респіраторно-синцитіальна вірусна інфекція, ІФН- $\alpha$ , IgM, IgG, IgA.

**Вступ.** Респіраторно-синцитіальна вірусна (РС-вірусна) інфекція дуже поширена серед усіх вірусних інфекцій дихальних шляхів [1]. Вкрай несприятливого перебігу РС-вірусна інфекція може набувати на тлі імунодефіцитних станів. Від функціонального стану імунної системи залежить тривалість РС-вірусної інфекції, тяжкість перебігу, розвиток ускладнень [7]. Небезпека захворювання ускладнюється тим, що вірус здатний пригнічувати імунні реакції організму і тим самим посилювати тяжкість наявних хронічних захворювань, викликаючи їх декомпенсацію [6, 8, 9]. Точні знання структури гострих респіраторних вірусних інфекцій (ГРВІ) в окремих вогнищах є однією з важливих умов успішної розробки

нових методів лікування та профілактики ГРВІ. Від функціонального стану імунної системи залежить тривалість хвороби, тяжкість перебігу та розвиток ускладнень [5, 10].

**Мета дослідження.** Дослідити концентрацію інтерферону- $\alpha$ , імуноглобулінів основних класів та кількість імунокомпетентних клітин периферичної крові у хворих на РС-вірусну інфекцію.

**Матеріал і методи.** Обстежено і проліковано 40 хворих на РС-вірусну інфекцію, які перебували на стаціонарному лікуванні впродовж 2008-2011 рр. в інфекційному відділенні базового військового госпіталю м. Чернівці. Усі пацієнти чоловічої статі, віком від 19 до 24 років. При встановленні діагнозу брали до уваги клінічно-

© М.Ю. Бессараб, 2013