

**THE EFFECT OF C677T AND A1298C MUTATIONS ON  
METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE GENE  
ON PLASMA HOMOCYSTEINE CONCENTRATION  
IN THAI CAD PATIENTS**

**SIREERAT LAODHEERASIRI**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DRGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOCHEMISTRY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY  
2005**

**ISBN 974-04-5606-5  
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

ผลของการเปลี่ยนแปลงของยีนเมทิลินเตดรีไฮโดรโฟเลท รีดักเทสที่ตำแหน่ง C677T และ A1298C ต่อระดับโฮโมซิสเตอีนในคนไทยที่เป็นโรคหัวใจ (THE EFFECT OF C677T AND A1298C MUTATIONS ON METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE GENE ON HOMOCYSTEINE CONCENTRATION IN THAI CAD PATIENTS)

สิริรัตน์ เหล่าธีรศิริ 4437348 SIBC/M

วท.ม.(ชีวเคมี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: สมพงษ์ ่องอาจยุทธ, M.Sc., เนตรนภิส ธีระวัลย์ชัย, Ph.D.,

วัฒนา เลี้ยววัฒนา, M.D.

บทคัดย่อ

ภาวะของระดับโฮโมซิสเตอีนสูงในกระแสเลือดเป็นภาวะเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจ เอนไซม์เมทิลินเตดรีไฮโดรโฟเลท รีดักเทสเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในวงจรรีเมทิลเลชันของวิตามินโฮโมซิสเตอีน ซึ่งเอนไซม์นี้จะทำหน้าที่กระตุ้นปฏิกิริยาของการเปลี่ยน 5,10-เมทิลินเตดรีไฮโดรโฟเลทไปเป็น 5-เมทิลเตดรีไฮโดรโฟเลท ยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการผลิตและการทำงานของเอนไซม์นี้คือ ยีนเมทิลินเตดรีไฮโดรโฟเลท รีดักเทส ความหลากหลายของยีนที่พบได้บ่อยในยีนนี้คือ การกลายพันธุ์ของยีนที่นิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง 677 โดยการเปลี่ยนเบส ไซโตซีนเป็นไทมิน ซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนจาก อะลานีนเป็นวาลีน และการกลายพันธุ์ของยีนที่ นิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง 1298 โดยการเปลี่ยนเบสอะดีนีนเป็นไซโตซีน ทำให้กรดอะมิโนเปลี่ยนจากกลูตามัทเป็นนอะลานีน การกลายพันธุ์ของยีนทั้งสองตำแหน่งนี้ส่งผลต่อการเกิดภาวะระดับโฮโมซิสเตอีนสูงในเลือด ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบถึงความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ดังกล่าวในยีนนี้ และผลกระทบของการกลายพันธุ์ของยีนต่อการเพิ่มขึ้นของระดับโฮโมซิสเตอีนในเลือด ในคนปกติของไทยจำนวน 98 คน และคนไข้โรคหัวใจจำนวน 198 คน โดยใช้วิธี PCR-RFLP พบว่า ความถี่ของอัลลีล T ของการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง 677 ในคนปกติเท่ากับ 0.12 และในคนไข้โรคหัวใจเท่ากับ 0.16 ส่วนความถี่ของอัลลีล C ของการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง 1298 ในคนปกติเท่ากับ 0.27 และในคนไข้โรคหัวใจเท่ากับ 0.31 นอกจากนี้ยังพบว่าการกลายพันธุ์แบบโฮโมไซกัสที่ตำแหน่ง 1298 (1298CC) มีความเสี่ยงสูงถึง 5.663 เท่าที่อาจเป็นสาเหตุของโรคหัวใจ การกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง 677 มีแนวโน้มในการทำให้ระดับโฮโมซิสเตอีนในเลือดเพิ่มสูงขึ้น แต่การกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง 1298 ไม่ส่งผลกระทบต่อระดับโฮโมซิสเตอีน นอกจากนี้การกลายพันธุ์แบบรวมกันของยีนทั้งสองตำแหน่งแบบเฮเทอโรไซกัส (677CT/1298AC) ยังทำให้ระดับโฮโมซิสเตอีนสูงกว่าคนปกติ(677CC/1298AA) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.0156$ ) ในคนปกติ จากการศึกษาี้สามารถสรุปได้ว่า การกลายพันธุ์ของยีนนี้ที่ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ 677 และ การกลายพันธุ์แบบรวมกันของยีนทั้งสองแบบเฮเทอโรไซกัสส่งผลกระทบต่อระดับโฮโมซิสเตอีนในเลือด นอกจากนี้การกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง 1298 แบบโฮโมไซกัส (1298CC) ยังพบว่าก่อให้เกิดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ แต่อย่างไรก็ตามความผิดปกติของยีนเมทิลินเตดรีไฮโดรโฟเลท รีดักเทสทั้งสองตำแหน่งนี้ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหัวใจ

124 หน้า. ISBN 974-04-5606-5.

THE EFFECT OF C677T AND A1298C MUTATIONS ON METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE GENE ON HOMOCYSTEINE CONCENTRATION IN THAI CAD PATIENTS.

SIREERAT LAODHEERASIRI 4437348 SIBC/M

M.Sc. (BIOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORS : SOMPONG ONG-AJ YOOTH M.Sc., NEDNAPIS TIRAWANCHAI Ph.D., WATTANA LEOWATTANA MD.

ABSTRACT

Hyperhomocysteinemia has been identified as an independent risk factor for coronary artery disease (CAD). Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) is an enzyme in the remethylation cycle in homocysteine metabolism which catalyzes the conversion of 5,10-methylenetetrahydrofolate to 5-methyltetrahydrofolate. Two common polymorphisms of the MTHFR gene, C677T and more recently reported A1298C polymorphisms may contribute to hyperhomocysteinemia. In the present study, we determined the prevalence of two common MTHFR polymorphisms, C677T and A1298C, in 98 healthy control subjects and 199 CAD patients. MTHFR genotypes were analyzed by polymerase chain reaction followed by *Hinf* I and *Mbo* II digestions for C677T and A1298C, respectively. It was found that the T allelic frequency of C677T mutation on the MTHFR gene was 0.12 in healthy control subjects and 0.16 in CAD patients. The C allelic frequency of the A1298C was 0.27 in healthy control subjects and 0.31 in CAD patients. The homozygous of 1298CC genotype was more significantly highly prevalent in CAD patients (10.55%) than in healthy control subjects (2.04%). Here we found that 1298CC individuals had a 5.663-fold increased risk for CAD. Mean plasma homocysteine concentrations in heterozygous 677CT genotype ( $13.75 \pm 4.70$   $\mu\text{mol/L}$ ) and homozygous 677TT genotype ( $50$   $\mu\text{mol/L}$ ) in CAD patients were higher than wild type ( $12.75 \pm 4.62$   $\mu\text{mol/L}$ ) but these differences were not significant ( $p > 0.05$ ). The only A1298C mutation has no effect on the increased level of homocysteine. The combined heterozygosity 677CT/1298AC MTHFR variant was, however, correlated with the elevation of the level of homocysteine, it was significantly different in healthy control subjects ( $p = 0.0156$ ) but in CAD patients it was not. It was concluded that C677T and combined heterozygous 677CT/1298AC MTHFR gene variants may be involved in increasing the level of homocysteine concentration. Moreover, individuals with MTHFR homozygous 1298CC genotype may be at an increased risk for CAD. However, the association of these genotypes was not correlated with CAD.

KEY WORDS : C677T/ A1298C/ HYPERHOMOCYSTEINEMIA/  
HOMOCYSTEINE/ METHYLENETETRAHYDROFOLATE  
REDUCTASE/ MUTATION

124 P. ISBN 974-04-5606-5.