

ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКТИРОВКИ УРОВНЯ ГОМОЦИСТЕИНА В КРОВИ С ПОМОЩЬЮ ДИЕТЫ У ЛИЦ С ПОЛИМОРФИЗМАМИ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ОБМЕНА

Суховольская М.А.,

научные руководители канд. биол. наук Субботина Т.Н., канд. мед. наук

Ольховский И.А.

Сибирский федеральный университет

Красноярский филиал Гематологического научного центра Минздрава России

Избыток гомоцистеина (ГЦ) способен оказывать повреждающее действие на эндотелий сосудов, участвуя в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, старческого слабоумия (болезни Альцгеймера), осложнений беременности и врожденных патологий плода. В происхождении гипергомоцистеинемии (ГГЦ) играют роль две группы факторов: наследственная предрасположенность и внешние факторы, в том числе особенности питания, образа жизни и фолиевая кислота, которая необходима для утилизации ГЦ. Генетические полиморфизмы могут обуславливать снижение функциональной активности ферментов фолатного обмена, что может привести к накоплению ГЦ в крови. Согласно литературным данным, единственным источником гомоцистеина в организме является метионин, содержащийся в пище. Особенно высоко содержание метионина в белковых продуктах животного происхождения – мясе, рыбе, яйцах, сыре. Сочетание полиморфизмов генов отдельных белков, участвующих в фолатном обмене, и провоцирующей диеты может определять индивидуальную склонность к возникновению ГГЦ. Скрининг на носительство полиморфизмов генов фолатного обмена позволит разработать профилактические программы с целью снижения риска развития ГГЦ.

Цель работы – оценить возможности корректировки уровня гомоцистеина в крови с помощью диеты у лиц с полиморфизмами генов фолатного обмена.

На первом этапе объектом исследования служила геномная ДНК человека, на втором этапе – сыворотка крови. Лабораторная часть исследования включала выделение ДНК из лейкоцитов цельной крови с использованием комплекта реагентов «РИБО-преп» (Амплисенс, Россия), проведение ПЦР с использованием комплекта реагентов «Пироскрин» (профиль генетического исследования «Фолат-скрин») (Амплисенс, Россия), детекцию полиморфизмов методом пиросеквенирования на приборе PyroMark Q24 (Qiagen, Германия) и биохимическое определение концентрации ГЦ в сыворотке крови с использованием комплекта реагентов Homocysteine FS (DiaSys, Германия) на автоматическом биохимическом анализаторе Sapphire-400. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы Statistica 7.0 и электронных таблиц Microsoft Office Excel 2007.

В группу обследуемых вошли 37 клинически здоровых добровольцев: 35 женщин и 2 мужчины в возрасте от 19 до 59 лет (средний возраст составил 29,6 лет).

Впервые на территории Красноярского края проведено изучение распространенности полиморфизмов генов фолатного обмена (табл. 1). Полученные результаты в целом соответствуют сведениям о распространённости изучаемых полиморфизмов в европейской популяции, имеющимся в базе данных NCBI. Незначительные расхождения связаны с недостаточно большой выборкой обследуемых лиц.

Следует отметить, что ранее нами были получены данные о распространенности полиморфизмов C677T (Ala222Val) гена MTHFR и A2756G (Asp919Gly) гена MTR

среди здорового населения г. Красноярска на более крупных выборках. Получены следующие данные о распространенности мутации С677Т (Ala222Val) в гене МТНFR: у 50,3% обследуемых мутация не выявлена, 39,8% имеют гетерозиготное состояние мутантного гена и у 9,9% мутация выявлена в гомозиготном состоянии [1]. Наличие мутации А2756G (Asp919Gly) в гене МTR было выявлено у 2,9% в гомозиготном состоянии, у 28,8% в гетерозиготном; у 68,3% мутация не выявлена [2]. Таким образом, результаты, представленные в настоящей работе, соответствуют полученным ранее данным о распространенности изучаемых мутаций среди жителей г. Красноярска.

Таблица 1 – Распространенность полиморфизмов генов фолатного обмена в группе клинически здоровых людей

Полиморфизм	Генотип	Группа обследуемых (N=37)		Распространённость в Европейской популяции (по данным базы NCBI), %
		Количество человек, абс.	Количество человек, %	
МТНFR С677Т (Ala222Val)	С/С	20	54,1	46–59
	С/Т	15	40,5	33–50
	Т/Т	2	5,4	4–9
МТНFR А1298С (Glu429Ala)	А/А	21	56,8	≈ 44
	А/С	14	37,8	≈ 47
	С/С	2	5,4	≈ 10
МTR А2756G (Asp919Gly)	А/А	24	64,9	81–96
	А/Г	10	27,0	4–15
	Г/Г	3	8,1	0–4
МТRR А66G (Ile22Met)	А/А	5	13,5	≈ 38
	А/Г	20	54,1	≈ 35
	Г/Г	12	32,4	≈ 28
SLC19A1 А80G (His27Arg)	А/А	8	21,6	≈ 16
	А/Г	19	51,4	≈ 55
	Г/Г	10	27,0	≈ 29

По данным литературы, наиболее существенный вклад в развитие ГГЦ вносит полиморфизм С677Т (Ala222Val) гена МТНFR. Наличие полиморфизмов других генов фолатного обмена может усиливать его влияние, модулируя риск развития ГГЦ. Из 17-ти обследуемых с данной мутацией в гомо- и гетерозиготной форме, 12 одновременно имеют более 3-х дополнительных мутантных аллелей в других генах фолатного обмена (табл. 2). Таким образом, 32,4% от общего числа добровольцев имеют повышенный генетический риск развития ГГЦ.

Таблица 2 – Распределение клинически здоровых лиц с мутацией С677Т (Ala222Val) в гене МТНFR в гомо- и гетерозиготном состоянии в зависимости от количества дополнительных «отягощающих» мутантных аллелей

Количество дополнительных мутантных аллелей	Мутантные гомозиготы и гетерозиготы по полиморфизму С677Т (Ala222Val) в гене МТНFR (N=17)	
	Количество человек, абс	Количество человек, %
1	1	5,9
2	4	23,5
3	7	41,2
4	5	29,4

В литературе сообщается, что единственным источником ГЦ в организме человека является пищевой метионин, поэтому было предположено, что высокий уровень ГЦ, обусловленный наличием полиморфизмов генов фолатного обмена, можно

корректировать путем ограничения поступления метионина с белковой пищей. С целью подтверждения этого предположения обследуемым было предложено в течение 3-х дней придерживаться диеты, бедной метионином. К употреблению рекомендовались продукты с содержанием метионина менее 150 мг на 100 г продукта (овощи, фрукты, зелень). Затем, после 4-хдневного перерыва, обследуемым было предложено в течение 3-х дней придерживаться диеты, богатой метионином. К употреблению рекомендовались продукты с содержанием метионина в более 200 мг на 100 г продукта (мясо, птица, рыба, молочные продукты). По итогам проведенного исследования в группе клинически здоровых лиц не выявилось значимых различий в концентрации ГЦ в сыворотке крови после соблюдения диет, бедной и богатой метионином (табл. 3).

Таблица 3 – Концентрация гомоцистеина в сыворотке крови клинически здоровых лиц после соблюдения диеты, бедной и богатой метионином

Показатель	Бедная метионином диета		Богатая метионином диета	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
Гомоцистеин, мкмоль/л	12,60	11,20 - 15,60	12,80	11,30 - 14,70

Стоит отметить, что после соблюдения каждой из диет значения концентрации ГЦ в сыворотке крови в целом не выходят за рамки нормальных значений для данных возрастных и половых групп.

Не было обнаружено значимых различий между уровнями ГЦ после каждой из диет в зависимости от наличия мутантного аллеля каждого из изучаемых полиморфизмов, а также от совокупного количества мутантных аллелей в генотипе (табл. 4). Для сравнения данных показателей использовался критерий Уилкоксона.

Таблица 4 – Концентрация гомоцистеина в сыворотке крови клинически здоровых лиц после соблюдения диеты, бедной и богатой метионином, в зависимости от наличия полиморфизмов генов фолатного обмена

Полиморфизм	Генотип	N	Концентрация ГЦ в сыворотке крови после бедной метионином диеты, мкмоль/л		Концентрация ГЦ в сыворотке крови после богатой метионином диеты, мкмоль/л	
			Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
MTHFR C677T (Ala222Val)	C/C	20	12,15	11,15 – 14,55	11,60	11,15 – 13,00
	C/T	15	15,00	11,20 – 16,30	14,70	12,80 – 16,90
	T/T	1	12,50	–	9,20	–
MTHFR A1298C (Glu429Ala)	A/A	20	13,55	11,90 – 16,20	13,70	11,45 – 15,55
	A/C	14	11,25	10,80 – 12,50	11,60	11,20 – 12,80
	C/C	2	15,70	15,50 – 15,90	12,15	11,00 – 13,30
MTR A2756G (Asp919Gly)	A/A	23	12,60	11,40 – 16,10	12,80	11,30 – 15,00
	A/G	10	13,05	11,10 – 5,50	12,60	11,10 – 14,50
	G/G	3	10,80	9,60 – 16,30	11,20	10,10 – 15,00
MTRR A66G (Ile22Met)	A/A	5	15,50	11,10 – 15,60	13,20	11,30 – 14,50
	A/G	19	13,50	11,20 – 16,10	13,30	11,50 – 15,00
	G/G	12	11,75	11,30 – 14,70	11,40	10,70 – 13,00
SLC19A1 A80G (His27Arg)	A/A	8	11,35	10,60 – 15,65	12,50	11,60 – 15,05
	A/G	18	13,05	11,50 – 15,60	11,85	11,20 – 14,60
	G/G	10	14,75	11,20 – 15,90	13,25	11,30 – 15,00

Отсутствие значимых различий между уровнем ГЦ после соблюдения диеты, бедной и богатой метионином, можно объяснить тем, что обследуемая выборка

пациентов включает в себя, в основном, молодых клинически здоровых людей. В связи с этим имеющиеся в их генотипе полиморфизмы генов фолатного обмена, возможно, еще не успели проявиться фенотипически. Ведь, как известно, наличие полиморфизма гена не является заболеванием само по себе. Даже если полиморфизм носит негативный характер, в фенотипе он проявляется только при наличии соответствующих факторов среды, провоцирующих его клинические проявления. Поскольку нагрузка метионином в ходе предложенной диеты, обогащенной метионином, не слишком продолжительная и интенсивная, имеющиеся функциональные резервы активности ферментов (пусть и сниженной при условии наличия в них генетических поломок), успешно справляются с задачей переработки избытка метионина и утилизации ГЦ. Возможно, полученные результаты являются косвенным свидетельством наличия метионинового депо, как буферной системы, позволяющей организму накапливать неметаболизированный запас метионина при избыточном его поступлении в организм и поддерживать потребность в этой аминокислоте при ее дефиците в пищевом рационе. Данное исследование четко демонстрирует, что системы регуляции метаболизма фолатов имеют большой функциональный резерв, и само по себе наличие полиморфизмов генов фолатного обмена не ведет к однозначному нарушению метаболизма метионина и накоплению ГЦ в крови. Для проявления неблагоприятного действия того или иного генетического полиморфизма необходимо наличие дополнительных отягчающих факторов риска – стресс и длительная регулярная диета с высоким содержанием животного белка. Все это снижает функциональные резервы организма, в частности, системы регуляции обмена метионина.

Таким образом, проведение генетического исследования на наличие мутаций в генах, кодирующих ферменты фолатного обмена, в молодом возрасте позволяет выделить потенциальную группу генетического риска развития ГГЦ и предложить комплекс профилактических мер с целью уменьшения фенотипического проявления мутаций и снижения риска развития патологий, вызванных ГГЦ. Использование информации об индивидуальных генетических особенностях конкретных пациентов важно для более точной диагностики и назначения наиболее оптимальных методов профилактики и лечения. С профилактической точки зрения может быть предложен комплекс рекомендаций по индивидуальной коррекции питания у лиц с генетической предрасположенностью к нарушению метаболизма ГЦ. В качестве профилактической меры для защиты от ГГЦ целесообразен ежедневный прием фолиевой кислоты, витамина В₆ и В₁₂. Поскольку ГЦ является оксидантом, рекомендуется также прием естественных антиоксидантов.

Список литературы:

1. Ольховский И.А., Субботина Т.Н. Концентрация гомоцистеина в сыворотке крови здоровых лиц с мутацией С677Т (Ala222Val) в гене МТНFR // Материалы V научно-практической конференции «Современная гематология. Проблемы и решения», г. Москва. 2011. С.55-56.
2. Суховольская М. А. Концентрация гомоцистеина в сыворотке крови здоровых людей с мутацией А2756G (Asp919Gly) в гене метионин-синтазы (МTR) // Материалы 50-й юбилейной международной научной студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс». Медицина, г. Новосибирск. 2012. С. 45-46.