

ЧАСТОТА АЛЕЛЬНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНА ENPP1 ЗА K121Q ПОЛІМОРФІЗМОМ У ХВОРИХ З ГОСТРИМ КОРОНАРНИМ СИНДРОМОМ

Прасол Д. А., студ.

науковий керівник – доц. Гарбузова В.Ю.

СумДУ, кафедра фізіології і патофізіології з курсом медичної біології

СумДУ, кафедра фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Екзонуклеотид пірофосфатаза фосфодіестераза 1 (ENPP1) – фермент, що володіє широкою специфічністю щодо розщеплення різноманітних субстратів, в тому числі й фосфодіестерних зв'язків нуклеотидів. Дефекти ENPP1 є причиною ідіопатичної артеріальної кальцифікації, порушення толерантності до глюкози та розвитку цукрового діабету II типу, виникнення рахіту і ожиріння. Ген ENPP1 локалізований у 6 хромосомі. Для нього описано понад 1700 поліморфізмів. Найбільш вивченим з них, з огляду на можливий вплив на розвиток серцево-судинних захворювань, є поліморфізм четвертого екзону K121Q (rs1044498). Проте дослідження з вивчення зазначеного SNP проводились лише в іноземних популяціях і стосувались його асоціації з артеріальною гіпертензією та розвитком атеросклерозу у хворих на цукровий діабет 2-го типу. Роботи стосовно вивчення зв'язку K121Q поліморфізму гена ENPP1 з гострим коронарним синдромом (ГКС) відсутні як у вітчизняній популяції так і за кордоном. Тому, метою нашого дослідження стало вивчення частоти алельних варіантів гена ENPP1 за поліморфізмом четвертого екзону (K121Q) у хворих з гострим коронарним синдромом.

У дослідженні була використана венозна кров 83 хворих із ГКС. Кров набирали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,7 мл з додаванням калієвої солі етилендіамінтетраоцтової кислоти (11,7 мМ) в якості антикоагулянта ("Sarstedt", Німеччина). ДНК виділяли з цільної крові з використанням наборів D1Atom DNA Prep 200 («Isogene», Росія). Поліморфізм четвертого екзону гена ENPP1 визначали методом полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів. Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буфера, 1,5 мМ сульфату магнію, 250 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 10 рМ кожного з праймерів і 1,0 ОД Taq-полімерази, об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Використовували пару специфічних праймерів: прямий (sense) – 5' CTGTGTTCACTTTGGACATGTTG 3' і зворотний (antisense) – 5' GACGCTGGAAGATACCAGGCTG 3'.

Програма ампліфікації була наступною: денатурація – 94 °С (50 с), гібридизація праймерів – 64,5 °С (30 с), елонгація – 72 °С (1 хв), разом 30 циклів. У подальшому 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37 °С упродовж 20 годин із додаванням 3 ОД рестриктази Eco471 (AvaII) у буфері R такого складу: 10 мМ трис-НСl (рН 8,5), 10 мМ хлориду магнію 100 мМ хлориду калію і 0,1 мг/мл альбуміну. Наявність у 43213-й позиції гена ENPP1 аденіну перешкоджала рестрикції, а при заміні аденіну на цитозин рестриктаза розщеплювала ампліфіковану ділянку 4-го екзону (довжина – 238 пари азотистих основ) на два фрагменти: 148 і 90 пар основ. Горизонтальний електрофорез (0,1 А; 200 V) проводили впродовж 35 хв. Статистичний аналіз проводили з використанням програми SPSS-17. При цьому достовірність відмінностей визначали за χ^2 -критерієм. Величини $P < 0,05$ вважали статистично значимими.

Генотипування хворих з ГКС та за K121Q поліморфізмом гена ENPP1 дало змогу встановити частоту, з якою зустрічаються окремі варіанти цього гена. Так, встановлено, що співвідношення гомозигот за К-алелем (К/К), гетерозигот (К/Q) і гомозигот за Q-алелем (Q/Q) складає 67,5%, 32,5% і 0%. Отриманий розподіл генотипів цілком відповідає розподілу, що був отриманий іншими дослідниками під час вивчення K121Q поліморфізму серед європейського населення. Наступним кроком нашої роботи стане вивчення поліморфізму четвертого екзону гена ENPP1 у групі практично здорових донорів. Останнє дасть змогу провести порівняння розподілу генотипів між хворими з ГКС та особами з контрольної групи та дослідити наявність або відсутність зв'язку K121Q поліморфізму з гострим коронарним синдромом серед населення північно-східного регіону України.