

ВИВЧЕННЯ G⁻⁷→A ПОЛІМОРФІЗМУ МАТРИКСНОГО GLA –ПРОТЕЇНУ У ХВОРИХ З ГОСТРИМ КОРОНАРНИМ СИНДРОМОМ

Дубовик Є.І., студ. 4-го курсу

Науковий керівник – доц. В.Ю. Гарбузова

СумДУ, кафедра фізіології і патофізіології з курсом медичної біології

Серцево-судинні захворювання протягом останніх десятиріч є провідною причиною інвалідизації та смертності серед працездатної частини населення індустріально розвинутих країн. У зв'язку з чим, особливо гостро сьогодні постає проблема виявлення осіб з підвищеним кардіо-васкулярним ризиком, вирішення якої пов'язане з вивченням генетичних маркерів патологій серця і судин. Матричний Gla-протеїн (MGP) є одним із антикальциногенних білків, який суттєво пригнічує кальцифікацію судинної стінки. Алейний поліморфізм промоторної ділянки його гена (G⁻⁷→A) може впливати на рівень експресії цього білка.

Метою роботи було вивчення частоти алейних варіантів гена матричного Gla-протеїну (G⁻⁷→A поліморфізм) у хворих з гострим коронарним синдромом (ГКС) та практично здорових індивідумів в українській популяції.

Дослідження проведено із використанням венозної крові 115 хворих з ГКС і 110 практично здорових донорів. Контрольна група і група хворих не відрізнялися за віком і співвідношенням осіб різної статі ($P > 0,05$ за χ^2 -критерієм). Методом полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів визначали G⁻⁷→A поліморфізм промотора (rs1800801). Для ампліфікації брали 50-100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буферу, 1,5 мМ сульфату магнію, 200 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 20 рМ кожного зі специфічних праймерів і 0,75 ОД Taq-полімерази ("Ферментас", Литва), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Ампліфікація фрагмента, що містив стартову ділянку, складалася з 33 циклів: денатурація – 94°C (50с), гібридизація праймерів – 64,5°C (45 с) і елонгація – 72°C (1 хв). Для рестрикційного аналізу 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37°C протягом 18 годин з 2 ОД рестриктази NcoI у буфері Tango. Якщо в -7 позиції гена MGP містився гуанін, ампліфікат, який складався з 500 пар основ, розщеплювався рестриктазою NcoI на два фрагменти – 240 і 260 пар основ. У разі заміни гуаніну на аденін сайт рестрикції для NcoI втрачався і візуалізувався один фрагмент завдовжки 500 пар основ. Після рестрикції ампліфікати розділяли в 2,5% агарозному гелі, що містив бромистий етидій. Горизонтальний електрофорез (0,1А; 140V) проводили протягом 40 хв. Візуалізацію ДНК після електрофорезу здійснювали за допомогою транслюмінатора ("Біоком", Росія). Одержані результати опрацьовували статистично з використанням програми Excel 2000. При цьому достовірність відмінностей визначали за χ^2 -критерієм. Значення $P < 0,05$ вважали достовірним.

Встановлено, що співвідношення нормальних гомозигот, гетерозигот і гомозигот із мінорним алелем при аналізі G⁻⁷→A поліморфізму складало у хворих з ГКС - 42,1%, 45,6%, 12,3%, а в контролній групі – 41,8%, 54,5%, 3,6% ($P < 0,05$ за χ^2 -критерієм). У хворих з ГКС гомозиготи із мінорним алелем виявляли в 3,4 раза частіше, ніж у донорів. Таким чином, A/A-варіант промотора гена MGP (G⁻⁷→A поліморфізм) асоційований зі збільшенням ризику розвитку гострого коронарного синдрому в українській популяції.