

АНАЛІЗ ЧАСТОТИ BsmI ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ВІТАМІНУ D (VDR) У ХВОРИХ З ГОСТРИМ КОРОНАРНИМ СИНДРОМОМ

© О. В. Атаман, В. Ю. Гарбузова, О. А. Обухова, Є. І. Дубовик

Сумський державний університет, м. Суми, Україна

У механізмах біологічної дії вітаміну D важливу роль відіграє вплив кальцитріолу на геном клітин. Він здійснюється через VDR – представника суперсімейства ядерних рецепторів. Крім класичних “мішеней” вітаміну D, якими є кишечник і кістки, VDR виявляють у багатьох інших структурах організму, серед яких – гладкі м’язові клітини кровоносних судин. З активацією цих рецепторів пов’язують цілий ряд ефектів, що можуть мати стосунок до здатності вітаміну D викликати дистрофічно-склеротичні зміни в судинній стінці. З огляду на зазначене постає питання про можливу роль VDR не тільки в біологічній дії кальцитріолу, а й у патогенезі судинних уражень та їх тяжких наслідків, зокрема гострого коронарного синдрому. Розв’язанню даної проблеми можуть слугувати молекулярно-генетичні дослідження, спрямовані на вивчення зв’язку поліморфізму гена VDR з розвитком серцево-судинних хвороб.

Метою нашого дослідження став пошук зв’язку між алельними варіантами гена VDR за поліморфізмом BsmI і ймовірністю розвитку ГКС. Дослідження проведено із використанням венозної крові 115 хворих з гострим коронарним синдромом (81,7 % чоловіків і 18 % жінок) віком від 40 до 83 років (середній вік $58,5 \pm 0,7$ року) і 234 практично здорових донорів. ДНК з неї виділяли, використовуючи набори “Изоген” (Росія). Методом полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів визначали BsmI поліморфізм гена VDR. Для цього ампліфікували ділянку гена за допомогою пари специфічних праймерів: прямого (sense) – 5`-AGGGAGACGTAGCAAAAGGAG-3` і зворотного (antisense) – 5`-TGTCCCAAGGTCACAATAAC-3`. Ампліфікація фрагмента промотора складалася з 33 циклів: денатурація – 94 °C (50 с), гібридизація праймерів – 60 °C (45 с) і елонгація – 72 °C (1 хв). 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37 °C

протягом 20 годин з 2 ОД рестриктази BsmI. Якщо в 58980 позиції гена VDR містився гуанін, ампліфікат, який складався з 425 пар основ, розщеплювався рестриктазою BsmI на два фрагменти – 232 і 193 пари основ. У разі заміни гуаніну на аденін сайт рестрикції для BsmI втрачався і утворювався один фрагмент розміром 425 пар основ. Ампліфікати після рестрикції розділяли в 2,0% агарозному гелі, що містив 10 мкг/мл бромистого етидію (0,13A; 210V; 30 хв). Одержані результати опрацьовували статистично з використанням програми SPSS 17.0. При цьому достовірність відмінностей визначали за χ^2 -критерієм. Значення $P < 0,05$ вважали достовірним.

Генотипування хворих із ГКС по BsmI поліморфізму гена VDR і порівняння одержаних даних з результатами рестрикційного аналізу в контрольній групі дало змогу встановити, що співвідношення нормальних гомозигот (b/b), гетерозигот (b/B) і гомозигот із мінорним алелем (B/B) складало у хворих з ГКС: 37,3%, 44,1%, 28,6%, а в контрольній групі – 44,9%, 44,4%, 10,7% ($\chi^2=4,791$, $P=0,091$). При порівнянні частоти генотипів в основній і контрольній групах окремо у жінок і чоловіків одержані наступні результати. Серед жінок контрольної групи генотип b/b мали 39,0%, b/B – 49,3%, B/B – 11,7%, а серед хворих з ГКС відповідно 42,3%, 46,2%, 11,5%. ($\chi^2=0,096$, $P=0,953$). Генотип b/b був виявлений у 47,8% практично здорових чоловіків, b/B – 42,0%, B/B – 10,2%, а серед хворих чоловіків з ГКС у 35,8%, 43,5% і 20,7% відповідно ($\chi^2=6,439$, $P=0,040$). Отже, виявлено статистично значиму асоціацію BsmI поліморфізму з ГКС в осіб чоловічої статі і відсутність такого зв’язку у жінок.

Таким чином, існує зв’язок між BsmI поліморфізмом гена VDR з розвитком ГКС в осіб чоловічої (а не жіночої) статі. Чоловіки, гомозиготні за мінорним алелем (B/B), мають ризик ГКС у 2 рази вищий, ніж носії основного алеля (b/B,b/b).