

Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МОРДОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. Н.П. Огарёва
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи

ДЕГАЕВА Татьяна Алексеевна

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА
МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРОФОЛАТРЕДУКТАЗЫ У БОЛЬНЫХ
С КАРДИОВАСКУЛЯРНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

14.01.05 - Кардиология

Диссертация на соискание учёной
степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель: доктор
медицинских наук, профессор
Гончарова Л.Н.

Саранск 2019 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. Обзор литературы.....	16
1.1. Сердечно-сосудистые заболевания как медико-социальная проблема Государства.....	16
1.2. Роль гена метилентетрагидрофолатредуктазы в развития тромботических осложнений у больных с сердечно-сосудистой патологией.....	19
1.2.1.Молекулярно-генетические основы гипергомоцистеинемии и гена метилентетрагидрофолатредуктазы	19
1.2.2. Изучение полиморфного варианта гена метилентетрагидрофолатредуктазы в позиции 677 С→Т у больных артериальной гипертензией.....	23
1.2.3. Полиморфизм гена МТНFR в позиции 677 С→Т и риск сердечно-сосудистой патологии.....	27
1.2.4. Полиморфизм гена МТНFR в позиции 1298 А→С и риск сердечно-сосудистой патологии.....	29
1.3. Артериальная гипертензия, как фактор риска «тромбогенных» осложнений.....	30
1.4. Острый инфаркт миокарда, как социальная проблема современного общества.....	33
1.5. Острое нарушение мозгового кровообращения.....	37
Глава 2. Материалы и методы.....	40
2.1. Алгоритм отбора больных артериальной гипертензией, инфарктом миокарда, острым нарушением мозгового кровообращения.....	40
2.1.1. Клинико-гемодинамическая характеристика больных первичной артериальной гипертензией.....	42
2.1.2. Характеристика выборки больных с острым инфарктом миокарда.....	44

2.1.3. Клинико-гемодинамическая характеристика выборки больных с острым нарушением мозгового кровообращения по ишемическому типу.....	47
2.1.4. Контрольная группа.....	51
2.2. Лабораторное-инструментальное обследование больных с кардиоваскулярной патологией.....	51
2.2.1. Молекулярно-генетические методы исследования.....	55
2.3. Статистические методы исследования.....	61
Глава 3. Результаты исследований.....	63
3.1. Изучение полиморфных вариантов гена метилентетрагидрофолатредуктазы в позициях 677 С→Т и 1298 А→С у больных первичной артериальной гипертонией в Республике Мордовия.....	63
3.2. Развитие тромбогенных осложнений у больных артериальной гипертонией в течение трехлетнего наблюдения.....	72
3.3. Гендерные и этнические особенности носительства генотипов гена метилентетрагидрофолатредуктазы в позициях 677 С→Т и 1298 А→С у больных с острым инфарктом миокарда.....	76
3.4 Особенности носительства полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы позициях 677 С→Т и 1298 А→С у больных с острым нарушением мозгового кровообращения.....	85
3.5. Выявление критериев стратификации риска развития тромбогенных осложнений у больных с кардиоваскулярной патологией на основании носительства полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы.....	96
Глава 4. Обсуждение результатов.....	103
ВЫВОДЫ.....	124
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	125
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	126

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ – артериальная гипертония

АД- артериальное давление

БСК – болезни системы кровообращения

ВВП – Внутренний валовый продукт

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ГЦ - гомоцистеин

ДАД – диастолическое артериальное давление

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка

ЗСН – застойная сердечная недостаточность

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИМ – инфаркт миокарда

КВЗ –кардиоваскулярные заболевания

КДР – конечный диастолический размер

КСР – конечный систолический размер

ЛП – левое предсердие

МЗРМ – Министерство здравоохранения Республики Мордовия

МЖП – межжелудочковая перегородка

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

ПЦР – полимеразноцепная реакция

РМ – Республика Мордовия

РФ – Российская Федерация

САД – систолическое артериальное давление

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ФВ – фракция выброса

ЦВЗ – цереброваскулярные заболевания

ЧКВ – чрезкожное коронарное вмешательство

МТНFR - метилентетрагидрофолатредуктаза

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Несмотря на проводимые государством федеральные и региональные программы по снижению смертности от сердечно-сосудистых заболеваний, в частности программы «Глобальный план действий по профилактике неинфекционных заболеваний и борьбе с ними на 2013-2020 годы» отмечается тенденция к увеличению кардиоваскулярной патологии. По данным Всемирной организации здравоохранения в 2017 году смертность от болезней системы кровообращения достигла более 17 миллиона человек [15]. Первое место (12,2 %) среди всех причин смертности во всем мире занимает коронарная болезнь сердца, второе (9,7 %) - цереброваскулярная патология [184]. Ежегодно в мире причиной смерти 9,4 миллиона человек становятся кардиоваскулярные осложнения у больных с артериальной гипертонией [15], у 7% больных артериальной гипертонией ежегодно развивается острое нарушение мозгового кровообращения [185,186]

В то же время, показатель смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации - один из самых высоких в мире (Стат. Данные 2017г.). Российскую Федерацию по показателям смертности от ССЗ разделяет «пропасть» с экономически развитыми странами Европейского союза, США, Японией [15,18,19]. Общая смертность от сердечно-сосудистых заболеваний в РФ по данным Росстата на 2017 год составляет 858 тыс. человек, это 584,7 случая на 100 тыс. населения [19]. Ведущая роль в структуре смертности от сердечно-сосудистых заболеваний принадлежит ишемической болезни сердца (ИБС) и цереброваскулярными заболеваниями - 85% [50,53,57].

Распространенность цереброваскулярных заболеваний, куда входит ОНМК, в 2015г. составляла 6043,8 и 5971,4 на 100000 населения в 2016г. [12,19]. В Российской Федерации на фоне ежегодной регистрации 450000 случаев инсульта - 30 - 40% больных умирает в течение года [21,32,35].

Смертность от развития инсульта даже в развитых странах мира доходит до 15 млн. человек ежегодно [15,21]. Заболеваемость инфарктом миокарда в 2015г. составила 5175,0, а в 2016г. 5208,4 на 100000 населения. Согласно данным федеральной службы государственной статистики за 2018 год причиной смерти 453306 человек стала ишемическая болезнь сердца, а инфаркт миокарда стал причиной смерти 56904 человек [12].

Инфаркт миокарда и нарушение мозгового кровообращения чаще возникает на фоне повышенного артериального давления. Распространенность первичной артериальной гипертензии среди взрослого населения мира составляет от 20% до 42% [14]. Распространенность артериальной гипертонии на территории Российской Федерации неуклонно растет и согласно данным Росстата в 2016г.- 9916, 8 на 100000 населения, в 2017 году составила 9527,5 на 100000 населения.

Соответствующая тенденция наблюдается и в Республике Мордовия (РМ), где ССЗ занимают первое место в структуре общей смертности, составляя почти половину- 428,4 на 100000 населения в 2016г. всех случаев ежегодных смертей (Об утверждении Республиканской целевой программы по улучшению демографической ситуации в Республике Мордовия до 2020 г.). Смертность от болезней системы кровообращения в РМ составила в 2015 г.- 451,2 на 100000 человек и 428,4 на 100000 в 2016г., лиц трудоспособного возраста 156,9 на 100000 человек (МЗ РМ, 2016г.). Согласно докладу от 10 марта 2017г. на коллегии МЗ РМ отмечается увеличение смертности от ИМ. В 2016г. смертность составила 26,1 на 100000 населения по сравнению с показателями в 2015г., где смертность была- 23,4 на 100000 населения. Также достаточно высокой в РМ остается смертность от ОНМК (МЗ РМ, 2016г.), которая составляет 44,6 на 100000 населения, а в трудоспособном возрасте 8,1 на 100000 человек.

В соответствии с программой «Глобальный план действий по профилактике неинфекционных заболеваний и борьбе с ними на 2013-2020 годы» улучшилось качество лечения больных с ОКС и ОНМК на фоне

функционирования федеральных и региональных сердечно-сосудистых центров, снизилась смертность на стационарном этапе. Но количество острых ИМ и ОНМК – не уменьшается. Поэтому ключевым направлением здравоохранения в настоящее время является своевременное выявление и оценка факторов риска, приводящих к развитию сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений. Для более эффективного подхода к проблеме профилактической направленности прогнозирования развития кардиоваскулярных осложнений предложены различные шкалы стратификации риска, такие как Фрамингемская шкала определения индивидуального 10-летнего риска инсульта, шкала GRACE оценки риска смерти и развития инфаркта миокарда, шкала CHA₂DS₂VASc оценки риска ишемического инсульта у больных с фибрилляцией предсердий [2,49].

Для больных с артериальной гипертонией используется шкала «Стратификация общего сердечно-сосудистого риска» ESH/ESC 2013, но данная шкала дает общие понятия 10-летнего риска, не учитывая возможно имеющие приобретенные или врожденные нарушения в системе гемостаза. Наиболее прогностически значимая шкала в плане тромбогенных осложнений является «пятипроцентная шкала оценки риска ишемического риска» [49,56]. Но критерии, входящие в данную шкалу применимы для пациентов с фибрилляцией предсердий, хотя и учитывают гиперкоагуляционный синдром. В то же время необходимо учитывать, что причиной развития острого инфаркта миокарда или острого нарушения мозгового кровообращения, как первично, так и на фоне артериальной гипертонии является наличие у больного атеротромботических процессов в сосудах артериального русла. Повышенная склонность к тромбообразованию у больных с артериальной гипертонией или ИБС, может быть связана с носительством «неблагоприятных» генотипов гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR). Поэтому, в качестве потенциального биомаркера риска развития и прогрессирования, а также прогнозирования ближайших и отдаленных исходов (в частности, инфаркта

миокарда, острого нарушения мозгового кровообращения) у больных АГ активно рассматриваются нарушения в системе гемостаза, и в частности связанного с метионин-гомоцистеинового обмена – уровнем гомоцистеина [4,7,8,14,51,89,143]. Поэтому для предупреждения развития таких жизненноугрожающих состояний как ИМ и ОНМК у пациентов с АГ требуется ранняя и своевременная генетическая диагностика, позволяющая выявлять группы риска больных, склонных к повышенному тромбообразованию на основании носительства вариантов генотипов гена MTHFR. Носительство «неблагоприятных» генотипов гена MTHFR можно расценивать, как предиктор развития неблагоприятных исходов. Своевременная диагностика полиморфизма гена MTHFR позволит сохранить качество жизни пациентов, снизить частоту повторных госпитализаций, снизить экономические затраты на лечение осложнений, а самое важное проводить первичную профилактику с помощью медикаментозной коррекции для предупреждения развития риска тромбофилических осложнений (ИМ, ОНМК). Таким образом, разработка дополнительных доступных диагностических критериев у больных с сердечно-сосудистой патологией по выявлению групп риска, в частности на основании носительства полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы, как предиктора прогнозирования развития осложнений в зависимости от национальной и гендерной принадлежности имеет большое значение для прогнозирования развития осложнений у пациентов в практическом здравоохранении.

Степень разработанности темы исследования. В Республике Мордовия ранее был проведен скрининг по выявлению носительства генотипов гена метилентетрагидрофолатредуктазы у больных АГ и здоровых лиц [8,9,105,106]. Но выявление и разработка критериев диагностического алгоритма с добавлением генотипирования гена метилентетрагидрофолатредуктазы с целью прогнозирования развития осложнений и выявления групп риска у больных АГ в РМ ранее не

проводилось. В то же время проблема прогнозирования развития осложнений у пациентов с сердечно-сосудистой патологией с учетом генотипирования гена MTHFR в виде склонности к повышенному тромбообразованию достаточно хорошо представлена в исследованиях зарубежных и отечественных авторов вследствие большой практической значимости [26,31,37,45,141,145]. В метаанализах представлены значения полиморфизма данного гена в развитии инфаркта миокарда, острого нарушения мозгового кровообращения, тромбоэмболии легочной артерии и т.д. [64,153,178,189]. В исследованиях, проведенных ранее, затрагиваются разнообразные группы пациентов, относительно национальной принадлежности. Но, ни в одном из исследований не представлены представители финно-угорской популяции.

Цель исследования: Оптимизировать критерии стратификации риска развития тромботических осложнений у больных с сердечно-сосудистой патологией на основании носительства полиморфизмов гена метилентетрагидрофолатредуктазы.

Задачи исследования:

1. Изучить вероятность развития инфаркта миокарда, острого нарушения мозгового кровообращения у больных с первичной артериальной гипертонией на основе носительства генотипов гена метилентетрагидрофолатредуктазы.

2. Провести анализ частоты встречаемости генотипов и их комбинаций гена метилентетрагидрофолатредуктазы в позициях 677 С→Т и 1298 А→С у больных с острым инфарктом миокарда.

3. Изучить полиморфизм генотипов и их комбинаций гена метилентетрагидрофолатредуктазы в позициях 677 С→Т и 1298 А→С у больных с ишемическим инсультом.

4. Выявить предикторы риска развития тромботических осложнений (инфаркта миокарда, острого нарушения мозгового кровообращения) у больных с первичной артериальной гипертонией на основании носительства полиморфизмов гена метилентетрагидрофолатредуктазы.

Научная новизна работы:

Впервые у больных с первичной артериальной гипертонией при проведении трехлетнего наблюдения, носителей генотипа ТТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т выявлен риск развития тромбогенных осложнений равный 211 (ДИ 10,30- 4320,91).

Впервые у пациентов с инфарктом миокарда и острым нарушением мозгового кровообращения (проживающих на территории Республики Мордовия) выявлена высокая частота носительства «неблагоприятных» генотипов и их сочетания гена МТНFR в позиции 677 С→Т и в позиции 1298 А→С.

Впервые для больных с артериальной гипертонией предложен алгоритм прогнозирования риска развития тромбогенных осложнений (инфаркта миокарда, острого нарушения мозгового кровообращения) с учетом генотипирования гена МТНFR в виде программы для ЭВМ (выдано свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2019614856).

Теоретическая и практическая значимость. Научно-практическая значимость работы заключается в разработке своевременного прогнозирования риска неблагоприятных отдалённых исходов у пациентов первичной артериальной гипертонией, которую также можно интерполировать на больных с ишемической болезнью сердца, в плане прогнозирования развития инфаркта миокарда и острого нарушения мозгового кровообращения на основе проведения генотипирования гена метилентетрагидрофолатредуктазы и выявления «неблагоприятных» генотипов и их сочетания.

Предложенный алгоритм прогнозирования риска развития тромбогенных осложнений позволяют на этапе амбулаторного лечения пациента первичной артериальной гипертонией, ишемической болезнью сердца, определить дополнительные индивидуальные риски неблагоприятных исходов. Выявление групп риска развития осложнений у

больных первичной артериальной гипертонией базируется на генотипировании и выявлении гомозиготных и гетерозиготных «неблагоприятных» генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т и 1298 А→С.

Установленные полспецифичные и этноспецифичные носительства вариантов генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т и 1298 А→С у больных с инфарктом миокарда и нарушением мозгового кровообращения позволяют повысить объективную оценку клинической ситуации у больных с инфарктом миокарда и нарушением мозгового кровообращения.

Полученные в результате исследования данные и практические рекомендации могут быть использованы для обучения студентов медицинского института ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва». Предложенное дополнение к стандартам обследования больных с АГ, ИМ и ОНМК в виде – генотипирования гена MTHFR в позиции 677 С→Т и 1298 А→С, особенно у мужчин мордва-мокша могут использоваться на амбулаторном этапе диагностики и лечения, а также в отделениях кардиологического, неврологического и терапевтического профилей с целью улучшения подхода к профилактике и лечению у пациентов с сердечно-сосудистой патологией.

Положения, выносимые на защиту.

1. У больных артериальной гипертонией, наблюдаемых в течение 3-х лет, носителей неблагоприятного генотипа ТТ гена MTHFR в позиции 677 С→Т риск развития тромбогенных осложнений (ИМ, ОНМК) составил 211 (ДИ 10,30- 4320,91 по сравнению с больными АГ носителями других генотипов (СС, СТ) гена MTHFR. Данные осложнения встречались в 1,4 раза чаще у больных национальности мордва-мокша, по сравнению с больными русской национальности.

2. У пациентов в группе с инфарктом миокарда в 85,0% случаев выявлена частота комбинаций неблагоприятных генотипов гена MTHFR в

позициях 677 С→Т и 1298 А→С (43,8 % у больных русской национальности и у 41,2% - больных мордва-мокша).

3. В группе с острым нарушением мозгового кровообращения у 73,9% больных выявлена частота сочетания неблагоприятных генотипов гена MTHFR в позициях 677 С→Т и 1298 А→С (39,1% у больных мордва-мокша, 34,8% у больных русской национальности).

4. Для больных с первичной артериальной гипертонией предложен алгоритм прогнозирования риска развития тромбогенных осложнений (инфаркта миокарда, острого нарушения мозгового кровообращения) на основании генотипирования гена MTHFR в виде программы для ЭВМ (выдано свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2019614856).

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности полученных результатов определяется достаточным объемом исследуемых выборок и количеством наблюдений, соблюдением критериев включения/исключения в исследование, использованием современных методов исследований молекулярной биологии (ПЦР, пиросеквенирование), применением современных методов обработки данных и статистического анализа.

Комиссия по проверке первичной документации (председатель – к.м.н., доцент В.И. Давыдкин, члены комиссии – к.м.н., профессор Л.В. Новикова, к.м.н., профессор В.Н. Антипова) пришла к выводу, что все материалы диссертационной работы достоверны и получены лично автором, который принимал непосредственное участие на всех этапах выполненного исследования. Текст диссертации написан лично автором.

Материалы и основные положения диссертации доложены на научных конференциях молодых ученых, аспирантов и студентов медицинского факультета Мордовского государственного университета им. Н.П.Огарева: «Актуальные проблемы медико-биологических дисциплин» г. Саранск 2014г.; Международном медицинском интернет форуме молодых ученых г.

Москва. 2014 год; на «II Межрегиональной конференции кардиологов и терапевтов» г. Ульяновск, 2016г.; на «VI Научно-образовательной конференции кардиологов и терапевтов» г. Москва, 2016г.; International conference, Clinical proteomics. Postgenome medicine, Moscow, Russia, 2017 г.; на юбилейном 80-м Медицинском Конгрессе молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины», г.Донецк, 2018г.; на 76-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», апрель 2018г. г. Волгоград.

Получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2019614856 от 15 апреля 2019г., заявка №2019613475 . Программа для выявления риска тромбогенных осложнений у больных артериальной гипертонией. / Дегаева Т.А., Гончарова Л.Н.

Апробация работы проведена 15.09.2018г. на межкафедральном совещании ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва» и 24.06.2019г. на проблемной комиссии по внутренним болезням ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Результаты диссертационного исследования используются в лечебно-профилактической работе консультативной поликлиники и стационаров кардиологического профиля ГБУЗ РМ «Мордовская Республиканская центральная клиническая больница» г. Саранска.

Также, полученные результаты включены в курс лекций кафедры факультетской терапии с курсами физиотерапии, лечебной физкультуры Медицинского Института ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва».

Внедрение результатов исследований. Результаты диссертационного исследования используются в лечебно-профилактической работе консультативной поликлиники и стационаров кардиологического профиля

ГБУЗ РМ «Мордовская Республиканская центральная клиническая больница» г. Саранска.

Также полученные результаты включены в курс лекций кафедры факультетской терапии с курсами физиотерапии, лечебной физкультуры Медицинского института ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва».

Личный вклад автора. Личный вклад автора состоит в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Автором сформулирована тема исследования, разработан дизайн и структура работы, сформированы группы пациентов, проведён сбор первичного материала для клинического исследования, осуществлено наблюдение за включёнными в исследование пациентами с АГ, ИМ и ОНМК в течение трех лет, проведён статистический анализ полученных данных. На основании полученных данных автором проведено построение статистической модели прогнозирования развития тромбогенных осложнений. Автором проведен углубленный анализ отечественной и зарубежной литературы. На основе описания полученных результатов, их систематизации опубликованы основные результаты работы.

Публикации. 15 опубликованных работ, 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России. Получены дипломы: за «Лучшую научную статью» на Международном медицинском интернет форуме молодых ученых г. Москва 2 июля 2014г.; за 2 место среди работ молодых ученых по направлению №2 «Внутренние болезни» на 76-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», Министерство здравоохранения Российской Федерации Волгоградский Государственный медицинский университет, 25-28 апреля 2018г., г. Волгоград; диплом 1 степени победителя 80-го международного медицинского конгресса молодых ученых, ГООВПО «Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького», 18 мая 2018г., г.

Донецк. Всероссийская научно-образовательная конференция молодых ученых и студентов «Актуальные вопросы медико-биологических дисциплин», 21-22 февраля 2019 г., г. Саранск.

Соответствие заявленным специальностям. Диссертационная работа соответствует паспортам научных специальностей 14.01.05-Кардиология и проведена в соответствии с научной темой кафедры факультетской терапии с курсами физиотерапии, лечебной физкультуры «Изучение клинико-морфологических особенностей кардиоваскулярной патологии» от 2014 года № 432.

Объём и структура диссертации

Диссертация изложена на 147 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырёх глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Библиографический указатель включает 192 источников, из них 62 отечественных и 130 зарубежных. Работа содержит 29 таблиц и 25 рисунка.

ГЛАВА I. Обзор литературы

1.1. Сердечно-сосудистые заболевания как медико-социальная проблема Государства

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) относятся к одной из важнейших проблем современного общества. По данным ВОЗ, болезни системы кровообращения и их осложнения являются основной причиной преждевременной смерти и ранней инвалидизации в большинстве экономически развитых стран мира [8,13,26,35,43,48,56,57,59].

По данным ВОЗ отмечается значительное увеличение смертности от заболеваний сердечно-сосудистой системы, и в 2017 году составила 17,7 миллионов человек [15].

Первое место отводится коронарной болезни сердца (12,2 %) среди всех причин смертности во всем мире, второе (9,7 %) – цереброваскулярной патологии [186]. Ежегодно в мире причиной смерти 9,4 миллиона человек становится повышенное АД [15,186].

В 2016 г. смертность от БСК в Российской Федерации составила 56% от общего числа летальных исходов [15]. Среди умерших отмечено преобладание лиц трудоспособного возраста, причем смертность среди мужчин превышала смертность среди женщин в 4,7 раза, из них от ИБС – в 7,1 раза, в том числе от ИМ – в 9 раз, инсульта – в 4,3 раза. Основными причинами смерти являются ИБС - 85%, в том числе ОИМ, цереброваскулярные болезни и АГ [35,43,48,50,54-59].

По данным Росстата заболеваемость людей трудоспособного возраста сердечно-сосудистой патологией на 2015г. составила 1842396 тыс. человек, в 2016г. - 1762772 тыс. человек. Заболеваемость ИБС в 2015г. составила 322628 тыс. человек, а в 2016г.- 305015 тыс. человек. Заболеваемость цереброваскулярными заболеваниями в 2015 году составила 270821 тыс.

человек, а в 2016 году - 264655 тыс. человек. В целом, заболеваемость среди трудоспособного населения РФ снижается.

Высокая заболеваемость и смертность от сердечно-сосудистых заболеваний обуславливает значительный экономический ущерб, который в Российской Федерации в 2008–2009 годах превысил 1 трлн. рублей [62], а в странах Европейского Сообщества оценивается около 192 биллиона евро ежегодно [100].

В Российской Федерации смертность от болезней сердечно-сосудистой системы не только лидирует, но по сравнению с развитыми странами мира стабильно держится на первых позициях. Данный показатель увеличивается с возрастом [15,16].

На фоне всей страны, Республика Мордовия значительно не выделяется. Согласно статистическим данным (таб.1.1.) смертность от всех причин снижается: в 2013г. она составляла 1483,4; а в 2016г.-1410,7 на 100000 населения. Так же, отмечается положительная динамика по смертности от болезней системы кровообращения: от 668,9 на 100000 человек в 2013 году до 428,4 на 100000 населения в 2016г. (табл.1.1.).

Таблица 1.1. Смертность населения от кардиоваскулярных заболеваний в Республике Мордовия на 100000 населения (МЗ РМ, 2014-2017г.).

Год	2013	2014	2015	2016
Всего умерших от всех причин	1483,4	1433,8	1410,0	1410,7
Болезней системы кровообращения	668,9	556,2	444,3	428,4
Гипертонической болезни	5,6	7,0	5,9	8,3
Ишемической болезни сердца	312,6	242,6	183,7	180,6
Цереброваскулярных болезней	140,4	170,3	117,3	111,7

К сожалению, по заболеваемости АГ, ИБС положительная динамика к снижению не определяется (таб.1.2.). Если в 2014г. распространенность

заболеваний системы кровообращения составляла 214,3 на 1000 населения, то уже в 2016г.-230,1 на 1000 населения. Заболеваемость артериальной гипертонией с 2014г. по 2016г. выросла в 1,5 раза и составила 92,9 на 1000 населения.

Но необходимо отметить, что хотя статистические данные указывают на снижение уровня смертности от основных сердечно-сосудистых заболеваний, в то же время относительно патологии других органов и систем смертность от сердечно-сосудистых заболеваний значительно лидирует (МЗ РМ,2014-2017).

Заболеваемость острым ИМ на протяжении 3 последних лет держится на уровне 1 на 1000 населения. А вот частота повторных ИМ снизилась и составила к 2016г. 0,1 на 1000 населения. С цереброваскулярными заболеваниями определяется тенденция к снижению с 47,2 на 1000 населения в 2014г. до 45,8 на 1000 населения в 2016г.

Таблица 1.2. Заболеваемость сердечно-сосудистой патологией в Республике Мордовия на 1000 населения (МЗ РМ,2014-2017).

	Болезни системы кровообращения	из них:					
		АГ	ИБС	нестабильная стенокардия	острый инфаркт миокарда	повторный ИМ	ЦВЗ
2014 год							
Итого по районам	186,2	52,4	46,0	0,5	0,9	0,1	46,3
г.о. Саранск	256,1	85,9	69,8	1,0	1,3	0,3	48,6
Республика Мордовия	214,3	65,9	55,5	0,7	1,0	0,2	47,2
2015 год							
Итого по районам	217,2	73,2	52,6	1,2	1,1	0,1	50,2
г.о. Саранск	222,4	80	58,4	1	1	0,2	44,7
Республика Мордовия	219,5	76,2	54,7	1,1	1	0,1	47,8
2016 год							
Итого по районам	223,5	93,7	50,8	1	1,2	0,1	46,2
г.о. Саранск	235,5	90	63,2	1	0,8	0,1	44,7
Республика Мордовия	230,1	92,9	56,4	1	1	0,1	45,8

Таким образом, в Республике Мордовия отмечается положительная динамика по заболеваемости и смертности от острого ИМ, ОНМК и в целом по кардиоваскулярным заболеваниям. Но показатели смертности и заболеваемости по АГ имеют тенденцию к увеличению, что требует более детального изучения причин развития АГ, разработки профилактических мер по предупреждению развития осложнений у больных с АГ. Одним из возможных моментов предупреждения развития атеротромбогенных осложнений является генетическое обследование больных на наличие носительства полиморфных вариантов гена MTHFR.

1.2 Роль гена метилентетрагидрофолатредуктазы в развитии тромбофилических состояний

1.2.1. Молекулярно-генетические основы гипергомоцистеинемии и гена метилентетрагидрофолатредуктазы

Во второй половине 20 века были сделаны открытия, которые позволили «понять» казалось бы «несвойственные» ситуации для детского возраста. В 1965 году Schmike R.N. et al. обнаружили, что у детей, смерть которых наступила от сосудистых заболеваний, имеется повышенный уровень содержания гомоцистеина (ГЦ) [65,67]. В этом же году Carson N.AJ, et al при обследовании 20 семей выявили, что у 38 членов этих семей имеется сочетание повышенного уровня гомоцистеина в крови и сосудистые заболевания по типу атеросклеротических. В дальнейшем, в 1969 году было сделано сообщение, что МсСипу в Гарвардской медицинской школе при вскрытии двух умерших детей, страдавших гомоцистинурией и гипергомоцистеинемией (более 100 мкмоль/л), нашел атеросклеротическое поражение артерий и признаки тромбоза. Boushey CJ. et al (1995) провели углублённый анализ ранее проведенных 27 исследований (case-control study), который показал, что у лиц с гипергомоцистеинемией

относительный риск развития коронарной болезни выше в 1,7 раза, цереброваскулярной патологии - в 2,5 раза, окклюзионных поражений периферических артерий - в 6,8 раз [170]. При возрастании концентрации ГЦ на каждые 5 мкмоль/л отмечается увеличение риска развития коронарной болезни на 40%.

Известно, что ГЦ - серосодержащая аминокислота, не входящая в состав белков, которая образуется в ходе метаболизма незаменимой аминокислоты метионина, поступающей с пищей [98,142,179]. В норме содержание общего ГЦ в плазме крови натощак составляет 5-15 мкмоль/л (8-10 мкг/л). Kang S.S. et al. (1992) предложили свою классификацию степени выраженности гипергомоцистеинемии: умеренная или мягкая - 15-30 мкмоль/л, промежуточная - от 30 до 100 мкмоль/л, выраженная - более 100 мкмоль/л. Умеренное увеличение содержания ГЦ может отмечаться в популяции в 5-7% случаев и многими авторами считается фактором риска цереброваскулярных заболеваний [78,107,127,183]. К настоящему моменту наиболее полно изучен внутриклеточный обмен ГЦ, происходящий под влиянием ферментов, в качестве кофакторов которых выступают витамины группы В: В₂ (рибофлавин), В₆ (пиридоксин), В₉ (фолиевая кислота) и В₁₂ (цианокобаламин) [78].

При гипергомоцистеинемии в эндотелии сосудов происходят изменения, повреждающие эндотелиоциты и эластическую мембрану:

- стимулируется образование свободных радикалов;
- повышается концентрация ЛПНП и ЛПОНП;
- снижается продукция эндотелиального релаксирующего фактора и сульфатированных глюкозаминогликанов - геприноидов;
- активируются сериновые протеиназы;
- снижается синтез простациклина;
- стимулируется рост гладкомышечных клеток сосудистой стенки и пролиферация эндотелия.

Так формируется сосудистый компонент тромбоваскулярной болезни,

аналогичный естественному развитию атеросклеротического процесса [96,105].

Коагуляционный (тромботический) компонент гипергомоцистеинемии связан с угнетением синтеза тромбомодулина - эндотелиального мембранного белка, без которого тромбин не образует комплекса, активирующего естественные белковые антикоагулянты (протеин С и S), которые не оказывают прессорного воздействия на активность факторов Va и Villa. Одновременно происходит модификация V фактора свёртывания крови, в результате он становится нечувствительным по отношению к протеину С, падает активность антитромбина III и эндогенного гепарина, в результате происходит повышение активности тромбина. Снижается выработка тканевого активатора плазминогена. Макрофаги усиленно вырабатывают тканевый фактор. Описанные процессы приводят к дополнительному повышению коагуляционных свойств крови. При гипергомоцистеинемии возрастает агрегационная способность тромбоцитов вследствие активации арахидонового каскада и повышения чувствительности тромбоцитов к АДФ (результат угнетения экто-АДФ-азы) и тромбину (следствие ускорения мобилизации арахидоната из липидов мембраны). В крови возрастает антигенность по отношению к активатору ингибитора плазмина-1 [10,26,37, 71].

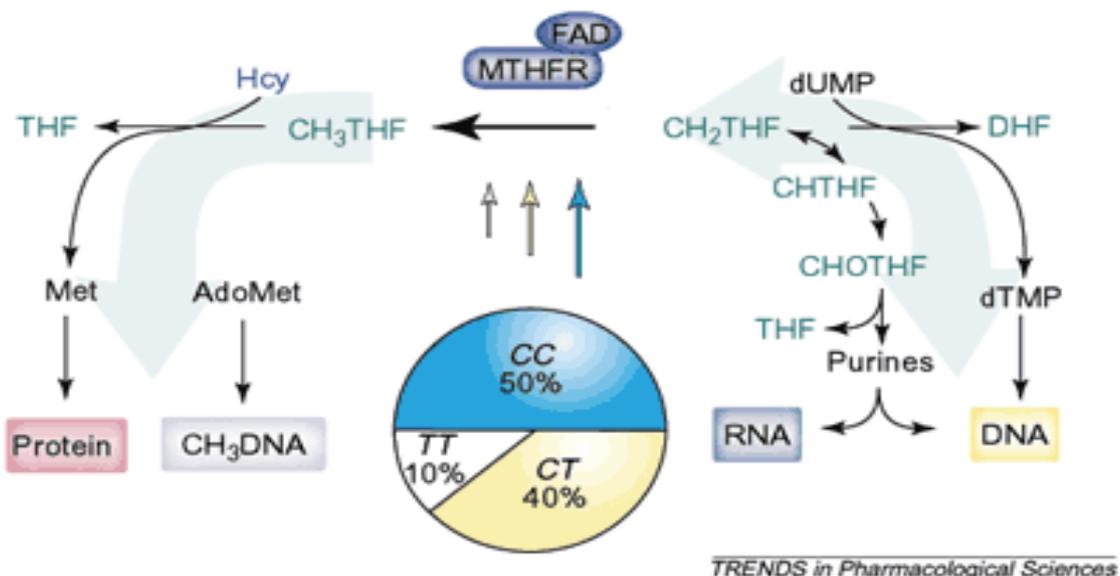


Рисунок 1.2.1. Роль полиморфизма МТНFR в обмене фолатов [26].

Данный фермент катализирует превращение 5,10-метилентетрагидрофолата в 5-метилтетрагидро-фолат. Последний является донором метильных групп для реметилирования гомоцистеина в синтезе метионина [98,174]. В эти же годы доказано, что повышение уровня ГЦ в плазме крови является независимым фактором риска развития сосудистых осложнений. В 1993 году ген MTHFR был клонирован, что сделало возможным изучение его вариантов. Ген MTHFR расположен на коротком плече 1-й хромосомы. Он состоит из 11 экзонов [67]. Среди распространенных полиморфных вариантов наиболее изученными являются варианты 677 C→T и 1298 A→C гена MTHFR. В первом случае нуклеотид цитозин (C) в позиции 677 C→T экзона 4 заменён на тимидин (T), что ведёт к замене аминокислотного остатка аланина на остаток валина в сайте связывания фолата. Такой полиморфизм обозначается символом 677 C→T [73]. У лиц, гомозиготных и гетерозиготных по данной мутации, отмечается термолабильность MTHFR и снижении активности фермента примерно до 70 и 35% соответственно [67,72,77,104,174]. Кроме того, у лиц, гомозиготных по 677-аллелю, отмечается развитие гипергомоцистеинемии. Однако уровень гомоцистеина у лиц с генотипом TT может быть снижен при добавлении в пищу фолиевой кислоты [98,125,137,141]. Распространенность мутантного аллеля 677T гена MTHFR в популяциях мира характеризуется географической и этнической вариабельностью. Данные, опубликованные Ergbersenet A. et al. (1995), Kang S.S.et al. (1991) [128], говорят о том, что частота гетерозиготного носительства этого аллеля в популяции достигает 40%, гомозиготного носительства - от 5 до 14% у лиц европейской расы, при сосудистых заболеваниях цифра намного выше - от 17 до 28% [93,116]. Чаше данный аллель встречается у испанцев, достигая 55%, и снижаясь до 6% у африканцев, аборигенов Австралии и Шри-Ланки [70,74]. В Европе наименьшая частота аллеля 677T обнаружена у скандинавов. В ряде европейских популяций (французская, турецкая, английская) частота встречаемости данной мутации высока [7,67]. Интересно, что в Европе

частота встречаемости аллеля 677Т имеет тенденцию к увеличению от севера к югу, возможно, это связано с более высоким содержанием фолатов в питании жителей Средиземноморья. Независимо от региона, наличие аллеля 677Т связано с повышением уровня ГЦ в плазме крови [70,116], у гомозиготных носителей это повышение выражено в большей степени, чем у гетерозиготных носителей [122,128].

Другим вариантом полиморфизма гена МТНFR является миссенс-мутация аденина (А) на цитозин (С) в позиции 1298 А→С (А1298С). Это приводит к замене остатка глутамина на остаток аланина в регуляторном домене фермента, что сопровождается небольшим снижением его активности. У лиц, гомозиготных по мутации 1298 А→С, отмечается снижение активности фермента МТНFR до 60%. Гетерозиготность или гомозиготность по данной мутации не сопровождается ни повышением концентрации общего ГЦ, ни снижением уровня фолата в плазме [73,164,179,185]. Однако комбинация гетерозиготности аллелей 677Т и 1298С сопровождается снижением активности фермента, повышением концентрации ГЦ в плазме и снижением уровня фолата, как при гомозиготности 677Т [87]. Наследственно обусловленные нарушения обмена ГЦ могут быть связаны с мутационными повреждениями в гене цистатионин-р-синтазы. Гетерозиготные мутации в этом гене встречаются в популяции менее чем в 1% случаев и вызывают умеренное или выраженное повышение уровня ГЦ в крови. Гомозиготное носительство - редкое явление. Оно сопровождается выраженным повышением ГЦ в плазме крови и гомоцистинурией [112].

1.2.2. Изучение полиморфного варианта гена метилентетрагидрофолатредуктазы в позиции 677 С→Т у больных артериальной гипертонией

Фактором, увеличивающим риск развития ИБС и ИМ, является

гипергомоцистеинемия. В большинстве исследований было установлено, что повышение уровня гомоцистеина является независимым фактором риска развития сосудистых осложнений, т.к. были выявлены связи гипергомоцистеинемии с риском развития ИБС, ИМ и смертностью. Установлено, что увеличение уровня гомоцистеина на 5 мкмоль/литре в плазме крови ассоциируется с ИБС и инсультами [178]. Но избыточное накопление гомоцистеина связано с нарушением наследственного дефицита фермента МТНFR. Среди населения земного шара мутации 677Т гена МТНFR распространена достаточно широко у представителей европейской расы, поэтому было проведено изучение распределения генотипов гена МТНFR 677 С→Т.

Метилентетрагидрофолатредуктаза (МТНFR) является цитозольным ферментом, который содержит не ковалентно связанный кофактор флавинадениндинуклеотид (FAD) и использует его в качестве восстанавливающего агента. МТНFR является важным ферментом для метаболизма фолиевой кислоты и гомоцистеина, который, в свою очередь, является фактором риска для ряда заболеваний сердца [162].

МТНFR отвечает за преобразование циркулирующей формы фолиевой кислоты 5,10-метилентетрагидрофолата до 5-метилтетрагидрофолата в многоступенчатых процессах, которые преобразует гомоцистеин-аминокислоту на другую аминокислоту, путем замены метионина на S-аденозил метионин за счет общего донора метила (рис. 1.2.2.).

Организм использует метионин для синтеза белков, и используя их как строительный материал для роста и метаболизма. С другой стороны, соответствующее метилирование более эффективно способствует очистке вредных веществ, метаболитов и продуктов жизнедеятельности.

За десятилетия исследователи расширили наше понимание патофизиологической связи мутаций гена МТНFR с дефицитом фермента, повышенным гомоцистеином и низким уровнем фолиевой кислоты в

организме. Следует отметить, что это было сделано, чтобы снизить значение МТНФР в формировании гипергомоцистеинемии.

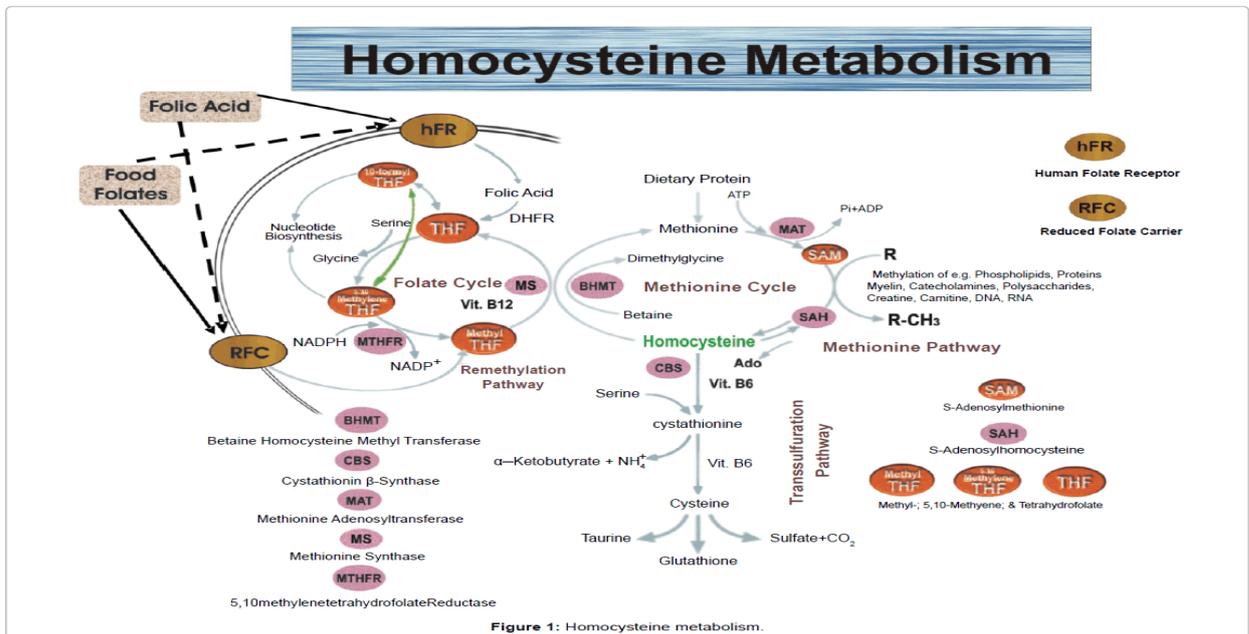


Рисунок. 1.2.2. Метаболизм гомоцистеина [135].

Гомоцистеин является серосодержащей аминокислотой, являясь окислителем, он играет важную роль в окислении липидов и липопротеинов, следовательно, увеличивая риск ССЗ [83,101]. Mudd и др. обнаружили тяжелую форму дефицита фермента МТНФР, что приводит к очень серьезным последствиям для здоровья при наличии гипергомоцистеинемии, в котором гомоцистеин определяется в моче [104]. С момента открытия роли мутации гена МТНФР в заболеваниях человека, этот фермент получил большое внимание в установлении связи с повышенной концентрацией гомоцистеина и сердечнососудистых заболеваний. На данный момент имеются исследования по типу «случай – контроль», ретроспективные и мета-анализы, которые показали, что полиморфизм гена МТНФР связан с повышением концентрации гомоцистеина в крови и сердечно - сосудистых заболеваниями [77,124,142,177]. МТНФР 677 С→Т и 1298 А→С гомозиготный генотип ассоциируется с преждевременной ИБС и других сердечно - сосудистых заболеваний [133,137].

Мутантный генотип ТТ связан с повышенным уровнем циркулирующего гомоцистеина и проявлением у лиц, являющиеся носителями этой мутация, низким уровнем фолиевой кислоты [188]. Полиморфизм гена МТНFR в позиции 677 С→Т является наиболее распространенным и распространенной формой генетических полиморфизмов гена МТНFR, которая выражается от легкого до высокого уровня гомоцистеина и связанного с проявлением заболевания [135,145,187]. Тем не менее, этот вариант находится в каталитическом домене гена МТНFR и в термолабильном состоянии влияет на метаболизм фолиевой кислоты и гипергомоцистеинимию.

В 1998 году был описан еще один полиморфизм гена МТНFR 1298 А→С, который вызвался заменой аминокислоты глутамат на аланин [135]. МТНFR выступает в качестве центрального модулятора фолатно-метионинового пути, поэтому вдохновленные исследователи из всех областей идентифицируют и охарактеризовывают новые мутации для выявления рисков развития заболеваний. Sibani и др. обнаружили 33 серьезные мутации, Martin и соавт. сообщили о 65 мутациях в гене МТНFR. Поэтому сотни (~ 109) полиморфизмов, которые включают в себя мутации, делеции, дупликации и сращивания, были определены и исследования продолжают устанавливать роль в риска ССЗ [137].

Соответственно, чтобы исследовать причину заболевания, вследствие мутации гена МТНFR, ученые разработали с патоморфологическими моделями мышей. Они демонстрировали значительно низкую (> 60%) активность фермента в позиции 677 С→Т, что приводило к высокому уровню гомоцистеина среди мутантной группы, а также наблюдали повышенное отложение липидов в основных артериях. Эффект гипергомоцистеинемии проявляется в виде фактора риска высокого осаждения холестерина в сосуде, который инициирует генерацию атеросклероза, прогрессирование тромбообразования и развития коагулопатии, что приводит к инфаркту миокарда и острому нарушению мозгового кровообращения. Ген МТНFR

существует в виде димера, состоящего из 656 аминокислот, трансформирующего белок, который мигрирует при $\sim 74-77$ кДа. Это позволяет эволюционно сохранять ген от организмов дрожжей до человека. Однако мышь изображает самую высокую степень гомологии ($> 90\%$). Ген MTHFR расположен на коротком плече хромосомы 1 (1p36.3) и охватывает ~ 21 кб. Последовательность кДНК имеет длину 2,2 кб и он состоит из 11 экзонов в пределах от 102 до 432 п.н. п.н. Размер интрона колеблется от 250 п.о. до 1,5 т.п.н. с одним исключением 4,2 кб. Кроме того, он имеет тесную химико-физическую связь с хлоридными каналами[141].

1.2.3. Полиморфизм гена MTHFR в позиции 677 C→T и риск кардиоваскулярной патологии

Действительно, сердечнососудистые (ССЗ) заболевания являются многофакторными и им принадлежит основная роль в развитии заболеваний у 15 миллионов людей, а так же огромного риска инвалидизации. На самом деле сотни генов, экологические и эпигенетические являются факторами риска в развитии ССЗ. Соответственно, мутации в атерогенных генах ведет к высокому уровню холестерина при сердечно - сосудистых заболеваниях. Таким образом, результаты метаанализа, статистический данных отмечают существенную связь между повышенным уровнем гомоцистеина и мутациями MHTFR в развитии кардиоваскулярной патологии [137].

Ген MHTFR участвует в метаболизме гомоцистеина и представляет особый интерес для медицины, т.к. является универсальным генетически обусловленным фактором риска кардиоваскулярной патологии. Следует отметить, что многочисленные результаты в публикациях, демонстрировали дополнительный риск сердечно - сосудистых заболеваний при наличии патологического TT генотипа. Таким образом, обнаружение повышенного риска сердечно - сосудистых заболеваний, связанных с полиморфизмом гена MTHFR не удивительно, потому что патологический генотип TT сильный

генетический детерминант для гипергомоцистеинемии. Подобное наблюдение демонстрировало, что 677ТТ генотип является наследственным фактором риска развития сердечно - сосудистых заболеваний [111,135].

Кроме того, многие предыдущие исследования показали, что к риску развития и прогрессирования сердечно - сосудистых заболеваний полиморфизм гена МТНFR не имеет отношения [107,141,145]. Это несоответствие может быть связано с различными критериями отбора, различных методов измерений гомоцистеина крови. Так же, в разных странах свои правила пищевого поведения, что так же обуславливает снижение уровня гомоцистеина и риска ССЗ[148], а в частности присутствие в пище фолиевой кислоты.

Был проведен большой метанализ по типу случай-контроль, где рассматривался генотип 677 С →Т МТНFR и ССЗ. В первое было включено 40 исследований, включавших 11162 пациента с ИБС, во втором 120 исследований и 19993 человека с различными формами ССЗ (ИМ, ОНМК).

Последовательно, оба исследования пришли к выводу, что пациенты с генотипом МТНFR 677ТТ имеют умеренное, но статистически значимое увеличение риска сердечно - сосудистых заболеваний по сравнению с теми, кто не имел патологического генотипа ТТ [153].

В связи с этим, другой мета-анализ, состоящий из более чем 20000 исследуемых, так же определял повышенный риск ССЗ у субъектов, несущих генотип 677ТТ МТНFR. Это доказывает основную связь 677ТТ генотипа с повышенным уровнем гомоцистеина и сердечно - сосудистыми заболеваниями [77,134].

При изучении генотипов гена МТНFR в позиции 677Т и его аллелей выявлено, что вовлечение МТНFR в метионин-гомоцистеиновый цикл делает его важным игроком для исследования частоты аллеля / генотип «Т» в развитии сердечно - сосудистых заболеваний. Распространенность полиморфизма гена МТНFR 677 С→Т существенно варьируется в зависимости от этнических и расовых групп во всем мире. Разнообразная

природа аллеля «Т» определяется в диапазоне от 59,0% у мексиканцев, 44,9% у бразильцев, 33,3 до 43,8% в странах Южной Европы, 37,0 до 42,0% у японцев, 33,0 до 38,0% у китайцев, 38,0% у канадцев, 32,2% у американцев, 20% до 33,3% в Средней Восточной Азии, 20,8% в Азии, 18,6% в странах Европы, 6,6% у африканцев, и 4,7% у австралийцев [130,164,169,189].

В целом частота аллеля Т и мутантного генотипа ТТ весьма разнообразна среди населения земного шара, вследствие чего риск развития сердечно-сосудистых заболеваний также значительно варьируется в зависимости от этнической, расовой принадлежности и пищевого поведения.

1.2.4. Полиморфизм гена МТНFR в позиции 1298 А→С и риск кардиоваскулярной патологии

Еще более распространенный полиморфизм гена МТНFR в позиции 1298 А→С обусловлен заменой глутамата на аланин в 1298 нуклеотиде. Этот вариант заключается в 7 экзоне в регуляторной области, в то время как вариант 677 С→Т заключается в 4 экзоне в каталитическом домене. Он играет важную роль в развитии различных заболеваний, включая сердечно - сосудистые. В результате замены 1298 А→С ферментативные свойства уменьшаются не более чем на 35%, что означает сохранность 65% общей ферментативной активности.

С другой стороны, вариант 1298 А→С, был меньше изучен, чем 677 С→Т вариант. Кроме того, эффект от полиморфизма гена в позиции 1298 А→С для уровня гомоцистеина и фолиевой кислоты является более щадящим, поэтому основную тяжесть степени риска ССЗ несет в себе полиморфный вариант 677 С→Т [72,129,170]. Впоследствии, несколько исследований не определили гипергомоцистеинемии среди гомозиготного патологического носительства (1298СС), даже если и снижалась ферментативная активность метилентетрагидрофолатредуктазы, которая имела термолабильную природу [135].

Кроме того, исследователи оценивают эффект этих двух полиморфных вариантов гена MTHFR на молекулярном уровне с использованием рекомбинантной технологии. Они продемонстрировали, как кофактор флавинадениндинуклеотид связывает и диссоциирует из ферментного комплекса в течение многостадийных метаболических путей. Эти методы помогают определить метаболиты и кофакторы, ответственные за активность фермента MTHFR [73].

Изучение генотипов гена MTHFR в позиции 1298 и его С аллель показало, что частота патологического аллеля «С» также значительно варьируется по всему миру. Канадцы и европейцы (36%), израильтяне (34%), американцы (32%) и португальцы (28,3%) имеют более высокую частоту патологического аллеля по сравнению с китайцами (17%) [74,87] и африканцами (21%) [70].

Аналогичным образом, полиморфизм гена MTHFR в позиции 1298 А→С зависит от этнической и расовой принадлежности. Распространенность патологического аллеля С у европейцев составляет около 10% [87,122], у аравитян (9,1%) [116], в то время как у индейцев она колеблется от 3,0% до 17,8% с меняющимся количеством тяжелых заболеваний ССС [116,122,134].

1.3. Артериальная гипертония, как фактор риска «тромбогенных» осложнений

По данным эпидемиологических исследований, распространенность АГ среди взрослого населения в развитых странах мира колеблется от 20 до 40% с резким возрастанием по мере старения [57,59]. По данным Мониторинга Эпидемиологической ситуации по АГ, проводимого в рамках Федеральной Целевой Программы «Профилактика и лечение артериальной гипертонии в Российской Федерации», было показано, что за последние 10–15 лет эпидемиологическая ситуация, связанная с АГ, существенно не изменилась и распространенность АГ в нашей стране продолжает оставаться одной из

самых высоких в Европе [59]. В Российской Федерации распространенность АГ в 2009 г. составила 40,8% [55-58]. Исследования, основанные на метаанализе, демонстрируют линейную связь между уровнем АД и риском развития сердечно-сосудистых осложнений (ССО) [61]. АГ обычно приводит к клинически повреждению органов мишеней, таких как сердце, мозг и др., что серьезно угрожает здоровью человека и повышает риск инвалидизации. Скрининг населения с целью идентификации факторов риска повреждения сердца и мозга при гипертонии может помочь в выявлении высокого риска развития осложнений на ранних стадиях, и позволит провести раннее лечение и повышения качества жизни пациентов. Гипергомоцистеинемия является особенностью гипертонической популяции не только мира, но и Российской Федерации. Из-за влияния генетических и экологических факторов средний уровень гомоцистеина в плазме взрослых пациентов с гипертонической болезнью в РФ составляет 15 мкмоль / л, а примерно 75% пациентов (90% мужчин и 65% женщин) имеют осложнения от увеличения уровня гомоцистеина плазмы. Увеличение гомоцистеина плазмы связано с полиморфизмом гена 677 С→Т в его ключевом метаболическом ферменте 5, 10-метилентетрагидрофолатредуктазе (МТНFR). Частота мутантного Т-аллеля в гене МТНFR 677 С→Т у российской популяции составляет 43 %, что выше, чем в других популяциях (в китайской 41%) [76]. В последние годы было проведено больше исследований для уточнения функций гомоцистеина при кардиоваскулярной патологии, таких как АГ, ИМ, ОНМК. Гомоцистеин оказывает токсическое воздействие на эндотелиальные клетки сосудистой стенки, что вызывает эндотелиальную дисфункцию. Кроме того, гомоцистеин легко окисляется в крови с образованием большого количества свободных радикалов, которые повреждают эндотелиальные клетки сосудистой стенки, вследствие чего происходит активация тромбоцитарного звена с секрецией биологически - активных (БАВ) веществ, которые способствуют агрегации и адгезии тромбоцитов [45,51]. Это может являться патогенной основой множества заболеваний, вызванных

гипергомоцистеинемией, и этот механизм влияет на функцию эндотелия сердца и головного мозга. А главными причинами развития ИМ и ОНМК являются тромбофилические состояния, вызванные нарушением регуляции гемостатической системы или нарушениями ее отдельных этапов. Общеизвестный факт, что образование и дальнейшее прогрессирование тромба зависит от состояния сосудистой стенки, компонентов регуляции гемостатической системы, реологии крови и т.д. При нормальном состоянии адгезии тромбоцитов к неизмененному эндотелию не происходит, а в патологических случаях ограничивается участком, прилежащим к месту повреждения эндотелия, т.к. клетки эндотелия выделяют антитромбогенные факторы, такие как простациклин, оксид азота, экто-АДФ-аза. (рис.1.3.2.) [44,65]. В организме при нормальных условиях продукция антитромбогенных факторов преобладает над тромбогенными, но тромборезистентность сосудистой стенки напрямую детерминируется выработкой антитромбогенных веществ [26].

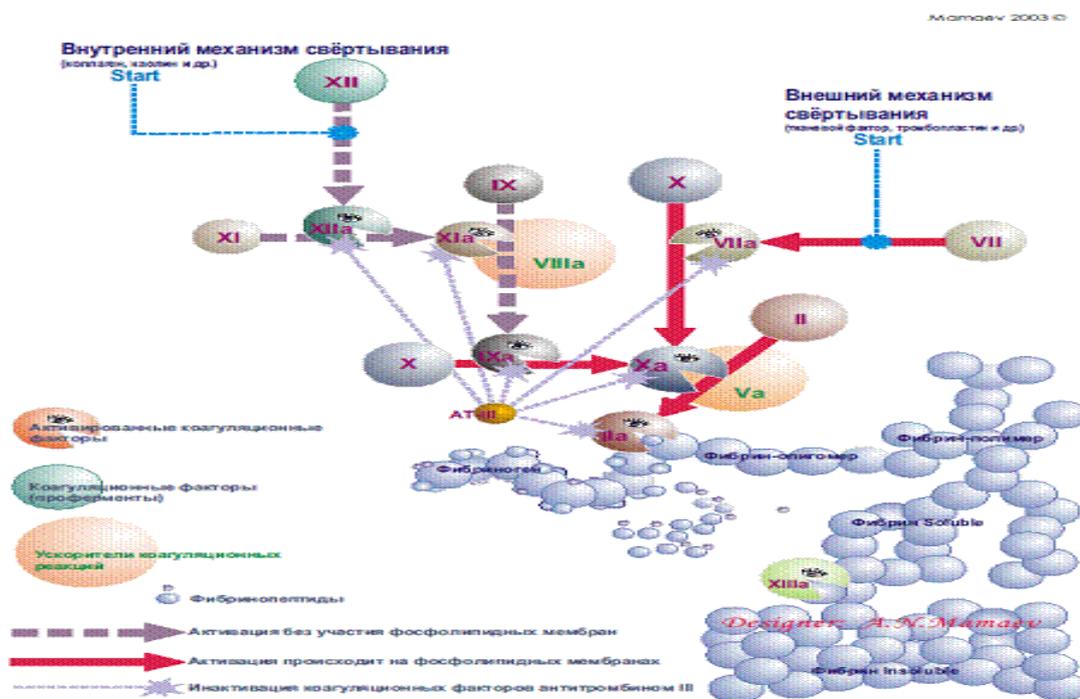


Рисунок 1.3.1. Схема свертывания крови [35].

На деле, окклюзионные тромбы формируются под действием дополнительных факторов: нарушения в системе антикоагулянтов, изменения фибринолитических свойств крови, нарушения в функциях тромбоцитов, операционный и послеоперационный периоды, в частности длительный постельный режим, оральные контрацептивы, беременность и т.д.

Таким образом, АГ с учетом изменения реологии крови, является одним из факторов, влияющих на формирование тромба, способствующим развитию инфаркта миокарда и острого нарушения мозгового кровообращения. Возможностью предупреждения развития тромбогенных осложнений (ИМ, ОНМК) у больных АГ является раннее выявление риска развития данных осложнений методом включения в алгоритм обследования больных дополнительных критериев, характерных для данного региона или национальности титульного населения, т.е. разработка персонализированного подхода к диагностике и в дальнейшем индивидуального подхода к терапии, позволяющей профилактировать тромбогенные осложнения у данной категории больных. Особенно это актуальным является для больных АГ в Республике Мордовия, т.к. проводимые ранее скрининговые исследования, выявили у больных АГ национальности мордва-мокша частую встречаемость неблагоприятного генотипа гена метилентетрагидрофолатредуктазы в позиции 677.

1.4. Острый инфаркт миокарда, как социальная проблема современного общества.

В Российской Федерации в последние годы наблюдается увеличение ожидаемой продолжительности жизни населения и в 2015 г. она составила 70,91 года, однако, она остается низкой по сравнению с другими странами: в США 78,74 года, Китай 75,9 лет. По данным ВОЗ, Российская Федерация входит в число государств, где население убывает [186].

Таблица 1.4.1. Продолжительности жизни за 2015 год по субъектам РФ [12].

Субъект России	Оба пола↓	Мужчины	Женщины	Ж - М
Республика Ингушетия	80,05	76,51	83,02	6,51
г. Москва	76,77	72,96	80,36	7,40
Пензенская область	72,12	66,47	77,58	11,11
Республика Мордовия	72,06	66,49	77,54	11,05
Волгоградская область	71,98	66,68	77,13	10,45

Продолжительность жизни в Республике Мордовия составляет 72,06 лет (18 место среди субъектов РФ) [12].

Главной причиной отрицательной динамики в приросте населения является смертность от болезней системы кровообращения (БСК), и в возрастной категории 35-74 года составляет 1173,3 на 100 000 человек для мужчин и 466,0 на 100 000 человек для женщин. В том числе, от инфаркта миокарда (ИМ) погибает 23,4 на 100000 населения в 2015г., увеличиваясь к 2016г. до 26,1 на 100000 населения согласно данным глобального опроса взрослого населения о потреблении табака (GATS) в 2009г.

На данный момент, сложившуюся ситуацию обуславливают высоким уровнем технологического осквернения среды проживания, недостаточностью проведения первичной профилактики и недоразвитостью высокотехнологичной помощи населению (ВМП)[60].

Особенно это актуально для индустриально развитых регионов РФ, где следует актуализировать проведение первичной профилактики артериальной гипертензии, ее осложнений в виде ИМ, ОНМК и повышать доступность ВМП для снижения инвалидизации и эффективной реабилитации. Во всем мире практикуется значение паритета покупательной способности для оценки затрат на лечение ИМ, так в странах Евросоюза он составляет 5520 уе, а в РФ 1400 уе.[99]. Весь смысл данной информации заключается не

только в том, что следует повысить российские показатели до уровня европейских, но больше в том, чтобы наши стандарты оказания медицинской помощи при острых сосудистых катастрофах были так же «насыщены» методиками исследования, включая генетические.

На научно-исследовательскую и опытную деятельность по медицине в доле валового внутреннего продукта (ВВП) расходуется в Российской Федерации 0,03%, на аналогичную деятельность в развитых странах расходуется в 10 раз больше согласно данным Шишкина С.В. и соавторов. Все это характеризует долю использования научных технологий в реальной клинической практике РФ. Нужно развивать научно-исследовательскую и опытную деятельность, а так же активно внедрять технологии превентивной медицины в практическую врачебную деятельность при ведении больных с социально значимыми заболеваниями, как артериальная гипертония, ИМ, ОНМК. Данные заболевания определяют потери ВВП вследствие большого риска преждевременной смертности и необратимой инвалидизации трудоспособной части населения. Так, на 2009 г. суммарный финансовый ущерб от ИМ составил 1120 млрд. рублей [61,62].

Так что, данные заболевания относятся к социально-экономическим проблемам и не теряют своей актуальности не только в здравоохранении РФ, но и стран мира.

Пути разрешения данных вопросов беспокоят умы ученых и экспертов, не только медицинских сообществ мира, но и политических, экономических, финансовых, а так же практикующих врачей. На первый план выходит финансовое обеспечение рациональных механизмов бесперебойной работы системы профилактики острых сосудистых событий, удобных для практического здравоохранения, и основанных на молекулярной генетике, биохимии, моделей стратификации риска развития осложнений.

Острый инфаркт миокарда - это гибель миоцитов из-за длительной ишемии, которая является результатом несоответствия потребности в перфузии в соответствующих тканях. Частота острого инфаркта миокарда

увеличивается с кластеризацией предрасполагающих факторов риска. Несмотря на то, что в области медицины достигнут значительный прогресс в разработке методов лечения в виде стентов и препаратов, содержащих наркотические анальгетики, ишемическая болезнь сердца (ИБС) по-прежнему является ведущей причиной смерти во всем мире. Согласно критериям Российского кардиологического общества (РКО), при длительности ангинозного приступа более 20 минут и/или дискомфортом в грудной клетке и стойким подъемом сегмента ST или впервые возникшей блокадой левой ножки пучка Гиса (БЛНПГ) на ЭКГ, регистрируется как острый инфаркт миокарда. Основная стратегия ведения подобных больных заключается в быстром, стойком, максимально полном восстановлении просвета коронарного сосуда в зоне ишемии. В Российской Федерации используется тромболизис или первичная эндоваскулярная реваскуляризация - чрезкожное коронарное вмешательство (ЧКВ).

По рекомендациям Европейского кардиологического общества, принятого в 2012г. [35], время от первого контакта больного с признаками острого инфаркта миокарда с врачом до введения баллона в коронарную артерию должно составлять от 60 до 90 мин. А так как Российская Федерация - страна с обширными площадями и низкой концентрацией населения, преимущественным остается фармакоинвазивный метод. Он заключается в скорейшем применении у больного тромболизиса, с его дальнейшей транспортировкой в специализированный медицинский центр, в котором можно провести ангиографическое исследование для проведения отсроченного ЧКВ.

Но, даже если временные рамки будут соблюдены, это не всегда дает стопроцентное снижение госпитальной смертности. Так в исследовании CathPCIRegistry [69,100], было наглядно продемонстрировано, что снижения времени от первого контакта пациента до проведения ЧКВ, значительно не снизило госпитальную летальность, и составило 4,8% в 2005- 2006г. и 4,7% в 2008-2009г.

Следует сделать вывод, что основные усилия должны быть направлены на догоспитальный этап и профилактику развития сердечнососудистых катастроф. На данный момент приоритетное значение имеет новый прогностический фактор-система гемостаза, а в частности метионин-гомоцистеиновый обмен.

1.5. Острое нарушение мозгового кровообращения

Острое нарушение мозгового кровообращения в российской статистике входит в понятие цереброваскулярные заболевания, и приводятся устрашающие цифры смертности: за 2015г. 198,3 и в 2016 г. 190,8 на 100000 чел. Заболеваемость от ЦВЗ на 2015г.- 6643,8 и 2016г. 7009,3 на 100000 человек. То есть ежегодно инсульт поражает около 6 млн. человек в год в мире, в Российской Федерации - более 450 тысяч. В структуре всех причин инвалидизации, первое место принадлежит инсульту и составляет 3,2 на 10000 населения [45]. В течение первых 30 суток погибает около 40 % больных. Как правило, одну треть из заболевших ОНМК, составляют люди трудоспособного возраста, но к труду возвращаются менее 20 %. Из всех случаев ОНМК, согласно мировой и российской структуре, 75-85% составляют ишемические инсульты. У Carvalho K. S. от 2002г. [14,83] представлены данные о случаях ишемического инсульта у детей, чьи родители перенесли инсульт. На современное здравоохранение возложена важная социальная задача - выявление лиц с повышенным риском развития инсульта.

Причины развития инсульта многообразны, по данным НИИ неврологии РАМН, среди ишемического ОНМК уточненного генеза атеротромботический инсульт составляет 34%, кардиоэмболический- 22%, гемодинамический- 15%, лакунарный инсульт-22 %, инсульт по типу гемореологической микроокклюзии-7% [21,22]. В 8 до 15 % случаев не возможно идентифицировать причину возникновения инсульта даже при

высокоспециализированных неврологических стационарах с комплексным клинико-инструментальным и лабораторным исследованием, а в некоторых клиниках регистрируется до 40 % неидентифицированных причин инсульта [7].

Подобные диагностические проблемы возникают при ишемическом ОНМК в более юном возрасте, именно в этой когорте пациентов следует применять генетические исследования для выявления факторов, детерминирующих особенности гемостаза, состояния эндотелия сосудистой стенки. В последнее время активно изучаются генетические факторы риска ОНМК, т.к. этому способствует развитие молекулярной генетики. В группе больных ишемическим ОНМК анализировались полиморфизмы генов ренин-ангиотензиновой системы, эндотелиальной синтазы, генами программированной клеточной гибели, генами, кодирующими липидный метаболизм [14,21,45,46,122]. Но данные, полученные при исследовании, остаются противоречивыми. Актуальным на данный момент является анализ полиморфизма генов метионин-гомоцистеинового обмена, которые могут быть связаны с риском развития ОНМК [102].

Главными причинами развития ОНМК являются тромбофилические состояния, вызванные нарушением регуляции гемостатической системы или нарушениями ее отдельных этапов. Общеизвестный факт, что образование и дальнейшее прогрессирование тромба зависит от состояния сосудистой стенки, компонентов регуляции гемостатической системы, реологии крови и т.д. При нормальном состоянии адгезии тромбоцитов к неизмененному эндотелию не происходит, а в патологических случаях ограничивается участком, прилежащим к месту повреждения эндотелия, т.к. клетки эндотелия выделяют антитромбогенные факторы, такие как простациклин, оксид азота, экто-АДФ-аза [63]. В организме при нормальных условиях продукция антитромбогенных факторов преобладает над тромбогенными, но тромборезистентность сосудистой стенки напрямую детерминируется выработкой антитромбогенных веществ [21,51].

На деле, окклюзионные тромбы формируются под действием дополнительных факторов: нарушения в системе антикоагулянтов, изменения фибринолитических свойств крови, нарушения в функциях тромбоцитов, операционный и послеоперационный периоды, в частности длительный постельный режим, оральные контрацептивы, беременность и т.д. Но чаще, эти нарушения вызваны генетическими факторами. И одним из наиболее значимыми по данным литературы [45,141] являются нарушения в системе метионин-гомоцистеинового обмена, и признаются независимыми факторами риска тромбофилий. Развивается гипергомоцистеинемия вследствие нарушенного метаболизма гомоцистеина, в частности, промежуточного продукта метионина, хотя данное состояние может возникнуть из-за экзогенных факторов (недостаточность в пище витаминов В12 и В6). Все таки большее значение уделяется генетическим дефектам, в результате которых происходит образование неполноценных ферментов, таких как метилентетрагидрофолатредуктаза (МТНFR), метионинсинтазы-редуктазы (МTR) и др.

У индусов, турок, китайцев, японцев, у которых выявлена связь гипергомоцистеинемии, 677 С→Т, инфаркта мозга, наибольшее количество ассоциаций полиморфизма гена МТНFR в позиции 677 С→Т и ишемического инсульта [162,175].

В европейских странах, в которых проводились исследования, выявлена связь между развитием ишемического инсульта и полиморфизмом гена МТНFR в позиции 677 С→Т у голландок в возрасте 29-40 лет, использующих оральные контрацептивы и у венгров при сочетанном носительстве МТНFR 677 С→Т и 1298 А→С [135, 145].

ГЛАВА 2. Материалы и методы обследования

2.1. Алгоритм отбора больных первичной артериальной гипертонией, инфарктом миокарда, острым нарушением мозгового кровообращения

Отбор больных для настоящего исследования проводился на базе ГБУЗ РМ «Мордовская Республиканская Клиническая Больница» и районной больницы Зубово-Полянского района Республики Мордовия (РМ). Титульное население РМ относится к финно-угорской популяции - это мордва, разделенные на две крупные этнические группы мордва-мокша и мордва-эрзя. Коренное население РМ представлено представителями мордовской национальности, русскими, татарами, украинцами и др. Но наиболее многочисленное население – это мордва и русские [29,30]. Зубово-Полянский район РМ представлен коренным населением: этническая группа мордва-мокша и жителями русской национальности. Выборка больных и здоровых лиц по национальной принадлежности проводилась только в семьях, где не выявлено смешанных браков в течение не менее пяти поколений.

На предварительном этапе было осмотрено 425 больных сердечно-сосудистой патологией (АГ, ИМ, ОНМК) и 100 здоровых волонтеров, не имеющих у себя и родственников сердечно-сосудистых заболеваний.

Каждый больной, помимо стандартного осмотра и сбора анамнеза, проходил комплекс обследований, направленных на выявление заболеваний, входящих в список критерия исключения для каждой конкретной группы.

Все исследования были выполнены с информированного согласия пациентов с соблюдением современных этических стандартов, предъявляемых к клиническим испытаниям. Получено одобрение локального этического комитета ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва» (протокол № 45 от 16.12.2016г.).

При сборе анамнеза обращалось внимание на данные генеалогического анамнеза – выявление положительного семейного анамнеза по заболеваниям системы кровообращения, в частности артериальной гипертензии, инфаркта миокарда, острого нарушения мозгового кровообращения.

После проведенного скрининга из 425 больных было отобрано 286 больных с кардиоваскулярной патологией, из которых были сформированы 3 группы. В первую группу вошло 114 пациентов, имеющих первичную АГ II ст., вторую группу составили 80 больных с ИМ и 92 больных с ОНМК вошли в третью группу исследования, отобранных в соответствии с вышеуказанными критериями (рис.2.1.1). Группу контроля составили 100 «здоровых» волонтера.

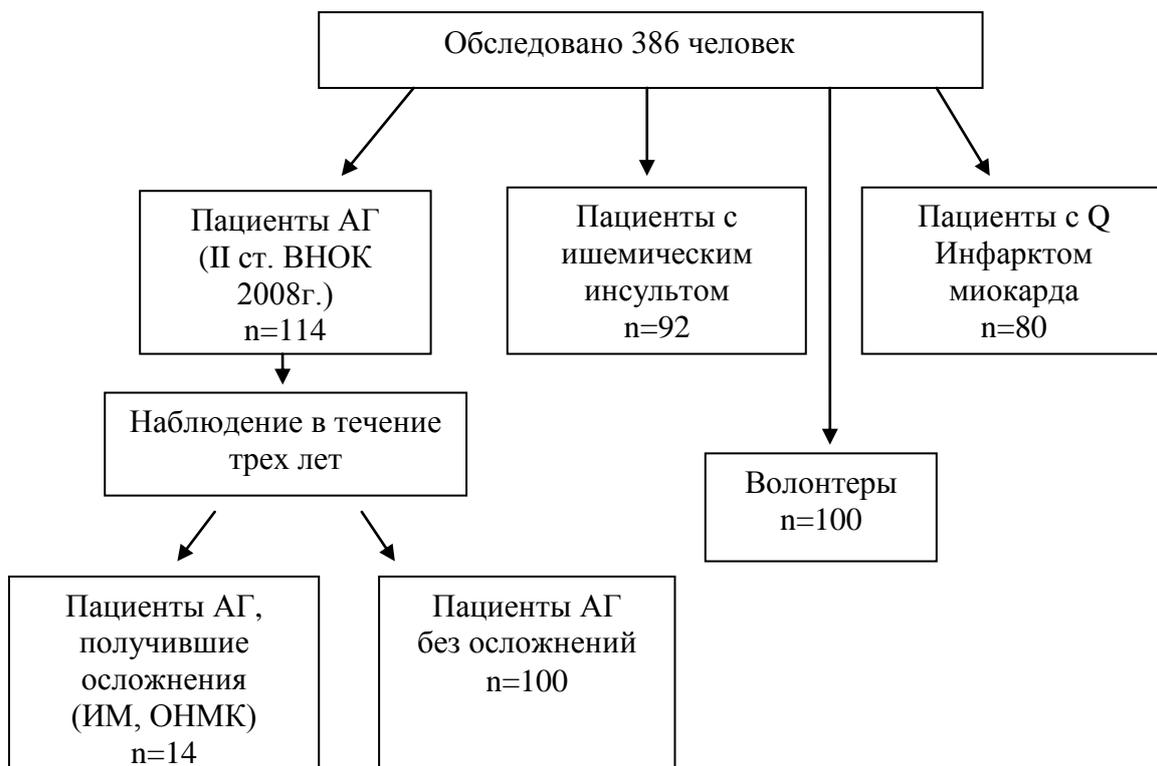


Рисунок 2.1.1. Дизайн обследования

2.1.1. Клинико-гемодинамическая характеристика больных первичной артериальной гипертонией

В группе первичной АГ было обследовано 114 пациентов с АГ (II стадией по классификации ВНОК 2008 г., АД \geq 140/90 мм рт.ст.) русской и мордва-мокша национальности. В данную группу больных АГ вошло 30 мужчин, что составило 26,3 % от числа исследуемых (15 русских, 15 мордва-мокша и 84 женщины, что составило 73,7 % от числа исследуемых (42 женщины морва-мокша и 42 пациентки русской национальности).

Все больные принимали комбинации антигипертензивных препаратов, состоящие из ИАПФ, блокаторы кальциевых каналов, бета-блокаторов и диуретиков. 12% больных вместо иАПФ принимали АРА из-за кашля. Комбинацию блокаторы кальциевых каналов и иАПФ принимали 40%, диуретики и иАПФ-39%, блокаторы кальциевых каналов и диуретики-9%, блокаторы кальциевых каналов и АРА-4%, диуретики и АРА-8%. Бета-блокаторы назначались в 32% случаях.

Критериями включения в исследование являлись пациенты с первичной АГ II стадии по классификации ВНОК 2008 г.

Критериями исключения являлись: симптоматические АГ, ИБС. Стенокардия, ИМ, нарушение ритма по типу ФП, перикардиты, миокардиты, СН 2-ой и 3-ей стадии, врожденные и приобретенные пороки сердца. ДКМП, ГКМП, перенесенные ТЭЛА.

Все исследования были выполнены с информированного согласия пациентов с соблюдением современных этических стандартов, предъявляемых к клиническим испытаниям.

Диапазон возраста больных с первичной АГ от 35 до 60 лет. Средний возраст больных в группе АГ составил $49,5 \pm 3,4$ лет, средний возраст мужчин АГ - $49,4 \pm 4,7$ лет, у женщин с АГ - $49,6 \pm 3,0$ лет.

Среднее САД у пациентов в группе АГ - $154,0 \pm 28,3$ мм рт.ст., ДАД - $94,4 \pm 14,8$ мм рт.ст. Относительно мужчин и женщин уровни среднего АД

значительно не отличались: у мужчин САД составило: $155,3 \pm 35,2$ мм рт.ст., у женщин $149,4 \pm 25,4$ мм рт.ст.. Среднее ДАД у мужчин $98,6 \pm 16,5$ мм рт.ст., у женщин $95,3 \pm 14,0$ мм рт.ст.

Так же в группе оценивались средние показатели ЧСС, которые составили $79,6 \pm 12,7$ в мин. Проводился анализ липидного спектра, в частности, средний уровень общего холестерина составил $5,2 \pm 0,8$ ммоль/л, триглицеридов $1,95 \pm 0,3$ ммоль/л, ЛПНП $2,8 \pm 0,6$ ммоль/л. Средние размеры по данным ЭХО-КГ: ФВ $55,8 \pm 7,35$ см, ЗСЛЖ $1,2 \pm 0,13$ см, МЖП $1,3 \pm 0,2$ см, КСР $2,9 \pm 0,9$ см, КДР $4,9 \pm 0,7$ см, ЛП $2,9 \pm 0,8$ см.

Учитывая, что в группу больных с АГ вошли пациенты русской национальности и мордва-мокша, то был проведен анализ биохимических и гемодинамических параметров в зависимости от национальной принадлежности больных.

Средние показатели больных русской национальности в данной группе ($n=57$) составили: возраст $49,2 \pm 3,0$ лет, САД $154,7 \pm 25,3$ мм рт.ст., ДАД $96,2 \pm 13,8$ мм.рт.ст., ЧСС $80,2 \pm 12,1$ в 1 мин., ХС $5,2 \pm 0,7$ ммоль/л, ТГ $1,9 \pm 0,3$ ммоль/л, ЛПНП $2,8 \pm 0,7$ ммоль/л, ФВ $56,6 \pm 6,1$ %, ЗСЛЖ $1,3 \pm 0,1$ см, МЖП $1,3 \pm 0,2$ см, КСР $2,7 \pm 0,7$ см, КДР $4,7 \pm 0,6$ см, ЛП $2,8 \pm 0,7$ см.

Средние показатели больных мордва-мокша в данной группе ($n=57$) составил: возраст $49,7 \pm 3,8$ лет, САД $152,7 \pm 31,0$ мм рт.ст., ДАД $100,4 \pm 15,7$ мм рт.ст., ЧСС $78,09 \pm 13,3$ в мин., ХС $5,3 \pm 0,9$ ммоль/л, ТГ $1,9 \pm 0,3$ ммоль/л, ЛПНП $2,8 \pm 0,6$ ммоль/л, ФВ $55,2 \pm 8,2$ %, ЗСЛЖ $1,1 \pm 0,1$ см, МЖП $1,2 \pm 0,1$ см, КСР $3,1 \pm 1,0$ см, КДР $5,0 \pm 0,7$ см, ЛП $3,0 \pm 0,9$ см.

Учитывая, что основным направлением работы является выявление нарушений в системе гемостаза, то так же был проведен анализ показателей коагулограммы, как в общей группе больных с АГ, так и относительно принадлежности к национальности.

По данным коагулограммы средние значения в группе АГ составили: фибриноген $3,9 \pm 0,7$ г/л, ПТИ $92,5 \pm 8,2$ %, АЧТВ $35 \pm 1,8$, так же оценивались показатели: кровоточивость $1,52 \pm 0,7$ мин., свертываемость $4,84 \pm 1,0$ мин.. У

мужчин-фибриноген $3,8 \pm 0,6$ г/л, ПТИ $93,6 \pm 8,1\%$, кровотоочивость $1,5 \pm 0,4$ мин., свертываемость $4,7 \pm 1,1$ мин. У женщин - фибриноген $3,9 \pm 3,9$ г/л, ПТИ $92,1 \pm 8,3\%$, кровотоочивость $1,5 \pm 0,8$ мин, свертываемость $4,8 \pm 1,0$ мин.

Средние значения коагулограммы у больных русской национальности: ПТИ $90,9 \pm 8,5\%$, фибриноген $3,8 \pm 0,73$ г/л, свертываемость $4,9 \pm 1,1$ мин, кровотоочивость $1,7 \pm 0,8$ мин; больных мордва-мокша - ПТИ $94,0 \pm 7,7\%$, фибриноген $3,9 \pm 0,7$ г/л, свертываемость $4,7 \pm 0,9$ мин, кровотоочивость $1,4 \pm 0,6$ мин.

Таким образом, всем больным с АГ было проведено измерение АД, ЧСС, ЭКГ, Эхо-КГ и ЦДС исследование сонных сосудов, лабораторные исследования, в том числе и коагулограмма. Также было проведено генетическое исследование гена MTHFR в позиции 677 C→T и 1298 A→C.

2.1.2. Характеристика выборки больных с острым инфарктом миокарда

В группу больных с ИМ вошло 80 пациентов с неосложненным течением инфаркта миокарда. Критерии включения: ИБС. Острый инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST.

Диагноз устанавливался согласно критериям Российского кардиологического общества и Европейского общества кардиологов [13,43]: на основании клинических признаков (болевого синдром ишемического генеза в грудной клетке, возникший в покое, продолжительностью более 20 минут), электрокардиографических (ЭКГ) признаков, биохимических показателей [повышение уровней биохимических маркеров некроза миокарда (сердечного тропонина Т) в сыворотке крови] и патологических характеристик этого заболевания [43]. Критериями диагноза по ЭКГ являлась элевация сегмента ST с амплитудой $>0,2$ мВ в двух или более соседних отведениях с V1 по V3 и с амплитудой $>0,1$ мВ в других отведениях [13,76].

Критериями исключения являлись: нарушение ритма по типу ФП,

перикардиты, миокардиты, СН 2-ой и 3-ей стадии, врожденные и приобретенные пороки сердца. ДКМП, ГКМП, перенесенные ТЭЛА.

Все исследования были выполнены с информированного согласия пациентов с соблюдением современных этических стандартов, предъявляемых к клиническим испытаниям.

Все больные до момента поступления с инфарктом миокарда и подъемом сегмента ST имели ИБС по данным медицинской документации (амбулаторных карт или выписок стационара по более ранним госпитализациям). 28% пациентов имели стенокардию напряжения II ФК, 46% стенокардию напряжения III ФК и 26% стенокардию напряжения IV ФК.

Средний возраст пациентов в общей группе ИМ составил $58,8 \pm 6,4$ лет, для мужчин с ИМ- $58,5 \pm 6,4$ лет, женщин с ИМ - $59,1 \pm 6,8$ лет. Среднее САД у пациентов было зарегистрировано на уровне $139,5 \pm 8,2$ мм рт.ст., ДАД - $81,4 \pm 9,3$ мм рт.ст.. Относительно мужчин и женщин уровни среднего АД значительно не отличались, и для САД составило: $139,6 \pm 8,5$ мм рт.ст. у мужчин и $139,4 \pm 7,9$ мм рт.ст. у женщин. Среднее ДАД у мужчин $81,0 \pm 9,2$ мм рт.ст., у женщин $81,8 \pm 9,5$ мм рт.ст., средняя ЧСС $78,4 \pm 7,4$ в мин. Средние значения липидного спектра: общего холестерина $6,5 \pm 0,6$ ммоль/л, триглицеридов $1,9 \pm 0,3$ ммоль/л, ЛПНП $2,8 \pm 0,5$ ммоль/л. Данные ЭХО-КГ: АО $2,1 \pm 0,3$ см, ФВ $53,0 \pm 7,6$ %, ЗСЛЖ $1,2 \pm 0,1$ см, МЖП $1,2 \pm 0,2$ см, КСР $3,2 \pm 1,0$ см, КДР $4,9 \pm 0,8$ см, ЛП $3,0 \pm 0,8$ см.

В группе больных с ИМ также оценивались показатели коагулограммы, средние значения которых составили: фибриноген $4,0 \pm 0,5$ г/л, ПТИ $98,2 \pm 7,6$ %, АЧТВ $38,3 \pm 1,0$, МНО $1,4 \pm 1,5$, кровоточивость $1,3 \pm 0,6$ мин, свертываемость $3,4 \pm 1,3$ мин.. Средние значения коагулограммы у мужчин с ИМ: фибриноген $4,1 \pm 0,4$ г/л, ПТИ $97,0 \pm 7,2$ %, кровоточивость $1,5 \pm 0,7$ мин, свертываемость $3,0 \pm 1,2$ мин.. У женщин с ИМ средние значения: фибриноген $4,0 \pm 0,7$ г/л, ПТИ $99,3 \pm 7,9$ %, кровоточивость $1,2 \pm 0,6$ мин, свертываемость $3,7 \pm 1,2$ мин.

Учитывая, что в группу больных с ИМ вошли пациенты русской

национальности и национальности мордва-мокша, то был проведен анализ биохимических, гемодинамических параметров и показателей гемостаза в зависимости от гендерной и национальной принадлежности. Из них 38 мужчин, что составило 47,5% от числа исследуемых (19 мордва-мокша, 19 русских пациентов мужского пола) и 42 женщины, что составило 52,5% от числа исследуемых (21 больная с ИМ мордва-мокша и 21 больная русской национальности). Средние значения русских пациентов с ИМ (n=40) составили: возраст $58,5 \pm 6,7$ лет, САД - $140,2 \pm 9,1$ мм рт.ст., ДАД - $82,2 \pm 9,9$ мм рт.ст., ЧСС $77,6 \pm 8,1$ в мин.; ХС $6,4 \pm 0,6$ ммоль/л, ТГ $1,9 \pm 0,2$ ммоль/л, ЛПНП $2,9 \pm 0,5$ ммоль/л; ФВ $54,1 \pm 6,8\%$, АО $2,0 \pm 0,2$ см, ЗСЛЖ $1,2 \pm 0,1$ см, МЖП $1,2 \pm 0,2$ см, КСР $3,2 \pm 1,0$ см, КДР $3,1 \pm 0,8$ см, ЛП $3,0 \pm 0,8$ см.; ПТИ $97,4 \pm 7,4\%$, фибриноген $4,0 \pm 0,6$ г/л, свертываемость $3,2 \pm 1,2$ мин, кровоточивость $1,3 \pm 0,6$ мин.

Средние значения пациентов национальности мордва-мокша (n=40) составили: возраст $59,1 \pm 6,2$ лет, САД $138,7 \pm 7,1$ мм рт.ст., ДАД $80,7 \pm 8,7$ мм рт.ст., ЧСС $79,1 \pm 6,5$ в мин.; ХС $6,6 \pm 0,6$ ммоль/л, ТГ $1,9 \pm 0,2$ ммоль/л, ЛПНП $2,7 \pm 0,5$ ммоль/л; ФВ $52,0 \pm 0,1\%$, АО $2,1 \pm 0,3$ см, ЗСЛЖ $1,2 \pm 0,1$ см, МЖП $1,2 \pm 0,2$ см, КСР $3,3 \pm 1,0$ см, КДР $5,0 \pm 0,7$ см, ЛП $3,0 \pm 0,9$ см.; ПТИ $99,1 \pm 7,7\%$, фибриноген $4,1 \pm 0,5$ г/л, свертываемость $3,5 \pm 1,4$ мин, кровоточивость $1,3 \pm 0,7$ мин.

Всем больным с ИМ было проведено измерение АД, ЧСС, ЭКГ, Эхо-КГ исследование, лабораторные исследования, в том числе и коагулограмма. Также было проведено генетическое исследование гена MTHFR в позиции 677 C→T и 1298 A→C. Взятие венозной крови у больных с ИМ на генетический анализ полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы проводился в первые сутки поступления пациента до момента проведения коронароангиографии или тромболитической терапии. Все пациенты получали на догоспитальном этапе стандартную терапию для ОКС с подъемом сегмента ST [10,13].

2.1.3. Клинико-гемодинамическая характеристика выборки больных с острым нарушением мозгового кровообращения по ишемическому типу

Было обследовано 92 пациента с нарушением мозгового кровообращения по ишемическому типу. Все пациенты группы были взяты в исследование в остром периоде инсульта – в первые сутки от момента начала сосудистого события.

Острые нарушения мозгового кровообращения, соответствующие кодам I60-I64, G45-G46 Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем (десятый пересмотр), характеризующееся внезапным (в течение минут, реже - часов) появлением очаговой неврологической симптоматики (двигательных, речевых, чувствительных, координаторных, зрительных и других нарушений) и/или общемозговых нарушений (изменения сознания, головная боль, рвота и др.), которые сохраняются более 24 ч или приводят к смерти больного в более короткий промежуток времени вследствие причины цереброваскулярного происхождения [14,21].

Диагноз «острый инсульт» устанавливался на основании совокупности данных, полученных в ходе сбора анамнеза, данных физикального осмотра, исследования соматического и неврологического статуса, биохимических показателей крови и клинико-инструментальной диагностики, согласно национальному стандарту Российской Федерации (протокол ведения больных с инсультом от 01.09.2009 г.) [22].

Критерии включения: Острое нарушение мозгового кровообращения по ишемическому типу.

Критериями исключения являлись: ОНМК по геморрагическому типу, нарушение ритма по типу ФП, перикардиты, миокардиты, СН 2-ой и 3-ей стадии, врожденные и приобретенные пороки сердца. ДКМП, ГКМП, перенесенные ТЭЛА.

Оценка сознания и уровня бодрствования проводилась по единой шкале оценки комы Глазго [46] (табл.2.1.1.)

Таблица 2.1.1. Шкала оценки комы Глазго

Признак	Характер реакции	Оценка
Открывание глаз	Спонтанное	4
	По приказанию	3
	На болевые раздражители	2
	Отсутствуют	1
Словесный ответ	Быстрые ответы	5
	Спутанная речь	4
	Бессмысленные слова	3
	Нечленораздельные звуки	2
	Отсутствуют	1
Двигательная реакция	Целенаправленная в ответ на инструкцию	6
	Локализация болевого раздражителя	5
	Отдергивание в ответ на болевое раздражение	4
	Сгибание в ответ на болевое раздражение	3
	Разгибание в ответ на болевое раздражение	2
	Отсутствует	1

При постановке диагноза «острое нарушение мозгового кровообращения» использовался метод компьютерной томографии головного мозга. Примерно в 80% случаев компьютерная томография мозга обнаруживает зону пониженной плотности, клинически соответствующую инфаркту мозга, уже в течение первых 12-24 ч после начала заболевания (протокол ведения больных с инсультом от 01.09.2009 г.) [21,46].

Сопутствующие заболевания сердечно-сосудистой системы учитывались согласно данным амбулаторных карт: 28% больных, поступивших с ОНМК, имели диагноз ИБС. Стенокардия, 72% больных с ОНМК имели сочетание ИБС и ГБ.

Все исследования были выполнены с информированного согласия пациентов с соблюдением современных этических стандартов, предъявляемых к клиническим испытаниям.

Средние значения обследуемых с ОНМК составили: возраст $59,7 \pm 7,5$ лет., для мужчин- $59,9 \pm 7,3$ лет, женщин с ОНМК - $59,6 \pm 7,9$ лет.; САД - $136,3 \pm 12,4$ мм рт.ст., ДАД - $89,8 \pm 9,9$ мм рт.ст. Относительно мужчин и женщин уровни среднего АД значительно не отличались и для САД составило: $138,5 \pm 12,2$ мм рт.ст. у мужчин с ОНМК и $138,1 \pm 12,7$ мм рт.ст. у женщин. Среднее ДАД у мужчин $85,7 \pm 9,8$ мм рт.ст., у женщин $85,9 \pm 10,1$ мм рт.ст.; ЧСС $79,8 \pm 10,6$ в мин.; ХС $6,9 \pm 0,7$ ммоль/л, ТГ $1,9 \pm 0,2$ ммоль/л, ЛПНП $2,7 \pm 0,5$ ммоль/л; АО $2,4 \pm 0,6$ см, ЗСЛЖ $1,0 \pm 0,1$ см, МЖП $1,0 \pm 0,08$ см, КДР $4,5 \pm 1,0$ см, КСР $2,7 \pm 0,6$ см, ЛП $3,0 \pm 0,8$ см. ФВ $54,0 \pm 5,8\%$,

По показателям коагулограммы средние значения в группе составили: фибриноген $3,1 \pm 0,6$ г/л, ПТИ $97,8 \pm 3,4\%$, АЧТВ $39,8 \pm 1,7$. А так же оценивались: кровоточивость $1,7 \pm 0,8$ мин, свертываемость $4,7 \pm 1,4$ мин. У мужчин-фибриноген $3,1 \pm 0,7$ г/л, свертываемость $4,6 \pm 1,4$ мин, кровоточивость $1,7 \pm 0,8$ мин. У женщин-фибриноген $3,1 \pm 0,5$ г/л, ПТИ $98,4 \pm 3,1\%$, кровоточивость $1,7 \pm 0,9$ мин, свертываемость $4,8 \pm 1,3$ мин, ПТИ $98,4 \pm 3,1\%$,

Также в группу с ОНМК вошли пациенты русской и мордва-мокша национальности и поэтому анализ биохимических, гемодинамических параметров и показателей гемостаза был проведен в зависимости от гендерной и национальной принадлежности. Из них 43 мужчины, что составило 46,7% от числа исследуемых (22 мужчины мордва-мокша и 21 русской национальности) и 49 женщин, что составило 53,3% от числа исследуемых (23 женщины мордва-мокша и 26 русской национальности).

Значения русских пациентов с ОНМК (n=47) составили: возраст $61,0 \pm 7,8$ лет, САД $148,0 \pm 13,4$ мм рт.ст., ДАД $95,4 \pm 11,4$ мм рт.ст., ЧСС $80,9 \pm 12,2$ в мин., ХС $6,7 \pm 1,0$ ммоль/л, ТГ $2,1 \pm 1,0$ ммоль/л, ЛПНП $2,7 \pm 0,4$ ммоль/л, АО $2,2 \pm 0,6$ см, ЗСЛЖ $1,0 \pm 0,09$ см, МЖП $1,08 \pm 0,2$ см, КСР $2,7 \pm 0,6$ см, ЛП $2,8 \pm 0,7$ см. ФВ $53,5 \pm 5,9\%$, ПТИ $98,1 \pm 3,9\%$, фибриноген $4,2 \pm 0,8$ г/л, свертываемость $3,3 \pm 1,5$ мин, кровоточивость $1,1 \pm 0,8$ мин. Значения пациентов национальности мордва-мокша с ОНМК (n=45) составили:

возраст $58,8 \pm 7,2$ лет, САД $148,5 \pm 11,7$ мм рт.ст., ДАД $96,1 \pm 8,8$ мм рт.ст., ЧСС $89,5 \pm 9,2$ в мин., ХС $6,8 \pm 0,7$ ммоль/л, ТГ $1,8 \pm 0,3$ ммоль/л, ЛПНП $2,8 \pm 0,4$ ммоль/л, АО $2,3 \pm 0,7$ см, ЗСЛЖ $1,0 \pm 0,1$ см, МЖП $1,0 \pm 0,1$ см, КСР $2,7 \pm 0,5$ см, КДР $4,5 \pm 0,9$ см, ЛП $2,9 \pm 0,7$ см., ФВ $54,4 \pm 5,3\%$, ПТИ $98,3 \pm 2,9\%$, фибриноген $3,1 \pm 0,6$ г/л, свертываемость $4,7 \pm 1,4$ мин, кровоточивость $1,8 \pm 0,8$ мин. Таким образом, всем больным проведено измерение АД, ЧСС, ЭКГ, Эхо-КГ исследование, лабораторные исследования, в том числе и коагулограмма. Также было проведено генетическое исследование гена MTHFR в позиции 677 C→T и 1298 A→C.

Забор крови на генетический полиморфизм гена метилентетрагидрофолатредуктазы проводился в условиях реанимации до момента назначения медикаментозной терапии и проведения КТ головного мозга.

Учитывая, что основное направление работы является выявление носительства полиморфизма гена MTHFR в позиции 677 C→T и 1298 A→C, который влияет на процесс тромбообразования у больных АГ, ИМ и ОНМК, был проведен анализ основных показателей свертывающей системы крови, рутинно используемых независимо от нозологии заболевания. Все больные, независимо от нозологии кардиоваскулярной патологии (АГ, ИМ, ОНМК), были сопоставимы по основным показателям свертывающей системы крови (табл.2.1.2.).

Таблица 2.1.2. Основные показатели свертывающей системы крови в зависимости от нозологии обследованных больных

Показатели	Группа АГ n=114	Группа ИМ n=80	Группа ОНМК n=92	p
ПТИ%,	$92,5 \pm 8,2$	$78 \pm 7,6$	$97 \pm 3,4$	$P > 0,05$
ПВ сек,	$17,3 \pm 1,8$	$16,1 \pm 2,1$	$10,2 \pm 1,3$	$P > 0,05$
Протромбиновое отношение	$1,12 \pm 0,9$	$1,0 \pm 1,02$	$1,0 \pm 0,87$	$P > 0,05$
АЧТВ сек,	$37,5 \pm 1,2$	$37,3 \pm 2,1$	$36,2 \pm 2,8$	$P > 0,05$
Фибриноген г/л,	$3,9 \pm 0,7$	$4,07 \pm 0,59$	$3,1 \pm 0,64$	$P > 0,05$
Свертываемость мин,	$4,84 \pm 1,0$	$3,4 \pm 1,3$	$4,7 \pm 1,4$	$P > 0,05$
Кровоточивость мин	$1,52 \pm 0,7$	$1,37 \pm 0,67$	$1,78 \pm 0,87$	$P > 0,05$

2.1.4. Контрольная группа

Контрольную группу составили 100 здоровых лиц, являющиеся коренными жителями Республики Мордовия без клинических и лабораторно-инструментальных признаков сердечно-сосудистой патологии и не имеющие в родстве первой линии родственников с АГ, ИМ, ОНМК и относящихся к 1 группе по диспансеризации населения [43]. В группе контроля обращалось внимание, что каждые 6 месяцев по данным двух и более исследований в течение нескольких лет с интервалом не менее 6 месяцев было зафиксировано АД не выше «нормального». В данную группу вошли волонтеры русской и мордва - мокша национальностей, как мужского пола, так и женского по возрастному критерию сопоставимые с больными АГ, ИМ и ОНМК.

Возраст волонтеров составил $54,2 \pm 12,4$ года, возраст мужчин ($n=50$) $53,8 \pm 10,1$ года, женщин ($n=50$) $55,9 \pm 11,9$ лет, относительно национальной принадлежности в данной группе 50% составили мордва-мокша, 50% составили волонтеры русской национальности.

Значения обследования волонтеров составили: САД - $121,1 \pm 12,4$ мм рт.ст., ДАД - $68,8 \pm 9,9$ мм рт.ст. Относительно мужчин и женщин уровни среднего АД значительно не отличались и для САД составили: $129,5 \pm 10,2$ мм рт.ст. у мужчин и $119,1 \pm 11,7$ мм рт.ст. у женщин. Среднее ДАД $79,7 \pm 9,8$ мм рт.ст., ЧСС $76,8 \pm 10,5$ в мин.; ХС $5,9 \pm 10,1$ ммоль/л, глюкоза крови- $5,4 \pm 3,5$ ммоль/л у мужчин; у женщин ДАД $65,9 \pm 11,1$ мм рт.ст.; ЧСС $66,8 \pm 9,6$ в мин.; ХС $5,5 \pm 8,7$ ммоль/л, глюкоза крови- $5,5 \pm 8,4$ ммоль/л.

2.2. Лабораторно-инструментальные методы исследования больных кардиоваскулярной патологией

Всем пациентам проводился тщательный лабораторно-инструментальный скрининг (общий анализ крови, общий анализ мочи,

биохимический анализ крови – мочевина, креатинин, аланинтрансфераза, аспарагинтрансфераза, сахар, липидный спектр, ЭКГ, ЭхоКС, УЗИ почек, консультация невролога, окулиста).

Всем пациентам проводился анализ коагулограммы, включавший определение следующих показателей: протромбиновое время (ПВ), протромбиновый индекс (ПИ), протромбиновое отношение (ПО), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), концентрация фибриногена по Клауссу. Исследование проводилось на базе ГБУЗ РМ «Мордовская республиканская клиническая больница» и районной больницы Zubovo-Полянского района Республики Мордовия анализатором АПГ2-02 ЭМКО (Россия). Анализатор показателей гемостаза АПГ 2-02 ЭМКО – полуавтоматический программируемый коагулометр с уменьшенным объемом пробы и реагентов, предназначенный для определения в лабораторных условиях параметров свертывающей системы крови, приготовленных по методикам коагулометрического анализа. Принцип измерения-клоттинговый - (от англ. «clot» - сгусток), метод основан на измерении промежутка времени с момента внесения реагента, запускающего ферментативный процесс свертывания плазмы (каскад реакций) до момента коагуляции - образования фибринового сгустка (нитей фибрина). В зависимости от присутствия в реакционной пробе тех или иных активаторов или ингибиторов, добавляемых при проведении исследования, оценивают активность отдельных звеньев или путей плазменного гемостаза.

Способы выражения результатов протромбинового теста:

1. ПВ – время свертывания плазмы при добавлении тромбопластина (норма 14-18 сек);

2. $ПО = \frac{ПВ \text{ плазмы больного}}{ПВ \text{ нормальной плазмы}}$ (норма 0,9-1,1);

3. 4. $ПИ = \left(\frac{ПВ \text{ нормальной плазмы}}{ПВ \text{ плазмы больного}} \right) \times 100$ (норма 80-120%).

5. Тест АЧТВ является одним из самых информативных основных тестов, который отражает изменение активности факторов контактного пути

активации свертывания крови (внутреннего пути). Тест чувствителен к дефициту всех факторов свертывания крови (кроме фактора VII), к гепарину, к специфическим и неспецифическим ингибиторам. В норме АЧТВ составляет 35-45 секунд.

6. Концентрация фибриногена по Клаусу. В норме содержание фибриногена в плазме крови колеблется от 1,8 до 4,0 г/л.

Эхокардиографическое исследование проводили на аппарате VIVID E9 (GE Healthcare, США) в режиме секторального сканирования с использованием режимов цветного доплеровского картирования, тканевого доплера, импульсного и непрерывноволнового доплеров. Изучали структурно-геометрические показатели: конечный диастолический размер левого желудочка (КДР ЛЖ), конечный систолический размер левого желудочка (КСР ЛЖ), конечный диастолический объем левого желудочка (КДО ЛЖ), конечный систолический объем левого желудочка (КСО ЛЖ); индекс массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ), относительную толщину стенки левого желудочка (ОТС ЛЖ); систолическую функцию ЛЖ: фракцию выброса – ФВ (%), степень укорочения передне-заднего размера FS (%). ИММ ЛЖ определяли расчетным методом по формуле:

$$\text{ИММ ЛЖ} = M/S,$$

где M – масса миокарда левого желудочка, г;

S – площадь поверхности тела, м².

Гипертрофию ЛЖ (ГЛЖ) диагностировали при значениях ИММ ЛЖ у мужчин более 115 г/м², у женщин – более 95 г/м² [39,58]. Показатели ФВ ЛЖ вычисляли по модифицированному уравнению Симпсона, при значениях ФВ более 50% систолическая функция ЛЖ считалась нормальной. Относительную толщину стенки ЛЖ (ОТС ЛЖ) определяли по формуле:

$$(\text{ТМЖП} + \text{ТЗСЛЖ})/\text{КДР}.$$

На основе показателей ОТС ЛЖ и ИММЛЖ оценивали геометрическую модель ЛЖ и выделяли типы ремоделирования ЛЖ по классификации, предложенной А. Ganau [54,58]: нормальная геометрия ЛЖ

(НГ ЛЖ) – при нормальном значении – ИММЛЖ и ОТС ЛЖ $\leq 0,42$; эксцентрическая гипертрофия ЛЖ (ЭГ ЛЖ) – при ИММЛЖ больше– нормы и ОТС ЛЖ $\leq 0,42$; концентрическая гипертрофия ЛЖ (КГ ЛЖ) – при ИММЛЖ больше – нормы и ОТС ЛЖ $> 0,42$; концентрическое ремоделирование ЛЖ (КР ЛЖ) – при нормальном значении ИММЛЖ и ОТС ЛЖ $> 0,42$. Для увеличения точности оценки диастолической функции применялась доплеровская визуализация тканей. При тканевой доплерографии изучали максимальные скорости движения фиброзного кольца (ФК) митрального клапана: S' (см/с) – пиковая систолическая скорость, E' (см/с) – пиковая скорость раннего диастолического расслабления, A' (см/с) – пиковая скорость в фазу систолы предсердий; соотношение максимальной скорости раннего наполнения ЛЖ (E) к максимальной скорости движения ФК митрального клапана в раннюю диастолу (E'). Диастолическая дисфункция диагностировалась при фракции выброса левого желудочка $\geq 50\%$ в зависимости от возраста пациента. Для оценки клинического («офисного») артериального давления всем больным проводились измерения систолического артериального давления (САД) и диастолического артериального давления (ДАД) аускультативным сфигмоманометром методом Н.С. Короткова в положении сидя после 10-минутного отдыха на обеих руках, в расчет принимались средние значения 3-х измерений. Для исключения ортостатических изменений АД производили повторное дополнительное измерение АД через 1 и 3 мин пребывания в положении стоя. Динамическое наблюдение за показателями САД и ДАД осуществлялось еженедельно (при подборе дозы препаратов), с последующим контролем каждые 2 недели до конца исследования [42].

Ультразвуковое исследование сосудов шеи исследовали на аппарате VIVID E9 (GE Healthcare, США) в положении больного лежа на спине после 10 минутного отдыха до 10 часов утра натощак. При сканировании общей сонной артерии использовали линейный датчик P8-AXL5 12EC (Европа) с возможностью визуализации в диапазоне частот 5-12 Гц. При исследовании в

В-режиме изучали следующие параметры: проходимость и диаметр сосуда, состояние сосудистой стенки с оценкой комплекса интима-медиа (толщина, эхогенность, степень дифференцировки на слои); наличие внутрисосудистых образований с описанием локализации, протяженности, эхогенности, нарушения проходимости сосуда. Измерение толщины комплекса интима-медиа в общей сонной артерии проводили на 1-1,5 см проксимальнее бифуркации по задней (по отношению к датчику) стенке артерии в зоне максимального визуального утолщения в плоскости сканирования, перпендикулярной продольной оси сосуда. Толщину комплекса интима-медиа (мм) рассчитывали как расстояние между внутренней (по отношению к просвету сосуда) поверхностью интимы и наружной (по отношению к адвентиции) поверхностью. Согласно национальным рекомендациям, которые разработаны комитетом экспертов Всероссийского научного общества кардиологов [58] за повышение толщины КИМ принимают значения более 0,8 и менее 1,3 мм. Локальные утолщения КИМ более 1,3 считаются свидетельством присутствия атеросклеротической бляшки. В ряде рекомендаций принято считать утолщение КИМ начиная с 0,9 мм.

2.2.1. Молекулярно-генетические методы исследования

Наряду с традиционными клинико-инструментальными исследованиями, проводилась идентификация аллелей полиморфных маркеров методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Молекулярно-генетические исследования проводились в лаборатории ГБУЗ РМ «Мордовская республиканская клиническая больница». У всех пациентов на проводимые исследования было получено информированное согласие.

В совокупности протестировано 386 образцов дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). В их числе 114 пациентов, имеющих АГ II ст., 80 больных ИМ с подъемом сегмента ST, 92 пациента с ОНМК, отобранных в соответствии с вышеуказанными критериями и 100

здоровых кандидатов в качестве группы контроля, проживающие на территории Республики Мордовия.

Для исследования полиморфизма гена MTHFR, после получения информированного согласия, у пациентов из локтевой вены брали 5 мл крови, которую собирали в пробирки типа вакутейнера с ЭДТА в качестве антикоагулянта (1 объем раствора 0,1 М Na₂-ЭДТА, pH 8,0 (20°C) + 10 объемов крови). Кровь замораживали при -70С для хранения.

ДНК были получены с использованием набора “ДНК-ЭКСПРЕСС-КРОВЬ ” из цельной венозной крови человека.

Выделение образцов ДНК из крови с использованием комплекта реагентов «SNP-экспресс»

1. Выбор анализируемого материала. Исследуемым материалом для анализа является цельная венозная кровь больных АГ, острым ИМ, ОНМК и здоровых людей.

2. Взятие, доставка и хранение материала. 2000 мкл венозной крови собрали в одноразовую пластиковую пробирку с 200 мкл раствора антикоагулянта (0,05М раствор ЭДТА или 4% раствор цитрата натрия).3. Выделение ДНК из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь».

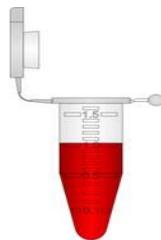


Рисунок. 2.2.1. Микроцентрифужная пробирка

В пробирку типа «Эппендорф» с замком вносили 1000 мкл цельной крови. Если кровь расслаивалась в процессе хранения, то перед внесением ее перемешивали до однородности. Пробирку в закрытом состоянии центрифугировали со скоростью 3000 об/мин. при комнатной температуре в

течение 5 мин. После центрифугирования кровь делилась на плазму и форменные элементы. На поверхности осадка форменных элементов расположен тонкий слой лейкоцитов (рис. 2.2.2.). Аккуратно удаляли пипеткой плазму, не захватывая при этом лейкоциты. Полное удаление плазмы без захвата лейкоцитов практически невозможно. Поэтому мы оставляли в пробирке тонкий слой плазмы.



Рисунок .2.2.2. Схема удаления плазмы

Закрывали пробирку и выдерживали ее при -20°C (в морозилке) до полного замораживания форменных элементов (в течение 1 ч.).



Рисунок .2.2.3. Микроцентрифужная пробирка с разделенными форменными элементами.

Полностью размораживали содержимое пробирки при комнатной температуре. Вносили в пробирку реактив «ДНК-экспресс-кровь». Его объем был равен объему оставшихся в пробирке форменных элементов и плазмы (в примере объем остатка равен ~ 550 мкл, суммарный объем остатка и реактива составил, таким образом, 1100 мкл). Закрывали пробирку, защелкивали замочек. Содержимое пробирки в течение 10 сек. тщательно перемешивали на встряхивателе (вортексе). Устанавливали пробирку в предварительно прогретый до 98°C термостат и выдерживали течение 15 минут. Устанавливали пробирку в высокоскоростную микроцентрифугу замком в

сторону оси. Центрифугировали со скоростью 8000-14000 об/мин. при комнатной температуре в течение 15 сек. Полученный таким образом супернатант использовали в качестве исследуемого образца ДНК.

При приготовлении рабочей амплификационной смеси все компоненты добавляли отдельными наконечниками с аэрозольными барьерами (фильтрами). Такие же наконечники использовали и для внесения в пробирки препарата ДНК.

Недопустимо использование для приготовления смесей реактивов из комплектов других форматов. Разбавитель, Taq-полимераза и минеральное масло являются одинаковыми для всех комплектов формата «SNP-экспресс», но не могут использоваться для комплектов других форматов.

Рабочие смеси готовили непосредственно перед амплификацией. После внесения образца пробирки с амплификационными смесями как можно скорее помещены в амплификатор.

1. Готовили и пронумеровывали пробирки для проведения амплификации вместимостью 0,5 мл (или 0,2 мл) в соответствии с количеством анализируемых проб плюс отрицательный контроль. Для каждой пробы готовились 2 пробирки (N (норма) и P (патология)).

2. За 20-30 минут до приготовления рабочей амплификационной смеси извлекали комплект реагентов для ПЦР из морозильника, размораживали содержимое. Пробирки с реакционной смесью и полностью размороженным раствором разбавителя тщательно встряхивали для перемешивания содержимого.

3. Из компонентов комплекта готовили рабочие смеси реагентов для амплификации из расчета на 1 пробу:

- 17,5 мкл разбавителя,
- 2,5 мкл реакционной смеси,
- 0,2 мкл Taq-полимеразы

Готовились 2 рабочие смеси: с реакционной смесью НОРМА и с реакционной смесью ПАТОЛОГИЯ.

4. После добавления Таq-полимеразы, которое производилось в последнюю очередь, тщательно перемешивали смесь пипетированием.

5. Добавляли по 20 мкл соответствующей рабочей амплификационной смеси во все соответствующие пробирки, подготовленные для амплификации.

6. Добавляли во все пробирки по 1 капле (около 25 мкл) минерального масла.

7. Внесли по 5 мкл образца из обработанной анализируемой пробы (см п. выделение ДНК) в пробирку с рабочей амплификационной смесью НОРМА и в пробирку с рабочей амплификационной смесью ПАТОЛОГИЯ под слой масла. В качестве отрицательного контрольного образца вносили разбавитель в объеме 5 мкл в оба типа реакционной смеси.

8. Пробирки закрывали и центрифугировали в течение 3-5 секунд при 1,5– 3000 об/мин при комнатной температуре (+18..+25°C) на микроцентрифуге-вортексе.

9. Переносили пробирки в прогретый до температуры +94°C (установившаяся температура в режиме Пауза) программируемый термостат (амплификатор) и проводили амплификацию по следующей программе, указанной на рисунке 2.2.3.

Т,С°	время	циклов
94°	Pause	
93°	1 мин	1
93°	10 сек	35
64°	10 сек	
72°	20 сек	
72°	1 мин	1
10°	Storage	

Рисунок 2.2.3. Программа, проведения амплификации в программируемом термостате

Для анализа полиморфных вариантов гена MTHFR применялся метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием праймеров при условиях амплификации:

Ген MTHFR полиморфный вариант	Праймеры	Условия Амплиф-и
MTHFR- C677T-PCR-F	5'-CTCCTGACTGTCCATCCSTAT-3'	50 °С- 3 мин 95°С-10 мин
MTHFR -C677T-PCR-RB	5'-Biotin-GCCTCAAAGAAAAGCTGCGT-3'	95°С-15 сек 70°С-50 сек
MTHFR -A1298C-PCR-FB	5'-Biotin-CTACTACCTCTTCTACCTGA-3'	72° С-30 сек 25 ° С-2 мин
MTHFR -A1298C-PCR-R	5'-CTTTGTGACCATTCCGGTTT-3'	Проходили 40 циклов

Электрофорез ДНК в агарозном геле

1. Для электрофореза готовили 3% агарозный гель. Растворяли 1,5 г агарозы в 50 мл ТАЕ буфера на электрической плитке.
2. Остужали агарозу до 55°С и вносили 5 мкл бромистого этидия.
3. Далее заливали расплавленную агарозу в плашку с установленной гребенкой. После того как гель застыл, осторожно убирали гребенку.
4. Гель переносили в электрофорезную камеру и заливали 1x ТАЕ буфером так, чтобы гель был покрыт буфером на 0,3-0,5 см.
5. Нанесение проб осуществляли следующим образом: 10 мкл пробы смешивали с 2 мкл утяжеляющего буфера и осторожно микропипеткой вносили в лунки геля.
6. Электрофорез проводили при 200В в течение 20 минут.

Обработка результатов анализа электрофореза

Для обработки результатов анализа электрофореза работали с пакетом

программ Gel Explorer:

1 Gel Imager – программа для ввода и обработки изображений и устройств видеоввода.

2 Gel Analysis – программа анализа изображений гелей. Предназначена для оценки количества и молекулярной массы НК и белков, содержащихся в исследуемых фрагментах.

2.3. Статистические методы исследования

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью стандартного пакета прикладных программ Stat Soft Statistica 10.0 (США). Для оценки нормальности распределения количественных данных применялись: графические (частотная гистограмма) и расчётные (критерий Колмогорова - Смирнова, Шапиро-Уилка) методы.

В качестве меры центральной тенденции количественных признаков была выбрана медиана (Me), а для интервальной оценки 25 и 75 квартиль, поскольку в большинстве случаев распределение данных было отличным от нормального. Для анализа межгрупповых различий количественных признаков использовалась описательная статистика с использованием t-критерия Стьюдента и рангового U-критерия Манна-Уитни. Качественные значения отражены в виде абсолютных величин (n) и процентных долей. Распределение частот генотипов всех исследованных полиморфных маркеров соответствовало уравнению Харди-Вайнберга.

Для выявления различий частот значений качественных показателей между группами и оценки их статистической значимости применялся критерий χ^2 , при небольшом количестве наблюдений рассчитывался точный критерий Фишера. Для оценки взаимосвязи между изучаемыми показателями проводился линейный корреляционный анализ с определением коэффициента корреляции Пирсона или Спирмена, в зависимости от распределения и определением его значимости по t-критерию. Для оценки

степени риска развития тромбогенных осложнений использовался критерий χ^2 Пирсона и отношение шансов (OR) с 95%-ным доверительным интервалом (CI). Значимость выявленных различий и взаимосвязей во всех видах анализа была принята при уровне значимости $p < 0,05$ [41,52].

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Изучение полиморфных вариантов гена метилентетрагидрофолатредуктазы в позициях 677 С→Т и 1298 А→С у больных артериальной гипертонией в Республике Мордовия

В Республике Мордовия, как и в Российской Федерации, сердечно-сосудистые заболевания занимают ведущее место в развитии фатальных осложнений. Последствия возникших осложнений приводят к необратимой инвалидизации больных и к большим экономическим затратам, как со стороны государства, так, и самого пациента [16,57,159]. Одним из главных факторов риска развития сердечно-сосудистых осложнений – ИМ и ОНМК является АГ [13,33,35,146]. Развитие осложнений при АГ связано со многими гемодинамическими факторами, в том числе и с нарушением в свертывающейся системе крови. Повышение склонности к повышенному тромбообразованию при АГ происходит за счет дисбаланса и активации сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза, которое неуклонно прогрессирует с течением основного заболевания. Одним из наиболее значимых факторов активации в системе гемостаза рассматривается мутация гена МТНFR в позициях 677 С→Т (Ala222Val) и 1298 А→С (Glu429Ala) [7,81,143]. Поэтому, учитывая возможность влияния на систему гемостаза носительства вариантов гена МТНFR у больных с сердечно-сосудистой патологией, существует необходимость выявления полиморфизма генотипов данного гена у больных с АГ в плане осторожности развития тромботических осложнений (ИМ, ОНМК) [46].

Как было уже указано, для выявления частоты носительства генотипов гена МТНFR было обследовано 114 пациентов с первичной АГ (II стадией по классификации ВНОК 2008 г., АД \geq 140/90 мм.рт.ст.). В данную группу вошло 30 мужчин (26,3%) и 84 женщины (73,7%).

Учитывая неоднородность населения, проживающих на территории

PM, то в группу АГ вошло 57 больных (50%) русской национальности (15 мужчин и 42 женщины) и 57 больных АГ (50%) национальности мордва-мокша (15 мужчин и 42 женщины). При проведении сравнения группы больных АГ и группы контроля, то данные группы были сопоставимы по возрасту, национальной и гендерной принадлежности.

Всем больным с АГ было проведено определение степени 10-летнего риска развития осложнений по шкале SCORE и было выявлено, что 50 больных (43,8%) с АГ имели средний 10-летний риск развития осложнений, 36 больных (31,6%) - высокий риск и 28 пациентов с АГ (24,6%) - очень высокий риск.

При анализе распределения носительства генотипов гена MTHFR в позиции 677 C→T у больных АГ в общей группе, независимо от пола и национальной принадлежности, и здоровых лиц с нормальным уровнем АД выявлено достоверное преобладание гетерозиготного генотипа с преобладанием количества носителей генотипа СТ у больных с АГ (рис.3.1.1.). Генотип СТ встречался у 101 больных АГ (88,6%), в группе контроля у 66 волонтеров (66%). Генотип СС встречался у 9 больных с АГ (7,9%) и у 34 человек (34%) с нормальным уровнем АД.

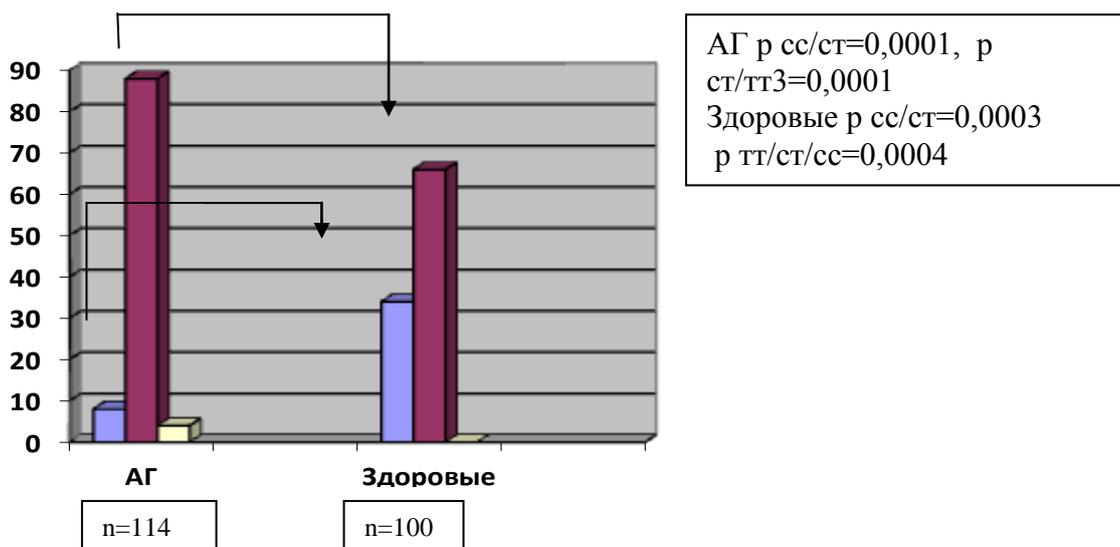


Рисунок 3.1.1. Распределение генотипов гена MTHFR в позиции 677 C→T у больных АГ и здоровых лиц с нормальным уровнем АД

Носительство гомозиготного генотипа ТТ выявлено только у 4 больных с повышенным уровнем АД (3,5%). У здоровых лиц с нормальным уровнем АД генотип ТТ не встречался. В группе контроля относительно больных «гипертоников» достоверно чаще встречается «благоприятный» генотип СС (рис.3.1.1.).

По данным литературных источников, частота встречаемости по носительству гомозиготных генотипов у европейской расы составляет от 4% до 14%, а по гетерозиготным генотипам — около 40% [122]. Дело в том, что по данным проведенных исследований, у больных, носителей генотипа ТТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т уровень гомоцистеина в крови на 25% выше, чем у лиц с генотипом СС [179], и это прослеживается независимо от места проживания [175]. Наличие носительства генотипа ТТ гена МТНFR в позиции 677 С →Т выявлено в большей степени у лиц европейской расы по отношению к африканцам и аборигенам Шри-Ланки и Австралии [164], что указывает на зависимость от этнической принадлежности.

В Республике Мордовия ранее были проведены скрининговые исследования по изучению полиморфизма гена МТНFR у больных АГ из 11 районов Республики Мордовия [8,9,105,106], где было выявлено преобладание носительства гетерозиготного генотипа СТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т. Но группу обследованных АГ составили больные разрозненно из разных районов республики, и обследованные больные не наблюдались в динамике в плане развития сердечно-сосудистых осложнений.

Учитывая особенности распределения генотипов гена МТНFR в зависимости от национальной и гендерной принадлежности больных в популяциях, роль данного гена в системе гемостаза, а также, что АГ является одним из доминирующих факторов риска развития таких осложнений, как ИМ и ОНМК, то изучение развития тромбогенных осложнений у больных АГ в зависимости от носительства генотипов гена МТНFR является важным моментом в кардиологии с целью прогнозирования тромбогенных осложнений и разработки

персонализированного подхода к вторичной профилактике у больных с АГ.

Учитывая ссылки на гендерные особенности носительства полиморфизма гена MTHFR, то был проведен анализ частоты встречаемости носительства генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т у обследованных больных АГ, в зависимости от принадлежности к полу и уровня АД.

Среди 30 больных АГ мужского пола с АГ у 23 (76,7% p ст/сс, $t=0,0004$) преобладает носительство промежуточного СТ генотипа гена MTHFR в позиции 677 С→Т. У женщин ($n=84$) частота носительства данного генотипа составляет (92,8% p ст/тт= $0,0001$, p ст/сс= $0,0007$), т.е. встречается у 78 больных АГ женского пола.

Частота носительства «неблагоприятного» генотипа ТТ гена MTHFR в позиции 677 С→Т относительно гендерной принадлежности выявлено у 3 больных мужского пола (10%) и одной больной (1,2%).

Среди волонтеров с нормальным уровнем АД только у лиц женского пола (80%) преобладает носительство промежуточного генотипа, которое встречается чаще, чем у мужчин (48%), у которых отмечается равномерное носительство гомозиготного (52%) и гетерозиготного генотипа гена MTHFR в позиции 677 С→Т. У здоровых волонтеров не выявлено носителей генотипа ТТ гена MTHFR в позиции 677 С→Т. Многие литературные источники указывают на зависимость от этнической принадлежности преобладание того или иного генотипа, в частности носительство генотипа ТТ гена MTHFR в позиции 677 С→Т выявлено в большей степени у лиц европейской расы по отношению к чернокожим [70,87]. Поэтому был проведен анализ носительства генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т в зависимости от национальной принадлежности больных. У больных с АГ и здоровых лиц, как представителей русской, так и представителей мордва-мокша (русские/мокша p сс/тт= $0,00001$, p ст/тт= $0,00001$) преобладают носители промежуточного генотипа СТ. (рис. 3.1.2), но частота встречаемости генотипа ТТ встречается чаще у больных АГ мордва-мокша (5,1%) по сравнению с больными АГ русской национальности (1,9%).

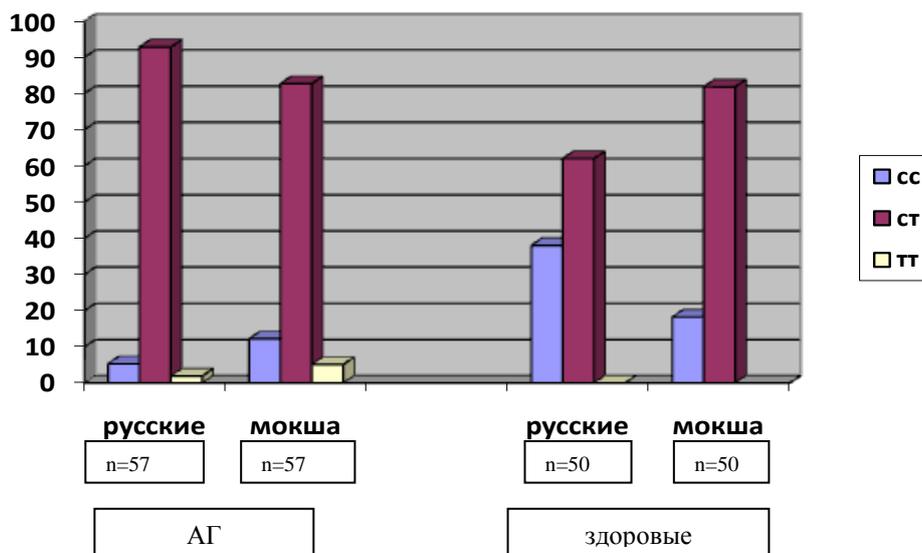


Рисунок.3.1.2. Распределение генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т у больных АГ и здоровых лиц

В проведенных ранее скрининг-исследованиях в Республике Мордовия [8,9,105,106] было выявлено пол-специфичное носительство генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т у больных АГ. В данном исследовании все больные АГ и здоровые лица для выявления распределения генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т были рассмотрены в зависимости от пола и национальной принадлежности. Анализ полиморфизма гена MTHFR в позиции 677 С→Т в зависимости не только от пола больных, но и национальной принадлежности выявил, что среди больных АГ мордва-мокша, как у мужчин (67%) так и женщин (90%) преобладает носительство промежуточного генотипа СТ. Генотип ТТ, гена MTHFR в позиции 677 С→Т, характеризующейся как «неблагоприятный» у больных АГ мордва-мокша встречается только у лиц мужского пола (10% n=3). У женщин АГ мордва-мокша носительство генотипа ТТ не выявлено. У больных АГ русской национальности также отмечается преобладание носительства генотипа СТ независимо от принадлежности к полу (мужчин - 87%, женщин 95%). Носительство генотипа ТТ выявлено у одной больной АГ русской национальности (1,2%) (рис. 3.1.3).

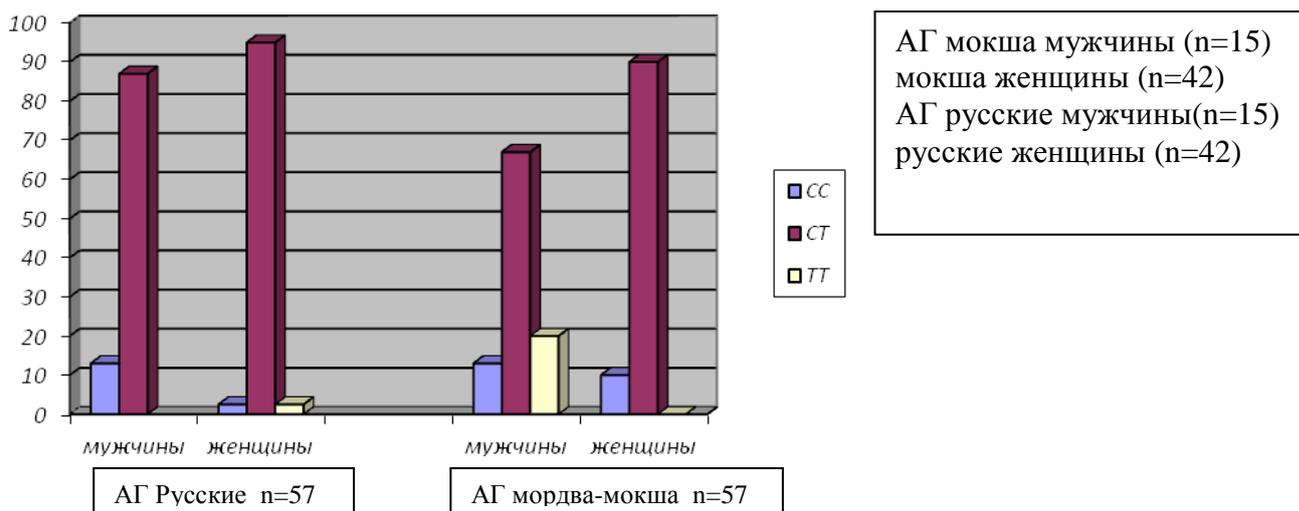


Рисунок. 3.1.3. Распределение полиморфизма гена MTHFR в позиции 677 С→Т у больных артериальной гипертензией

При анализе распределения носительства генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т у здоровых лиц, независимо от национальности и пола выявлено отсутствие носительства генотипа ТТ.

Были также изучены гемодинамические, эхокардиографические показатели и показатели коагулограмм у больных АГ относительно носительства генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т (таб.3.1.2).

Таблица.3.1.2. Гемодинамические, эхокардиографические и показатели коагулограмм у больных АГ относительно носительства генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т

Показатели	Генотип СС	Генотип СТ	Генотип ТТ	p
ХС ммоль/л	6,02±0,4	5,2±0,7	5,0±1,0	P>0,05
ТГ ммоль/л	2,02±0,3	1,9±0,3	2,0±0,2	P>0,05
ЛПНП ммоль/л	3,5±0,5	2,7±0,6	2,5±0,4	P>0,05
ПТИ %	95,5±8,3	92,1±8,3	96,0±4,6	P>0,05
Фибриноген г/л	3,8±0,4	3,9±0,7	3,5±0,8	P>0,05
Свертываемость мин	4,6±0,9	4,8±1,0	5,2±0,9	P>0,05
Кровоточивость мин	1,5±0,7	1,5±0,7	1,2±0,6	P>0,05
ЭхоКг: ФВ %	53,2±9,3	56,0±7,3	56±4,7	P>0,05
ЗСЛЖ см	1,2±0,1	1,1±0,1	1,3±0,1	P>0,05
МЖП см	1,2±0,1	1,2±0,2	1,3±0,1	P>0,05
КСР см	3,5±0,7	2,8±0,8	3,8±1,3	P>0,05
КДР см	5,1±0,4	4,8±0,6	5,6±1,1	P>0,05
ЛП см	3,7±0,6	2,8±0,7	3,9±0,9	P>0,05

Достоверных отличий по показателям липидного спектра и данных Эхо-КГ исследования – не выявлено. Учитывая поиск определенных ранних маркеров прогнозирования развития осложнений, связанных с повышенной угрозой тромбообразования, то также был проведен анализ показателей коагулограммы у больных с АГ в зависимости от носительства генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т. Интересным моментом является отсутствие различий относительно носительства генотипов показателей системы гемостаза (таб.3.1.2).

Ген МТНFR в позиции 1298 А→С также играет важную роль в возможности влияния на систему гемостаза в плане повышенного тромбообразования. Поэтому также был проведен анализ встречаемости носительства генотипов гена МТНFR в позиции 1298 А→С у больных АГ и обследованных волонтеров. Выявлено, что независимо от уровня АД, у больных АГ и здоровых лиц с нормальным уровнем АД преобладает носительство промежуточного генотипа АС.

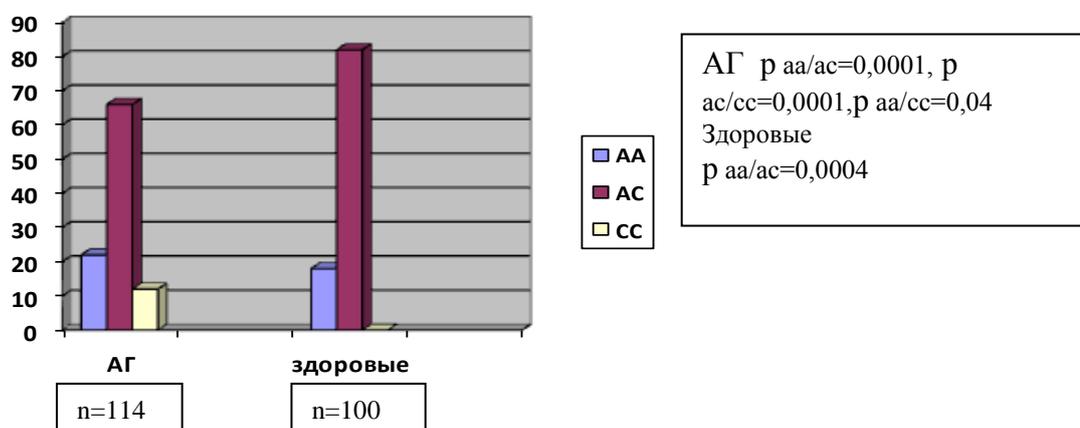


Рисунок.3.1.4. Распределение генотипов гена МТНFR в позиции 1298 А→С больных АГ и здоровых лиц

Носительство гомозиготного генотипа СС, относящегося к «неблагоприятным» встречается только у больных с АГ. Преобладание носительства промежуточного генотипа у больных АГ и здоровых лиц, независимо от гендерной принадлежности, встречается как у мужчин 63% (p

aa/ac=0,0001, p ac/cc=0,02), так и у женщин 62,6% (p aa/ac=0,0001, p ac/cc=0,01), но частота носительства генотипа CC в 2,8 раз встречается чаще у мужчин с АГ (30%) относительно больных АГ женского пола (11%) (рис.3.1.4).

Также подобные результаты были получены и при изучении встречаемости полиморфизма гена МТНFR в позиции 1298 А→С относительно национальной принадлежности больных. У пациентов АГ русской национальной частота носительства промежуточного генотипа составляет 71% (p aa/ac=0,0001, p ac/cc=0,02), у больных АГ мордва-мокша - 60,3% (p aa/ac=0,0001, p ac/cc=0,0001). Но больные национальной мордва-мокша имеют более частое носительство генотипа CC (31,1%), относительно больных АГ русской национальной (16%) (рис.3.1.5.).

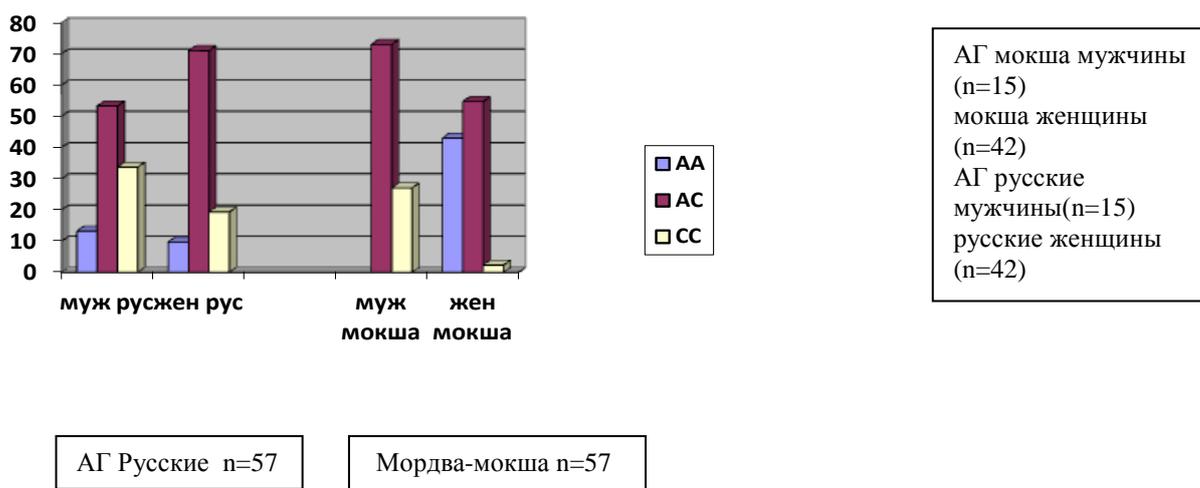


Рисунок 3.1.5. Распределение генотипов гена МТНFR в позиции 1298 А→С у лиц с АГ

В группе больных с АГ был проведен сравнительный анализ показателей коагулограмм, биохимических параметров, липидного спектра и данных Эхо-КГ в зависимости от носительства генотипов гена МТНFR в позиции 1298 А→С. Определенной зависимости данных параметров от носительства генотипов гена МТНFR в позиции 1298 А→С у больных с АГ не выявлено. Показатели свертывающей системы крови, которые могли бы

быть информативными, как маркеры развития тромбогенных осложнений у больных с АГ также досоверно не отличались в зависимости от полиморфизма гена MTHFR в позиции 1298 A→C (таб.3.1.3).

Таблица 3.1.3. Гемодинамические, эхокардиографические и показатели коагулограмм у больных АГ относительно носительства генотипов.

Показатели	Генотип АА	Генотип АС	Генотип СС	p
ХС ммоль/л	5,6±0,8	5,1±0,7	5,5±0,6	P>0,05
ТГ ммоль/л	1,9±0,3	1,9±0,3	1,9±0,2	P>0,05
ЛПНП ммоль/л	3,1±0,6	2,6±0,6	3,1±0,6	P>0,05
ПТИ %	94,3±7,5	92,9±8,1	92,6±10,0	P>0,05
Фибриноген г/л	3,9±0,7	3,9±0,7	3,7±0,7	P>0,05
Свертываемость мин	4,7±1,2	4,9±0,8	4,2±1,3	P>0,05
Кровоточивость мин	1,5±0,8	1,5±0,7	1,5±0,7	P>0,05
МНО	1,2±0,3	1,24±0,2	1,25±0,1	P>0,05
ЭхоКг: ФВ %	57,6±9,4	55,5±7,0	55,0±4,9	P>0,05
ЗСЛЖ см	1,1±0,1	1,2±0,1	1,3±0,1	P>0,05
МЖП см	1,1±0,1	1,3±0,1	1,3±0,1	P>0,05
КСР см	3,4±1,1	2,8±0,8	2,9±1,0	P>0,05
КДР см	5,1±0,8	4,9±0,6	4,6±0,9	P>0,05
ЛП см	3,2±0,7	2,8±0,7	3,4±1,1	P>0,05

Таким образом, у больных АГ независимо от гендерной и национальной принадлежности выявлено преобладание носительства промежуточного генотипа СТ гена MTHFR в позиции 677 С→Т и генотипа АС гена MTHFR в позиции 1298 А→С. Носительство генотипа ТТ гена MTHFR в позиции 677 С→Т было выявлено у троих больных АГ мужского пола мордва-мокша и одной пациентки с АГ русской национальности. Носительство генотипа СС гена MTHFR в позиции 1298 А→С встречается у больных русской и мордва-мокша национальности, но относительно принадлежности больных к полу, выявлена более частая встречаемость у больных АГ мужского пола.

Так же, в общей группе больных с АГ был проведен анализ встречаемости носительства основных комбинаций генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т и в позиции 1298 А→С, относящихся к «неблагоприятным»: ТТ/СС, ТТ/АС, СТ/АС.

Комбинации «неблагоприятных» генотипов гена MTHFR в позиции 677 C→T и в позиции 1298 A→C выявлены у 77 пациентов (67,5%): комбинация TT/CC выявлена у 1 больного АГ мужского пола национальности мордва-мокша; комбинация TT/AC встречалась у 2 пациентов также национальности мордва-мокша мужского пола; одна больная русской национальности имела комбинацию TT/AA; комбинацию CT/AC имели 73 пациента АГ (94,8%) из всех больных имеющих сочетание «неблагоприятных» генотипов. Остальные больные АГ имели комбинации CC (677 C→T)/AC или CC(677 C→T)/AA, считающиеся благоприятными.

3.2. Развитие тромбогенных осложнений у больных с артериальной гипертонией в течение трехлетнего наблюдения

Изучение носительства полиморфизма гена MTHFR в позиции 677 C→T и в позиции 1298 A→C у больных АГ проводилось с целью дальнейшего наблюдения за развитием возможных тромбогенных осложнений, таких как ИМ и ОНМК.

За время трех летнего наблюдения у 14 пациентов с АГ (12,3%) произошло развитие ИМ или ОНМК. ИМ развился у 10 пациентов АГ (4 пациентов мужского пола и 6 пациентов женского пола). ОНМК произошло у 4 больных АГ (одного мужчины и 3-х женщин).

В группе больных с АГ, получивших осложнения 8 пациентов (7,0%) были национальности мордва-мокша и 6 больных (5,3%) русской национальности.

Среди 8 пациентов АГ национальности мордва-мокша - ОНМК произошло только у одного пациента, носителя комбинации CT/AC. У семерых пациентов развился ИМ: у 3-их больных мужского пола и 4-х больных женского пола. Все женщины национальности мордва-мокша имели носительство комбинаций промежуточных генотипов CT/AC гена MTHFR. Осложнение в виде ИМ за время наблюдения получили трое мужчин АГ

мордва-мокша, являющиеся носителями «неблагоприятного» генотипа ТТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т. Один больной имел носительство ТТ/СС комбинации, относящихся к «неблагоприятным» генотипам как в позиции 677 С→Т, так и в позиции 1298 А→С, а двое других являлись носителями комбинации –ТТ/АС.

У больного АГ национальности мордва-мокша, носителя комбинации ТТ/СС имеется отягощенная наследственность в виде родственников первой линии, имеющих в анамнезе инфаркт миокарда и острое нарушение мозгового кровообращения. Повышение АД у данного больного регистрировалось в течение 5 лет, его возраст 47 лет, мак. АД 280/150 мм рт.ст., ЧСС 85 в мин., общий ХС- 5,4 ммоль/л, ТГ-2,0 ммоль/л, ЛПНП- 3,1 ммоль/л, ПТИ-100 %, фибриноген -2,8 г/л, МНО-1,29, показатели Эхо-Кг: Ао-3,1 мм, ЛП-4,9 мм, КДР-5,8 мм, КСР-4,3 мм, МЖП-1,3 мм, ЗСЛЖ -1,4 мм, ФВ-59 %, на глазном дне определяется гипертоническая ангиопатия сетчатки. На ЭКГ – гипертрофия левого желудочка с признаками нарушения процессов реполяризации. Адаптирован к АД 160/90 мм рт.ст. Принимает комбинированную антигипертензивную терапию.

У 6-х больных русской национальности трое больных получили осложнение в виде развития ОНМК, это больные женского пола, двое - носители СТ/АС комбинации генотипов и одна больная носитель комбинации ТТ/АА. ИМ развился у одного больного АД мужского пола и двоих больных АГ женского пола. Все больные АГ русской национальности, получившие осложнение в виде ИМ, являлись носителями комбинации СТ/АС гена МТНFR.

Таким образом, из всех больных АГ (n=77) носителей «неблагоприятных» генотипов 14 пациентов получили осложнения (18,2%). Пациенты (n=4) носители «неблагоприятного» генотипа ТТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т в сочетании с генотипами гена МТНFR в позиции 1298 А→С (ТТ/СС, ТТ/АС, ТТ/АА), независимо от национальной и гендерной принадлежности, получили тромбогенные осложнения (ИМ, ОНМК) за время

трехлетнего наблюдения.

Для решения практической задачи – возможности предупреждения развития тромбогенных осложнений (ИМ и ОНМК) у больных с кардиоваскулярной патологией и в частности с АГ, необходимо ввести в алгоритм диагностики данной категории больных дополнительные методы обследования, позволяющие прогнозировать течение заболевания и возможность предупреждения развития осложнений с разработкой персонализированного подхода к медикаментозной вторичной профилактике. Для этого необходимо выявить дополнительные ранние маркеры развития тромбогенных осложнений у больных с АГ, являющиеся факторами риска и своеобразным фоном для развития кардиоваскулярных осложнений. В генезе основных кардиоваскулярных осложнений на фоне АГ кроме влияния повышенного АД, имеется влияние на изменения реологических свойств крови в виде повышенной склонности к тромбообразованию.

В практическом здравоохранении разработаны и внедрены протоколы обследования больных с определенными нозологиями сердечно-сосудистой системы. Но, с учетом технического прогресса, многие исследования, которые были ранее недостижимы, в настоящее время приобретают стандартное значение и в частности, генотипирование. Одним из механизмов развития ИМ или ОНМК является образование тромба и из генов системы гемостаза, ген MTHFR относится к генам, влияющих на повышенное тромбообразование.

Как было представлено ранее, целью работы практического здравоохранения является профилактика развития сердечно-сосудистых заболеваний и тем более развитие их осложнений. Предложенные шкалы стратификации риска у больных АГ не всегда могут достаточно точно спрогнозировать развитие осложнений, связанных с повышенным тромбообразованием. Так, например, у больных АГ мордва-мокша, получившие осложнения в виде ИМ или ОНМК по шкале SCORE один больной (12,5%) имел до развития осложнений очень высокий риск, трое

больных АГ (37,5%) имели - высокий риск и четверо больных (50%) - низкий риск.

Поэтому, для улучшения имеющихся алгоритмов по прогнозированию тромбогенных осложнений была проведена оценка вероятности риска осложнений в зависимости от полиморфизма гена МТНFR у больных с АГ.

Для оценки влияния на повышенную склонность к тромбообразованию и возможного вероятного влияния на развитие тромбогенных осложнений у больных с АГ был проведен анализ χ^2 с вычислением отношения шансов, указывающий на вероятный повышенный риск развития кардиоваскулярных осложнений. Больные с АГ, носители промежуточного генотипа СТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т и имеют OR равный 4,05 (ДИ =1,87 – 8,79) при $\chi^2 =14,73$ и $p=0,0006$, что указывает на повышенный риск возможности развития осложнений, связанных с повышенным тромбообразованием – ИМ или ОНМК. При анализе склонности к данным осложнениям относительно национальной принадлежности больных с АГ было выявлено, что для больных мордва-мокша, носителей генотипа СТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т OR равен 14,4 (ДИ = 3,71 – 56,19) при $\chi^2 =6,35$ и $p=0,01$, подтверждающим OR= 8,67 (ДИ =1,39 – 53,85) при $\chi^2=6,33$ и $p=0,04$ для мужчин АГ и OR= 13,00 (ДИ =1,32 – 127,72) при $\chi^2=10,36$ и $p=0,006$ для женщин АГ национальности мордва-мокша. У больных АГ, носителей «неблагоприятного» генотипа ТТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т риск развития тромбогенных осложнений по данным статистической обработки равен 211 при $\chi^2=25.17$ (ДИ =1,39 – 53,85) (табл.3.2.1.)

Таблица.3.2.1. Выявление степени риска развития тромбогенных осложнений, носителей ТТ генотипа гена МТНFR в позиции 677 С→Т у больных АГ

Генотипы	Случаи	Контроль	χ^2	p	OR	
	n = 14	n = 100			знач.	95% CI
Генотип С/С	0,000	0,095	25,17	0,00052	0,43	0,02 – 7,93
Генотип С/Т	0,500	0,905			0,11	0,03 – 0,43
Генотип Т/Т	0,500	0,000			211,00	10,30–4320,91

При оценке распределения полиморфных вариантов гена MTHFR в позиции 1298 A→C для выявления склонности к развитию осложнений, связанных с повышенным тромбообразованием, также проведен расчет отношения шансов и было выявлено, что только для лиц национальности мордва-мокша, носителей «неблагоприятного» генотипа CC имеется повышенный риск развития сердечно-сосудистых осложнений, где OR = 9,43 (ДИ =1,10 – 81,01) при $\chi^2=4,87$ и $p=0,03$ за счет больных мужского пола данной национальности, где OR = 10,57 (ДИ =0,51 – 217,76) при $\chi^2=5,89$ и $p=0,02$.

Таким образом, с учетом развития сердечно-сосудистых осложнений у больных АГ в течение трех лет и расчета отношения шансов - риск возможного развития тромботических осложнений у больных АГ, носителей генотипа СТ гена MTHFR в позиции 677 C→T национальности мордва-мокша в 3,5 раза выше, чем у носителей данного генотипа больных русской национальности. Риск развития тромботических осложнений для носителей генотипа ТТ гена MTHFR в позиции 677 C→T составляет 211. Риск развития осложнений у больных АГ, носителей генотипа CC гена MTHFR в позиции 1298 A→C выявлен только для больных мужского пола национальности мордва-мокша, где OR=10,57.

3.3. Гендерные и этнические особенности носительства генотипов гена метилентетрагидрофолатредуктазы в позициях 677 C→T и 1298 A→C у больных с острым инфарктом миокарда

Инфаркт миокарда является в Российской Федерации и в Республике Мордовия общегосударственной проблемой. Над задачей снижения смертности от данной патологии совместно взаимодействуют структуры практического здравоохранения и ведущие научные институты. Министерством здравоохранения РФ ежемесячно мониторируются показатели заболеваемости и смертности от инфаркта миокарда. Разработаны

программы профилактических мероприятий, но несмотря на проводимые мероприятия, количество больных, у которых развивается ИМ, не уменьшается. Поэтому ведется поиск дополнительных критериев-маркеров, которые могли бы помочь в предсказании развития ИМ. Учитывая роль гена МТНFR в процессе склонности к повышенному тромбообразованию, то в данной работе проводился анализ носительства генотипов данного гена у больных с ИМ, проживающих на одной территории района республики с учетом национальной принадлежности больных. Ранее подобные работы у представителей финно-угорской популяции не проводились.

В данную группу вошло 80 пациентов с острым ИМ, неосложненного течения. При изучении распределения генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т у больных с ИМ выявлено равномерное распределение промежуточного генотипа СТ (47,5% n=38) и гомозиготного генотипа ТТ (41,3% n=33) по сравнению с носительством генотипа СС (11,2% n=9) ($p_{cc/st}=0,0006$, $p_{cc/tt}=0,0003$). Анализ распределения генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т у больных с ИМ в зависимости от гендерной принадлежности также показал равномерность распределения генотипов СТ и ТТ (таб.3.3.2.), как среди больных мужского пола, так и среди больных женского пола.

Таблица 3.3.2. Распределение генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т у лиц с ИМ в зависимости от пола.

Больные ИМ (n=80)	СС % 1	СТ % 2	ТТ % 3
Мужчины ИМ (n=38)	8,0 $p_{1/2}=0,003$	47,3 $p_{2/3}=0,4$	44,7 $p_{1/3}=0,001$
Женщины ИМ (n=42)	14,2 $p_{1/2}=0,0009$	47,8 $p_{2/3}=0,3$	38,0 $p_{1/3}=0,01$

В группе больных с ИМ, как указывалось ранее, вошли больные русской и мордва - мокша национальностей. Поэтому проводился анализ частоты встречаемости у больных ИМ относительно принадлежности к русской или мордва-мокша национальностей. Несмотря на более значимые

цифры генотипа СТ (52,5%) по сравнению с генотипом ТТ (37,5%) у больных русской национальности критерия достоверности данные различия не достигли, в то же время у больных национальности мордва-мокша частота носительства генотипа ТТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т встречалась чаще, чем носительство генотипа СТ (рис.3.3.1.).

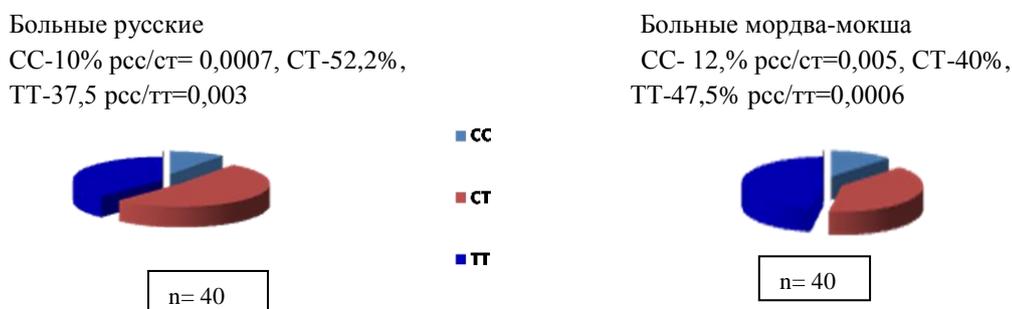


Рисунок.3.3.1. Распределение генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т у лиц с ИМ.

Распределение носительства генотипов генов, принимающих участие в развитии сердечно-сосудистых заболеваний и осложнений, носит определенную специфичность распределения относительно национальной принадлежности и пола больных (таб.3.3.3.).

Таблица 3.3.3. Распределение генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т у лиц с ИМ в зависимости от национальной принадлежности и пола

Больные ИМ	CC% 1	CT% 2	TT% 3
Мужчины русские (n=19)	10,5 P1/2=0,01	47,5 P2/3=0,7	42,0 P1/3=0,02
Мужчины мордовской национальности (n=19)	5,3 P1/2=0,007	42,1 P2/3=0,5	52,6 P1/3=0,001
Женщины русские (n=21)	9,5 P1/2=0,001	57,0 P2/3=0,1	33,5 P1/3=0,04
Женщины мордовской национальности (n=21)	19,0 P1/2=0,1	38,2 P2/3=0,7	42,8 P1/3=0,03

Поэтому был проведен анализ носительства генотипов гена МТНFR в позиции 677 С →Т в зависимости от национальной принадлежности и пола больных с ИМ. У больных с ИМ мужского и женского пола русской национальности и мордва-мокша выявлено равномерное распределение

промежуточного генотипа СТ и генотипа ТТ (таб.3.3.3.), но частота встречаемости носительства генотипа ТТ достоверно преобладала над частотой встречаемости генотипа СС гена МТНFR в позиции 677С → Т.

При сравнении с данными распределения генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т у больных с ИМ и здоровых лиц выявлено достоверное отличие в плане носительства генотипа ТТ. Только больные с ИМ независимо от пола и национальности имеют носительство «неблагоприятного» генотипа ТТ.

С учетом носительства генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т у больных с ИМ был проведен сравнительный анализ гемодинамических параметров и размеров по Эхо - КГ исследованию. Несмотря на более высокие показатели липидного спектра достоверных взаимосвязей между носительством генотипов и представленными параметрами – не выявлено (таб.3.3.4).

Таблица 3.3.4. Показатели больных с ИМ в зависимости от носительства генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т

Показатели	Генотип СС	Генотип СТ	Генотип ТТ	Р
ХС ммоль/л	6,5±0,5	6,4±0,6	6,6±0,7	P>0,05
ТГ ммоль/л	2,0±0,3	1,9±0,2	2,0±0,2	P>0,05
ЛПНП ммоль/л	3,0±0,4	2,8±0,6	2,7±0,5	P>0,05
ПТИ %	96,7±11,0	98,8±8,2	98,0±5,7	P>0,05
Фибриноген г/л	4,4±0,7	4,0±0,5	4,0±0,5	P>0,05
Свертываемость мин	3,0±1,0	3,3±1,4	3,3±1,4	P>0,05
Кровоточивость мин	1,3±0,5	1,3±0,7	1,3±0,7	P>0,05
МНО	1,26±0,3	1,24±0,6	1,19±0,9	P>0,05
ЭхоКг: ФВ %	53,7±5,1	52,7±8,3	53,2±7,6	P>0,05
ЗСЛЖ см	1,2±0,1	1,2±0,1	1,2±0,1	P>0,05
МЖП см	1,3±0,2	1,2±0,1	1,2±0,1	P>0,05
КСР см	3,2±1,0	3,2±1,0	3,2±1,0	P>0,05
КДР см	4,8±0,6	5,1±0,8	4,9±0,7	P>0,05
ЛП см	3,3±1,0	3,2±0,9	2,7±0,7	P>0,05

Как представлено ранее, у больных с ИМ было выявлено достоверное преобладание двух генотипов СТ и ТТ, которые являются «опасными» в плане развития тромбогенных осложнений. Поэтому был проведен расчет

отношения шансов относительно носительства генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т. При расчете OR относительно носительства генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т у больных с ИМ выявлено, что носители генотипа ТТ имеют OR= 13,55 (ДИ=3,91 – 47,0 при p=0,0002) (таб. 3.3.5) , за счет мужчин мордва-мокша (OR=9,45 при ДИ=1,94 – 46,07 при p=0,003), и мужчин русской национальности, где (OR=7,69 при ДИ=0,57 – 37,76 при p=0,006).

Таблица 3.3.5. Показатели отношения шансов у больных с ИМ

Генотипы	Случаи	Контроль	χ^2	p	OR	
	n = 80	n = 100			знач.	95% CI
Генотип C/C	0,113	0,310	26,13	0,0002	0,28	0,12 – 0,69
Генотип C/T	0,463	0,638			0,49	0,24 – 0,98
Генотип T/T	0,425	0,052			13,55	3,91 – 47,00

Высокий риск к тромбообразованию выявлен и у женщин с ИМ мордва-мокша, носителей ТТ генотипа, где OR=17,48 (ДИ=0,91–335,47 при p=0.03). У женщин с ИМ русской национальности, носителей ТТ генотипа выявлен риск склонности к повышенному тромбообразованию в меньшей степени, OR=5,69 при ДИ=0,28 – 117,33 при p=0,005. Таким образом, у больных с ИМ выявлено доминирующее носительство промежуточного генотипа СТ и генотипа ТТ гена MTHFR в позиции 677 С→Т. Анализ отношения шансов показал, что все носители генотипа ТТ имеют склонность к повышенному тромбообразованию, но больший риск выявлен для женщин мордва-мокша.

Также было проведено изучение встречаемости носительства вариантов гена MTHFR в позиции 1298 А→С у больных с ИМ. Выявлено равнозначное преобладание носительства промежуточного генотипа АС (49%) и генотипа СС (45%) (p ac/cc=1,0) у больных с ИМ по сравнению с носителями генотипа АА (6%) (p aa/ac=0,00004, p aa/cc=0,00002). При рассмотрении распределения генотипов данного гена у больных с ИМ

относительно пола, было получено, что у мужчин с ИМ чаще выявлялся генотип AC (57,8%), а у женщин с ИМ - генотип CC (52,4%)(рис.3.3.2.).

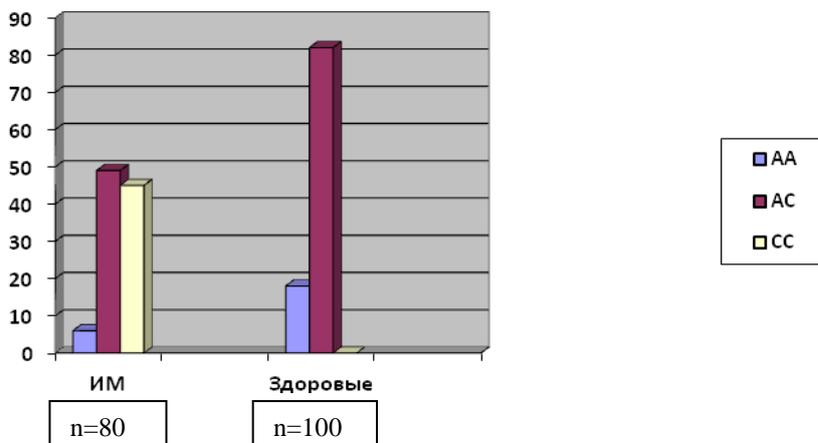


Рисунок 3.3.2. Распределение генотипов гена MTHFR в позиции 1298 A→C у больных с ИМ и здоровых лиц

Такая же ситуация, с преобладанием встречаемости промежуточного генотипа AC и генотипа CC гена MTHFR в позиции 1298 A→C, сложилась при изучении распределения генотипов данного гена у больных с ИМ по национальной принадлежности (рис.3.3.3.).

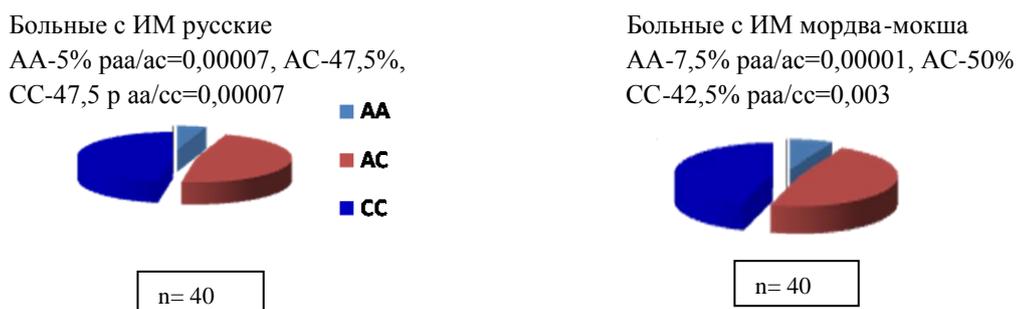


Рисунок 3.3.3. Распределение полиморфизма гена MTHFR в позиции 1298 A→C у больных с ИМ русской и мордва-мокша национальнойности

Выявление распределения генотипов гена MTHFR в позиции 1298 A→C у больных с ИМ, показал равномерное носительство промежуточного генотипа AC и генотипа CC у женщин и мужчин с ИМ русской

национальности и женщин мордва-мокша. У мужчин мордва-мокша с ИМ достоверно чаще встречался генотип AC (табл.3.3.6.).

Таблица 3.3.6. Распределение полиморфизма гена MTHFR в позиции 1298 A→C у больных с инфарктом миокарда.

Группы по национальности	AA% 1	AC% 2	CC% 3
Мужчины русские (n=19)	-	52,6 P1/2=0,0002	47,4 P1/3=0,0006
Мужчины мордовской национальности (n=19)	10,5 P1/2=0,0008	63,2 P2/3/1=0,02	26,3
Женщины русские (n=21)	9,6 P1/2=0,01	42,8	47,6 P1/3=0,006
Женщины мордовской национальности (n=21)	4,7	38,1	57,2 P1/3=0,0002

Важным моментом, как было указано ранее, является оценка прогноза развития осложнений, так как ИМ можно отнести к данной категории, а не к самостоятельной нозологической форме.

ИМ развивается или на фоне клинико-морфологической картине АГ, или на фоне ИБС бессимптомного или клинически выраженного атеросклеротического процесса. Поэтому был проведен анализ расчета отношения шансов, для выявления степени риска развития ИМ у больных в зависимости от пола, национальной принадлежности и носительства вариантов генотипов гена гена MTHFR в позиции 1298 A→C.

При расчете отношения шансов у больных с ИМ относительно носительства генотипов гена MTHFR в позиции 1298 A→C выявлено, что при наличии генотипа CC показателя OR равен 17,33 (ДИ=1,90 – 158,01 при p=0,005) (таб.3.3.7.).

Таблица 3.3.7. Отношение шансов в зависимости от полиморфизма гена MTHFR в позиции 1298 A→C у больных с ИМ

генотипы	Случаи	Контроль	χ^2	p	OR	
	n = 80	n = 100			знач.	95% CI
Генотип A/A	0,048	0,143	7,93	0,005	0,30	0,02 – 3,67
Генотип A/C	0,381	0,786			0,17	0,04 – 0,79
Генотип C/C	0,571	0,071			17,33	1,90– 158,01

При проведении расчета отношения шансов, для выявления степени риска развития ИМ у больных в зависимости от носительства вариантов генотипов гена MTHFR в позиции 1298 A→C было выявлено, что при наличии генотипа CC показатель OR равен 23,73 (ДИ=5,42–103,90 при $p=0,0001$). А также, высокий показатель отношения шансов характерен как для больных с ИМ мужского пола (OR=12,83 ДИ=1,56–105,82 при $p=0,01$) за счет мужчин русской национальности (OR=12,60 ДИ=1,37 – 115,98 при $p=0,01$), так и за счет женщин мордва-мокша (OR=18,70 ДИ=2,28 – 153,59 при $p=0,0038$). В зависимости от носительства генотипов гена MTHFR в позиции 1298 A→C был проведен анализ гемодинамических параметров и показателей Эхо-КГ (таб.3.3.8.).

Достоверных отличий данных параметров в зависимости от носительства генотипов не выявлено. Также не выявлено отличий по показателям коагулограммы, которые могли бы быть скрининговым моментом перед проведением генотипирования.

Таблица 3.3.8. Показатели больных с ИМ в зависимости от полиморфизма гена MTHFR в позиции 1298 A→C

Показатели	Генотип AA	Генотип AC	Генотип CC	p
ХС ммоль/л	5,2±0,4	5,3±0,7	5,8±0,6	$P>0,05$
ТГ ммоль/л	1,9±0,3	2,9±0,7	1,9±0,2	$p>0,05$
ЛПНП ммоль/л	3,1±0,6	2,6±0,6	3,1±0,6	$P>0,05$
ПТИ %	97,3±7,5	95,9±8,1	100,0±9,0	$P>0,05$
Фибриноген г/л	3,9±0,7	3,7±0,7	3,7±0,7	$P>0,05$
Свертываемость мин	4,7±1,2	4,9±0,8	4,1±1,3	$P>0,05$
Кровоточивость мин	1,8±0,9	1,5±0,7	1,5±0,7	$P>0,05$
ЭхоКг: ФВ %	57,6±9,4	55,5±7,0	57,0±4,9	$P>0,05$
ЗСЛЖ см	1,2±0,1	1,3 ±0,1	1,3±0,1	$P>0,05$
МЖП см	1,1±0,2	1,3±0,1	1,6±0,1	$P>0,05$
КСР см	3,4±1,1	2,8±0,8	2,5±1,0	$P>0,05$
КДР см	4,9±0,7	4,5±0,6	4,6±0,9	$P>0,05$
ЛП см	3,2±0,7	2,8±0,4	3,4±1,1	$p>0,05$

У больных с ИМ выявлено, что сочетание генотипов, относящихся к неблагоприятным, встречается у 68 пациентов из 80, что составляет 85,2% (41,1% у больных с ИМ мордва-мокша $n=33$ и 44,1% пациентов с ИМ русской национальности $n=35$). Сочетание генотипов ТТ гена МТНFR в позициях 677 С→Т и СС 1298 А→С выявлено у 17,5%, сочетание ТТ и АС в 23,7% случаев, сочетание СТ и СС у 22,5% больных с ИМ и сочетание СТ и АС встречается у 21,3% пациентов с ИМ. С учетом пола, больных с двойным носительством генотипов СС и ТТ выявлено у 40% больных мужского пола и 15% у больных женского пола национальности мордва-мокша.

У больных ИМ русской национальности выявилось неблагоприятное носительство генов у больных ИМ мужского пола в 23% случаев и у 22% больных женского пола (табл.3.3.9.).

Таблица 3.3.9. Характеристика комбинаций генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т и 1298 А→С у больных с ИМ

Комбинации генотипов гена МТНFR		Количество больных с ИМ	Средний возраст больных с ИМ
в позиции 677 С→Т	в позиции 1298 А→С		
ТТ	СС	14	58,2±6,13
ТТ	АС	19	59,9±6,97
СТ	СС	18	58,6±6,87
СТ	АС	17	59,3±6,05
ТТ	АА	1	51,0±0,1
СТ	АА	2	54,5±0,7
СС	АА	2	60,5±9,1
СС	АС	3	63,6±9,2
СС	СС	4	54,2±1,25

Необходимо отметить, что средний возраст больных с ИМ при сочетании данных генотипов не отличается.

Учитывая выявленные отличающиеся значения встречаемости носительства генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т и 1298 А→С и риск развития у больных с ИМ, то был проведен анализ характеристики комбинаций в зависимости от национальной принадлежности больных с ИМ (табл.3.3.10.).

Таблица 3.3.10. Характеристика комбинаций генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т и 1298 А→С у больных с ИМ в зависимости от национальной принадлежности.

Комбинации генотипов гена MTHFR		Национальность	Количество больных с ИМ	Средний возраст больных с ИМ
в позиции 677 С→Т	в позиции 1298 А→С			
ТТ	СС	русские	6	58,3±6,59
ТТ	СС	мордва-мокша	8	58,2±6,22
ТТ	АС	русские	8	54,3±2,61
ТТ	АС	мордва-мокша	11	64,0±6,32
СТ	СС	русские	12	57,6±7,1
СТ	СС	мордва-мокша	6	60,5±6,37
СТ	АС	русские	9	61,6±6,34
СТ	АС	мордва-мокша	8	56,7±4,80
ТТ	АА	русские	1	51,0
ТТ	АА	мордва-мокша	н/в	
СТ	АА	русские	н/в	
СТ	АА	мордва-мокша	2	54,5±0,7
СС	АА	русские	1	67,0
СС	АА	мордва-мокша	1	54,0
СС	АС	русские	2	69,0±1,41
СС	АС	мордва-мокша	1	53,0
СС	СС	русские	1	54,0
СС	СС	мордва-мокша	3	54,3±1,52

Таким образом, при изучении распределения носительства генотипов гена MTHFR у больных с ИМ выявлено, что сочетание генотипов, относящихся к «неблагоприятным», встречается у 85,2% пациентов.

3.4. Особенности носительства полиморфизма генотипов гена метилентетрагидрофолатредуктазы в позициях 677 С→Т и 1298 А→С у больных с острым нарушением мозгового кровообращения

Острое нарушение мозгового кровообращения достаточно серьезная проблема для практического здравоохранения. В течение первого месяца от момента ОНМК уходят из жизни до 40% больных. Одна треть заболевающих инсультом - люди трудоспособного возраста, но к труду возвращаются лишь 20% лиц, перенесших ОНМК [45]. Даже в наш век высоких технологий в 8-

15% случаев не удается раскрыть основную причину возникновения инсульта, а в некоторых случаях, эта цифра достигает 20-40%. Главными причинами развития ОНМК являются тромбофилические состояния, способствующие формированию окклюзионного тромба под воздействием дополнительных факторов: нарушения в системе антикоагулянтов, изменения фибринолитических свойств крови, нарушения в функциях тромбоцитов, операционный и послеоперационный периоды, в частности длительный постельный режим, оральные контрацептивы, беременность и т.д. Чаще всего, в таких случаях, есть основание исследовать генетические факторы, которые детерминируют особенности гемостаза, состояние эндотелиальной системы и некоторые другие ключевые параметры гемодинамики [21]. На современное здравоохранение возложена важная социальная задача - выявление лиц с повышенным риском развития инсульта.

Как было указано ранее, в данную группу исследования вошло 92 пациента с ОНМК русской (n=47) и мордва-мокша (n=45) национальности.

Из них 43 мужчины, что составило 46,7% от числа исследуемых (22 мужчины мордва-мокша и 21 русской национальности) и 49 женщин, что составило 53,3% от числа исследуемых (23 женщины мордва-мокша и 26 русской национальности).

Средние показатели биохимических, гемодинамических параметров и показателей коагулограммы достоверно не отличались в зависимости от принадлежности к полу и национальности больных.

В данном исследовании было проведено изучение частоты встречаемости вариантных генотипов гена MTHFR в позиции 677 C→T у 92 пациентов с ОНМК. Частота встречаемости носительства генотипов у данных больных распределилась следующим образом: генотип CC встречается в 6,5% (n=6) случаев, генотип CT – в 52,2% (n=48), а генотип TT выявлен у 41,3% (n=38) пациентов с ОНМК. Несмотря на отличия по частоте

встречаемости генотипов СТ и ТТ данные показатели не достигают критерия достоверности (рис.3.4.1.).

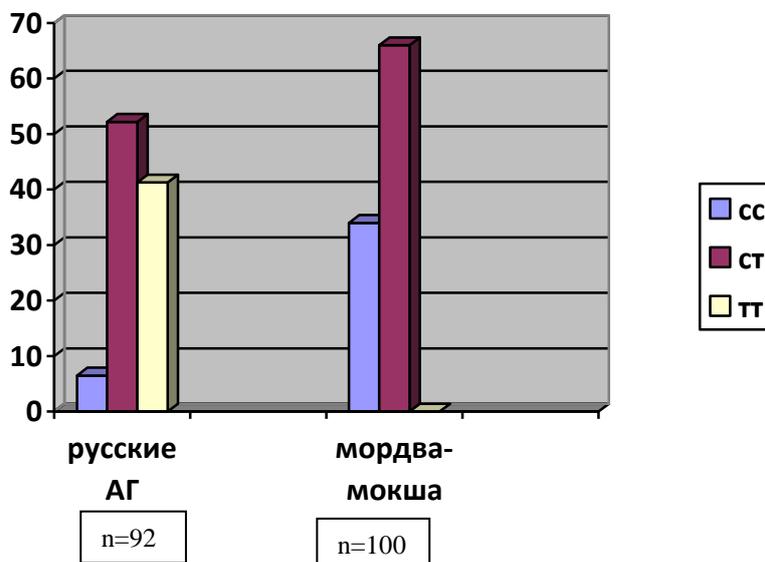


Рисунок 3.4.1. Распределения генотипов гена MTHFR в позиции 677 С →Т у больных с ОНМК и здоровых лиц.

У больных с ОНМК относительно гендерной принадлежности выявлено преобладание носительства генотипов СТ (47%) и ТТ (51%) по сравнению с генотипом СС (2%) ($p_{cc/ct/tt}=0,0001$) у больных с ОНМК мужского пола. У женщин с ОНМК достоверно преобладает генотип СТ - 57% ($p_{ct/cc}=0,00001$, $p_{ct/tt}=0,005$) относительно пациентов, носителей генотипов СС (10%) и ТТ (33%).

У больных русской национальности выявлено достоверное преобладание носительства промежуточного генотипа СТ гена MTHFR в позиции 677 С→Т по сравнению с частотой встречаемости генотипов СС и ТТ, а у больных мордва-мокша преобладание генотипа ТТ гена MTHFR в позиции 677 С→Т. Частота встречаемости «неблагоприятного» генотипа ТТ у больных с ОНМК русской национальности и мордва-мокша достоверно преобладает над частотой генотипа СС гена MTHFR в позиции 677 С→Т (рис.3.4.2.).

Больные с ОНМК русские
 СС-4% рсс/ст=0,00001, СТ-65%
 рст/тт=0,001, ТТ-31% рсс/тт=0,0006

Больные с ОНМК мордовской национальности
 СС-9% рсс/ст=0,001, СТ-38%, ТТ-53%
 рсс/ст/тт=0,00001

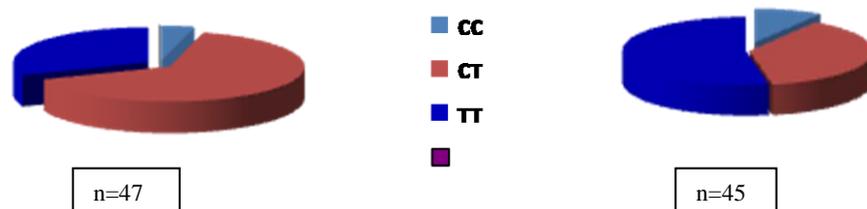


Рисунок.3.4.2. Распределение полиморфизма гена MTHFR в позиции 677 С→Т у больных с ОНМК русской и мордва-мокша национальности

Также необходимо отметить, что носительство генотипа ТТ у больных с ОНМК мордва-мокша встречается чаще, чем у больных с ОНМК русской национальности. Риск развития ОНМК у больных национальности мордва-мокша по критериям отношение шансов составляет $OR= 21,71$ ДИ= 2,67 – 176,34, $p =0,0008$), а для больных русской национальности $OR= 5,67$ ДИ= 1,13 – 28,46 $p=0,002$). Так же был проведен анализ носительства генотипов относительно национальности и пола (таб.3.4.2.).

Таблица 3.4.2. Распределение полиморфизма гена MTHFR в позиции 677 С→Т в зависимости от национальной принадлежности и пола у больных с ОНМК

Группы по национальности	СС% 1	СТ% 2	ТТ% 3
Мужчины русские (n=21)	-	57,2 P1/2=0,0001	42,8 P1/3=0,007
Мужчины мордовской национальности (n=22)	4,5	36,5	59,0 P1/3=0,0001
Женщины русские (n=26)	7,7 P1/2=0,00001	73,0 P2/3=0,0001	19,3 P1/2=0,04
Женщины мордовской национальности (n=23)	13,0 P1/2=0,04	39,0 P2/3=0,009	48,0 P1/3=0,003

Анализ частоты встречаемости у мужчин с ОНМК русской национальности выявил отсутствие генотипа СС, а распределение генотипов

СТ и ТТ было в равной степени. У мужчин с ОНМК мордва-мокша частота встречаемости генотипа ТТ по сравнению с частотой встречаемости генотипа СТ не достигало критерия достоверности. У женщин мордва-мокша с ОНМК выявлена достоверно более частая встречаемость генотипа ТТ по сравнению с частотой носительства генотипов СТ и СС. У женщин с ОНМК русской национальности выявил достоверно частую встречаемость промежуточного генотипа СТ. Также отмечается, что частота носительства генотипа ТТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т у женщин с ОНМК мордва-мокша национальнойности достоверно чаще встречается, чем у женщин с ОНМК русской национальнойности. У мужчин мордва-мокша носительство генотипа ТТ встречается чаще, чем у больных с ОНМК русской национальнойности.

У больных с ОНМК были проанализированы гемодинамические, эхокардиографические показатели и показатели коагулограммы в зависимости от носительства генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т. Достоверных отличий у больных данной группы в зависимости от носительства генотипов не выявлено (таб.3.4.3.).

Таблица 3.4.3. Показатели больных с ОНМК в зависимости от полиморфизма гена МТНFR в позиции 677 С→Т

Показатели	Генотип СС	Генотип СТ	Генотип ТТ	р
ХС ммоль/л	6,8±0,2	6,8±0,8	6,7±0,9	р>0,05
ТГ ммоль/л	2,0±0,4	1,9±0,3	1,8±0,3	р>0,05
ЛПНП ммоль/л	2,5±0,3	2,8±0,4	2,6±0,5	р>0,05
ПТИ %	96,7±11,0	98,0±2,4	97,2±3,9	р>0,05
Фибриноген г/л	2,9±0,6	3,1±0,6	3,0±0,6	р>0,05
Свертываемость мин	4,3±2,1	4,9±1,5	4,6±1,1	р>0,05
Кровоточивость мин	1,8±1,1	1,7±0,7	1,8±0,9	р>0,05
МНО	1,19±0,1	1,21±0,8	1,23±0,5	р>0,05
ЭхоКг: ФВ%	50,1±4,7	54,2±5,4	54,5±5,7	р>0,05
ЗСЛЖ см	1,1±0,2	1,0±0,1	1,0±0,1	р>0,05
МЖП см	1,0±0,1	1,0±0,1	1,0±0,1	р>0,05
КСР см	2,7±0,6	2,7±0,6	2,7±0,5	р>0,05
КДР см	4,7±1,4	4,4±1,1	4,6±0,8	р>0,05
ЛП см	3,1±1,0	2,8±0,7	2,9±0,6	р>0,05

Учитывая генез ишемического инсульта, связанного с образованием тромба и возможную роль в этом процессе гена MTHFR в позиции 677 С→Т, было проведено вычисление отношения шансов у больных с ОНМК. В общей группе больных с ОНМК, носителей генотипа ТТ показатель OR- 13,55 ДИ= 3,91 – 47,00, $p = 0,0004$) (таб.3.4.4).

Таблица 3.4.4. Расчет отношения шансов у больных с ОНМК

Генотипы	Случаи	Контроль	χ^2	p	OR	
	n = 92	n = 100			знач.	95% CI
Генотип С/С	0,113	0,310	26.13	0,0004	0,28	0,12 – 0,69
Генотип С/Т	0,463	0,638			0,49	0,24 – 0,98
Генотип Т/Т	0,425	0,052			13,55	3,91 – 47,00

При вычислении отношения шансов были получены более значимые значения для больных мордва-мокша, где OR= 21,71 (ДИ= 2,67–176,34, $p = 0,008$), чем для больных русской национальности, где OR= 5,67 (ДИ =1,13–28,46 $p = 0,002$). У больных с ОНМК при сравнительном анализе показателей отношения шансов выявлено, что носительство генотипа СС гена MTHFR в позиции 1298 А→С имеет значение в плане риска повышенного тромбообразования, как для больных русской национальности мужского пола, где OR= 13,00 (ДИ= 1,39 –121,38 $p = 0,001$), так и для больных женского пола мордва-мокша, где OR= 21,16 (ДИ=1,12–40,16 $p = 0,02$).

Таким образом, при изучении распределения полиморфных вариантов гена MTHFR в позиции 677 С→Т у больных с ОНМК выявлено достоверное преобладание носительства «неблагоприятного» генотипа ТТ у больных национальности мордва-мокша (53%) с риском развития ОНМК равного 21,71(ДИ= 2,67–176,34, $p = 0,008$).

У больных с ОНМК также было проведено исследование по изучению полиморфизма гена MTHFR в позиции 1298 А→С (рис.3.4.3.).

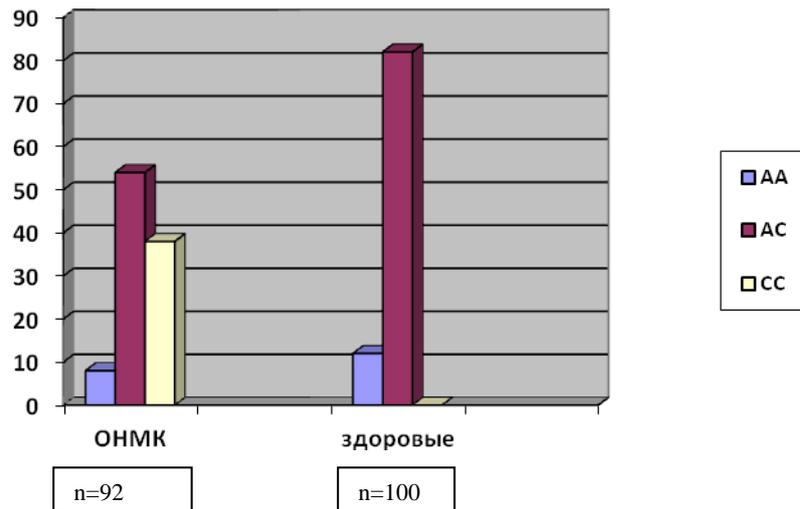


Рисунок.3.4.3. Распределение генотипов гена МТНFR в позиции 1298 А→С у больных с ОНМК и здоровых лиц.

У больных с ОНМК выявлено преобладание носительства гетерозиготного генотипа АС (54%) гена МТНFR в позиции 1298 А→С по сравнению с пациентами, носителями генотипа СС (38%). В данной группе обследования с ОНМК отмечена более частая встречаемость «неблагоприятного» генотипа СС по сравнению с числом носителей «благоприятного» генотипа АА (8%) ($p_{aa/cc}=0,0001$)(рис.3.4.3.).

У мужчин ($n=43$) с ОНМК, как и у женщин ($n=49$), частота встречаемости гетерозиготных АС генотипов гена МТНFR в позиции 1298 А→С превалирует относительно генотипов АА и СС. Но у женщин СС генотип встречается чаще (47,5% $p_{aa/cc}=0,001$), чем у мужчин (32,5% $p_{aa/cc}=0,01$). У больных с ОНМК русской национальности генотип АА гена МТНFR в позиции 1298 А →С встречался в 3% случаев, генотип АС в 54% и генотип СС – в 43%. У больных с ОНМК национальности мордва-мокша частота встречаемости генотипов распределялась следующим образом: генотип АА -11%, генотип АС-51% и генотип СС -38%. В то же время, отмечается, что при изучении распределения генотипов гена МТНFR в позиции 1298 А→С в зависимости от принадлежности больных с ОНМК к

национальности и полу не отмечается преобладания носительства генотипа АС относительно частоты встречаемости генотипа СС (таб.3.4.5.).

Таблица 3.4.5. Распределение генотипов гена МТНFR в позиции 1298 А→С у больных с ОНМК в зависимости от национальной принадлежности и пола

Группы по национальности	АА% 1	АС% 2	СС% 3
Мужчины русские (n=21)	4,8 P1/2=0,0002	59,2	36,0 P1/3=0,01
Мужчины мордовской национальности (n=22)	18,3 P1/2=0,03	48,9	32,8
Женщины русские (n=26)	3,8 P1/2=0,0001	54,5	41,7 P1/3=0,001
Женщины мордовской национальности (n=23)	4,5 P1/2=0,0002	55,7	39,8 P1/3=0,003

Был проведен сравнительный анализ гемодинамических параметров, данных ЭХО-КГ и показателей коагулограммы у больных с ОНМК и с учетом носительства полиморфных вариантов гена МТНFR в позиции 1298 А→С. Достоверных отличий по данным параметрам не выявлено (таб.3.4.6.).

Таблица 3.4.6. Показатели больных с ОНМК в зависимости от носительства генотипов гена МТНFR в позиции 1298 А→С.

Показатели	Генотип АА	Генотип АС	Генотип СС	р
ХС ммоль/л	6,4±0,8	4,9±0,7	6,6±0,9	p>0,05
ТГ ммоль/л	1,9±0,3	1,8±0,2	1,9±0,3	p>0,05
ЛПНП ммоль/л	2,6±0,5	2,7±0,4	2,7±0,4	p>0,05
ПТИ %	98,6±1,5	98,1±3,3	97,2±3,8	p>0,05
Фибриноген г/л	3,1±0,8	3,1±0,6	3,0±0,7	p>0,05
Свертываемость мин	4,5±1,6	5,0±1,3	4,5±1,4	p>0,05
Кровоточивость мин	1,6±0,8	1,6±0,7	1,9±0,9	p>0,05
ЭхоКг: ФВ %	55,6±6,2	54,5±6,1	53,1±4,7	p>0,05
ЗСЛЖ см	1,0±0,1	1,0±0,1	1,0±0,1	p>0,05
МЖП см	1,1±0,1	1,0±0,1	1,0±0,1	p>0,05
КСР см	2,8±0,3	2,8±0,5	2,6±0,7	p>0,05
КДР см	5,1±0,9	4,4±0,9	4,6±1,1	p>0,05
ЛП см	3,2±0,7	2,8±0,7	3,0±0,8	p>0,05

Для выяснения возможности влияния носительства генотипов гена MTHFR в позиции 1298 A→C у больных с ОНМК, как фактора риска в развитии повышенного тромбообразования, был проведен расчет отношения шансов в данной группе обследованных больных. Риск развития ишемического инсульта, связанного с развитием тромба составляет в общей группе больных, носителей генотипа CC OR=19,33 (ДИ= 14,41 – 84,84 $p = 0,0001$) (таб.3.4.7.), наиболее выраженный для больных женского пола, где OR=15,38 (ДИ 1,86-126,88 при $p=0,003$), а для больных мужского пола составляет OR=10,59 (ДИ 1,28-8,41 при $p=0,03$).

Таблица 3.4.7. Показатели отношения шансов у больных с ОНМК

Генотипы	Случаи	Контроль	χ^2	p	OR	
	n = 92	n = 100			знач.	95% CI
Генотип A/A	0.113	0.310	28.27	0.0007	0.21	0.08 – 0.56
Генотип A/C	0.463	0.638			0.51	0.25 – 1.03
Генотип C/C	0.425	0.052			19.33	4.41 – 84.84

Для больных с ОНМК русской национальности OR=3,75 (ДИ 1,06-13,29 при $p=0,04$), а для больных национальности мордва-мокша OR=13,06 (ДИ 0,68- 25,68 при $p=0,04$).

Для женщин с ОНМК русской национальности OR=11,28 (ДИ 1,17-108,41 при $p=0,007$), а для женщин с ОНМК национальности мордва-мокша OR=10,00 (ДИ 1,11- 89,77 при $p=0,02$). Для мужчин с ОНМК русской национальности рассчитанный риск при носительстве генотипа CC гена MTHFR в позиции 1298 A→C OR=7,64 (ДИ 0,80- 73,15 при $p=0,04$), а для мужчин с ОНМК мордва-мокша OR=13,06 (ДИ 0,68- 250,68 при $p=0,04$).

Частота встречаемости комбинаций генотипов гена MTHFR в позициях 677 C→T и 1298 A→C, относящихся к «неблагоприятным» у больных с ОНМК составляет 73,9% ($n=68$). Характеристика комбинаций генотипов гена MTHFR в позиции 677 C→T и 1298 A→C у больных с ОНМК представлена в таблице 3.4.8.

Таблица 3.4.8. Характеристика комбинаций генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т и 1298 А→С у больных с ОНМК

Комбинации генотипов гена MTHFR		Количество больных с ИМ	Средний возраст больных с ИМ
в позиции 677 С→Т	в позиции 1298 А→С		
ТТ	СС	13	61,1±8,09
ТТ	АС	22	61,6±7,25
СТ	СС	15	58,6±5,61
СТ	АС	18	59,8±9,10
ТТ	АА	3	51,6±6,10
СТ	АА	3	56,3±6,50
СС	АА	н/в	
СС	АС	2	65,6±6,36
СС	СС	4	54,7±5,18

Так же был проведен анализ частоты встречаемости комбинаций генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т и 1298 А→С (табл.3.4.9.).

Таблица 3.4.9. Характеристика комбинаций генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т и 1298 А→С у больных с ОНМК в зависимости от национальной принадлежности.

Комбинации генотипов гена MTHFR		Национальность	Количество больных с ИМ	Средний возраст больных с ИМ
в позиции 677 С→Т	в позиции 1298 А→С			
ТТ	СС	русские	5	62,2±9,20
ТТ	СС	мордва-мокша	8	60,5±7,91
ТТ	АС	русские	8	64,3±6,90
ТТ	АС	мордва-мокша	14	61,1±7,24
СТ	СС	русские	8	59,3±5,75
СТ	СС	мордва-мокша	7	57,8±5,78
СТ	АС	русские	11	60,0±10,10
СТ	АС	мордва-мокша	7	59,5±8,01
ТТ	АА	русские	1	57,0±7,52
ТТ	АА	мордва-мокша	2	40,0±5,65
СТ	АА	мордва-мокша	3	56,3±6,50
СС	АС	мордва-мокша	2	65,5±6,36
СС	СС	русские	2	58,5±4,94
СС	СС	мордва-мокша	2	51,0±0,00

У больных русской национальности частота комбинаций генотипов данного гена встречается в 34,8% случаев, у больных с ОНМК национальности мордва-мокша – 39,1%. Сочетание генотипов МТНFR в позиции 677 С→Т и 1298 А→С, у больных с ОНМК распределилось следующим образом: ТТ/СС -14,1%, ТТ/АС- 23,9%, СТ/СС - 16,3%, СТ/АС - 19,5%.

Таким образом, у больных в группе с острым нарушением мозгового кровообращения выявлено достоверное преобладание носительства генотипа ТТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т у лиц мордва-мокша (53%), в позиции 1298 А→С –равномерное распределение промежуточных и неблагоприятных генотипов независимо от пола и национальности. Частота сочетания генотипов гена МТНFR в позициях 677 С→Т и 1298 А→С, относящихся к «неблагоприятным», встречается в 73,9% случаев (39,1% у больных мордва-мокша, 34,8% - больных русской национальности).

3.5. Выявление критериев стратификации риска развития тромбогенных осложнений у больных с сердечно-сосудистой патологией на основании носительства полиморфизмов гена метилентетрагидрофолатредуктазы.

Для предупреждения развития тромбогенных осложнений (ИМ и ОНМК) у больных с артериальной гипертензией необходимо ввести в алгоритм диагностики дополнительные методы обследования, позволяющие прогнозировать течение заболевания и возможность предупреждения развития осложнений с разработкой персонализированного подхода к медикаментозной вторичной профилактике.

Для этого необходимо выявить дополнительные ранние маркеры развития тромбогенных осложнений у больных с АГ, являющиеся факторами риска и своеобразным фоном для развития сердечно-сосудистых осложнений. В генезе основных сердечно-сосудистых осложнений на фоне АГ, кроме

влияния повышенного АД, имеется влияние на изменение реологических свойств крови.

В практическом здравоохранении внедрены протоколы обследования больных с определенными нозологиями сердечно-сосудистой системы. С учетом технического прогресса, многие исследования, которые были ранее недостижимые, в настоящее время приобретают стандартное значение и в частности, генотипирование. Одним из механизмов развития ИМ или ОНМК является образование тромба, образующегося под возможным влиянием генов системы гемостаза, и в частности гена MTHFR, влияющего на повышенное тромбообразование.

Как было представлено ранее, целью работы практического здравоохранения является профилактика развития сердечно-сосудистых заболеваний и тем более развитие их осложнений. Предложенные шкалы стратификации риска у больных АГ не всегда могут достаточно точно спрогнозировать развитие тромбогенных осложнений (рис.3.5.1.)

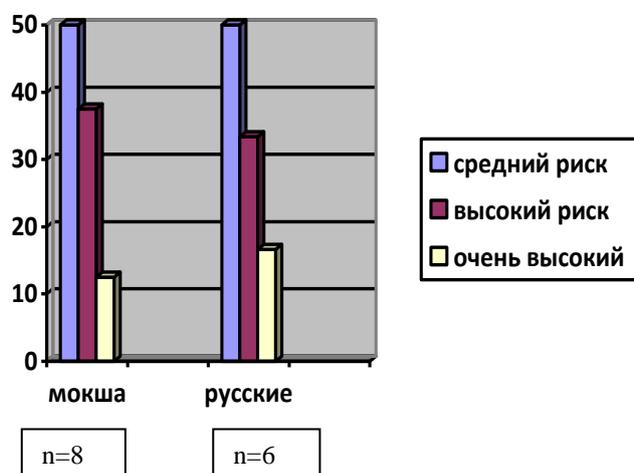


Рисунок 3.5.1. Степени риска больных с АГ, получивших ИМ и ОНМК по шкале SCORE

Так, например, больные АГ независимо от пола и национальной принадлежности имели низкий процент очень высокого риска. Среди больных мордва-мокша, получивших осложнения в виде ИМ или ОНМК по

шкале SCORE только один больной (12,5 %) имел очень высокий риск (больной с комбинацией ТТ/СС), трое больных (37,5 %) - высокий риск и 4 больных (50%) имели средний риск (из двое больных с комбинацией ТТ/АС). Среди больных русской национальности до развития осложнений трое больных (50%) имели средний риск, двое больных (33,4%)- высокий риск и один больной – очень высокий риск (рис.3.5.1.)

Для решения поставленной задачи – создание модели стратификации риска, основанной на прогнозировании развития тромбогенных осложнений для больных первичной АГ, были выявлены основные факторы с определением отношения риска - вклада в развитие ИМ и ОНМК. Для построения математической модели учитывались анализируемые параметры в виде возраста, пола, национальности, САД, ДАД, ХС, курение, показатели коагулограммы (ПВ, ПО, ПИ, АЧТВ, фибриноген), полиморфизмы гена МТНFR в позиции 677 С→Т и 1298 А→С, а так же их комбинации. За единицу измерения степени риска брался набор баллов, рассчитанный в зависимости от показателя отношения шансов.

Возрастные категории больных были разделены на 6 категорий с определением степени риска участия в развитии осложнений у больных с АГ: менее 40 лет - OR=0,21 (ДИ 0,02-0,320); 41-50 лет - OR=0,67 (ДИ 0,091-4,143); 51-60 лет – OR=0,053 (ДИ 0,007-0,377); 61-70 лет OR=0,34 (ДИ 0,161-0,711); 71-80 лет OR=4,41 (ДИ 2,596-7,653); более 80 лет OR=10,0 (ДИ 6,071-15,057).

Гендерные характеристики прописывались в зависимости от пола: для больных АГ мужского пола OR=1,17 (ДИ 2,242-7,495), для больных АГ женского пола OR=0,18 (ДИ 0,133-0,446). Учитывались такие факторы риска, как курение, где в данной работе выявлено для больных АГ курящих/бросивших OR=1,203 (ДИ 0,668-2,166); для больных кто не курит и не курил OR=0,119 (ДИ 0,031-0,452).

Учитывая выявленные этногенетические особенности носительства генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т и 1298 А→С, были выделены

две группы национальности больных, где для больных русской национальности $OR=0,15$ (ДИ 0,123-0,456), а для национальности мордва-мокша $OR=1,04$ (ДИ 0,611-2,086).

Уровни АД как систолического, так и диастолического были разделены по градациям - для САД: менее 120 мм рт.ст. $OR=0,151$ (ДИ 0,037-0,613); 120-139 мм рт.ст. $OR=0,251$ (ДИ 0,092-0,687); 140-160 мм рт.ст. $OR=2,514$ (ДИ 0,643-4,562) ; более 160 мм рт.ст. $OR=2,961$ (ДИ 0,826-7,572). Для ДАД: менее 85 мм рт.ст. $OR=0,236$ (ДИ 0,075-0,745); 90-109 мм рт.ст. $OR=0,255$ (ДИ 0,063-1,027); более 110 мм рт.ст. $OR=1,112$ (ДИ 0,629-1,966).

Значения для показателя ХС также были разделены на категории с учетом отношения шансов: менее 5 ммоль/л $OR=0,89$ (ДИ 0,356-2,221); 5 ммоль/л $OR=1,774$ (ДИ 0,820-3,839); 6-7 ммоль/л $OR=1,913$ (ДИ 1,081-3,383); более 8 ммоль/л $OR=2,271$ (ДИ 1,296-4,453).

Показатели коагулограммы были разделены в зависимости от данных значений: ПВ менее 14 сек $OR=1,021$ (ДИ 0,09 – 0,50); 14-18 сек $OR=0,02$ (ДИ 0,007-0,377); более 18 сек $OR=1,23$ (ДИ 0,597-2,510);

ПО менее 0,9 $OR=0,92$ (ДИ 0,14 – 3,08); 0,9-1 $OR=0,031$ (ДИ 0,071-0,765); более 1,1 $OR=1,18$ (ДИ 0,643-3,560);

ПИ менее 80 % $OR=0,82$ (ДИ 0,01-2,62); 80-120% $OR=0,02$ (ДИ 0,09-6,65); более 120% $OR=1,941$ (ДИ 0,63-42,49);

АЧТВ менее 35 сек $OR=0,991$ (ДИ 0,21-3,762); 35-46 сек $OR=1,981$ (ДИ 0,032-6,55); более 46 сек $OR=0,741$ (ДИ 0,43-12,43);

Фибриноген менее 1,8 г/л $OR=0,711$ (ДИ 0,23-1,162); 1,8-4,0 г/л $OR=0,342$ (ДИ 0,02-7,34); более 4,0 г/л $OR=1,923$ (ДИ 0,13-9,43).

Учитывая выявленные степени риска для носителей генотипов MTHFR в позиции 677 С→Т прописаны баллы с учетом отношения шансов, где для носителей генотипа СС гена MTHFR в позиции 677 С→Т $OR=0,29$ (ДИ 0,255-0,890); носителей генотипа СТ гена MTHFR в позиции 677 С→Т $OR=11$ (ДИ 3,011-14,321) и для носителей «неблагоприятного» генотипа ТТ $OR=211$ (ДИ 10,30-4320,91). Для показателей MTHFR в позиции 1298 А→С

выделялись категории: для носителей генотипа AA OR=0,71 (ДИ 0,35-1,45); генотипа AC OR=1,41 (ДИ 0,46-1,74) и для генотипа CC OR= 4,06 (ДИ 0,89-18,50).

Так же в алгоритм стратификации риска развития тромбогенных осложнений вошли комбинации гетерозиготных и «неблагоприятных» генотипов с учетом выявления их роли и частоты встречаемости у больных с ИМ и ОНМК. Все показатели для каждого пациента вводятся в программе в соответствующие окна (рис.3.5.2.).

Риск тромбогенных осложнений (1.2.0)

Возраст: 0 Суммарный балл: 2,0

Пол: Муж

Национальность: рус

САД: 0

ДАД: менее 85

ХС: 0

Курит: да

Коагулограмма ПВ: 0

ПО: 0,00

ПИ: 0

АЧТВ: 0

Фибриноген: 0,00

МТНFR 677: CC

МТНFR 1298: AA

МТНFR 677 + МТНFR 1298: CC+AA

Диагностика

Рисунок.3.5.2. Интерфейс программы при внесении данных пациента

Далее программа суммирует баллы, которые соответствуют категориям риска развития тромбогенных осложнений:

- От 0 до 8 – низкий риск (рис.3.5.3);
- От 9 до 22 – средний риск (рис.3.5.4.);
- выше 23 –высокий риск (рис.3.5.5).

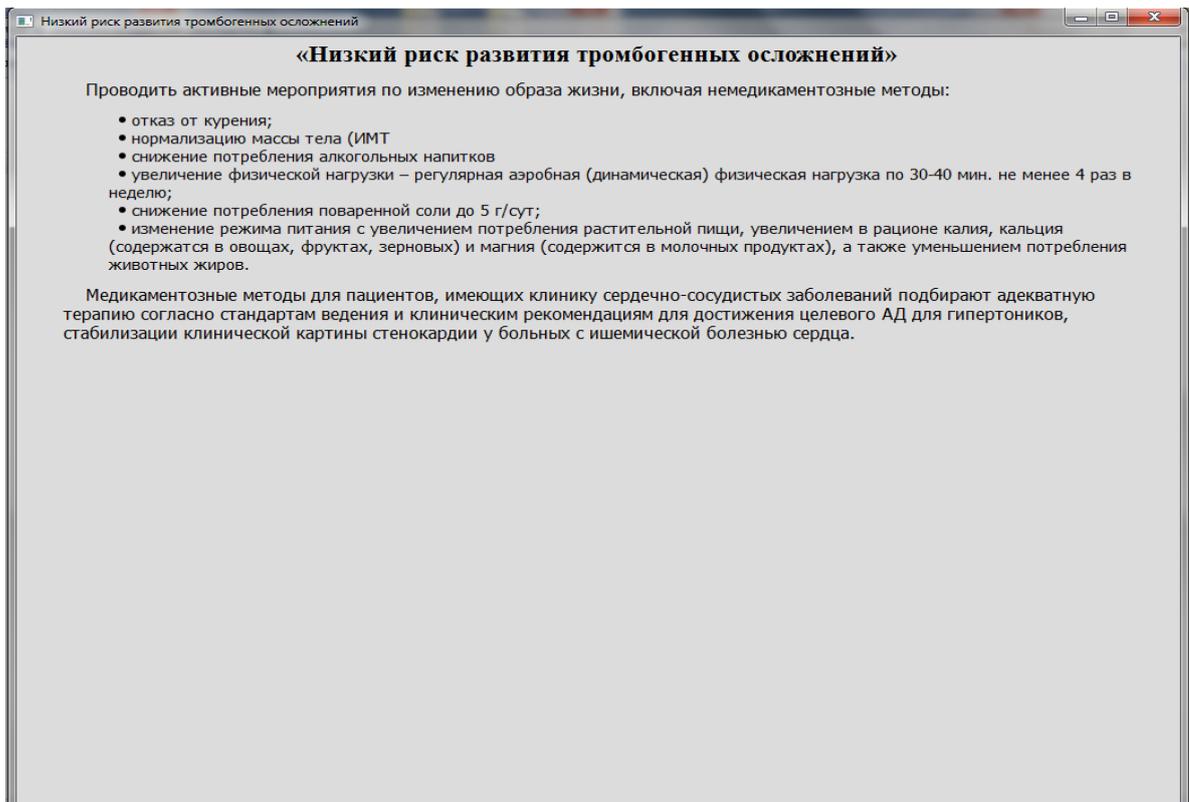


Рисунок.3.5.3. Интерфейс программы при низком риске развития тромбогенных осложнений с рекомендациями

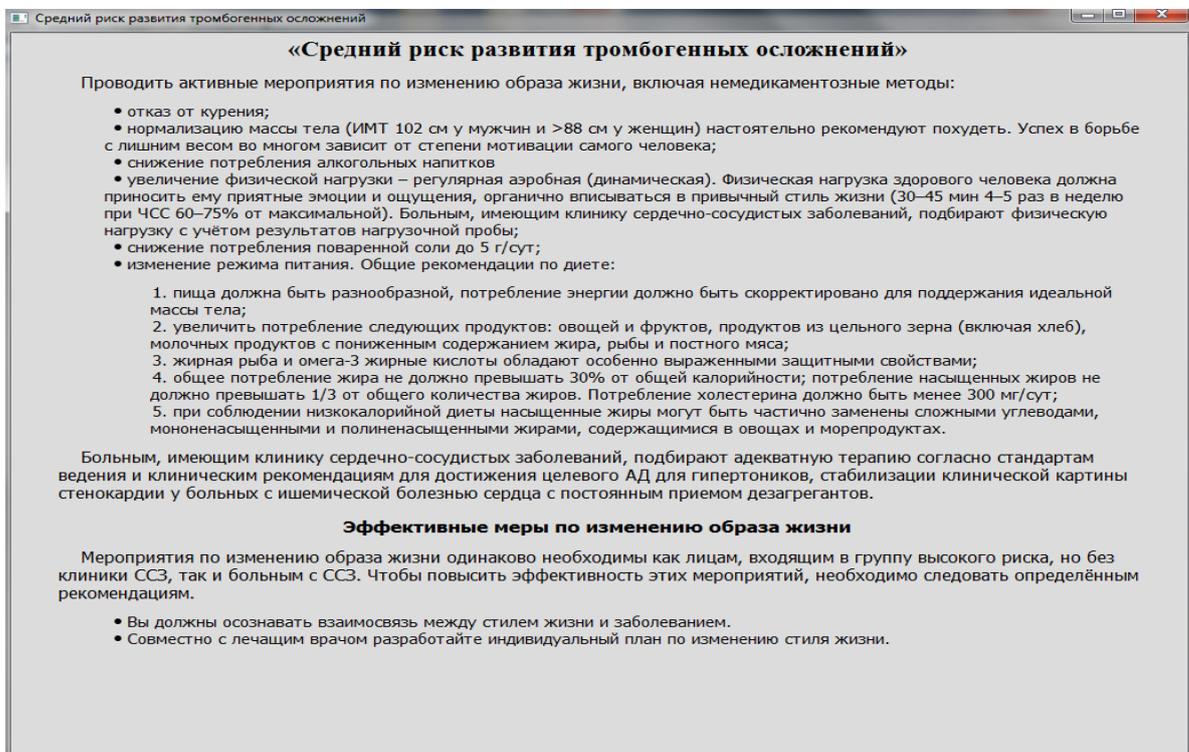


Рисунок.3.5.4. Интерфейс программы при среднем риске развития тромбогенных осложнений с рекомендациями

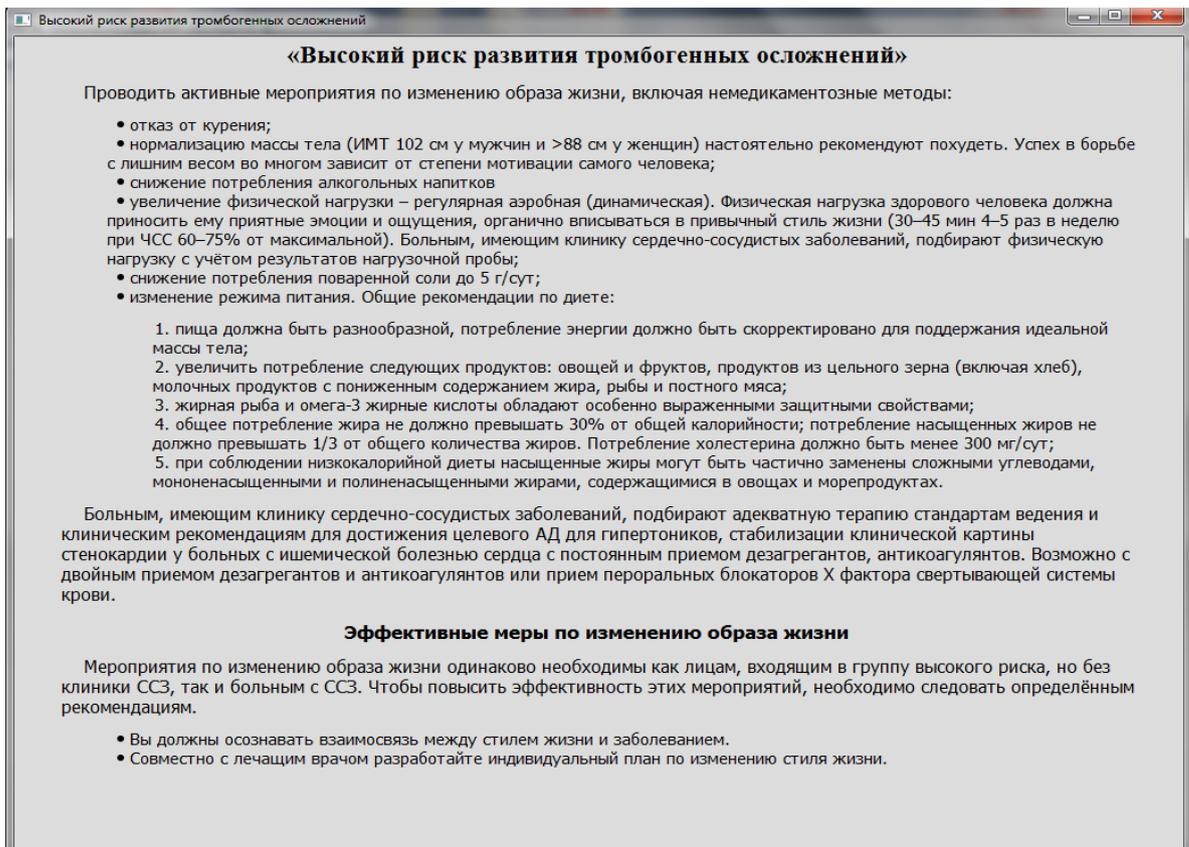


Рисунок.3.5.5. Интерфейс программы при высоком риске развития тромбогенных осложнений с рекомендациями

Больным даются рекомендации мероприятий по изменению образа жизни, которые носят единый характер для всех категорий степени риска. Для больных высокого риска проводится персонализированный подбор антикоагулянтной/антиагрегантной терапии. Пациенты среднего риска берутся под наблюдение по месту жительства в соответствии со стандартами лечения шифра кардиоваскулярной патологии.

Таким образом, для больных с артериальной гипертензией предложены критерии стратификации риска развития тромбогенных осложнений (инфаркта миокарда и острого нарушения мозгового кровообращения) с учетом генотипирования гена MTHFR в виде программы для ЭВМ (табл.3.5.1.). (Получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2019614856 от 15 апреля 2019г., заявка №2019613475). Программа для выявления риска тромбогенных осложнений у больных артериальной гипертензией. / Дегаева Т.А., Гончарова Л.Н.).

Таблица 3.5.1. Шкала расчета «тромбогенных» осложнений у больных с кардиоваскулярной патологией

Показатели	Критерии	OR	Баллы
Возраст (лет)	Менее 40	0,21	0
	41-50	0,67	0
	51-60	0,053	0
	61-70	0,34	0
	71-80	4,41	1
	Более 81	10,0	2
Пол	Муж	1,17	1
	Жен	0,18	0
Национальность	рус	0,15	0
	мор	1,04	1
САД мм рт.ст	менее 120	0,151	0
	120-139	0,251	0
	140-160	2,514	1
	более 160	8,650	4
ДАД мм рт.ст	менее 85	0,236	0
	90-109	0,255	0
	более 110	1,112	1
ХС ммоль/л	менее 5	0,89	0
	5	1,774	0
	6-7	1,913	1
	более 8	9,608	4
Курит	да	1,203	1
	нет	0,119	0
Коагулограмма ПВ	менее 14	1,021	0
	14-18	0,02	0
	более 18	1,23	1
ПО	менее 0,9	0,92	0
	0,9-1,1	0,031	0
	более 1,1	1,18	1
ПИ	менее 80	0,82	0
	80-120	0,01	0
	более 120	1,941	1
АЧТВ	менее 35	0,991	0
	35-46	1,981	0
	более 46	0,741	0
Фибриноген	менее 1,8	0,711	0
	1,8-4,0	0,342	0
	более 4,0	1,923	1
МТНFR 677	СС	0,29	0
	СТ	11	5
	ТТ	211	20
МТНFR 1298	АА	0,71	0
	АС	1,41	1
	СС	4,06	2
МТНFR 677+ МТНFR 1298	ТТ+СС	31,6	22
	ТТ+АС	47,6	21
	СТ+СС	49,8	7
	СТ+АС	40,6	6

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

По данным Всемирной организации здравоохранения в 2017 году смертность от болезней системы кровообращения достигла 17,7 миллиона человек [15]. Первое место (12,2 %) среди всех причин смертности во всем мире занимает коронарная болезнь сердца, второе (9,7 %) - цереброваскулярная патология [186]. Острый инфаркт миокарда и острое нарушение мозгового кровообращения, в основном, развиваются на фоне артериальной гипертензии. Ежегодно в мире причиной смерти 9,4 миллиона человек становится повышенное АД [15]. Распространенность первичной артериальной гипертензии среди взрослого населения многих стран мира, в том числе и в России, составляет 42 % .

Ключевым направлением здравоохранения в настоящее время является своевременное выявление и коррекция факторов риска, приводящих к развитию сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений. Для более эффективного подхода к проблеме профилактической направленности прогнозирования развития кардиоваскулярных осложнений предложены различные шкалы стратификации риска, такие как Фрамингемская шкала определения индивидуального 10-летнего риска инсульта, шкала GRACE оценки риска смерти и развития инфаркта миокарда шкала CHA2DS2VASc оценки риска ишемического инсульта у больных с фибрилляцией предсердий [2,49]. Для больных с артериальной гипертензией используется шкала «Стратификация общего сердечно-сосудистого риска» ESH/ESC 2013, но данная шкала дает общие понятия 10-летнего риска, не учитывая возможно имеющие приобретенные или врожденные нарушения в системе гемостаза. Наиболее прогностически значимая шкала в плане тромботических осложнений является «пятипроцентная шкала оценки риска ишемического риска». Но критерии, входящие в данную шкалу, более значимы для пациентов с фибрилляцией предсердий, хотя и учитывают гиперкоагуляционный синдром. В то же время необходимо учитывать, что

причиной развития острого инфаркта миокарда или острого нарушения мозгового кровообращения, как первично, так и на фоне артериальной гипертонии является наличие у больного атеротромботических процессов в сосудах артериального русла. Повышенная склонность к тромбообразованию у больных с артериальной гипертонией или ИБС, может быть связана с носительством «неблагоприятных» генотипов гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR). Поэтому, в качестве потенциального биомаркера риска развития, а также прогнозирования ближайших и отдаленных исходов (тромбогенных осложнений) у больных АГ активно рассматриваются нарушения в системе гемостаза, и в частности, связанного с метионин-гомоцистеинового обмена – уровнем гомоцистеина [7,89]. Поэтому для предупреждения развития таких жизненноугрожающих состояний, как ИМ и ОНМК, у пациентов с АГ требуется ранняя и своевременная генетическая диагностика, позволяющая выявлять группы риска больных, склонных к повышенному тромбообразованию на основании носительства вариантов генотипов гена MTHFR. Носительство «неблагоприятных» генотипов гена MTHFR можно расценивать, как предиктор развития неблагоприятных исходов.

Отбор больных для настоящего исследования проводился на базе ГБУЗ РМ «Мордовская республиканская клиническая больница» и районной больнице Zubovo-Полянского района Республики Мордовия. Коренное население РМ – мордва, разделенные на две крупные этнические группы - мордва-мокша и мордва-эрзя. Также к коренному населению относятся и жители русской национальности. В основную группу вошли пациенты национальности мордва-мокша, не имеющие в течение пяти поколений смешанных браков.

Было осмотрено 286 больных кардиоваскулярной патологией (АГ, ИМ, ОНМК). Группу контроля составили 100 здоровых людей ($АД \leq 140/90$ мм рт.ст.), относящиеся к национальности русские и мордва-мокша, не имеющие у себя и родственников кардиоваскулярных заболеваний. Каждый

больной помимо стандартного осмотра и сбора анамнеза проходил комплекс исследований, направленный на исключение известных заболеваний, приводящих к развитию симптоматических АГ.

Всем пациентам проводился комплекс стандартных методов исследования и идентификация аллелей полиморфных маркеров методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Были сформированы группы исследования: первая группа состояла из 114 пациентов, имеющих АГ II стадии по классификации ВНОК 2008 г., (АД $\geq 140/90$ мм.рт.ст.) и наблюдаемые в течение 3-х лет за развитием возможных тромбогенных осложнений. Антигипертензивная терапия у больных АГ состояла в 100% из назначения комбинированной терапии.

Вторая группа – это 80 пациентов с ИМ и третья группа - 92 пациента с ОНМК, отобранных в соответствии с вышеуказанными критериями.

Средний возраст больных АГ составил $49,5 \pm 3,4$, (n= 57 мордва-мокша, n= 57 русские). Критерии включения - пациенты с первичной АГ II стадии по классификации ВНОК 2008 г. В данную группу вошло 30 мужчин (26,3%) и 84 женщины (73,7%). Учитывая неоднородность населения, проживающих на территории РМ, то в группу больных АГ вошло 57 больных (50%) русской национальности (15 мужчин и 42 женщины) и 57 больных АГ (50%) национальности мордва-мокша (15 мужчин и 42 женщины).

У больных ИМ средний возраст составил $58,8 \pm 6,4$, критерии включения-пациенты с ИБС острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST (n=40 мордва-мокша, n=40 русские). Средний возраст обследуемых больных с ОНМК составил $59,7 \pm 7,5$ (n= 45 мордва-мокша, n=37 русские), критерии включения - острое нарушение мозгового кровообращения по ишемическому типу.

Все больные, независимо от нозологии сердечно-сосудистой патологии (АГ, ИМ, ОНМК) были сопоставимы по основным показателям свертывающей системы крови.

На основании, что ранее проведенное на территории РМ

скрининговое исследование по носительству полиморфизма гена MTHFR [8,9,105,106] выявило пол - специфичные особенности носительства генотипов гена MTHFR., поэтому в исследование вошли больные русской и мордва-мокша национальности.

По данным литературных источников известно, что распространенность мутантного аллеля 677 С→Т гена MTHFR в мире зависит от географической и этнической вариабельности. Данные, опубликованные в 1995 году Ergbersenet A. et al. и Kang S.S.et al. в 1991, свидетельствуют что, гетерозиготное носительство этого аллеля в популяции достигает 40%, гомозиготного носительства - от 5 до 14% у лиц европейского этноса, при сосудистых заболеваниях цифра варьирует от 17 до 28% [87,122]. Показателен данный аллель тем, что в некоторых популяциях, типа испанцев, встречаемость достигает 55%, а в популяциях африканцев, аборигенов Австралии, Шри-Ланки определяется в 6% [116]. У жителей Евросоюза меньшая частота мутантного аллеля 677 С→Т определяется у скандинавов, а у французов, турков, англичан частота встречаемости данной мутации высока [97,107]. Отмечается значимая тенденция к увеличению от северу к югу частоты встречаемости аллеля 677 С→Т в Евросоюзе.

Другим вариантом полиморфизма гена MTHFR является миссенс-мутация 1298 А→С (Glu429Ala). Снижение активности фермента происходит за счет замены остатка глутамина на остаток аланина в регуляторном домене фермент [81,109,114,145].

Частота патологического аллеля «С» значительно варьируется по всему миру. Канадцы и европейцы (36%), израильтяне (34%), американцы (32%) и португальцы (28,3%) имеют более высокую частоту патологического аллеля по сравнению с китайцами (17%) [178] и африканцами (21%) [108].

Полиморфизм гена MTHFR в позиции 1298 А→С зависит от этнической и расовой принадлежности. Распространенность патологического аллеля С у европейцев составляет около 10% [87,17], у аравитян (9,1%) [116], в то время как у индейцев она колеблется от 3,0% до 17,8% с меняющимся

количеством тяжелых заболеваний ССС [153,162,164]. По информации Gabriel S.B., 2002г. и Трифонова Е.А. 2009г. частота встречаемости гомозиготного носительства у японцев составляет 2%, среди жителей Якутии-6% [48,178].

В исследовании, проведенном в 2009г. [8,9,105,106] на территории Республики Мордовия у больных артериальной гипертонией, где анализировался полиморфизм гена MTHFR в позиции 1298 А→С, было получено, что частота гомозиготного носительства в русской и эрзянской этнических группах составила 4,9-9,5%, а мокшанской популяции выявлена неблагоприятная ситуация по отношению к данной мутации – частота встречаемости генотипа СС достигла 23,1%.

Таким образом, в ходе работы были сформулированы цель в виде разработка алгоритма прогнозирования риска развития тромбогенных осложнений (инфаркта миокарда, острого нарушения мозгового кровообращения) у больных с первичной артериальной гипертензией на основании носительства полиморфизмов гена метилентетрагидрофолатредуктазы.

Для достижения поставленной цели были сформулированы и реализованы несколько задач, позволившие выявить носительство полиморфизма генотипов, проанализировать сочетания «неблагоприятных» генотипов гена MTHFR в 677 С→Т и 1298 А→С у больных с ИМ, ОНМК, а так же оценить прогностическую значимость развития осложнений у больных АГ в зависимости от носительства полиморфного варианта гена MTHFR в 677 С→Т и 1298 А→С.

До проведения клинико-инструментальных и генетических исследований всем больным с АГ было проведено определение степени 10-летнего риска развития осложнений по шкале SCORE и было выявлено, что 50 больных (43,8%) с АГ имели средний 10-летний риск развития осложнений, 36 больных (31,6%) - высокий риск и 28 пациентов с АГ (24,6%) -очень высокий риск.

У больных АГ общей группы (n=114) выявлено преобладание носительства генотипа СТ-88,6% ($p_{ст/тт}=0,00001$) гена MTHFR в позиции 677 С→Т и только для больных АГ было выявлено носительство «неблагоприятного» генотипа ТТ у 4 больных с повышенным уровнем АД (3,5%). У здоровых лиц с нормальным уровнем АД относительно больных «гипертоников» достоверно чаще встречается «благоприятный» генотип СС.

По данным литературных источников, частота встречаемости по носительству гомозиготных генотипов у европейской расы составляет от 4% до 14%, а по гетерозиготным генотипам — около 40% [122]. Дело в том, что по данным проведенных исследований, у больных, носителей генотипа ТТ гена MTHFR в позиции 677 С→Т уровень гомоцистеина в крови на 25% выше, чем у лиц с генотипом СС [179], и это прослеживается независимо от места проживания [175]. Наличие носительства генотипа ТТ гена MTHFR в позиции 677 С→Т выявлено в большей степени у лиц европейской расы по отношению к африканцам и аборигенам Шри-Ланки и Австралии [164], что указывает на зависимость от этнической принадлежности.

Учитывая ссылки на гендерные особенности носительства полиморфизма гена MTHFR, то был проведен анализ частоты встречаемости носительства генотипов гена MTHFR в позиции 677 С→Т у обследованных больных АГ, в зависимости от гендерной принадлежности и уровня АД.

Среди 30 больных АГ мужского пола с АГ у 23 (76,7% $p_{ст/сс,тт}=0,0004$) преобладает носительство промежуточного СТ генотипа гена MTHFR в позиции 677 С→Т. У женщин (n=84) частота носительства данного генотипа составляет (92,8% $p_{ст/тт}=0,0001$, $p_{ст/сс}=0,0007$), т.е. встречается у 78 больных АГ женского пола.

Частота носительства «неблагоприятного» генотипа ТТ гена MTHFR в позиции 677 С→Т встречается у 3 больных мужского пола (10%) и одной больной (1,2%).

Среди волонтеров с нормальным уровнем АД только у лиц женского пола (80%) преобладает носительство промежуточного генотипа гена

МТНFR в позиции 677 С→Т, которое выше чем у мужчин с нормальным уровнем АД (48%) у которых отмечается равномерное носительство гомозиготного (52%) и гетерозиготного генотипа гена МТНFR в позиции 677 С→Т. У здоровых волонтеров не выявлено носителей генотипа ТТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т. Многие литературные источники указывают на зависимость от этнической принадлежности преобладание того или иного генотипа, в частности носительство генотипа ТТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т выявлено в большей степени у лиц европейской расы по отношению к чернокожим [70,87]. Поэтому был проведен анализ носительства генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т в зависимости от национальной принадлежности больных. У больных с АГ и здоровых лиц, как представителей русской, так и представителей мордва-мокша (русские/мокша $p_{cc/tt}=0,00001$, $p_{ct/tt}=0,00001$) преобладают носители промежуточного генотипа СТ, но частота встречаемости генотипа ТТ встречается чаще у больных АГ мордва-мокша (5,1%) по сравнению с больными АГ русской национальности (1,9%).

В проведенных ранее скрининг-исследованиях в Республике Мордовия [8,9,105,106] было выявлено пол-специфичное носительство генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т у больных АГ. В данном исследовании все больные АГ и здоровые лица для выявления распределения генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т были рассмотрены в зависимости от пола и национальной принадлежности. Анализ полиморфизма гена МТНFR в позиции 677 С→Т в зависимости не только от пола больных, но и национальной принадлежности выявил, что среди больных АГ мордва-мокша, как у мужчин (67%) так и женщин (90%) преобладает носительство промежуточного генотипа СТ. Генотип ТТ, гена МТНFR в позиции 677 С→Т, характеризующейся как «неблагоприятный» у больных АГ мордва-мокша встречается только у лиц мужского пола (10%). У женщин АГ мордва-мокша носительство генотипа ТТ не выявлено. У больных АГ русской национальности также отмечается преобладание носительства генотипа СТ независимо от принадлежности к полу (мужчин - 87%, женщин 95%). Но в

отличие от носительства генотипа ТТ у больных мордовской национальности (мордва-мокша), который проявился только у лиц мужского пола, у больных АГ русской национальности генотип ТТ встречается только у женщин (1,2%).

При анализе распределения носительства генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т у здоровых лиц, независимо от национальности и пола выявлено отсутствие носительства генотипа ТТ.

Были также изучены гемодинамические, эхокардиографические показатели и показатели коагулограмм у больных АГ относительно носительства генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т. Достоверных отличий по показателям липидного спектра, коагулограмм и данных Эхо-КГ исследования – не выявлено.

Также был проведен анализ встречаемости носительства генотипов гена МТНFR в позиции 1298 А→С у больных АГ и обследованных волонтеров. Выявлено, что независимо от уровня АД, у больных АГ и здоровых лиц с нормальным уровнем АД преобладает носительство промежуточного генотипа АС. Носительство гомозиготного генотипа СС, относящегося к «неблагоприятным» встречается только у больных с АГ

Преобладание носительства промежуточного генотипа у больных АГ и здоровых лиц, независимо от гендерной принадлежности, встречается как у мужчин 63% ($p_{aa/ac}=0,0001$, $p_{ac/cc}=0,02$), так и у женщин 62,6% ($p_{aa/ac}=0,0001$, $p_{ac/cc}=0,01$), но частота носительства генотипа СС в 2,8 раз встречается чаще у мужчин с АГ (30%) относительно больных АГ женского пола (11%). Также подобные результаты были получены и при изучении встречаемости полиморфизма гена МТНFR в позиции 1298 А→С относительно национальной принадлежности. У больных АГ русской национальности частота носительства промежуточного генотипа составляет 71% ($p_{aa/ac}=0,0001$, $p_{ac/cc}=0,02$), у больных АГ мордва-мокша - 60,3% ($p_{aa/ac}=0,0001$, $p_{ac/cc}=0,0001$). Но больные национальности мордва-мокша имеют более частое носительство генотипа СС (31,1%), относительно

больных АГ русской национальности (16%). У волонтеров с нормальным уровнем АД гомозиготный генотип СС гена МТНFR в позиции 1298 А→С не встречается ни у русских, ни в группе мордва-мокша.

Также у больных с АГ был проведен сравнительный анализ показателей коагулограмм, биохимических параметров, липидного спектра и данных Эхо-КГ в зависимости от носительства генотипов гена МТНFR в позиции 1298 А→С определенной зависимости данных параметров не выявлено.

Таким образом, у больных АГ независимо от гендерной и национальной принадлежности выявлено преобладание носительства промежуточного генотипа СТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т и генотипа АС гена МТНFR в позиции 1298 А→С. Носительство генотипа ТТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т было выявлено у троих больных АГ мужского пола мордва-мокша. Носительство генотипа СС гена МТНFR в позиции 1298 А→С характерно для больных русской национальности и мордва-мокша, но относительно принадлежности больных к полу, более частая встречаемость выявлена у больных АГ мужского пола.

Так же, в общей группе больных с АГ был проведен анализ встречаемости носительства основных комбинаций генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т и в позиции 1298 А→С, относящихся к «неблагоприятным»: ТТ/СС, ТТ/АС, СТ/АС.

Комбинации «неблагоприятных» генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т и в позиции 1298 А→С выявлены у 77 пациентов (67,5%): комбинация ТТ/СС выявлена у 1 больного АГ мужского пола национальности мордва-мокша; комбинация ТТ/АС встречалась у 2 пациентов также национальности мордва-мокша мужского пола; одна больная русской национальности имела комбинацию ТТ/АА; комбинацию СТ/АС имели 73 пациента АГ (94,8%) из всех больных имеющих сочетание «неблагоприятных» генотипов. Остальные больные АГ имели комбинации СС (677 С→Т)/АС или СС(677 С→Т)/АА, считающиеся благоприятными.

Изучение носительства полиморфизма гена MTHFR в позиции 677 С→Т и в позиции 1298 А→С у больных АГ проводилось с целью дальнейшего наблюдения за развитием возможных тромбогенных осложнений, таких как ИМ и ОНМК, основанной на современной стратегии поиска генетических факторов риска развития осложнений АГ, указывающей на необходимость проведения не только анализа аллельных вариантов генов, но и анализа их взаимного влияния на увеличение риска развития данных фатальных осложнений.

За время трех летнего наблюдения у 14 пациентов с АГ (12,3%) произошло развитие ИМ или ОНМК. ИМ развился у 10 пациентов АГ (4 пациентов мужского пола и 6 пациентов женского пола). ОНМК произошло у 4 больных АГ (одного мужчины и 3-х женщин).

В группе больных с АГ, получивших осложнения 8 пациентов (7,0%) были национальности мордва-мокша и 6 больных (5,3 %) русской национальности.

Среди 8 пациентов АГ национальности мордва-мокша - у одного пациента, носителя комбинации СТ/АС, произошло ОНМК. У семерых пациентов развился ИМ: у 3-их больных мужского пола и 4-х больных женского пола. Все женщины национальности мордва-мокша имели носительство комбинаций СТ/АС. Среди больных мужчин АГ мордва-мокша, один больной имел носительство комбинации ТТ/СС, а двое других –ТТ/АС.

У больного АГ национальности мордва-мокша, носителя комбинации ТТ/СС имеется отягощенная наследственность в виде родственников первой линии, имеющих в анамнезе инфаркт миокарда и острое нарушение мозгового кровообращения, а так же регистрировалось повышенное АД в течение 5 лет.

У 6-х больных русской национальности трое больных получили осложнение в виде развития ОНМК, это больные женского пола, носители СТ/АС комбинации генотипов. ИМ развился у одного больного АД мужского пола и двоих больных АГ женского пола. Все больные АГ русской

национальности, получившие осложнение в виде ИМ, являлись носителями комбинации СТ/АС гена МТНFR.

Таким образом, из всех больных АГ (n=77) носителей «неблагоприятных» генотипов 14 пациентов получили осложнения (18,2%). Пациенты (n=4) носители «неблагоприятного» генотипа ТТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т в сочетании с генотипами гена МТНFR в позиции 1298 А→С (ТТ/СС, ТТ/АС, ТТ/АА), независимо от национальной и гендерной принадлежности, получили тромбогенные осложнения (ИМ, ОНМК) за время трехлетнего наблюдения.

Для решения практической задачи – возможности предупреждения развития тромбогенных осложнений (ИМ и ОНМК) у больных с сердечно-сосудистой патологией и в частности с АГ, необходимо ввести в алгоритм диагностики данной категории больных дополнительные методы обследования, позволяющие прогнозировать течение заболевания и возможность предупреждения развития осложнений с разработкой персонализированного подхода к медикаментозной вторичной профилактике. Для этого необходимо выявить дополнительные ранние маркеры развития тромбогенных осложнений у больных с АГ, являющиеся факторами риска и своеобразным фоном для развития сердечно-сосудистых осложнений. В генезе основных сердечно-сосудистых осложнений на фоне АГ кроме влияния повышенного АД, имеется влияние на изменения реологических свойств крови в виде повышенной склонности к тромбообразованию.

В практическом здравоохранении разработаны и внедрены протоколы обследования больных с определенными нозологиями сердечно-сосудистой системы. Но, с учетом технического прогресса, многие исследования, которые были ранее недостижимы, в настоящее время приобретают стандартное значение и в частности, генотипирование. Одним из механизмов развития ИМ или ОНМК является образование тромба и из генов системы гемостаза, ген МТНFR относится к генам, влияющих на повышенное тромбообразование.

Как было представлено ранее, целью работы практического здравоохранения является профилактика развития сердечно-сосудистых заболеваний и тем более развитие их осложнений. Предложенные шкалы стратификации риска у больных АГ не всегда могут достаточно точно спрогнозировать развитие осложнений, связанных с повышенным тромбообразованием. Так, например, у больных АГ мордва-мокша, получившие осложнения в виде ИМ или ОНМК по шкале SCORE один больной (12,5%) имел до развития осложнений очень высокий риск, трое больных АГ (37,5%) имели - высокий риск и четверо больных (50%) - низкий риск.

Поэтому, для улучшения имеющихся алгоритмов по прогнозированию тромбогенных осложнений была проведена оценка вероятности риска осложнений в зависимости от полиморфизма гена МТНFR у больных с АГ.

Для оценки влияния на повышенную склонность к тромбообразованию и возможного вероятного влияния на развитие тромбогенных осложнений у больных с АГ был проведен анализ χ^2 с вычислением отношения шансов, указывающий на вероятный повышенный риск развития кардиоваскулярных осложнений. Больные с АГ, носители промежуточного генотипа СТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т и имеют OR равный 4,05 (ДИ =1,87 – 8,79) при $\chi^2 =14,73$ и $p=0,0006$, что указывает на повышенный риск возможности развития осложнений, связанных с повышенным тромбообразованием – ИМ или ОНМК. При анализе склонности к данным осложнениям относительно национальной принадлежности больных с АГ было выявлено, что для больных мордва-мокша, носителей генотипа СТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т OR равен 14,4 (ДИ = 3,71 – 56,19) при $\chi^2 =6,35$ и $p=0,01$, подтверждающим OR= 8,67 (ДИ =1,39 – 53,85) при $\chi^2=6,33$ и $p=0,04$ для мужчин АГ и OR= 13,00 (ДИ =1,32 – 127,72) при $\chi^2=10,36$ и $p=0,006$ для женщин АГ национальности мордва-мокша.

У больных АГ, носителей «неблагоприятного» генотипа ТТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т риск развития тромбогенных осложнений по

данным статистической обработки равен 211 при $\chi^2=25.17$ (ДИ =1,39 – 53,85)

При оценке распределения полиморфных вариантов гена MTHFR в позиции 1298 A→C для выявления склонности к развитию осложнений, связанных с повышенным тромбообразованием, также проведен расчет отношения шансов и было выявлено, что только для лиц национальности мордва-мокша, носителей «неблагоприятного» генотипа CC имеется повышенный риск развития сердечно-сосудистых осложнений, где OR = 9,43 (ДИ =1,10 – 81,01) при $\chi^2=4,87$ и $p=0,03$ за счет больных мужского пола данной национальности, где OR = 10,57 (ДИ =0,51 – 217,76) при $\chi^2=5,89$ и $p=0,02$.

С учетом развития сердечно-сосудистых осложнений у больных АГ в течение трех лет и расчета отношения шансов - риск возможного развития тромботических осложнений у больных АГ, носителей генотипа СТ гена MTHFR в позиции 677 C→T национальности мордва-мокша в 3,5 раза выше, чем у носителей данного генотипа больных русской национальности. Риск развития тромботических осложнений для носителей генотипа ТТ гена MTHFR в позиции 677 C→T составляет 211. Риск развития осложнений у больных АГ, носителей генотипа CC гена MTHFR в позиции 1298 A→C выявлен только для больных мужского пола национальности мордва-мокша, где OR=0,57.

Вторым аспектом данной работы явилось изучение частоты носительства вариантов генотипов гена MTHFR 677 C→T и 1298 A→C в группе больных, имеющих ИМ в анамнезе. Результаты исследования Springer-Verlag London, 2013 год показали, что мутации гена MTHFR 677 C→T и 1298 A→C и гипергомоцистеинемия способствовали риску развития ИМ у молодых тунисских пациентов [178].

В нашем исследовании у больных инфарктом миокарда выявилось значительное увеличение встречаемости патологического генотипа ТТ (41%), что практически совпадало с гетерозиготным носительством. Однако, данная цифра во многом складывается за счет преобладания «неблагоприятного»

гомозиготного по аллелю 677 С→Т генотипа у больных мордва-мокша (47,5%) относительно русских больных ИМ (37,5%).

При сравнении с данными распределения генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т у больных с ИМ и здоровых лиц выявлено достоверное отличие в плане носительства генотипа ТТ. Только больные с ИМ независимо от пола и национальности имеют носительство «неблагоприятного» генотипа ТТ.

При расчете OR относительно носительства генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т у больных с ИМ выявлено, что носители генотипа ТТ имеют OR= 13,55 (ДИ=3,91 – 47,0 при $p=0,0002$), как за счет мужчин с ИМ национальности мордва-мокша (OR=9,45 при ДИ=1,94 – 46,07 при $p=0,003$), так и мужчин русской национальности, где OR=7,69 (ДИ=1,57 – 37,76 при $p=0,006$), что указывает на высокий риск склонности к повышенному тромбообразованию.

Также высокий риск к развитию тромбогенных осложнений выявлен у женщин с ИМ мордва-мокша, носителей ТТ генотипа, где OR=17,48 (ДИ=0,91–335,47 $p=0,03$). У женщин с ИМ русской национальности, носителей ТТ генотипа выявлен риск склонности к повышенному тромбообразованию в меньшей степени, OR=5,69 (ДИ=0,28 – 117,33, $p=0,005$).

У больных с ИМ при изучении встречаемости носительства генотипов гена МТНFR в позиции 1298 А→С выявлено равномерное распределение носительства промежуточного генотипа АС (49%) и генотипа СС (45%) ($p_{АС/СС}=1,0$) по сравнению с носителями генотипа «благоприятного» генотипа.

Такая же ситуация, с преобладанием встречаемости промежуточного генотипа АС и генотипа СС гена МТНFR в позиции 1298 А→С, сложилась при изучении распределения генотипов данного гена по национальной принадлежности у больных с ИМ

Распределение генотипов гена MTHFR в позиции 1298 A→C у больных с ИМ в зависимости от пола и национальной принадлежности показал равномерное преобладание промежуточного генотипа AC и генотипа CC у женщин и мужчин с ИМ русской национальности и женщин мордва-мокша. У мужчин мордва-мокша с ИМ достоверно чаще встречался генотип AC.

При проведении расчета отношения шансов, для выявления степени риска развития ИМ у больных в зависимости от пола, национальной принадлежности и носительства вариантов генотипов гена MTHFR в позиции 1298 A→C было выявлено, что при наличии генотипа CC показатель OR равен 23,73 (ДИ=5,42 – 103,90 при $p=0,0000001$). В то же время высокий показатель отношения шансов характерен как для больных с ИМ мужского пола (OR=12,83 ДИ=1,56 – 105,82 при $p=0,01$) за счет мужчин русской национальности (OR=12,60 ДИ=1,37 – 115,98 при $p=0,01$), так и за счет женщин мордва-мокша (OR=18,70 ДИ=2,28 – 153,59 при $p=0,0038$).

У больных с ИМ выявлено, что сочетание генотипов, относящихся к неблагоприятным, встречается у 85,0% пациентов (41,2 % у больных с ИМ мордва-мокша $n=33$ и 43,8% пациентов с ИМ русской национальности $n=35$). Сочетание генотипов TT гена MTHFR в позициях 677 C→T и CC 1298 A→C выявлено у 17,5%, сочетание TT и AC в 23,7% случаев, сочетание CT и CC у 22,5% больных с ИМ и сочетание CT и AC встречается у 21,3% пациентов с ИМ.

Таким образом, было выявлено, что больные, имеющие ИМ в анамнезе, независимо от пола, национальной принадлежности в отличие от здоровых лиц, имеют носительство «неблагоприятного» генотипа TT гена MTHFR в позициях 677 C→T (41%), а так же в 85,2% случаев имеют носительство сочетания двух генотипов гена MTHFR в позициях 677 C→T и CC 1298 A→C, относящихся к неблагоприятным (гетерозиготные и гомозиготные TT и CC), что указывает на подбор лекарственной терапии в плане воздействия на факторы свертывающейся системы крови.

Острое нарушение мозгового кровообращения - достаточно серьезная

проблема для практического здравоохранения. В течение первого месяца от момента ОНМК уходят из жизни до 40% больных. Одна треть заболевающих инсультом - люди трудоспособного возраста, но к труду возвращаются лишь 20% лиц, перенесших ОНМК. Даже в наш век высоких технологий в 8-15% случаев не удается раскрыть основную причину возникновения инсульта, а в некоторых случаях эта цифра достигает 20-40% [14,21]. Чаще всего в таких случаях есть основание исследовать генетические факторы, которые детерминируют особенности гемостаза, состояние эндотелиальной системы и некоторые другие ключевые параметры гемоциркуляции.

Противоречивые данные были получены о встречаемости генотипов гена MTHFR в позициях 677 С→Т и СС 1298 А→С, так в исследовании, проведенном в 2014г. Кимельфельд Е.И. под руководством Скворцовой В.И., не выявили влияния полиморфизма гена MTHFR 677 С→Т на риск развития ишемического инсульта у больных до 50 лет [45].

В группе больных с ОНМК выявлено носительство «неблагоприятного» генотипа ТТ гена MTHFR в позициях 677 С→Т в 41,3% случаев в отличие от волонтеров группы контроля, где данный генотип выявлен не был. 52,2% больных с перенесенным ОНМК являются носителями гетерозиготного генотипа СТ. Относительно гендерной принадлежности, у больных мужского пола с ОНМК, выявлено преобладание носительства генотипа ТТ (51%) и генотипа СТ (47%) по сравнению с генотипом СС (2%) ($p_{cc/st/тт}=0,0001$). У женщин с ОНМК достоверно преобладает генотип СТ - 57% ($p_{ст/сс}=0,00001$, $p_{ст/тт}=0,005$) относительно пациентов, носителей генотипов СС (10%) и ТТ (33%). У больных русской национальности выявлено достоверное преобладание носительства промежуточного генотипа СТ по сравнению с частотой встречаемости генотипов СС и ТТ, а у больных мордва-мокша преобладание генотипа ТТ. Частота встречаемости «неблагоприятного» генотипа ТТ у больных с ОНМК русской национальности (31%) и мордва-мокша (53%) достоверно преобладает над частотой генотипа СС (9% и 4% соответственно).

Носительство генотипа ТТ у больных с ОНМК мордва-мокша встречается чаще (53%), чем у больных русской национальности (31% $p=0,003$). Риск развития ОНМК у больных национальности мордва-мокша по критериям отношение шансов составляет $OR= 21,71$ (ДИ= 2,67 – 176,34, $p =0,0008$), а для больных русской национальности $OR= 5,67$ (ДИ= 1,13 –28,46 $p = 0,002$). У мужчин с ОНМК русской национальности выявлено отсутствие генотипа СС и равномерное распределение генотипов СТ (57,2%) и ТТ (42,8%). У мужчин с ОНМК мордва-мокша встречаемость генотипа ТТ (59%) по сравнению с частотой генотипа СТ (36,5%), не достигало критерия достоверности. В то же время у женщин мордва-мокша с ОНМК выявлена достоверно более частая встречаемость генотипа ТТ (48%) по сравнению с частотой встречаемости генотипов СТ (39%) и СС (13%). Распределение генотипов гена МТНFR в позиции 677 С→Т у женщин с ОНМК русской национальности выявило достоверно частую встречаемость промежуточного генотипа СТ (73%). Частота носительства генотипа ТТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т у женщин с ОНМК мордва-мокша достоверно чаще встречается, чем у женщин с ОНМК русской национальности. У мужчин мордва-мокша носительство генотипа ТТ встречается чаще, чем у мужчин с ОНМК русской национальности.

Учитывая генез ишемического инсульта, связанного с образованием тромба и возможную роль в этом процессе гена МТНFR в позиции 677 С→Т, то было проведено вычисление отношения шансов у больных с ОНМК. В общей группе больных с ОНМК, носителей генотипа ТТ показатель $OR= 13,55$ (ДИ= 3.91 – 47.00, $p = 0,0004$). При вычислении отношения шансов относительно принадлежности больных с ОНМК к мордва-мокша или русской национальности были получены более значимые значения для больных мордва-мокша, где $OR= 21,71$ (ДИ= 2,67 – 176,34, $p = 0,0008$), чем для больных русской национальности, где $OR= 5,67$ (ДИ=1,13–28,46 $p=0,002$). При сравнительном анализе показателей отношения шансов выявлено, что носительство генотипа АС гена МТНFR в позиции 677 С→Т

имеет риск повышенного тромбообразования для больных с ОНМК русской национальности мужского пола $OR=13,00$ (ДИ= 1,39 –121,38 $p=0,001$), для больных женского пола мордва-мокша $OR=21,16$ (ДИ= 1,12 – 40,16 $p=0,02$).

При проведении анализа носительства генотипов гена MTHFR в позиции 1298 A→ у больных с ОНМК выявлено преобладание встречаемости гетерозиготного генотипа AC (54%) по сравнению с пациентами, носителями генотипа CC (38%). В данной группе обследования с ОНМК отмечена более частая встречаемость «неблагоприятного» генотипа CC по сравнению с числом носителей «благоприятного» генотипа AA (8%) ($p_{aa/cc}=0,0001$).

У мужчин с ОНМК, как и у женщин, частота встречаемости гетерозиготных AC генотипов гена MTHFR в позиции 1298 A→C превалирует относительно генотипов AA и CC. Но у женщин CC генотип встречается чаще (47,5% $p_{aa/cc}=0,001$), чем у мужчин (32,5% $p_{aa/cc}=0,01$). У больных с ОНМК русской национальности генотип AA гена MTHFR в позиции 1298 A→C встречался в 3% случаев, генотип AC в 54% и генотип CC – в 43%. У больных с ОНМК национальности мордва-мокша частота встречаемости генотипов распределялась следующим образом: генотип AA - 11%, генотип AC -51% и генотип CC -38%. Таким образом, независимо от пола и национальности в общей группе больных с ОНМК преобладает носительство промежуточных генотипов гена MTHFR в позиции 1298 A→C. У больных с ОНМК русской национальности и мордва-мокша, независимо от пола, отмечается преобладание носительство генотипа AC, хотя и не достигает критерия достоверности к встречаемости генотипа CC.

Для выяснения возможности влияния носительства генотипов гена MTHFR в позиции 1298 A→C у больных с ОНМК, как фактора риска в развитии повышенного тромбообразования, был проведен расчет отношения шансов в данной группе обследованных больных. Риск развития ишемического инсульта, связанного с развитием тромба составляет в общей группе больных, носителей генотипа CC $OR=19,33$ (ДИ=14,41–84,84 $p=0,0001$), наиболее выраженный для больных женского пола, где $OR=15,38$

(ДИ 1,86-126,88 при $p=0,003$), а для больных мужского пола составляет $OR=10,59$ (ДИ 1,28-8,41 при $p=0,03$).

Значение риска развития ОНМК более характерно для больных мордва-мокша $OR=13,06$ (ДИ 0,68- 25,68 при $p=0,04$), чем для больных с ОНМК русской национальности $OR=3,75$ (ДИ 1,06-13,29 при $p=0,04$). Для женщин с ОНМК русской национальности $OR=11,28$ (ДИ 1,17- 108,41 при $p=0,007$), а для женщин с ОНМК мордва-мокша $OR=10,00$ (ДИ 1,11- 89,77 при $p=0,02$). Для мужчин с ОНМК русской национальности рассчитанный риск при носительстве генотипа CC гена $MTHFR$ в позиции 1298 $A \rightarrow C$ $OR=7,64$ (ДИ 0,80- 73,15 при $p=0,04$), а для мужчин с ОНМК мордва-мокша национальной $OR=13,06$ (ДИ 0,68- 250,68 при $p=0,04$).

Частота встречаемости комбинаций генотипов гена $MTHFR$ в позициях 677 $C \rightarrow T$ и 1298 $A \rightarrow C$, относящихся к «неблагоприятным» у больных с ОНМК составляет 73,9% ($n=68$). У больных русской национальности частота комбинаций генотипов данного гена встречается в 34,8% случаев, у больных с ОНМК национальной мордва-мокша—39,1%. Сочетание генотипов $MTHFR$ в позиции 677 $C \rightarrow T$ и 1298 $A \rightarrow C$, у больных с ОНМК распределилось следующим образом: TT/CC -14,1%, TT/AC - 23,9%, CT/CC - 16,3%, CT/AC -19,5%.

Для решения поставленной задачи – создание алгоритма риска развития тромбогенных осложнений, основанной на прогнозировании развития тромбогенных осложнений для больных первичной АГ, были выявлены основные факторы с определением отношения риска- вклада в развитие ИМ и ОНМК. Для построения программы для ЭВМ учитывались анализируемые параметры в виде возраста, пола, национальности, САД, ДАД, ХС, курение, показатели коагулограммы (ПВ, ПО, ПИ, АЧТВ, фибриноген), полиморфизмы гена $MTHFR$ в позиции 677 $C \rightarrow T$ и 1298 $A \rightarrow C$, а так же их комбинации. За единицу измерения степени риска брался набор баллов, рассчитанный в зависимости от показателя отношения шансов.

Возрастные категории больных были разделены на 6 категорий с

определением степени риска участия в развитии осложнений у больных с АГ: менее 40 лет- OR=0,21 (ДИ 0,02-0,320); 41-50 лет - OR=0,67 (ДИ 0,091-4,143); 51-60 лет – OR=0,053 (ДИ 0,007-0,377); 61-70 лет OR=0,34 (ДИ 0,161-0,711); 71-80 лет OR=4,41 (ДИ 2,596-7,653); более 80 лет OR=10,0 (ДИ 6,071-15,057).

Гендерные характеристики прописывались в зависимости от пола: для больных АГ мужского пола OR=1,17 (ДИ 2,242-7,495), для больных АГ женского пола OR=0,18 (ДИ 0,133-0,446). Учитывались такие факторы риска, как курение, где в данной работе выявлено для больных АГ курящих/бросивших OR=1,203 (ДИ 0,668-2,166); для больных кто не курит и не курил OR=0,119 (ДИ 0,031-0,452).

Учитывая выявленные этногенетические особенности носительства генотипов гена MTHFR в позиции 677 C→T и 1298 A→C, были выделены две группы национальности больных, где для больных русской национальности OR=0,15 (ДИ 0,123-0,456), а для национальности мордва-мокша OR=1,04 (ДИ 0,611-2,086).

Уровни АД были разделены по градациям - для САД: менее 120 мм рт.ст. OR=0,151 (ДИ 0,037-0,613); 120-139 мм рт.ст. OR=0,251 (ДИ 0,092-0,687); 140-160 мм рт.ст. OR=2,514 (ДИ 0,643-4,562) ; более 160 мм рт.ст. OR=2,961 (ДИ 0,826-7,572). Для ДАД: менее 85 мм рт.ст. OR=0,236 (ДИ 0,075-0,745); 90-109 мм рт.ст. OR=0,255 (ДИ 0,063-1,027); более 110 мм рт.ст. OR=1,112 (ДИ 0,629-1,966).

Значения для показателя ХС также были разделены на категории с учетом отношения шансов: менее 5 ммоль/л OR=0,89 (ДИ 0,356-2,221); 5 ммоль/л OR=1,774 (ДИ 0,820-3,839); 6-7 ммоль/л OR=1,913 (ДИ 1,081-3,383); более 8 ммоль/л OR=2,271 (ДИ 1,296-4,453).

Показатели коагулограммы были разделены в зависимости от данных значений: ПВ менее 14 сек OR=1,021 (ДИ 0,09 – 0,50); 14-18 сек OR=0,02 (ДИ 0,007-0,377); более 18 сек OR=1,23 (ДИ 0,597-2,510);

ПО менее 0,9 OR=0,92 (ДИ 0,14 – 3,08); 0,9-1 OR=0,031 (ДИ 0,071-0,765); более 1,1 OR=1,18 (ДИ 0,643-3,560);

ПИ менее 80 % OR=0,82 (ДИ 0,01-2,62); 80-120% OR=0,02 (ДИ 0,09-6,65); более 120% OR=1,941 (ДИ 0,63-42,49);

АЧТВ менее 35 сек OR=0,991 (ДИ 0,21-3,762); 35-46 сек= OR=1,981 (ДИ 0,032-6,55); более 46 сек OR=0,741 (ДИ 0,43-12,43);

Фибриноген менее 1,8 г/л OR=0,711 (ДИ 0,23-1,162); 1,8-4,0 г/л OR=0,342 (ДИ 0,02-7,34); более 4,0 г/л OR=1,923 (ДИ 0,13-9,43).

Учитывая выявленные степени риска для носителей генотипов MTHFR в позиции 677 С→Т, прописаны баллы с учетом отношения шансов, где для носителей генотипа СС гена MTHFR в позиции 677 С→Т OR=0,29 (ДИ 0,255-0,890); носителей генотипа СТ гена MTHFR в позиции 677 С→Т OR=11 (ДИ 3,011-14,321) и для носителей «неблагоприятного» генотипа ТТ OR=211 (ДИ 10,30-4320,91). Для показателей MTHFR в позиции 1298 А→С выделялись категории: для носителей генотипа АА OR=0,71 (ДИ 0,35-1,45); генотипа АС OR=1,41 (ДИ 0,46-1,74) и для генотипа СС OR= 4,06 (ДИ 0,89-18,50).

Так же в алгоритм стратификации риска развития тромбогенных осложнений вошли комбинации гетерозиготных и «неблагоприятных» генотипов с учетом выявления их роли и частоты встречаемости у больных с ИМ и ОНМК. Все показатели для каждого пациента вводятся в программе в соответствующие окна, далее программа суммирует баллы, которые соответствуют категориям риска развития тромбогенных осложнений:

От 0 до 8 – низкий риск. От 9 до 22 – средний риск и выше 23 –высокий риск.

Получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2019614856 от 15 апреля 2019г., заявка №2019613475 . Программа для выявления риска тромбогенных осложнений у больных артериальной гипертонией. / Дегаева Т.А., Гончарова Л.Н.

Выводы:

1. У больных первичной артериальной гипертонией при проведении трехлетнего наблюдения выявлено в 12,3% случаев развитие кардиоваскулярных осложнений (8,7% развитие инфаркта миокарда и 3,5% острого нарушения мозгового кровообращения), которые встречались в 1,4 раза чаще у больных национальности мордва-мокша, по сравнению с больными русской национальности. У больных артериальной гипертонией, носителей генотипа ТТ гена МТНFR в позиции 677 С→Т риск развития тромбогенных осложнений составил 211 (ДИ 10,30- 4320,91).

2. У пациентов с инфарктом миокарда независимо от пола и национальности выявлено доминирующее носительство неблагоприятных и промежуточных генотипов гена МТНFR. Частота неблагоприятных комбинаций генотипов гена МТНFR в позициях 677 С→Т и 1298 А→С встречается в 85,0 % случаев (43,8% - больных русской национальности, 41,2% -больных мордва-мокша).

3. У больных в группе с острым нарушением мозгового кровообращения частота сочетания генотипов гена МТНFR в позициях 677 С→Т и 1298 А→С, относящихся к «неблагоприятным» встречается в 73,9% случаев (39,1% у больных мордва-мокша, 34,8% -больных русской национальности).

4. Для больных с первичной артериальной гипертонией разработан алгоритм прогнозирования риска развития тромбогенных осложнений (инфаркта миокарда, острого нарушения мозгового кровообращения) с учетом генотипирования гена МТНFR (выдано Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2019614856).

Практические рекомендации:

1. Рассмотреть вопрос о внесении в протокол обследования больных первичной артериальной гипертензией генотипирование гена метилентерагидрофолатредуктазы для выявления генотипов СТ и ТТ в позиции 677 С→Т, генотипов АС и СС в позиции 1298 А→С для анализа их комбинаций.

2. У больных ишемической болезнью сердца с высоким и очень высоким риском рекомендовать проведение генотипирования гена метилентерагидрофолатредуктазы в позиции 677 С→Т и 1298 А→С для разработки персонализированного подхода к медикаментозной тактике лечения.

3. Внедрить в работу врачей терапевтического профиля алгоритм прогнозирования риска развития тромбогенных осложнений у больных с первичной артериальной гипертензией и больных с ишемической болезнью сердца на основе генотипирования гена метилентерагидрофолатредуктазы.

4. Рекомендовать проведение генотипирования гена метилентерагидрофолатредуктазы в группе риска населения, имеющих родственников первой линии с сердечно-сосудистой патологией.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Дальнейшие исследования в данной области призваны продолжить изучение встречаемости носительства полиморфизма генотипов гена метилентерагидрофолатредуктазы у больных с другими нозологиями сосудистой системы, а так же способствовать разработке и созданию стандартов лечения больных с сердечно-сосудистой патологией при носительстве «неблагоприятных» генотипов или их сочетания гена метилентерагидрофолатредуктазы.

Внедрение программы для ЭВМ в практическое здравоохранение Республики Мордовия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Астракова (Бенимецкая) К.С., Шахтшнейдер Е.В., Иваношук Д.Е., Орлов П.С., Рагино Ю.И., Воевода М.И. // Атеросклероз. 2016. Т. 12. № 2. С. 18–24.
2. Алгоритмы и шкалы риска тромбоза и кровотечения в кардиологии и неврологии: Пособие / Под.ред. Л. И. Бурячковская, Н. В. Ломакин, А. Б. Сумароков, Е. А. Широков. – 2018. с. 8-102.
3. Батюшин, М.М. Прогнозирование течения хронической сердечной недостаточности, осложнившейся развитием почечной дисфункции [Текст] /М.М. Батюшин, Н.С. Врублевская, В.П. Терентьев //Клиническая нефрология. - 2011. - №5. - С. 41-44.
4. Березикова, Е.Н. Клинико-генетические и нейрогормональные механизмы развития ишемического ремоделирования, апоптоза миокарда и сердечной недостаточности: инновационная стратегия персонализированной диагностики-ки, профилактики, лечения: дис..... докт. мед. наук: 14.01.05 / Березикова Екатерина Николаевна, Томск, 2014. – 316 с.
5. Бойцов С.А. и соавт. Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2014; 13 (4): 4-14.
6. Беловол, А.Н. Сердечно-сосудистые заболевания и сахарный диабет / А.Н.Беловол, И.И.Князькова // Здоровье Украины. – 2014. – №3 (27). – С. 28-29.24.
7. Бойцов С.А. от коллектива исследователей в Российской Федерации. Структура факторов сердечно-сосудистого риска и качество мер их профилактики в первичном звене здравоохранения в России и в Европейских странах (по результатам исследования EURICA. Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2012; 11 (1): 11-16.
8. Гончарова Л. Н., Дегаева Т. А., Сергутова Н. П. Анализ полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы у больных артериальной гипертонией в Республике Мордовия // Вестник Мордовского

университета. 2016. Т. 26, № 1. С. 134–143. doi: 10.15507/0236-2910.026.201601.134-143

9. Гончарова Л.Н. Стратегия лечения первичной артериальной гипертонии в популяциях Республики Мордовия на основе эпидемиологического и молекулярно-генетического анализа. автореф. дис....д-ра.мед.наук: спец.14.01.05/Л.Н. Гончарова.-Москва, 2013-48с.

10. Гарипова, А.Ф. Изменения интервала QT у больных стабильной стенокарди-ей напряжения и сахарным диабетом 2 типа: дисс....канд.мед.наук:14.01.05 – Алсу Фаритовна Гарипова – Казань, 2016. – 110 с.

11. Гречанина, Е.Я. Распространенность полиморфизмов С677Т MTHFR и А66G MTRR генов системы фолатного цикла в популяции Восточной Украины [Текст] /Е.Я. Гречанина, В.А. Гусар // Актуальные проблемы акушерства и гинекологии, клинической иммунологии и медицинской генетики,- Киев-Луганск, 2010,- С.91-97.

12. Данные Росстат, www.gks.ru дата последнего доступа 17.05.2019

13. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Клинические рекомендации. Рекомендации Российского медицинского общества по артериальной гипертонии и Всероссийского научного общества кардиологов. //Системные гипертензии. – 2010. – №3. – С.5-26.

14. Добрынина, Л.А. Ишемический инсульт в молодом возрасте / Л. А. Добрынина, Л.А. Калашникова, Л.Н. Павлова // Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. —2011. —№3. —С. 4–8.

15. Доклад ВОЗ. Информационный бюллетень; www.who.int

16. Доклад о ситуации в области неинфекционных заболеваний в мире. Исполнительное резюме. ВОЗ [электронный ресурс]. – 2010. – 12 с. – режим доступа: <http://www.who.int>

17. Жарков П.А. Влияние носительства протромботических полиморфизмов на риск развития тромбозов у детей : автореф. дис. канд. мед. наук/ П.А. Жарков. —М., 2013. —24с.

18. Жарков, П.А. Влияние носительства протромботических полиморфизмов на риск развития венозного тромбоза у детей [Текст] /П.А. Жарков, Е.В. Ройтман, П.В. Свирин, Л.Е. Ларина [и др.] //Гематология и трансфузиология. - 2012. - т.57, № 4. - С. 27-32.
19. Здравоохранение в России. 2017: Стат.сб./Росстат. - М., 2017 – 170 с.
20. Давыдчик, Э.В. Взаимосвязь гипергомоцистеинемии с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом / Э.В.Давыдчик, В.А.Снежицкий, Л.В.Никонова // Журнал Гродненского государственного медицинского уни-верситета. – 2015. – No1. – С. 9-13.
21. Инсульт: диагностика, лечение, профилактика. Под ред. З.А. Суслиной, М.А. Пирадова. М.: МЕДпресс-информ, 2010.
22. Инсульт: Современные подходы диагностики, лечения, профилактики: Методические рекомендации / Под ред. Д. Р. Хасановой, В. И. Данилова. – 2014.
23. Карпов Ю.А., Сорокин Е.В. Новые лекарственные комбинации – новые возможности гипотензивной терапии. Атмосфера. Новости кардиологии. 2015; 1:2-7
24. Котельников, Г.П. Доказательная медицина. Научно обоснованная медицинская практика [Текст]: монография / Г.П. Котельников, А.С. Шпигель. –изд. 2-е перераб. и доп. –Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2012. –242с.
25. Коненков В.И., Шевченко А.В., Прокофьев В.Ф., Максимов В.Н. Комплекс генотипов цитокинов как генетический фактор риска развития инфаркта миокарда у мужчин европеоидного населения России // Кардиология.2012. №7. С. 22–29
26. Малыгина Н.А., Костомарова И.В., Водолагина Н.Н. с соавт. Гены атеросклероза и сердечно–сосудистые заболевания // Клиническая медицина. 2011. Том 89. № 3. С. 14–18

27. Международная статистическая классификация болезней, травм и состояний, влияющих на здоровье 10-го пересмотра (МКБ-10) (Всемирная организация здравоохранения, 1994).

28. Минздрав (Министерство здравоохранения) России. Доклад о реализации Программы государственных гарантий оказания гражданам Российской Федерации бесплатной медицинской помощи в 2011 г. М., 2012 ?<https://www.rosminzdrav.ru/docs/mzsr/finance/30?>.

29. Мокшин Н. Финно – угорские народы: рассказы о большой семье урал. народов - финно-угров и самодийцев / Н. Мокшин, Е. Мокшина, Ю. Сушкова. – Саранск: АНО «Центр культуры и искусства «Дом народных ремесел», Фонд «Открытая Мордовия», 2009. – 48 с. – (Мой край мордовский).

30. Мордва : очерки по истории, этнографии и культуре мордовского народа / под общ. ред. Н. П. Макаркина ; [сост. С. С. Маркова]. – Изд. 2-е, доп. и перераб. – Саранск: Мордов. кн. изд-во, 2012. – 719 с.

31. Научно-организационный комитет проекта ЭССЭ-РФ. Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах России (ЭССЭ-РФ. Обоснование и дизайн исследования. Профилактик. Медицина. 2013; 6:25-34.

32. Наследственные прокоагулянтные и протромботические нарушения как ведущий этиологический фактор ишемических инсультов у детей раннего возраста/ О.А. Львова [и др.] // Журн. неврологии и психиатрии. Инсульт. —2013. —№9. —С. 13–20.

33. Оганов Р.Г., Масленникова Г.Я. Демографические тенденции в Российской Федерации: вклад болезней системы кровообращения. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2012; 1:5-10.

34. Оганов Р.Г., Тимофеева Т.Н., Колтунов, И.Е. и др. Эпидемиология артериальной гипертонии в России. Результаты федерального мониторинга 2003-2010. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2011; 10 (1):9-13.

35. Оганов, Р.Г. Сердечно-сосудистые заболевания в начале XXI века: медицинские, социальные, демографические аспекты и пути профилактики / Р.Г. Оганов // Федеральный справочник. Здоровоохранение России. – 2013. – №13. – С. 257-264.

36. Оганов, Р.Г. Сосудистая коморбидность: общие подходы к профилактике и лечению / Р.Г. Оганов // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2015. – №11 (1). – С. 4-7.

37. Полянская Ю.Н. Оценка качества лекарственной терапии и факторов, влияющих на приверженность к ней, у больных с ангиографически подтвержденной хронической ишемической болезнью сердца. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Москва 2012 г.

38. Первичная тромбопрофилактика у детей на основе выявления и модификации постоянных и временных факторов тромбогенного риска: методические рекомендации для врачей-педиатров, клинических ординаторов и интернов/ А.П. Момот [и др.] ; под научн. ред. д-ра мед.наук, профессора А.П. Момота. — Барнаул : Изд-во АГМУ, 2013. —83с.

39. Павленко, О.А. Распространенность, клиническое и прогностическое значение полиморфизма генов II, V факторов свертывания крови и метилентетрагидрофолатредуктазы у пациентов с хронической болезнью почек [Текст] /О.А Павленко, Т.А. Колосовская, О.Ф. Сибирева, Е.Ю. Хитринская [и др.]/Бюллетень сибирской медицины.- 2011. - № 4(2). - С. 8085.

40. Проблема наследственной тромбофилии в практике детского нефролога/ О.Л. Чугунова [и др.] // Педиатрия. —2012. —№91 (6). —С. 34–40.

41. Методы статистической обработки медицинских данных: Методические рекомендации для ординаторов и аспирантов медицинских учебных заведений, научных работников [Текст] / сост.: А.Г. Кочетов, О.В. Лянг, В.П. Масенко [и др.]. –Москва: РКНПК, 2012. –42 с.

42. Роль генетических полиморфизмов в возникновении венозных тромбозомболических осложнений [Электронный ресурс]/ А.С. Петриков, Я.Н. Шойхет, В.И. Белых [и др.] // Медицина и образование в Сибири. — 2012. -№4. Режим доступа http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=781

43. Руководство по кардиологии в четырех томах. Том 3: Заболевания сердечно-сосудистой системы (I) / Под ред. акад. Е.И. Чазова. — М.: Практика, 2014. 864 с.

44. Состояние микроциркуляции у пациентов с пароксизмальной и постоянной формами фибрилляции предсердий [Текст] / С.А. Крыжановский, Б.З. Сиротин, К.В. Жмеренецкий [и др.] // Дальневосточный медицинский журнал. —2012. —№ 4. —С. 6–9.

45. Страмбовская Н.Н. Прогностическая роль полиморфных вариантов генов-кандидатов у больных ишемическим инсультом в Забайкалье // Фундам. исследования. 2015. № 1. С. 140–144.

46. Стародубцева О.С., Бегичева С.В. Анализ заболеваемости инсультом с использованием информационных технологий. Фундаментальные исследования. 2012; 8 (часть 2): 424–27.

47. Строзенко Л.А. Полиморфные варианты сочетаний генов системы гемостаза и фолатного цикла в популяции подростков Алтайского края/ Л.А. Строзенко, В.В. Гордеев, Ю.Ф. Лобанов // Рос. педиатр. журн. — 2015. —№4. —С. 26–31.

48. Трифонова, Е.А. Гомоцистеин, полиморфизмы гена MTHFR и осложнения беременности [Текст] /Е.А. Трифонова, Т.В. Габидулина, Т.А. Агаркова, Н.А. Габитова, В.А. Степанов // Акушерство и гинекология. - 2011. - № 2. - С. 815.

49. Тромбоз и гемостаз. Шкалы и алгоритмы: Пособие / Под ред. Е. В. Ройтмана, Н. Ю. Левшина. – 2016. С. 53–58.

50. Федеральная служба государственной статистики. Естественное движение населения Российской Федерации - 2013г. // <http://www.gks.ru>, http://www.gks.ru/bgd/regl/b13_106/Main.htm

51. Факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний, определяющие индивидуальный прогноз [Текст] / Л.С. Зорина, Л.В. Саламатина, И.А. Урванцева [и др.] // Вестник СурГУ. Медицина. –2013. –No 15. –С. 4–9.25

52. Халафян, А.А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных: учебник [Текст] / А.А. Халафян. – 2-е изд. – М. ООО «Бином-Пресс», 2010. – 528 с.

53. Чазова, И.Е. Артериальная гипертензия: от А.Л. Мясникова до наших дней [Текст] / И.Е. Чазова // Consilium Medicum. –2014. –No 12. –С. 5–9.

54. Чазова, И.Е. Артериальная гипертензия в свете современных рекомендаций [Текст] / И.Е. Чазова // Терапевтический архив. –2018. –Т. 90, No9. –С. 4–7. DOI: 10.26442/terarkh20189094-7.

55. Чазова И.Е., Данилов Н.М., Литвин А.Ю. Рефрактерная артериальная гипертензия: Монография. М.: Атмосфера. 2014; 256 с.

56. Чазова И.Е., Жернакова Ю.В., Ощепкова Е.В. и др. Распространенность факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний в российской популяции больных артериальной гипертензией. Кардиология. 2014; 10:4-12.

57. Чазова И.Е., Трубачева И.А., Жернакова Ю.В. и др. Распространенность артериальной гипертензии как фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний в крупном городе Сибирского федерального округа. Системные гипертензии. 2013; 10 (4):30-37.

58. Чазова И.Е., Жернакова Ю.В. от имени экспертов. Клинические рекомендации. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Системные гипертензии. 2019; 16 (1).

59. Шальнова С.А., Конради А.О., Карпов Ю.А. и др. Анализ смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в 12 регионах Российской Федерации, участвующих в исследовании «Эпидемиология

сердечнососудистых заболеваний в различных регионах России». Российский кардиологический журнал. 2012; 5 (97):6-11.

60. Шишкин С.В., Шейман И.М. Российское здравоохранение: новые вызовы и новые задачи. Доклад ГУ ВШЭ. М.: Изд. дом ГУ ВШЭ, 2009.

61. Шишкин, С. В., Потапчик, Е. Г., Селезнева, Е.В. Оплата пациентами медицинской помощи в российской системе здравоохранения [Текст]: препринт WP8/2014/03 / С. В. Шишкин, Е. Г. Потапчик, Е. В. Селезнева; Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики». – М.: Изд. дом Высшей школы экономики, 2014 – (Серия WP8 «Государственное и муниципальное управление»). – 48 с. – 150 экз.

62. Экономический ущерб от сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации. Оганов Р.Г., Калинина А.М., Концевая А.В. Кардиоваскулярная терапия и профилактика; 2011.-N 4.-С.4-9.

63. Ainiding G., Kawano Y., Sato S., Isobe N., Matsushita T., Yoshimura S., Yonekawa T., Yamasaki R., Murai H., Kira J., et al. // J Neurol Sci, 2014. V. 337. P. 147-50.

64. Alam MA (2016) Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphisms and Cardiovascular Diseases. Cell Dev Biol 5: 172. doi:10.4172/2168-9296.1000172.

65. Alcántara C, Edmondson D, Moise N. et al. Anxiety sensitivity and medication nonadherence in patients with uncontrolled hypertension. J Psychosom Res.2014; 77 (4):283-286

66. A Larsson SC, Traylor M, Markus HS. Homocysteine and small vessel stroke: mendelian randomization analysis. Ann Neurol. 2019 Apr;85(4):495-501. doi: 10.1002/ana.25440. Epub 2019 Mar 11. PubMed PMID: 30785218; PubMed Central PMCID: PMC6594149.

67. Associations between midlife vascular risk factors and 25-year incident dementia in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) cohort [Text] / RF. Gottesman, M.S. Albert, A. Alonso [et al.] // JAMA Neurol. –2017. – Vol.74. –P. 1246–1254.

68. Alizadeh S, Djafarian K, Moradi S, Shab-Bidar S. C667T and A1298C polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase gene and susceptibility to myocardial infarction: A systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol.* 2016 Aug 15;217:99-108. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.04.181. Epub 2016 May 4.
69. Al-Saleem SA, Al-Shahrani A, Al-Khaldi Y. MJ. Hypertension care in Aseer region, Saudi Arabia: barriers and solutions. *Kidney Dis Transpl.* 2014; 25 (6):1328-1333
70. Amouzou EK, Chabi NW, Adjalla CE, Rodriguez-Guéant RM, Feillet F, et al. (2004) High prevalence of hyperhomocysteinemia related to folate deficiency and the 677C->T mutation of the gene encoding methylenetetrahydrofolate reductase in coastal West Africa. *Am J Clin Nutr* 79: 619-624.
71. Anand SS, Xie C, Paré G et al. Genetic Variants Associated With Myocardial Infarction Risk Factors in Over 8000 Individuals From Five Ethnic Groups. The INTERHEART Genetics Study *Circ Cardiovasc Genet.* 2009;2:16-25
72. Durga, J. Effect of 3 y of folic acid supplementation on the progression of carotid intima-media thickness and carotid arterial stiffness in older adults / J. Durga, M.L. Bots, E.G. Schouten et al. // *Am J Clin Nutr.* - 2011. - Vol. 93, N 5. - P. 941-949.
73. Beune EJ, Moll van Charante EP, Beem L. et al. Culturally adapted hypertension education (CAHE) to improve blood pressure control and treatment adherence in patients of African origin with uncontrolled hypertension: cluster-randomized trial. *PLoS One.* 2014; 9(3): 1-11. e90103. doi: 10.1371/journal.pone.0090103.
74. Balderrábano-Saucedo N.A. et al. Polymorphism 677C ? T MTHFR gene in Mexican mothers of children with complex congenital heart disease // *Pediatr. Cardiol.* – 2013. – Vol. 34, N 1. – P. 46–51.
75. Baranzini S.E. et. al. Genome-wide association analysis of susceptibility and clinical phenotype in multiple sclerosis // *Hum. Mol. Genet.* 2009. T. 18. № 4. C. 767–778.

76. Barsova RM, Lvovs D, Titov BV, Matveeva NA, Shakhnovich RM, Sukhinina TS, Kukava NG, Ruda MY, Karamova IM, Nasibullin TR, Mustafina OE, Osmak GJ, Tsareva EY, Kulakova OG, Favorov AV, Favorova OO. Variants of the Coagulation and Inflammation Genes Are Replicably Associated with Myocardial Infarction and Epistatically Interact in Russians. *PLoS One*. 2015 Dec 10;10(12):e0144190.

77. Bennouar N, Allami A, Azeddoug H, Bendris A, Laraoui A, et al. (2007) Thermolabile Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T Polymorphism and Homocysteine Are Risk Factors for Coronary Artery Disease in Moroccan Population. *J Biomed Biotechnol* 2007: 80687-80695.

78. Blom H.J. Folic acid, methylation and neural tube closure in humans // *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* – 2009. – Vol. 85, N 4. – P. 295–302.

79. Bogolub C. Elevated homocysteine? Consider testing for folate metabolism gene variants // *Minn. Med.* – 2012. – Vol. 95, N 12. – P. 39–42.

80. Brandalize A.P.C., Bandinelli E., Borba J.B. et al. Polymorphisms in genes MTHFR, MTR and MTRR are not risk factors for cleft lip/palate in South Brazil. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40:787-791.

81. Brown MJ. Resistant hypertension: resistance to treatment or resistance to taking treatment? *Heart*. 2014; 100 (11):821-822.

82. Bush W.S., Moore J.H. Chapter 11: Genome-Wide Association Studies // *PLoS Comput Biol*. 2012. T. 8. № 12. C. e1002822.

83. Cho Y., Baldan A., Quest for new biomarkers in atherosclerosis, *Mo. Med*. 110 (2013) 325e330.

84. Chen Q., Razzaghi H., Demirci F.Y., Kamboh M.I. // *Atherosclerosis*. 2018. V. 200. № 1. P. 102–108

85. Conroy RM, Pyorala K, Fitzgerald AP. et al. on behalf of the SCORE

86. Cardiovascular risk factors from childhood and midlife cognitive performance: the Young Finns study [Text] / S.P. Rovio, K. Pahkala, J. Nevalainen [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* –2017. –Vol. 69. –P. 2279–2289.

87. Coronary Artery Disease (C4D) Genetics Consortium. A genome-wide association study in Europeans and South Asians identifies five new loci for coronary artery disease // *Nat Genet.* 2011. 43(4). Pp. 339–344.

88. Couto JE, Panchal JM, Lal LS. et al. Geographic variation in Medication Adherence in Commercial and Medicare Part D Populations. *J Manag Care Pharm.* 2014; 20 (8): 834-842.

89. Dai X., Wiernek S., Evans J.P., Runge M.S. Genetics of coronary artery disease and myocardial infarction // *World J Cardiol.* 2016. V. 8. № 1.P.1–23. doi: 10.4330/wjc.v8.i1.1.

90. Dehghan A., Bis J.C., White C.C., Smith A.V., Morrison A.C., Cupples L.A., Trompet S., Chasman D.I., Lumley T., Völker U., et al. Genome-Wide Association Study for Incident Myocardial Infarction and Coronary Heart Disease in Prospective Cohort Studies: The CHARGE Consortium. *PLoS One.* 2016. V. 11.№ 3. e0144997.

91. Deloukas P, Kanoni S, Willenborg C, et al; CARDIoGRAMplusC4D Consortium; DIAGRAM Consortium; CARDIOGENICS Consortium; MuTHER Consortium; Wellcome Trust Case Control Consortium. Largescale association analysis identifies new risk loci for coronary artery disease. *Nat Genet.* 2013;45:25–33.

92. Devaux Y, Vausort M, Goretti E, Nazarov PV, Azuaje F, Gilson G, Corsten MF, Schroen B, Lair ML, Heymans S, Wagner DR. Use of circulating microRNAs to diagnose acute myocardial infarction. *Clin Chem.* 2012;58:559–567. doi: 10.1373/clinchem.2011.173823.

93. Di Minno MN, Tremoli E, Coppola A, et al. Homocysteine and arterial thrombosis: Challenge and opportunity. *Thromb Haemost* 2010;103(5):942-961.

94. E. Wauters, K. F. Carruthers, I.Buysschaert et al. Influence of 23 coronary artery disease variants on recurrent myocardial infarction or cardiac death: the GRACE Genetic Study // *Eur. HeartJ.* – 2013.– Vol. 34.– P. 993-1001.

95. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *European Journal of Cardiovascular prevention and Rehabilitation* 2016; 14: E1-40.
96. Fay W.P. Homocysteine and thrombosis: guilt by association?/ W.P. Fay // *Blood*. —2012. —Vol.119, N13. —P. 2977–2978.
97. Franceschini N, Carty C, Bůzková P, Reiner AP, Garrett T et al. Association of genetic variants and incident coronary heart disease in multi-ethnic cohorts: the PAGE Study // *Circ Cardiovasc Genet*. 2011. 4(6). Pp. 661-672
98. Froese DS, Huemer M, et al. (2016) Mutation Update and Review of Severe Methylenetetrahydrofolate Reductase Deficiency. *Hum Mutat* 37: 427-438.
99. Gaal P., Jakab M., Shishkin S. Strategies to address informal payments for health care // *Implementing health financing reforms: Lessons from and for countries in transition*. Buckingham: Open University Press, 2010 P. 327–360.
100. Gotsadze G., Gaál P. Coverage decisions: benefit entitlements and patient cost sharing // *Implementing health financing reforms: Lessons from and for countries in transition*. Buckingham: Open University Press, 2010 P. 187–218
101. G. Patti, et al., Methylenetetrahydrofolatereductase (MTHFR) C677T genetic polymorphism and late infarct-related coronary artery patency after thrombolysis, *J. Thromb. Thrombolysis* 27 (4) (2009) 413–420.
102. Martí-Carvajal AJ, Solà I, Lathyris D, Dayer M. Homocysteine-lowering interventions for preventing cardiovascular events. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Aug 17;8:CD006612. doi: 10.1002/14651858.CD006612.pub5. Review. PubMed PMID: 28816346; PubMed Central PMCID: PMC6483699.
103. Genetic risk factors for thrombosis in systemic lupus erythematosus/ R. Kaiser, Y.Li, M. Chang [etal.] // *J. Rheumatol*. —2012. —Vol.39, N8. — P. 1603–1610.
104. Govindaiah V. et al. Association of parental hyperhomocysteinemia and C677T Methylenetetrahydrofolatereductase (MTHFR) polymorphism with recurrent pregnancy loss // *Clin. Biochem*. – 2009. – Vol. 42 (4–5). – P. 380–386.

105. Goncharova L.N Gene-gene interactions ;treatment possibilities for arterial hypertension patients/ L.N. Goncharova., A.Y. Postnov, E.V. Timoshkina// Internationaler medizinischer congress euromedica hannover 2012, P.51.

106. Goncharova L.N. Prognostic value of gene-for-gene interactions of major candidate gene of arterial hypertension for the development of differentiated approaches to the treatment/ L.N .Goncharova., A.Y. Postnov, E.V. Timoshkina, O.G. Radaykina// Abstracts ESH SATELLITE SYMPOSIUM «RESISTANT HYPERTENSION», euromedica hannover 2012, P.95-97.

107. Guéant-Rodriguez R.M., Juillié Y., Candito M. et al. Association of MTRRA66G polymorphism (but not of MTHFR C677T and A1298C, MTRA2756G, TCN C776G) with homocysteine and coronary artery disease in the French population. *Thromb Haemost.* 2005;94:510-515.

108. Gupta R., Ejebe K., Butler J., et al. Association of common DNA sequence variants at 33 genetic loci with blood lipids in individuals of African ancestry from Jamaica. // *Hum Genet.* – 2010.- №128.- P. 557–561.

109. Harris M.J. Insights into prevention of human neural tube defects by folic acid arising from consideration of mouse mutants // *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* – 2009. – Vol. 85, N 4. – P. 331–339.

110. Hypertension prevalence, awareness, treatment and control in national surveys from England, the USA and Canada, and correlation with stroke and ischaemic heart disease mortality: a cross-sectional study [Text] / M. Joffres, E. Falaschetti, C. Gillespie [et al.] // *BMJ Open.* –2013. –Aug. 30, Vol. 3(8). –P. e003423. doi: 10.1136/bmjopen-2013-003423.

111. He M, Wolpin B, Rexrode K, Manson JE, Rimm E, Hu FB, Qi L. ABO blood group and risk of coronary heart disease in two prospective cohort studies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32:2314–2320.

112. Heidari MM, Khatami M, Hadadzadeh M, Kazemi M, Mahamed S, et al. (2015) Polymorphisms in NOS3, MTHFR, APOB and TNF-V ± Genes and Risk of Coronary Atherosclerotic Lesions in Iranian Patients. *Res Cardiovasc Med* 5: e29134.

113. Kim K, Baik H, Jang CS, Roh JK, Eskin E, Han B. Genomic GPS: using genetic distance from individuals to public data for genomic analysis without disclosing personal genomes. *Genome Biol.* 2019 Aug 27;20(1):175. doi: 10.1186/s13059-019-1792-2. PubMed PMID: 31455387; PubMed Central PMCID: PMC6712716.

114. Hindorff L.A. et al. A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies. <http://www.ebi.ac.uk/gwas/>. Accessed April 17, 2015

115. Hindorff L.A. et al. Potential etiologic and functional implications of genomewide association loci for human diseases and traits. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2009. T. 106. № 23. C. 9362–9367.

116. Ho, G.Y. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and homocysteine-lowering effect of vitamin therapy in Singaporean stroke patients / Ho G.Y. [et al.]. // *Stroke.* - 2006. - 37. – P. 456 - 460.

117. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/> дата последнего доступа 17.05.2019

118. <http://cran.r-project.org/web/packages/survival/>; version 2.41-3

119. <http://www.broad.mit.edu/mpg/haploview>

120. <http://www.ebi.ac.uk/gwas>

121. <https://sourceforge.net/projects/apsampler/>

122. Humphries S.E., Cooper J.A., Talmud P.J, Miller G.J. Candidate gene genotypes, along with conventional risk factor assessment, improve estimation of coronary heart disease Risk in healthy UK men. *Clin Chem* 2007; 53:8-16.

123. Inflammation in ischemic stroke subtypes/ A. Tuttolomondo, D. Di Raimondo, R. Pecoraro [et al.] // *Curr. Pharm. Des.* —2012. —Vol.18, N28. —P. 4289–4310.

124. J. C. Kaski, D. J. Fernandez-Berges, L. Consuegra-Sanchez et al. // A comparative study of biomarkers for risk prediction in acute coronary syndrome Results of the SIESTA (Systemic Inflammation Evaluation in non-ST-elevation Acute coronary syndrome) study. *Atherosclerosis.*— 2010.— Vol. 212, № 2.— P. 636-643.

125. J.F. O'Sullivan, K. Martin, N.M. Caplice, Microribonucleic acids for prevention of plaque rupture and in-stent restenosis: “a finger in the dam”, *J. Am. Coll. Cardiol.* 57 (2011) 383e389.
126. Kamanu T.K., Radovanovic A., Archer J.A. and Bajic V.B. // *Sci Rep*, 2013. V. 3. P. 2940
127. Kolling, J. Homocysteine induces oxidative-nitrative stress in heart of rats: prevention by folic acid / J. Kolling, E.B. Scherer, A.A. da Cunha et al. // *Cardiovasc Toxicol.* - 2011. - Vol. 11, N 1. - P. 67-73.
128. Khandanpour N., Willis G., Meyer F.S. et al. Peripheral arterial disease and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T mutations: a case – control study and meta-analysis. *J. Vasc. Surg.* 2009. Vol. 49. No 3. P. 711-718.
129. Kumar J, Das SK, Sharma P, Karthikeyan G, Ramakrishnan L, et al. (2005) Homocysteine levels are associated with MTHFR A1298C polymorphism in the Indian population. *J Hum Genet* 50: 655-663.
130. Laanpere M. et al. Folate-mediated one-carbon metabolism and its effect on female fertility and pregnancy viability // *Nutr. Rev.* – 2010. – N 68 (2). – P. 99–113.
131. Labos C, Martinez SC, Leo Wang RH, Lenzini PA, Pilote L, Bogaty P, Brophy JM, Engert JC, Cresci S, Thanassoulis G. Utility of a genetic risk score to predict recurrent cardiovascular events 1 year after an acute coronary syndrome: A pooled analysis of the RISCAs, PRAXY, and TRIUMPH cohorts. *Atherosclerosis*. 2015 Sep; 242(1):261-7. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.07.029. Epub 2015 Jul 17.
132. Levine G. N. et al. 2016 ACC/AHA Guideline Focused Update on Duration of Dual Antiplatelet Therapy in Patients With Coronary Artery Disease. 2016; 134: 156–178.
133. Lew SK, Gupta ED Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and related diseases.-2015. *Eur J Med Genetics* 58: 1-10.

134. Li P, Qin C (2014) Methylenetetrahydrofolatereductase (MTHFR) gene polymorphisms and susceptibility to ischemic stroke: a meta-analysis. *Gene* 535: 359-364.

135. Li WX, Dai SX, Zheng JJ, Liu JQ, Huang JF (2015) Homocysteine Metabolism Gene Polymorphisms (MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTR A2756G and MTRR A66G) Jointly Elevate the Risk of Folate Deficiency. *Nutrients* 7: 6670-6687.

136. Lotta LA, Peyvandi F. Addressing the complexity of cardiovascular disease by design. *Lancet* 2011; 377:356-358.

137. Lip GYH, Coca A, Kahan T, et al. Hypertension and cardiac arrhythmias: a consensus document from the European Heart Rhythm Association (EHRA) and ESC Council on Hypertension, endorsed by the Heart Rhythm Society (HRS), Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS) and Sociedad Latinoamericana de Estimulación Cardíaca y Electrofisiología (SOLEACE). *Europace*. 2017 Jun 1;19(6):891-911. doi: 10.1093/europace/eux091. Review. PubMed PMID: 28881872.

138. Machnik G, Zapala M, Pelc E, Gasecka-Czapla M, Kaczmarczyk G, et al. (2013) A new and improved method based on polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) for the determination of A1298C mutation in the methylenetetrahydrofolatereductase (MTHFR) gene. *Ann Clin Lab Sci* 43: 436-440.

139. Martinelli I. Cerebral vein thrombosis / I. Martinelli // *Thromb. Res.* — 2013. — Vol. 131, Suppl 1. — P. S51—S54.

140. Matsuoka R., Abe S., Tokoro F., Arai M., Noda T., Watanabe S., Horibe H., Fujimaki T., Oguri M., Kato K., et al. // *IntJMolMed*. 2015. V. 35. № 5.P. 1451– 1459.

141. McCully, K. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for Zago M.A., Cruz E., Kerbauy J. Hyperhomocysteinemia increases the risk of venous thrombosis independent of the C677T mutation of the

methylenetetrahydrofolate reductase gene in selected Brazilian patients / K. McCully // *Blood Coagul. Fibrinolysis*. - 2002. - 13(3). - P. 271 - 275.

142. McPherson R, Tybjaerg-Hansen A. Genetics of Coronary Artery Disease. *Circ Res*. 2016 Feb 19; 118(4):564-78. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306566.

143. Matthes J, Albus C. Improving Adherence With Medication. A Selective Literature Review Based on the Example of Hypertension Treatment. *Dtsch Arztebl Int*. 2014; 111(4): 41–47.

144. Mehran R. et al. Standardized bleeding definitions for cardiovascular clinical trials a consensus report from the bleeding academic research consortium. *Circulation*. 2011; 123(23): 2736–2747.

145. Moll S, Varga EA (2015) Homocysteine and MTHFR Mutations. *Circulation* 132: e6-9.

146. Moore KJ, Sheedy FJ, Fisher EA. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance. *Nat Rev Immunol*. 2013;13: 709–721. doi: 10.1038/nri3520

147. Mozaffarian, D. Heart Disease and Stroke Statistics – 2015 Update: a report From the American Heart Association / D.Mozaffarian, E.J.Benja, A.S.Go, D.K.Arnett et al. // *Circulation*. – 2015. – Vol.131 (4). – P.29–322.

148. Mukherjee M, Joshi S, Bagadi S, Dalvi M, Rao A, et al. (2002) A low prevalence of the C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene in Asian Indians. *Clin Genet* 61: 155-159.

149. Moise N, Davidson KW, Chaplin W. et al. Depression and clinical inertia in patients with uncontrolled hypertension. *JAMA Intern Med*. 2014; 174 (5):818-819.

150. Numis A.L. Arterial ischemic stroke in children: risk factors and etiologies/ A.L. Numis, C.K.Fox // *Neurol. Neurosci Rep*. —2014. —N14 (1). —P. 422.

151. Nurnberg ST, Zhang H, Hand NJ, Bauer RC, Saleheen D, Reilly MP, Rader DJ. From Loci to Biology: Functional Genomics of Genome Wide

Association for Coronary Disease. *Circ Res.* 2016 Feb 19;118(4):586-606. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306464.

152. Park K. L., Budaj A., Goldberg R. J. et al. Risk-Prediction Model for Ischemic Stroke in Patients Hospitalized with an acute coronary syndrome (from the Global registry of acute coronary events [GRACE]) *Am J Cardiology.* 2012; 110(5): 628–635.

153. Parveen F., Tuteja M., Agrawal S. Polymorphisms in MTHFR, MTHFD, and PAI-1 and recurrent miscarriage among North Indian women [Электронный ресурс] // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2013. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23685927> (дата обращения 8.07.2016).

154. PReiner Ž, Sonicki Z, Tedeschi-Reiner E. The perception and knowledge of cardiovascular risk factors among medical students. *Croat Med J.* 2012 Jun;53(3):278-84. PubMed PMID: 22661142; PubMed Central PMCID: PMC3378972.

155. Pérez-Escamilla B, Franco-Trigo L, Moullin JC. et al. Identification of validated questionnaires to measure adherence to pharmacological antihypertensive treatments. *Patient Prefer Adherence.* 2015; 9:569-578.

156. Preuss M, Kunig IR, Thompson JR, et al; CARDIoGRAM Consortium. Design of the Coronary ARtery DIsease Genome-Wide Replication And Meta-Analysis (CARDIoGRAM) Study: a genome-wide association meta-analysis involving more than 22 000 cases and 60 000 controls. *CircCardiovasc Genet.* 2010;3:475–483.

157. Pulmonary embolism and fatal stroke in a patient with severe factor XI deficiency after bariatric surgery / F. Boehlen, A. Casini, F. Pugin, P. de Moerloose // *Blood. Coagul. Fibrinolysis.* — 2013. — Vol. 24, N 3. — P. 347–350.

158. Redon J, Olsen MH, Cooper RS. et al. Stroke mortality trends from 1990 to 2006 in 39 countries from Europe and Central Asia: implications for control of high blood pressure. *Eur Heart J.* 2011; 32:1424-1431.

159. Reiner Z, Sonicki Z, Tedeschi-Reiner E. Physicians` perception? Knowledge and awareness of cardiovascular risk factors and adherence to prevention guidelines: the PERCRO-DOC survey. *Atherosclerosis*. 2010; 2013:538-603.

160. Roberts R. Genetics of coronary artery disease. *Circ Res*. 2014; 114: 1890– 1903. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.114.302692 PMID: 24902973

161. Roffi M. et al. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation). *Eur Heart J*. 2016; 37: 267–315.

162. S. Dayakar, et al., Sequence variation of the methylene tetrahydrofolatereductase gene (677C N T and 1298A N C) and traditional risk factors in a South Indian population, *Genet. Test. Mol. Biomarkers* 15 (11) (2011) 765–769.

163. S. Oztuzcu, et al., Evaluation of Factor V G1691A, prothrombin G20210A, Factor XIII V34L, MTHFR A1298C, MTHFR C677T and PAI-1 4G/5G genotype frequencies of patients subjected to cardiovascular disease (CVD) panel in southeast region of Turkey, *Mol. Biol. Rep.* 41 (6) (2014) 3671–3676.

164. Sabino A., Fernandes A.P., Lima L.M. et al. Polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase (C677T) gene and homocysteine levels: a comparison in Brazilian patients with coronary arterial disease, ischemic stroke and peripheral arterial obstructive disease. *J. Tromb. Thrombolysis*. 2009. Vol. 27. No 1. P. 81-87.

165. Saint Joseph's medical group:
http://www.sjmedgroup.org/pages/HL_CARD_heart-disease- stats

166. Samani NJ, Deloukas P, Erdmann J, Hengstenberg C, Kuulasmaa K, McGinnis R, Schunkert H, Soranzo N, Thompson J, Tiret L, Ziegler A. Large scale association analysis of novel genetic loci for coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29:774–780.

167. SaLeft ventricular hypertrophy regression during antihypertensive treatment in an outpatient clinic (the Campania Salute Network) [Text] / M.T.

Lonnebakken, R. Izzo, C. Mancusi [et al.] // J. Am. Heart Assoc. –2017. –Vol. 6. – P.e004152.

168. Seremak-Mrozikiewicz A. The significance of folate metabolism in complications of pregnant women // Ginekol. Pol. – 2013. – Vol. 84, N 5. – P. 377–384.

169. Shahmatova O.O, Komarov A.L., Rebrikov D.V. et al. Factors determining homocysteine level in Russian patients with stable ischemic heart disease. Cardio-vascular therapy and prevention, 2010; 4:49-58. (In Russian). / Шахматова О.О., Комаров А.Л., Ребриков Д.В. и соавт.

170. Spronk KJ, Olivero AD, Haw MP, Vettukattil JJ (2015) Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T: Hypoplastic Left Heart and Thrombosis. World J Pediatr Congenit Heart Surg 6: 643-645.

171. T. D. Welch, E. H. Yang, G.S. Reeder, B. J. Gersh. Modern management of acute myocardial infarction // Curr. Probl. Cardiol. – 2012.– Vol. 37, № 7.– P. 237-310.

172. Thomas M Morgan, John A House, Sharon Cresci, Philip Jones, Hooman Allaye e, Stanley L Hazen, Yesha Patel, Riyaz S Patel, Danny J Eapen, Salina P Waddy, Arsh ed A Quyyumi, Marcus E Kleber, Winfried März, Bernhard R Winkelmann, Bernhar d O Boehm, Harlan M Krumholz and John A Spertus. Investigation of 95 variants identified in a genome-wide study for association with mortality after acute coronary syndrome. BMC Medical Genetics 201112 : 127. DOI: 10.1186/1471-235012-127

173. Turchinovich. et al. Trends Biochem Sci. 2012; 37(11):460-465.

174. Villa L, Sun D, Denhaerynck K. et al. Predicting blood pressure outcomes using single-item physician-administered measures: a retrospective pooled analysis of observational studies in Belgium. Br J Gen Pract. 2015; e9-e15. DOI:10.3399/bjgp12X68310

175. Vasisht S, Gulati R, Narang R, Srivastava N, Srivastava LM, et al. (2002) Polymorphism (C677T) in the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase

(MTHFR) gene: A preliminary study on north Indian men. *Indian J Clin* 17: 99-107.

176. Vickers K.C., Palmisano B.T., Shoucri B.M., Shamburek R.D. and Remaley A.T. // *Nat Cell Biol*, 2011. V. 13. P. 423-33.

177. Wang HL, Tan S, Song B, et al. Correlation of h-type hypertension and prognosis of ischemic stroke. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2012; 92:1183–1186.[PubMed]

178. Wang X, Fu J, Li Q, Zeng D (2016) Geographical and Ethnic Distributions of the MTHFR C677T, A1298C and MTRR A66G Gene Polymorphisms in Chinese Populations: A Meta-Analysis. *PLoS One* 11: e0152414.

179. Weidenbacher HJ, Beadles CA, Maciejewski MI. et al. Extent and reasons for nonadherence to antihypertensive, cholesterol, and diabetes medications: the association with depressive symptom burden in a sample of American veterans. *Patient Preference and Adherence*. 2015; 9:327–336.

180. West A.A., Caudill M.A. Genetic variation: impact on folate (and choline) bioefficacy // *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* – 2010. – Vol. 80 (4–5). – P. 319–329.

181. Williams B, Mancia G, Spiering W. et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J*. 2018 Sep 1;39(33):3021-3104.

182. What doctors wish their patients knew. *Consumer Reports*. 2011. <http://www.consumerreports.org/cro/magazinearchive/2011/march/health/doctors/overview/index.htm>

183. WHO Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control. Available from: http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241564373_eng.pdf [7.10.2013]

184. WHO's annual World Health Statistics Report 2013. http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/en/index.html

185. Yahia N, Brown C, Rapley M, Chung M. Assessment of college students' awareness and knowledge about conditions relevant to metabolic syndrome. *Diabetol MetabSyndr*. 2014 Oct 15;6(1):111. doi: 10.1186/1758-5996-6-111. eCollection 2014. PubMed PMID: 25360161; PubMed Central PMCID: MC4213528.

186. World Health Statistics, 2016.

187. Xuan C, Bai XY, Gao G, Yang Q, He GW (2011) Association between polymorphism of methylenetetrahydrofolatereductase (MTHFR) C677T and risk of myocardial infarction: a meta-analysis for 8,140 cases and 10,522 controls. *Arch Med Res* 42: 677-685.

188. Xuan C, Li H, Zhao JX, Wang HW, Wang Y, et al. (2014) Association between MTHFR polymorphisms and congenital heart disease: a meta-analysis based on 9,329 cases and 15,076 controls. *Sci Rep* 4: 7311.

189. Xuan C. et al., Association between polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T and risk of myocardial infarction: a meta-analysis for 8,140 cases and 10,522 controls, *Arch. Med. Res.* 42 (8) (2011) 677–685.

190. Yale Medical Group. Cardiovascular Disease Statistics: <http://www.yalemedicalgroup.org/>

191. Young SG, Fong LG. Lowering Plasma Cholesterol by Raising LDL Receptors - Revisited. *NEJM* 2012; 366;12

192. Zhang T. et al. Genetic variants in the folate pathway and the risk of neural tube defects: a meta-analysis of the published literature // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, N 4.