

Конкурс наукових робіт молодих вчених з гастроентерології ГО «Українська гастроентерологічна асоціація» (2021)

Переможці:

I місце — Рудь Оксана Михайлівна (Київ)

II місце — Диня Юлія Зіновіївна (Київ)

III місце — Грабовська Олена Іванівна (Дніпро)

III місце — Рождественська Анастасія Олександрівна (Харків)

УДК 616.36-003.826-018.2:612.12:575.1:004.853

DOI: <http://doi.org/10.30978/MG-2021-5-21>

ISSN 1727-5725 (Print)

ISSN 2521-649X (Online)



Н. О. Носко, О. М. Рудь

Медичний центр «Into-Sana», Київ

Поліморфізми 677С > Т і 1298А > С гена MTHFR та рівень гомоцистеїну у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки як складова онтологічної моделі

Мета — систематизувати літературні дані щодо наявності поліморфізмів 677С > Т і 1298А > С гена *MTHFR* та рівня гомоцистеїну у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки (НАЖХП); розрахувати частоту комбінацій поліморфізмів 677С > Т і 1298А > С гена *MTHFR* та їхній вплив на розвиток НАЖХП; порівняти рівень гомоцистеїну у пацієнтів з НАЖХП та без неї.

Матеріали та методи. Проаналізовано дані обстеження 49 пацієнтів: з НАЖХП ($n = 17$) та без НАЖХП ($n = 32$). Використано клінічні, лабораторні, розрахунково-статистичні методи та метод онтології. Поліморфізми 677С > Т і 1298А > С гена *MTHFR* досліджували методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу. Вміст гомоцистеїну визначали методом хемілюмінесцентного імуноаналізу з референтними значеннями 3,7–13,9 мкмоль/л. Для дослідження впливу поліморфізмів 677С > Т і 1298А > С гена *MTHFR* на розвиток НАЖХП використано метод множинної логістичної регресії.

Результати. Варіант комбінації поліморфізму гена *MTHFR* 667С/С / 1298А/А (відсутність мутації) виявлено у 6 (12%) осіб, що свідчить про широку поширеність варіантів з наявністю мутацій. Установлено кореляційний зв'язок ($r = 0,429$; $p < 0,05$) між варіантами поліморфізму 677С > Т і 1298А > С гена *MTHFR*. За результатами множинної логістичної регресії, відсутній статистично значущий вплив поліморфізмів 677С > Т і 1298А > С гена *MTHFR* на розвиток НАЖХП ($p > 0,05$). Порівняння рівня гомоцистеїну у пацієнтів з НАЖХП та без НАЖХП не виявило статистично значущої різниці ($p > 0,05$), так само, як і порівняння в групах з комбінаціями поліморфізмів 677С > Т і 1298А > С гена *MTHFR* ($p > 0,05$). Це пояснюється тим, що в групі НАЖХП були переважно пацієнти молодого віку без гіпертонічної хвороби, цукрового діабету 2 типу та виразного фіброзу печінки.

© Н. О. Носко, О. М. Рудь, 2021

© Сучасна гастроентерологія, 2021

Висновки. Систематизація наукових даних методом онтології щодо НАЖХП виявила, що поліморфізми 677C>T і 1298A>C гена *MTHFR* патогенетично пов'язані зі статистично значущим підвищенням рівня гомоцистеїну як маркера серцево-судинних патологій. З огляду на багатофакторність гіпергомоцистеїнемії та значне поширення поліморфізмів 677C>T і 1298A>C гена *MTHFR* у популяції недоцільно виконувати генетичне дослідження на поліморфізм гена *MTHFR* рутинно у пацієнтів з НАЖХП, а лише для проведення диференційного діагнозу гіпергомоцистеїнемії.

Ключові слова: НАЖХП, гомоцистеїн, *MTHFR* 677C>T, *MTHFR* 1298A>C, онтологія.

Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) є актуальною проблемою через швидке поширення у світі та значні фінансові витрати в термінальній стадії захворювання [3, 6]. НАЖХП асоціюється з метаболічним синдромом, цукровим діабетом (ЦД) 2 типу, гіпертонічною хворобою — патологіями, які мають спільні ланки патогенезу [3, 6]. Ефективне медикаментозне лікування обмежене, тому слід вивчити патогенетичні механізми розвитку патології та визначити групи ризику для раннього виявлення і профілактики захворювання. Для вивчення генетичних та епігенетичних механізмів розвитку НАЖХП і пов'язаних з нею метаболічних захворювань необхідно дослідити поліморфізм генів, задіяних у біохімічних процесах. Згідно з теорією «множинних ударів» у патогенезі НАЖХП беруть участь такі чинники, як ліпотоксичність, інсулінорезистентність (ІР), мікробіота (вісь «кишечник — печінка») дієтичні, епігенетичні, генетичні чинники, дисфункція жирової тканини, активація інфламасом, інтерлейкіну (ІЛ)-6, фактора некрозу пухлин α (ФНП- α), ендоплазматичний ретикулярний стрес, мітохондріальна дисфункція [5].

Щодо генетичних та епігенетичних чинників, то варті уваги поліморфізми 677C>T і 1298A>C гена *MTHFR* і, як наслідок, статистично значуще підвищення рівня гомоцистеїну як маркера серцево-судинних патологій у пацієнтів з НАЖХП [16].

Ген *MTHFR* кодує фермент 5,10-метилентетрагідрофолатредуктазу (*MTHFR*), який відновлює 5,10-метилентетрагідрофолат до 5-метилтетрагідрофолату. Найбільш досліджено варіанти поліморфізму цього гена *MTHFR* 677C>T і *MTHFR* 1298A>C. Кожен з цих поліморфізмів може бути представлений «нейтральним» алелем, гетерозиготним і гомозиготним варіантом, що впливає на рівень активності ферменту, може призвести до порушення фолатного циклу з накопиченням гомоцистеїну та подальшим розвитком певної патології. Локус 5,10-*MTHFR* розташований на хромосомі 1 на кінці короткого плеча (1p36.6). Мутація гена *MTHFR*, що спричиняє поліморфізм С677Т, розташована в екзоні 4, це

призводить до перетворення валіну на аланін у кодоні 222, що є звичайним поліморфізмом, який знижує активність ферменту [13, 15].

Фолатний цикл — це каскадний процес, що контролюється ферментами, коферментами яких є фолати. Провідну роль у цьому процесі відіграє синтез метіоніну із гомоцистеїну шляхом метаболізму фолатів, а саме відновлення 5,10-метилентетрагідрофолату до 5-метилтетрагідрофолату, який містить метильну групу, потрібну для перетворення гомоцистеїну на метіонін. Метильна група переноситься на вітамін В₁₂, який передає її гомоцистеїну, утворюючи метіонін за допомогою ферменту метіонінсинтетази (MTR). Іноді вітамін В₁₂ може окиснюватись, що призводить до пригнічення MTR. Для підтримання активності ферменту необхідне відновне метилювання за допомогою ферменту метіонінсинтетазредуктази (MTRR). Порушення фолатного циклу призводить до накопичення гомоцистеїну в клітинах та підвищення загального рівня гомоцистеїну в плазмі. Гомоцистеїн має токсичну, атерогенну і тромбофілічну дію, що підвищує ризик розвитку та ускладнень серцево-судинних захворювань, асоціюється з онкологічними і неврологічними захворюваннями, діабетом, псоріазом та іншими патологіями [13, 15].

Метаболізм метіоніну в організмі людини відбувається трьома шляхами:

1. Трансметилювання як етап синтезу фосфоліпідів, а саме фосфотидилхоліну, що є основною складовою клітинних мембран і мембран мітохондрій, в яких метіонін є донором метильної групи. При порушенні трансметилювання знижується синтез холіну і, як наслідок, погіршується ліпотропна функція печінки (транспорт тригліцеридів із печінки), що посилює жирову інфільтрацію печінки.

2. Трансульфування, порушення якого призводить до дефіциту глутатіону — важливого клітинного антиоксиданту та посилення процесів перекисного окиснення ліпідів. Зниження синтезу таурину погіршує кон'югацію вільних (токсичних) жовчних кислот і порушує холесекреторну функцію печінки та репарацію клітин

шляхом участі у синтезі білка. Таурин відіграє важливу роль в обміні калію, утримуючи його в клітині, запобігає порушенню серцевого ритму, зменшує набряки, бере участь в обміні магнію.

3. Амінопропилювання (синтез поліамінів), в якому метіонін є донором метильних груп або модулятором ферментів. Поліаміни (путресцин, спермідин, спермін) відіграють важливу роль у структурі рибосом, а путресцин також стимулює проліферацію гепатоцитів [1, 2].

Через суперечливість даних щодо зв'язку між рівнем гомоцистеїну та НАЖХП Y. Dai та співавт. [8] у 2015 р. провели метааналіз 8 досліджень рівня гомоцистеїну в плазмі крові пацієнтів з НАЖХП, верифікованою за даними біопсії, та здорових осіб. Виявлено більший вміст гомоцистеїну у пацієнтів з НАЖХП та вищий ризик схильності до гіпергомоцистеїнемії за відсутності різниці за вмістом фолатів і вітаміну В₁₂. Рівень гомоцистеїну у пацієнтів зі стеатогепатитом перевищував такий у хворих зі стеатогепатозом. Автори дійшли висновку про необхідність подальшого дослідження цієї теми і причини гіпергомоцистеїнемії при НАЖХП.

Мета роботи — систематизувати літературні дані щодо наявності поліморфізмів 677C > T і 1298A > C гена *MTHFR* та рівня гомоцистеїну у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки; розрахувати частоту комбінацій поліморфізмів 677C > T і 1298A > C гена *MTHFR* та їхній вплив на розвиток НАЖХП; порівняти рівень гомоцистеїну в групах.

Матеріали та методи

У клініці «Інто-Сана» згідно з договором про наукове співробітництво між Національним університетом охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика і ТОВ «Медичні центри „Медісвіт“ клініки „Into-Sana“» у 2018–2020 рр. було проаналізовано результати обстеження 49 пацієнтів віком від 20 до 60 років. У всіх пацієнтів отримано згоду на обробку персональних даних. Обстежених розподілили на дві групи: 17 осіб з НАЖХП (12 (70 %) чоловіків і 5 (30 %) жінок, середній вік — (38,0 ± 7,7) року) та 32 особи без НАЖХП і ЦД 2 типу (14 (44 %) чоловіків та 18 (56 %) жінок, середній вік — (36,0 ± 7,02) року). В групі НАЖХП усі пацієнти мали неалкогольний стеатогепатоз.

Діагноз НАЖХП встановлено згідно з «Уніфікованим клінічним протоколом первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги «Неалкогольний стеатогепатит» (наказ МОЗ України від 06.11.2014 р. № 826).

Використано клінічні, лабораторні, розрахунково-статистичні методи та метод онтології. Дослідження на поліморфізми 677C > T і 1298A > C гена *MTHFR* проведено в лабораторії «Діаген» методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу. Варіанти результатів за *MTHFR* 677C > T: С/С — «нейтральний» алель, С/Т — гетерозигота за мутантним алелем, Т/Т — гомозигота за мутантним алелем. Варіанти результатів за *MTHFR* 1298A > C: А/А — «нейтральний» алель, А/С — гетерозигота за мутантним алелем, С/С — гомозигота за мутантним алелем.

Вміст гомоцистеїну визначали методом хемілюмінесцентного імуноаналізу з референтними значеннями 3,7–13,9 мкмоль/л.

У всіх обстежених для визначення ступеня фіброзу печінки розраховано NAFLD Score за формулою [4]:

$$\begin{aligned} \text{NAFLD Score} = & -1,675 + 0,037 \cdot \text{вік (роки)} + \\ & + 0,094 \cdot \text{ІМТ (кг/м}^2\text{)} + \\ & + 1,13 \cdot 0/1 \text{ (немає/є ЦД 2 типу)} + \\ & + 0,99 \cdot \text{АСТ/АЛТ} - \\ & - 0,013 \cdot \text{тромбоцити (10}^9\text{/л)} - \\ & - 0,66 \cdot \text{альбумін (г/дл)}, \end{aligned}$$

де ІМТ — індекс маси тіла; АСТ — аспартатамінотрансфераза; АЛТ — аланінамінотрансфераза.

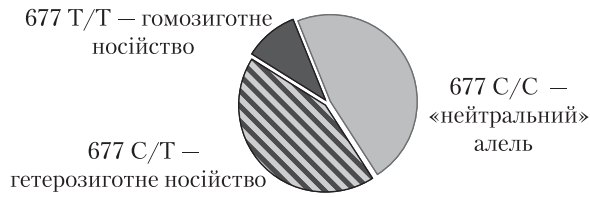
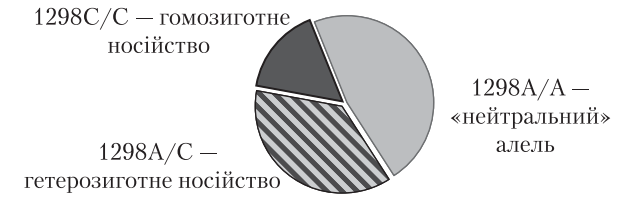
Інтерпретація: NAFLD Score < -1,455 — F0–F2; -1,455 ... +0,675 — ризик не визначено; > 0,675 — F3–F4.

Лабораторні показники визначено за допомогою уніфікованих методик, затверджених МОЗ України.

Статистичний аналіз проводили за допомогою програми SPSS Statistics 26. При оцінці показників, розподіл яких відрізнявся від нормального, використовували медіану та 25-й і 75-й квартилі (Me [Q1 25 %; Q3 75 %]). Для розрахунку прогнозу ризику розвитку НАЖХП залежно від наявності поліморфізмів 677C > T і 1298A > C гена *MTHFR* використано апарат множинної логістичної регресії. Статистично значущими вважали результати порівнянь при значенні ймовірності похибки (p) < 0,05.

Результати та обговорення

Н. Nefic та співавт. [17] провели дослідження частоти поліморфізмів 677C > T і 1298A > C гена *MTHFR* у 164 здорових донорів, які не були родичами. Виявлено, що частота алеля *MTHFR* 677T (32,62 %) відповідала такій у більшості інших популяцій у світі, але частота алеля *MTHFR* 1298C була вищою (38,41 %). Три з дев'яти комбінованих генотипів були наявні у 87,2 % населення, 33,54 % суб'єктів були складними гетерозиготами (генотип 677C/T/1298A/C),

Рис. 1. Розподіл за частотою генотипів *MTHFR* 677C>TРис. 2. Розподіл за частотою генотипів *MTHFR* 1298A>C

34,15% — мали генотип 677C/C/1298A/C, 19,51% — генотип 677C/T/1298A/A. Суб'єкти з генотипом 677T/T мали генотип 1298A/A або 1298A/C, а суб'єкти з генотипом 1298C/C — лише генотип 677C/C. Пацієнтів с генотипом 677C/C/1298A/A було 3,05%. Не виявлено потрійної мутації 677C/T/1298C/C і четвертої 677T/T/1298C/C, що асоціюється зі зниженням життєздатності ембріонів зі збільшенням кількості мутантних алелей.

Схожі результати отримано в роботі Н. Wolski та співавт., які провели аналогічне дослідження серед польських жінок. Науковці дійшли висновку, що частота і наявність генотипів поліморфізмів 677C>T і 1298A>C гена *MTHFR* схожі з такими в інших північноєвропейських популяціях. Жінки, які є носіями варіантів з мутацією обох поліморфізмів гена *MTHFR*, мають отримувати особливу перинатальну допомогу для профілактики вад плода та пов'язаних з тромбозом ускладнень під час вагітності [19].

F. Gumruk та співавт. за результатами схожого дослідження дійшли висновку, що поліморфізм гена *MTHFR* трапляється частіше, ніж очікувалося, тому слід з обережністю робити висновки про конкретні захворювання [11].

У роботі Н. Dai та співавт. зазначено, що гіпергомоцистемія значною мірою асоціюється з поширенням НАЖХП, особливо серед жінок, осіб з ожирінням або осіб, які не курять [7].

S. W. El Hajj Shehadeh та співавт. установили, що поліморфізми гена *MTHFR* не пов'язані

з ЦД 2 типу в популяції ОАЕ. Ці поліморфізми можна використовувати як маркери ризику серцево-судинних захворювань, нефропатії, високого рівня холестерину, тригліцеридів і ліпопротеїнів дуже низької густини у пацієнтів з ЦД 2 типу, що дасть змогу провести своєчасне лікування [10].

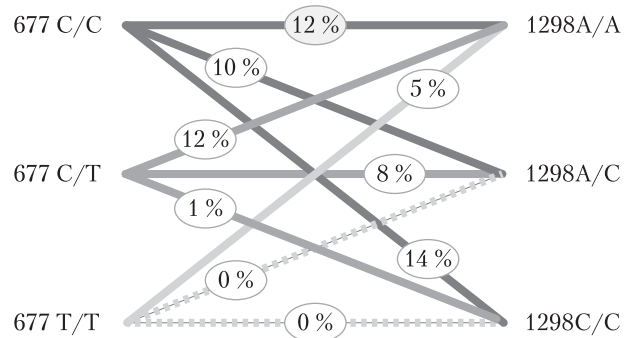
За даними нашого дослідження, частота генотипів 677C/C становила 47% (23 випадки), 677C/T — 43% (21), 677T/T — 10% (5) (рис. 1), 1298A/A — 47% (23), 1298A/C — 37% (18), 1298C/C — 16% (8) (рис. 2). Частота наявності поліморфізму та його відсутності є майже однаковою в обох варіантах (*MTHFR* 677C>T і *MTHFR* 1298A>C): 47% «нейтрального» алеля та 53% — наявної мутації.

Методом кореляційного аналізу виявлено зв'язок ($r=0,429$; $p<0,05$) між варіантами поліморфізмів 677C>T і 1298A>C гена *MTHFR* (табл. 1). Це стало підставою для порівняння частоти комбінацій варіантів поліморфізмів 677C>T і 1298A>C гена *MTHFR* (рис. 3). Варіант 677C/C/1298A/A (відсутність мутації) виявлено лише у 6 (12%) обстежених, варіанти генотипів 677T/T/1298A/C і 677T/T/1298C/C не зареєстровано.

Проаналізовано розподіл варіантів генотипів залежно від наявності чи відсутності НАЖХП (рис. 4). З варіантом генотипу 677C/C/1298A/A

Таблиця 1. Результати аналізу кореляцій між варіантами поліморфізмів 677C>T і 1298A>C гена *MTHFR* (n = 49)

	Константа	677C>T	1298A>C
Константа	+1,000	-0,831	-0,821
677C>T	-0,831	+1,000	+0,429
1298A>C	-0,821	+0,429	+1,000

Рис. 3. Частота комбінацій генотипів *MTHFR* 677C>T і *MTHFR* 1298A>C (n = 49)

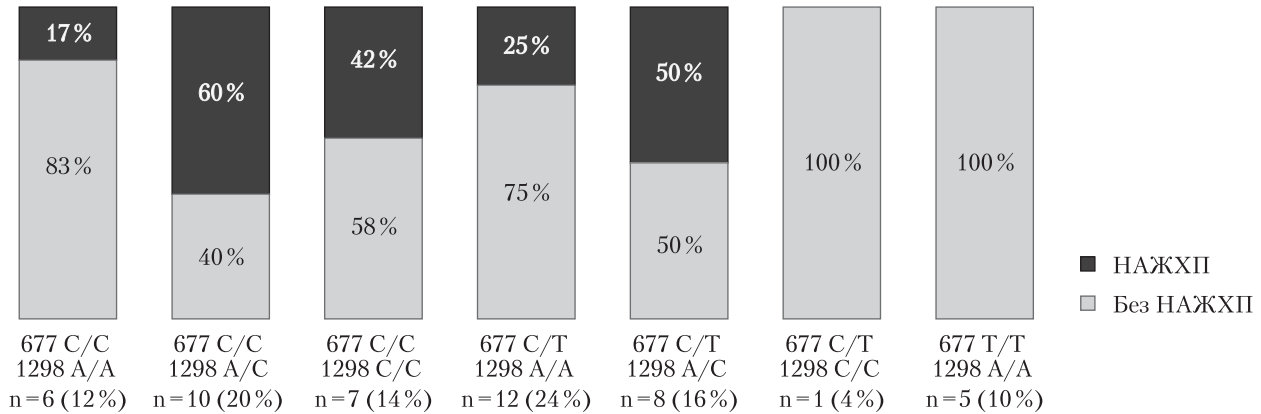


Рис. 4. Розподіл комбінацій генотипів MTHFR 677C>T і MTHFR 1298A>C у групах обстежених

Таблиця 2. Параметри та характеристики моделі логістичної регресії для прогнозування розвитку НАЖХП (n = 49)

	B	СКП	Критерій Вальда	Ступінь свободи	ВШ (95 % довірчий інтервал)
MTHFR 1298A>C	-0,733	0,431	2,891	1	0,480 (0,206–1,119)
MTR 2756A>G	0,166	0,541	0,094	1	1,180 (0,409–3,407)
Константа	1,688	0,983	2,949	1	5,411

B – коефіцієнт регресії; СКП – середньоквадратична похибка.

(відсутність мутації) було 17% пацієнтів з НАЖХП, що стало підставою для застосування методу логістичної регресії як різновиду множинної регресії, метою якої є аналіз зв'язку між кількома незалежними змінними. В такий спосіб можна оцінити вірогідність того, що при носійстві комбінацій певних генів у людини виникне певний фенотип захворювання.

Для з'ясування того, чи є наявність поліморфізмів 677C>T і 1298A>C гена MTHFR потенційним маркером для прогнозу ризику розвитку НАЖХП, використали апарат множинної логістичної регресії (табл. 2). Довірчий інтервал включав 1, тобто верхня межа > 1, а нижня < 1, що свідчить про відсутність статистично значущого впливу (p > 0,05) фактора (наявність поліморфізмів 677C>T і 1298A>C гена MTHFR) на розвиток НАЖХП.

Для порівняння рівня гомоцистеїну проведено розвідувальний аналіз, виявлено розподіл, який відрізнявся від нормального, тому для оцінки між двома незалежними вибірками (група НАЖХП та група без НАЖХП) використовували непараметричний U-критерій Манна – Уїтні.

Рівень гомоцистеїну в групі НАЖХП становив 9,8 [8,3; 10,6], у контрольній групі – 8,8 [7,4;

11,6]. При порівнянні цих даних не виявлено статистично значущої різниці (p > 0,05). У контрольній групі були випадки, коли вміст гомоцистеїну значно перевищував норму (рис. 5). Це свідчить про багатофакторність гіпергомоцистеїнемії, що потребує ретельної диференційної діагностики.

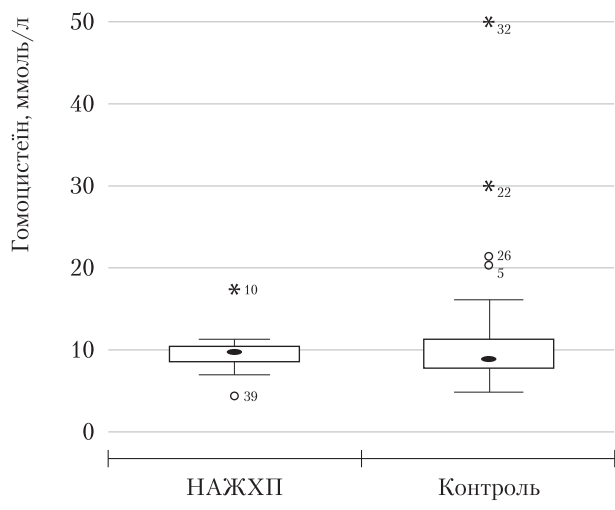


Рис. 5. Рівень гомоцистеїну в групах обстежених

Таблиця 3. Розподіл пацієнтів з НАЖХП та без НАЖХП залежно від значення NAFLD Score

NAFLD Score	З НАЖХП (n = 17)	Без НАЖХП (n = 32)
F0–F2	16 (94%)	29 (90%)
Невизначений	1 (6%)	3 (10%)
F3–F4	0	0

При порівнянні результатів обчислення NAFLD Score в обох групах виявлено майже однакові показники: F0–F2 — у 16 (94%) пацієнтів у групі НАЖХП та 29 (90%) — у групі без НАЖХП. У групі НАЖХП не було жодного випадку F3–F4 (табл. 3). Оскільки в групі НАЖХП було лише 3 (17%) пацієнти з гіпертонічною хворобою та 1 (6%) з ЦД 2 типу і переважали особи молодого віку ((38,0 ± 7,7) року), можна пояснити відсутність різниці за рівнем гомоцистеїну між групами.

A. De Vincentis та співавт. [9] у 2020 р. опублікували результати метааналізу, в якому досліджували зв'язок між поліморфізмами гена *MTHFR* та НАЖХП. Не доведено зв'язку між поліморфізмом гена *MTHFR* і гістологічними ознаками НАЖХП в осіб європейського походження. Дослідження проведено за даними пацієнтів з Італії та Фінляндії. На думку авторів, відсутність асоціації можна пояснити тим, що рівень ферментної недостатності був недостатнім для стимуляції НАЖХП через надмірні шляхи метаболізму гомоцистеїну та регенерації метіоніну. Однак причина, що зв'язує дефіцит *MTHFR* з НАЖХП, полягає не лише у гіпергомоцистеїнемії, а й у зміні метилювання ДНК. Xu Yilun та співавт. у 2020 опублікували дані, які підтверджують зв'язок між неалкогольним стеатогепатитом та виразним фіброзом печінки при НАЖХП і гіпергомоцистеїнемією [20].

Wen-Xing Li та співавт. не виявили кореляції між поліморфізмом генів, які відповідають за порушення фолатного циклу і рівнем гомоцистеїну в ліпідному профілі крові. Вони дійшли висновку, що низький статус фолієвої кислоти та поліморфізм генів, які відповідають за метаболізм гомоцистеїну, можуть мати синергічний ефект дисліпідемії в китайській популяції з гіпотензією [14].

Отримані нами результати узгоджуються з даними A. De Vincentis [9]. Ми пояснюємо відсутність статистично значущої різниці за рівнем гомоцистеїну між групами молодим віком обстежених, відсутністю фіброзу і стеатогепатиту,

незначною часткою (6%) гіпертонічної хвороби в групі НАЖХП.

На підвищення рівня гомоцистеїну в крові, крім генетичного чинника, який ми розглянули, можуть впливати недостатність вітаміну B₁₂, фолієвої кислоти, тютюнокуріння, вживання алкоголю, низки лікарських препаратів (інгібітори протонної помпи, метформін тощо) та інші чинники [12, 18]. З огляду на багатофакторність гіпергомоцистеїнемії та значне поширення поліморфізмів 677C > T і 1298A > C гена *MTHFR* у популяції не доцільно використовувати генетичне дослідження на поліморфізм гена *MTHFR* рутинно у пацієнтів з НАЖХП, лише для проведення диференційного діагнозу гіпергомоцистеїнемії.

Висновки

Систематизація наукових даних методом онтології щодо НАЖХП виявила, що поліморфізми 677C > T і 1298A > C гена *MTHFR* патогенетично пов'язані зі статистично значущим підвищенням рівня гомоцистеїну як маркера серцево-судинних патологій.

Варіант комбінації поліморфізму гена *MTHFR* 667C/C/1298A/A (відсутність мутації) виявлено у 6 (12%) осіб, що свідчить про широку поширеність варіантів з наявністю мутацій. Установлено кореляційний зв'язок ($r = 0,429$; $p < 0,05$) між варіантами поліморфізму 677C > T і 1298A > C гена *MTHFR*.

За результатами множинної логістичної регресії, відсутній статистично значущий вплив поліморфізмів 677C > T і 1298A > C гена *MTHFR* на розвиток НАЖХП ($p > 0,05$)

Порівняння рівня гомоцистеїну у пацієнтів з НАЖХП та без НАЖХП не виявило статистично значущої різниці ($p > 0,05$), так само, як і порівняння в групах з комбінаціями поліморфізмів 677C > T і 1298A > C гена *MTHFR* ($p > 0,05$). Це пояснюється тим, що в групі НАЖХП були переважно пацієнти молодого віку без гіпертонічної хвороби, цукрового діабету 2 типу та виразного фіброзу печінки.

Подяка: професору кафедри гастроентерології, дієтології та ендоскопії Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика В. В. Харченку за допомогу в виборі теми та обґрунтуванні концепції дослідження та за затвердження кінцевого варіанта статті для публікації, доценту кафедри педіатрії № 4 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, к. мед. н. Г. В. Гнилокуренько за допомогу з вибором розрахунково-статистичних методів.

Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи кафедри гастроентерології, дієтології і ендоскопії Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика «Профілактика, діагностика та лікування захворювань печінки та кишечника, поєднаних з патологією інших органів та систем» (державний реєстраційний номер 0117U000908). Вона є фрагментом науково-дослідної роботи Н. О. Носко на тему «Обґрунтування онтологічної моделі медичної допомоги хворим з неалкогольною жировою хворобою печінки» (державний реєстраційний номер: 0118U100267).

Участь авторів: концепція і дизайн дослідження, збір та опрацювання матеріалу — О. Р., Н. Н.; написання тексту, редагування — Н. Н.

Список літератури

1. Анохіна Г.А., Харченко Н.В., Харченко В.В. Метаболічна терапія больних с алкогільной болезнью печени // Ліки України. — 2007. — С. 53.
2. Губергриц Н.Б., Фадеєнко Г.Д., Лукашевич Г.М., Фоменко П.Г. Гепатопротектори: от теорії к практиці. — Донецьк: Лебедь, 2012. — С. 154.
3. Клінічні рекомендації EASL-EASD-EASO щодо діагностики та лікування неалкогільної жирової хвороби печінки // Journal of Hepatology. — 2016. — Т. 64. — С. 1388—1402.
4. Angulo P, Hui J.M., Marchesini G., Bugianesi E. et al. The NAFLD fibrosis score: A noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD // Hepatology. — 2007. — Vol. 45. — P. 846—854. doi: 10.1002/hep.21496.
5. Buzzetti E., Pinzani M., Tsochatzis E. A. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) // Metabolism. — 2016. — Vol. 65 (8). — P. 1038—1048. doi: 10.1016/j.metabol.2015.12.012. Epub 2016 Jan 4. PMID: 26823198.
6. Chalasani N., Younossi Z., Lavine J.E. et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases // Hepatology. — 2018. — Vol. 67 (1). — P. 328—357. doi: 10.1002/hep.29367.
7. Dai H., Wang W., Tang X. et al. Association between homocysteine and non-alcoholic fatty liver disease in Chinese adults: a cross-sectional study // Nutrition Journal. — 2016. — Vol. 15. doi: 10.1186/s12937-016-0221-6.
8. Dai Y., Zhu J., Meng D., Yu C., Li Y. Association of homocysteine level with biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis // J. Clin. Biochem. Nutr. — 2016. — Vol. 58 (1). — P. 76—83. doi: 10.3164/jcbs.15-54.
9. De Vincentis A., Mancina R.M., Pihlajamaki J. et al. Genetic variants in the MTHFR are not associated with fatty liver disease // Liver Int. — 2020. — Vol. 40. — P. 1934—1940.
10. El Hajj Chehadah S.W., Jelinek H.F., Al Mahmeed W.A. et al. Relationship between MTHFR C677T and A1298C gene polymorphisms and complications of type 2 diabetes mellitus in an Emirati population // Meta Gene. — 2016. — N 9. — P. 70—75. doi: 10.1016/j.mgene.2016.04.002.
11. Gumruk F., Orgul G., Akgun Dogan O. et al. The prevalence of homozygous MTHFR polymorphism (s) in a Turkish university hospital population that necessitated MTHFR polymorphism investigation // Electron J. Gen Med. — 2018. — Vol. 15 (4). — em57. https://doi.org/10.29333/ejgm/89674.
12. Hirschowitz B.I., Worthington J., Mohnen J. Vitamin B12 deficiency in hypersecretors during long-term acid suppression with proton pump inhibitors // Aliment. Pharmacol. Ther. — 2008. — Vol. 27 (11). — P. 1110—1121. doi: 10.1111/j.1365-2036.2008.03658.x.
13. Levin B.L., Varga E. MTHFR: addressing genetic counseling dilemmas using evidence-based literature // Journal of Genetic Counseling. — 2016. — Vol. 25. — P. 901—911. doi: 10.1007/s10897-016-9956-7.
14. Li W. X., Lv W. W., Dai S. X., Pan M. L., Huang J. F. Joint associations of folate, homocysteine and MTHFR, MTR and MTRR gene polymorphisms with dyslipidemia in a Chinese hypertensive population: a cross-sectional study // Lipids Health Dis. — 2015. — Vol. 14. — P. 101. doi: 10.1186/s12944-015-0099-x.
15. Liew S.C., Gupta E.D. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases // Eur. J. Med. Genet. — 2015. — Vol. 58 (1). — P. 1—10. doi: 10.1016/j.ejmg.2014.10.004.
16. Marosi K., Agota A., Végh V. et al. A homocisztein és a metilén-tetrahydrofolát-reduktáz, metionin-szintáz, valamint a metionin-szintáz-reduktáz génpolimorfizmusok szerepe a cardiovascularis megbetegedésekben és a magas vérnyomás kialakulásában [The role of homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase, methionine synthase, methionine synthase reductase polymorphisms in the development of cardiovascular diseases and hypertension] // Orv. Hetil. — 2012. — Vol. 153 (12). — P. 445—453. doi: 10.1556/OH.2012.29326.
17. Nefic H., Mackicdjurovic M., Eminovic I. The frequency of the 677C>T and 1298A>C polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in the population // Medical Archives. — 2018. — Vol. 72. — P. 164. doi: 10.5455/medarh.2018.72.164-169.
18. Van Guldener C., Stehouwer C.D. Homocysteine-lowering treatment: an overview // Exp. Opin. Pharmacother. — 2001. — Vol. 2 (9). — P. 1449—1460. doi: 10.1517/14656566.2.9.1449.
19. Wolski H., Kocięcka M., Mrozikiewicz A.E., Barlik M., Kurzawińska G. Coexistence of the 677C>T and 1298A>C MTHFR polymorphisms and its significance in the population of Polish women // Ginekol. Pol. — 2015. — Vol. 86 (10). — P. 742—747. doi: 10.17772/gp/59559.
20. Xu Y., Guan Y., Yang X., Xia Z., Wu J. Association of serum homocysteine levels with histological severity of NAFLD // J. Gastrointest. Liver Dis. — 2020. — Vol. 29 (1). — P. 51—58. doi: 10.15403/jgld-529.

Н. А. Носко, О. М. Рудь

Медицинский центр «Into-Sana», Киев

Полиморфизмы 677С>Т и 1298А>С гена MTHFR и уровень гомоцистеина у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени как составляющая онтологической модели

Цель — систематизировать литературные данные о наличии полиморфизмов 677С>Т и 1298А>С гена *MTHFR* и уровне гомоцистеина у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП); рассчитать частоту комбинаций полиморфизмов 677С>Т и 1298А>С гена *MTHFR* и их влияние на развитие НАЖБП; сравнить уровень гомоцистеина у пациентов с НАЖБП и без такой.

Материалы и методы. Проанализированы данные обследования 49 пациентов: с НАЖБП (n = 17) и без НАЖБП (n = 32). Используются клинические, лабораторные, расчетно-статистические методы и метод онтологии. Полиморфизмы 677С>Т и 1298А>С гена *MTHFR* исследовали методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Содержание гомоцистеина определяли методом хемилуминесцентного иммуноанализа с референтными значениями 3,7—13,9 мкмоль/л. Для исследования влияния полиморфизмов 677С>Т и 1298А>С гена *MTHFR* на развитие НАЖБП использован метод множественной логистической регрессии.

Результаты. Вариант комбинации полиморфизма гена *MTHFR* 667С/С/1298А/А (отсутствие мутации) обнаружен у 6 (12%) лиц, что свидетельствует о широкой распространенности вариантов с наличием мутаций. Установлена корреляционная связь ($r=0,429$; $p<0,05$) между вариантами полиморфизма 677С>Т и 1298А>С гена *MTHFR*. По результатам множественной логистической регрессии, отсутствующее статистически значимое влияние полиморфизмов 677С>Т и 1298А>С гена *MTHFR* на развитие НАЖБП ($p>0,05$). Сравнение уровня гомоцистеина у пациентов с НАЖБП и без НАЖБП не выявило статистически значимой разницы ($p>0,05$), так же, как и сравнение в группах с комбинациями полиморфизмов 677С>Т и 1298А>С гена *MTHFR* ($p>0,05$). Это объясняется тем, что в группе НАЖБП были преимущественно пациенты молодого возраста без гипертонической болезни, сахарного диабета 2 типа и выраженного фиброза печени.

Выводы. Систематизация научных данных методом онтологии по НАЖБП выявила, что полиморфизмы 677С>Т и 1298А>С гена *MTHFR* патогенетически связаны со статистически значимым повышением уровня гомоцистеина как маркера сердечно-сосудистых патологий. Учитывая многофакторность гипергомоцистеинемии и широкое распространение полиморфизмов 677С>Т и 1298А>С гена *MTHFR* в популяции, нецелесообразно использовать генетическое исследование на полиморфизм гена *MTHFR* рутинно у пациентов с НАЖБП, а только для проведения дифференциального диагноза гипергомоцистеинемии.

Ключевые слова: НАЖБП, гомоцистеин, *MTHFR* 677С>Т, *MTHFR* 1298А>С, онтология.

N. A. Nosko, O. M. Rud

Medical Center Into-Sana, Kyiv

Polymorphisms 677C>T and 1298A>C in the MTHFR gene and homocysteine levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease as a component of the ontological model

Objective — to systematize literature data on the presence of 677C>T and 1298A>C polymorphisms in the *MTHFR* gene and homocysteine levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD); to calculate the frequencies 677C>T and 1298A>C polymorphisms combinations in the *MTHFR* gene and their impact on NAFLD development; to compare homocysteine levels in patients with and without NAFLD.

Materials and methods. The analysis has been performed for the results of investigation of 49 patients, from them 17 subjects with NAFLD and 32 without it. Clinical, laboratory, statistical and ontological methods were used in the study. The *MTHFR* 677C>T and *MTHFR* 1298A>C polymorphisms in the *MTHFR* gene were investigated with the use of real time polymerase chain reaction (RT-PCR) technique. Homocysteine levels were determined with chemiluminescent immunoassay with reference values 3.7—13.9 $\mu\text{mol/L}$. Multiple logistic regression method was used to evaluate the effects 677C>T and 1298A>C polymorphisms in the *MTHFR* gene on NAFLD development.

Results. The variant of combination of 667C/C/1298A/A polymorphisms in the *MTHFR* gene (absence of mutation) was revealed in 6 (12%) persons, that showed a widespread prevalence of variants with the presence of mutations. The correlation between variants of 677C>T and 1298A>C polymorphism in the *MTHFR* gene has been established ($r=0.429$; $p<0.05$). The results of multiple logistic regression demonstrated absence of the significant effects of 677C>T and 1298A>C polymorphisms in the *MTHFR* gen on NAFLD development ($p>0.05$). Comparison of the homocysteine levels in patients with and without NAFLD didn't reveal significant difference ($p>0.05$), as well as comparison in the groups with combinations of 677C>T and 1298A>C polymorphisms in the *MTHFR* gen ($p>0.05$). This can be explained by the fact that NAFLD group consisted of mainly young patients without hypertension, type 2 diabetes mellitus and severe liver fibrosis.

Conclusions. Ontological systematization of the scientific data on NAFLD revealed that 677C>T and 1298A>C polymorphisms in the *MTHFR* gen are pathogenetically associated with the significant increase in homocysteine levels as a marker of cardiovascular pathology. Giving the multifactorial nature of hyperhomocysteinemia and wide spread of 677C>T and 1298A>C polymorphisms in the *MTHFR* gen in population, it seems to be impractical to use genetic investigations for *MTHFR* gen polymorphism in NAFLD patients routinely, but only for the purpose of differential diagnosis of hyperhomocysteinemia.

Keywords: NAFLD, homocysteine, *MTHFR* 677C>T, *MTHFR* 1298A>C, ontology.

Контактна інформація

Носко Наталя Олексіївна, аспірант кафедри гастроентерології, дієтології і ендоскопії
E-mail: natnosko77@gmail.com

Стаття надійшла до редакції 25 жовтня 2021 р.

ДЛЯ ЦИТУВАННЯ

- /// Носко Н.О., Рудь О.М. Поліморфізми 677C>T і 1298A>C гена *MTHFR* та рівень гомоцистеїну у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки як складова онтологічної моделі // Сучасна гастроентерологія. — 2021. — № 5—6. — С. 21—29. <http://doi.org/10.30978/MG-2021-5-21>.
- /// Nosko NA, Rud OM. Polymorphisms 677C>T and 1298A>C in the *MTHFR* gene and homocysteine levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease as a component of the ontological model [in Ukrainian]. *Modern Gastroenterology*. 2021;5—6:21-29. <http://doi.org/10.30978/MG-2021-5-21>.