Журнал клінічних та експериментальних
JC&EMR
медичних досліджень

УДК 616.831-005.1/.6:548.33]:616-074

Abstract

[1] Parkhomenko O. M.,
[2] Dosenko V. Ye., [3] Ataman O. V.,
[3] Garbuzova V. Yu.,*
[1] M. D. Strazhesko Institute of Cardiology of Academy of Medical Sciences of Ukraine,
5 Narodnogo opolchennia St., Kyiv, Ukraine, 03680;
[2] O. O. Bogomolets Institute of Physiology of National Academy of Sciences of Ukraine,
4 Bogomolets St., Kyiv, Ukraine, 01024;
[3]Sumy State University,
2 Rymskogo-Korsakova St., Sumy, Ukraine, 40007

ASSOCIATION ANALYSIS OF THE ARG325GLN POLYMORPHISM γ-GLUTAMYLCARBOXYLASE GENE WITH ACUTE CORONARY SYNDROME IN PATIENTS WITH NORMAL AND HIGH BLOOD PRESSURE

Introduction. Vitamin K-dependent γ-glutamylcarboxylase (GGCX) is the integral transmembrane protein, which catalyzes the posttranslational carboxylation of glutamic acid to γ-carboxyglutamic acid molecules in the vitamin K-dependent proteins that are synthesized in the liver (clotting factors II, VII, IX, X, protein S, C, and Z), and in other tissues (osteocalcin, protein S, Gas6 and four transmembrane proteins: PRGP1, PRGP2, TmG3, and TmG4). Taking into account importance of coagulant status in the development of coronary disorders, polymorphism of GGCX gene may be associated with them. The data in literature concerning these issues are limited and inconsistent, and absent for Slavic populations.

Purpose. Our aim was to establish the frequency of allelic variants of the GGCX gene for Arg325Gln polymorphism in patients with acute coronary syndrome (ACS), who has normal and high blood pressure.

Materials and Methods. We used venous blood of 118 patients with ACS (22 % women and 78 % men) aged 40 to 73 years (mean age 55.9 ± 0.89 years) who were hospitalized in the cardiology department of Sumy City Clinical Hospital № 1. The control group consisted of 234 patients. Definition of Arg325Gln polymorphism (rs699664) of GGCX gene was performed using PCR with the following restriction fragment length analysis of the allocation of them by electrophoresis in agarose gel. Restriction endonuclease XmnI was used for restriction analysis. Statistical analysis was performed using the software package SPSS-17. Thus the significance of differences was determined by the χ^2-criterion. The value of $P < 0.05$ was considered as significant.

Results. Using the χ^2-Pearson criterion did not reveal association between the Arg325Gln polymorphism of GGCX gene and the development of ACS. Distribution of different types of genotype between patients with ACS and healthy patients did not differ statistically significantly. However, using logistic regression led to the conclusion of the association of polymorphism of the 8th exon of the GGCX gene with acute coronary syndrome. In carriers of minor allele (Gln/Gln) ACS risk twice that of homozygotes for the major allele (Arg/Arg).

The obtained data on the performance of systolic (SBP), diastolic (DBP), pulse (PBP) and average (ABP) blood pressure in patients in the control group and patients with ACS with different genotypes for the polymorphism Arg325G in GGCX gene indicated that all four types of BP did not differ in carriers of different genotypes inside the control group and in patients with ACS. A comparison between the groups

Website: http://www.ujcem.med.sumdu.edu.ua/ **e-mail**: jcandemr@gmail.com
© Sumy State University, 2014 © Сумський державний університет, 2014

revealed that for the studied polymorphism in members of Arg/Gln and Arg/Arg genotype and DBP and ABP values were significantly higher in patients with ACS than in control.

A somewhat different pattern was revealed when the analysis was conducted among females. Women with ACS homozygotes for the minor allele (Gln/Gln), only DBP; in homozygotes for the major allele (Arg/Arg) DBP and ABP, while heterozygotes (Arg/Gln) and SAT were also higher when compared with almost healthy individuals. As for men, the effect of blood pressure on the development of ACS was insufficient. SBP value in the comparison group did not significantly differ among carriers of different genotypes. DBP was higher in patients with genotype Arg/Gln and Gln/Gln, and PAT – with Arg/Arg, and ABP – with Gln/Gln, suffering from ACS.

Among persons with high blood pressure significant difference in the ratio of genotypes (Arg/Arg, Arg/Gln, Gln/Gln) existed between main and control groups. In the group with ACS, it accounted for 20.8, 56.9, 22.2 %, and in control – 38.4, 49.3, 12.3% (P = 0.045). Thus, among the people with high blood pressure with genotype Gln/Gln, risk of ACS development was greater. Logistic regression confirmed the conclusion: the minor allele homozygotes had risk of the ACS 3.3 times greater than that of homozygotes for the major allele.

Conclusion: In homozygotes for the minor allele (Gln/Gln), the risk of ACS was twice higher than in homozygotes for the major allele (Arg/Arg).

Among representatives of Arg/Gln and Arg/Arg genotype, DBP and ABP parameters were significantly higher in patients with ACS than in control.

Among people with high blood pressure with genotype Gln/Gln, risk of development of ACS was 3.3 times higher than that of homozygotes for the major allele (Arg/Arg).

Key words: allelic polymorphism, blood pressure, acute coronary syndrome, γ-glutamylcarboxylase.

Corresponding author*:* * vikgarbuzova@yandex.ru

Резюме

[1] Пархоменко О. М.,
[2] Досенко В. Є., [3] Атаман О. В.,
*[3] Гарбузова В. Ю. *,*
[1] Інститут кардіології імені акад. М. Д. Стражеска АМН України,
вул. Народного ополчення, 5 , Київ, Україна, 03680;
[2] Інститут фізіології ім. акад. О. О. Богомольця НАН України,
вул. Богомольця, 4, Київ, Україна, 01024;
[3]Сумський державний університет,
вул. Римського-Корсакова, 2, Суми, Україна, 40007

АНАЛІЗ АСОЦІАЦІЇ ARG325GLN-ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА Г-ГЛУТАМІЛКАРБОКСИЛАЗИ З ГОСТРИМ КОРОНАРНИМ СИНДРОМОМ В ОСІБ ІЗ НОРМАЛЬНИМ І ПІДВИЩЕНИМ АРТЕРІАЛЬНИМ ТИСКОМ

Наведено результати визначення Arg325Gln-поліморфізму (rs699664) гена γ-глутамілкарбоксилази (GGCX) у 118 пацієнтів із гострим коронарним синдромом (ГКС) і 234 здорових індивідуумів (контрольна група). Методом логістичної регресії встановлено, що існує зв'язок між Arg325Gln-поліморфізмом гена GGCX і розвитком ГКС: у носіїв мінорного алеля (Gln/Gln) ризик ГКС удвічі більший, ніж у гомозигот за основним алелем (Arg/Arg) (P = 0,037; OR = 2,05). Серед осіб із підвищеним артеріальним тиском, які мають генотип Gln/Gln, ризик розвитку ГКС у 3,3 раза більший, ніж у гомозигот за основним алелем (Arg/Arg) (P = 0,022; OR = 3,31).

Ключові слова: алельний поліморфізм, артеріальний тиск, гострий коронарний синдром, γ-глутамілкарбоксилаза.

© Сумський державний університет, 2014

Резюме

[1] Пархоменко А. Н.,
[2] Досенко В. Е.,
[3] Атаман А. В.,
*[3] Гарбузова В. Ю. *,*
[1] Институт кардиологии им. акад. М. Д. Стражеска АМН Украины, ул. Народного ополчения, 5, Киев, Украина, 03680;
[2] Институт физиологии им. акад. А. А. Богомольца НАН Украины, ул. Богомольца, 4, Киев, Украина, 01024;
[3]Сумский государственный университет, ул. Римского-Корсакова, 2, Сумы, Украина, 40007

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ ARG325GLN-ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА Г-ГЛУТАМИЛКАРБОКСИЛАЗЫ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ У ПАЦИЕНТОВ С НОРМАЛЬНЫМ И ПОВЫШЕННЫМ АРТЕРИАЛЬНЫМ ДАВЛЕНИЕМ

Приведены результаты определения Arg325Gln-полиморфизма (rs699664) гена γ-глутамилкарбоксилазы (GGCX) у 118 пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) и 234 здоровых индивидуумов (контрольная группа). Методом логистической регрессии установлено, что существует связь между Arg325Gln-полиморфизмом гена GGCX и развитием ОКС: у носителей минорного аллеля (Gln/Gln) риск ОКС вдвое выше, чем у гомозигот по основному аллелю (Arg/Arg) (P = 0,037; OR = 2,05). Среди лиц с повышенным артериальным давлением, имеющих генотип Gln/Gln, риск развития ОКС в 3,3 раза выше, чем у гомозигот по основному аллелю (Arg/Arg) (P = 0,022; OR = 3,31).

Ключевые слова: аллельный полиморфизм, артериальное давление, острый коронарный синдром, γ-глутамилкарбоксилаза.

Автор відповідальний за листування*:* * vikgarbuzova@yandex.ru

Вступ

Гострі порушення коронарного кровообігу є лідером серед причин смертності в індустріалізованих країнах усього світу. Незважаючи на використання сучасних методів діагностики та лікування, вони продовжують асоціюватися з високим ризиком раптової смерті та розвитком хронічної серцевої недостатності. В Україні після перенесеного гострого інфаркту міокарда впродовж року помирає кожен п’ятий пацієнт [1; 2]. Із збільшенням артеріального тиску на кожні 20/10 мм рт. ст. (відповідно для систолічного і діастолічного), починаючи із 115/75 мм рт. ст., ризик серцево-судинної смертності подвоюється. Такий стан проблеми спонукає дослідників проникати все глибше і глибше в патогенетичні механізми порушень коронарного кровообігу, вивчати їх не лише на традиційних – тканинному й клітинному, – а й на молекулярному та молекулярно-генетичному рівнях. Останнім часом увага вчених прикута до виявлення генів-кандидатів розвитку серцево-судинної патології, дослідження однонуклеотидних поліморфізмів, які можуть мати функціональне значення в патогенезі ушкодження серця і судин.

Одним із таких генетичних чинників може бути ген вітамін-К-залежної γ-глютамілкарбоксилази (GGCX) – інтегрального трансмембранного протеїну [3], що каталізує посттрансляційне карбоксилювання глутамінової кислоти до γ-карбоксиглутамінової кислоти в молекулах вітамін-К-залежних білків, які синтезуються в печінці (фактори згортання крові: II, VII, IX, X, протеїни S, C і Z), та в інших тканинах (остеокальцин, білок S, Gas6 та чотири трансмембранні білки: PRGP1, PRGP2, TmG3 і TmG4) [4]. Враховуючи велике значення коагулянтного статусу у розвитку коронарних порушень, поліморфізм гена GGCX може бути асоційований із ними. Дані літератури з цього питання нечисленні і суперечливі, а для слов'янських популяцій взагалі відсутні.

Подану роботу виконано в рамках науково-дослідної теми "Роль алельного поліморфізму генів у розвитку патологічних процесів і хвороб", № держреєстрації 0110 U 005038.

Мета дослідження – встановити частоту алельних варіантів гена GGCX за Arg325Gln-поліморфізмом у хворих із гострим коронарним синдромом (ГКС), які мають нормальний і підвищений артеріальний тиск.

Матеріали та методи

У роботі використано венозну кров 118 пацієнтів із ГКС (22 % жінок і 78 % чоловіків) віком від 40 до 73 років (середній вік – (55,9 ± 0,89) року), госпіталізованих до кардіологічного відділення Сумської міської клінічної лікарні № 1.

© Сумський державний університет, 2014

Діагноз гострого інфаркту міокарда та нестабільної стенокардії встановлювали на підставі даних клінічних, електрокардіографічних та біохімічних досліджень згідно з рекомендаціями експертів ВООЗ, а також відповідно до рекомендацій європейського та американського товариств кардіологів [5; 6; 7]. Критерієм залучення до дослідження була наявність типового ангінозного больового синдрому в спокої тривалістю від 10 до 30 хв упродовж останніх 24 годин до госпіталізації із змінами ЕКГ без навантаження (депресія сегмента «ST» 1 мм та більше або інверсія зубця «Т» 2 мм та більше щонайменше у двох суміжних відведеннях). Остаточний діагноз нестабільної стенокардії поставлено у 33,5 % хворих, гострого інфаркту міокарда – у 66,5 % хворих.

Контрольна група складалася із 234 пацієнтів, у яких відсутність серцево-судинної патології підтверджували шляхом збирання анамнестичних даних, зняття ЕКГ і вимірювання артеріального тиску. Контрольна група і група хворих на ГКС відрізнялися за віком: середній вік першої ((66,0 ± 0,95) року) був істотно вищим, ніж другої ($P < 0,001$). Остання обставина збільшувала надійність контролю, оскільки зменшувалася ймовірність розвитку ГКС у пацієнтів контрольної групи в майбутніх періодах їх життя.

Визначення Arg325Gln-поліморфізму (rs699664) гена GGCX проводили за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції з подальшим аналізом довжини рестрикційних фрагментів при виділенні їх шляхом електрофорезу в агарозному гелі.

ДНК із венозної крові пацієнтів виділяли, використовуючи набори "Изоген" (Росія). Ампліфікацію ділянки гена, що містить досліджуваний сайт поліморфізму у 8-му екзоні гена GGCX, проводили за допомогою пари специфічних праймерів: прямого (sence) – 5`-GGAGAAGTCTCCTAAGGGAACG-3` і зворотного (antisense) – 5`-AGTCCAGCCTTTGCTGTACACT-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 10 рМ кожного з праймерів і 1,0 ОД Taq-полімерази, об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Ампліфікацію проводили за такою програмою: денатурація – 94 °С (50 с), гібридизація праймерів – 65,0 °С (30 с), елонгація – 72 °С (1 хв), разом 33 цикли. Для рестрикційного аналізу 6 мкл ампліфікату інкубували при 37 °С упродовж 18 годин із 2 ОД рестриктази XmnI у буфері Tango такого складу: 33 мМ трис-ацетату (pH 7,9), 10 мМ ацетату магнію, 66 мМ ацетату калію, 0,1 мг/мл альбуміну. Якщо у 8762-й позиції гена GGCX містився гуанін, ампліфікат, який складався з 384 пар основ, розщеплювався рестриктазою XmnI на два фрагменти: 216 і 168 пар основ. У разі заміни гуаніну на аденін сайт рестрикції для XmnI втрачався і утворювався один фрагмент розміром 384 пари основ. Горизонтальний електрофорез (0,1 А; 200 V) проводили впродовж 40 хв. Ампліфікати одержаного фрагмента гена GGCX після рестрикції розділяли в 2,5 % агарозному гелі, що містив бромистий етидій. Статистичний аналіз проводили з використанням пакета програм SPSS-17. При цьому достовірність відмінностей визначали за χ^2-критерієм. Значення $P < 0,05$ вважали достовірним.

Результати та їх обговорення

Частоту трьох можливих варіантів генотипу за вивченим поліморфізмом гена GGCX, а також перевірку відповідності розподілу основного і мінорного алелів рівновазі Харді-Вайнберга подано в табл. 1.

Таблиця 1

Частота алельних варіантів і алелів за Arg325Gln-поліморфізмом гена GGCX у контрольній групі та у хворих із ГКС

	Контрольна група, n (%)	Хворі з ГКС, n (%)
Гомозиготи Arg/Arg	82 (35,0)	32 (27,1)
Гетерозиготи Arg/Gln	122 (52,2)	62 (52,5)
Гомозиготи Gln/Gln	30 (12,8)	24 (20,4)
Arg-алель	0,61	0,53
Gln-алель	0,39	0,47
χ^2	2,2	0,37
P	> 0,05	> 0,05

n – кількість пацієнтів; χ^2 і P відображають відхилення у кожній групі від рівноваги Харді-Вайнберга

Перевірка розподілу генотипів за Arg325Gln-поліморфізмом на відповідність закону Харді-Вайнберга показала, що і в контрольній, і в основній групах відхилення від

© Сумський державний університет, 2014

установленої рівноваги не є статистично значущими. З'ясовано, що співвідношення алелів в обох групах істотно не відрізняється від очікуваних (P > 0,05).

Використання χ^2-критерію Пірсона не виявило зв'язку між Arg325Gln-поліморфізмом гена GGCX і розвитком ГКС. Розподіл різних видів генотипу між хворими з ГКС і здоровими пацієнтами статистично достовірно не відрізняється (рис. 1). Проте використання методу логістичної регресії дозволило зробити висновок про асоціацію поліморфізму 8-го екзона гена GGCX із гострим коронарним синдромом (табл. 2). У носіїв мінорного алеля (Gln/Gln) ризик ГКС удвічі більший, ніж у гомозигот за основним алелем (Arg/Arg).

Таблиця 2

Аналіз ризику ГКС залежно від генотипу за Arg325Gln-поліморфізмом гена GGCX

Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95 % CI для OR нижній	95 % CI для OR верхній
Gln/Gln	0,718	0,344	4,350	0,037	2,050	1,044	4,024
Arg/Gln	0,264	0,260	1,029	0,310	1,302	0,782	2,169

Примітка: порівняння проводилося стосовно гомозигот за основним алелем (Arg/Arg);
CR – коефіцієнт регресії; SE – стандартна похибка; WS – статистика Вальда; P – статистична значущість; OR – відношення ризику; CI – довірчий інтервал

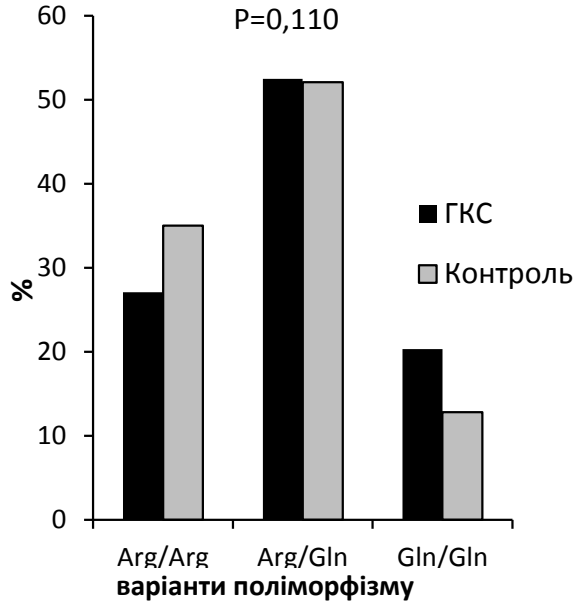

Рис. 1. Частота алельних варіантів гена GGCX за Arg325Gln у хворих із ГКС (чорні стовпчики) і в контрольній групі (сірі стовпчики). P – статистична значущість відмінності показників за χ^2-критерієм Пірсона

Одержані дані про показники систолічного (САТ), діастолічного (ДАТ), пульсового (ПАТ) і середнього (СрАТ) тисків (табл. 3) у пацієнтів контрольної групи та хворих із ГКС, які мають різні генотипи за Arg325Gln-поліморфізмом гена GGCX свідчать про те, що всі чотири різновиди АТ не відрізняються у носіїв із різними варіантами генотипів як усередині контрольної групи, так і у хворих із ГКС. При порівнянні між групами з'ясовано, що за вивченими поліморфізмами у представників Arg/Gln- і Arg/Arg- генотипів показники ДАТ і СрАТ були достовірно вищими у хворих із ГКС, ніж у контролі.

Дещо інша закономірність виявилася, коли аналіз проводився серед осіб жіночої статі (табл. 4). У жінок із ГКС, гомозигот за мінорним алелем (Gln/Gln), лише ДАТ, у гомозигот за основним алелем (Arg/Arg) ДАТ і СрАТ, а у гетерозигот (Arg/Gln) ще й САТ були вищими, якщо порівняти з практично здоровими особами. Щодо чоловіків, то вплив артеріального тиску на розвиток ГКС виявив себе меншою мірою. Значення САТ у групах порівняння достовірно не відрізнялись у носіїв різних генотипів. ДАТ був вищим у осіб із генотипами Arg/Gln і Gln/Gln, а ПАТ – Arg/Arg, а СрАТ – Gln/Gln, які хворіють на ГКС.

Дані про вплив поліморфізму 8-го екзона гена GGCX на розвиток ГКС в осіб із нормальним і підвищеним артеріальним тиском наведені у табл. 5.

Як бачимо з таблиці, серед осіб із підвищеним артеріальним тиском існує достовірна різниця у співвідношенні генотипів (Arg/Arg, Arg/Gln, Gln/Gln) в основній і контрольній групах. Так, у групі з ГКС воно становило відповідно 20,8; 56,9; 22,2 %, а в контролі – 38,4; 49,3; 12,3 % (P = 0,045). Таким чином, серед осіб із підвищеним артеріальним тиском, які мають генотип Gln/Gln, ризик розвитку ГКС більший. Метод логістичної регресії підтвердив цей висновок: у гомозигот за мінорним алелем ризик ГКС у 3,3 раза більший, ніж у гомозигот за основним алелем (табл. 6).

На сьогодні описано понад 400 поліморфізмів поодиноких нуклеотидів у гені γ-глутамілкарбоксилази людини. Основна кількість досліджень присвячена їх зв'язку з дозуванням непрямих оральних антикоагулянтів.

© Сумський державний університет, 2014

Таблиця 3

Показники артеріального тиску в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за Gln325Arg-поліморфізмом гена GGCX (M ± m)

Показник		Gln/Gln	Gln/Arg	Arg/Arg	F	P_1
САТ	Контроль	140,13 ± 2,89 (80)	139,06 ± 1,9 (122)	137,93 ± 3,85 (29)	0,108	0,897
	ГКС	136,88 ± 3,43 (32)	142,10 ± 2,14 (62)	142,71 ± 3,84 (24)	1,058	0,351
	P_2	0,522	0,314	0,387		
ДАТ	Контроль	83,4 ± 1,2	84,1 ± 0,9	80,4 ± 2,2	1,423	0,243
	ГКС	86,9 ± 2,1	90,2 ± 1,2	91,3 ± 1,8	1,641	0,198
	P_2	0,133	0,0001	0,0005		
ПАТ	Контроль	56,7 ± 2,1	54,9 ± 1,6	57,5 ± 3,1	0,380	0,684
	ГКС	50,0 ± 2,1	51,9 ± 1,5	51,5 ± 2,3	0,305	0,738
	P_2	0,064	0,229	0,139		
СрАТ	Контроль	102,3 ± 1,65	102,5 ± 1,15	99,6 ± 2,44	0,548	0,579
	ГКС	103,54 ± 2,42	107,47 ± 1,40	108,40 ± 2,45	1,474	0,233
	P_2	0,682	0,009	0,014		

Примітка: F – критерій Фішера; P_1 і P_2 – значимість відмінностей між генотипами за даними однофакторного дисперсійного аналізу (P_1) і між контролем та ГКС за t-критерієм Стьюдента (P_2); у дужках – кількість пацієнтів

Таблиця 4

Показники артеріального тиску (АТ) в осіб жіночої і чоловічої статей у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за Gln325Arg-поліморфізмом гена GGCX (M ± m)

Показник		Gln/Gln	Gln/Arg	Arg/Arg	F	P_1
Жінки						
САТ	Контроль	139,69 ± 4,66 (32)	136,11 ± 3,43 (36)	140,00 ± 7,25 (8)	0,233	0,793
	ГКС	160,00 ± 5,16 (6)	150,59 ± 2,22 (17)	146,7 ± 1,66 (3)	2,665	0,091
	P_2	0,075	0,007	0,598		
ДАТ	Контроль	83,8 ± 1,8	82,9 ± 1,7	81,8 ± 3,8	0,129	0,879
	ГКС	97,5 ± 4,8	95,6 ± 1,5	93,3 ± 1,7	0,310	0,737
	P_2	0,005	0,0001	0,110		
ПАТ	Контроль	55,9 ± 3,5	53,2 ± 2,9	58,1 ± 5,7	0,332	0,718
	ГКС	62,5 ± 4,0	55,0 ± 2,1	53,3 ± 1,7	1,976	0,161
	P_2	0,433	0,689	0,643		
СрАТ	Контроль	102,40 ± 2,57	100,65 ± 1,98	101,25 ± 4,46	0,150	0,861
	ГКС	118,33 ± 4,53	113,92 ± 1,51	111,11 ± 1,47	1,176	0,326
	P_2	0,015	0,0001	0,225		
Чоловіки						
САТ	Контроль	140,42 ± 3,73 (48)	140,29 ± 2,39 (86)	137,14 ± 4,63 (21)	0,171	0,843
	ГКС	131,54 ± 3,27 (26)	138,89 ± 2,70 (45)	142,14 ± 4,38 (21)	2,218	0,115
	P_2	0,118	0,716	0,437		
ДАТ	Контроль	83,2 ± 1,6	84,6 ± 1,1	79,9 ± 2,7	1,627	0,200
	ГКС	84,4 ± 2,1	88,1 ± 1,4	90,9 ± 2,1	2,708	0,072
	P_2	0,654	0,057	0,002		

© Сумський державний університет, 2014

Продовження таблиці 4

ПАТ	Контроль	57,2 ± 2,7	55,6 ± 1,9	57,3 ± 3,8	0,150	0,860
	ГКС	47,1 ± 2,0	50,8 ± 1,8	51,2 ± 2,6	1,004	0,370
	P_2	0,012	0,104	0,192		
СрАТ	Контроль	102,3 ± 2,2	103,2 ± 1,4	98,9 ± 2,9	0,797	0,453
	ГКС	100,13 ± 2,34	105,04 ± 1,71	108,02 ± 2,79	2,688	0,074
	P_2	0,531	0,424	0,028		

Примітка: Дивись таблицю 2

Таблиця 5

Розподіл частоти осіб різних генотипів за Arg325Gln-поліморфізмом гена GGCX у контрольній групі та у хворих із ГКС залежно від величини АТ

Генотип	Нормальний АТ		Підвищений АТ	
	Контроль, n (%)	ГКС, n (%)	Контроль, n (%)	ГКС, n (%)
Arg/Arg	52 (32,9)	17 (37,0)	28 (38,4)	15 (20,9)
Arg/Gln	86 (54,4)	21 (45,6)	36 (49,3)	41 (56,9)
Gln/Gln	20 (12,7)	8 (17,4)	9 (12,3)	16 (22,2)
	P = 0,528		P = 0,045	

Примітка: n – кількість осіб; P – значущість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ГКС

Таблиця 6

Аналіз ризику ГКС залежно від генотипу за Arg325Gln-поліморфізмом гена GGCX у пацієнтів з артеріальною гіпертензією

Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95 % CI для OR нижній	95 % CI для OR верхній
Gln/Gln	1,200	0,525	5,213	0,022	3,319	1,185	9,292
Arg/Gln	0,754	0,393	3,681	0,055	2,126	0,984	4,594

Примітка: Дивись в таблицю 2

Одними з перших ген GGCX секвенували Rieder et al., які визначили зв'язок із дозою варфарину для поліморфізму 14-го інтрона C12970G: у носіїв генотипу G/G доза була 5,4 мг/добу, тоді як у носіїв основного алеля – 4,6 мг/добу [8]. Асоціація з дозою оральних антикоагулянтів для поліморфізму G6317A (rs12714145) була доведена Shikata et al. Авторами також показано, що доза варфарину зростає разом зі збільшенням кількості мікросателітних повторів у 6-му інтроні гена GGCX [9]. В одному з останніх досліджень King et al. показано, що на дозування варфарину впливає C12970G (rs11676382)-поліморфізм. Для гомозигот за мінорним алелем і гетерозигот доза варфарину була достовірно нижчою (3,8 мг/добу), ніж для гомозигот за основним алелем (4,9 мг/добу). Kamali X. et al. виявили, що у китайській популяції rs2592551-поліморфізм гена GGCX може бути одним із факторів, що впливає на дозу варфарину у пацієнтів із фібриляцію передсердь: пацієнти з CT- і TT- генотипами потребують значно більш високої дози варфарину, ніж із генотипом TT [10].

Kinoshita et al., враховуючи участь GGCX у посттрансляційній модифікації остеокальцину та матриксного Gla-протеїну, які відіграють важливу роль у метаболізмі кісткової тканини і кальцифікації м′яких тканин, припустили, що варіабельність гена GGCX може бути пов’язана з розвитком остеопорозу. Дослідниками була з’ясована асоціація Arg325Gln-поліморфізму з показниками мінеральної щільності кісток серед

© Сумський державний університет, 2014

японських жінок похилого віку. Цей показник був достовірно вищим у гомозигот за мінорним алелем (Gln/Gln), ніж у носіїв основного алеля (Arg/Arg, Arg/Gln) [11]. Watzka et al. не виявили зв'язку між поліморфними варіантами генів VKORC1, NQO1 і GGCX та рівнем вітамін-К-залежних факторів коагуляції серед населення Німеччини [12]. У дослідженнях Marieke et al. не доведена асоціація між гаплотипами генів VKORC1 та GGCX і ризиком венозного тромбозу. Серед вивчених показників гемостазу лише активність II фактора згортання крові залежала від H1-гаплотипу гена GGCX [13].

Серед незначної кількості праць, присвячених генетичним факторам розвитку ішемічного інсульту, дослідження Shyu et al., які виявили статистично значущими протективний ефект поліморфізмів Arg325Gln (ген GGCX), G-1639A (ген VKORC1) та Pro187Ser (ген NQO1) відносно ризику виникнення ішемічного інсульту. Синергізм досліджуваних локусів був більш вираженим у пацієнтів, які не вживали спиртних напоїв та не палили [14]. Vanakker et al. показали, що генетичний поліморфізм 8-го екзона Arg325Gln гена GGCX знижує карбоксилазну активність та індукує дефіцит вітамін-К-залежних факторів згортання крові. Учені зробили висновок, що генетична мінливість GGCX є фактором ризику тяжких неонатальних кровотеч [15]. Kimura et al. досліджували вплив поліморфізмів генів GGCX, VKORC1 та CALU на активність С- та S-протеїнів у японській популяції. Жінки, які були гомозиготами за основним алелем (Arg325Gln-поліморфізм гена GGCX), мали значущо вищий рівень активності протеїну С, ніж гетерозиготи та гомозиготи за мінорним алелем [16].

У наших дослідженнях доведено, що поліморфізм 8-го екзона Arg325Gln гена GGCX асоційований із розвитком ГКС.

Висновки

1 У гомозигот за мінорним алелем (Gln/Gln) ризик ГКС удвічі більший, ніж у гомозигот за основним алелем (Arg/Arg).

2 У представників Arg/Gln- і Arg/Arg-генотипів показники ДАТ і СрАТ достовірно вищі у хворих із ГКС, ніж у контролі.

3 Серед осіб із підвищеним артеріальним тиском, які мають генотип Gln/Gln, ризик розвитку ГКС у 3,3 раза більший, ніж у гомозигот за основним алелем (Arg/Arg).

References (список літератури)

1. Kovalenko VM, Kornatskii VM. *Dynamika stanu zdorovia narodu Ukraiiny ta rehionalni osoblyvosti* [Analitychno-statystychnyi posibnyk]. Kyiv: SPD FO Publ., 2012. 210 p.
2. Bohatyriova RV., Kovalenko VM. *Natsionalna stratehia profilaktyky i likyvania arterialnoi hipertenzii v Ukraiini* [National program for prevention and treatment of arterial hypertension in Ukraine]. Kyiv: MORION Publ., 2012. 120 p.
3. Carlisle TL. Vitamin K-dependent carboxylase: subcellular location of the carboxylase and enzymes involved in vitamin K metabolism in rat liver. *Biochemistry*. 1980;19:1161–1167.
4. Presnell SR., Stafford W. The vitamin K-dependent carboxylase. *Thromb. Haemost*. 2002;87(6):937–946.
5. Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, Jones RH, Kereiakes D, Kupersmith J, Levin TN, Pepine CJ, Schaeffer JW, Smith EE, Steward DE, Theroux P, Gibbons RJ, Alpert JS, Eagle KA, Faxon DP, Fuster V, Gardner TJ, Gregoratos G, Russell RO, Smith SC Jr. ACC/AHA guidelinesfor the management of patients with unstable angina and non ST-elevation myocardial infarction: executive summary and recommendations. A report of the american college of cardiology. *Circulation*. 2000;102:1193–1209.
6. Bertrand ME, Simoons ML, Fox KA, Wallentin LC, Hamm CW, McFadden E, De Feyter PJ, Specchia G, Ruzyllo W. Management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur. Heart J*. 2002;23:1809–1840.
7. World Health Organization. Nomenclature and criteria for diagnosis of ischemic heart disease. *Circulation*. 1979;59:607–609.
8. Rieder MJ, Reiner AP, Rettie AE. γ-Glutamyl carboxylase (GGCX) tag SNPs have limited utility for predicting warfarin maintenance dose. *J. Thromb. Haemost*. 2007;5:2227–2234.
9. Shikata E, Ieiri I, Ishiguro S, Aono H, Inoue K, Koide T, Ohgi S, Otsubo K. Association of pharmacokinetic (CYP2C9) and pharmacodynamic (factors II, VII, IX, and X; proteins S and C; and gamma-glutamyl carboxylase) gene variants with warfarin sensitivity. *Blood*. 2004;103:2630–2635.
10. Kamali X, Wulasihan M, Yang YC, Lu WH, Liu ZQ, He PY. Association of GGCX gene polymorphism with warfarin dose in atrial

© Сумський державний університет, 2014

fibrillation population in Xinjiang. *Lipids Health Dis*. 2013;12(1):149. doi: 10.1186/1476-511X-12-149.49

11. Kinoshita H, Nakagawa K, Narusawa K, Goseki-Sone M, Fukushi-Irie M, Mizoi L, Yoshida H, Okano T, Nakamura T, Suzuki T, Inoue S, Orimo H, Ouchi Y, Hosoi T. A functional single nucleotide polymorphism in the vitamin–K–dependent gamma–glutamyl carboxylase gene (Arg325Gln) is associated with bone mineral density in elderly Japanese women. *Bone*. 2007;40:451–456.
12. Watzka M, Westhofen P, Hass M, Marinova M, Pötzsch B, Oldenburg J. Polymorphisms in VKORC1 and GGCX are not major genetic determinants of vitamin K-dependent coagulation factor activity in Western Germans. *Thromb. Haemost*. 2009;102:418–420.
13. de Visser M, Roshani S, Rutten JW, van Hylckama A, Vos HL, Rosendaal FR, Reitsma PH. Haplotypes of VKORC1, NQO1 and GGCX, their effect on activity levels of vitamin K-dependent coagulation factors, and the risk of venous thrombosis. *Thrombosis and Haemostasis*. 2011;4:53–60.
14. Shyu G HY, Fong CS, Fu YP, Shieh JC, Yin JH, Chang CY, Wang HW, Cheng CW. Genotype polymorphisms of GGCX, NQO1, and VKORC1 genes associated with risk susceptibility in patients with large-artery atherosclerotic stroke. *Clin. Chim. Acta*. 2010;411:840–845.
15. Vanakker OM, Coen KDe, Costrop L. Functional polymorphism in gamma-glutamylcarboxylase is a risk factor for severe neonatal hemorrhage. *J. Pediatr*. 2011;159(2):347–349.
16. Kimura R, Kokubo Y, Miyashita K, Otsubo R, Nagatsuka K, Otsuki T, Sakata T, Nagura J, Okayama A, Minematsu K, Naritomi H, Honda S, Sato K, Tomoike H, Miyata T. Polymorphisms in vitamin K-dependent gamma-carboxylation-related genes influence interindividual variability in plasma protein C and protein S activities in the general population. *Int. J. Hematol*. 2006;84(5):387–397.

(received 22.01.2014, published online 15.03.2014)

(отримано 22.01.2014, опубліковано 15.03.2014)

© Сумський державний університет, 2014