



Генетика метаболизма гомоцистеина и риск тромботических исходов у больных ИБС (результаты 4-х летнего проспективного наблюдения)

Комаров А.Л.¹, Шахматова О.О.¹, Коткина Т.И.¹,
Ребриков Д.В.², Деев А.Д.³, Панченко Е.П.¹

1. НИИ Кардиологии РКНПК Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи,
2. ЗАО «НПФ ДНК-Технология»,
3. ГНИЦ Профилактической медицины Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи

Повышение уровня гомоцистеина - независимый предиктор развития ишемических сосудистых событий

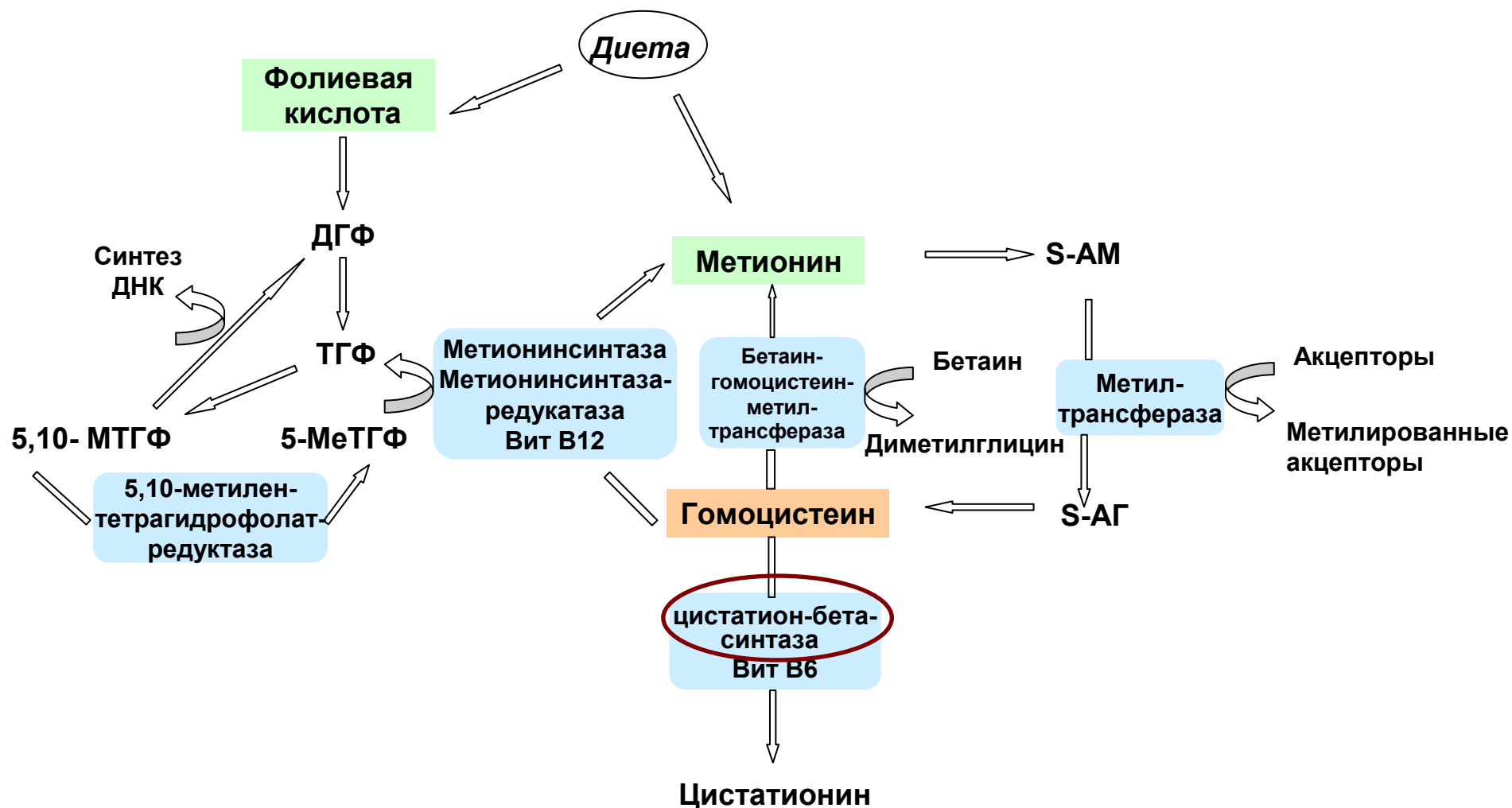
Метаанализ 30 эпидемиологических ретро- и проспективных исследований (1966 - 1999 гг), включивших 16786 человек:

Относительный риск сосудистых событий при 25% снижении уровня гомоцистеина

ОР [95% ДИ]				
	Events, No.*	Age and Sex	Age, Sex, and Smoking	Age, Sex, Smoking, and Systolic Blood Pressure
ИБС	1855	0.83 (0.77-0.90) $\chi^2 = 24$	0.85 (0.78-0.91) $\chi^2 = 20$	0.89 (0.82-0.96) $\chi^2 = 10$
НМК	435	0.77 (0.66-0.90) $\chi^2 = 11$	0.78 (0.67-0.91) $\chi^2 = 10$	0.81 (0.69-0.96) $\chi^2 = 6$
				Age, Sex, Smoking, Systolic Blood Pressure, and Total Cholesterol Level
				↓OP 11%
				↓OP 19%

Homocysteine Studies Collaboration, 2002

Метаболизм гомоцистеина



S-AM=S-аденозилметионин, S-АГ=S-аденозилгомоцистеин, ДГФ=дигидрофолат, ТГФ=тетрагидрофолат

5-МеТГФ=5-метилтетрагидрофолат, 5,10-МТГФ=5,10-метилентетрагидрофолат

Генетические причины нарушения обмена гомоцистеина



Гомоцистеинурия

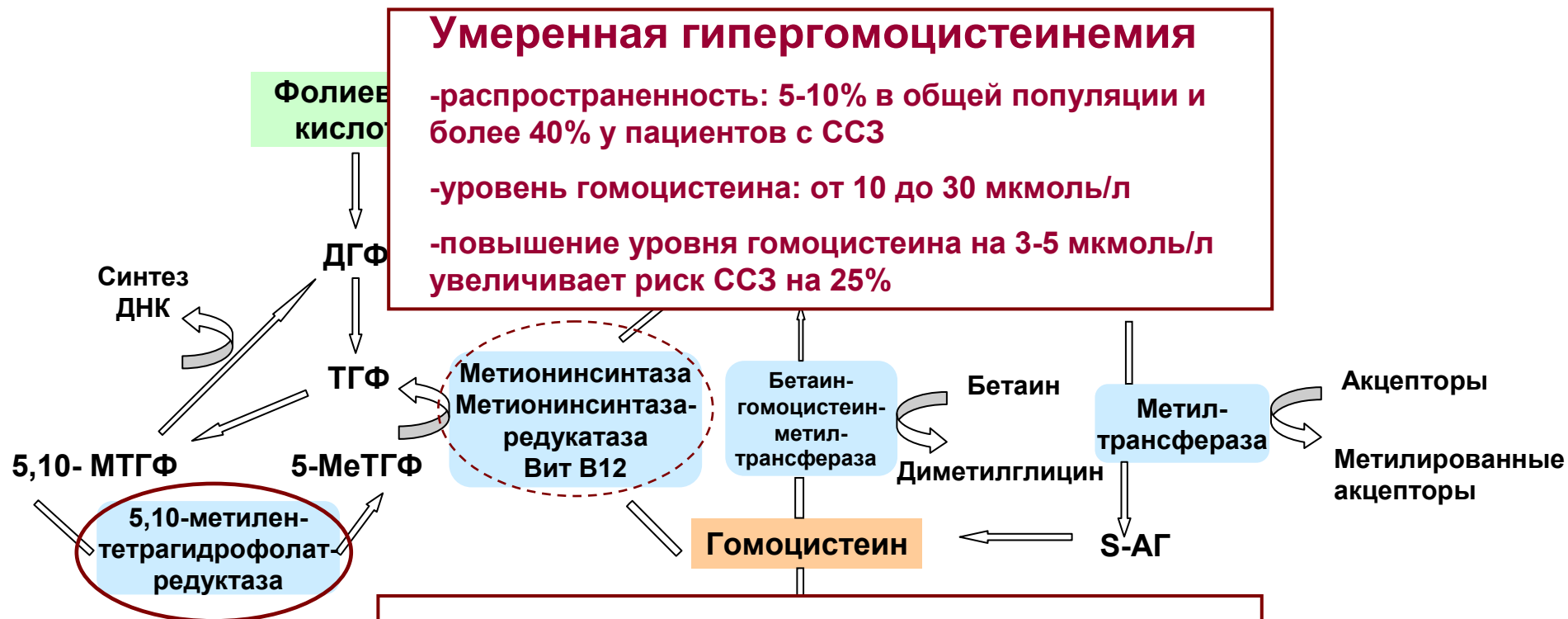
DNA Mutation	Amino Acid Substitution
373C→T	R125W
456C→G	I152M
494G→A	C165Y
539T→C	V180A
833T→C	I278T
1105C→T ^b	R369C
1111G→A	V371M
1301C→A	T434N
1330G→A	D444N
1471C→T ^b	R491C

S-AM=

цистеин, ДГФ=дигидро

5-МетТГФ=5-метилтетрагидрофолат, 5,10-МТГФ=5,10-метилентетрагидрофолат

Генетические причины нарушения обмена гомоцистеина



Доказанное влияние

MTHFR C667T

Полиморфизмы-кандидаты

MTRRA66G

MTRA2756G

TCN C776G

S-AM=S-аденозилметионин,

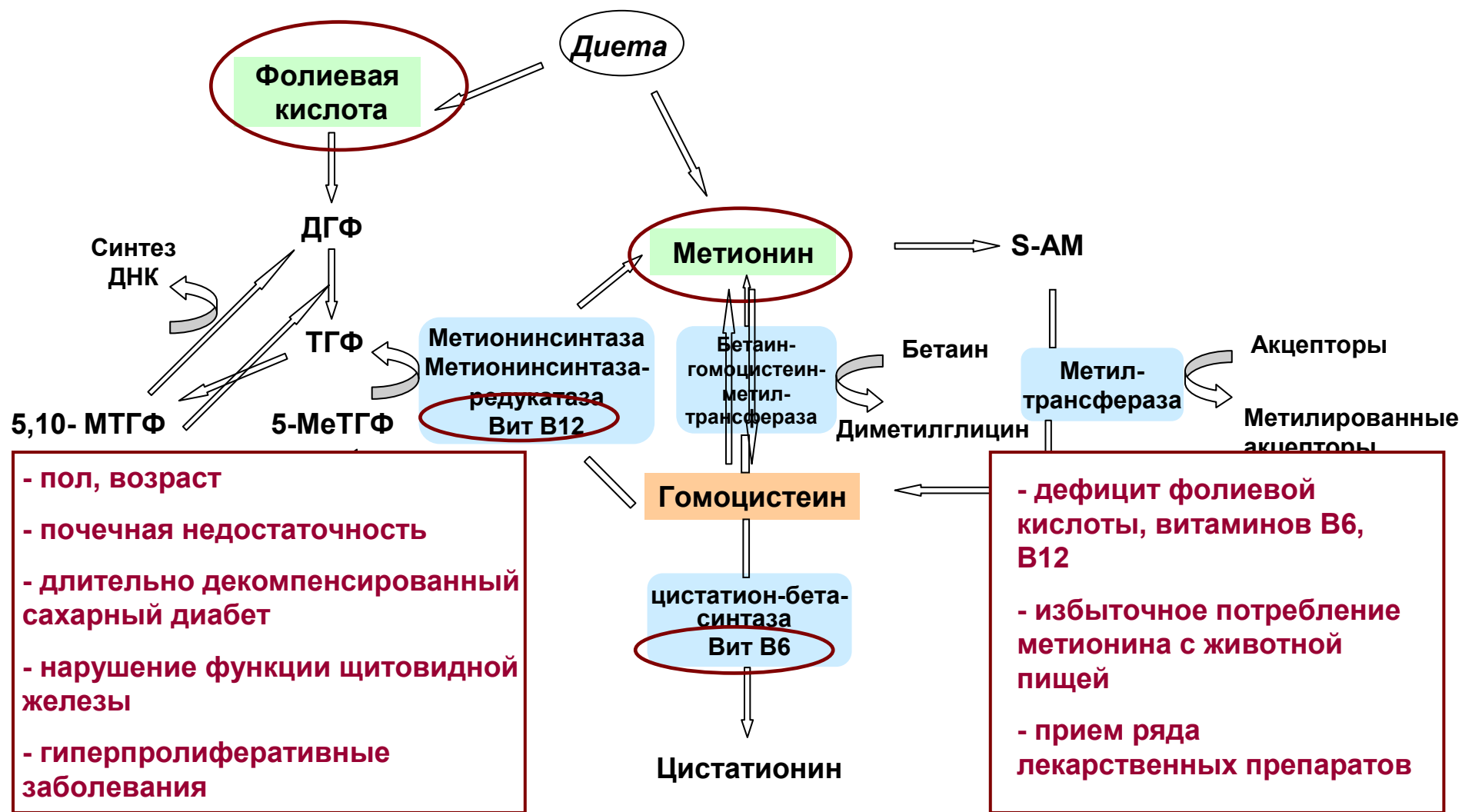
рофолат

5-МТГФ=5-метилтетрагидрофолат, 5,10-МТГФ=5,10-метилентетрагидрофолат

Аллельные варианты генов, продукты которых принимают участие в транسمетилировании гомоцистеина

Аллельный вариант	MTHFR C667T	MTR A2756G	MTRR A66G	TCN C776G
Белок	Метилентетрагидро- фолатредуктаза (MTHFR)	Метионинсинтаза (MTR)	Метионинсинтаза- редуктаза (MTRR)	Транскобаламин II (TCN)
Функция белка	Синтез донора метильной группы для реметилирования гомоцистеина	Реметилирование гомоцистеина	Восстановление кофактора метионинсинтазы кобаламина I из окисленной формы кобаламина II	Перенос витамина B12 в клетку
Изменение функции белка у носителей аллельного варианта	Термолабильность У гомозигот – 35% от ферментативной активности «дикого» генотипа, у гетерозигот – 70%.	Нет данных	↓ аффинность к MTR	↓ аффинность транскобаламина II к витамину B12 и его транспортная способность

Факторы, определяющие уровень гомоцистеина



S-AM=S-аденозилметионин, S-АГ=S-аденозилгомоцистеин, ДГФ=дигидрофолат, ТГФ=тетрагидрофолат

5-МеТГФ=5-метилтетрагидрофолат, 5,10-МТГФ=5,10-метилентетрагидрофолат

Цель исследования

В российской популяции больных стабильной ИБС изучить клинические и генетические факторы, определяющие уровень гомоцистеина, и установить взаимосвязь нарушений его обмена с развитием ишемических сосудистых событий.

Критерии включения

**АМБУЛАТОРНЫЕ БОЛЬНЫЕ СТАРШЕ 35 ЛЕТ
СО СТАБИЛЬНЫМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ ИБС
(не менее одного критерия):**

- стабильная стенокардия II – III ФК
- анамнез нестабильной стенокардии или инфаркта миокарда > 1 месяца назад
- коронарное шунтирование или чрескожное коронарное вмешательство в анамнезе

Критерии исключения

Факторы, заведомо приводящие к изменению уровня гомоцистеина	Предполагаемый дефицит фолата или витамина В12
• Креатинин > 160 мкмоль/л • Печеночная недостаточность • Нарушения функции щитовидной железы (гипо- и гиперфункция) • Гиперпролиферативные состояния (онкология и коллагенозы) • Прием ряда лекарственных препаратов за 30 суток до включения в исследование*	• Клинические признаки дефицита фолата или витамина В12 • Анемия (Hb < 120 г/л у мужчин, <110 г/л у женщин) • Заболевания ЖКТ с нарушением всасывания

*-поливитамины, теофиллины, фибраты, ниацин, секвестранты желчных кислот, оральные контрацептивы, противосудорожные препараты, антифолаты, леводопа, циклоспорин А, сульфасалазин, изониазид

ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

ВКЛЮЧЕНИЕ В ИССЛЕДОВАНИЕ

- Возраст > 35 лет
- Документированная стабильная ИБС
- Терапия:
антиагреганты
статины,
β-блокаторы,
ИАПФ

ОБСЛЕДОВАНИЕ

1. Оценка классических факторов риска
2. Оценка поражения основных сосудистых бассейнов
3. Оценка уровня гомоцистеина, фолата, кобаламина
4. Генотипирование (гены, кодирующие белки метаболизма гомоцистеина)

ПРОСПЕКТИВНОЕ НАБЛЮДЕНИЕ 48 месяцев

Конечные точки

1. Атеро-
тромботические осложнения
2. Реваскуляризации пораженного артериального бассейна

Сердечно-сосудистые факторы риска у больных ИБС (n=506)

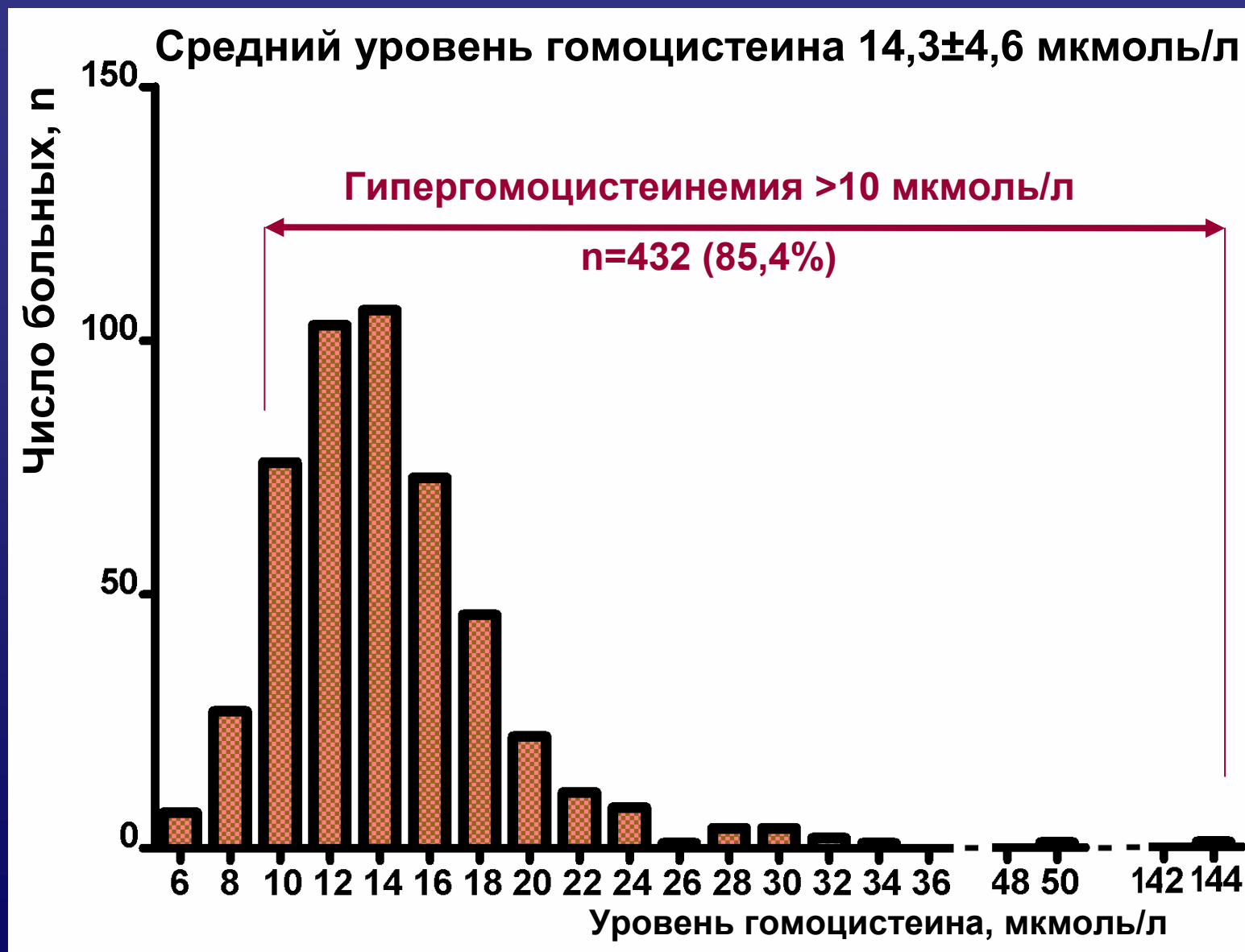
Пол (муж./жен.)	388/118
Возраст, годы (M±m)	59,4±12,2
Артериальная гипертония	85,2 %
Гиперхолестеринемия*	96,6 %
Курение —в анамнезе, —в настоящее время	36,4 % 23,1 %
Ожирение (ИМТ> 30 кг/м ²)	33,6 %
Сахарный диабет	19 %
Креатинин, мкмоль/л (M±m)	92,3±14,9
Нарушение функции почек (СКФ < 90 мл/мин)	53,4 %

*-общий холестерин>5 ммоль/л, триглицериды>1,7 ммоль/л или прием статинов

Локализация бассейнов атеросклеротического поражения у больных ИБС (n=506)

ИБС	100%
• Стенокардия напряжения II – III ФК,	74,5%
• ОКС >1 мес назад,	68%
• ЧКВ / АКШ в анамнезе	75,1%
Цереброваскулярная болезнь,	14%
• Ишемический инсульт/ТИА > 2 месяцев назад,	8,7%
• Стеноз сонной артерии более 50%,	5,9%
• Эндартеректомия/ангиопластика >2 мес назад,	2,4%
Атеросклероз артерий нижних конечностей,	19,6%
• ЛПИ <0,9,	17,2%
• перемежающаяся хромота,	9,3%
• Ампутация нижних конечностей,	0,2%
• Шунтирование/ангиопластика >2 мес назад	1%

Уровень гомоцистеина плазмы у обследованных больных

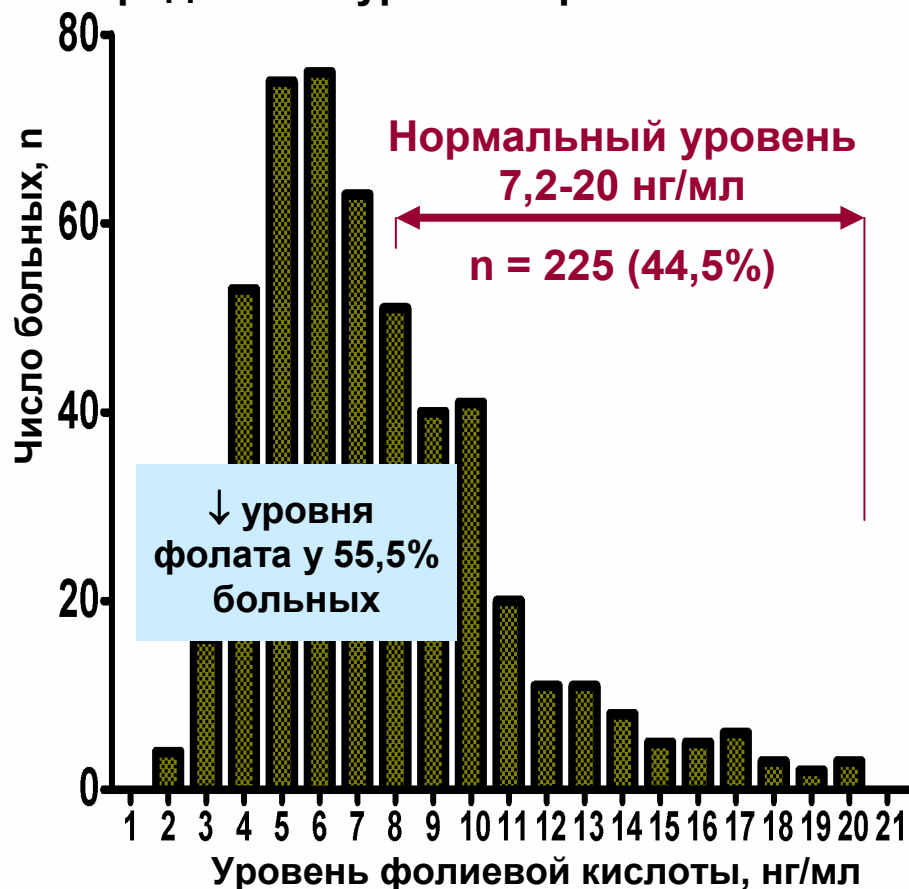


Изучались факторы, потенциально влияющие на уровень гомоцистеина:

- содержание фолата в плазме
- содержание кобаламина в плазме
- почечная функция (скорость клубочковой фильтрации по Кокрофту-Гаулту)
- наличие сахарного диабета
- распространенность атеросклероза
- носительство аллельных вариантов генов, продукты которых принимают участие в метаболизме гомоцистеина

Содержание фолиевой кислоты и уровень гомоцистеина в плазме

Распределение уровней фолата плазмы



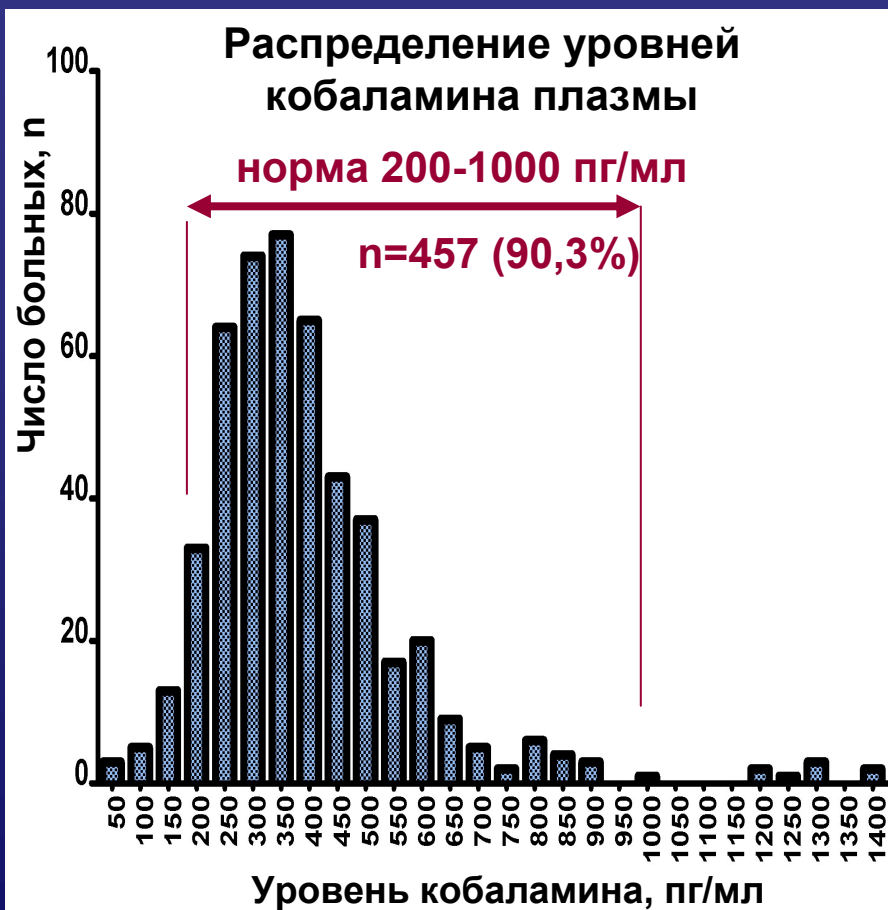
Средний уровень фолиевой
кислоты $7,6 \pm 3,4$ нг/мл

Корреляция между уровнями
фолата и гомоцистеина в плазме



Коэффициент корреляции Спирмена
– 0,23 [95% ДИ -0,31; -0,14], $p < 0,0001$

Содержание кобаламина и уровень гомоцистеина в плазме

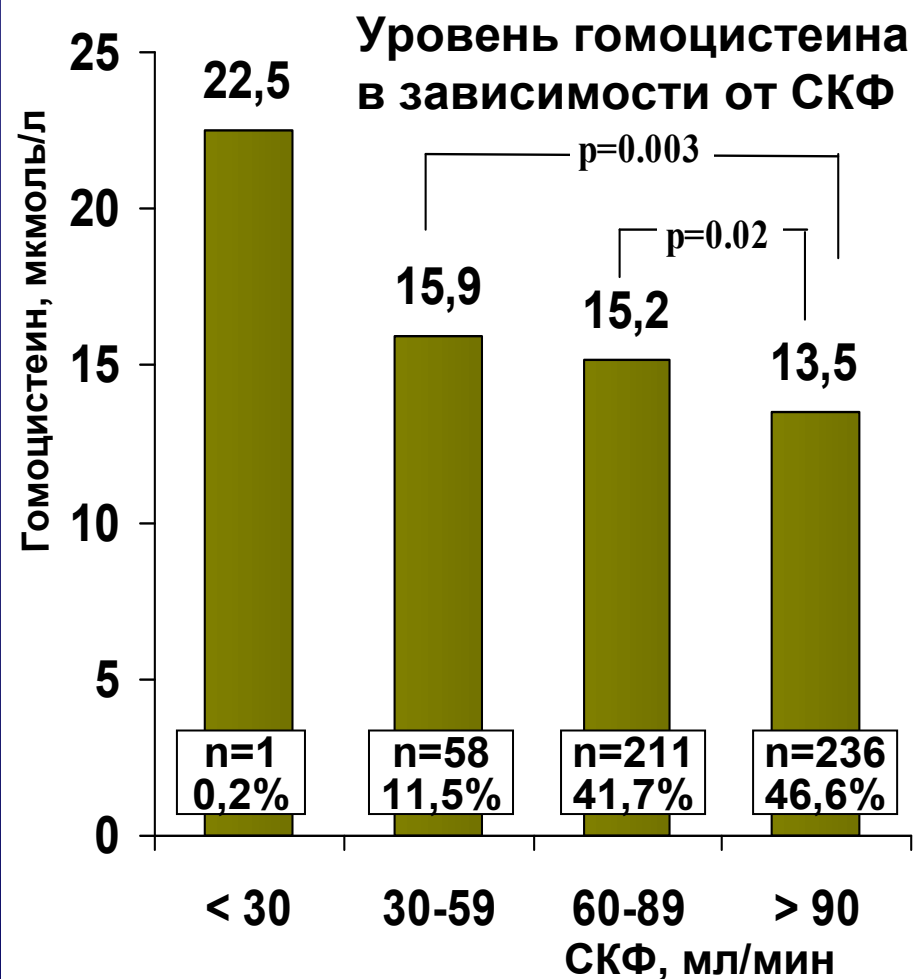
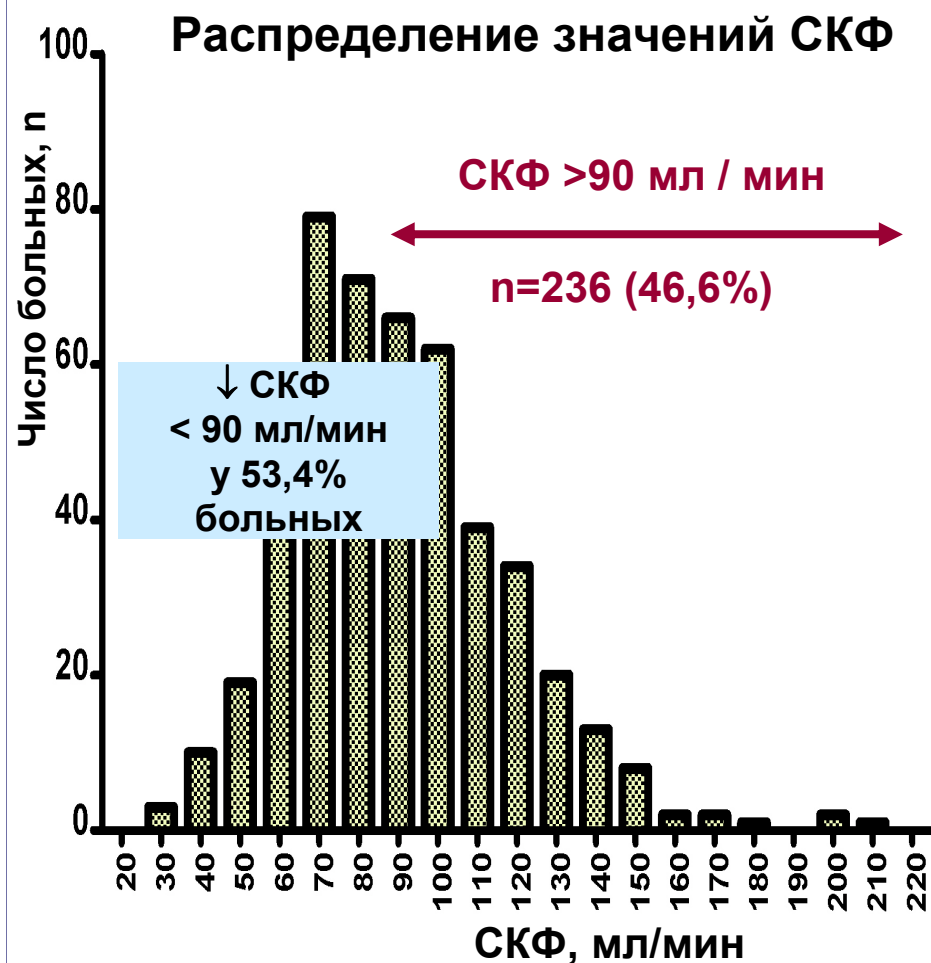


Средний уровень кобаламина $393,1 \pm 188,9$ пг/мл



Коэффициент корреляции Спирмена - 0,24 [95% ДИ -0,32; -0,15], $p < 0,001$

Функция почек и уровень гомоцистеина в плазме

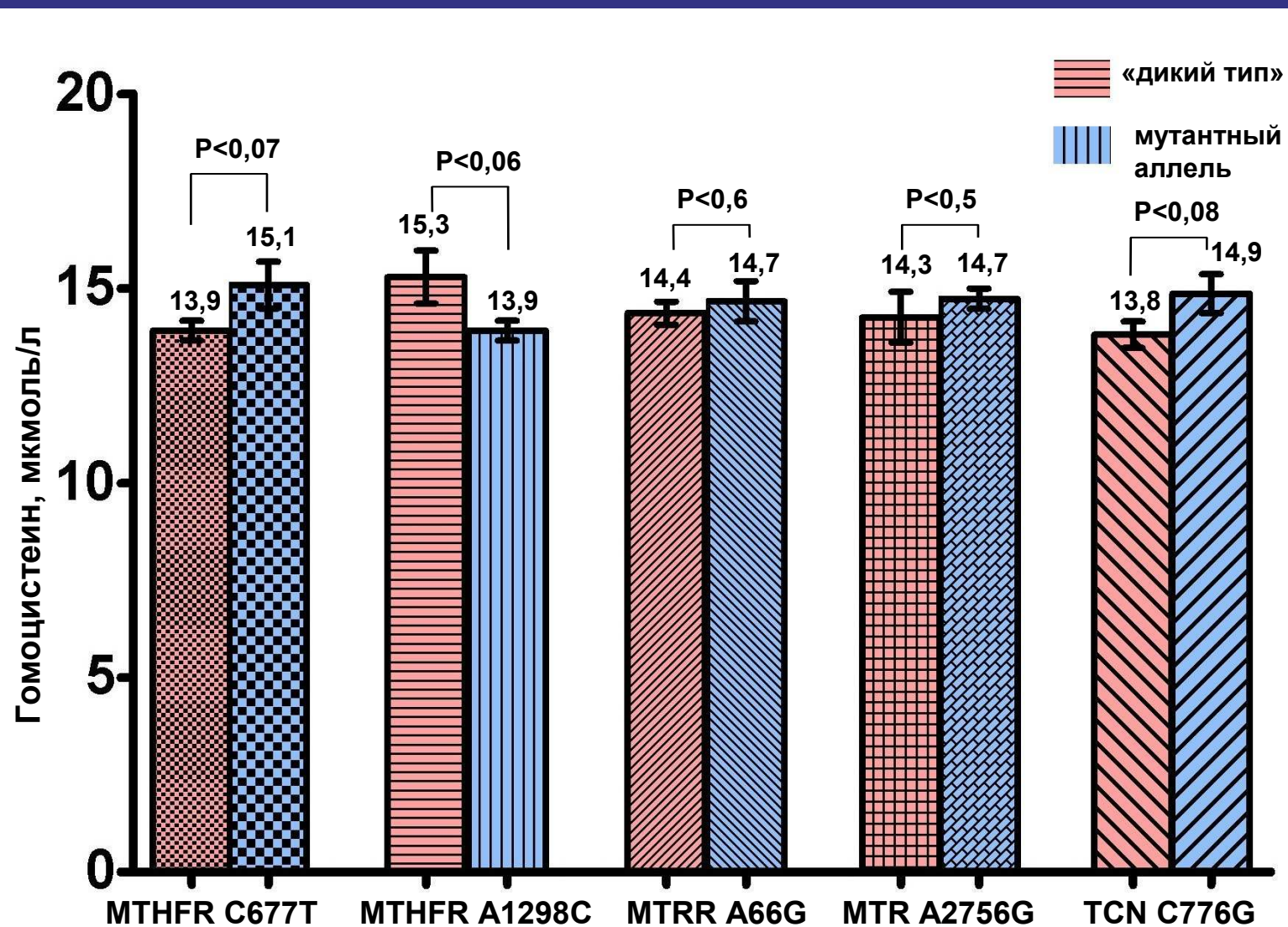


Средний уровень СКФ $89,5 \pm 27,4$ мл/мин

Распространенность изученных аллелей

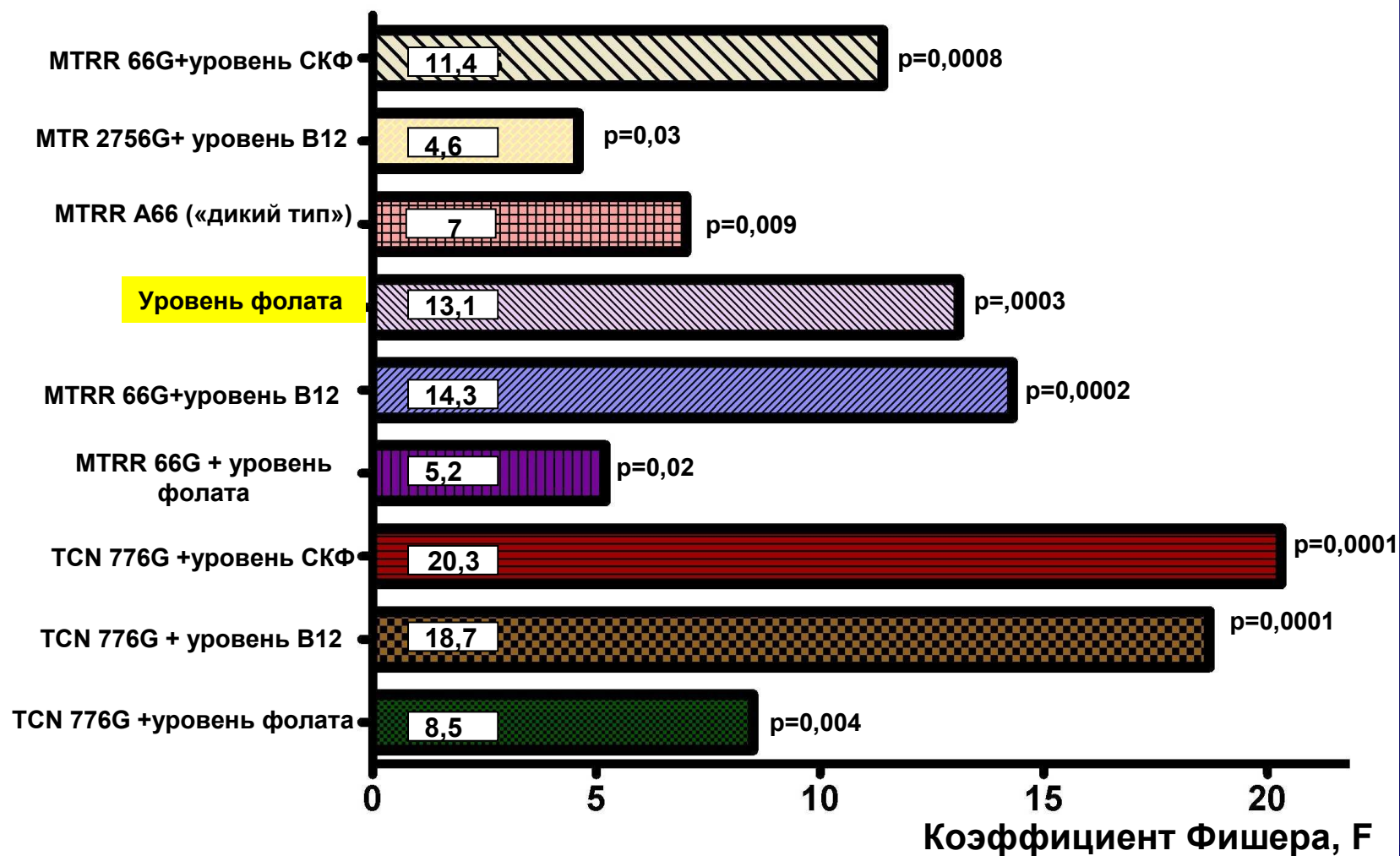
Название аллельного варианта	Частота выявления	
	Всего, %	Гетеро-/гомозиготы, %
MTHFR C677T	51,8	43,3/8,5
MTHFR A1298C	55,7	43,3/12,4
MTR A2756G	54,2	37,0/17,2
MTRR A66G	62,3	38,7/23,6
TCN C776G	67,0	44,7/22,3

Носительство аллельных вариантов изученных генов и уровень гомоцистеина



Факторы, оказывающие влияние на уровень гомоцистеина

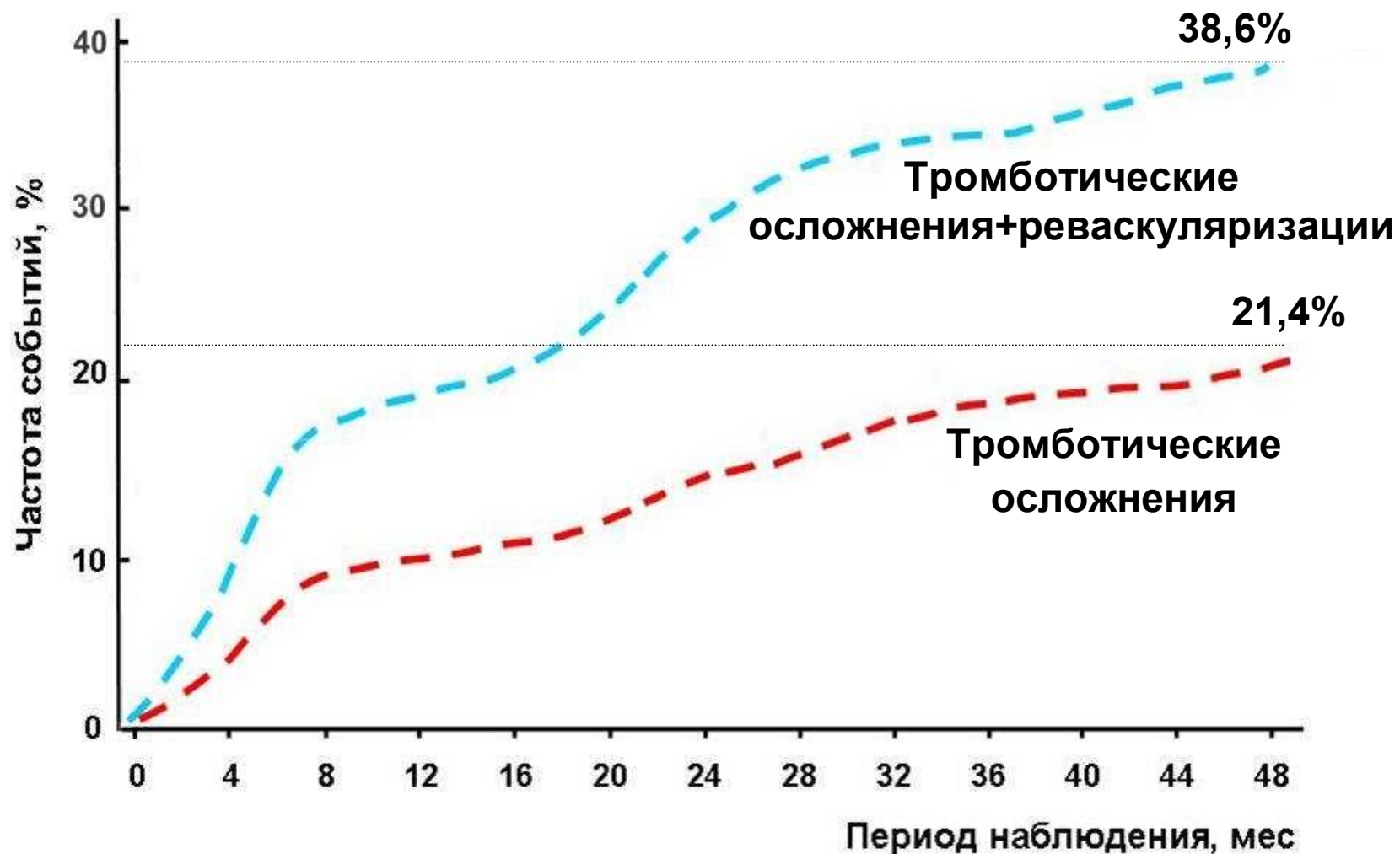
Дисперсионно-ковариационный анализ



Сердечно-сосудистые события у больных ИБС (n=280) за 4 года наблюдения

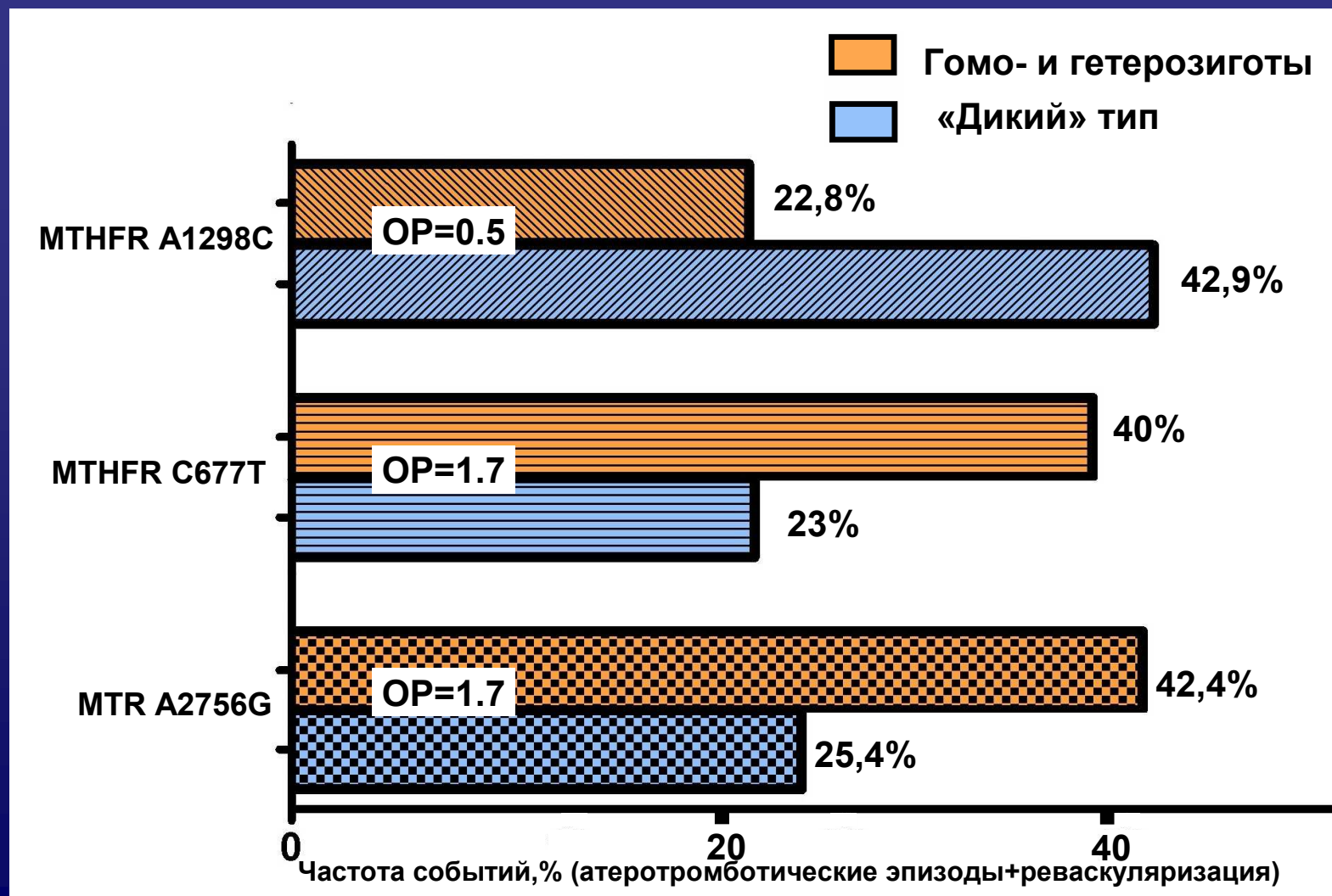
Смерть от любых причин	13
Сердечно-сосудистая смерть	12
• Внезапная смерть	6
• Фатальный инфаркт миокарда	4
• Фатальный ишемический инсульт	1
• Фатальный разрыв аневризмы брюшной аорты	1
Нефатальные тромботические осложнения	48
• Инфаркт миокарда	7
• Нестабильная стенокардия	22
• Ишемический инсульт	10
• Транзиторная ишемическая атака	8
• Тромбоз периферических артерий	1
С-с. смерть / ОКС / инсульт / ТИА/ периферический тромбоз	21,4%
Реваскуляризация основных сосудистых бассейнов:	48
• Чрескожное коронарное вмешательство	24
• Коронарное шунтирование	16
• Каротидная эндартерэктомия	7
• Шунтирование артерий нижних конечностей	1
С-с. смерть / ОКС / инсульт / ТИА/ периф. тромбоз / потребность в реваскуляризации	38,6%

Накопительная частота сердечно-сосудистых событий за 4 года наблюдения



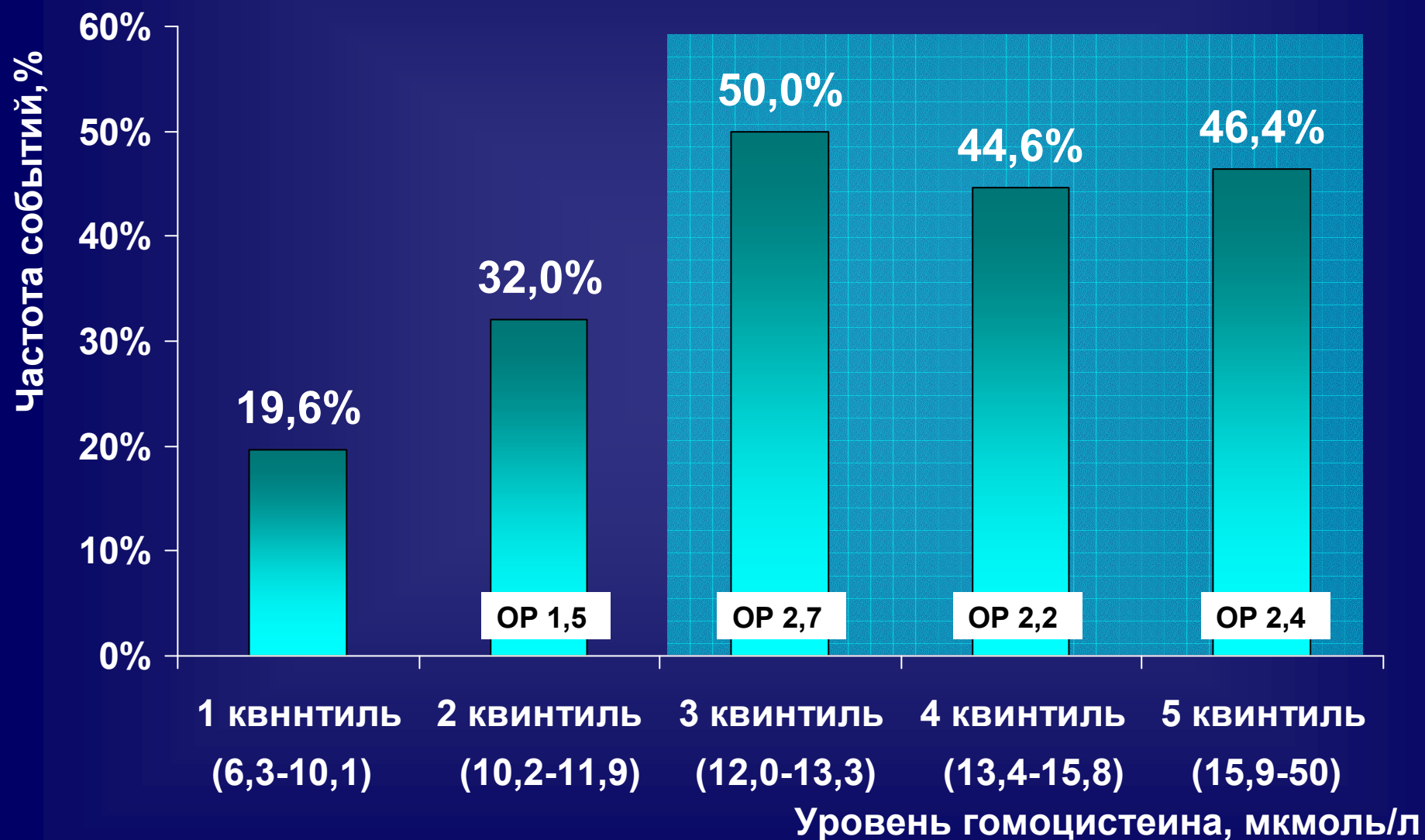
Частота с сосуд. событий за 4 года наблюдения у больных ИБС в зависимости от изученных полиморфизмов

Однофакторный анализ



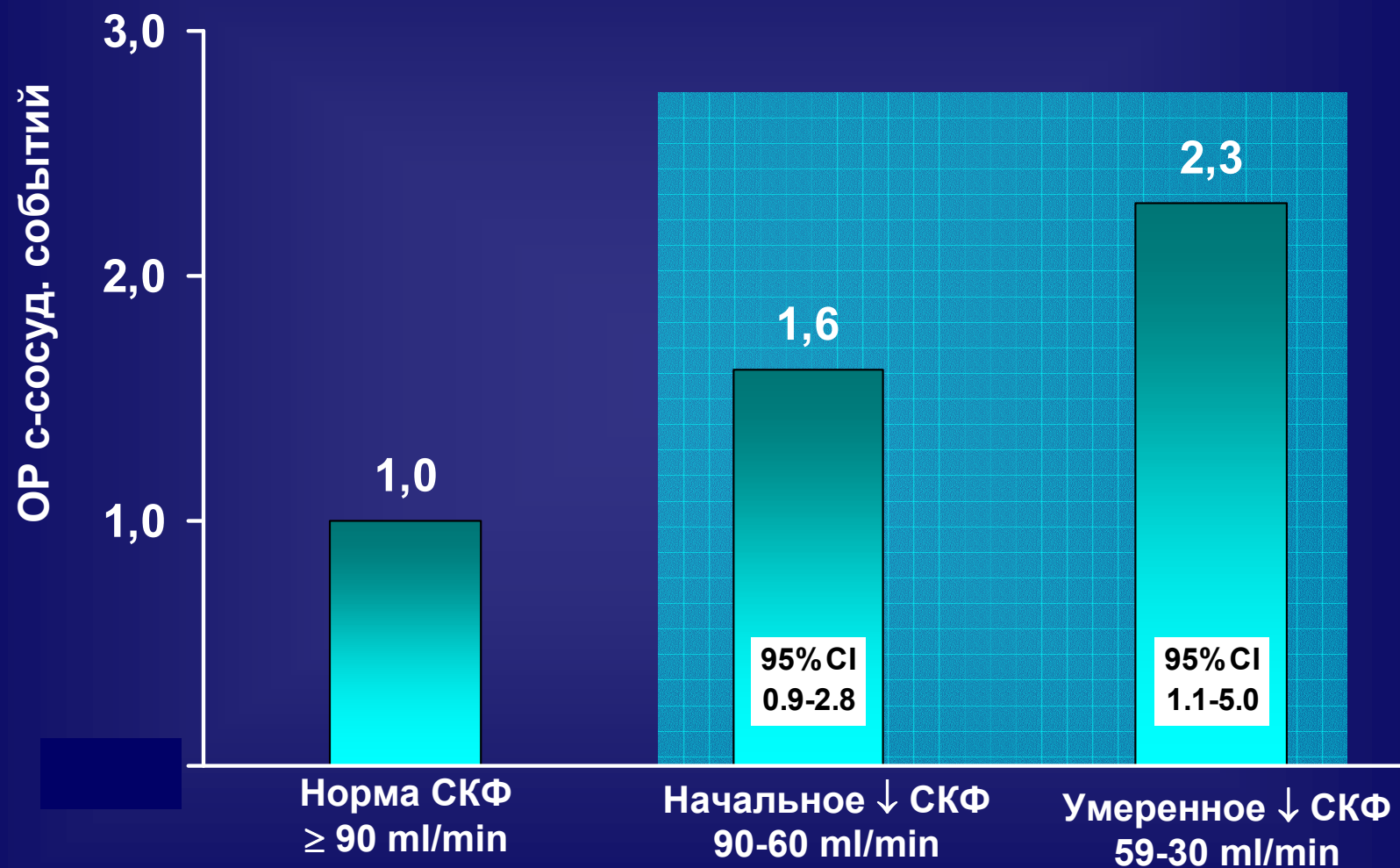
Частота € сосуд. событий за 4 года наблюдения у больных ИБС в зависимости от уровня гомоцистеина плазмы

Однофакторный анализ



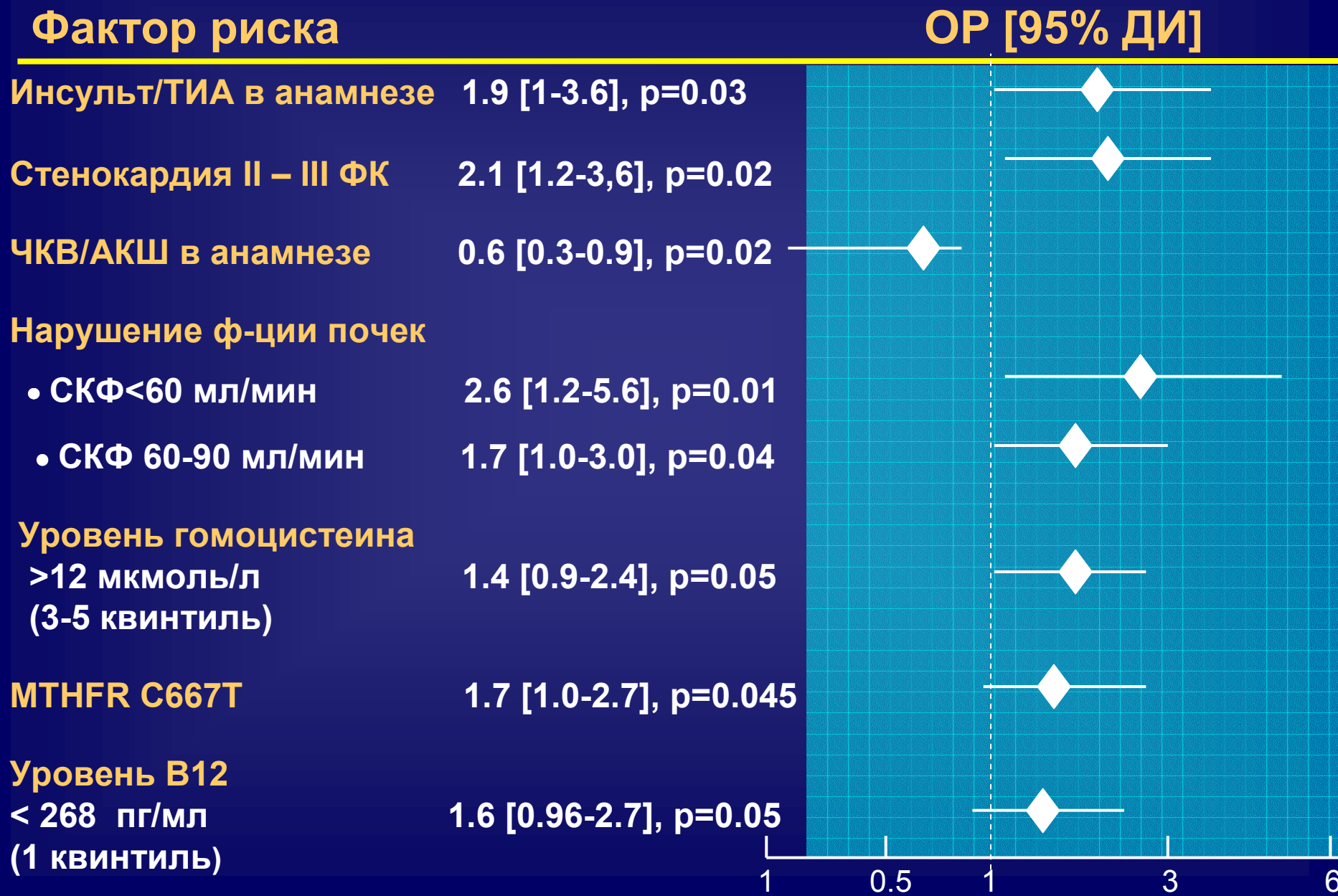
Риск развития с-сосуд. событий за 4 года наблюдения у больных ИБС в зависимости от функции почек

Однофакторный анализ



Предикторы развития с-сосуд. событий у больных ИБС

Модель многофакторного риска



Выводы

1. У 85,4% больных ИБС в РФ уровень гомоцистеина превышает верхнюю границу нормы (10 мкмоль/л).
2. Более половины (55,4%) больных ИБС в РФ при отсутствии клинических признаков имеют сниженный уровень фолиевой кислоты в плазме крови.
3. Более, чем у половины (54,4%) больных ИБС при отсутствии клинических признаков заболевания почек отмечается снижение СКФ < 90 мл/мин.
4. Частота полиморфизмов генов ферментов, контролирующих обмен гомоцистеина (*MTHFR C677T*, *MTHFR A1298C*, *MTR A2756G*, *MTRR A66G*, *TCN C776G*) у больных ИБС в РФ достигает 52 – 67%.
5. Снижение содержания фолата (< 7.2 нг/мл) является единственным независимым фактором, повышающим уровень гомоцистеина у больных ИБС в РФ.

Выводы

6. Носительство полиморфизмов генов, регулирующих обмен гомоцистеина (*MTR A2756G*, *MTRR A66G*, *TCN C776G*), повышает его содержание в крови лишь при наличии дополнительных факторов риска: дефицитов витамина В12 и фолиевой кислоты и снижения СКФ.
7. Независимыми предикторами развития сердечно-сосудистых событий на протяжении 4 лет наблюдения у больных ИБС помимо клинических факторов (перенесенный инсульт/ТИА и наличие стенокардии) являются:
 - ↓ СКФ <90 мл/мин,
 - ↑ уровня гомоцистеина в плазме крови > 12 мкмоль/л,
 - ↓ содержания витамина В12 в плазме крови < 268 пг/мл,
 - носительство полиморфизма гена МТГФР С667Т