

УДК: 616.12:575.113.2+577.152.1  
КП  
№ держреєстр. 0113U000132  
Інв. №

Міністерство освіти і науки України  
Сумський державний університет  
(СумДУ)

40007, Україна, м. Суми, вул. Римського-Корсакова, 2, тел. (0542) 33 41 08

ЗАТВЕРДЖУЮ  
Проректор з наукової роботи  
д.ф-м.н., професор  
\_\_\_\_\_ А.М. Черноус  
2013.12.26

ЗВІТ  
ПРО НАУКОВО-ДОСЛІДНУ РОБОТУ

«ЗВ'ЯЗОК ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ MGR I VDR З  
РОЗВИТКОМ ІШЕМІЧНОГО АТЕРОТРОМБОТИЧНОГО ІНСУЛЬТУ»

(проміжний)

Начальник НДЧ,  
к.ф-м.н.

2013.12.26

Д.І. Курбатов

Керівник НДР,  
д.мед.н., професор

2013.12.26

О.В. Атаман

2013

Рукопис закінчено 20 грудня 2013 року

Результати роботи розглянуто науковою радою, протокол №3 від 2013.12.26

## СПИСОК АВТОРІВ

Керівник НДР, д.мед.н., професор, завідувач кафедри фізіології і патофізіології	2013.12.20	О.В.Атаман (вступ, розділ 1.1)
Доцент кафедри фізіології і патофізіології , д.б.н	2013.12.20	В.Ю.Гарбузова (розділ 4.1)
Доцент кафедри фізіології і патофізіології , к.б.н	2013.12.20	В.Ю. Гарбузова (розділ 4.2)
Доцент кафедри фізіології і патофізіології , к.с-г.н	2013.12.20	В.І.Кіндя (розділ 4.3 )
Доцент кафедри внутрішніх хвороб, к.мед..н	2013.12.20	Ю.О.Атаман (розділ 1.2 )
Аспірант кафедри фізіології і патофізіології	2013.12.20	О.І.Матлай (розділ 2)
Магістр медичного інституту	2013.12.20	Є.І.Дубовик (розділ 3)
Магістр медичного інституту	2013.12.20	А.О.Бороденко (розділ 1.3)
Студентка медичного інституту	2013.12.20	Д.А. Просол (розділ 1.4 )
Студентка медичного інституту	2013.12.20	К.А. Шимко (розділ 1.4 )

## РЕФЕРАТ

Проміжний звіт по НДР : 90 с., 9 рис., 40 таб., 78 джерел.

Об'єкт дослідження – молекулярно-генетичні механізми розвитку склеротичних уражень кровоносних судин.

Мета роботи – визначення зв'язку поліморфізму поодиноких нуклеотидів генів MGP і VDR з розвитком склеротичних уражень артеріальних судин, що ведуть до тяжких ускладнень (ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАТІ)).

Методи дослідження – полімеразна ланцюгова реакція з наступним аналізом довжин рестрикційних фрагментів.

Вперше встановлено, що алельний поліморфізм гена MGP є важливим чинником спадкової схильності до розвитку ІАТІ. У гомозигот за мінорним алелем А/А (G-7A поліморфізм) ризик ІАТІ у 2,6 раза більший, ніж у носіїв основного алеля (G/G+G/A). Вплив генетичного чинника на розвиток цереброваскулярної патології має статеві особливості. Особи жіночої статі, гомозиготні за мінорним алелем А/А у 6,6 раза частіше хворіють на ІАТІ, ніж жінки-носії основного алеля. Встановлення такого зв'язку дасть змогу в майбутньому прогнозувати ризик виникнення і розвитку склеротичних уражень судин та їх тяжких наслідків і на цій основі пропонувати та застосовувати сучасні методи профілактики та лікування в осіб, що мають спадково зумовлену схильність до судинної патології. Цим може бути досягнуто важливий економічний і соціальний ефект, який полягає в зменшенні захворюваності і смертності від ускладнень різних типів артеріосклерозу. Результати дослідження можуть бути використані при підготовці фахівців у галузі медичної і молекулярної генетики, при створенні методів виявлення спадкової схильності до найпоширеніших в Україні хвороб і розробці засобів їх попередження та лікування.

АЛЕЛЬНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ, ГЕН, MGP, VDR, СКЛЕРОТИЧНІ УРАЖЕННЯ, КРОВОНОСНІ СУДИНИ, ІШЕМІЧНИЙ АТЕРОТРОМБОТИЧНИЙ ІНСУЛЬТ.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ. ....	5
ПЕРЕДМОВА .....	6
ВСТУП. ....	7
1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ З ПИТАННЯ РОЛІ АЛЕЛЬНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ MGR І VDR У РОЗВИТКУ ІШЕМІЧНОГО АТЕРОТРОМБОТИЧНОГО ІНСУЛЬТУ	
1.1 СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ПАТОГЕНЕЗ ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ ....	10
1.2 ГЕН MGR ТА ЙОГО ПОЛІМОРФІЗМИ. ....	17
1.3 ГЕН VDR ТА ЙОГО ПОЛІМОРФІЗМИ .....	21
2 ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ДОСЛІДЖЕННЯ ....	28
3 МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ З НАСТУПНИМ АНАЛІЗОМ ДОВЖИНИ РЕСТРИКЦІЙНИХ ФРАГМЕНТІВ..	29
4 АЛЕЛЬНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ MGR І VDR	
4.1 ПОЛІМОРФІЗМ T-138C ГЕНА MGR У ХВОРИХ З ІАТІ І В КОНТРОЛЬНІЙ ГРУПІ .....	34
4.2 ПОЛІМОРФІЗМ G-7A ГЕНА MGR У ХВОРИХ З ІАТІ І В КОНТРОЛЬНІЙ ГРУПІ. ....	47
4.3 ПОЛІМОРФІЗМ THR83ALA ГЕНА MGR У ХВОРИХ З ІАТІ І В КОНТРОЛЬНІЙ ГРУПІ .....	59

4.4 ПОЛІМОРФІЗМ ФОКІ ГЕНА VDR У ХВОРИХ З ІАТІ І В КОНТРОЛЬНІЙ	
ГРУПІ.....	70
ВИСНОВКИ.....	81
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ.....	82

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АГ – артеріальна гіпертензія

АТ – артеріальний тиск

АТФ – аденозинтрифосфорна кислота

ГП – гострий ішемічний інсульт

ГКК – гіперкоагуляція крові

ГМК – гладкі м'язові клітини

ДАТ – діастолічний артеріальний тиск

ДАХ – дисліпідемія атерогенного характеру

ІАТІ – ішемічний атеротромботичний інсульт

ІМТ – індекс маси тіла

ІХС – ішемічна хвороба серця

мРНК – матрична рибонуклеїнова кислота

ПАТ – пульсовий артеріальний тиск

РРі – неорганічний пірофосфат

САТ – систолічний артеріальний тиск

СрАТ – середній артеріальний тиск

ХС – холестерол

ХС-ЛПВГ – холестерол ліпопротеїдів високої густини

ХС-ЛПДНГ – холестерол ліпопротеїдів дуже низької густини

ХС-ЛПНГ – холестерол ліпопротеїдів низької густини

ЦД – цукровий діабет

## ПЕРЕДМОВА

Завершення глобального проекту з ідентифікації геному людини започаткувало нову еру досліджень генів - вивчення поліморфізму поодиноких нуклеотидів (SNP) та їхнього зв'язку з багатьма поширеними хворобами. У різних країнах світу з початку нинішнього століття ведуться дослідження ролі поліморфізму різних генів у виникненні і розвитку практично всіх недуг, що мають важливе значення для суспільного здоров'я (хвороби кровоносних судин і серця, органів дихання, травлення, нервової системи; злоякісні пухлини; запальні, алергічні, інфекцій процеси та ін.). Серед відомих сьогодні більш як 30 тисяч генів людини беруться до вивчення ті, з якими пов'язують відповідно до сучасних уявлень чутливість чи стійкість організму до хвороб; які можуть мати стосунок до провідних патогенетичних механізмів розвитку патологічних процесів і недуг.

Особлива увага дослідників прикута до молекулярно-генетичних механізмів розвитку склеротичних уражень кровоносних судин - атеросклерозу і артеріосклерозу Менкеберга, що зумовлено високою поширеністю цих недуг у цивілізованих країнах світу і їхніми тяжкими наслідками для здоров'я. Саме їх ускладнення (інфаркт міокарда, інсульт, гангрена кінцівок) посідають перше місце серед причин смертності населення.

Дослідження в цьому напрямі проводяться і в Україні. Їхнім центром є Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України та Інститут кардіології ім. М.Д.Стражеска АМН України. Так, у цих наукових закладах досліджується роль поліморфізму генів, що кодують ряд ферментів (NO-синтазу, конвертазу, металопротеїнази та ін.) та важливих білків-регуляторів, у розвитку гострого коронарного синдрому, артеріальної гіпертензії та інших серцево-судинних хвороб. На відміну від цих досліджень у роботі, що проведена, вивчено поліморфізм гена, причетного до розвитку кальцифікації судинної стінки - важливого компоненту атеросклеротичних уражень і артеріосклерозу Менкеберга.

## ВСТУП

Велика увага вчених генетиків і медиків усього світу прикута сьогодні до проблеми різноманітності генома людини – проблеми генетичного поліморфізму. Наукове і прикладне значення цього нового напрямку науки знайшло віддзеркалення у двох міжнародних наукових проектах - "Різнманітність геному людини" ("Human Genome Diversity Project) [1], який спрямований головним чином на вирішення фундаментальних наукових проблем, пов'язаних із походженням людини, виникненням рас, етногенезом, антропологією, і "Зовнішнє середовище і геном людини" ("Environmental Genome Project") [2], задачі якого мають переважно прикладний характер і стосуються з'ясування генетичних основ індивідуальної чутливості і стійкості людини до несприятливих екзогенних факторів (екогенетика), лікарських препаратів (фармакогенетика) та ін. У ході таких досліджень виникло уявлення про існування "генів схильності" ("predisposing genes") - мутантних алелей, які сумісні з народженням і життям, але при певних несприятливих умовах можуть викликати розвиток тих чи інших захворювань, які належать до багаточисельної групи мультифакторіальних хвороб, в розвитку яких беруть участь як генетичні фактори, так і фактори зовнішнього середовища [3]. Дослідження ролі генетичних факторів в розвитку мультифакторіальних захворювань є одним із найперспективніших напрямів сучасної генетики і провідною галуззю охорони здоров'я.

Із впровадженням методів молекулярної генетики в медичну практику стало можливим вивчення генетичних маркерів, які обумовлюють виникнення тих чи інших мультифакторіальних хвороб, що має велике значення не тільки для визначення спадкової схильності до них, а й для вибору метода лікування, прогнозу розвитку ускладнень. Успіхами світової наукової спільноти сьогодні накопичена значна кількість даних про участь різних поліморфних генів у формування схильності до мультифакторної патології [4].



Одним з генів-кандидатів, поліморфізм яких може бути пов'язаний зі спадковою схильністю до цілого ряду мультифакторіальних захворювань, є матриксних Gla-протеїн (MGP). Сьогодні вивчається зв'язок різних алельних варіантів гена MGP із серцево-судинними (атеросклерозом, інфарктом міокарда, інсультами) [5,6,7,8] і онкологічними захворюваннями [9], остеопорозом [10], сечокам'яною хворобою [11], випадінням зубів [12], інтоксикацією свинцем [13,14] та ін. Отримані дані неоднозначні, вкрай суперечливі, а для української популяції взагалі відсутні.

Дослідженнями ВООЗ показано, що традиційні підходи в терапії цих та інших поширених мультифакторних хвороб малоефективні і ведуть до суттєвих економічних витрат. Проблема низької ефективності лікувально-профілактичних заходів пов'язана з відсутністю їхньої етіологічної спрямованості внаслідок недостатнього розуміння провідних механізмів формування переважної більшості мультифакторних хвороб [4].

Виконання проекту може в перспективі мати важливе практичне значення, оскільки на підставі даних вивчення геному можна буде прогнозувати ризик розвитку серцево-судинних хвороб та їхніх ускладнень і на цій основі пропонувати засоби ефективної профілактики, а в разі виникнення недуг - адекватні методи їх лікування, що поліпшить якість життя і його тривалість у населення України. Здобутий у дослідженні науковий матеріал може скласти основу розділів підручників та навчальних посібників, у яких викладаються молекулярно-генетичні механізми розвитку патологічних процесів і хвороб.

# 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ З ПИТАННЯ РОЛІ АЛЕЛЬНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ MGR I VDR У РОЗВИТКУ ІШЕМІЧНОГО АТЕРОТРОМБОТИЧНОГО ІНСУЛЬТУ

## 1.1 Сучасні погляди на патогенез ішемічного інсульту

До найважливіших досягнень в області ангіоневрології за останні роки слід віднести створення сучасної концепції патогенетичної гетерогенності гострих ішемічних інсультів (ГІ) [15]. В її основі лежать уявлення про різноманіття причин і механізмів розвитку ГІ, з'ясування яких має велике значення для практики. Приблизно 95% ГІ зумовлені трьома основними причинами: атеротромбозом, емболією та гіперперфузією через зміни стінки та просвіту церебральних судин великого, середнього і малого діаметра або емболією з серця та аорти. Будь який ГІ, викликаний оклюзією мозкової артерії внаслідок тромбозу *in situ*, різким зниженням кровотоку дистальніше місця критичного стенозу або артеріо-артеріальної емболією, називають атеросклеротичним [16]. З усіх атеросклеротичних ГІ 2/3 пов'язані з атеротромбозом та 1/3 - з артеріо-артеріальною емболією [17]. Близько 5% ГІ виникають внаслідок більш рідких причин, таких як спадкові захворювання, патологія сполучної тканини, диссекція артерій, васкулопатії, метаболічні та інші розлади. Приблизно в 40% випадків механізм ГІ залишається невідомим.

Усі випадки атеротромбозу можна розділити на два види: ураження макросудин з утворенням територіальних інфарктів (70%) та ураження мікросудин з формуванням дрібних інфарктів (30%). Частіше за інших при гемісферних ГІ уражається басейн середньої (50-75% випадків), рідше - передньої і задньої мозкових артерій (20 і 10% відповідно). Стенози інтракраніальних артерій є причиною 5-10% ГІ, причому переважає ураження каротидного сифона, проксимальних ділянок середньої мозкової та основної артерій [16]. Відомо, що кожну хвилину через сонні артерії протікає 600-800 мл крові, а через хребцеві - близько 200 мл, тому частота ГІ в передній циркуляції (каротидному басейні) в 3-4 рази вище, ніж в задній (вертебро- базилярному басейні).

Оскільки абсолютна більшість ГП пов'язана з трьома основними патогенетичними механізмами (атеротромбоз/атеротромбоемболія, кардіогенна емболія і мікроангіопатія), на практиці, як правило, доводиться дифференціювати саме ці причини.

Найбільш поширеним видом патології мозкових артерій є атеросклеротичне ураження, яке з віком розвивається практично у всіх людей. Атеросклеротичні бляшки, або атероми, локалізуються переважно у великих судинах або артеріях середнього розміру, особливо в місцях розгалуження (наприклад, біфуркація сонних артерій), вигинів (дуга аорти) і злиття [17].

Щодо механізму розвитку атеросклерозу існують численні погляди. Один із основних напрямків фундаментальних досліджень сучасності пов'язаний із розробкою ліпопротеїдної теорії атеросклерозу. Відповідно до цієї теорії, в організмі людини різко змінюється співвідношення між атерогенними ліпопротеїдами низької та дуже низької щільності й антиатерогенними ліпопротеїдами високої щільності на користь перших. Експериментальними і клінічними даними доведено, що первинну атерогенну дію справляють не стільки самі холестерин-ліпопротеїди низької щільності, скільки продукти їхнього автоокиснення.

По мірі зростання бляшка зменшує просвіт судини, і на певному етапі черговий тромб, утворений на її поверхні, призводить до зниження кровотоку та ішемії (атеротромбоз). Наслідки атеротромбозу залежать від балансу про- й антитромботичних факторів, калібру судини, довготривалості та можливостей колатерального кровопостачання. Утворені тромби можуть розчинятися внаслідок місцевих фібринолітичних механізмів, включатися до складу бляшки, сприяючи прогресуванню стенозу, зростати дистально і проксимально, перекриваючи просвіт судини, а також фрагментуватися, викликаючи артеріо-артеріальну емболію (атеротромбоемболія). Емболи можуть бути свіжими і пухкими або старими і щільними і зазвичай складаються з комбінації кристалів холестерину, елементів бляшки, скупчень тромбоцитів і фібрину. Залежно від складу і властивостей емболи можуть руйнуватися або викликати стійку оклюзію

артерії з подальшим локальним тромбоутворенням. Емболи із зони біфуркації сонних артерій, як правило, потрапляють в сітківку і гілки середній і передній мозкових артерій. В окремих випадках можуть потрапляти і в інші ділянки мозку (наприклад, задні мозкові артерії, якщо судини вертебробазиліарного басейну заповнюються через задню сполучну артерію). Зрідка емболи закупорюють дрібні пенетруючі артерії, викликаючи лакунарні інфаркти. Між тим атеротромботична оклюзія відносно рідко спричиняє ГП в каротидному басейні. У вертебробазиліарному басейні такий механізм ГП спостерігається частіше, хоча там також документовано безліч випадків артеріо- артеріальної емболії.

По мірі прогресування ураження артерії кровоток в її басейні поступово знижується, і ауторегуляція мозкового кровообігу вже не може компенсувати зниження перфузійного тиску. Якщо при цьому також вичерпані резерви колатерального кровообігу, то виникає зона гіпоперфузії з низьким кровотоком і починає рости екстракція з крові кисню та глюкози. Коли кровоток падає до 40-50% від нормального рівня (нижче 20-25 мл на 100 г речовини мозку за хвилину), для збереження рівня АТФ і йонного гомеостазу приноситься в жертву електрична активність нейронів (межа пригнічення електричної активності). При цьому порушуються нормальні функції клітин кори і знижується амплітуда викликаних із зони ішемії потенціалів, що виражається проявом осередкових неврологічних симптомів. Коли кровоток падає нижче 15 мл на 100 г / хв, викликані потенціали зникають, і електроенцефалограма сплющується. Наростають зміни складу електролітів у клітинах. Критичною межею гіпоперфузії, за яким починаються незворотні ушкодження речовини мозку, є <math>< 10</math> мл на 100 г / хв. Відомо, що на ризик ускладнень впливає не тільки ступінь стенозу, а й морфологія бляшки. Максимальний ризик інсульту відмічається при великих (більше 40 мм) виразках, гетерогенній структурі та крововиливах у бляшку, мінімальний - при стабільних бляшках з фіброзною «покришкою».

Ішемічний інсульт характеризується стабільним або частково регресуючим неврологічним дефіцитом та передбачає розвиток гострого порушення мозкового кровообігу, зумовленого гіпоперфузією в певній ділянці мозку з формуванням

зони некрозу — інфаркту (загибель усіх тканинних елементів: нейронів і клітин нейроглії).

Провідними патогенетичними механізмами при гострій ішемії головного мозку є наступні процеси [18]:

- 1) виснаження клітинних енергетичних ресурсів;
- 2) надмірне накопичення збуджуючих амінокислот і пов'язана з цим ексайтотоксичність;
- 3) утворення активних форм кисню з розвитком оксидантного стресу;
- 4) функціональні зміни гематоенцефалічного бар'єра (ГЕБ) та його складової — ендотелію церебральних судин;
- 5) реакція стрес-реалізуючої імунонейроендокринної системи на ушкодження головного мозку.

Раптове зменшення перфузії головного мозку призводить до значного обмеження надходження в мозкову тканину основних енергетичних субстратів — кисню та глюкози. Це сприяє розвитку фазного процесу, результатом якого є зниження активності мітохондріального дихального ланцюга та синтезу АТФ. Розвиток енергетичного дефіциту і лактат-ацидозу в умовах зростаючої до критичних значень ішемії мозкової тканини запускає ряд патологічних реакцій, що перебігають у всіх основних клітинних пулах центральної нервової системи.

Під час розвитку гострої церебральної ішемії спостерігається певна послідовність виникнення каскаду метаболічних порушень: первинна реакція виникає у разі зменшення мозкового кровотоку нижче 55 мл/100 г за 1 хв і проявляється гальмуванням синтезу білка; зменшення мозкового кровотоку нижче 35 мл/100 г за 1 хв стимулює анаеробний гліколіз. У випадку, якщо мозковий кровотік становить менше 20 мл/100 г за 1 хв (верхній ішемічний поріг або поріг втрати електричної функції нейронів), на фоні максимального підвищення фракції витягу кисню з артеріальної крові до 45–50 % порушується церебральний метаболізм: швидкість церебрального метаболізму кисню знижується до 2,0–2,5 мл/100 г за 1 хв, а швидкість церебрального метаболізму глюкози — до 2 мл/100 г за 1 хв. На короткий термін (перші 1–6 год) це допомагає

підтримувати метаболічний рівень кисню, глюкози, запобігаючи розвитку інфаркту мозку.

Надалі стан церебральної ішемії у разі відновлення перфузії в перші 6–18 год може зазнати зворотнього розвитку (ішемічна пенумбра) або ж стати необоротним (інфаркт мозку).

Зменшення мозкової перфузії нижче порога енергетичного ушкодження протягом декількох годин компенсується посиленою екстракцією тканиною мозку кисню з артеріальної крові. На короткий проміжок часу це допомагає підтримувати метаболічний рівень кисню і попереджує розвиток церебрального інфаркту. Однак після цього споживання його знижується. Недостатнє надходження кисню зумовлює перехід на анаеробний гліколіз для підтримання можливості синтезу АТФ за рахунок молочної кислоти і накопичення  $\text{CO}_2$ , що призводить до розвитку метаболічного ацидозу. Останній є основною причиною виникнення цитотоксичного набряку головного мозку, який розвивається у внутрішньоклітинному секторі через декілька годин після формування ішемії. На 2-гу - 7-му добу після розвитку ішемічного інсульту в позаклітинному секторі виникає вазогенний набряк головного мозку. Внаслідок зниження перфузійного тиску з тучних клітин вивільнюється гістамін, порушується проникність гематоенцефалічного бар'єра, що обумовлює трансудацію рідини та білків крові в інтерстиційну тканину. Набряк головного мозку ще більше порушує кисневу дифузію, клітинний обмін та мікрогемодинаміку, розвивається зачароване коло з дедалі сильнішим пошкодженням і розширенням ішемічного вогнища. На цьому етапі еволюції гострої церебральної ішемії порушується авторегуляція мозкового кровотоку, посилюються агрегація тромбоцитів, внутрішньосудинний стаз, венозний застій і венозна гіперволемія, що, у свою чергу, поглиблює ступінь ішемії, робить її незворотною.

Пригнічення енергетичної продукції у клітині призводить до порушення функції  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазної ферментної системи з подальшим розладом трансмембранних іонних градієнтів. Внаслідок цього запускається каскад

ушкоджуючих глутамат-кальцієвих реакцій, які відіграють провідну роль у формуванні вогнища некрозу в мозковій тканині під час ішемії.

Порушення активного іонного транспорту призводить до пасивного відтоку  $K^+$  з клітин та припливу  $Ca^{2+}$  у клітини, внаслідок чого відбувається деполяризація клітинних мембран та подальший приплив  $Ca^{2+}$  у клітини через потенціалзалежні кальцієві канали. Накопичення  $H^+$  у клітині та ацидоз також призводять до значного вивільнення  $Ca^{2+}$  з органел. Зростання концентрації внутрішньоклітинного  $Ca^{2+}$  в пресинаптичних нейронах викликає неспецифічне, нефізіологічне вивільнення збуджуючих амінокислот - глутамату та аспартату в міжклітинний простір, одночасно з цим відбувається порушення зворотнього захвату глутамату [18]. Глутамат та аспартат, що вивільнюються у великій кількості, спричиняють перезбудження постсинаптичних рецепторів, що отримало назву ексайтотоксичності.

На сучасному етапі вважається, що надходження іонів  $Ca^{2+}$  усередину клітини через канали NMDA- рецепторів є ключовою подією в реалізації токсичних ефектів глутамату. Приток  $Na^+$  супроводжується входом у клітини води та  $Cl^-$ . Це, у свою чергу, призводить до набухання апікальних дендритів та лізису нейронів. У період зростання ішемії головного мозку ступінь вираженості деструктивних змін нейронів корелює із рівнем глутамату. «Кальцієве перевантаження» нейронів та активація кальційзалежних процесів (підвищення активності протеаз, кіназ, ендонуклеаз, ліпооксигеназ, фосфоліпази  $A_2$  та інших ферментів) призводить до значних змін у метаболізмі та генетичному апараті клітини, а також до неконтрольованої дії вільних радикалів, наслідком чого є необоротна клітинна загибель.

Окрім впливу власне на клітину, прозапальні цитокіни, медіатори запалення, високоактивні вільні радикали та гострофазові астроцитарні білки справляють негативний вплив на міжклітинні структури та судинну стінку. При цьому відбувається ушкодження базальної мембрани, міжендотеліальних контактів та самої ендотеліальної вистилки церебральних судин (Виничук С.М., 2003).

Підвищення рівня іонів  $\text{Ca}^{2+}$  у цитоплазмі клітин викликає неспецифічну активацію фосфоліпази  $\text{A}_2$  та інших фосфоліпаз, які підсилюють ушкодження структурних фосфоліпідів мембран. Деструкція мембран нейронів за умов активації клітинних ферментів призводить до активації процесів вільнорадикального окислення та перекисного окислення ліпідів.

З іншого боку, позаклітинне вивільнення прозапальних цитокінів, медіаторів запалення, високоактивних вільних радикалів і гострофазових астроцитарних білків негативно впливає на міжклітинні структури, навколишні клітинні мембрани і, що важливо, на судинну стінку. При цьому відбувається пошкодження базальної судинної мембрани, щільних мікендотеліальних контактів, самої ендотеліальної вистилки церебральних судин та як результат - розвиток функціональних порушень гематоенцефалічного бар'єра.

Особливо руйнівний розпад фосфоліпідів відбувається в зовнішній клітинній мембрані та в мембранах внутрішньоклітинних органел. При цьому масивно вивільнюється арахідонова кислота, метаболізм якої пов'язаний із утворенням простагландинів, тромбоксанів, гідрокси- та гідропероксижирних кислот, лейкотрієнів, ліпоперекисів і реактивних вільних радикалів, що значно інтенсифікує процеси вільнорадикального окислення і перекисного окислення ліпідів. Різке посилення окислювальних процесів призводить до розвитку оксидантного стресу, що є одним із універсальних механізмів пошкодження тканин організму, особлива небезпека розвитку якого в ЦНС визначається значною інтенсивністю окислювального метаболізму мозку.

Модифіковані ліпіди клітинних мембран мають властивість індукувати апоптоз. Це відбувається за рахунок зміни концентрації цитозольного кальцію, що опосередковує дію активних форм кисню на системи внутрішньоклітинних месенджерів, а також за рахунок прямого впливу на експресію проапоптозних генів, зокрема *bax*, *bcl-xS*, *c-fos*, *c-jun*, *p53*. Крім того, продукти ПОЛ викликають активацію стрес-реалізуючої імунонейроендокринної системи [18].



## 1.2 Ген MGP та його поліморфізми

Матриксний Gla-протеїн (MGP) є представником групи залежних від вітаміну К білків, що містять залишки  $\gamma$ -карбоксиглютамінової кислоти (Gla). До цієї самої групи належать білки, що беруть участь у коагуляції крові: протромбін, фактори VII, IX і X, протеїни C, S і Z. Подібним до MGP є кістковий Gla-протеїн (BGP), відомий також під назвою остеокальцин.

Уперше білок, названий MGP, було виділено у 1983 році в лабораторії Price з екстрактів демінералізованого матриксу кісток биків [19]. Таке екстрагування здійснювали розчинами сечовини з додаванням хлориду кальцію. MGP виявився відмінним від відкритого раніше BGP, хоча мав із ним дуже багато подібних рис, що свідчило про спільне еволюційне походження цих двох матриксних протеїнів. Згодом було визначено первинну структуру MGP, основні хімічні характеристики, локалізацію гена MGP та його будову [20].

На відміну від BGP, який синтезується виключно в тканинах кісток і зубів (структурах із фізіологічною мінералізацією), MGP утворюється в багатьох м'яких тканинах, зокрема в хрящах, серці, нирках, легенях, стінках кровоносних судин [21]. У кожній із цих тканин експресію MGP виявляли лише в окремих, специфічних для даного органа, типах клітин [21]. Здатність до синтезу MGP мають остеобласти, хондроцити, гладкі м'язові клітини (ГМК) судин, пневмоцити, клітини ниркового епітелію, фібробласти, макрофаги [21]. У тканинах серця і легень щурів рівень мРНК MGP у 10 разів, а в тканинах нирок – у 5 разів вищий, ніж у кістках. Натомість вміст самого MGP у цих тканинах у 40–500 разів нижчий, якщо порівнювати з кістками [21]. Низькі рівні MGP на тлі високої експресії його гена наводять на думку, що цей білок навряд чи діє винятково через накопичення в позаклітинному матриксі. Очевидно, що MGP акумулюється лише в місцях кальцифікації, а більша його частина, синтезована в м'яких тканинах, надходить у плазму крові, де концентрація MGP становить від 0,3 до 1 мкг/мл залежно від виду тварин [22].

Ген MGP у людини представлено однією копією, яка міститься в короткому плечі 12-ї хромосоми (12p12.3-13.1) [263]. У ньому закодовано 84 амінокислотні залишки зрілого білка і 19 залишків трансмембранного сигнального пептиду. Довжина гена – 3900 нуклеотидів, він складається з 4 екзонів, розділених трьома великими проміжними послідовностями (інтронами), на які припадає більше ніж 80 % загальної довжини гена [23]. Кожна з трьох функціональних ділянок білка – трансмембранний сигнальний пептид, сайт розпізнавання  $\gamma$ -карбоксилази і домен, що містить залишки Gla, – кодується окремим екзоном гена MGP. Четвертий екзон кодує ділянку білка, що складається з 11 амінокислотних залишків ( $\alpha$ -helical domain) і лежить між трансмембранним сигнальним пептидом та сайтом розпізнавання  $\gamma$ -карбоксилази. Функція цієї ділянки MGP поки що не відома.

Подібна 4-екзонна організація характерна і для гена остеокальцину (BGP). Вона істотно відрізняється від 2-екзонної організації генів, які кодують відповідні ділянки в інших відомих на сьогодні вітамін К-залежних білках.

Аналіз промоторної частини гена MGP показав, що поряд із типовими ТАТА і САТ-боксами вона містить регуляторні послідовності (putative regulatory sequences), гомологічні раніше ідентифікованим елементам, що відповідають на дію гормонів і транскрипційних факторів (hormone and transcription factor responsive elements). Зокрема, окреслено дві ділянки промотору, що містять можливі сайти зв'язування рецепторів ретиноєвої кислоти і вітаміну D [23].

На цей час описано 158 однонуклеотидних поліморфізмів поодиноких нуклеотидів (SNP) у гені MGP людини. З них найкраще досліджено з огляду їхньої асоціації з різними хворобами три SNP: T-138C (rs 1800802), G-7A (rs 1800801), Ala83Thr (rs 4236).

Поліморфізм T-138C стосується промоторної частини гена – ділянки, яка утворює комплекси з ядерними білками і сприймає їх регуляторні впливи; G-7A локалізований у початковому відрізку промотору, з якого стартує власне процес транскрипції; Thr83Ala – у четвертому екзоні, що кодує Gla-місткий домен.

Питання про те, як різні види поліморфізму гена MGP впливають на його експресію і здатність сприймати різні регуляторні впливи, перебуває сьогодні у центрі уваги дослідників. Як один із підходів до його розв'язання використовують введення у культивовані клітини генетичних конструкцій, що містять "нормальний" і "патологічний" варіанти промотору MGP та ген люциферази (люциферазний тест).

Перше таке дослідження було проведено Herrmann et al. [24]. Автори показали, що поліморфізм G-7A не впливає на промоторну активність гена MGP, тимчасом як активність промотору з мінорним алелем -138C (патологічний варіант) при порівнянні з -138T (нормальним варіантом) була менша на 20 % у ГМК судин щура і на 50 % у культивованих фібробластах людини.

Зовсім інші дані було отримано у дослідженні Farzaneh et al. [25]. Автори встановили, що промотори з поліморфізмами G-7A і T-138C істотно змінюють транскрипційну активність гена MGP у судинних ГМК щурів *in vitro*.

Аналіз промотору гена MGP показав, що поліморфізм T-138C стосується ділянки, що є критичною для процесів транскрипції в судинних ГМК. Саме тут, у позиції між -142 і -136, розміщений елемент, що може зв'язувати активаційний протеїн-1 (AP-1). Установлено, що при поліморфізмі T-138C змінюється зв'язування цієї ділянки промотору з комплексом AP-1. Варіант промотору з алелем -138T добре зв'язує комплекси AP-1, до складу яких входять c-Jun, JunB, Fra-1 та Fra-2, і активується флорболовими сполуками, тим часом здатність до зв'язування AP-1 і подальшої активації у промотору з алелем -138C є дуже низькою [25].

Наведені вище дані підтверджуються роботою Kobayashi et al. [26], у якій встановлено, що варіант промотору -138T на відміну від -138C здатен утворювати комплекси з ядерними білками (AP-1). Проте що стосується активності цих варіантів, то японські дослідники прийшли до зовсім інших, ніж Farzaneh et al., висновків: при введенні промоторів гена MGP у культивовані

клітини раку молочної залози людини активність промотору з алелем -138T була набагато вищою, якщо порівнювати з алелем -138C.

Таким чином, неоднозначні дані щодо впливу різних видів поліморфізму гена MGP на його транскрипційну активність свідчать про складність проблеми і зумовлюють необхідність продовжувати дослідження в цьому напрямі.

Ціла низка досліджень присвячена зв'язку поліморфізмів гена MGP із розвитком захворювань серця і кровоносних судин [27, 28, 29, 30, 31]. Так, Crosier et al. [27] показали, що поліморфізми T-138C, G-7A та Thr83Ala мають зв'язок із кальцифікацією коронарних артерій (ККА) у чоловіків. У гомозигот за мінорним алелем ККА була виражена меншою мірою, ніж у гомозигот за основним алелем. Herrmann et al. виявили зв'язок G-7A і Thr83Ala поліморфізмів з інфарктом міокарда в осіб з високим ризиком ІМ [24].

Brancaccio et al. установили асоціацію генотипів за T-138C і G-7A поліморфізмами гена MGP із частотою серцево-судинних ускладнень у пацієнтів із хронічною нирковою недостатністю [32]. Група дослідників із Тегеранського медичного університету виявила зв'язок поліморфізмів промотору T-138C і G-7A з ішемічною хворобою серця [33].

Сьогодні відомо, що важливе значення в експресії гена MGP відіграє вітамін D. Показано, що вітамін D<sub>3</sub> збільшує синтез мРНК MGP в остеокластах людини, а також у хондроцитах, остеобластах та клітинах остеосаркоми щурів [34, 35, 36].

Вплив вітаміну D на синтез MGP реалізується через рецептор вітаміну D (VDR), який є представником суперсімейства ядерних рецепторів (NR) – ліганд-активних транскрипційних регуляторів фізіологічних функцій, починаючи з розвитку та розмноження, і до гомеостазу і метаболізму у багатоклітинних організмів. Рецептори вітаміну D широко представлені в організмі людини і виявлені не лише в таких класичних органах-мішенях для вітаміну D, як кишечник, нирки і кістковий апарат, але й у мозку, серці, підшлунковій і парашитоподібних залозах, шкірі, статевій системі та ін. [37, 38, 39, 40].

## 1.2 Ген VDR та його поліморфізми

Молекула VDR людини (мол. маса 48,3 кДа) складається з 427 амінокислотних залишків. У ній виділяють декілька функціональних доменів. Домен А/В несе мотив, що виконує функцію автономної активації транскрипції, так звану функцію активації-1 (AF-1). У молекулі VDR він укорочений, порівняно з іншими ядерними рецепторами, і складається з 20 амінокислотних залишків. Домен С, або ДНК-зв'язуючий домен (DBD), складається з 21–92 амінокислот і представлений висококонсервативною послідовністю, що містить два цинкових пальці типу С4 [41], які взаємодіють зі специфічною ділянкою ДНК, розміщеною перед геном-мішенню, і модулює швидкість ініціації транскрипції. Крім того, доведена роль С- домену у димеризації рецептора і накопиченні VDR в ядрі [42]. Домен D є дуже варіабельним і являє собою гнучку лінкерну ділянку, що забезпечує пластичність структури рецептора і пов'язує ДНК-зв'язуючий і лігандзв'язуючий домени [43]. Домен E/F помірно варіабельний у послідовності, але висококонсервативний у третинній структурі. Він містить лігандзв'язуючий домен (LBD). E-домен закінчується ділянкою, що виконує функцію транс активації-2 (AF-2) – є платформою для численних кофакторів, необхідних для прояву активності рецептора [44], а також бере участь у димеризації з рецептором цис-ретиноевої кислоти (RXR). Унікальною особливістю молекули VDR, порівняно з іншими ядерними рецепторами, є велика вставка між доменами D і E/F, яка кодується окремим екзоном. Роль цієї ділянки у функціонуванні VDR не з'ясована [45, 46].

За відсутності ліганду VDR локалізується в цитоплазмі [47]. Після зв'язування ліганду VDR утворює гетеродимер з рецептором ретиноевої кислоти, який транслокується в ядро і зв'язується з елементами відповіді вітаміну D (vitamin D<sub>3</sub> response elements – VDREs), що знаходяться в промоторних ділянках реагування генів. Це призводить до експресії великої кількості генів. Близько 200 генів людини розглядають як первинні мішені

VDR, і ще більша кількість генів регулюється опосередковано [48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58].]

Ген VDR у людини представлено однією копією, яка міститься в довгому плечі 12-ї хромосоми (12q13.11) [59]. Довжина гена становить 63495 пар нуклеотидів. Послідовність гена розміщена на мінус- або анти сенс-ланцюгу. На генетичній карті ген VDR знаходиться поряд із генами колагену II типу альфа-1 (COL2A I), фосфофруктокінази (PFK), вакуольної АТФази (VATPase), центрин/SUMO-специфічної протеази (SENP I).

Більшість дослідників вважають, що ген рецептора вітаміну D складається з 11 екзонів. Хоча стосовно кількості екзонів даного гена існують різні погляди. Деякі автори виділяють 9, інші – 13 або більшу кількість екзонів [60, 61]. Усе це пов'язано з тим, що у гені VDR є послідовності, транскрипти яких можуть не вирізатися під час процесингу, але в той самий час вони не несуть інформацію про структуру білка. Також доведено, що початок транскрипції з одного із альтернативних промоторів є тканинспецифічним. Альтернативний початок зумовлює утворення тканинспецифічних мРНК, які кодують функціонально різні ізоформи рецепторів [62]. У перший екзон об'єднують групу невеликих екзонів (IA, IB і т. д.), кількість яких і зумовлює варіабельність кількості екзонів гена VDR. Послідовність ДНК, розміщена перед 1A-екзоном, містить велику кількість GC-повторів [63] і не має типового ТАТА-боксу [64]. Відсутність останнього і обумовлює існування декількох стартових кодонів. Другий та третій екзони кодують амінокислотну послідовність, що виконує функцію цинкових пальців у зрілому протеїні. Окремо необхідно назвати п'ятий екзон, який серед усіх ядерних рецепторів характерний лише для VDR [65]. Структурна частина протеїну кодується екзонами 2 – 9.

На сьогодні описано 1518 однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) гена VDR у людини. З них найкраще досліджено з огляду їхньої асоціації з різними хворобами такі поліморфізми: FokI (rs2228570) [328], BsmI (rs1544410) [398],

ApaI (rs7975232) [70], TaqI (rs731236) [299], EcoRV (rs4516035) [299], Tru9I [400], Cdx2 (rs11568820) [321].

Суть однонуклеотидного поліморфізму FokI полягає в тому, що в результаті заміни в 2-му екзоні гена VDR у положенні 25920 тиміну на цитозин відбувається зміщення стартового кодону і вкорочення на три амінокислотні залишки зрілого білкового продукту. Таким чином, залежно від поліморфних варіантів FokI, а отже, двох можливих сайтів початку трансляції існують два різновиди (ізоформи) білка VDR: довгий і вкорочений. Перший (427 амінокислотних залишків) є продуктом T-алеля, його позначають як M1-форму (метіонін у першій позиції). Другий варіант (424 амінокислотні залишки) є вкороченим на 3 амінокислоти, він пов'язаний із C-алелем і позначається як M4-форма (метіонін у четвертому положенні).

Дослідження функціональних властивостей VDR *in vitro* показало, що назагал коротка форма M4 виявляє дещо вищу активність, якщо порівнювати з довгою – M1. Так, у роботі Araí et al. [66] було встановлено, що в культурі клітин лінії HeLa трансактивація гена 24-гідроксилази здійснюється M4-формою в 1,7 раза швидше, якщо порівнювати з M1-різновидом VDR. Однак, Gross et al. [365] не змогли підтвердити ці результати, аналізуючи вплив поліморфних варіантів FokI на транскрипцію гена 24-гідроксилази в клітинах лінії COS7, а також гена остеокальцину людини і гена остеопонтину щурів. Jurutka et al. [67] показали, що короткий варіант VDR більш ефективно взаємодіє з транскрипційним фактором TFIIIB у конструкціях, що складаються з промотору гена остеокальцину щурів, введеного в клітини ліній COS7, HeLa, ROS2/3. Автори дійшли висновку, що коротка ізоформа VDR має більш високу транскрипційну активність, ніж довга. Цей висновок було підтверджено і в роботі Whitfield et al. [68].

Colin et al., вивчаючи інгібіторний вплив вітаміну D на проліферацію мононуклеарних клітин периферичної крові (МКПК), узятих від жінок із різним генотипом за FokI поліморфізмом гена VDR, показали, що для МКПК носіїв C-алеля (утворюється коротка ізоформа VDR) показник ефективної дози (ED50)

вітаміну D є нижчим, ніж для МКПК носіїв T-алеля (довгий варіант VDR). Крім того, у першій групі клітин вища активність VDR, а отже, й інгібіторна дія кальцитріолу виявляється і тоді, коли МКПК стимулювали фітогемаглютиніном [69].

Таким чином, необхідно зазначити, що, за даними літератури, FokI поліморфізм 2-го екзону гена VDR має своїм проявом існування двох ізоформ транскрипційного фактора з різною функціональною активністю, яку виявляють у дослідженнях *in vitro* в системах, що складаються з різних ділянок промотору різних генів, уведених у різні види культивованих клітин. Що стосується впливу FokI поліморфізму, а отже, і двох ізоформ VDR на рівні організму в цілому, то він може позначатися на показниках сироватки крові (наприклад, вміст остеокальцину), інтенсивності всмоктування кальцію у тонкій кишці, щільності кісткової тканини, ефектах кальцитріолу, що вводиться ззовні [70,].

Поліморфізми гена VDR – BsmI і ApaI, локалізовані у 8-му інтроні, недалеко від ділянки, яку позначають як 3'-UTR (untranslated region) [71]. Самі по собі поліморфізми в інтронах не є функціонально значимими, оскільки не змінюють послідовності азотистих основ у змістовній частині гена, проте, будучи зчепленими з регуляторними ділянками гена, можуть бути маркерами функціональних зв'язків інших SNP із розвитком патологічних процесів і хвороб. TaqI поліморфізм локалізований у 9-му екзоні, недалеко від ділянки 3'-UTR і також не змінює кількості і якісного складу амінокислот білкового продукту.

Сьогодні встановлено, що BsmI, ApaI і TaqI SNP гена VDR тісно пов'язані між собою. Завдяки такому зчепленню серед великої кількості прогнозованих гаплотипів функціонально важливими є лише три: bAT, BAt і bAT. Близькість цих гаплотипів до 3'-UTR-ділянки гена може певним чином позначатися на регуляції його експресії, оскільки відомо, що від цієї ділянки залежить стабільність мРНК, а отже, і кількість синтезованого білкового продукту.



Arai et al. повідомили про заміну гуаніну на аденін в 1A-екзоні промоторної ділянки серед жінок в японській популяції і довели, що A-алель характеризується більшою транскрипційною активністю [66].

Ряд досліджень підтверджує, що поліморфізм гена рецептора вітаміну D може бути одним із багатьох факторів ризику атеросклерозу. Filus et al. з'ясували, що існує зв'язок між FokI поліморфізмом і деякими показниками ліпідного спектра плазми крові. Більш уразливими до розвитку атеросклерозу і його ускладнень є носії основного алеля (F/F, F/f), які мають нижчий рівень антиатерогенного ХС-ЛПВГ, ніж гомозиготи за мінорним алелем (f/f) [72].

Swarna et al. виявили асоціацію між FokI поліморфізмом гена VDR та величиною артеріального тиску. Особи з F/F генотипом мають більший ризик розвитку есенціальної гіпертензії [73]. В іншому дослідженні доведений вплив BsmI поліморфізму гена рецептора вітаміну D на показники артеріального тиску у здорових осіб: чоловіки, які є носіями b/b генотипу, мають вищий рівень систолічного артеріального тиску порівняно з носіями b/B і B/B генотипів [74].

Група індійських учених виявила зв'язок FokI, BsmI і TaqI поліморфізмів гена VDR із цукровим діабетом 2-го типу, який є одним із факторів ризику серцево-судинних захворювань [75].

Ortlepp et al. довели зв'язок BsmI поліморфізму з розвитком кальцифікації аортального клапана і з'ясували, що B алель зустрічається достовірно частіше у пацієнтів із кальцифікованим клапаном порівняно з особами з групи контролю [76].

Swarna et al. досліджували асоціацію між FokI поліморфізмом гена VDR та схильністю до розвитку есенціальної [73].

Таким чином, роль поліморфізмів гена VDR у розвитку цереброваскулярної патології неоднозначна і суперечлива, що й спонукало до проведення нами власних досліджень.

## 2 ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідженні використано кров 170 хворих на ІАТІ, які перебували на диспансерному обліку в поліклінічному відділенні Сумської клінічної лікарні № 5, і 124 практично здорових донорів. Ішемічний характер інсульту встановлювався за даними анамнезу і клінічної картини хвороби, результатами МРТ-дослідження головного мозку. Патогенетичний варіант інсульту визначали відповідно до критеріїв TOAST [78], на підставі анамнезу і особливостей клінічного перебігу хвороби, даних ультразвукової доплерографії магістральних артерій голови, ЕКГ. Контрольна група і група хворих з ІАТІ не відрізнялися за співвідношенням осіб різної статі ( $P=0,294$ ), проте середній вік першої ( $76,7\pm 0,93$  роки) був істотно вищим, ніж другої ( $P < 0,001$ ).

Таблиця 2.1- Загальна клінічна характеристика пацієнтів з ІАТІ та осіб контрольної групи

<i>Показники</i>	<i>Хворі з ІАТІ (n = 170)</i>	<i>Контрольна група (n = 124)</i>	<i>P</i>
Вік, роки	64,7±0,73	76,7±0,93	<0,001
Стать, ж/ч	72/98	45/79	0,294*
Маса тіла (ж), кг	77,6±1,42	69,8±1,8	0,001
Маса тіла (ч), кг	82,6±1,33	75,7±1,77	0,002
Зріст (ж), см	163,6±0,65	156,1±1,26	<0,001
Зріст (ч), см	172,9±0,76	167,2±0,96	<0,001
ІМТ (ж), кг/м <sup>2</sup>	29,0±0,54	28,7±0,77	0,744
ІМТ (ч), кг/м <sup>2</sup>	27,6±0,41	27,0±0,55	0,355
САТ, мм рт. ст.	167±2,3	152,6±2,1	<0,001
ДАТ, мм рт. ст.	95,4±1,2	86,3±1,1	<0,001
Глюкоза крові, ммоль/л	5,92±0,12	5,29±0,06	<0,001

Примітки: n – кількість пацієнтів; ж – жінки; ч – чоловіки; P – статистична значимість відмінностей; \* – за  $\chi^2$ -критерієм

Із неї випливає, що хворі з ІАТІ мали істотно вищі, якщо порівнювати з контрольною групою, показники зросту, маси тіла, систолічного і діастолічного артеріального тиску, концентрації глюкози крові натще. Проте відмінності між групами за індексом маси тіла були статистично не достовірними як в осіб жіночої, так і чоловічої статей ( $P > 0,05$ ).

Дані про наявність відомих на сьогодні факторів ризику у групі хворих з ІАТІ відображено в табл. 2.2.

Таблиця 2.2 - Дані про наявність факторів ризику в осіб жіночої і чоловічої статі, хворих на ІАТІ

Показник	Жінки (n = 72)	Чоловіки (n = 98)	Загалом (n = 170)
Ожиріння	31 (43,1)	28 (28,6)	59 (34,7)
	$\chi^2 = 3,843; P = 0,050$		
Артеріальна гіпертензія	59 (81,9)	69 (70,4)	128 (75,3)
	$\chi^2 = 2,969; P = 0,085$		
Цукровий діабет	18 (25,0)	12 (12,2)	30 (17,6)
	$\chi^2 = 4,647; P = 0,031$		
Дисліпопротеїнемія <sup>#</sup>	40 (58,8)	52 (58,4)	92 (58,6)
	$\chi^2 = 0,002; P = 0,960$		
Гіперкоагуляція крові	45 (62,5)	46 (46,9)	91 (53,5)
	$\chi^2 = 2,969; P = 0,085$		
Паління	8 (11,1)	42 (42,9)	50 (29,4)
	$\chi^2 = 20,15; P < 0,001$		

Примітки: n – кількість пацієнтів; # – для цього показника: n = 68 (жінки); n = 89 (чоловіки); n = 157 (загалом); у дужках – %

Привертає до себе увагу та обставина, що основним фактором ризику як у жінок, так і у чоловіків була артеріальна гіпертензія, яку відзначали відповідно у 81,9 і 70,4 % пацієнтів. Друге місце посідали порушення складу ліпопротеїнів плазми крові атерогенного характеру: їх виявляли у 58,8 % жінок і 58,4 % осіб чоловічої статі. Значні статеві відмінності в частоті факторів ризику встановлено при порівнянні відповідних показників, що характеризують ожиріння, цукровий діабет і паління. Так, ожиріння та цукровий діабет у жінок

виявляли частіше, ніж у чоловіків (у 43,1 і 25,0 % проти 28,6 і 12,2 % відповідно). Натомість серед чоловіків курців було набагато більше (42,9 %), ніж серед жінок (11,1 %).

У табл. 2.3 подано характеристику інсульту у пацієнтів жіночої і чоловічої статі залежно від обсягу уражень головного мозку, артеріального басейну, де відбулося тромбоутворення, тяжкості хвороби, повторності інсульту та його неврологічних проявів.

Таблиця 2.3 - Клінічна характеристика ішемічного інсульту в осіб жіночої і чоловічої статей

	<i>Жінки</i>	<i>Чоловіки</i>	<i>Загалом</i>
<i>За обсягом уражень</i>			
Тотальний	37 (52,9)	66 (69,5)	103 (62,5)
Кінцевий	3 (4,2)	2 (2,1)	5 (3,0)
Лакунарний	30 (42,9)	27 (28,4)	57 (34,5)
$\chi^2 = 4,846; P = 0,089$			
<i>За артеріальним басейном</i>			
Передня, середня, задня мозкові артерії	62 (86,1)	70 (71,4)	132 (77,6)
Вертебральні та базилярна артерії	7 (9,7)	17 (17,3)	24 (14,1)
Поєднаний	3 (4,2)	11 (11,3)	14 (8,3)
$\chi^2 = 5,372; P = 0,068$			
<i>За тяжкістю</i>			
Легкий	26 (36,1)	29 (29,6)	55 (32,4)
Середньої тяжкості	25 (34,7)	41 (41,8)	66 (38,8)
Тяжкий	21 (29,2)	28 (28,6)	49 (28,8)
$\chi^2 = 1,091; P = 0,579$			
<i>За повторністю</i>			
Первинний	51 (70,8)	54 (55,1)	105 (61,8)
Вторинний	21 (29,2)	44 (44,9)	65 (38,2)
$\chi^2 = 4,349; P = 0,037$			
<i>За неврологічними проявами</i>			
Сенсорні порушення	10 (13,9)	18 (18,4)	28 (16,5)
Рухові порушення	0	4 (4,0)	4 (2,4)
Сенсорно-рухові порушення	62 (86,1)	76 (77,6)	138 (81,1)
$\chi^2 = 3,819; P = 0,148$			

Примітка: у дужках – %

### 3 МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ З НАСТУПНИМ АНАЛІЗОМ ДОВЖИНИ РЕСТРИКЦІЙНИХ ФРАГМЕНТІВ

Венозну кров у хворих на ІАТІ та практично здорових осіб набирали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти (11,7 мМ) як антикоагулянт ("Sarstedt", Німеччина), заморожували та зберігали при температурі – 20 °С. Забір крові для досліджень проводився кваліфікованими спеціалістами в клінічних умовах із дотриманням усіх правил медичної асептики та антисептики. Усі особи підписали згоду на використання своєї крові для генетичних досліджень.

Алельний поліморфізм вивчали методом полімеразної ланцюгової реакції (PCR) з подальшим аналізом довжини рестрикційних фрагментів (PCR-RFLP). Використовували праймери, синтезовані фірмою "Metabion" (Німеччина), і ферменти (Taq-полімераза і рестриктази) фірми "Fermentas" (Литва). PCR проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 ("Applied Biosystems", США). Ампліфікати після рестрикції розділяли в 2,5 % агарозному гелі, що містив 10 мкг/мл бромистого етидію. Візуалізацію ДНК після електрофорезу здійснювали за допомогою транслюмінатора ("Біоком", Росія).

1) *Виділення ДНК із лейкоцитів цільної крові.* ДНК виділяли з цільної крові з використанням наборів DIAtom DNA Prep 200 («Isogene», Росія). Цей метод базується на застосуванні лізуючого реагенту із гуанідинтіоціанатом, який призначений для лізису клітин, солюбілізації клітинного дебрису, а також для денатурації клітинних нуклеаз. За наявності лізуючого реагенту ДНК активно сорбується на *NucleoS<sup>TM</sup>*-сорбенті, потім легко відмивається від білків та солей спиртовим розчином. Потім ДНК екстрагують із сорбента та переносять у стерильні, вільні від ДНК та РНК, мікропробірки. Виділення ДНК проводили згідно з протоколом, запропонованим у комерційному наборі.

2) *Визначення алельного поліморфізму промотору гена MGP T-138C (rs1800802).* Ділянку промотору гена MGP ампліфікували за допомогою пари

специфічних праймерів: прямого (sense) – 5`-AAGCATACGATGGCCAAAАСТТС TGCA-3` і зворотного (antisense) – 5`-GAACTAGCATTTGGAACTTTTCCCAACC-3`. Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буфера, 1,5 мМ сульфату магнію, 200 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 20 рМ кожного з праймерів і 0,5 ОД Таq-полімерази, об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Ампліфікація фрагмента промотору складалася із 33 циклів: денатурація – 94 °С (30 с), гібридизація праймерів – 57 °С (1 хв) та елонгація – 72 °С (1 хв). Пізніше 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37 °С протягом 18 годин з 3 ОД рестриктази *BseNI* у буфері В такого складу: 10 мМ трис-НСІ (рН 7,5), 10 мМ хлориду магнію і 0,1 мг/мл альбуміну. Якщо в 138-й позиції гена MGP містився тимін, ампліфікат, який складався із 142 пар основ, розщеплювався рестриктазою *BseNI* на два фрагменти: 118 і 24 пари основ. У разі заміни тиміну на цитозин сайт рестрикції для *BseNI* втрачався і утворювався один фрагмент розміром 142 пари основ (рис. 2.1). Горизонтальний електрофорез (0,1 А; 140 V) проводили впродовж 25 хв.

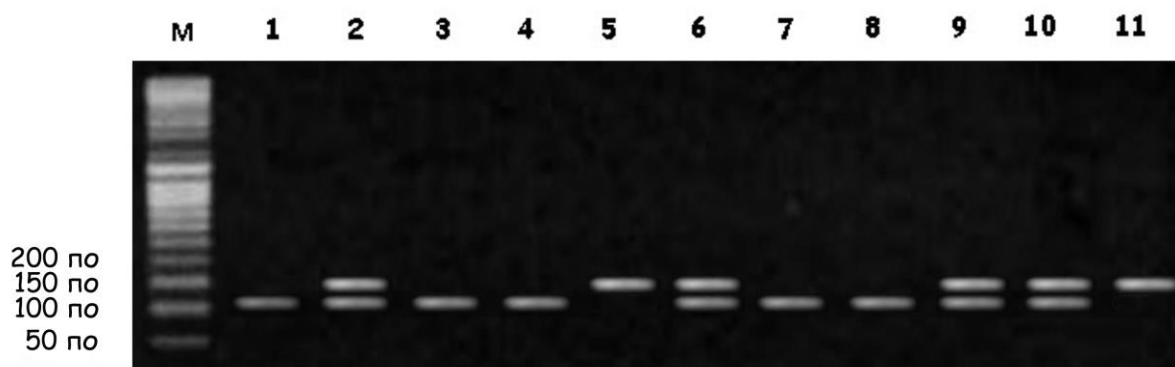


Рисунок 3.1 – Результати рестрикційного аналізу T-138C поліморфізму гена MGP. М – маркер молекулярної маси (по – пари нуклеїнових основ); доріжки 1, 3, 4, 7, 8 відповідають Т/Т-генотипу; доріжки 2, 6, 9 10 – Т/С-генотипу; 5, 11 – С/С-генотипу

3) *Визначення алельного поліморфізму промотору гена MGP G-7A (rs1800801).* Алельний поліморфізм промотору гена MGP G-7A визначали шляхом ампліфікації фрагмента і подальшої рестрикції. Послідовність нуклеотидів у специфічних праймерах була такою: прямий (sense) – 5`-AGTTCAGTGCCAACCCTCCCCACC-3`, зворотний (antisense) – 5`-TAGCAGCAGTAGGGAGAGAGGCTCCCA-3`. Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буфера, 1,5 мМ сульфату магнію, 200 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 20 пМ кожного з праймерів і 0,75 ОД Таq-полімерази, об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Ампліфікація фрагмента, що містив стартову ділянку, складалася із 33 циклів: денатурація – 94 °С (50 с), гібридизація праймерів – 64,5 °С (45 с) та елонгація – 72 °С (1 хв). Для рестрикційного аналізу 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37 °С упродовж 18 годин з 2 ОД рестриктази *NcoI* у буфері Tango такого складу: 33 мМ трис-ацетату (рН 7,9), 10 мМ ацетату магнію, 66 мМ ацетату калію, 0,1 мг/мл альбуміну. Якщо в -7-й позиції гена MGP містився гуанін, ампліфікат, що складався з 500 пар основ, розщеплювався рестриктазою *NcoI* на два фрагменти: 240 і 260 пар основ. У разі заміни гуаніну на аденін сайт рестрикції для *NcoI* втрачався і візуалізувався один фрагмент завдовжки 500 пар основ (рис. 2.2). Горизонтальний

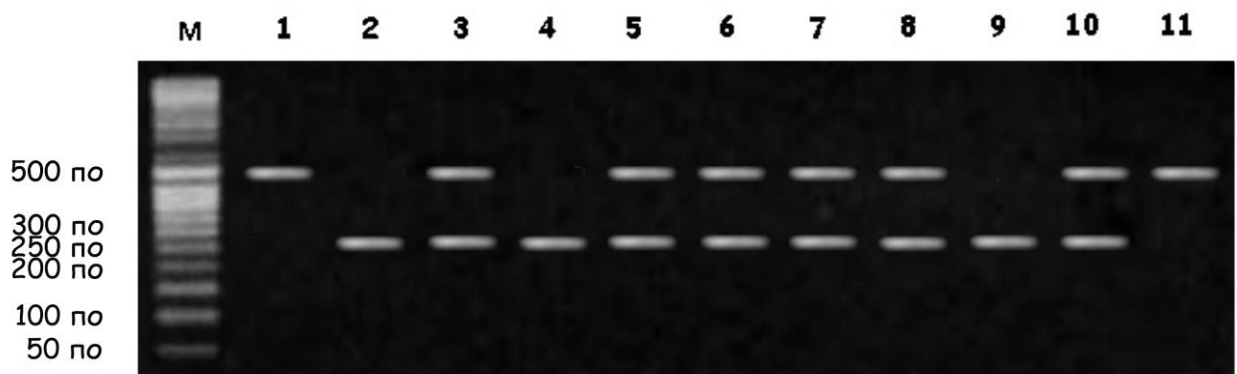


Рисунок – 3.2 Результати рестрикційного аналізу G-7A поліморфізму гена MGP. М – маркер молекулярної маси (по – пари нуклеїнових основ); доріжки 2, 4, 9 відповідають G/G-генотипу; доріжки 3, 5, 6, 7, 8, 10 – G/A-генотипу; 1, 11 – A/A-генотипу

4) *Визначення алельного поліморфізму 4-го екзону гена MGP Thr83Ala (rs4236)*. Використовували пару специфічних праймерів: прямий (sense) – 5'-TCAATAGGGAAGCCTGTGATG-3' і зворотний (antisense) – 5'-AGGGGGATACAAAATCAGGTG-3'. Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буфера, 1,5 мМ сульфату магнію, 200 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 20 рМ кожного з праймерів і 0,75 ОД Таq-полімерази, об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Програма ампліфікації була такою: денатурація – 94 °С (50 с), гібридизація праймерів – 64,5 °С (45 с), елонгація – 72 °С (1 хв), разом 33 цикли. У подальшому 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37 °С упродовж 18 годин із 3 ОД рестриктази *Eco47I (AvaII)* у буфері R такого складу: 10 мМ трис-НСl (рН 8,5), 10 мМ хлориду магнію 100 мМ хлориду калію і 0,1 мг/мл альбуміну. Наявність у 3748-й позиції гена MGP аденіну перешкоджає рестрикції, а при заміні аденіну на тимін рестриктаза розщеплює ампліфіковану ділянку 4-го екзону (довжина – 173 пари азотистих основ) на два фрагменти: 127 і 46 пар основ (рис. 2.3). Горизонтальний електрофорез (0,1 А; 140 V) проводили впродовж 20 хв.

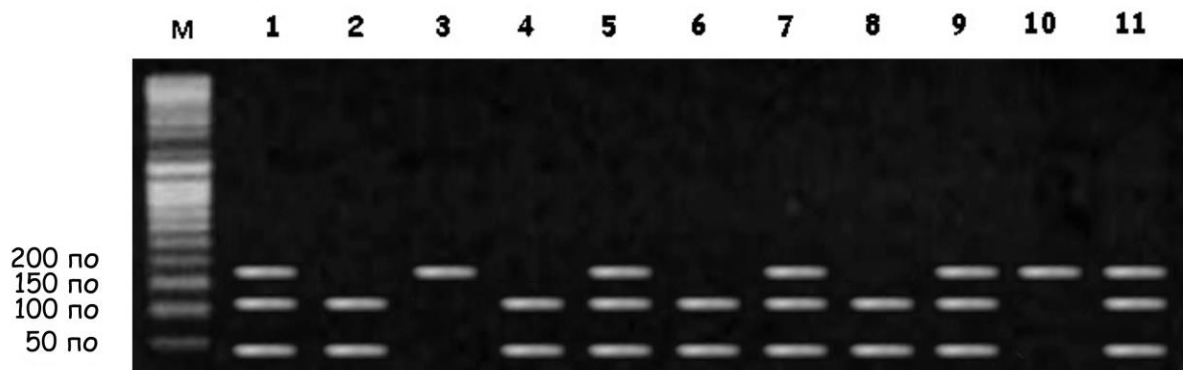


Рисунок 3.3 – Результати рестрикційного аналізу Thr83Ala поліморфізму гена MGP. М – маркер молекулярної маси (по – пари нуклеїнових основ); доріжки 2, 4, 6, 8 відповідають Thr/Thr-генотипу; доріжки 1, 5, 7, 9, 11 – Thr/Ala-генотипу; 3, 10 – Ala/Ala-генотипу



5) *Визначення алельного поліморфізму 2-го екзону гена VDR FokI (rs2228570).* Використовували пару специфічних праймерів: прямий (sense) – 5'-AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTG-3', зворотний (antisense) – 5'-ATGGAAACACSTTGCTTCTTCTCCCTC-3'. Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буфера, 1,5 мМ сульфату магнію, 250 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 15 пМ кожного з праймерів і 0,75 ОД Таq-полімерази, об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Ампліфікація фрагмента, що містив стартову ділянку, складалася з 33 циклів: денатурація – 94 °С (50 с), гібридизація праймерів – 64,5 °С (45 с) та елонгація – 72 °С (1 хв). Для рестрикційного аналізу 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 55 °С упродовж 20 годин із 3 ОД рестриктази *FokI* у буфері Tango такого складу: 33 мМ трис-ацетату (рН 7,9), 10 мМ ацетату магнію, 66 мМ ацетату калію, 0,1 мг/мл альбуміну. Наявність у 25920-й позиції гена VDR цитозину перешкоджає рестрикції, а при заміні цитозину на тимін рестриктаза *FokI* розщеплює ампліфіковану ділянку (довжина – 267 п.о) на два фрагменти: 204 і 63 пари основ (рис. 2.4). Горизонтальний електрофорез (0,13 А; 210 V) проводили впродовж 30 хв.

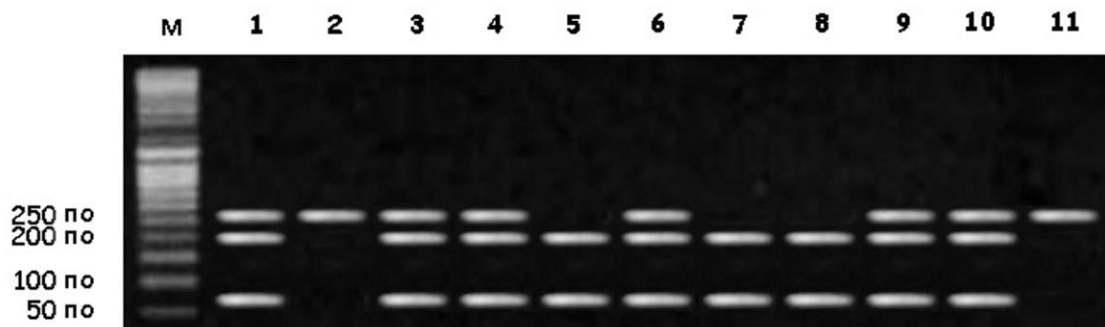


Рисунок 3.4 – Результати рестрикційного аналізу *FokI* поліморфізму гена VDR. М – маркер молекулярної маси (по – пари нуклеїнових основ); доріжки 2, 11 відповідають F/F-генотипу; доріжки 1, 3, 4, 6, 9, 10 – F/f-генотипу; 5, 7, 8 – f/f-генотипу

## 4 АЛЕЛЬНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ MGP і VDR

### 4.1 Поліморфізм T-138C гена MGP у хворих з ІАТІ і в контрольній групі

Частоту трьох можливих варіантів генотипу за цим поліморфізмом, а також перевірку відповідності розподілу основного (Т) і мінорного (С) алелів рівновазі Харді-Вайнберга подано в табл. 4.1.1.

Таблиця 4.1.1- Частота алельних варіантів і алелів за T-138C поліморфізмом гена MGP у контрольній групі і у хворих з ІАТІ

	<i>Контрольна група</i>	<i>Хворі з ІАТІ</i>
Гомозиготи Т/Т, n (%)	74 (59,7)	104 (61,20)
Гетерозиготи Т/С, n (%)	44 (35,5)	53 (31,2)
Гомозиготи С/С, n (%)	6 (4,8)	13 (7,6)
Т-алель	0,77	0,77
С-алель	0,23	0,23
$\chi^2$	0,03	2,7
P	> 0,05	> 0,05

Примітки: n – кількість пацієнтів,  $\chi^2$  і P відображають відхилення у кожній групі від рівноваги Харді-Вайнберга

Як впливає з наведених даних, розподіл Т- і С-алелів у контрольній групі і у групі хворих з ІАТІ не має статистично достовірних відхилень від очікуваних за генетично-популяційним законом величин ( $P > 0,05$ ).

На рис. 4.1.1 представлено результати аналізу частот окремих генотипів за поліморфізмом T-138C в осіб контрольної групи і у хворих з ІАТІ. Можна бачити, що у пацієнтів з ішемічним інсультом співвідношення гомозигот за основним алелем (Т/Т), гетерозигот (Т/С) і гомозигот за мінорним алелем (С/С) становило 61,2%, 31,2% і 7,6%, тимчасом як у контрольній групі відповідні показники дорівнювали 59,7%, 35,5% і 4,8%. Відмінності у розподілі різних

варіантів генотипу між хворими з ІАТІ і здоровими пацієнтами не виходили за межі статистичної значимості ( $P=0,521$ ).

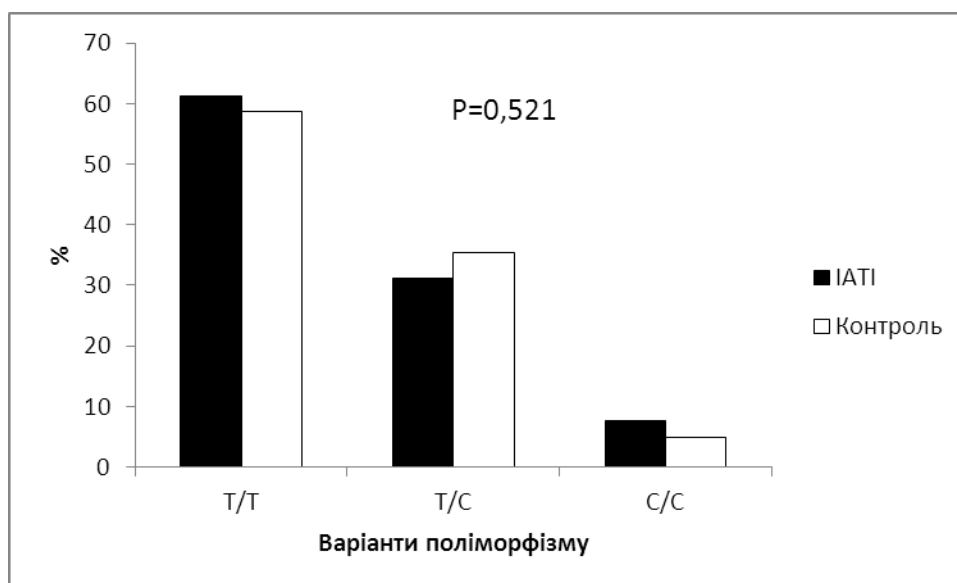


Рисунок 4.1.1 - Частота алельних варіантів гена MGP за поліморфізмом T-138C у хворих з ІАТІ (чорні стопчики) і в контрольній групі (білі стопчики). P – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

*Аналіз за статтю.* Розподіл частот алельних варіантів поліморфізму T-138C за статтю в групах порівняння подано в табл. 4.1.2. Як впливає з наведених даних, частота різних варіантів даного поліморфізму істотно не відрізняється у хворих з ІАТІ та пацієнтів контрольної групи, якщо порівнювати окремо жінок і чоловіків. Хоча слід відзначити, що в осіб жіночої статі ці відмінності є дуже близькими до рівня статистичної значимості ( $P_1=0,056$  за  $\chi^2$ -критерієм і  $P=0,044$  за відношенням правдоподібності – likelihood ratio). Порівняння даних про частоту варіантів поліморфізму T-138C у жінок і чоловіків окремо в контрольній групі і у хворих з ІАТІ свідчить про відсутність статистично значимих відмінностей між особами жіночої і чоловічої статі як серед пацієнтів з ІАТІ ( $P=0,162$ ), так і в контролі ( $P=0,349$ ).

Таблиця 4.1.2 - Частота генотипів за Т-138С поліморфізмом гена MGP у жінок і чоловіків у контрольній групі і у хворих з ІАТІ

Генотип	Жінки (n)		Чоловіки (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
Т/Т	25	46	49	58
Т/С	19	18	25	35
С/С	1	8	5	5
	$P_1=0,056$		$P_1=0,823$	
	$P_2=0,349, P_3=0,162, P_4=0,167, P_5=0,404, P_6=0,141$			

Примітки : n – кількість осіб,  $P_1$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ,  $P_2$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між жінками і чоловіками у контролі,  $P_3$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між жінками і чоловіками у групах з ІАТІ,  $P_4$  - значимість відмінностей у частоті осіб різної статі з генотипом Т/Т у контрольній групі і групі з ІАТІ,  $P_5$  - значимість відмінностей у частоті осіб різної статі з генотипом Т/С у контрольній групі і групі з ІАТІ,  $P_6$  - значимість відмінностей у частоті осіб різної статі з генотипом С/С у контрольній групі і групі з ІАТІ.

Нарешті, ще один аналіз дав підстави для висновку про те, що немає зв'язку між статтю пацієнтів і розвитком ІАТІ: у жодній з груп, утворених з урахуванням генотипу за Т-138С поліморфізмом гена MGP різниця у розподілі осіб з різними поліморфними варіантами гену була недостовірною ( $P_4=0,167$ ,  $P_5=0,404$ ,  $P_6=0,141$ ).

Таблиця 4.1.3 - Показники зросту, маси тіла та індексу маси тіла (ІМТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за T-138C поліморфізмом гена MGP ( $M \pm m$ )

Показники		T/T	T/C	C/C	F	P <sub>1</sub>
<b>Жінки</b>						
Зріст, см	Контроль	156,3±1,99 (25)	155,4±1,4 (18)	(1)	0,224	0,800
	IAT1	163,9±0,83 (46)	162,8±1,04 (18)	164,0±2,53 (8)	0,264	0,769
	P <sub>2</sub>	<0,001	<0,001			
Маса тіла, кг	Контроль	72,0±2,67	67,2±2,22		1,301	0,283
	IAT1	77,9±1,92	78,0±2,75	75,1±2,32	0,188	0,829
	P <sub>2</sub>	0,078	0,004			
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	Контроль	29,7±1,19	27,8±0,77		1,467	0,242
	IAT1	29,1±0,74	29,4±0,93	28,0±1,17	0,238	0,789
	P <sub>2</sub>	0,652	0,186			
<b>Чоловіки</b>						
Зріст, см	Контроль	167,5±1,31 (49)	166,9±1,62 (25)	166,2±1,32 (5)	0,086	0,917
	IAT1	172,8±1,00 (58)	173,4±1,22 (5)	169,8±3,31 (5)	0,518	0,597
	P <sub>2</sub>	0,002	0,002	0,342		
Маса тіла, кг	Контроль	78,2±2,55	72,0±2,24	69,4±1,83	1,738	0,183
	IAT1	83,0±1,93	82,2±1,86	81,0±3,85	0,074	0,929
	P <sub>2</sub>	0,132	0,001	0,026		
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	Контроль	27,8±0,77	25,9±0,80	25,1±0,40	1,640	0,201
	IAT1	27,8±0,56	27,4±0,64	28,1±1,22	0,149	0,862
	P <sub>2</sub>	0,995	0,164	0,047		

Примітки: F – критерій Фішера, P<sub>1</sub> і P<sub>2</sub> – значимість відмінностей між генотипами за даними однофакторного дисперсійного аналізу (P<sub>1</sub>) і між контролем та IAT1 за t-критерієм Стьюдента (P<sub>2</sub>). У дужках – кількість пацієнтів

*Аналіз за антропометричними даними.* У табл. 4.1.3 подано показники зросту, маси тіла та ІМТ у жінок і чоловіків обох груп порівняння залежно від генотипу пацієнтів за T-138C поліморфізмом промотора гена MGP. Можна бачити, що у кожній групі як у жінок, так і чоловіків середні значення вивчених показників істотно не відрізняються між собою, а отже, не залежать від даного варіанту генетичного поліморфізму. Що стосується порівняння між групами, то тут виявлено певні істотні відмінності антропометричних даних. Так, у хворих на ІАТІ жінок з генотипом T/T зріст, а з генотипом T/C зріст і маса тіла були значно більшими, ніж у жінок контрольної групи з відповідним генотипом. Такі відмінності, однак, не впливали на ІМТ, що можна було пояснити пропорційністю відхилень показників зросту і маси тіла.

Порівняти наведені вище антропометричні характеристики у жінок – гомозигот за мінорним алелем (C/C) не вдалося, оскільки в контрольній групі такий генотип мала тільки одна особа. У чоловіків з варіантами генотипу T/T і T/C мали місце ті ж само відмінності, що і в жінок. Але, що стосується гомозигот за мінорним алелем (C/C), то тут вплив генетичного чинника на антропометричні показники був дещо іншим. Хворі з ІАТІ мали більшу масу тіла, ніж пацієнти контрольної групи, що на тлі не зміненого зросту спричинилося до істотного збільшення ІМТ ( $P=0,047$ ).

Поділ кожної з двох груп – дослідної і контрольної – на дві підгрупи залежно від величини ІМТ ( $<25 \text{ кг/м}^2$  і  $\geq 25 \text{ кг/м}^2$ ) дав можливість проаналізувати вплив поліморфних варіантів промотора гена MGP на розвиток ІАТІ в осіб з нормальним і підвищеним рівнем цього показника.

Як впливає з табл. 4.1.4, ні серед пацієнтів з нормальним ІМТ, ні в осіб із підвищеним показником не виявлено жодного зв'язку між генотипом за поліморфізмом T-138C і виникненням ІАТІ ( $P = 0,604$  для пацієнтів з нормальним ІМТ і  $P = 0,351$  – з підвищеним). Як в осіб контрольної групи, так і у хворих з ІАТІ, не було залежності між досліджуваним SNP і рівнем ІМТ ( $P_2 = 0,394$ ,  $P_3 = 0,744$ ). І нарешті, у жодній з підгруп пацієнтів, утворених на

підставі їхнього генотипу (Т/Т, Т/С, С/С), не виявлено зв'язку між рівнем ІМТ і розвитком ІАТІ ( $P_4=0,761$ ,  $P_5=0,267$ ,  $P_6=0,111$ ).

Таким чином, можна було зробити висновок, що показник ІМТ не впливає на відсутність асоціації між Т-138С поліморфізмом гена MGR та атеротромботичним варіантом ішемічного інсульту.

Таблиця 4.1.4 - Частота генотипів за Т-138С поліморфізмом гена MGR у контрольній групі і групі хворих з ІАТІ залежно від величини ІМТ

Генотип	ІМТ<25кг/м <sup>2</sup> (n)		ІМТ≥25кг/м <sup>2</sup> (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
Т/Т	20	26	54	78
Т/С	15	13	28	40
С/С	3	2	3	11
	$P_1=0,604$		$P_1=0,351$	
	$P_2=0,394$ , $P_3=0,744$ , $P_4=0,761$ , $P_5=0,267$ , $P_6=0,111$			

Примітки : n – кількість осіб,  $P_1$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ,  $P_2$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з ІМТ<25кг/м<sup>2</sup> та ІМТ≥25кг/м<sup>2</sup> у контролі,  $P_3$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з ІМТ<25кг/м<sup>2</sup> та ІМТ≥25кг/м<sup>2</sup> у групах з ІАТІ,  $P_4$  - значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ<25кг/м<sup>2</sup> та ІМТ≥25кг/м<sup>2</sup> з генотипом Т/Т у контрольній групі і групі з ІАТІ,  $P_5$  - значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ<25кг/м<sup>2</sup> та ІМТ≥25кг/м<sup>2</sup> з генотипом Т/С у контрольній групі і групі з ІАТІ,  $P_6$  - значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ<25кг/м<sup>2</sup> та ІМТ≥25кг/м<sup>2</sup> з генотипом С/С у контрольній групі і групі з ІАТІ.

*Аналіз за показниками артеріального тиску.* У табл. 4.1.5 наведено показники САТ, ДАТ, ПАТ і СрАТ у пацієнтів контрольної групи і у хворих з ІАТІ, що мають різний генотип за Т-138С поліморфізмом гена MGR.

Одержані дані свідчать про те, що усі чотири різновиди АТ істотно не відрізняються у носіїв генотипів Т/Т, Т/С і С/С як усередині контрольної групи, так і у хворих з ІАТІ. У гомозигот за основним алелем (Т/Т) і у гетерозигот (Т/С) показники САТ, ДАТ і СрАТ виявилися набагато вищими у хворих з ІАТІ, ніж в осіб, що не мали інсульту.

Таблиця 4.1.5 - Показники артеріального тиску (АТ) у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за Т-138С поліморфізмом гена MGP (M±m)

Показники		T/T	T/C	C/C	F	P <sub>1</sub>
САТ	Контроль	154,3±2,8 (72)	148,8±3,5 (43)	160,0±7,7 (6)	1,049	0,354
	ІАТІ	168,0±2,9 (104)	164,6±3,6 (53)	168,5±9,8 (13)	0,248	0,780
	P <sub>2</sub>	0,002	0,003	0,592		
ДАТ	Контроль	86,6±1,6	85,5±1,8	90,0±2,6	0,378	0,686
	ІАТІ	96,3±1,7	94,2±1,8	93,1±3,8	0,378	0,686
	P <sub>2</sub>	<0,001	0,001	0,612		
ПАТ	Контроль	67,8±2,1	63,4±2,8	70,0±6,3	0,926	0,399
	ІАТІ	71,7±2,1	70,5±2,8	75,4±6,8	0,278	0,758
	P <sub>2</sub>	0,202	0,078	0,628		
СрАТ	Контроль	109,1±1,9	106,6±2,1	113,3±3,9	0,767	0,467
	ІАТІ	120,2±1,9	117,6±2,2	118,2±5,6	0,342	0,711
	P <sub>2</sub>	<0,001	<0,001	0,587		

Примітки: див. табл. 4.1.3

Описана закономірність повністю підтверджувалася, коли аналіз проводився в осіб жіночої статі (табл. 4.1.6). Проте, тут додавався ще один момент: в об'єднаній групі носіїв мінорного алеля (Т/С+С/С) істотні статистично значимі відмінності між хворими і контролем виявлялися не тільки про порівнянні САТ, ДАТ і СрАТ, а й іншого, четвертого показника – ПАТ.



Таблиця 4.1.6 - Показники артеріального тиску (АТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за T-138С поліморфізмом гена MGP ( $M \pm m$ )

Показники		T/T	T/C+C/C	F	P <sub>1</sub>
<b>Жінки</b>					
САТ	Контроль	149,2±4,3 (25)	148,2±5,9 (19)	0,021	0,885
	IAT1	171,4±4,5 (46)	174,6±5,9 (26)	0,184	0,670
	P <sub>2</sub>	0,002	0,003		
ДАТ	Контроль	86,4±2,4	85,0±2,2	0,173	0,679
	IAT1	99,6±2,5	97,5±2,3	0,306	0,582
	P <sub>2</sub>	0,001	<0,001		
ПАТ	Контроль	62,8±3,6	63,2±4,7	0,004	0,951
	IAT1	71,9±3,1	77,1±4,6	0,971	0,328
	P <sub>2</sub>	0,073	0,042		
СрАТ	Контроль	107,3±2,7	106,1±3,2	0,096	0,758
	IAT1	123,5±3,0	123,2±3,2	0,004	0,947
	P <sub>2</sub>	0,001	0,001		
<b>Чоловіки</b>					
САТ	Контроль	157,0±3,6 (47)	151,5±3,8 (30)	1,029	0,314
	IAT1	165,3±3,9 (58)	159,4±4,0 (40)	1,061	0,306
	P <sub>2</sub>	0,129	0,169		
ДАТ	Контроль	86,6±2,0	86,7±2,2	<0,001	0,993
	IAT1	93,6±2,2	91,6±2,1	0,391	0,533
	P <sub>2</sub>	0,025	0,113		
ПАТ	Контроль	70,4±2,6	64,8±3,0	1,908	0,171
	IAT1	71,6±2,9	67,8±3,0	0,810	0,370
	P <sub>2</sub>	0,754	0,502		
СрАТ	Контроль	110,1±2,4	108,3±2,5	0,262	0,610
	IAT1	117,5±2,5	114,2±2,5	0,801	0,373
	P <sub>2</sub>	0,038	0,103	1,029	0,314

Примітки: див. табл. 4.1.3

На відміну від жінок, у чоловіків вплив T-138C поліморфізму на показники АТ був набагато меншим і виявляв себе тільки у гомозигот за основним алелем (Т/Т) і лише при порівнянні ДАТ і СрАТ: ці два показники у хворих з ІАТІ були вищими, ніж в осіб контрольної групи (табл. 4.1.6). Що стосується носіїв мінорного алеля (Т/Т+С/С), то жодних статистично значимих відмінностей між хворими з ІАТІ і контролем не було виявлено ні за яким із чотирьох вивчених параметрів АТ.

Таблиця 4.1.7 - Частота генотипів за T-138C поліморфізмом гена MGP у контрольній групі і групі хворих з ІАТІ залежно від величини артеріального тиску

Генотип	Нормальний АТ (n)		Підвищений АТ (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
Т/Т	27	25	45	79
Т/С	19	13	24	40
С/С	2	4	4	9
	P <sub>1</sub> =0,478		P <sub>1</sub> =0,900	
	P <sub>2</sub> =0,394, P <sub>3</sub> =0,744, P <sub>4</sub> =0,054, P <sub>5</sub> =0,042, P <sub>6</sub> =0,911			

Примітки : n – кількість осіб, P<sub>1</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ, P<sub>2</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з нормальним та підвищеним артеріальним тиском у контролі, P<sub>3</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з нормальним та підвищеним артеріальним тиском у групах з ІАТІ, P<sub>4</sub> – значимість відмінностей у частоті осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском з генотипом Т/Т у контрольній групі і групі з ІАТІ, P<sub>5</sub> – значимість відмінностей у частоті осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском з генотипом Т/С у контрольній групі і групі з ІАТІ, P<sub>6</sub> – значимість відмінностей у частоті осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском з генотипом С/С у контрольній групі і групі з ІАТІ.

При поділі пацієнтів на тих, що мають нормальний АТ, і тих, у кого виявлено артеріальну гіпертензію (САТ > 140 мм рт. ст., ДАТ > 90 мм рт. ст.), порівняння частоти досліджуваних генотипів дало такі результати (табл. 4.1.7).

Як в осіб з нормальним, так і підвищеним АТ, генотип пацієнтів за T-138C поліморфізмом гена MGP не впливав на їх схильність до розвитку ІАТІ ( $P=0,478$  для нормального АТ,  $P=0,900$  для підвищеного АТ). Як у контрольній групі, так і у хворих з ІАТІ, розподіл трьох алельних варіантів T-138C поліморфізму не відрізнявся у пацієнтів з артеріальною гіпертензією і в осіб з нормальним АТ ( $P_2 =0,394$ ,  $P_3 =0,744$ ). У гетерозигот (Т/С) виявлено статистично значиму залежність між рівнем АТ і ймовірністю розвитку ІАТІ: в осіб з артеріальною гіпертензією ІАТІ виявлявся частіше (75,5%) , ніж у пацієнтів з нормальним АТ (55,8%) ( $P=0,042$ ). Цього не можна було сказати про гомозигот за основним і мінорним алелем. У них показник статистичної значимості  $P$  становив відповідно 0,054 і 0,911.

Підсумовуючи наведені вище дані аналізу за показниками АТ, маємо підстави стверджувати, що T-138 поліморфізм гена MGP, істотним чином не впливає на зв'язки між АТ та ІАТІ. Будучи доведеним фактором ризику, артеріальна гіпертензія є асоційованою з ІАТІ незалежно від генотипу пацієнтів за цим SNP. Така залежність у більшій мірі виявляє себе у жінок, ніж у чоловіків.

*Аналіз за фактом куріння.* Розподіл генотипів за поліморфізмом T-138C гена MGP у курців і тих, що не курять, подано в табл. 4.1.8. З наведених даних випливає, що факт куріння не впливає на асоціацію досліджуваного SNP з інсультом. Як у курців ( $P_1 =0,392$ ), так і тих, що не курять ( $P_1 =0,613$ ), не виявлено статистично значимого зв'язку між поліморфними варіантами гена MGP і розвитком ІАТІ. Не відрізнялася і частота генотипів за T-138C поліморфізмом у курців і тих, що не курять, у кожній з груп порівняння: у контролі і у хворих з ІАТІ. ( $P_2=0,164$ ,  $P_3=0,829$ ). Не встановлено відмінностей і в підгрупах пацієнтів, утворених за окремими алельними варіантами SNP.

Таким чином, у гомозигот за основним і мінорним алелями та в гетерозигот був відсутній зв'язок між фактом куріння і розвитком ІАТІ.

Таблиця 4.1.8 - Частота генотипів за T-138C поліморфізмом гена MGP у курців і тих, хто не курять у контрольній групі і групі хворих з ІАТІ

Генотип	Ті, що не курять (n)		Курці (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
T/T	51	72	23	32
T/C	37	38	7	15
C/C	5	10	1	3
	P <sub>1</sub> =0,392		P <sub>1</sub> =0,613	
	P <sub>2</sub> =0,164, P <sub>3</sub> =0,829, P <sub>4</sub> =0,965, P <sub>5</sub> =0,147, P <sub>6</sub> =0,750			

Примітки : n – кількість осіб, P<sub>1</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ, P<sub>2</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів у курців і тих, хто не курять у контролі, P<sub>3</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів у курців і тих, хто не курять у групах з ІАТІ, P<sub>4</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не курять з генотипом T/T у контрольній групі і групі з ІАТІ, P<sub>5</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не курять з генотипом T/C у контрольній групі і групі з ІАТІ, P<sub>6</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не курять з генотипом C/C у контрольній групі і групі з ІАТІ.

*Аналіз за наявністю цукрового діабету.* Визначення концентрації глюкози натще у хворих з ІАТІ показало, що гомозиготи за основним алелем і носії мінорного алеля не відрізняються між собою за цим показником (T/T: 5,90±0,15 ммоль/л; T/C+C/C: 5,97±0,19 ммоль/л; F=0,070; P=0,792). У пацієнтів з інсультом не виявлено залежності між генотипом за T-138C SNP і розвитком цукрового діабету (рис. 4.1.2). На відсутність такої залежності не впливали

стать, ІМТ, наявність артеріальної гіпертензії, дисліпопротеїнемії атерогенного характеру і ознак гіперкоагуляції крові.

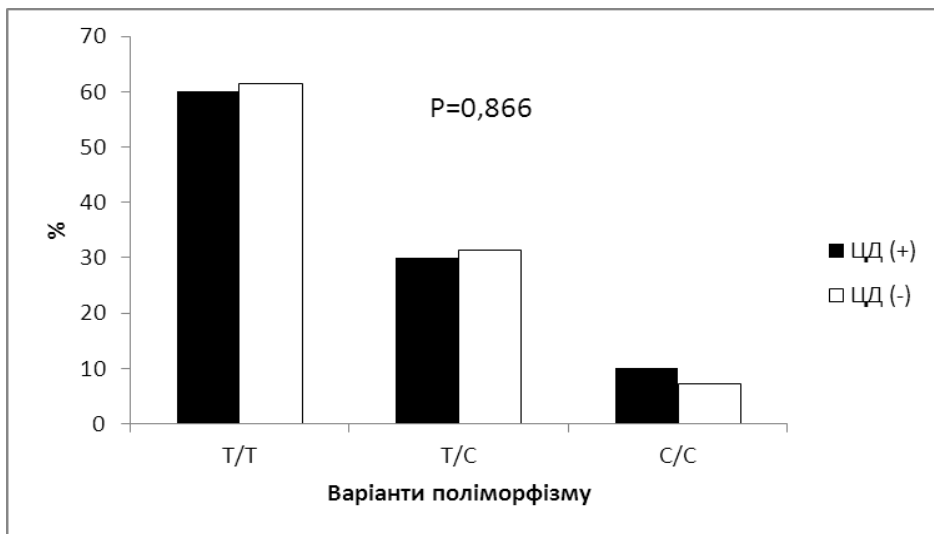


Рисунок 4.1.2 - Частота алельних варіантів гена MGP за поліморфізмом T-138C у хворих з ІАТІ з цукровим діабетом (чорні стопчики) і без цукрового діабету (білі стопчики). P – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

#### *Вплив SNP на основні характеристики ІАТІ.*

За обсягом уражень головного мозку у хворих з інсультом було виділено кілька його форм: (1) тотальний, (2) кінцевий і (3) лакунарний. Аналіз даних про зв'язок поліморфізму T-138C з різними варіантами ІАТІ свідчить про відсутність асоціації досліджуваного генетичного маркера з обсягом уражень головного мозку у хворих з ІАТІ. Такий висновок залишається в силі і за умов поділу пацієнтів на підгрупи за ознаками статі, ІМТ, куріння, наявності артеріальної гіпертензії, цукрового діабету, дисліпопротеїнемії атерогенного характеру і схильності до гіперкоагуляції крові.

Розвиток ІАТІ може бути пов'язаний з ураженнями (1) передньої, середніх і задньої мозкової артерії; (2) вертебральних і базилярної артерій, а також виділяють (3) поєднані варіанти, коли уражаються кілька артерій з

наведених вище двох груп. Отримані результати свідчать, що немає залежності між генотипом пацієнтів за поліморфізмом T-138C, з одного боку, і ділянками артеріального басейну, атеротромботичні зміни яких спричиняються до ІАТІ, з другого.

Проте, така залежність виявляється, якщо хворих з ІАТІ розділити на підгрупи на підставі ІМТ. Так, із 26 гомозигот за основним алелем (Т/Т), що мали  $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$ , не виявлено жодного випадку ураження вертебральних чи базилярної артерії. Усі 5 випадків ІАТІ, пов'язаних з цим артеріальним басейном, припадали на носіїв мінорного алелю С.

За тяжкістю клінічного перебігу було виділено ІАТІ (1) легкого, (2) середньої тяжкості і (3) тяжкого ступеня. Проведений аналіз показав відсутність асоціації досліджуваного нами SNP з тяжкістю перебігу ІАТІ. Її не було виявлено і тоді, коли статистичний аналіз проводили з урахуванням статі пацієнтів та інших традиційних факторів ризику атеротромботичних ускладнень.

T-138C поліморфізм гена MGP не впливав і на частоту повторних випадків інсульту. Співвідношення між первинним і повторними ІАТІ у гомозигот за основним алелем і в носіїв мінорного алеля було приблизно однаковим. Стать та інші досліджені нами фактори ризику не мали істотного впливу на повторюваність ІАТІ.

І нарешті, нами було досліджено зв'язок між генотипом хворих за T-138C поліморфізмом і неврологічними проявами ІАТІ. З наведених даних випливає, що цей варіант SNP не має жодного стосунку до неврологічної картини ІАТІ. Проте, аналіз, що проводився з урахуванням факторів ризику, дозволив виявити кілька закономірностей. Перша з них полягає в тому, що в осіб з  $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$  і генотипом Т/Т неврологічна картина інсульту виявляє себе майже виключно поєднаними сенсорно-руховими розладами: на сенсорні порушення припадало 3,8% випадків, на сенсорно-рухові – 96,2%. Натомість у цієї ж категорії хворих, що є гетерозиготами (Т/С), наведене вище співвідношення становило 38,5% проти 61,5%.

## 4.2 Поліморфізм G-7A гена MGP у хворих з ІАТІ і в контрольній групі

У проведених нами дослідженнях встановлено частоту трьох можливих варіантів генотипу за цим SNP в основній і контрольній групах і перевірено відповідність їх розподілу закону Харді-Вайнберга (табл. 4.2.1). Показано, що співвідношення G- і А-алелів в обох групах істотно не відрізняється від очікуваних ( $P > 0,05$ ).

Таблиця 4.2.1 - Частота алельних варіантів і алелів за G-7A поліморфізмом гена MGP у контрольній групі і у хворих з ІАТІ

	<i>Контрольна група</i>	<i>Хворі з ІАТІ</i>
Гомозиготи G/G, n (%)	54 (43,5)	61 (35,9)
Гетерозиготи G/A, n (%)	62 (50,0)	83 (48,8)
Гомозиготи A/A, n (%)	8 (6,5)	26 (15,3)
G-алель	0,69	0,6
A-алель	0,31	0,4
$\chi^2$	3,16	0,07
P	> 0,05	> 0,05

Примітки: n – кількість пацієнтів,  $\chi^2$  і P відображають відхилення у кожній групі від рівноваги Харді-Вайнберга

Порівняння частоти різних варіантів даного поліморфізму у хворих з ІАТІ і в контрольній групі дало такі результати: співвідношення генотипів G/G, G/A і A/A в основній групі становило відповідно 35,9%, 48,8% і 15,3%, а в контрольній – 43,5%, 50,0% і 6,5% (рис. 3.2.5). Показник P, визначений за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона, дорівнював 0,051 і був дуже близький до рівня статистичної значимості (рис. 4.2.1). Гомозиготи за мінорним алелем мали ризик розвитку ІАТІ у 2,6 раза вищий, ніж носії основного алеля (G/A+G/G).

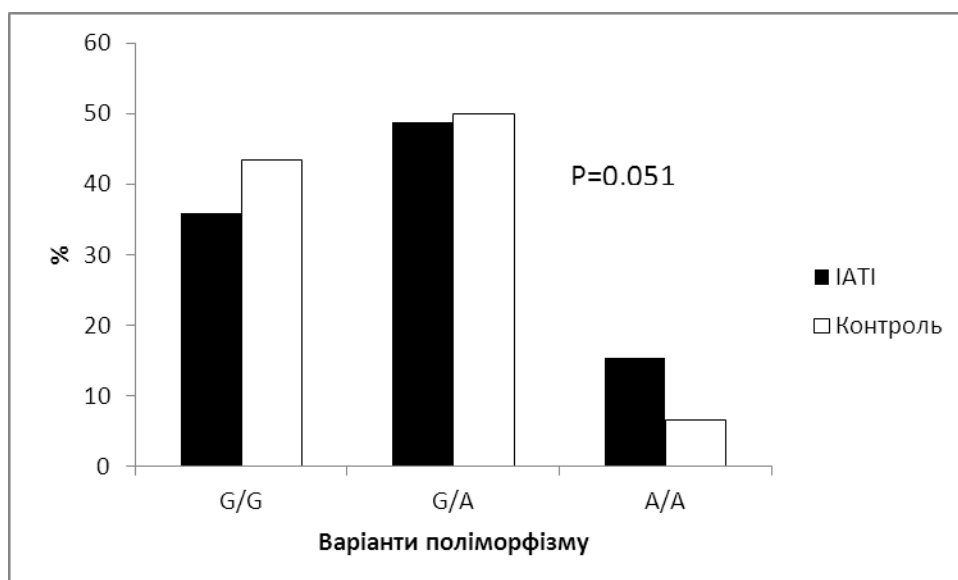


Рисунок 4.2.1 - Частота алельних варіантів гена MGP за поліморфізмом G-7A у хворих з ІАТІ (чорні стопчики) і в контрольній групі (білі стопчики). P – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

*Аналіз за статтю.* При порівнянні частоти генотипів в основній і контрольній групах окремо у жінок і чоловіків виявлено статистично значиму асоціацію G-7A поліморфізму з ІАТІ в осіб жіночої статі ( $P=0,022$ ) і її відсутність у чоловіків ( $P=0,798$ ) (табл. 4.2.2).

Таблиця 4.2.2 - Частота генотипів за G-7A поліморфізмом гена MGP у жінок і чоловіків у контрольній групі і групі хворих з ІАТІ

Генотип	Жінки (n)		Чоловіки (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
G/G	18	21	36	40
G/A	25	34	37	49
A/A	2	17	6	9
	$P_1=0,022$		$P_1=0,798$	
	$P_2=0,582, P_3=0,026, P_4=0,902, P_5=0,938, P_6=0,044$			



Примітки:  $n$  – кількість осіб,  $P_1$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ,  $P_2$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між жінками і чоловіками у контролі,  $P_3$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між жінками і чоловіками у групах з ІАТІ,  $P_4$  – значимість відмінностей у частоті осіб різної статі з генотипом G/G у контрольній групі і групі з ІАТІ,  $P_5$  – значимість відмінностей у частоті осіб різної статі з генотипом G/A у контрольній групі і групі з ІАТІ,  $P_6$  – значимість відмінностей у частоті осіб різної статі з генотипом A/A у контрольній групі і групі з ІАТІ.

Таблиця 4.2.3 - Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за G-7A поліморфізмом гена MGP в осіб жіночої і чоловічої статі (метод логістичної регресії)

	CR	SE	WS	P	OR	95% СІ для OR нижній	95% СІ для OR верхній
Загалом	0,962	0,423	5,174	0,023	2,618	1,142	6,000
Жінки	1,894	0,775	5,976	0,015	6,645	1,456	30,339
Чоловіки	0,207	0,550	0,142	0,706	1,230	0,419	3,617

Примітки: порівнюються гомозиготи за мінорним алелем (A/A) з носіями основного алеля (G/A+G/G). CR – коефіцієнт регресії, SE – стандартна похибка, WS – статистика Вальда, P – статистична значимість, OR – відношення ризику, СІ – довірчий інтервал

У групі хворих з ІАТІ, на відміну від контрольної групи, виявлено істотні відмінності в розподілі генотипів за поліморфізмом G-7A між особами жіночої і чоловічої статі. У хворих жінок відсоток гомозигот за основним алелем нижчий, а за мінорним алелем – вищий, ніж у чоловіків ( $P_2=0,582$ ,  $P_3=0,026$ ).

Таблиця 4.2.4 - Показники зросту, маси тіла та індексу маси тіла (ІМТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за G-7A поліморфізмом гена MGP ( $M \pm m$ )

Показники		G/G	G/A	A/A	F	P <sub>1</sub>
<b>Жінки</b>						
Зріст, см	Контроль	156,3±2,13 (18)	155,5±1,68 (24)	160,0±1,0 (2)	0,266	0,768
	IAT1	165,0±1,34 (21)	163,5±0,85 (34)	161,9±1,35 (17)	1,640	0,201
	P <sub>2</sub>	0,001	<0,001	0,646		
Маса тіла, кг	Контроль	71,2±2,96	69,1±2,45	65,0±6,0	0,311	0,734
	IAT1	76,8±1,95	80,0±2,3	73,9±1,42	1,534	0,223
	P <sub>2</sub>	0,011	0,002	0,329		
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	Контроль	29,3±1,29	26,8±1,0	25,4±2,66	0,518	0,600
	IAT1	28,3±1,13	29,9±0,86	28,2±1,13	1,175	0,315
	P <sub>2</sub>	0,502	0,333	0,428		
<b>Чоловіки</b>						
Зріст, см		G/G	G/A	A/A	F	P <sub>1</sub>
	Контроль	167,6±1,28 (36)	167,1±1,54 (37)	166,2±3,69 (6)	0,075	0,928
	IAT1	174,4±1,02 (40)	172,4±1,16 (49)	168,7±2,27 (9)	2,436	0,093
Маса тіла, кг	P <sub>2</sub>	<0,001	0,006	0,551		
	Контроль	76,9± 2,13	76,0±3,02	66,7±5,2	1,110	0,335
	IAT1	82,4±1,17	83,0±2,36	81,4±4,56	0,057	0,944
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	P <sub>2</sub>	0,023	0,067	0,056		
	Контроль	27,5±0,79	27,0±0,85	23,9±0,96	1,404	0,252
	IAT1	27,2±0,45	27,9±0,68	28,6±1,53	0,627	0,536

Примітки: F – критерій Фішера, P<sub>1</sub> і P<sub>2</sub> – значимість відмінностей між генотипами за даними однофакторного дисперсійного аналізу.

Серед гомозигот за мінорним алелем IAT1 у жінок виникає значно частіше, ніж у чоловіків (P<sub>6</sub>=0,044).

*Аналіз за антропометричними даними.* Хворі як жіночої, так чоловічої статі, що є гомозиготами за основним алелем, мають достовірно вищі, ніж у контролі, показники зросту і маси тіла (табл. 4.2.4). Таку ж само картину спостерігаємо і в жінок-гетерозигот, а у гетерозиготних чоловіків з ІАТІ тільки показник зросту є вищим, ніж у відповідному контролі. Що стосується ІМТ, то цей параметр, як і зріст та маса тіла, не залежав від генотипу за G-7A поліморфізмом, проте, на відміну від двох зазначених показників, він не відрізнявся в основній і контрольній групах при порівнянні пацієнтів за будь-яким із трьох генотипів (G/G, G/A, A/A).

G-7A поліморфізм гена MGP не впливав на розвиток ІАТІ у жодній з двох груп, утворених за показником ІМТ ( $<25 \text{ кг/м}^2$  і  $\geq 25 \text{ кг/м}^2$ ) (табл. 4.2.5).

Таблиця 4.2.5 - Частота генотипів за G-7A поліморфізмом гена MGP у контрольній групі і групі хворих з ІАТІ залежно від величини ІМТ

Генотип	ІМТ $<25\text{кг/м}^2$ (n)		ІМТ $\geq 25\text{кг/м}^2$ (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
G/G	13	12	41	49
G/A	21	20	40	63
A/A	4	9	4	17
	P <sub>1</sub> =0,391		P <sub>1</sub> =0,080	
	P <sub>2</sub> =0,234, P <sub>3</sub> =0,329, P <sub>4</sub> =0,568, P <sub>5</sub> =0,175, P <sub>6</sub> =0,434			

Примітки : n – кількість осіб, P<sub>1</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ, P<sub>2</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з ІМТ $<25\text{кг/м}^2$  та ІМТ $\geq 25\text{кг/м}^2$  у контролі, P<sub>3</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з ІМТ $<25\text{кг/м}^2$  та ІМТ $\geq 25\text{кг/м}^2$  у групах з ІАТІ, P<sub>4</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ $<25\text{кг/м}^2$  та ІМТ $\geq 25\text{кг/м}^2$  з генотипом G/G у контрольній групі і групі з ІАТІ, P<sub>5</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ $<25\text{кг/м}^2$  та ІМТ $\geq 25\text{кг/м}^2$  з генотипом G/A у контрольній групі і групі з ІАТІ, P<sub>6</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ $<25\text{кг/м}^2$  та ІМТ $\geq 25\text{кг/м}^2$  з генотипом A/A у контрольній групі і групі з ІАТІ.

*Аналіз за показниками артеріального тиску. G-7A поліморфізм гена MGP не впливає на параметри артеріального тиску як в основній, так і контрольній групах (табл. 4.2.6).*

У гомозигот за основним алелем і в гетерозигот показники САТ, ДАТ і СрАТ були достовірно вищими у хворих з ІАТІ, ніж у контролі. Проте, тут виявлено істотні статеві відмінності.

Таблиця 4.2.6 - Показники артеріального тиску (АТ) у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за G-7A поліморфізмом гена MGP (M±m)

Показники		G/G	G/A	A/A	F	P <sub>1</sub>
САТ	Контроль	154,9±3,5 (52)	151,0±2,8 (61)	150,6±7,6 (8)	0,422	0,657
	ІАТІ	166,7±3,7 (61)	167,1±3,3 (83)	167,3±5,2 (26)	0,004	0,996
	P <sub>2</sub>	0,024	0,001	0,115		
ДАТ	Контроль	88,1±1,8	84,4±1,5	90,0±3,8	1,654	0,196
	ІАТІ	96,6±2,0	94,1±1,8	96,5±2,4	0,524	0,593
	P <sub>2</sub>	0,002	<0,001	0,177		
ПАТ	Контроль	66,8±2,5	66,6±2,3	60,6±6,6	0,424	0,656
	ІАТІ	70,2±2,6	73,0±2,4	70,8±4,6	0,321	0,726
	P <sub>2</sub>	0,358	0,066	0,270		
СрАТ	Контроль	110,4±2,2	106,6±1,8	110,2±4,4	1,006	0,369
	ІАТІ	120,0±2,4	118,4±2,1	120,1±2,8	0,154	0,857
	P <sub>2</sub>	0,005	<0,001	0,089		

Примітки: див. табл. 4.2.4

У жінок, гомозиготних за основним алелем, тільки ДАТ і СрАТ мали більшу величину у хворих, ніж у відносно здорових осіб (табл. 4.2.7). Зате у носіїв мінорного алеля (G/A+A/A) всі чотири параметри – САТ, ДАТ, ПАТ і СрАТ – у хворих з ІАТІ були вищі, ніж у контролі. Що стосується чоловіків, то тільки в носіїв мінорного алеля виявлено статистично значимі відмінності, і то

лише за двома показниками – ДАТ і СрАТ, між хворими з ІАТІ і групою порівняння (табл. 4.2.7).

Таблиця 4.2.7 - Показники артеріального тиску (АТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за G-7A поліморфізмом гена MGP (M±m)

Показники		G/G	G/A+A/A	F	P <sub>1</sub>
<b>Жінки</b>					
САТ	Контроль	148,9±6,3 (18)	148,7±4,1 (26)	0,001	0,974
	ІАТІ	167,9±6,8 (21)	174,5±4,2 (51)	0,715	0,401
	P <sub>2</sub>	0,051	<0,001		
ДАТ	Контроль	85,8±3,1	85,8±1,9	<0,001	0,985
	ІАТІ	98,1±3,7	99,1±2,0	0,067	0,797
	P <sub>2</sub>	0,017	<0,001		
ПАТ	Контроль	63,1±4,9	62,9±3,6	0,001	0,977
	ІАТІ	69,8±4,8	75,4±3,0	0,994	0,322
	P <sub>2</sub>	0,333	0,014		
СрАТ	Контроль	106,9±3,8	106,7±2,3	0,001	0,977
	ІАТІ	121,4±4,4	124,3±2,6	0,351	0,556
	P <sub>2</sub>	0,019	<0,001		
<b>Чоловіки</b>					
САТ	Контроль	158,1±4,2 (34)	152,3±3,4 (43)	1,164	0,284
	ІАТІ	166,1±4,7 (40)	160,6±3,6 (58)	0,933	0,336
	P <sub>2</sub>	0,197	0,110		
ДАТ	Контроль	89,3±2,2	84,6±2,0	2,455	0,121
	ІАТІ	95,8±2,4	90,8±2,0	2,481	0,119
	P <sub>2</sub>	0,054	0,036		
ПАТ	Контроль	68,8±2,9	67,7±2,7	0,073	0,788
	ІАТІ	70,4±3,0	69,8±2,9	0,016	0,900
	P <sub>2</sub>	0,714	0,616		
СрАТ	Контроль	112,2±2,7	107,2±2,2	2,134	0,148
	ІАТІ	119,2±2,9	114,1±2,3	1,991	0,161
	P <sub>2</sub>	158,1±4,2 (34)	152,3±3,4 (43)		

Примітки: див. табл. 4.2.4

У табл. 4.2.8 представлено дані про зв'язок G-7A поліморфізму гена MGP з розвитком ІАТІ в осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском.

Таблиця 4.2.8 - Частота генотипів за G-7A поліморфізмом гена MGP у контрольній групі і групі хворих з ІАТІ залежно від величини артеріального тиску

Генотип	Нормальний АТ (n)		Підвищений АТ (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
G/G	21	12	31	49
G/A	25	23	36	60
A/A	2	7	36	60
	P <sub>1</sub> =0,085		P <sub>1</sub> =0,386	
	P <sub>2</sub> =0,679, P <sub>3</sub> =0,521, P <sub>4</sub> =0,016, P <sub>5</sub> =0,095, P <sub>6</sub> =0,914			

Примітки : n – кількість осіб, P<sub>1</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ, P<sub>2</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з нормальним та підвищеним артеріальним тиском у контролі, P<sub>3</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з нормальним та підвищеним артеріальним тиском у групах з ІАТІ, P<sub>4</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском з генотипом G/G у контрольній групі і групі з ІАТІ, P<sub>5</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском з генотипом G/A у контрольній групі і групі з ІАТІ, P<sub>6</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском з генотипом A/A у контрольній групі і групі з ІАТІ.

Результати аналізу показали відсутність асоціації між дослідженим SNP і виникненням інсульту у жодній з утворених груп. Як в основній, так і в контрольній групі генотип за G-7A поліморфізмом гена MGP не впливає на розвиток артеріальної гіпертензії. У гомозигот за основним алелем, а не у носіїв

мінорного алеля, хворі з ІАТІ мають вищу частоту артеріальної гіпертензії, ніж пацієнти контрольної групи ( $P=0,016$ ).

Проте, асоціація між дослідженим поліморфізмом та ІАТІ виявилася, якщо її вивчали окремо у жінок і чоловіків. Так, в осіб жіночої, а не чоловічої, статі з нормальними показниками артеріального тиску має місце статистично значимий зв'язок між поліморфними варіантами гена і розвитком ІАТІ ( $P=0,029$ ) (додаток 31).

Застосування методу логістичної регресії дало можливість встановити, що ризик виникнення ІАТІ в осіб з нормальним артеріальним тиском і генотипом А/А у 6,1 раза вищий, ніж у нормотензивних гомозигот за основним алелем (табл. 4.2.9).

Таблиця 4.2.9 - Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за G-7A поліморфізмом гена MGP в осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском (метод логістичної регресії)

	Гено-тип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
Нормальний АТ	G/A	0,476	0,463	1,058	0,304	1,610	0,650	3,990
	A/A	1,812	0,880	4,245	0,039	6,125	1,092	34,346
Артеріальна гіпертензія	G/A	0,053	0,312	0,029	0,865	1,054	0,572	1,942
	A/A	0,695	0,522	1,775	0,183	2,003	0,721	5,568

Примітки: див. табл. 4.2.3

Таким чином, беручи до уваги наведені результати, можна дійти висновку про асоціацію G-7A поліморфізму гена MGP з ІАТІ в осіб з нормальними показниками артеріального тиску. Відсутність такого зв'язку в групі з підвищеним тиском може бути пов'язана з тим, що артеріальна гіпертензія, будучи сама собою важливим фактором ризику інсульту, маскує вплив дослідженого SNP на розвиток ІАТІ.

*Аналіз за фактом куріння.* Використання  $\chi^2$ -критерію Пірсона показало відсутність значимого зв'язку між G-7A поліморфізмом і розвитком ІАТІ як у курців ( $P=0,518$ ), так і тих, що не курять ( $P=0,070$ ) (табл. 4.2.10). В обох групах, в основній і контрольній, не виявлено зв'язку між генотипом пацієнтів і звичкою до куріння ( $P_2=0,634$ ,  $P_3=0,230$ ). Співвідношення між курцями і тими, що не курять, у групах порівняння не залежало від їхнього генотипу ( $P_4=0,693$ ,  $P_5=0,274$ ,  $P_6=0,840$ ).

Проте асоціація з ІАТІ виявляється в осіб жіночої статі, що не курять ( $P=0,023$ ) (додаток 32).

Таблиця 4.2.10 - Частота генотипів за T-138C поліморфізмом гена MGP у контрольній групі і групі хворих з ІАТІ залежно від факту куріння

Генотип	Ті, що не курять (n)		Курці (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
G/G	39	42	15	19
G/A	47	56	15	27
A/A	7	22	1	4
	$P_1=0,070$		$P_1=0,518$	
	$P_2=0,634$ , $P_3=0,230$ , $P_4=0,693$ , $P_5=0,274$ , $P_6=0,840$			

Примітки: n – кількість осіб,  $P_1$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ,  $P_2$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів у курців і тих, хто не курять у контролі,  $P_3$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів у курців і тих, хто не курять у групах з ІАТІ,  $P_4$  - значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не курять з генотипом G/G у контрольній групі і групі з ІАТІ,  $P_5$  - значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не курять з генотипом G/A у контрольній групі і групі з ІАТІ,  $P_6$  - значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не курять з A/A у контрольній групі і групі з ІАТІ.



За допомогою методу логістичної регресії показано, що у некурців – якщо не брати до уваги стать пацієнтів – ризик виникнення ІАТІ у 2,9 раза вищий, ніж у тих, що курять ( $P=0,028$ ) (табл. 4.2.11).

Таблиця 4.2.11- Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за G-7A поліморфізмом гена MGP в осіб, що курять і не курять (метод логістичної регресії)

	Гено-тип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
Ті, що не курять	G/A	0,101	0,298	0,115	0,734	1,106	0,617	1,983
	A/A	1,071	0,488	4,825	0,028	2,918	1,122	7,589
Курці	G/A	0,351	0,472	0,554	0,457	1,421	0,563	3,586
	A/A	1,150	1,170	0,966	0,326	3,158	0,319	31,293

Примітки: див. табл. 4.2.3

Таким чином, є підстави вести мову про асоціацію G-7A поліморфізму гена MGP з ІАТІ в осіб, що не курять. Відсутність такого зв'язку у курців, мабуть, можна пояснити так само, як і у випадку артеріальної гіпертензії (див. вище). Куріння, будучи доведеним фактором ризику ІАТІ, може маскувати залежність між досліджуваним SNP та інсультом.

*Аналіз за наявністю цукрового діабету.* У хворих з ІАТІ рівень глюкози крові, що визначався натщесерце, не залежав від G-7A поліморфізму. Не виявлено зв'язку між поліморфними варіантами гена MGP і розвитком цукрового діабету ( $P=0,505$ ). Відсутність такої залежності встановлено і при врахуванні таких чинників як стать, ІМТ, факт куріння, наявність артеріальної гіпертензії, дисліпопротеїнемії атерогенного характеру і ознак гіперкоагуляції крові.

*Вплив SNP на основні характеристики ІАТІ.*

G-7A поліморфізм початкової ділянки промотора гена MGP не впливав на обсяг уражень головного мозку у хворих з ІАТІ. Серед досліджуваних факторів

тільки факт куріння дещо модифікував відсутність такої залежності. Виявилось, що у курців з генотипом А/А кінцевий інсульт траплявся частіше, ніж лакунарний, а в носіїв основного алеля (G/G, G/A) – навпаки. Проте, мала загальна кількість зазначених форм інсульту (кінцевого і лакунарного) не дає підстав для остаточного висновку про справедливість виявленої залежності для значно більшої кількості випадків.

Досліджуваний SNP не був пов'язаний з локалізацією атеротромботичного процесу в судинах головного мозку і загалом з тяжкістю клінічного перебігу інсульту. Однак, в останньому випадку можна було виявити таку залежність у підгрупах хворих, утворених на підставі показника ІМТ, наявності ДАХ чи ГКК. Так, серед хворих з ІМТ, меншим за  $25 \text{ кг/м}^2$ , гетерозиготи мали відсоток інсультів з легким перебігом більший, ніж гомозиготи за основним і мінорним алелями. Таку ж саму залежність виявлено і в пацієнтів з ДАХ і з ГКК.

Не знайдено зв'язку між G-7A поліморфізмом і повторністю ІАТІ. Жоден з проаналізованих чинників (стать, ІМТ, куріння, артеріальна гіпертензія, цукровий діабет, ДАХ, ГКК) не впливав на відсутність такої залежності.

І нарешті, поліморфні варіанти гена MGP не були якимось чином пов'язані з неврологічними проявами інсульту. Тільки у хворих з ГКК гетерозиготи мали відсоток чисто сенсорних порушень дещо вищий, ніж змішаних. Однак, через малу загальну кількість ізольованих (рухових і сенсорних) неврологічних розладів робити остаточний висновок про виявлену залежність передчасно.

### 4.3 Поліморфізм Thr83Ala гена MGP у хворих з ІАТІ і в контрольній групі

Перевірка розподілу генотипів за цим Thr83Ala на відповідність закону Харді-Вайнберга показала, що і в контрольній, і в основній групі відхилення від встановленої рівноваги не є статистично значимими (табл. 4.3.1).

Таблиця 4.3.1 - Частота алельних варіантів і алелів за Thr83Ala поліморфізмом гена MGP у контрольній групі і у хворих з ІАТІ

	<i>Контрольна група</i>	<i>Хворі з ІАТІ</i>
Гомозиготи Thr/Thr, n (%)	43 (34,7)	67 (39,4)
Гетерозиготи Thr/Ala, n (%)	66 (53,2)	83 (48,8)
Гомозиготи Ala/Ala, n (%)	15 (12,1)	20 (11,8)
Thr-алель	0,61	0,64
Ala-алель	0,39	0,36
$\chi^2$	1,84	0,56
P	> 0,05	> 0,05

Примітки: n – кількість пацієнтів,  $\chi^2$  і P відображають відхилення у кожній групі від рівноваги Харді-Вайнберга

Аналіз частоти генотипів показав, що у хворих з ІАТІ співвідношення між гомозиготами за основним алелем, гетерозиготами і гомозиготами за мінорним алелем складає 39,4%, 48,8% і 11,8%, тимчасом як у контрольній групі відповідні показники дорівнювали 34,7%, 53,2% і 12,1% (рис. 4.3.1). Відмінності у розподілі генотипів між групами порівняння виявилися статистично не достовірними (P=0,701).

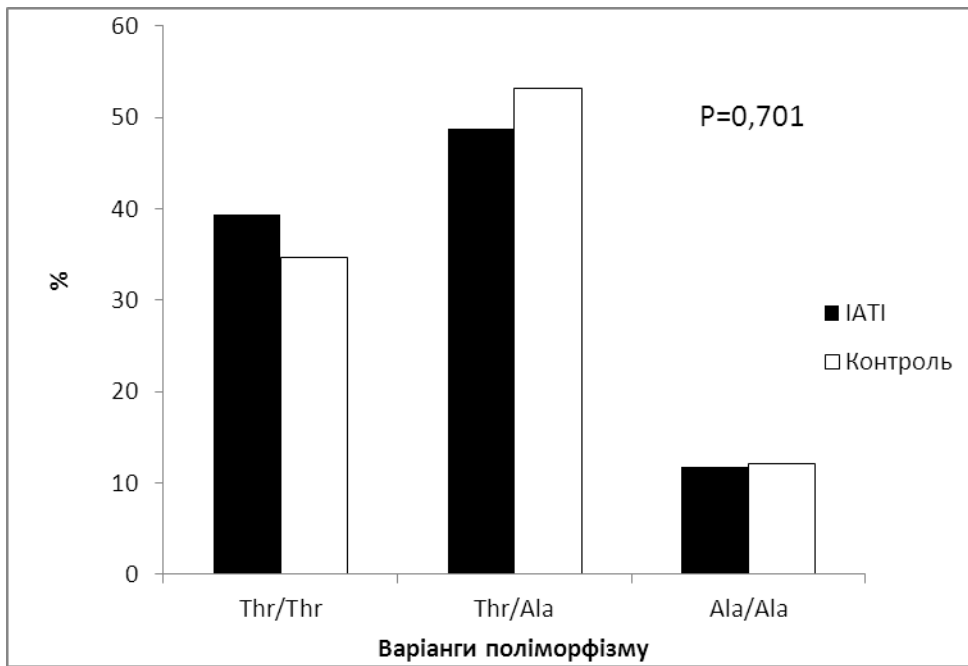


Рисунок - 4.3.1 Частота алельних варіантів гена MGP за поліморфізмом Thr83Ala у хворих з ІАТІ (чорні стопчики) і в контрольній групі (білі стопчики). P – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

*Аналіз за статтю.* Розподіл генотипів за досліджуваним SNP у жінок і чоловіків окремо представлено в табл. 4.3.2. Так, в осіб жіночої статі, хворих на ІАТІ, на поліморфні варіанти Thr/Thr, Thr/Ala і Ala/Ala припадало відповідно 31,9%, 52,8% і 15,3%, а в контрольній групі – 40,0%, 55,6% і 4,4%. Відмінності між двома групами були несуттєві (P=0,176). У чоловіків спостерігали приблизно таку ж картину: у хворих з ІАТІ зазначені вище показники дорівнювали 44,9%, 45,9% і 9,2%, а в контролі – 31,6%, 51,9% і 16,5% (P=0,125).

Як у контрольній (P=0,131), так і в основній групі (P=0,176) відмінності між розподілом генотипів у жінок і чоловіків були не істотними. Слід зазначити, що тільки у пацієнтів з генотипом Ala/Ala відмінності між співвідношенням статей у контрольній і основній групах були статистично значимими (P=0,016).

Таблиця 4.3.2 - Частота генотипів за T-138C поліморфізмом гена MGP у контрольній групі і групі хворих з ІАТІ залежно від факту куріння

Генотип	Жінки (n)		Чоловіки (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
Thr/Thr	18	23	25	44
Thr/Ala	25	38	41	45
Ala/Ala	2	11	13	9
	P <sub>1</sub> =0,176		P <sub>1</sub> = 0,125	
	P <sub>2</sub> =0,131, P <sub>3</sub> =0,176, P <sub>4</sub> =0,425, P <sub>5</sub> =0,322, P <sub>6</sub> =0,016			

Примітки : n – кількість осіб, P<sub>1</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ, P<sub>2</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між жінками і чоловіками у контролі, P<sub>3</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між жінками і чоловіками у групах з ІАТІ, P<sub>4</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб різної статі з генотипом Thr/Thr у контрольній групі і групі з ІАТІ, P<sub>5</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб різної статі з генотипом Thr/Ala у контрольній групі і групі з ІАТІ, P<sub>6</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб різної статі з генотипом Ala/Ala у контрольній групі і групі з ІАТІ.

*Аналіз за антропометричними даними.* З таблиці 4.3.3 випливає, що немає зв'язку між генотипами за поліморфізмом Thr83Ala і середніми показниками зросту, маси тіла та ІМТ як у здорових осіб, так і у хворих з ІАТІ. Що стосується порівняння пацієнтів контрольної і основної групи за цими характеристиками, то у жінок і чоловіків, гомозиготних за Thr-алелем, зріст, а у носіїв мінорного алеля (Thr/Ala+Ala/Ala) ще й маса тіла були істотно вищими у хворих на інсульт, ніж у відносно здорових осіб.

У підгрупах пацієнтів з нормальним (P=0,307) і підвищеним ІМТ (P=0,297) не виявлено зв'язку між розподілом генотипів за Thr83Ala поліморфізмом і розвитком ІАТІ (табл.4.3.4.). Як у контрольній (P=0,133), так і в основній групі пацієнтів (P=0,199) не виявлено відмінностей у розподілі

генотипів за Thr83Ala поліморфізмом в осіб з нормальними і збільшеними показниками ІМТ.

Таблиця 4.3.3 - Показники зросту, маси тіла та індексу маси тіла (ІМТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за Thr83Ala поліморфізмом гена MGP ( $M \pm m$ )

Показники		Thr/Thr	Thr/Ala + Ala/Ala	F	P <sub>1</sub>
<b>Жінки</b>					
Зріст, см	Контроль	157,1±1,90 (18)	155,4±1,69(26)	0,441	0,510
	IAT1	164,4±1,25 (23)	163,2±0,75 (49)	0,783	0,379
	P <sub>2</sub>	0,002	<0,001		
Маса тіла, кг	Контроль	72,6±2,86	67,8±1,8	1,775	0,190
	IAT1	79,2±2,18	76,9±1,82	0,597	0,442
	P <sub>2</sub>	0,069	0,003		
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	Контроль	29,5±1,15	28,2±1,03	0,672	0,417
	IAT1	29,4±0,84	28,9±0,69	0,167	0,684
	P <sub>2</sub>	0,924	0,581		
<b>Чоловіки</b>					
Зріст, см	Контроль	166,3±1,86 (25)	167,7±1,11 (54)	0,426	0,516
	IAT1	171,6±1,18 (44)	173,9±0,96 (54)	2,279	0,134
	P <sub>2</sub>	0,014	<0,001		
Маса тіла, кг	Контроль	75,6±2,83	75,7±2,24	0,001	0,971
	IAT1	81,4±1,63	83,6±2,02	0,717	0,399
	P <sub>2</sub>	0,062	0,010		
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	Контроль	27,2±0,75	26,9±0,73	0,051	0,822
	IAT1	27,6±0,47	27,7±0,63	0,011	0,917
	P <sub>2</sub>	0,644	0,443		

Примітки: F – критерій Фішера, P<sub>1</sub> і P<sub>2</sub> – значимість відмінностей між генотипами за даними однофакторного дисперсійного аналізу (P<sub>1</sub>) і між контролем та IAT1 за t-критерієм Стьюдента (P<sub>2</sub>). У дужках – кількість пацієнтів

Тільки в гомозигот за мінорним алелем співвідношення осіб з нормальним і підвищеним ІМТ у контролі і у хворих з ІАТІ було різним. Так, у контрольній групі на осіб з  $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$  та  $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$  припадало відповідно 53,3% і 46,7%, тимчасом як у хворих з ІАТІ зазначені показники дорівнювали 20,0% і 80,0% ( $P=0,040$ ).

Таблиця 4.3.4 - Частота генотипів за Thr83Ala поліморфізмом гена MGP у контрольній групі і групі хворих з ІАТІ залежно від величини ІМТ

Генотип	ІМТ<25кг/м <sup>2</sup> (n)		ІМТ≥25кг/м <sup>2</sup> (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
Thr/Thr	12	12	31	55
Thr/Ala	18	25	47	58
Ala/Ala	8	4	7	16
	P <sub>1</sub> =0,307		P <sub>1</sub> = 0,297	
	P <sub>2</sub> =0,133, P <sub>3</sub> =0,199, P <sub>4</sub> =0,215, P <sub>5</sub> =0,747, P <sub>6</sub> =0,040			

Примітки : n – кількість осіб, P<sub>1</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ, P<sub>2</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з  $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$  та  $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$  у контролі, P<sub>3</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з  $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$  та  $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$  у групах з ІАТІ, P<sub>4</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб з  $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$  та  $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$  з генотипом Thr/Thr у контрольній групі і групі з ІАТІ, P<sub>5</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб з  $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$  та  $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$  з генотипом Thr/Ala у контрольній групі і групі з ІАТІ, P<sub>6</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб з  $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$  та  $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$  з генотипом Ala/Ala у контрольній групі і групі з ІАТІ.

*Аналіз за показниками артеріального тиску.* Дані, представлені в табл. 4.3.5, свідчать про те, що генотип за поліморфізмом Thr83Ala істотно не впливає на середні показники артеріального тиску ні у хворих з ІАТІ, ні у відносно здорових осіб. Що стосується порівняння цих показників в основній і контрольній групах, то встановлено, що хворі з генотипами Thr/Thr і Thr/Ala (а

не Ala/Ala) мають вищі, ніж у відповідному контролі, САТ, ДАТ і СрАТ, а гетерозиготи – ще й ПАТ.

Таблиця 4.3.5 - Показники артеріального тиску (АТ) у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за Thr83Ala поліморфізмом гена MGP (M±m)

Показники		Thr/Thr	Thr/Ala	Ala/Ala	F	P <sub>1</sub>
САТ	Контроль	149,2±3,6 (41)	154,9±3,0 (65)	152,7±5,6 (15)	0,743	0,478
	ІАТІ	163,4±3,7 (67)	170,8±3,0 (83)	163,3±6,6 (20)	1,390	0,252
	P <sub>2</sub>	0,012	<0,001	0,252		
ДАТ	Контроль	83,0±2,0	87,5±1,4	90,3±3,6	2,684	0,072
	ІАТІ	94,6±1,8	96,1±1,7	94,8±4,4	0,209	0,812
	P <sub>2</sub>	<0,001	<0,001	0,467		
ПАТ	Контроль	66,2±2,9	67,3±2,3	62,3±4,3	0,462	0,631
	ІАТІ	68,8±2,9	74,6±2,2	68,5±3,6	1,637	0,198
	P <sub>2</sub>	0,543	0,024	0,271		
СрАТ	Контроль	105,0±2,2	110,0±1,8	111,1±3,9	1,759	0,177
	ІАТІ	117,5±2,22	121,0±2,0	177,6±5,0	0,759	0,470
	P <sub>2</sub>	<0,001	<0,001	0,340		

Примітки: див. табл. 4.3.3

У жінок з ІАТІ, носіїв мінорного алеля (Thr/Ala+Ala/Ala), усі показники артеріального тиску (САТ, ДАТ, ПАТ і СрАТ), а у гомозигот за основним алелем – тільки ДАТ і СрАТ є вищими, ніж в осіб контрольної групи з відповідними генотипами (табл. 4.3.6). Чоловіки контрольної групи, що є носіями мінорного алеля, мають вищі, ніж у гомозигот за основним алелем, показники ДАТ і СрАТ. В осіб чоловічої статі відмінності між ІАТІ і контролем



виявляються тільки серед носіїв генотипу Thr/Thr і вони стосуються всіх показників АТ, крім ПАТ.

Таблиця 4.3.6 - Показники артеріального тиску (АТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за Thr83Ala поліморфізмом гена MGP (M±m)

Показники		Thr/Thr	Thr/Ala+ Ala/Ala	F	P <sub>1</sub>
<b>Жінки</b>					
САТ	Контроль	151,7±5,7 (18)	146,7±4,5 (26)	0,471	0,496
	IАТІ	166,1±6,6	175,6±4,2	1,560	0,216
	P <sub>2</sub>	0,115	<0,001		
ДАТ	Контроль	85,8±2,7	85,8±2,1	<0,001	0,985
	IАТІ	98,9±2,9	98,8±2,3	0,001	0,972
	P <sub>2</sub>	0,003	<0,001		
ПАТ	Контроль	65,8±4,6	60,1±3,7	0,697	0,409
	IАТІ	67,2±4,6	76,8±3,0	3,175	0,079
	P <sub>2</sub>	0,839	0,002		
СрАТ	Контроль	107,8±3,3	106,1±2,6	0,164	0,687
	IАТІ	121,3±3,9	124,4±2,7	0,418	0,520
	P <sub>2</sub>	0,015	<0,001		
<b>Чоловіки</b>					
САТ	Контроль	147,2±4,6 (23)	158,2±3,2 (54)	3,707	0,058
	IАТІ	161,9±4,6 (44)	163,6±3,5 (54)	0,088	0,768
	P <sub>2</sub>	0,044	0,249		
ДАТ	Контроль	80,7±2,8	89,2±1,7	7,164	0,009
	IАТІ	92,3±2,2	93,2±2,2	0,094	0,760
	P <sub>2</sub>	0,002	0,146		
ПАТ	Контроль	66,4±3,7	69,0±2,3	0,347	0,558
	IАТІ	69,7±3,7	70,4±2,4	0,028	0,869
	P <sub>2</sub>	0,582	0,678		
САТ	Контроль	102,9±3,0	112,2±2,0	6,478	0,013
	IАТІ	115,5±2,7	116,7±2,5	0,109	0,742
	P <sub>2</sub>	0,005	0,156		

Примітка: див. табл. 4.3.3

Не виявлено зв'язку між розподілом генотипів за Thr83Ala поліморфізмом і розвитком ІАГІ в осіб з нормальним ( $P=0,195$ ) і підвищеним артеріальним тиском ( $P=0,369$ ) (табл. 4.3.7).

Таблиця 4.3.7 - Частота генотипів за Thr83Ala поліморфізмом гена MGP у контрольній групі і групі хворих з ІАГІ залежно від величини артеріального тиску

Генотип	Нормальний АТ (n)		Підвищений АТ (n)	
	Контроль	ІАГІ	Контроль	ІАГІ
Thr/Thr	21	22	20	45
Thr/Ala	24	14	41	69
Ala/Ala	3	6	12	14
	$P_1=0,195$		$P_1=0,369$	
	$P_2=0,086, P_3=0,066, P_4=0,058, P_5=0,006, P_6=0,503$			

Примітки: n – кількість осіб,  $P_1$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАГІ,  $P_2$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з нормальним та підвищеним артеріальним тиском у контролі,  $P_3$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з нормальним та підвищеним артеріальним тиском у групах з ІАГІ,  $P_4$  – значимість відмінностей у частоті осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском з генотипом Thr/Thr у контрольній групі і групі з ІАГІ,  $P_5$  – значимість відмінностей у частоті осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском з генотипом Thr/Ala у контрольній групі і групі з ІАГІ,  $P_6$  – значимість відмінностей у частоті осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском з генотипом Ala/Ala у контрольній групі і групі з ІАГІ.

У кожній з двох груп порівняння розподіл генотипів за SNP серед осіб з нормальним і підвищеним АТ не відрізнявся ( $P=0,086$  для контролю і  $P=0,066$  для групи хворих).

У кожній з двох груп порівняння розподіл генотипів за SNP серед осіб з нормальним і підвищеним АТ не відрізнявся. Тільки серед гетерозигот було відзначено статистично значиму відмінність у співвідношенні нормо- і

гіпертоніків в основній і в контрольній групах: відсоток осіб з артеріальною гіпертензією у хворих з ІАТІ був вищий, ніж у контролі ( $P=0,006$ ). Методом логістичної регресії встановлено, що у гетерозиготних жінок з ІАТІ ймовірність артеріальної гіпертензії у 5 разів вища, ніж у гомозигот за основним алелем (табл. 4.3.8).

Таблиця 4.3.8 - Аналіз ризику артеріальної гіпертензії у хворих з ІАТІ (жінок і чоловіків) залежно від генотипу за Thr83Ala поліморфізмом гена MGP (метод логістичної регресії)

	Гено-тип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
Жінки	Thr/Ala	1,630	0,753	4,684	0,030	5,104	1,166	22,337
	Ala/Ala	0,154	0,815	0,036	0,850	1,167	0,236	5,760
Чоловіки	Thr/Ala	0,469	0,471	0,994	0,319	1,599	0,636	4,021
	Ala/Ala	0,034	0,775	0,002	0,965	1,034	0,226	4,728

Примітки: порівняння ведеться відносно гомозигот за основним алелем (Thr/Thr), CR – коефіцієнт регресії, SE – стандартна похибка, WS – статистика Вальда, P – статистична значимість, OR – відношення ризику, CI – довірчий інтервал

*Аналіз за фактом куріння.* Розподіл генотипів за поліморфізмом Thr83Ala гена MGP у курців і тих, що не курять, істотно не відрізнявся в основній і контрольній групах (табл. 4.3.9).

Таблиця 4.3.9 - Частота генотипів за Thr83Ala поліморфізмом гена MGP у курців і тих, хто не курять у контрольній групі і групі хворих з ІАТІ

Генотип	Ті, що не курять (n)		Курці (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
Thr/Thr	31	44	12	23
Thr/Ala	52	60	14	23
Ala/Ala	10	16	5	4
	$P_1=0,670$		$P_1=0,502$	
	$P_2=0,534, P_3=0,417, P_4=0,480, P_5=0,362, P_6=0,372$			

Примітки:  $n$  – кількість осіб,  $P_1$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ,  $P_2$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів у курців і тих, хто не курять у контролі,  $P_3$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів у курців і тих, хто не курять у групах з ІАТІ,  $P_4$  – значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не курять з генотипом Thr/Thr у контрольній групі і групі з ІАТІ,  $P_5$  – значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не курять з генотипом Thr/Ala у контрольній групі і групі з ІАТІ,  $P_6$  – значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не курять з генотипом Ala/Ala у контрольній групі і групі з ІАТІ.

У контрольній ( $P=0,534$ ) і в основній групах ( $P=0,417$ ) відмінностей у розподілі генотипів між курцями і тими, що не курять, не виявлено. Співвідношення між курцями і тими, що не курять, у хворих з ІАТІ і в контролі було однаковим у кожній із трьох підгруп, виділених за ознакою генотипу пацієнтів. Таким чином, можна стверджувати, що факт куріння істотним чином не впливає на асоціацію Thr83Ala поліморфізму гена MGP з ішемічним інсультом.

*Аналіз за наявністю цукрового діабету.* У хворих з ІАТІ рівень глюкози крові, що визначався натщесерце, не залежав від Thr83Ala поліморфізму. У пацієнтів з інсультом не виявлено зв'язку між поліморфними варіантами гена MGP і цукровим діабетом. На його відсутність не впливали стать, ІМТ, АТ, куріння, ДАХ і ГКК.

#### *Вплив SNP на основні характеристики ІАТІ.*

Thr83Ala поліморфізм істотним чином не впливав на обсяг уражень головного мозку у хворих з інсультом. Тільки один із вивчених факторів ризику – ІМТ – мав вплив на цей зв'язок. У групі хворих з  $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$  частка лакунарного і кінцевого інсульту в пацієнтів, що мають генотип А/А, була значно вища, ніж у носії інших генотипів.

Розвиток атеротромботичних змін у різних артеріальних басейнах головного мозку також не залежав від генотипу хворих за Thr83Ala поліморфізмом. Такий висновок стосується і тяжкості перебігу хвороби, і повторності інсульту, і неврологічних проявів ІАГІ. Жоден з досліджених факторів ризику (стать, ІМТ, АТ, куріння, цукровий діабет, ДАХ, ГКК) не впливав на відсутність асоціації SNP з клінічними характеристиками ІАГІ.

#### 4.4 Поліморфізм FokI гена VDR у хворих з ІАТІ і в контрольній групі

Частоту трьох можливих варіантів генотипу за цим поліморфізмом, а також перевірку відповідності розподілу Fа-алелю (С) і f-алелю (Т) рівновазі Харді-Вайнберга подано в табл. 4.4.1.

Таблиця 4.4.1 - Частота алельних варіантів і алелів за FokI поліморфізмом гена VDR у контрольній групі і у хворих з ІАТІ

	<i>Контрольна група</i>	<i>Хворі з ІАТІ</i>
Гомозиготи F/F, n (%)	34 (27,4)	40 (23,5)
Гетерозиготи F/f, n (%)	60 (48,4)	91 (53,5)
Гомозиготи f/f, n (%)	30 (24,2)	39 (22,9)
F-алель	0,52	0,5
f-алель	0,48	0,5
$\chi^2$	0,12	0,85
P	> 0,05	> 0,05

Примітки: n – кількість пацієнтів,  $\chi^2$  і P відображають відхилення у кожній групі від рівноваги Харді-Вайнберга

Як випливає з наведених даних, розподіл F- і f-алелів у контрольній групі і у групі хворих з ІАТІ не має статистично достовірних відхилень від очікуваних за генетично-популяційним законом величин ( $P > 0,05$ ).

На рис. 4.4.1 представлено результати аналізу частот окремих генотипів за поліморфізмом FokI в осіб контрольної групи і у хворих з ІАТІ. Відмінності у розподілі різних варіантів генотипу між хворими з ІАТІ і здоровими пацієнтами не виходили за межі статистичної значимості ( $P = 0,654$ ).

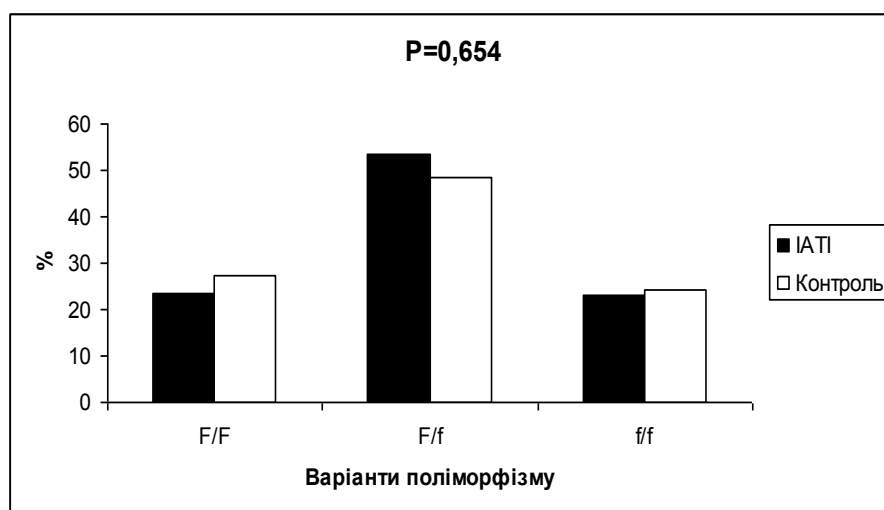


Рисунок 4.4.1 - Частота алельних варіантів гена VDR за поліморфізмом FokI у хворих з ІАТІ (чорні стопчики) і в контрольній групі (білі стопчики). P – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

*Аналіз за статтю.* Розподіл частот алельних варіантів поліморфізму FokI за статтю в групах порівняння подано в табл. 4.4.2. Як випливає з наведених даних, частота різних варіантів даного поліморфізму істотно не відрізняється у хворих з ІАТІ та пацієнтів контрольної групи, якщо порівнювати окремо жінок ( $P_1=0,507$ ) і чоловіків ( $P_1=0,305$ ). Порівняння отриманих даних свідчить і про відсутність статистично значимих відмінностей у розподілі алельних варіантів поліморфізму FokI між особами жіночої і чоловічої статі у контрольній групі ( $P_2=0,244$ ) та серед пацієнтів з ІАТІ ( $P_3=0,752$ ).

Таблиця 4.4.2 - Частота генотипів за FokI поліморфізмом гена VDR у жінок і чоловіків у контрольній групі і у хворих з ІАТІ

Генотип	Жінки (n)		Чоловіки (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
F/F	9	19	25	21
F/f	22	37	38	54
f/f	14	16	16	23
	$P_1=0,507$		$P_1=0,305$	
	$P_2=0,244, P_3=0,752, P_4=0,063, P_5=0,623, P_6=0,639$			

---

Примітки:  $n$  – кількість осіб,  $P_1$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ,  $P_2$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між жінками і чоловіками у контролі,  $P_3$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між жінками і чоловіками у групах з ІАТІ,  $P_4$  – значимість відмінностей у частоті осіб різної статі з генотипом F/F у контрольній групі і групі з ІАТІ,  $P_5$  – значимість відмінностей у частоті осіб різної статі з генотипом F/f у контрольній групі і групі з ІАТІ,  $P_6$  – значимість відмінностей у частоті осіб різної статі з генотипом f/f у контрольній групі і групі з ІАТІ.

Співвідношення між жінками і чоловіками у хворих з ІАТІ і в контролі було однаковим у кожній із трьох підгруп, виділених за ознакою генотипу пацієнтів.

*Аналіз за антропометричними даними.* У табл. 4.4.3 подано показники зросту, маси тіла та ІМТ у жінок і чоловіків обох груп порівняння залежно від генотипу пацієнтів за FokI поліморфізмом 2 екзона гена VDR. Можна бачити, що всередині кожної групи як у жінок, так і чоловіків середні значення вивчених показників істотно не відрізняються між собою, а отже, не залежать від даного варіанту генетичного поліморфізму.

Що стосується порівняння між групами, то тут виявлено певні істотні відмінності антропометричних даних. Так, у хворих на ІАТІ жінок за всіма трьома генотипами (F/F, F/f і f/f) зріст, а з генотипом F/f і маса тіла були значно більшими, ніж у жінок контрольної групи з відповідним генотипом. Такі відмінності, однак, не впливали на ІМТ, що можна було пояснити пропорційністю відхилень показників зросту і маси тіла.



Таблиця 4.4.3 - Показники зросту, маси тіла та індексу маси тіла (ІМТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за FokI поліморфізмом гена VDR ( $M \pm m$ )

Показники		F/F	F/f	f/f	F	P <sub>1</sub>
<b>Жінки</b>						
Зріст, см	Контроль	153,0±3,11 (8)	155,5±1,50 (22)	158,7±2,61 (14)	1,324	0,277
	IAT1	164,1±1,08 (19)	162,9±1,0 (37)	164,6±1,25 (16)	0,660	0,520
	P <sub>2</sub>	<0,001	<0,001	0,043		
Маса тіла, кг	Контроль	72,0±4,90	66,8±2,0	73,1±3,75	1,414	0,255
	IAT1	77,6±2,77	78,7±2,0	75,0±3,0	0,528	0,592
	P <sub>2</sub>	0,302	<0,001	0,692		
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	Контроль	30,8±2,03	27,6±0,71	29,3±1,79	1,291	0,286
	IAT1	28,8±1,03	29,7±0,79	27,6±1,0	1,215	0,303
	P <sub>2</sub>	0,339	0,076	0,399		
<b>Чоловіки</b>						
Зріст, см	Контроль	167,2±1,69 (25)	168,1±1,48 (38)	165,0±1,74 (16)	0,785	0,460
	IAT1	172,2±1,99 (21)	172,8±0,97 (54)	173,6±1,44 (23)	0,197	0,821
	P <sub>2</sub>	0,060	0,007	<0,001		
Маса тіла, кг	Контроль	72,9± 3,02	76,4±2,80	78,4±3,2	0,664	0,518
	IAT1	78,8±2,38	82,7±1,97	85,9±2,36	1,645	0,198
	P <sub>2</sub>	0,143	0,061	0,061		
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	Контроль	26,0±0,87	26,9±0,84	28,9±1,17	1,777	0,176
	IAT1	26,5±0,66	27,7±0,58	28,6±0,88	1,452	0,239
	P <sub>2</sub>	0,659	0,420	0,836		

Примітки: F – критерій Фішера, P<sub>1</sub> і P<sub>2</sub> – значимість відмінностей між генотипами за даними однофакторного дисперсійного аналізу (P<sub>1</sub>) і між контролем та IAT1 за t-критерієм Стьюдента (P<sub>2</sub>). У дужках – кількість пацієнтів

Порівняння маси тіла у жінок – гомозигот за F- і f-алелями (F/F, f/f) не виявило істотних відмінностей між контрольною групою і групою з ІАТІ. У чоловіків з варіантами генотипу F/f і f/f зріст був значно більшим у хворих з ІАТІ ніж у групі контролю. Значимі відмінності у масі тіла між групами порівняння не мали місця. Поділ кожної групи на дві підгрупи залежно від величини ІМТ надав можливість проаналізувати вплив поліморфних варіантів 2 екзону гена VDR на розвиток ІАТІ в осіб з нормальним і підвищеним значенням цього показника (табл. 4.4.4). Аналіз отриманих даних свідчить, що показник ІМТ не впливає на відсутність асоціації між FokI поліморфізмом гена VDR та атеротромботичним варіантом ішемічного інсульту

Таблиця 4.4.4 - Частота генотипів за FokI поліморфізмом гена VDR у контрольній групі і групі хворих з ІАТІ залежно від величини ІМТ

Генотип	ІМТ<25кг/м <sup>2</sup> (n)		ІМТ≥25кг/м <sup>2</sup> (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
F/F	10	10	23	30
F/f	18	22	42	69
f/f	10	9	20	30
	P <sub>1</sub> =0,844		P <sub>1</sub> =0,793	
	P <sub>2</sub> =0,946, P <sub>3</sub> =0,980, P <sub>4</sub> =0,613, P <sub>5</sub> =0,427, P <sub>6</sub> =0,344			

Примітки: n – кількість осіб, P<sub>1</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ, P<sub>2</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з ІМТ<25кг/м<sup>2</sup> та ІМТ≥25кг/м<sup>2</sup> у контролі, P<sub>3</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з ІМТ<25кг/м<sup>2</sup> та ІМТ≥25кг/м<sup>2</sup> у групах з ІАТІ, P<sub>4</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ<25кг/м<sup>2</sup> та ІМТ≥25кг/м<sup>2</sup> з генотипом F/F у контрольній групі і групі з ІАТІ, P<sub>5</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ<25кг/м<sup>2</sup> та ІМТ≥25кг/м<sup>2</sup> з генотипом F/f у контрольній групі і групі з ІАТІ, P<sub>6</sub> - значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ<25кг/м<sup>2</sup> та ІМТ≥25кг/м<sup>2</sup> з генотипом f/f у контрольній групі і групі з ІАТІ.

Аналіз за показниками артеріального тиску. У табл. 4.4.5 наведено показники САТ, ДАТ, ПАТ і СрАТ у пацієнтів контрольної групи і у хворих з ІАТІ, що мають різний генотип за FokI поліморфізмом гена VDR.

Таблиця 4.4.5 - Показники артеріального тиску (АТ) у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за FokI поліморфізмом гена VDR (M±m)

Показники		F/F	F/f	f/f	F	P <sub>1</sub>
САТ	Контроль	147,9±4,2 (33)	155,8±3,2 (58)	151,8±3,5 (30)	1,227	0,297
	ІАТІ	173,1±4,7 (40)	164,3±2,9 (91)	166,8±5,0 (39)	1,263	0,286
	P <sub>2</sub>	<0,001	0,058	0,024		
ДАТ	Контроль	87,0±1,8	86,8±1,8	84,8±2,1	0,296	0,744
	ІАТІ	98,3±2,4	93,9±1,6	95,6±2,7	1,156	0,317
	P <sub>2</sub>	<0,001	0,005	0,004		
ПАТ	Контроль	60,9±3,0	69,0±2,5	67,0±3,0	2,201	0,115
	ІАТІ	74,8±3,4	70,4±2,3	71,1±3,2	0,575	0,564
	P <sub>2</sub>	0,004	0,690	0,366		
СрАТ	Контроль	107,3±2,5	109,8±2,5	107,2±2,2	0,457	0,634
	ІАТІ	123,3±2,9	117,4±1,8	119,4±3,3	1,417	0,245
	P <sub>2</sub>	<0,001	0,013	0,0053		

Примітки: див. табл. 4.4.3

Одержані дані свідчать про те, що усі чотири різновиди АТ істотно не відрізняються у носіїв генотипів F/F, F/f і f/f як у середині контрольної групи, так і у хворих з ІАТІ. При порівнянні між групами з'ясувалося, що у гомозигот за F-алелем (F/F) усі чотири показники САТ, ДАТ, ПАТ і СрАТ виявилися набагато вищими у хворих з ІАТІ, ніж в осіб, що не мали інсульту. У носіїв F/f генотипу достовірно більшими були лише ДАТ і СрАТ, а у гомозигот f/f – САТ, ДАТ, і СрАТ. При порівнянні показників окремо у жінок і чоловіків (табл. 4.4.6) відмінності між хворими з ІАТІ і контролем виявлялися дещо іншими.

Так, у групі жінок з ІАТІ, що є гетерозиготами (F/f), значно більшими були показники САТ, ДАТ і СрАТ, у гомозигот за f-алелем (f/f) тільки показник САТ, а гомозигот за F-алелем (F/F) - САТ, ДАТ, ПАТ і СрАТ.

Таблиця 4.4.6 - Показники артеріального тиску (АТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за FokI поліморфізмом гена VDR (M±m)

Показники		F/F	F/f	f/f	F	P <sub>1</sub>
<b>Жінки</b>						
САТ	Контроль	137,5±7,0 (8)	152,1±5,7 (22)	150,0±4,9 (14)	1,182	0,317
	ІАТІ	172,6±8,6 (19)	177,0±4,0 (37)	172,6±3,6 (16)	1,354	0,265
	P <sub>2</sub>	0,020	<0,001	<0,001		
ДАТ	Контроль	85,0±1,9	85,7±2,5	86,4±3,4	0,044	0,957
	ІАТІ	99,5±4,2	101,4±2,3	92,2±3,2	2,136	0,126
	P <sub>2</sub>	0,039	<0,001	0,225		
ПАТ	Контроль	52,5±5,9	66,4±4,3	63,6±4,5	1,624	0,209
	ІАТІ	73,2±5,7	75,7±3,2	70,0±5,8	0,382	0,684
	P <sub>2</sub>	0,042	0,063	0,401		
СрАТ	Контроль	102,5±3,3	107,8±3,3	107,6±3,3	0,484	0,620
	ІАТІ	123,9±5,4	126,6±2,5	115,5±4,6	1,994	0,144
	P <sub>2</sub>	0,021	<0,001	0,185		
<b>Чоловіки</b>						
САТ	Контроль	151,2±5,0 (25)	158,1±3,9 (36)	153,4±5,2 (16)	1,263	0,286
	ІАТІ	173,6±4,6 (21)	155,7±3,7 (54)	170,0±6,3 (23)	4,428	0,015
	P <sub>2</sub>	0,002	0,666	0,065		
ДАТ	Контроль	87,6±2,3	87,4±2,5	83,4±2,7	1,156	0,317
	ІАТІ	97,4±2,6	88,8±1,9	98,0±4,0	4,320	0,016
	P <sub>2</sub>	0,007	0,652	0,009		
ПАТ	Контроль	63,6±3,4	70,6±3,0	70,0±4,1	0,575	0,564
	ІАТІ	76,2±4,0	66,9±3,1	72,0±3,6	1,640	0,199
	P <sub>2</sub>	0,020	0,415	0,719		
СрАТ	Контроль	108,8±3,1	111,0±2,7	106,8±3,1	1,417	0,245
	ІАТІ	122,8±2,8	111,1±2,2	122,0±4,6	5,292	0,007
	P <sub>2</sub>	0,002	0,977	0,017		

Примітки: див. табл. 4.4.3

У чоловіків-гомозигот за f-алелем, на відміну від жінок, у вплив FokI поліморфізму на показники АТ був дещо іншим і виявляв себе тільки при порівнянні ДАТ і СрАТ: ці два показники у хворих з ІАТІ були вищими, ніж в осіб контрольної групи. Що стосується гетерозигот (F/f), то жодних статистично значимих відмінностей між хворими з ІАТІ і контролем не було виявлено за жодним із чотирьох вивчених параметрів АТ. При поділі пацієнтів на тих, що мають нормальний АТ, і тих, у кого виявлено артеріальну гіпертензію порівняння частоти досліджуваних генотипів дало такі результати (табл. 4.4.7). Як в осіб з нормальним ( $P=0,103$ ), так і підвищеним АТ ( $P=0,823$ ), генотип пацієнтів за FokI поліморфізмом гена VDR не впливав на їх схильність до розвитку ІАТІ.

Таблиця 4.4.7 - Частота генотипів за FokI поліморфізмом гена VDR у контрольній групі і групі хворих з ІАТІ залежно від величини артеріального тиску

Генотип	Нормальний АТ (n)		Підвищений АТ (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
F/F	16	6	17	34
F/f	19	23	39	68
f/f	13	13	17	26
	$P_1=0,103$		$P_1=0,823$	
	$P_2=0,302, P_3=0,165, P_4=0,002, P_5=0,322, P_6=0,395$			

Примітки: n – кількість осіб,  $P_1$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ,  $P_2$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з нормальним та підвищеним артеріальним тиском у контролі,  $P_3$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з нормальним та підвищеним артеріальним тиском у групах з ІАТІ,  $P_4$  – значимість відмінностей у частоті осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском з генотипом F/F у контрольній групі і групі з ІАТІ,  $P_5$  – значимість відмінностей у частоті осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском з генотипом F/f у контрольній групі і групі з ІАТІ,  $P_6$  –

значимість відмінностей у частоті осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском з генотипом f/f у контрольній групі і групі з ІАТІ.

Серед представників контрольної групи ( $P=0,302$ ) і серед хворих з ІАТІ ( $P=0,165$ ), розподіл трьох алельних варіантів FokI поліморфізму не відрізнявся у пацієнтів з артеріальною гіпертензією і в осіб з нормальним АТ. При аналізі груп пацієнтів, утворених з урахуванням генотипу за FokI поліморфізмом гена VDR (F/F, F/f, f/f) з'ясовано, що тільки у гомозигот (F/F) існує статистично значима залежність між рівнем АТ і ймовірністю розвитку ІАТІ: в осіб з артеріальною гіпертензією ІАТІ виявлявся частіше, ніж у пацієнтів з нормальним АТ ( $P=0,002$ ).

Застосування методу логістичної регресії дало можливість встановити, що ризик виникнення ІАТІ в осіб з нормальним артеріальним тиском і генотипом F/f у 3,2 рази вищий, ніж у нормотензивних гомозигот за основним алелем (табл. 4.4.8).

Таблиця 4.4.8 - Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за FokI поліморфізмом гена VDR в осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском (метод логістичної регресії)

	Гено-тип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
Нормальний АТ	F/f	1,172	0,570	4,222	0,040	3,228	1,056	9,872
	f/f	0,981	0,619	2,512	0,113	2,667	0,793	8,969
Артеріальна гіпертензія	F/f	0,137	0,359	0,146	0,702	0,872	0,432	1,761
	f/f	0,268	0,431	0,388	0,533	0,765	0,329	1,779

Примітки: порівнюються гомозиготи за мінорним алелем (f/f) з носіями основного алеля (F/f+F/F). CR – коефіцієнт регресії, SE – стандартна похибка, WS – статистика Вальда, P – статистична значимість, OR – відношення ризику, CI – довірчий інтервал

*Аналіз за фактом куріння.* Розподіл генотипів за поліморфізмом FokI гена VDR у тих, що курять і не курять, подано в табл. 4.4.9. Статистично значимого зв'язку між поліморфними варіантами гена і фактом паління не виявлено ні при аналізі у групах курців ( $P=0,352$ ) і тих, хто не курять ( $P=0,421$ ), ні при порівнянні серед хворих ( $P=0,118$ ) і практично здорових осіб ( $P=0,672$ ), ні при вивченні частоти осіб з різним генотипом. Що свідчить про те, що факт куріння не впливає на асоціацію досліджуваного SNP з IAT1.

Таблиця 4.4.9 - Частота генотипів за FokI поліморфізмом гена VDR у курців і тих, хто не курять у контрольній групі і групі хворих з IAT1

Генотип	Ті, що не курять (n)		Курці (n)	
	Контроль	IAT1	Контроль	IAT1
F/F	26	32	8	8
F/f	43	65	17	26
f/f	24	23	6	16
	$P_1=0,421$		$P_1=0,352$	
	$P_2=0,672$ $P_3=0,118$ , $P_4=0,713$ , $P_5=0,975$ , $P_6=0,063$			

Примітки: n – кількість осіб,  $P_1$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і IAT1,  $P_2$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів у курців і тих, хто не курять у контролі,  $P_3$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів у курців і тих, хто не курять у групах з IAT1,  $P_4$  - значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не курять з генотипом F/F у контрольній групі і групі з IAT1,  $P_5$  - значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не курять з генотипом F/f у контрольній групі і групі з IAT1,  $P_6$  - значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не курять з генотипом f/f у контрольній групі і групі з IAT1.

*Аналіз за наявністю цукрового діабету.* Визначення концентрації глюкози натще у хворих з IAT1 показало, що генотипи FokI поліморфізму гена VDR не відрізняються між собою за цим показником (F/F:  $6,0\pm 0,27$  ммоль/л; F/f:  $5,72\pm 0,15$  ммоль/л; f/f:  $6,30\pm 0,24$  ммоль/л;  $F=2,052$ ;  $P=0,132$ ). У пацієнтів з

інсультом не виявлено залежності між генотипом за FokI SNP і розвитком цукрового діабету. На відсутність такої залежності не впливали стать, ІМТ, наявність артеріальної гіпертензії, дисліпопротеїнемії атерогенного характеру.

*Вплив SNP на основні характеристики ІАТІ.*

Аналіз даних про зв'язок поліморфізму FokI з різними варіантами ІАТІ свідчить про відсутність асоціації досліджуваного генетичного маркера з обсягом уражень головного мозку у хворих з ІАТІ. Такий висновок залишається в силі і за умов поділу пацієнтів на підгрупи за ознаками статі, ІМТ, куріння, наявності артеріальної гіпертензії, цукрового діабету і схильності до гіперкоагуляції крові.

Отримані результати свідчать, що немає залежності між генотипом пацієнтів за поліморфізмом FokI і ділянками артеріального басейну, атеротромботичні зміни яких спричиняються до ІАТІ, тяжкістю клінічного перебігу ІАТІ, частотою повторних випадків інсульту і неврологічними проявами ІАТІ. Цей висновок залишається в силі за умов поділу пацієнтів на підгрупи за статтю і з урахуванням факторів ризику.



## ВИСНОВКИ

1. Уперше на сучасному методичному рівні отримана інформація про розподіл різних алельних варіантів гена MGP і VDR у практично здорових представників української популяції.
2. Встановлено співвідношення нормальних гомозигот, гетерозигот і гомозигот із мінорним алелем при аналізі поліморфізмів промотора гена MGP і VDR у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом .
3. Характер розподілу алелей по G-7→A поліморфізму в Україні статистично відрізняється від показників інших популяцій, що свідчить про те, що даний поліморфізм є особливим маркером для української популяції і не залежить від расової приналежності.
4. У хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом A/A варіант промотора виявляється в 3,4 раза частіше, ніж у здорових донорів, що свідчить про його асоціацію зі збільшенням ризику розвитку ІАТІ в українській популяції.

**ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ**

1. Harding R.M. Human Genome Diversity Project. / R.M. Harding, A. Sajantila // *Nature Genet.*- 1998. - V.18. - P. 307-308.
2. Brown P.O. Genomics and human disease--variations on variation. / P.O. Brown, L. Hartwell // *Nature Genet.*- 1998.- V.18. - P.91-93.
3. Cooper R. Race and Genomics. / R Cooper, J. Kaufman, R. Ward // *New England Journal of Medicine.* - 2003. - 348 (12) - P.1166-1169.
4. Lohmueller K.E. Metaanalysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease / K.E. Lohmueller, C.L. Pearce, M. Pike, E.S. Lander, J.N. Hirschhorn // *Nat Genet.* 2003. - 33. - P. 177-182.
5. Herrmann S.M. Polymorphisms of the human matrix Gla protein (MGP) gene, vascular calcification, and myocardial infarction / S.M. Herrmann, C. Whatling, E. Brand, V. Nikaud, J. Gariepy, A. Simon, A. Evans, L.B. Ruidavets, D. Arveiler, G. Luc, L. Tiret, A. Henney, F. Cambien // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*– 2000.– 20.– P. 2386-2393.
6. Kobayashi N. T-138C polymorphism of matrix Gla protein promoter alters its expression but is not directly associated with atherosclerotic vascular calcification / N. Kobayashi, R. Kitazawa, S. Maeda, L.J. Schurgers, S. Kitazawa // *Kobe J. Med. Sci.*– 2004.– 50.– P. 69-81.
7. Taylor B.C. Matrix Gla protein and osteopontin genetic associations with coronary artery calcification and bone density: the CARDIA study / B.C. Taylor, P.J. Schreiner, T.M. Doherty, M. Fornage, J.J. Carr, S. Sidney // *Hum. Genet.*– 2005.– 116.- P. 525-528.
8. Crosier M.D. Matrix Gla protein polymorphisms are associated with coronary artery calcification / M.D. Crosier, S.L. Booth, I. Peter, B. Dawson-Hughes, P.A. Price, C.J. O'Donnell, U. Hoffmann, M.K. Williamson, J.M. Ordovas // *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*– 2009.– 55.– P. 59-65.

9. Ken Taniguchi. Polymorphisms in the Promoter Region of the Matrix Gla Protein Gene Are Associated with Lung Cancer Development / Ken Taniguchi, Ping Yang, James Jett, Eric Bass, Rebecca Meyer, Yunjie Wang, Wanguo Liu // *Clin Cancer Res* 2000. – 8. – 1115-1120.
10. Price P.A. Warfarin-induced artery calcification is accelerated by growth and vitamin D / P.A. Price, S.A. Faus, M.K. Williamson // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* - 2000.- V.20.- P. 317-327.
11. Gao B. A polymorphism of matrix Gla protein gene is associated with kidney stones / B. Gao, T. Yasui, Y. Itoh, K. Tozawa, Y. Hayashi, K. Kohri // *J. Urol.*– 2007.– V. 177.– P. 2361-2365.
12. Hirano H. Association of natural tooth loss with genetic variation at the human matrix Gla protein locus in elderly women / H. Hirano, Y. Ezura, N. Ishiyama, M. Yamaguchi, I. Nasu, H. Yoshida, T. Suzuki, T. Hosoi, M. Emi // *J. Hum. Genet.*– 2003.–V. 48.– P. 288-292.
13. Shaik A.P. Individual susceptibility and genotoxicity in workers exposed to hazardous materials like lead / A.P. Shaik, J. Kaiser // *J. Hazard. Mater.*– 2009a.– V. 168.– P. 918-924.
14. Shaik A.P. Polymorphisms in MGP gene and their association with lead toxicity / A.P. Shaik, J. Kaiser // *Toxicol. Mech. Methods.*– 2009b.– V. 19.– P. 209-213.
15. Тул Ф. Д. Сосудистые заболевания головного мозга. – М., ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 608 с.
16. Hankey G.J. Antiplatelet therapy for stroke prevention / G.J. Hankey // *Curr Atheroscler Rep.* – 2007. – V.9(4). P. 312-318.
17. Суслина, З. А. Оксидантный стресс и основные направления нейропротекции при нарушениях мозгового кровообращения / З. А. Суслина, М. Ю. Максимова, Т. Н. Федорова // *Неврологический журнал.* –2007. – Т. 12, №4. – С. 4-8.

18. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М: Медицина 2001. – 327 с
19. Price P.A. Matrix Gla protein, a new  $\gamma$ -carboxyglutamic acid-containing protein which is associated with the organic matrix of bone / P.A. Price, M.R. Urist, Y. Otawara // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1983. – Vol.117. – P. 765–771.
20. Price P.A. Primary structure of bovine matrix Gla protein, a new vitamin K-dependent bone protein / P.A.Price, M.K.Williamson // *J. Biol. Chem.* – 1985. – Vol.260. – P. 14971–14975.
21. Fraser J.D. Lung, heart, and kidney express high levels of mRNA for the vitamin K-dependent matrix Gla protein / J.D.Fraser, P.A.Price // *J. Biol. Chem.* – 1988. – Vol.263. – P. 11033–11036.
22. Price P.A. Warfarin-induced artery calcification is accelerated by growth and vitamin D / P.A. Price, S.A. Faus, M.K. Williamson // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*– 2000.– Vol.20.– P. 317–327.
23. Molecular structure, chromosome assignment, and promoter organization of the human matrix Gla protein gene / L. Cancela, C.L. Hsiehg, U. Francket [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1990. – Vol.265. – P. 15040–15048.
24. Polymorphisms of the human matrix Gla protein (MGP) gene, vascular calcification, and myocardial infarction / S.M. Herrmann, C. Whatling, E. Brand [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2000. – Vol.20. – P. 2386–2393.
25. A Polymorphism of the human matrix  $\gamma$ -carboxyglutamic acid protein promoter alters binding of an activating protein-1 complex and is associated with altered transcription and serum levels / A.Farzaneh-Far, J.D.Davies, L.A.Braam [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol.276. – P. 32466–32473.
26. T-138C polymorphism of matrix Gla protein promoter alters its expression but is not directly associated with atherosclerotic vascular calcification / N. Kobayashi, R. Kitazawa, S. Maeda [et al.] // *Kobe J. Med. Sci.* – 2004. – Vol.50.– P. 69–81.
27. Matrix Gla protein polymorphisms are associated with coronary artery calcification / M.D.Crosier, S.L.Booth, I.Peter [et al.] // *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* – 2009. – Vol.55. – P. 59–65.

28. Molecular mechanisms of arterial calcification / T.M. Doherty, D. Inoue, J.H. Qiao [et al.] // *Endocrine Rev.* – 2003. – Vol.22. – P. 579–582.
29. Posttranslational modifications regulate matrix Gla protein function: importance for inhibition of vascular smooth muscle cell calcification / L.J. Schurgers, H.M. Spronk, J.N. Skepper [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 2007. – Vol.5. – P. 2503–2511.
30. Role of vitamin K and vitamin K-dependent proteins in vascular calcification / L.J. Schurgers, P.E. Dissel, H.M. Spronk [et al.] // *Z. Kardiol.* – 2001. – Vol.90, №3. – P. 57–63.
31. Rutsch F. Genetics in Arterial Calcification: Pieces of a Puzzle and Cogs in a Wheel / F. Rutsch, N. Yvonne, R. Terkeltaub // *Circ. Res.* – 2011. – Vol.109. – P. 578–592.
32. Matrix GLA protein gene polymorphisms: clinical correlates and cardiovascular mortality in chronic kidney disease patients / D.Brancaccio, M.L.Biondi, M.Gallieni [et al.] // *Am. J. Nephrol.* – 2005. – Vol.25. – P. 548–552.
33. T-138C and A-7G polymorphisms in the MGP gene and the association with coronary artery disease: Iranian patients / M.Abiri, S.Sadeghian, E.Hakki [et al.] // *Tehran University Medical Journal.* – 2009. – Vol.67, №2. – P. 94–100.
34. Fraser J.D. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> stimulates the synthesis of matrix  $\gamma$ -carboxyglutamic acid protein by osteosarcoma cells / J.D.Fraser, Y.Otawara, P.A. Price // *J. Biol. Chem.* – 1988. – Vol.263. – P. 911–916.
35. Fraser J.D. Induction of matrix Gla protein synthesis during prolonged 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> treatment of osteosarcoma cells / J.D.Fraser, P.A.Price // *Calcif. Tissue Int.* – 1990. – Vol.46. – P. 270–279.
36. Transcriptional regulation of matrix Gla protein / A. Farzaneh-Far, P.L. Weissberg, D. Proudfoot [et al.] // *Z. Kardiol.* – 2001. – Vol.90, №3. – P. 38–42.
37. 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> is a negative endocrine regulator of the rennin-angiotensin system / C.Y. Li, J.Kong, M. Wei [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2002. – Vol.110, №2. – P. 229–238.

38. Bouillon R. Vitamin D: from photosynthesis, metabolism, and action to clinical applications / R. Bouillon // *Endocrinology*–Philadelphia: W.C. Saunders. – 2001. – P. 1009–1028.
39. Briehl M.M. Isolation and characterization of transcripts induced by androgen withdrawal and apoptotic cell death in the rat ventral prostate /M.M.Briehl, R.L. Miesfeld // *Mol. Endocrinol.* – 1991. – Vol.5. – P. 1318–1388.
40. DeLuca H.F. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D/ H.F. DeLuca // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2004. – Vol.80, №6. – P. 1689–1696.
41. Berg J.M. Zinc finger domains: hypotheses and current knowledge / J.M. Berg // *Annu. Rev. Biophys. Chem.* – 1990. – Vol.19. – P. 405–421.
42. Luo Z. A peptide C-terminal to the second Zn finger of human vitamin D receptor is able to specify nuclear localization / Z. Luo, J. Rouvinen, P.H. Mäenpää // *Eur. J. Biochem.* – 1994. – Vol.223. – P. 381–387.
43. Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor / A.R.Baker, D.P. McDonnell, M. Hughes [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1988. – Vol.85. – P. 3294–3298.
44. The vitamin D receptor interacts with general transcription factor IIB / P.N. MacDonald, D.R. Sherman, D.R. Johnson [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1995. –Vol.270, №9. – P. 4748–4752.
45. Kim S. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> stimulates cyclic vitamin D receptor/retinoid X receptor DNA-binding, co-activator recruitment, and histone acetylation in intact osteoblasts /S. Kim, N.K. Shevde, J.W. Pike // *J. Bone Miner. Res.* – 2005. – Vol.20, №2. – P. 305–317.
46. Shaffer P.L. Characterization of transcriptional activation and DNA-binding functions in the hinge region of the vitamin D receptor / P.L. Shaffer, D. P. McDonnell, D.T. Gewirth // *Biochemistry.*– 2005. – Vol.44, №7. – P. 2678–2685.
47. Immunocytologywith microwave-fixed fibroblasts shows 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>-dependent rapid and estrogen-dependent slow reorganization of vitamin D receptors / J. Barsony, J.W. Pike, H.F. DeLuca [et al.] // *J. Cell. Biol.* – 1990. – Vol.111. – P. 2385–2395.

48. 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> has a direct effect on naive CD4<sub>+</sub>T cells to enhance the development of Th2 cells / A. Boonstra, F. Barrat, C. Crain [et al.] // *J. Immunol.* – 2001. – Vol.167. – P. 4974–4980.
49. A negative vitamin D response DNA element in the human parathyroid hormone–related peptide gene binds to vitamin D receptor along with Ku antigen to mediate negative gene regulation by vitamin D / T. Nishishita, T. Okazaki, T. Ishikawa [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1998. – Vol. 273. – P. 10901–10907.
50. Characterization of a response element in the 5-flanking region of the avian (chicken) PTH gene that mediates negative regulation of gene transcription by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and binds the vitamin D<sub>3</sub> receptor / S.M. Liu, N. Koszewski, M. Lupez [et al.] // *J. Mol. Endocrinol.* – 1996. – Vol.10. – P. 206–215.
51. Cloning and expression of functional estrogen receptor-alpha from African catfish (*Clarias gariepinus*) pituitary / A.C.Teves, J.C. Granneman, W.Dijk [et al.] // *J. Mol. Endocrinol.* – 2003. – Vol.30, №2. – P. 173–85.
52. Darwish H.M. Identification of a 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>-response element in the 5-flanking region of the rat calbindin D-9k gene / H.M. Darwish, H.F. DeLuca // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1992. – Vol.89. – P. 603–607.
53. Freedman L.P. Transcriptional targets of the vitamin D<sub>3</sub> receptor-mediating cell cycle arrest and differentiation / L.P. Freedman // *J. Nutr.* – 1999. – Vol.129. – P. 581–590.
54. Granulocyte-macrophage colony–stimulating factor. Sensitive and receptor-mediated regulation by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in normal human peripheral blood lymphocytes / A. Tobler, J. Gasson, H. Reichel [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1987. – Vol.79. – P.1700–1705.
55. Growth-inhibitory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on normal and psoriatic keratinocytes / K.Matsumoto, K. Hashimoto, M. Higashiyama [et al.] // *Br. J. Dermatol.* – 1990. – Vol.123. – P.93–98.
56. Identification of a vitamin D-responsive element in the 5-flanking region of the rat 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> 24-hydroxylase gene / Y. Ohyama, K. Ozono, M.Uchida [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1994. – Vol.269. – P. 10545–10550.

57. Inhibition of IL-12 production by 1,25-dihydroxyvitamin D3 / D.D'Ambrosio, M. Cippitelli, M.G. Cocciolo [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1998. – Vol.101. – P. 252–262.
58. Kitazawa R. Vitamin D3 augments osteoclastogenesis via vitamin D-responsive element of mouse RANKL gene promoter / R. Kitazawa, S.Kitazawa // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2002. – Vol.290. – P. 650–655.
59. Two hereditary defects related to vitamin D metabolism map to the same region of human chromosome 12q13–14. / M. Labuda, T.M. Fujiwara, M.V. Ross [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 1992. – Vol. 7. – P. 1447–1453.
60. Multiple promoters direct the tissue-specific expression of novel N-terminal variant human vitamin D receptor gene transcripts / L.A. Crofts, M.S. Hancock, N.A. Morrison [et al.] // *PNAS.* – 1998. – Vol.95, №18. – P.10529–10534.
61. Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter / K.Miyamoto, R.A.Kesterson, H.Yamamoto [et al.] // *Mol. Endocrinol.* – 1997. – Vol.11, №8. – P.1165–1179.
62. Lazar M.A. Thyroid hormone receptors: multiple forms, multiple possibilities. / M.A. Lazar // *Endocr. Rev.* – 1993. – Vol.14. – P. 184–193.
63. Encio I.J. The genomic structure of the human glucocorticoid receptor / I.J. Encio, S.D. Detera-Wadleigh // *J. Biol. Chem.* – 1991. – Vol.266. – P. 7182–7188.
64. At least three promoters direct expression of the mouse glucocorticoid receptor gene / U.Strahle, A.Schmidt, G. Kelsy [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1992. – Vol.89. – P. 6731–6735.
65. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms / A. G. Uitterlinden, Y. Fang, J.B. van Meurs [et al.] // *Gene.* – 2004. – Vol.338, №2. – P.143–156.
66. The polymorphism in the caudal-related homeodomain protein Cdx-2 binding element in the human vitamin D receptor gene / H. Arai, K.I. Miyamoto, M. Yoshida [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2001. – Vol.16. – P. 1256–1264.
67. The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal



Mexican–American women / C. Gross, T.R. Eccleshall, P.J. Malloy [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 1996. – Vol.11. – P. 1850–1855.

68. Functionally relevant polymorphisms in the human nuclear vitamin D receptor gene / G.K. Whitfield, L.S. Remus, P.W. Jurutka [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2001. – Vol.177. – P. 145–159.

69. Consequences of vitamin D receptor gene polymorphisms for growth inhibition of cultured human peripheral blood mononuclear cells by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> / E.M. Colin, A.E. Weel, A.G. Uitterlinden [et al.] // *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*. – 2000. – Vol.52. – P. 211–216.

70. Vitamin D receptor gene polymorphisms in relation to vitamin D related disease states / A.G. Uitterlinden, Y. Fang, J.B.J. van Meurs [et al.] // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2004. – Vol.89. – P. 187–193.

71. Contribution of transacting factor alleles to normal physiological variability – vitamin-D receptor gene polymorphisms and circulating osteocalcin / N.A. Morrison, R. Yeoman, P.J. [et al.] // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1992. – Vol. 89. – P. 6665–6669.

72. Relationship between vitamin D receptor BsmI and FokI polymorphisms and anthropometric and biochemical parameters describing metabolic syndrome / A.Filus, A. Trzmiel, J. Kuliczowska-Płaksej [et al.] // *Aging Male.* – 2008. – Vol.11. – P. 34–39.

73. Risk conferred by FokI polymorphism of vitamin D receptor (VDR) gene for essential hypertension / N.Swapna, U.M.Vamsi, G.Usha [et al.] // *Indian J. Hum. Genet.* – 2011. – Vol.17, №3. – P.201–206.

74. Vitamin D receptor genotype and 25 hydroxyvitamin D influence on blood pressure in healthy individuals / S.Murray, E.Parisi, A.Cardus [et al.] // *Nefrologia.* – 2003. – Vol.23. – P. 32–36.

75. Vitamin D receptor (FokI, BsmI and TaqI) gene polymorphisms and type 2 diabetes mellitus: A North Indian study / B.H. Kumar, K. Rituraj, G. Aggarwal [et al.] // *Indian Journal of Medical Sciences.* – 2009. – Vol.63, № 5. – P. 187–194.

76. The vitamin D receptor genotype predisposes to the development of calcific aortic valve stenosis / J.R. Ortlepp, R. Hoffmann, F. Ohme [et al.] // Heart. – 2001. – Vol.85, №6. – P. 635–638.
77. The Fok1 vitamin D receptor gene polymorphism is associated with plasma renin activity in Caucasians / A.Vaidya, B.Sun, J.P.Forman [et al.] // Clin. Endocrinol. – 2011.
78. – Vol.74, №6. – P. 783–790.
79. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment / H.P.Adams, B.H.Bendixen, L.J.Kappelle [et al.] // Stroke. – 1993.– Vol.24. – P. 35–41.