

НОСИТЕЛЬСТВО ПРОТРОМБОТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ И КАЧЕСТВО ЖИЗНИ ПОДРОСТКОВ, ЗАНИМАЮЩИХСЯ СПОРТОМ

Снигирь О.А.^{1,2}, Строзенко Л.А.¹, Лобанов Ю.Ф.¹, Скударнов Е.В.¹

¹ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Алтайский край, Барнаул, e-mail: strozen@mail.ru;

²КГБУЗ «Алтайская краевая клиническая детская больница», Алтайский край, Барнаул, e-mail: olgs6@rambler.ru

Исследование проводилось с целью определения частоты встречаемости протромботических полиморфизмов генов системы гемостаза и фолатного метаболизма у подростков, занимающихся спортом, оценки качества жизни на фоне нормального и повышенного уровня гомоцистеина. Выявлена достоверно значимая частота гетерозиготного полиморфизма гена фибриногена (-455) GA FGB и гетерозиготного полиморфизма гена тромбоцитарного рецептора к фибриногену 1565 TC GPIIb (p<0,05) в группе подростков-спортсменов. При сравнении полиморфизмов генов фолатного цикла определено, что гетерозиготный вариант генотипа 1298 AC гена MTHFR и гетерозиготный полиморфизм гена 66 AG MTRR чаще встречались в группе спортсменов, чем в группе детей, не занимающихся спортом (p<0,05). Сравнение показателей качества жизни подростков-спортсменов проводили с учетом уровня гомоцистеина в крови. Выявлено, что в группе спортсменов с повышенным уровнем гомоцистеина достоверно снижен показатель психосоциального здоровья (p<0,05). В ходе исследования проведена оценка параметров качества жизни спортсменов при повышенном содержании гомоцистеина в крови и после терапии препаратами фолиевой кислоты. Результаты исследования показали, что на фоне приема препаратов фолиевой кислоты значительно улучшился показатель социального функционирования (p<0,05).

Ключевые слова: качество жизни, гомоцистеин, полиморфизмы генов, фолатный цикл.

CARRIAGE OF PROTHROMBOTIC POLYMORPHISMS AND THE LIFE QUALITY OF TEENAGERS DOING SPORTS

Snigir O.A.^{1,2}, Strozenko L.A.¹, Lobanov Yu.F.¹, Skudarnov E.V.¹

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Altai state Medical University" Ministry of Health of the Russian Federation, Barnaul, e-mail: strozen@mail.ru;

²Krai Government-Owned Publicly Funded Healthcare Institution "Altai State Clinical Children's Hospital", Barnaul, e-mail: olgs6@rambler.ru

The research was carried out to identify the occurrence of prothrombotic genes among the teenagers who do sports; to evaluate life quality against the background of normal and elevated level of homocysteine. A significant occurrence of fibrinogen gene polymorphism GA (p<0,05) was revealed statistically more often in the group of teenage sportsmen as well as the gene of platelet fibrinogen receptor TC ITGB3-b (p<0,05) in the group of athletes. In the comparison of polymorphisms genes of the folate cycle heterozygous variant of genotype 1298 AC of MTHFR gene and heterozygous polymorphism of MTRR gene occurred more often in the group of sportsmen with probability value of p<0.05. Estimating blood homocysteine level, we compared the life quality of athletes with normal and elevated homocysteine levels. In the group with elevated homocysteine level there is a significantly low level of psychosocial health. With elevated homocysteine level in the blood it is recommended to take folates. Taking into consideration the neurotoxic action of hyperhomocysteinemia in the body, we evaluated the life quality of children with elevated level of homocysteine before taking folate complexes and after taking folates. The evaluation results showed that with taking folates the level of social functioning has significantly increased (p<0,05).

Keywords: life quality, homocysteine, gene polymorphisms, folate cycle.

Понятие «качества жизни» важно как для здравоохранения при оценке эффективности лечения, так и для всех сфер жизни современного общества. Оценка параметров качества жизни затрагивает не только физическое, но и эмоциональное, социальное, психосоциальное функционирование человека, что также является важной составляющей здоровья человека, ребенка в современном мире. Одна из сфер применения исследования КЖ – проведение

социально-медицинских популяционных исследований для выявления групп риска [1]. В научных журналах опубликовано много работ, посвященных негативному влиянию высокого уровня гомоцистеина на организм. Гомоцистеин - это серосодержащая аминокислота, является промежуточным продуктом в цикле обмена метионина (фолатного обмена). В фолатном цикле из гомоцистеина синтезируется метионин – донор метильной группы для структуры ДНК, липидов и белков. Процесс метилирования является жизненно важным, так как осуществляет защиту ДНК от мутации, обеспечивает нормальную работу генетического аппарата. Правильная последовательность реакций фолатного обмена зависит от количества поступающих фолатов в организм и участвующих ферментов, полиморфизмы генов которых могут снижать функцию того или иного фермента. Следствием нарушения обмена фолатов является повышение уровня гомоцистеина в плазме крови, что приводит к токсическому воздействию на эндотелий сосудов и нейроны и, как следствие, развитию атеросклероза сосудов, нарушению когнитивных функций и тромбогенному риску [2; 3]. Опубликовано много работ о роли гипергомоцистеинемии в патогенезе шизофрении, о связи высокого уровня гомоцистеина в плазме и депрессии [4]. Доказано, что своевременная коррекция фолатами приводит к снижению степени депрессии, профилактике когнитивных нарушений.

Цель исследования

Определить частоту встречаемости полиморфизмов генов факторов системы гемостаза и генов ферментов фолатного цикла и оценить качество жизни подростков-спортсменов при нормальном и повышенном уровне гомоцистеина в крови.

Материалы и методы

В исследование были включены 102 подростка, интенсивно занимающихся в секции футбола и борьбы в среднем в течение 9,5 лет, в возрасте от 14 до 17 лет. Для группы сравнения взяты школьники-подростки, не занимающиеся интенсивно спортом. Материалом для изучения послужила цельная кровь, взятая одноразовым шприцом из кубитальной вены в специализированном кабинете. Определение аллельных вариантов генов осуществлялось в генетической лаборатории Алтайского краевого диагностического центра (г. Барнаул). Определялись ПЦР полиморфизмы тромбофилии: Фактор V Leiden-F5 (Arg506Gln), протромбин-F2 (20210G/A), ингибитор тканевого активатора плазминогена I типа - SERPINE 1 (-675 4G/5G), ген тромбоцитарного рецептора фибриногена – ITGB3-b интегрин (1565 T>C), ген тромбоцитарного рецептора к коллагену – ITGA2 (807 C>T), ген фибриногена – FGB (455 G>A), коагуляционные факторы VII (10976G>A) и XIII –F13 (G>T); ПЦР полиморфизмы фолатного цикла: метилентетрагидрофолатредуктазы - MTHFR (Ala222Val), B12-зависимой метионин-синтазы MTR (2756 A>G) и метионин-синтазы редуктазы – (MTRR Ile22Met, A66G, rs1801394). Также определялся уровень гомоцистеина (ГЦ) в крови у подростков методом твердофазного энзим-связанного иммуносорбентного анализа с

использованием тест-системы (AxisHomocystein EIA, UK). Уровень концентрации гомоцистеина в крови до 10 мкмоль/л взяли за норму для детей пубертатного возраста [4]. Изучение качества жизни проводилось с помощью общего опросника – Pediatric Quality of Life Inventory (PedsQL™ 4.0) [5], вариант для детей в возрасте от 13 до 18 лет. Обработка полученных данных качества жизни переведена в баллы в отделе социальной педиатрии НЦЗД РАМН. Научно-исследовательский проект был представлен в локальном Биоэтическом комитете при АГМУ и утвержден единогласно 30.10.2015 г. (протокол № 11). Все участники исследования подписали информированное согласие.

Статистическая обработка в настоящем исследовании проводилась с помощью пакета программ Statistica 10.0 (StatSoftInc., США). Распределение значений количественных показателей оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка. Для каждого показателя вычисляли 95%-ный доверительный интервал (95% ДИ). Достоверность различия показателей между 2 группами определялась посредством U-критерия Манна–Уитни и точного критерия Фишера, в расчетах использовали φ – угловое преобразование Фишера и χ^2 . Полученные значения при расчете сравниваемых величин считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Обсуждение и результаты

По итогам проведенного анализа распределения аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов факторов системы гемостаза определено, что частота минорного аллеля С 1565 гена GPIIIa достоверно чаще встречается в группе спортсменов-подростков ($p < 0,05$). Вместе с тем зафиксировано, что гетерозиготный полиморфизм (-455) GA гена FGB и гетерозиготный полиморфный вариант гена тромбоцитарного рецептора к фибриногену 1565 TC GPIIIa ($p < 0,05$) выявлялись значимо чаще в группе подростков-спортсменов, чем в группе школьников, не занимающихся профессионально спортом. Частота встречаемости полиморфизма 1691 GA гена FV в гетерозиготном состоянии регистрировалась у 2,9% спортсменов и у 3,3% школьников, достоверных отличий выявлено не было ($p > 0,05$).

При сравнении распределения полиморфизмов генов фолатного метаболизма в двух группах (табл. 1) установлено, что гетерозиготный вариант генотипа 1298 AC гена MTHFR (OR=2,54; 95% ДИ: от 1,35 до 4,78; $p = 0,05$) и гетерозиготный вариант генотипа 66 AG гена MTRR (OR=2,06; 95% ДИ: от 1,05 до 4,05; $p < 0,05$) с большей частотой встречались в группе подростков-спортсменов. Полиморфизмом гена MTRR (A66G) является точковая замена аденина (A) на гуанин (G) в позиции 66, что в 4 раза снижает активность фермента MTRR и соответственно приводит к нарушению метаболизма гомоцистеина и повышению его в плазме крови, а при сочетании с полиморфизмами гена MTHFR усиливает негативный эффект [6]. При количественном подсчете сочетания тех или иных полиморфных вариантов протромботических генов отмечается большее количество полиморфизмов в группе детей,

занимающихся спортом.

Таблица 1

Особенности структуры полиморфизмов генов фолатного цикла школьников-подростков и спортсменов-подростков г. Барнаула

Генотипы полиморфизмов	Спортсмены-подростки n=102 (%)	Школьники-подростки (%)	ОР (95% ДИ)	ОШ (95% ДИ)	χ^2/p
C677 MTHFR: Htzg (CT)	49 (48,0)	131 (42,8) n=306	1,24 (0,79-1,94)	0,8 (0,52-1,27)	0,852/ 0,612
C677 MTHFR: Hmzg (TT)	10 (9,8)	30 (9,8) n=306	1,0 (0,47-2,12)	1,0 (0,47-2,13)	0,000/ 1,000
A1298C MTHFR: Htzg (AC)	56 (54,9)	23 (32,4) n=71	2,54 (1,35-4,78)	0,4 (0,21-0,74)	8,552/ 0,005
A1298C MTHFR: Hmzg (CC)	8 (7,8)	9 (12,7) n=71	0,59 (0,21-1,6)	1,7 (0,62-4,66)	1,101/ 0,311
A2756G MTR: Htzg (AG)	36 (35,3)	17 (23,6) n=72	1,76 (0,9-3,48)	0,6 (0,29-1,12)	2,722/ 0,132
A2756G MTR: Hmzg (GG)	3 (2,9)	7 (9,7) n=72	0,28 (0,07-1,13)	3,6 (0,89-14,24)	3,581/ 0,095
A66G MTRR: Htzg (AG)	42 (41,2)	17 (25,4) n=67	2,06 (1,05-4,05)	0,5 (0,25-0,96)	4,441/ 0,047
A66G MTRR: Hmzg (GG)	39 (38,2)	27 (40,3) n=67	0,92 (0,49-1,72)	1,1 (0,58-2,05)	0,073/ 0,872

В ходе исследования нами были подсчитаны частоты аллелей полиморфных вариантов генов свертывания крови и фолатного цикла. По результатам расчетов установлено, что частота мажорного аллеля А 66 гена MTRR статистически выше в группе школьников-подростков ($p=0,035$) (табл. 2).

Таблица 2

Структура частот аллелей генов фолатного метаболизма

Локус	Аллели	Школьники-подростки (%)	Спортсмены-подростки (%)	Всего (%)	p
MTHFR	C	402 (67,8)	135 (66,2)	229 (70,3)	1,000
C677T	T	191 (32,2)	69 (33,8)	97 (29,7)	1,000
MTHFR	A	101 (71,1)	132 (64,7)	169 (65,5)	0,384
A1298C	C	41 (28,9)	72 (35,3)	89 (34,5)	0,104
MTR	A	113 (78,5)	162 (79,4)	195 (80,6)	1,000
A2756G	G	31 (21,5)	42 (20,6)	47 (19,4)	0,876
MTRR	A	63 (47,0)	84 (41,2)	105 (40,7)	0,035
A66G	G	71 (53,0)	120 (58,8)	153 (59,3)	0,099

Статистика: p - точный критерий Фишера (ТКФ); в скобках - %.

Количественное распределение частот аллелей исследуемых генов проверено на соответствие равновесию Харди-Вайнберга. Выявлено отклонение от равновесия Харди-Вайнберга для частот генотипа A1298C гена MTHFR, по остальным аллелям генов

фолатного метаболизма и генов свертывания крови отклонения от равновесия не выявлено.

Во многих исследованиях по изучению фолатного обмена и его продукта-гомоцистеина описывается негативное нейротоксическое, повреждающее на эндотелий сосуда действие повышенного уровня гомоцистеина в крови [2; 7]. Высокий уровень гомоцистеина является следствием нарушения обмена фолатов, метионина. При недостаточном поступлении фолатов в организм и сниженном образовании метилентетрагидрофолата из фолиевой кислоты нарушается метилирование гомоцистеина в метионин и, как следствие, снижение уровня S-аденозилметионина (ниже SAM) и накопление гомоцистеина. SAM является участником важных биохимических процессов: в синтезе нейротрансмиттеров (мелатонина, серотонина, адреналина, дофамина), клеточных рецепторов, фосфолипидов, ферментов и других белков клетки [8]. Необходимо выделить значимость генов, кодирующих ферменты фолатного цикла, поскольку полиморфные замены в генах способны приводить к снижению функции ферментов. Существенное влияние на обмен фолатов оказывают полиморфные замены в гене MTHFR: C677T полиморфизм при гетерозиготном варианте приводит к снижению активности соответствующего фермента на 35%, а при гомозиготном варианте – на 70%. Незначительно снижают активность фермента полиморфизмы данного гена в позиции 1298. В то же время компаунды гетерозигот по аллелям C677T и A1298C снижают активность фермента до 40-50% [9]. Учитывая выше сказанное, нами проведено исследование уровня гомоцистеина у спортсменов, имеющих гомозиготный вариант минорный аллель (TT) в позиции 677 гена MTHFR и сочетание гетерозиготных вариантов полиморфизмов C677T гена MTHFR и A1298C гена MTHFR. В результате анализа выявлено, что средний уровень гомоцистеина в плазме крови спортсменов составил $17,18 \pm 6,32$ мкмоль/л. Полученный результат уровня гомоцистеина в плазме крови спортсменов с учетом распределения полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла позволил выделить две группы подростков: с нормальным уровнем гомоцистеина и повышенным. Проведен сравнительный анализ параметров качества жизни спортсменов с учетом уровня гомоцистеина в плазме крови, что демонстрирует таблица 3.

Таблица 3

Показатели качества жизни подростков-спортсменов при нормальном уровне ГЦ и ГГЦ в крови

Показатели качества жизни	Гипергомоцистеинемия (n=19)	Показатели ГЦ крови в пределах возрастной нормы (n=11)	<i>p</i>
Физическое функционирование	93,1 (89,1-97,0)	94,8 (91,2-98,4)	0,703
Эмоциональное функционирование	83,4 (77,5-89,4)	90,5 (83,7-97,2)	0,134

Социальное функционирование	89,5 (79,9-99,1)	96,4 (93,3-99,4)	0,171
Школьное функционирование	76,6 (70,8-82,3)	84,5 (77,0-92,1)	0,094
Психосоциальное здоровье	84,7 (81,3-88,1)	90,6 (87,6-93,7)	0,023
Общий балл	86,3 (83,1-89,5)	91,3 (88,5-94,0)	0,029

При сравнении показателей качества жизни двух групп спортсменов выявлено, что при повышенном уровне гомоцистеина в плазме крови происходит значимое снижение психосоциального здоровья спортсменов ($p=0,023$). Как любой биохимический процесс, фолатный цикл регулируется рядом ферментов, наиболее значимыми кофакторами которых являются витамины пиридоксин, цианокобаламин и рибофлавин. Гипергомоцистеинемия в крови эффективно корректируется определенной диетой и приемом фолиевой кислоты с добавлением витаминов В6, В12, В2 в возрастных дозах в течение 1,5-2 мес. [10; 11]. Сформировав группу спортсменов с повышенным уровнем гомоцистеина в крови (более 10,0 мкмоль/л), мы провели терапию препаратами фолиевой кислоты и оценили показатели качества жизни до и после приема фолиевой кислоты. Полученные результаты демонстрирует таблица 4.

Таблица 4

Показатели качества жизни подростков-спортсменов до и после коррекции фолатами

Показатели качества жизни	ГГЦ (n=21)	После приема фолатов (n=21)	<i>p</i>
Физическое функционирование	96,5 (93,9-99,1)	95,0 (92,8-97,2)	0,132
Эмоциональное функционирование	83,8 (78,1-89,5)	85,0 (80,9-89,1)	0,980
Социальное функционирование	95,0 (92,8-97,2)	98,3 (96,8-99,8)	0,015
Школьное функционирование	81,0 (74,1-87,8)	82,9 (79,1-86,6)	1,00
Психосоциальное здоровье	86,2 (82,3-90,1)	89,1 (86,5-91,7)	0,249
Общий балл	88,4 (85,0-91,7)	89,9 (87,5-92,3)	0,559

Анализ полученных данных показал, что после приема фолиевой кислоты уровень социального функционирования спортсменов становится достоверно выше ($p=0,015$). Полученный результат еще раз показывает и доказывает, что повышение уровня гомоцистеина в плазме крови способно оказывать значимое влияние на показатели качества жизни, а именно социальное функционирование подростков-спортсменов.

Выводы

Таким образом, у подростков, занимающихся спортом, в распределении аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов факторов системы гемостаза установлено, что частота минорного аллеля С 1565 гена GPIIIA, частота гетерозиготного варианта гена фибриногена и гетерозиготного варианта гена тромбоцитарного рецептора к фибриногену достигает уровня статистической значимости. Вместе с тем частота мажорного аллеля А 66 гена MTRR, встречаемость гетерозиготного полиморфизма гена MTHFR (1298 AC) и гетерозиготного полиморфного варианта гена MTRR (66 AG) с большей частотой определялись в группе подростков-спортсменов. Отклонение от равновесия Харди-Вайнберга выявлено для частот генотипа А1298С гена MTHFR. Подготовка спортсмена состоит не только в формировании отличной физической формы, но и эмоциональной устойчивости к внешним факторам. Повышенный уровень гомоцистеина у детей, занимающихся спортом, способен снижать показатель качества жизни, а именно уровень социального функционирования. Своевременная коррекция фолатами приводит к улучшению качества жизни подростков-спортсменов, что немаловажно при интенсивном режиме тренировок и высоких требованиях к физическому и психическому здоровью спортсменов.

Список литературы

1. Новик А.А. Исследование качества жизни в педиатрии: учебно-метод. пособие / А.А. Новик, Т.И. Ионова. – М.: РАЕН, 2008. – 104 с.
2. Жилаева Т.В. Нарушения обмена фолатов в свете дизонтогенетической гипотезы этиологии шизофрении // Социальная и клиническая психиатрия. – 2012. – 22 (1). – С. 88-94.
3. Урсуленко Е.В. Современный взгляд на тромбофилию / Е.В. Урсуленко, Н.Н. Мартынович // Сибирский медицинский журнал. – 2010. – Т. 94. – № 3. – С. 127-129.
4. Касимова Л.Н. Роль фолатов в этиологии, патогенезе и лечении депрессивных расстройств / Л.Н. Касимова, Т.В. Жилаева // Практическая медицина. – 2012. - № 2 (57). – С. 13–18.
5. Баранов А.А. Изучение качества жизни в педиатрии / А.А. Баранов, В.Ю. Альбицкий, И.В. Винярская. – М.: Союз педиатров России, 2010. - 272 с.
6. Фетисов И.Н. Полиморфизм генов фолатного обмена и болезни человека / И.Н. Фетисов, А.С. Добролюбова, М.А. Липин // Вестник новых медицинских технологий. - 2007. – Т. X. N1. – С. 23-28.
7. Lai W.K.C., Kan M.Y. Homocysteine-Induced Endothelial Dysfunction // Ann. Nutr. Metab. 2015. – Vol. 67. – P. 1-12.

8. Miller A.L. The Methylation, neurotransmitter and antioxidant connections between folate and depression // *Alternative Medicine Review*. – 2008. – Vol. 13. – № 3. – P. 216-226.
9. Muller T., Muchlack S. et al. Methyl group-donating vitamins elevate 3-o-methyldopa in patients with Parkinson disease / T. Muller, C. Jugel // *Clin Neuropharmacol*. – 2013. – Vol. 36. – No. 2. – P. 52-54.
10. Ефимов З.С. Гипергомоцистеинемия в клинической практике: руководство / З.С. Ефимов, Л.А. Озолия [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 55 с.
11. Строзенко Л.А. Качество жизни подростков-носителей полиморфизмов генов фолатного цикла / Л.А. Строзенко, Ю.Ф. Лобанов, Л.А. Черепанова [и др.]. – 2017. – Т. 20. – № 1. – С. 11-17.