

лазером „Granum” и, для сравнения, провели традиционное лечение. Установлено, что включение фотоактивированной дезинфекции в классическую схему лечения больных генерализованным пародонтитом позволяет повысить эффективность лечения при отсутствии побочных эффектов от применения антисептических и антибактериальных средств.

**Ключевые слова:** генерализованный пародонтит, фотодинамотерапия, диодный лазер, фотосинтеза.

Стаття надійшла 24.02.2014 р.

diode laser „Granum” was used and in comparison, others had conventional treatment. It was found that, inclusion photoactivation desinfection in the classical scheme of treatment of patients with generalized periodontitis allows to increase the effectiveness of treatment with decreasing side effects from the use of antiseptic and antibacterial agents.

**Key words:** generalized periodontitis, photodynamic therapy, diode laser, photosensitizer.

Рецензент Ковальов С.В.

УДК 616.831-005.1/6:548.33

О.І. Матлай

Сумський державний університет, м. Суми

### ВИВЧЕННЯ ЗВ'ЯЗКУ ДЕЯКИХ АНТРОПОМЕТРИЧНИХ ДАНИХ З С677Т ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНА N5,N10- МЕТИЛЕНТЕТРАГІДРОФОЛАТРЕДУКТАЗИ У ХВОРИХ З ІШЕМІЧНИМ АТЕРОТРОМБОТИЧНИМ ІНСУЛЬТОМ

Представлено результати визначення С677Т (rs1801133) поліморфізму гена N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>-метилентетрагідролатредуктази у 170 хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом та 124 індивідуумів без цієї патології (контрольна група). Встановлено, що у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом співвідношення гомозигот за основним алелем (С/С), гетерозигот (С/Т) і гомозигот за мінорним алелем (Т/Т) складає 52,4 %, 35,9 % і 11, 8% (у контрольній групі – відповідно 46,0 %, 48,4 %, 5,6 %, P = 0,044 за  $\chi^2$ -критерієм). Відсутній зв'язок С677Т поліморфізму гена N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>- МТНFR з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту в осіб з нормальним і збільшеним індексом маси тіла в українській популяції.

**Ключові слова:** алейний поліморфізм, ішемічний інсульт, індекс маси тіла.

*Робота є фрагментом НДР "Визначення ролі поліморфізму поодиноких нуклеотидів у розвитку склеротичних уражень кровоносних судин", № 91.01.01.11-12.*

Надмірна вага тіла (індекс маси тіла від 25 до 29) та ожиріння (індекс маси тіла від 30 і вище) є модифікованими факторами ризику розвитку серцево-судинних захворювань, в тому числі й ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАІТ), який є основною причиною захворюваності, інвалідності та смертності в усьому світі [21]. По всій Європі страждають надмірною вагою - близько 20% та ожирінням близько 50% населення, при цьому Центральна та Східна Європа - найбільш постраждалі райони. Зайва вага сприяє підвищенню вмісту в крові холестерину, що сприяє еволюції атеросклерозу [2], у прогресуванні якого важливу роль відіграє ендотеліальна дисфункція (ЕД) [1]. Серед багатьох причин, які впливають на розвиток ЕД важливе місце займає надлишок гомоцистеїну. Рівень гомоцистеїну в крові контролює ферментна система, одним із компонентів якої є N5,N10- МТНFR. Фермент кодується геном МТНFR, що локалізується на короткому плечі першої хромосоми (1p36.3) і складається з 11 екзонів. Більшість алейних варіантів цього гена (близько 600 SNP) рідкісні [19]. Основними клінічно значущими є два поліморфізми: С677Т в екзоні 4 і А1298С в екзоні 7 [10, 12]. Дослідження зв'язку С677Т поліморфізму гена МТНFR з розвитком ІАІТ в осіб з надмірною вагою є неоднозначним, що спонукало до вивчення цього питання щодо української популяції.

**Метою** роботи було проведення аналізу асоціації деяких антропометричних показників (зросту, маси тіла та індексу маси тіла) з С677Т поліморфізмом гена N5,N10- МТНFR з у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом.

**Матеріал та методи дослідження.** Для аналізу використано венозну кров 170 хворих з ІАІТ (42,4 % жінок і 57,6 % чоловіків) віком від 40 до 85 років (середній вік – 64,7±0,73 роки), що перебували на диспансерному обліку в поліклінічному відділенні Сумської клінічної лікарні № 5. Контрольна група складалася зі 124 пацієнтів (36,3 % жінок і 63,7 % чоловіків), середній вік склав 76,7±0,93 роки. Ці групи не відрізнялися за співвідношенням осіб різної статі (P = 0,294 за  $\chi^2$ -критерієм), проте середній вік першої (76,7±0,93 роки) був істотно вищим, ніж другої (P < 0,001). Патогенетичний варіант інсульту визначали відповідно до критеріїв TOAST [4], на підставі анамнестичних даних і особливостей клінічного перебігу хвороби, даних ультразвукової доплерографії магістральних артерій голови, ЕКГ. Ішемічний характер інсульту встановлювався за даними анамнезу і клінічної картини хвороби, даних КТ-дослідження головного мозку. У групі контролю відсутність серцево-судинної патології підтверджували шляхом збирання анамнестичних даних, зняття електрокардіограми і вимірювання артеріального тиску. Маса тіла вимірювалася механічними вагами при госпіталізації або при покращенні стану пацієнтів. На основі антропометричних даних розраховували індекс маси тіла (ІМТ) за формулою:  $IMT = m (kg) / h^2 (m)$ .

Визначення С677Т (rs1801133) поліморфізму гена МТНFR проводили за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів при виділенні їх шляхом електрофорезу в агарозному гелі.

Для генотипування венозну кров набирали в стерильних умовах в моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти ("Sarstedt", Німеччина), що слугувала антикоагулянтом. Кров заморожували і зберігали при температурі – 20 °С. ДНК з неї виділяли, використовуючи набори "Изоген" (Росія). Ампліфікацію ділянки гена, що містить сайт С677Т поліморфізму, проводили за допомогою пари специфічних праймерів: прямого (sense) – 5' GTCATCCSTATTTGGCAGGTTAC3' і зворотного (antisense) – 5' CTGAGAGGAGATCTGGGAAGAA 3'. Праймери було синтезовано фірмою "Metabion" (Німеччина). Для ампліфікації брали 50-100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буферу, 1,5 мМ сульфату магнію, 200 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 15 рМ кожного з праймерів і 0,75 ОД Таq-полімерази ("Ферментас", Литва), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. PCR проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 ("Applied Biosystems", США). Ампліфікація фрагмента, що містив стартову ділянку, складалася з 33 циклів: денатурація – 94 °С (50 с), гібридизація праймерів – 64,5 °С (45 с) і елонгація – 72 °С (1 хв). Для рестрикційного аналізу 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37°С протягом 20 годин з 3 ОД рестриктази HinfI ("Thermo Scientific", США) у буфері R такого складу: 10 мМ тріс-НСl (рН 8,5), 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 100 мМ KCl, 0,1 мг/мл альбумину. Наявність у 677 позиції гена МТНFR цитозину перешкоджає рестрикції, а при його заміні на тимін рестриктаза розщеплює ампліфіковану ділянку (довжина – 334 пари азотистих основ) на два фрагменти – 241 і 93 пари основ. Ампліфікати вивченого фрагмента гена МТНFR після рестрикції розділяли в 2,5 % агарозному гелі, що містив 10 мкг/мл бромистого етидію. Горизонтальний електрофорез (0,13А; 200V) проводили протягом 25 хв. Візуалізацію ДНК після електрофорезу здійснювали за допомогою транслюмінатора ("Біоком", Росія).

Статистичний аналіз проводили з використанням програми SPSS-17. При цьому достовірність відмінностей визначали за  $\chi^2$ -критерієм. Значення  $P < 0,05$  вважали достовірним.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Генотипування хворих з ІАТІ та пацієнтів контрольної групи за С677Т поліморфізмом гена МТНFR дало змогу встановити частоту, з якою зустрічаються окремі варіанти цього гена, порівняти її між групами загалом, а також у пацієнтів з нормальним і збільшеним індексом маси тіла.

Так, встановлено, що у хворих з ІАТІ співвідношення гомозигот за основним алелем (С/С), гетерозигот (С/Т) і гомозигот за мінорним алелем (Т/Т) складає 52,4 %, 35,9 % і 11,8 %, а в контрольній групі – відповідно 46,0 %, 48,4 %, 5,6 %. При цьому відмінності в розподілі частот зазначених генотипів між групою хворих з ІАТІ та контрольною групою були статистично достовірними ( $P = 0,044$  за  $\chi^2$ -критерієм). У табл. 1 наведено дані про величини зросту, маси тіла, індексу маси тіла (ІМТ) у хворих з ІАТІ і у пацієнтів контрольної групи залежно від їхнього генотипу за С677Т поліморфізмом гена МТНFR. Як випливає з результатів дослідження, відмінності між середніми величинами всіх показників (зросту, маси тіла та ІМТ) були недостовірними як у контрольній групі, так і у хворих з ІАТІ ( $P > 0,05$ ).

Щодо порівняння між групами, то виявлено певні відмінності. Так, у хворих на ІАТІ жінок із генотипом С/Т зріст, а з генотипом С/С зріст і маса тіла були значно більшими, ніж у осіб контрольної групи з відповідним генотипом (табл. 2). Це не впливало на ІМТ, що можна було пояснити пропорційністю відхилень показників зросту і маси тіла. У свою чергу чоловіки-гетерозиготи (С/Т) з ішемічним атеротромботичним інсультом мали відмінності за зростом та масою тіла. Гомозиготи чоловічої статі за основним алелем (С/С) таку різницю мали лише за зростом, порівняно з практично здоровими особами чоловічої статі відповідного генотипу, що також не впливало на ІМТ (табл. 2).

Таблиця 1

**Показники зросту, маси тіла та ІМТ загалом в групах порівняння залежно від варіантів генотипу С677Т поліморфізмом гена МТНFR (M±m)**

Показники		С/С	С/Т	Т/Т	Разом	P
Зріст, см	Контроль	162,13±1,4 (56)	163,48±1,19 (60)	170,0±4,1 (7)	163,24±0,9 (123)	0,140
	ІАТІ	168,85±8,8 (89)	169,5±1,08 (61)	167,6±1,8 (20)	168,94±0,6(170)	0,655
Маса тіла, кг	Контроль	74,23±2,21	72,27±1,58	79,43±7,2	73,57±1,33	0,432
	ІАТІ	80,03±1,14	81,77±2,02	78,65±2,6	80,5±0,99	0,574
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	Контроль	28,23±0,72	27,09±0,59	27,43±2,2	27,63±0,45	0,473
	ІАТІ	28,1±0,40	28,45±0,64	28,07±0,3	28,23±0,33	0,884

Примітка: P – статистична значимість відмінностей середніх величин. У дужках – кількість пацієнтів.

При поділі пацієнтів на тих, що мають ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup>, і тих, у кого ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup>, порівняння частоти досліджуваних генотипів дало такі результати (табл. 3). Як у контрольній групі, так і у хворих з ІАТІ, розподіл трьох можливих варіантів генотипу за С677Т поліморфізмом гена МТНFR не відрізнявся у

пацієнтів з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> і в осіб з ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup>. Не виявлено відмінностей і при порівняння хворих з ІАТІ та пацієнтів контрольної групи, що мали ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> (P = 0,276), так і ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup> (P = 0,141).

Суть однонуклеотидного С677Т (Ala222Val, rs1801133) поліморфізму гена МТНFR полягає в тому, що в сайті зв'язування фолату відбувається заміна амінокислотного залишку аланіну на залишок валіну. У результаті мутації утворюється варіант ферменту N5,N10-метилентетрагідрофолат редуктази (МТНFR) з порогом термолабільності 55°C, що має вдвічі знижену активність. У гомозигот за Т-аллелю активність ферменту *in vitro* знижена на 70 %, а у гетерозигот - на 35 %. При зниженні активності МТНFR порушується доставка і метаболізм фолієвої кислоти, що призводить до накопичення гомоцистеїну в плазмі крові і розвитку гіпергомоцистеїнемії [3, 11, 14, 15, 23].

Велика кількість досліджень свідчить про відмінності у розподілі генотипу за С677Т поліморфізмом у різних популяціях світу. Його частота серед населення нашої планети варіює від повної відсутності у деяких африканських племен до 0,55 в іспанців [24].

Таблиця 2

**Показники зросту, маси тіла та ІМТ в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу С677Т поліморфізмом гена МТНFR (M±m)**

Показники		С/С	С/Т	Т/Т	F	P <sub>1</sub>
<i>жінки</i>						
Зріст, см	Контроль	155,9±1,76(26)	155,6±2,14(16)	161,0±3,0(2)	0,365	0,697
	ІАТІ	164,2±0,97(37)	163,5±0,94(28)	160,7±1,9(7)	1,210	0,304
	P <sub>2</sub>	0,0001	0,0004	0,9415		
Маса тіла, кг	Контроль	71,8±2,25	66,6±3,27	69,0±1,0	0,941	0,399
	ІАТІ	79,4±1,64	75,9±2,6	75,1±5,92	0,801	0,453
	P <sub>2</sub>	0,0069	0,0337	0,6163		
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	Контроль	29,6±0,98	27,5±1,33	26,7±1,38	1,066	0,354
	ІАТІ	29,5±0,65	28,4±0,95	29,1±2,29	0,425	0,656
	P <sub>2</sub>	0,9297	0,5788	0,6131		
<i>чоловіки</i>						
Зріст, см	Контроль	167,5±1,6(30)	166,34±1,2(44)	173,6±4,8(5)	1,688	0,192
	ІАТІ	172,15±1,2(52)	174,61±1,3(33)	171,3±1,9(13)	1,427	0,245
	P <sub>2</sub>	0,0139	0,0001	0,5924		
Маса тіла, кг	Контроль	76,37±3,6	74,34±1,7	83,6±9,7	0,821	0,444
	ІАТІ	80,5±1,6	86,73±2,8	80,54±2,6	2,508	0,087
	P <sub>2</sub>	0,2342	0,0002	0,6735		
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	Контроль	27,0±0,99	26,95±0,65	27,74±3,1	0,058	0,944
	ІАТІ	27,14±0,48	28,5±0,87	27,49±0,9	1,116	0,332
	P <sub>2</sub>	0,8868	0,1490	0,9165		

Примітка: F – критерій Фішера, P<sub>1</sub> і P<sub>2</sub> – значимість відмінностей між генотипами за даними однофакторного дисперсійного аналізу (P<sub>1</sub>) і між контролем та ІАТІ за t-критерієм Стьюдента (P<sub>2</sub>). У дужках – кількість пацієнтів.

Дослідження зв'язку між варіантом С677Т і серцево-судинними захворюваннями показало, що гомозиготи за С677Т поліморфізмом гена МТНFR зустрічається набагато частіше у пацієнтів з кардіоваскулярними захворюваннями, ніж у здорових донорів.

Таблиця 3

**Зв'язок С677Т поліморфізму гена МТНFR з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАТІ) в осіб з ІМТ (ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> та ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup>)**

Показники	Генотип		Контроль	ІАТІ
ІМТ < 25 кг/м <sup>2</sup>	С/С	n	17	22
		%	44,7	53,6
	С/Т	n	19	14
		%	50,0	34,2
	Т/Т	n	2	5
		%	5,3	12,2
Разом	n	38	41	
$\chi^2 = 2,574; P = 0,276$				
ІМТ ≥ 25 кг/м <sup>2</sup>	С/С	n	39	67
		%	46,0	52,0
	С/Т	n	41	47
		%	48,2	36,4
	Т/Т	n	5	15
		%	5,8	11,6
Разом	n	85	129	
$\chi^2 = 3,924; P = 0,141$				

Примітка: подано частоту генотипу в абсолютних одиницях і відсотках. P – статистична значимість відмінностей між порівнюваними групами за  $\chi^2$ -критерієм



15. Kang S. S. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for occlusive vascular disease / S. S. Kang, P.W.K. Wong, M. R. Malinow // Annu Rev Nutr.- 1992.-Vol. 12.-P. 279-298.
16. Kluijtmans Leo A. J. Molecular Genetic Analysis in Mild Hyperhomocysteinemia: A Common Mutation in the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Is a Genetic Risk Factor for Cardiovascular Disease / Leo A. J. Kluijtmans, Lambert P. W. J. van den Heuvel, Godfried H. J. Boers [et al.] // Am. J. Hum. Genet. -1996.-Vol.-58.-P.35-41.
17. Kluijtmans L. A. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease / L. A. Kluijtmans, J. J. Kastelein, J. Lindemans [et al.] // Circulation.- 1997.-Vol. 96.- P. 2573-2577.
18. Pasquale M. Hyperhomocysteinemia and Other Inherited Prothrombotic Conditions in Young Adults With a History of Ischemic Stroke / Pasquale Madonna, Valentino de Stefano, Antonio Coppola [et al.] // Stroke.- 2002.-Vol.33.-P.51-56.
19. Sibani S. Characterization of six novel mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in patients with homocystinuria / S. Sibani, B. Christensen, E.O' Ferrall [et al.] // Hum Mutat. – 2000.-Vol.15(3).-P. 280 - 287.
20. Szczeklik A. Mutation A1298C of methylenetetrahydrofolate reductase: risk for early coronary disease not associated with hyperhomocysteinemia / A. Szczeklik, M. Sanak, M. Jankowski [et al.] // Am J Med Genet. - 2001.-Vol.101.-P.36-39.
21. Tu J.V. Reducing the global burden of stroke: INTERSTROKE / J. V. Tu // Lancet. – 2010. – Vol. 376.- P. 74 – 75.
22. Wilcken D. E. Distribution in healthy and coronary populations of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T mutation / D. E. Wilcken, X. L. Wang, A. S. Sim [et al.] // Arterioscler Thromb Vasc Biol.- 1996.-Vol.16.-P.878-882.
23. Weisberg I. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity / I. Weisberg, P. Tran, B. Christensen [et al.] // Mol. Genet. Metab. – 1998. – Vol.64. -P.169-172.
24. Wilcken B. Geographical and ethnic variation of the 677C-T allele of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas worldwide / B. Wilcken, F. Bamforth, Z. Li [et al.] // J Med Genet.- 2003.-Vol. 40.-P. 619-625.

### Реферати

#### ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗИ НЕКОТОРЫХ АНТРОПО- МЕТРИЧЕСКИХ ДАННЫХ С С677Т ПОЛИМОР- ФИЗМОМ ГЕНА N5, 10- МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРО- ФОЛАТРЕДУКТАЗЫ У БОЛЬНЫХ С ИШЕМИ- ЧЕСКИМ АТЕРОТРОМБОТИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

Маглай О. И.

Представлены результаты определения С677Т (rs1801133) полиморфизма гена N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>- метилентетрагидрофолатредуктазы у 170 больных с ишемическим атеротромботическим инсультом и 124 индивидуумов без этой патологии (контрольная группа). Установлено, что у больных с ишемическим атеротромботическим инсультом соотношение гомозигот по основному аллелю (С/С), гетерозигот (С/Т) и гомозигот по минорному аллелю (Т/Т) составляет 52,4 %, 35,9 % и 11,8 % (в контрольной группе - соответственно 46,0 %, 48,4 %, 5,6 %, P = 0,044 по  $\chi^2$ -критерию). Отсутствует связь С677Т полиморфизма гена N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>-МТНФР с развитием ишемического атеротромботического инсульта у лиц с нормальным и повышенным индексом массы тела в украинской популяции.

**Ключевые слова:** аллельный полиморфизм, ишемический инсульт, индекс массы тела.

Стаття надійшла 07.03.2014 р.

#### STUDY OF COMMUNICATION WITH SOME ANTHROPOMETRIC DATA OF C677T POLYMORPHISM METILENTETRAHIDROFOLAT REDUCTASE GENE IN PATIENTS WITH ATHEROTHROMBOTIC ISCHEMIC STROKE

Matlay O. I.

The determination results of C677T (rs1801133) polymorphism methylenetetrahydrofolate reductase in 170 patients with ischemic atherothrombotic stroke and 124 individuals without this pathology (control group). It has been established that in patients with ischemic atherothrombotic stroke value homozygotes for the major allele (C/C), heterozygotes (C/T) and homozygotes for the minor allele (T/T) is 52,4 %, 35,9 % and 11,8 % (in the control group - respectively 46,0 %, 48,4 %, 5,6 %, P = 0,044 for the  $\chi^2$ - test). The association of C677T polymorphism N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>-MTHFR gene with the development of atherothrombotic ischemic stroke in patients with normal and increased body mass index was not found. However, there are other risk factors for atherothrombotic ischemic stroke that make it necessary to continue research in this area.

**Key words:** allelic polymorphism, ischemic stroke, body mass index.

Рецензент Литвиненко Н.В.

УДК 616.432:616-006:616.71-007.152:616-007.61:612.433.664

М. Р. Микитюк, О. О. Хижняк

Харьковская медицинская академия последипломного образования, ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского НАМН Украины», г. Харьков

#### РОЛЬ ЛЕПТИНА В ПАТОГЕНЕЗЕ КАРДИАЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ АКРОМЕГАЛИЕЙ

Показано, что лептин является предиктором увеличения линейных показателей левого желудочка у больных с активной формой акромегалии (n=60). Представлены результаты пошагового мультифакторного регрессионного анализа, иллюстрирующие как прямое, так и опосредованное влияние лептина на формирование гипертрофии миокарда левого желудочка у больных акромегалией.

**Ключевые слова:** акромегалия, гормон роста, лептин, гипертрофия миокарда левого желудочка.

В настоящее время под термином «акромегалоидная кардиомиопатия» понимают концентрическую билатеральную гипертрофию желудочков сердца с интерстициальным фиброзом, в типичных случаях без их дилатации, сформировавшуюся на фоне длительной гиперсекреции соматотропного гормона гипофиза (СТГ) и инсулиноподобного ростового фактора-1 (ИФР-1), и приведшую к нарушению функциональных параметров сердечной деятельности [13]. Гипертрофию левого