

ЗВ'ЯЗОК C2255T ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА ВІТАМІН К ЕПОКСИД РЕДУКТАЗИ З ГОСТРИМ КОРОНАРНИМ СИНДРОМОМ

Дубовик Є., Шимко К. 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 Вітамін К епоксид редуктаза (VKOR) – інтегральний трансмембранний протеїн циклу вітаміну К, що каталізує відновлення 2,3-епоксид вітаміну К до відновленої форми вітаміну К (гідрохінону). Ензим виступає в ролі кофактора для посттрансляційного вітамін К-залежного карбоксилювання деяких факторів згортання крові (II, VII, IX, X) та інших вітамін К-залежних білків, що беруть участь у мінералізації кісток і м'яких тканин (кістковий Gla протеїн, матриксний Gla протеїн). Зазначені білки можуть тим чи іншим чином впливати на процеси тромбозу та кальцифікації атеросклеротичної бляшки, що лежать в основі патогенезу найпоширеніших серцево-судинних захворювань, зокрема гострого коронарного синдрому (ГКС). Таким чином можна зробити припущення, що поліморфізм гена вітамін К епоксид редуктази може бути причетний до розвитку ГКС. Ген VKORC1 (вітамін К епоксид редуктазний комплекс субодиниця 1) у людини представлено однією копією, що розташована в короткому плечі 16-ї хромосоми (16p11.2). У гені закодовано 163 амінокислотні залишки зрілого білка.

Довжина гена – 5126 нуклеотидів, він складається з 3 екзонів, розділених двома інтронами. На сьогодні описано понад 120 поліморфізмів поодиноких нуклеотидів (SNP) у гені VKORC1 людини. Найкраще вивченим з огляду на зв'язок із серцево-судинними захворюваннями є поліморфізм другого інтрону C2255T (rs2359612). Тому метою роботи стало вивчення частоти алельних варіантів гена вітамін К епоксид редуктази (T2255C поліморфізм) у хворих з гострим коронарним синдромом та практично здорових індивідуумів північно-східного регіону України.

Дослідження проведено із використанням венозної крові 118 хворих з ГКС і 110 практично здорових донорів. Контрольна група і група хворих не відрізнялися за співвідношенням осіб різної статі ($P > 0,05$ за χ^2 -критерієм), середній вік першої ($66,0 \pm 0,95$ років) був істотно вищим, ніж другої ($P < 0,001$). Методом полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів визначали T2255C поліморфізм другого інтрону. Використовували пару специфічних праймерів: прямий (sense) – 5'-GAACAGAGAGAGGAACCAAGGGAGTGGA-3' і зворотний (antisense) – 5'-TCTGAACCATGTGTCAGCCAGGACC-3'.

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 15 рМ кожного з праймерів і 1,0 ОД Taq-полімерази, об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Програма ампліфікації була такою: денатурація – 94 °C (50 с), гібридизація праймерів – 62,5 °C (45 с), елонгація – 72 °C (1 хв), разом 30 циклів. Для рестрикційного аналізу 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37 °C упродовж 18 годин із 3 ОД рестриктази NcoI у буфері Tango такого складу: 33 мМ трис-ацетату (рН 7,9), 10 мМ ацетату магнію, 66 мМ ацетату калію, 0,1 мг/мл альбуміну. Якщо в 2255-й позиції гена VKORC1 містився тимін, ампліфікат, який складався із 198 пар основ, розщеплювався рестриктазою NcoI на два фрагменти: 172 і 26 пар основ. У разі заміни тиміну на цитозин сайт рестрикції для NcoI втрачався і візуалізувався один фрагмент завдовжки 198 пар основ. Горизонтальний електрофорез (0,1 А; 140 V) проводили впродовж 20 хв. Одержані результати опрацьовували статистично з використанням програми SPSS-17.0. Значення $P < 0,05$ вважали достовірним. Порівняння частоти різних варіантів T2255C поліморфізму у пацієнтів основної і контрольної груп дало такі результати: співвідношення генотипів T/T, T/C і C/C у групі з ГКС становило відповідно 27,1 %, 41,5 % і 31,4 %, а в контролі – 37,2 %, 42,7 %, 20,1 %. Показник P , визначений за χ^2 -критерієм Пірсона, дорівнював 0,038 і свідчив про статистично достовірну різницю у розподілі алельних варіантів гена VKORC1 за поліморфізмом 2-го інтрону у хворих із ГКС і практично здорових осіб. Таким чином, існує зв'язок між T2255C поліморфізмом і розвитком гострого коронарного синдрому: гомозиготи за мінорним алелем (C/C) мали у 2,1 більший ризик розвитку ГКС, ніж у гомозигот за основним алелем.