

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**Матлай Ольга Іванівна**

УДК 616.831-005.1/.6:548.33

**ЗВ'ЯЗОК АЛЕЛЬНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА  
МЕТИЛЕНТЕТРАГІДРОФОЛАТРЕДУКТАЗИ (MTHFR)  
З РОЗВИТКОМ ІШЕМІЧНИХ ІНСУЛЬТІВ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук

Суми – 2015

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Сумському державному університеті МОН України.

**Науковий керівник:** доктор біологічних наук, професор  
**Гарбузова Вікторія Юріївна,**  
Сумський державний університет  
МОН України,  
професор кафедри фізіології і  
патофізіології з курсом медичної біології.

**Офіційні опоненти:**

доктор медичних наук, професор **Досенко Віктор Євгенович,**  
Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України (м. Київ),  
завідувач відділу загальної та молекулярної патофізіології;

доктор медичних наук, професор **Сидорчук Лариса Петрівна,**  
ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет»  
МОЗ України (м. Чернівці),  
завідувач кафедри сімейної медицини.

Захист відбудеться «18» грудня 2015 р. об 11<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 при Сумському державному університеті (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Сумського державного університету (40007, м. Суми, вул. Римського-Корсакова, 2).

Автореферат розісланий «17» листопада 2015 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради,  
доктор медичних наук, доцент



М.В. Погорелов

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Судинні захворювання мозку є однією з найактуальніших медико-соціальних проблем сучасності та основним чинником, що спричиняється до смерті та інвалідизації населення планети (Зозуля І. С., Мошенська О.П., 2009; Зозуля І.С. та співавт., 2011; Мищенко Т.С., 2011; Truelsen T. et al., 2006). Особливо небезпечними є гострі порушення мозкового кровообігу. Лише третина пацієнтів відновлюється частково або повністю після перенесеного інсульту, третина залишається інвалідами, а третина помирає впродовж місяця-року (Зозуля І.С. та співавт., 2011; Мищенко Т. С., 2010; Мищенко Т. С., 2011). Глобальний характер проблеми судинних захворювань визначає необхідність міждисциплінарної інтеграції. Сьогодні різні аспекти цього питання інтенсивно вивчаються неврологами, нейрохірургами, патофізіологами, генетиками практично в усіх розвинених країнах світу (Gaydaev Y.O., Kornatchkyi V.M., 2007; Gorbas I.M. et al., 2010).

Серед гострих порушень мозкового кровообігу найбільша частка припадає на ішемічні інсульти, атеротромботичний варіант яких відзначається у 40–60% випадків (Ворлоу Ч.П., 2001; Caplan L., 2000, 2005) і виникає найчастіше внаслідок ураження прецеребральної або великої церебральної артерії (Вінничук С.М., 2004).

Одним з провідних механізмів ураження судин є ендотеліальна дисфункція, ініціюючим чинником якої часто виступає гомоцистеїн – амінокислота, пов'язана з реакціями синтезу метіоніну. Ключову роль у цьому процесі відіграє фермент  $N^5,N^{10}$ -метилентетрагідрофолатредуктаза (MTHFR), який відновлює  $N^5,N^{10}$ -метилентетрагідрофолат до  $N^5$ -метилтетрагідрофолату, що несе на собі метильну групу, необхідну для реметилування гомоцистеїну. Пригнічення активності ферменту MTHFR призводить до надмірного накопичення гомоцистеїну в плазмі крові – гіпергомоцистеїнемії. Доведено, що гомоцистеїн має виражену токсичну дію, механізм якої визначається кількома біохімічними механізмами і значною мірою пов'язаний з ендотеліальною дисфункцією (McCully K., 1993; Borowczyk K. et al., 2012). Відомо, що підвищення рівня гомоцистеїну в крові має виражений атерогенний і тромбофілітичний ефекти (Арзуманян Е.С., Степанова М.С., 2010; Boldyrev A.A., 2009; Borowczyk K. et al., 2012). Епідеміологічні дослідження підтвердили, що гомоцистеїн є незалежним фактором ризику атеросклерозу і його тяжких ускладнень – ішемічного атеротромботичного інсульту, інфаркту міокарда, тромбоемболії (Вінничук С.М., 2004; Безсмертна Г.В., 2005; Kraus J.P., 2006; Moat S.J., 2008).

Ішемічний атеротромботичний інсульт (ІАТІ) належить до категорії мультифакторіальних захворювань, в основі формування яких лежить складна взаємодія генетичних факторів і факторів зовнішнього середовища (Гусев Е.И. с соавт., 2008; Иванов В.П. с соавт., 2010; Атаман О.В., 2012;

Tatarskyu P.F. et al., 2010). Аналітичними дослідженнями ВООЗ доведено, що традиційні підходи до профілактики, діагностики та лікування більшості поширених мультифакторіальних хвороб, у тому числі й церебральних, малоефективні й призводять до істотних економічних витрат (Мищенко Т.С., 2010; Зозуля І.С. та співавт., 2011). З розвитком молекулярно-генетичних технологій з'явилися широкі можливості для вивчення генетичної складової цих захворювань.

Ураховуючи провідне значення ферменту метилентетрагідрофолатредуктази у метаболізмі гомоцистеїну, можна припустити, що поліморфізм його гена може мати зв'язок з розвитком ендотеліальної дисфункції та ішемічного інсульту.

Сьогодні описано понад 600 одонуклеотидних поліморфізмів гена MTHFR, деякі з них можуть впливати на активність ферменту та викликати підвищення рівня гомоцистеїну крові (Sibani S. et al., 2000; Goyette P. et al., 1994, 1995, 1998; Gaughan J. et al., 2000). Доведено найбільше патогенетичне значення двох із них – С677Т в екзоні 4 (rs1801133) та А1298С в екзоні 7 (rs1801131) (Goyette P. et al., 1994, 1998; Gaughan J. et al., 2000). Описано вплив поліморфних варіантів С677Т та А1298С гена MTHFR на розвиток серцево-судинних захворювань (Inbal A. et al., 1999; Gardemann A. et al., 1999), порушень вагітності та дефектів ембріонального розвитку (Morteza Bagheri et al., 2010; Kumar Pandey et al., 2013), онкологічних хвороб (Fernández-Peralta, A.M. et al., 2010; Chandy S. et al., 2010) та нейрокогнітивних розладів (Styczyska M. et al., 2008; Su-Gyeong Kim et al., 2011).

На жаль, даних щодо асоціації поліморфізмів С677Т та А1298С гена MTHFR з ішемічним атеротромботичним інсультом обмаль і вони суперечливі. Це й спонукало нас до проведення власних досліджень у цьому напрямі.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертацію виконано відповідно до плану наукових досліджень Сумського державного університету МОН України. Вона є самостійним фрагментом науково-дослідних тем «Зв'язок алельного поліморфізму генів ектопічної кальцифікації з розвитком поширених серцево-судинних хвороб та їх ускладнень» (№ державної реєстрації 0115U000688) та «Значення поліморфізму поодиноких нуклеотидів у розвитку найпоширеніших патологічних процесів і хвороб людини» (№ державної реєстрації 0114U0006297).

**Мета дослідження.** Встановлення ролі одонуклеотидних поліморфізмів С677Т та А1298С гена MTHFR у патогенезі ішемічного атеротромботичного інсульту та оцінка можливого внеску поліморфних варіантів цього гена у розвиток ішемії головного мозку в пацієнтів з різними факторами ризику.

**Завдання дослідження:**

1. Дослідити частоту одонуклеотидного поліморфізму С677Т гена MTHFR у хворих з ІАТІ та в осіб без ознак порушень мозкового кровообігу.

2. Визначити частоту генотипів за А1298С поліморфізмом гена МТНFR у хворих з ІАТІ та в осіб контрольної групи.
3. Проаналізувати зв'язок ІАТІ з поліморфними варіантами гена МТНFR: С677Т і А1298С.
4. З'ясувати комплексний вплив поліморфізмів С677Т та А1298С на розвиток ІАТІ.
5. Провести дослідження асоціації поліморфізмів С677Т та А1298С гена МТНFR з ІАТІ у пацієнтів з різними факторами ризику атеросклерозу (чоловіча стать, артеріальна гіпертензія, збільшений індекс маси тіла, куріння).
6. Вивчити вплив поліморфних варіантів гена МТНFR на основні характеристики ІАТІ.

*Об'єкт дослідження* – генетичний поліморфізм гена МТНFR.

*Предмет дослідження* – участь генетичних чинників – одонуклеотидних поліморфізмів С677Т та А1298С гена МТНFR – у розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту.

*Методи дослідження* – клінічні методи, молекулярно-генетичні методи визначення алельних варіантів гена МТНFR, методи статистичного аналізу.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Установлено частоти алелів та генотипів за С677Т і А1298С поліморфними варіантами гена МТНFR та досліджено їх асоціацію з ішемічним атеротромботичним інсультом. Доведено, що у гомозигот за мінорним алелем (Т/Т за С677Т і С/С за А1298С поліморфізмами) ІАТІ розвивається частіше, ніж у носіїв основного алеля.

Уперше встановлено, що в осіб чоловічої статі, гомозиготних за мінорним алелем С/С (А1298С поліморфізм), високий ризик розвитку ІАТІ не залежить від генотипу за С667Т локусом гена МТНFR. Збіг двох гомозигот за основним алелем або гетерозиготи за А1298С поліморфізмом і гомозиготи за мінорним алелем за С667Т поліморфізмом призводить до значного збільшення ризику ІАТІ.

Уперше проаналізовано вплив поліморфних варіантів гена МТНFR на розвиток ІАТІ у пацієнтів з різними факторами ризику. Встановлено, що особи чоловічої статі з генотипом С/Т за С677Т поліморфізмом гена МТНFR у 2,3 раза стійкіші до розвитку ІАТІ, ніж хворі з генотипом С/С. У чоловіків-гомозигот за мінорним алелем (С/С) за А1298С поліморфізмом ризик розвитку ІАТІ в 3,5 раза більший, ніж у носіїв генотипу А/А. Виявлено, що гомозиготи за мінорним алелем (поліморфізм А1298С) з ІМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup> у 3,2 раза більш схильні до ІАТІ, ніж гомозиготи за основним алелем. В осіб з нормальним артеріальним тиском – носіїв Т/Т-генотипу та пацієнтів з гіпертензією з генотипом С/С за С677Т поліморфним варіантом гена МТНFR, а також у гетерозигот А/С з гіпертензією (А1298С поліморфізм) ішемічний атеротромботичний інсульт виникає частіше. Ризик розвитку ІАТІ більший у групі осіб з генотипом Т/Т за поліморфізмом С677Т, які не палять.

Уперше встановлено вплив С677Т та А1298С поліморфних варіантів гена МТНFR на характеристики ішемічного атеротромботичного інсульту.

Показано, що у гомозигот за основним алелем С/С (поліморфізм С677Т) з нормальною масою тіла частіше ураження зазнають вертебральні та базиллярна артерії. В осіб з генотипом С/С за поліморфним варіантом С677Т з нормальним артеріальним тиском розвивається переважно легкий ступінь тяжкості перебігу хвороби. Гомозиготи С/С за А1298С поліморфізмом чоловічої статі більш схильні до повторних інсультів.

**Практичне значення одержаних результатів.** Дисертаційна робота є фундаментальним дослідженням. Результати та висновки дослідження розширюють відомості про роль генетичних факторів у патогенезі ішемічного атеротромботичного інсульту.

Дані про асоціацію С677Т й А1298С поліморфізмів гена МТНFR з розвитком ІАТІ можуть бути використані для прогнозування ймовірності розвитку захворювання у пацієнтів з факторами ризику атеросклерозу. Виявлення осіб, генетично схильних до ІАТІ, дасть можливість проводити ранню профілактику ішемії мозку, що зменшить соціально-економічні витрати держави.

Результати наукових досліджень, викладених у дисертації, впроваджено в науково-дослідну роботу і навчальний процес на кафедрах патофізіології Івано-Франківського національного медичного університету, Української медичної стоматологічної академії (м. Полтава) МОЗ України, на кафедрі фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету МОН України.

**Особистий внесок здобувача.** Автором проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз наукової літератури за темою дисертації, сформульовано мету і завдання роботи, розроблено та обґрунтовано план досліджень. Здобувачем особисто здійснено відбір, клінічне обстеження хворих, забір зразків крові для дослідження. Молекулярно-генетичні дослідження проведено в науковій лабораторії молекулярно-генетичних досліджень (науковий керівник – проф. О.В. Атаман). Особисто автором створена база даних пацієнтів, статистично опрацьовані та проаналізовані отримані результати, написані всі розділи дисертації, сформульовані висновки, а також підготовлені матеріали до публікації.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертації представлені та обговорені на V Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених (Вінниця, 15–16 травня 2014 р.), VIII Всеросійській науково-практичній конференції за міжнародної участі «Молекулярная диагностика 2014» (Москва, РФ, 2014 р.), Міжнародних науково-практичних конференціях студентів та молодих учених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини» (Суми, 2014, 2015 рр.), 79-й Всеросійській науковій конференції студентів і молодих вчених за міжнародної участі «Молодёжная наука и современность» (Курск, РФ, 16–17 квітня 2014 р.), XIX Міжнародному медичному конгресі студентів і молодих вчених (Тернопіль, 27–29 квітня 2015 р.), науковій конференції «14-ті читання ім. В. В. Підвисоцького» (Одеса, 27–28 травня 2015 р.).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових робіт, з них 7 статей (1 – у журналі, що обліковуються наукометричною базою SCOPUS, 6 – у фахових виданнях, що входять до переліку ДАК України), 7 тез доповідей у матеріалах конференцій; 4 наукові роботи опубліковано за одноосібної участі автора.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертацію викладено на 166 сторінках (основний обсяг становить 136 сторінок). Вона має такі розділи: вступ, огляд літератури, матеріали і методи дослідження, результати власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки, додатки. Список літератури містить 248 джерел (87 – кирилицею, 161 – латиницею). Роботу ілюстровано 42 таблицями, 10 рисунками і 39 додатками.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали і методи дослідження.** У дослідженні використано кров 170 хворих на ІАТІ (42,4 % жінок і 57,6 % чоловіків) віком від 40 до 85 років (середній вік становив  $64,7 \pm 0,73$  роки). Ішемічний характер інсульту встановлювався за даними анамнезу і клінічної неврологічної картини хвороби, результатами комп'ютерної томографії головного мозку. Патогенетичний варіант інсульту визначали відповідно до критеріїв TOAST на підставі анамнезу і особливостей клінічного перебігу хвороби, даних ультразвукової доплерографії магістральних артерій голови, електрокардіограми.

Контрольна групу складала 124 особи (36,3 % жінок і 63,7 % чоловіків), середній вік –  $76,7 \pm 0,93$  роки, у яких відсутність цереброваскулярної патології підтверджували шляхом збирання анамнестичних даних, оцінки неврологічного статусу, зняття електрокардіограми і вимірювання артеріального тиску.

Критеріями виключення з дослідження були виражені когнітивні та психічні захворювання, онкологічні хвороби, цукровий діабет, тяжкі захворювання печінки та нирок, виражена серцева недостатність, порушення ритму серця та провідності. Група контролю та група хворих на ІАТІ не відрізнялися за співвідношенням осіб різної статі ( $P = 0,294$  за  $\chi^2$ -критерієм), проте середній вік першої був істотно вищим, ніж другої ( $P < 0,001$ ).

Для верифікації діагнозу та оцінювання загального стану осіб основної групи у роботі були використані *клініко-діагностичні методи дослідження*: артеріальний тиск вимірювали за методом Короткова ручним тонометром, вимірювання концентрації глюкози в плазмі крові проводили глюкозооксидазним методом фотометрично, стандартно проводили електрокардіографію у 12 відведеннях, УЗД судин голови та шиї й комп'ютерну томографію.

*Молекулярно-генетичні дослідження.* Для генотипування венозну кров набирали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти («Sarstedt», Німеччина), що була антикоагулянтном. Кров заморожували і зберігали при температурі  $-20$  °С. Виділення геномної ДНК проводили з використанням комерційного набору

«Diatom DNA Prep 100» (ООО «Лаборатория «Изоген», Росія). Генотипування за С677Т (rs1801133) та А1298С (rs1801131) поліморфними варіантами гена МТНFR проводили за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 («Applied Biosystems», США). Праймери для PCR синтезовано фірмою «Metabion» (Німеччина), рестриктази – фірмою «Thermo Scientific» (США). Для вивчення С677Т поліморфізму використовували праймери: прямий (sense) – 5' GTCATCCSTATTTGGCAGGTTAC3' і зворотній (antisense) – 5' CTGAGAGGAGATCTGGGAAGAA 3', рестриктазу HinfI; для дослідження А1298С поліморфних варіантів – праймери: прямий (sense) – 5' GCAAGTCCCCCAAGGAGG 3' і зворотній (antisense) – 5' GGGTCCCCACTCCAGCATC 3', рестриктазу MboII. Аналіз довжини рестрикційних фрагментів проводили методом горизонтального електрофорезу в 2,5 % агарозному гелі (Sigma-Aldrich, США). Візуалізацію результатів здійснювали в ультрафіолетових променях за допомогою автоматичної системи відеозчитування «Vi-Tran» в транслюмінаторі («Біоком», Росія).

*Статистичний аналіз* проводили з використанням програми SPSS-17. Перед перевіркою статистичних гіпотез проводився аналіз нормальності розподілу величин у вибірках за допомогою критерію Колмогорова-Смирнова. Визначення достовірності відмінностей між кількісними показниками двох незалежних виборок проводили за допомогою критерію Стьюдента (t). Для дослідження значущості відмінностей між середніми значеннями трьох груп даних (групи з різними генотипами) використовували однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) з критерієм Фішера. Перевірку неоднаковості розподілу генотипів здійснювали за допомогою  $\chi^2$ -критерію Пірсона. Значення  $p < 0,05$  вважали статистично значущими. З метою прогнозування ризику виникнення ІАТІ використовували метод логістичної регресії, а для виявлення та характеристики міжгенних взаємодій застосовували метод MDR (multifactor dimensionality reduction) (Alison A.M., Marylyn D., 2006).

#### **Результати досліджень та їх обговорення.**

**Зв'язок С677Т поліморфізму гена МТНFR з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту.** Був досліджений розподіл частот алелів і генотипів одонуклеотидного поліморфізму С677Т гена МТНFR в осіб контрольної групи і у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом. Порівняння частот алелів і генотипів С677Т поліморфного варіанту гена МТНFR у хворих основної і контрольної груп дало наступні результати. Розподіл частоти генотипів у контрольній групі становив: С/С – 46,0 %, С/Т – 48,4 % і Т/Т – 5,6 %, у хворих на ІАТІ відповідно: 52,3; 35,9 і 11,8 % ( $P = 0,044$ ). Аналіз виявив статистично достовірні відмінності в розподілі різних варіантів генотипу між хворими з ІАТІ і пацієнтами групи порівняння.

*Аналіз за статтю.* Розподіл частот алельних варіантів за вивченим поліморфізмом в осіб різної статі у групах порівняння показав, що частота різних алельних варіантів (С/С, С/Т, Т/Т) гена МТНFR за С677Т



поліморфізмом істотно не відрізняється в осіб жіночої статі хворих на ІАТІ - 51,4; 38,9; 9,7 % та пацієток контрольної групи - 60,0; 35,6; 4,4 % ( $\chi^2 = 1,460$ ,  $P = 0,482$ ). Проте розподіл варіантів цього поліморфізму в осіб чоловічої статі був різним. Співвідношення гомозигот за С-алелем, гетерозигот і гомозигот за Т-алелем у хворих чоловіків становило 53,0; 33,7 і 13,3 %, у групі контролю – 38,0; 55,7 і 6,3 % відповідно ( $\chi^2 = 9,095$ ,  $P = 0,011$ ). За допомогою методу логістичної регресії було встановлено, що ризик розвитку ІАТІ у чоловіків, носіїв С/Т-генотипу, у 2,3 менший, ніж у носіїв основного алеля (табл. 1).

Таблиця 1

### Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за С677Т поліморфізмом гена МТНFR у осіб чоловічої статі

Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95 % CI для OR нижній	95 % CI для OR верхній
С/Т	0,838	0,325	6,646	0,010	0,433	0,229	0,818
Т/Т	0,405	0,574	0,499	0,480	1,500	0,487	4,621

Примітка: порівняння проводилося відносно гомозигот за основним алелем (С/С); CR – коефіцієнт регресії; SE – стандартна похибка; WS – статистика Вальда; P – статистична значущість; OR – відношення ризику; CI – довірчий інтервал

Аналіз частоти ішемічних атеротромботичних інсультів у жінок і чоловіків з різними варіантами генотипу за С677Т поліморфізмом виявив наявність статистично значущих відмінностей у розподілі осіб різної статі хворих з і ІАТІ і практично здорових осіб (табл. 2) ( $P = 0,028$  для генотипу С/Т).

Таблиця 2

### Частота ішемічних інсультів у жінок і чоловіків з різними варіантами генотипу за С677Т поліморфізмом гена МТНFR

	С/С (n, %)		С/Т (n, %)		Т/Т (n, %)	
	інсульт (-)	інсульт (+)	інсульт (-)	інсульт (+)	інсульт (-)	інсульт (+)
Жінки	27 (47,4)	37 (41,6)	16 (26,7)	28 (45,9)	2 (28,6)	7 (35,0)
Чоловіки	30 (52,6)	52 (58,4)	44 (73,3)	33 (54,1)	5 (71,4)	13 (65,0)
Разом	57 (100)	89 (100)	60 (100)	61 (100)	7 (100)	20 (100)
P	0,491		0,028		0,756	

Примітка: подано частоту генотипу в абсолютних одиницях і відсотках. P – статистична значущість відмінностей між порівнюваними групами за  $\chi^2$ -критерієм

Аналіз за антропометричними даними. Поділ пацієнтів контрольної та основної груп залежно від ІМТ не виявив статистично значущих відмінностей в розподілі генотипів С/С, С/Т і Т/Т.

*Аналіз за показниками артеріального тиску.* Поділ пацієнтів дослідної та контрольної груп на тих, що мали нормальний і підвищений артеріальний тиск (систоличний АТ > 140 мм рт. ст., діастолічний АТ > 90 мм рт. ст.), дав такі результати. Серед осіб з нормальним тиском співвідношення генотипів С/С, С/Т, Т/Т в основній групі становило 52; 36; 12%, у групі контролю відповідно – 52; 48 та 0 % (P = 0,039). У групі пацієнтів з підвищеним артеріальним тиском такої залежності не було виявлено (P = 0,178). Таким чином, особи з нормальним тиском – гомозиготи за «патологічним» Т-алелем – більш схильні до розвитку ІАТІ.

Аналіз частоти осіб гіпертоніків та нормотоніків серед носіїв різних генотипів у дослідній і контрольній групах дав такі результати. Серед гомозигот С/С, хворих на інсульт, 75,3 % було з підвищеним АТ і 24,7 % – з нормальним тиском. Серед осіб контрольної групи це співвідношення становило 54,5 та 45,5 % відповідно. Показник P, розрахований за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона, дорівнював 0,010, що свідчило про існування зв'язку між ІАТІ та величиною АТ у носіїв С/С-генотипу. У гомозигот за С-алелем з гіпертензією ІАТІ виникає частіше. Для носіїв С/Т- і Т/Т-генотипів такої залежності виявлено не було.

*Аналіз за фактом куріння.* Розподіл генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТНFR у групі тих, які не палять, був таким: контроль – С/С – 47,3 %, С/Т – 48,4 %, Т/Т – 4,3 %, ІАТІ – 51,7; 35; 13,3 % відповідно. Показник P, визначений за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона, дорівнював 0,029. У групі осіб, які не палять, ІАТІ настає частіше у гомозигот за мінорним алелем (Т/Т) порівняно з іншими генотипами.

**Асоціація А1298С поліморфізму гена МТНFR з гострим ішемічним атеротромботичним ураженням головного мозку.** Встановлено частоту трьох можливих генотипів та алелів за А1298С поліморфізмом у практично здорових осіб: А/А – 46,0 %, А/С – 44,3 %, С/С – 9,7 %. Розподіл генотипів у представників основної групи був таким: А/А – 42,3 %, А/С – 37,1 %, С/С – 20,6 %. Відмінності в розподілі частот зазначених генотипів між групою хворих на ІАТІ та контрольною групою були статистично достовірними (P = 0,039). Цей висновок було підтверджено і методом логістичної регресії: у гомозигот за мінорним алелем ризик інсульту в 2,3 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем (P = 0,027, OR = 2,309) (табл. 3).

Таблиця 3

**Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за А1298С поліморфізмом гена МТНFR**

Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95 % CI для OR нижній	95 % CI для OR верхній
А/С	0,098	0,256	0,146	0,702	0,907	0,549	1,497
С/С	0,837	0,379	4,886	0,027	2,309	1,099	4,849

Примітка: порівняння проводилося відносно гомозигот за основним алелем (C/C); CR – коефіцієнт регресії; SE – стандартна похибка; WS – статистика Вальда; P – статистична значущість; OR – відношення ризику; CI – довірчий інтервал

*Аналіз за статтю.* Розподіл частот алельних варіантів за A1298C поліморфізмом гена MTHFR в осіб різної статі у групах порівняння подано у таблиці 4.

Таблиця 4

**Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАТІ) в осіб жіночої і чоловічої статей**

Генотипи	Жінки (n, %)		Чоловіки (n, %)	
	контроль	інсульт	контроль	інсульт
A/A	21 (46,7)	34 (47,0)	36 (45,6)	38 (38,8)
A/C	18 (40,0)	25 (36,8)	37 (46,8)	38 (38,8)
C/C	6 (13,3)	13 (18,0)	6 (7,6)	22 (22,4)
Разом	45 (100)	72 (100)	79 (100)	98 (100)
P	0,744		0,027	

Примітка: подано частоту генотипу в абсолютних одиницях і відсотках. P – статистична значущість відмінностей між порівнюваними групами за  $\chi^2$ -критерієм

У чоловіків розподіл варіантів цього поліморфізму був різним і мав такий вигляд: дослідна група – A/A – 38,8 %, A/C – 38,8 % і C/C – 22,4 %, контрольна група – 45,6; 46,8 і 7,6 % відповідно ( $\chi^2 = 7,254$ , P = 0,027). Таким чином, чоловіки, носії C/C-генотипу більш схильні до ризику розвитку ІАТІ, ніж чоловіки з A/A-генотипом. Застосування методу логістичної регресії дало можливість підтвердити ці висновки: у чоловіків-гомозигот за мінорним алелем (C/C) ризик розвитку ІАТІ в 3,5 раза вищий, ніж у носіїв генотипу A/A (табл. 5).

Таблиця 5

**Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за A1298C поліморфізмом гена MTHFR у осіб чоловічої статі**

Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95 % CI для OR нижній	95 % CI для OR верхній
A/C	0,027	0,328	0,007	0,933	0,973	0,512	1,850
C/C	1,245	0,516	5,824	0,016	3,474	1,264	9,549

Примітка: порівняння проводилося відносно гомозигот за основним алелем (C/C); CR – коефіцієнт регресії; SE – стандартна похибка; WS – статистика Вальда; P – статистична значущість; OR – відношення ризику; CI – довірчий інтервал

*Аналіз за антропометричними даними.* Поділ представників дослідної і контрольної груп залежно від величини ІМТ ( $< 25 \text{ кг/м}^2$  і  $\geq 25 \text{ кг/м}^2$ ) дав можливість проаналізувати вплив поліморфного варіанта A1298C гена MTHFR на розвиток ІАТІ в осіб із нормальним і підвищеним значеннями цього показника. Аналіз зв'язку A1298C поліморфізму гена MTHFR з розвитком ІАТІ у контрольній групі та у хворих з ІАТІ залежно від ІМТ показав, що у представників з нормальним ІМТ не існує різниці у розподілі генотипів ( $P = 0,986$ ) (табл. 6). Однак відмінності було виявлено в осіб з підвищеним ІМТ. У представників з  $\text{ІМТ} \geq 25 \text{ кг/м}^2$  розподіл варіантів A1298C поліморфізму був різним і мав такий вигляд: дослідна група – A/A – 42,6 %, A/C – 34,1 % і C/C – 23,3 %, контрольна група – 48,2; 43,5 і 8,2 % відповідно ( $\chi^2 = 8,246$ ,  $P = 0,016$ ). Іншими словами, носії C/C-генотипу з  $\text{ІМТ} \geq 25 \text{ кг/м}^2$  більш схильні до розвитку ІАТІ.

Таблиця 6

**Зв'язок A1298C поліморфізму гена MTHFR з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту в осіб з  $\text{ІМТ} < 25 \text{ кг/м}^2$  та  $\text{ІМТ} \geq 25 \text{ кг/м}^2$**

	Генотип	Контроль, n (%)	ІАТІ, n (%)
ІМТ < 25 кг/м <sup>2</sup>	A/A	16 (42,1)	17 (41,5)
	A/C	17 (44,7)	19 (46,3)
	C/C	5 (13,2)	5 (12,2)
$\chi^2 = 0,028$ ; $P = 0,986$			
ІМТ $\geq 25 \text{ кг/м}^2$	A/A	41 (48,2)	55 (42,6)
	A/C	37 (43,5)	44 (34,1)
	C/C	7 (8,2)	30 (23,3)
$\chi^2 = 8,246$ ; $P = 0,016$			

Примітка: подано частоту генотипу в абсолютних одиницях і відсотках. P – статистична значущість відмінностей між порівнюваними групами за  $\chi^2$ -критерієм

Вищенаведене було підтверджено методом логістичної регресії. Гомозиготи за мінорним алелем з  $\text{ІМТ} \geq 25 \text{ кг/м}^2$  у 3,2 раза ( $P = 0,013$ ,  $\text{OR} = 3,195$ ) більш схильні до розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту, ніж гомозиготи за основним алелем.

*Аналіз за показниками артеріального тиску.* Аналіз частоти осіб гіпертоніків та нормотоніків серед носіїв різних генотипів у дослідній і контрольній групах дав такі результати. Гетерозигот A/C хворих на інсульт було 76,2 % з підвищеним АТ і 23,8 % з нормальним тиском. Серед осіб контрольної групи це співвідношення становило 56,6 та 43,4 % відповідно. Показник P, розрахований за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона, дорівнював 0,025, що

свідчить про існування зв'язку між ІАТІ і величиною АТ у носіїв А/С-генотипу. У гетерозигот із гіпертензією ризик розвитку ІАТІ більший, ніж у гетерозигот із нормальним АТ.

*Аналіз за фактом куріння.* Відмінності в розподіл генотипів за А1298С поліморфізмом гена МТНFR у групі тих, які не палять і тих, що палять, не були статистично достовірними.

**Комплексний вплив С677Т та А1298С поліморфізмів гена МТНFR на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту.** Для оцінювання комплексного впливу вивчених локусів гена МТНFR на розвиток ІАТІ та моделювання їх взаємодії був застосований метод мультифакторної просторової редукції (MDR). Виявлено, що збіг гомозиготи за мінорним алелем за одним із обраних поліморфізмів та одним з трьох можливих генотипів за іншим SNP асоціюється з високим ризиком розвитку ІАТІ. При цьому збіг двох гомозигот за основним алелем також призводить до значного збільшення ризику розвитку ІАТІ. Аналіз за допомогою методу MDR серед осіб різної статі виявив, що у чоловіків збіг гомозиготи за мінорним алелем за А1298С поліморфізмом з будь-яким іншим генотипом за С667Т локусом асоціюється з високим ризиком розвитку ІАТІ. Необхідно зазначити, що збіг двох гомозигот за основним алелем, а також гетерозиготи за А1298С поліморфним варіантом і гомозиготи за мінорним алелем за С667Т поліморфізмом призводить до значного збільшення ризику розвитку ІАТІ у осіб чоловічої статі.

**Вплив С677Т та А1298С поліморфних варіантів гена МТНFR на основні характеристики гострої атеротромботичної ішемії мозку.** Проведеними дослідженнями з'ясовано, що існує залежність між генотипом пацієнтів за поліморфізмом С677Т, з одного боку, і ділянками артеріального басейну, атеротромботичні зміни яких призводять до ІАТІ, з другого, якщо хворих з ІАТІ з різною зоною ураження поділити на підгрупи щодо маси тіла на тих, хто мав нормальну вагу, та тих, у кого було ожиріння. Співвідношення гомозигот за основним алелем, гетерозигот та гомозигот за мінорним алелем серед пацієнтів із нормальною масою тіла з ураженням передньої, середніх і задньої мозкових артерій становило відповідно 48,8; 30,1; 13,1 %, вертебральних і базилярної артерій – 77,8; 16,7; 5,5 % та поєднаних варіантів – 11,1; 66,7; 22,2 % ( $P = 0,026$ ). Отже, у гомозигот С/С частіше страждають вертебральні та базилярна артерії. У пацієнтів з ожирінням цей розподіл був таким: 56,25; 31,25; 12,5 % та 50,0; 0 % та 60,0; 40,0; 0 % відповідно ( $P = 0,728$ ). Таким чином, у пацієнтів з нормальною масою тіла існує зв'язок між Т/Т-генотипом за С677Т поліморфізмом і ділянкою ураження.

За умови, якщо статистичний аналіз проводити з урахуванням фактора ризику атеротромботичних ускладнень – артеріальної гіпертензії, то виявляється таке. Співвідношення гомозигот за основним алелем, гетерозигот та гомозигот за мінорним алелем серед хворих, які мали нормальний артеріальний тиск, залежно від ступеня тяжкості перебігу становило відповідно: легкий ступінь – 71,4; 28,6; 0 %; середньої тяжкості –

56,25; 18,75; 25,0 %; тяжкий ступінь – 25,0; 66,7; 8,3 % ( $P = 0,021$ ). У пацієнтів з підвищеним артеріальним тиском розподіл був таким: легкий ступінь – 48,8; 36,6; 14,6%; середньої тяжкості – 50,0; 38,0; 12,0 %; тяжкий ступінь – 59,0; 32,4; 8,1 % ( $P = 0,842$ ). Таким чином, існує зв'язок між C/S генотипом та ступенем тяжкості перебігу ІАТІ, враховуючи такий показник як рівень артеріального тиску.

Вплив однонуклеотидних поліморфізмів С677Т та А1298С гена МТНFR на розвиток атеросклеротичних уражень судин головного мозку та їхнього ускладнення, яким є ІАТІ, можливо, реалізується через активність ферменту метилентетрагідрофолатредуктази, що відіграє центральну роль в обміні гомоцистеїну. Локалізація зазначених поліморфізмів відповідно у 4-му і 7-му екзонах позначається на амінокислотній послідовності білкових молекул (первинній структурі) і, як наслідок, може виявляти себе змінами вторинної та третинної структури ферменту, а отже, і його активності. Так, доведено, що заміна цитозину на тимін у положенні 677 4-го екзону і аденіну на цитозин у положенні 1298 7-го екзону веде до зменшення активності МТНFR відповідно на 70 і 50 % (Фетисова И.Н. с соавт., 2007; Frosst P. et al., 1995; Kang S. et al., 2014; Zhang M.J. et al., 2014; Zhou B.S. et al., 2014). Наслідком цього стає зростання рівня гомоцистеїну в позаклітинній рідині та розвиток гіпергомоцистеїнемії.

На рисунку представлено можливі шляхи впливу гомоцистеїну на розвиток атеросклеротичного процесу та зумовленого ним ішемічного інсульту. Як випливає зі схеми, провідну роль у патогенезі ІАТІ відіграє ендотеліальна дисфункція, що настає внаслідок прямої дії на ендотеліальні клітини високих концентрацій гомоцистеїну і утворених з цієї амінокислоти вільних радикалів. Механізми такої дисфункції ще остаточно не розшифровано, проте відомо, що вона виявляє себе цілим рядом змін, які сприяють атеросклеротичному процесу і тромбоутворенню. До таких, зокрема, відносять підвищення проникності артеріальної стінки до атерогенних ліпопротеїнів, адгезію моноцитів до ендотелію з наступним проникненням їх в інтиму, де розгортається процес запалення; вазоконстрикцію, посилення проліферації гладких м'язових клітин, порушення судинно-тромбоцитарного і коагуляційного гемостазу. Зумовлені ендотеліальною дисфункцією розлади в артеріальних судинах доповнюються змінами, що виникають унаслідок впливу гомоцистеїну й на інших учасників атеротромботичного процесу: ліпопротеїни низької і дуже низької щільності, еластичні структури судинної стінки, чинники кальцифікації її компонентів. Під впливом гомоцистеїну зазнають змін функції і властивості факторів тромбоутворення; зокрема посилюється адгезивна та агрегаційна здатність тромбоцитів, активується ряд факторів коагуляції крові, гальмується експресія тромбомодуліну. Прискорений розвиток атеросклерозу мозкових артерій, з одного боку, і виникнення стану тромбофілії, з другого, стають тими чинниками, що зумовлюють ішемічний атеротромботичний інсульт в осіб з генетично зумовленими змінами структури гена МТНFR та його експресії.

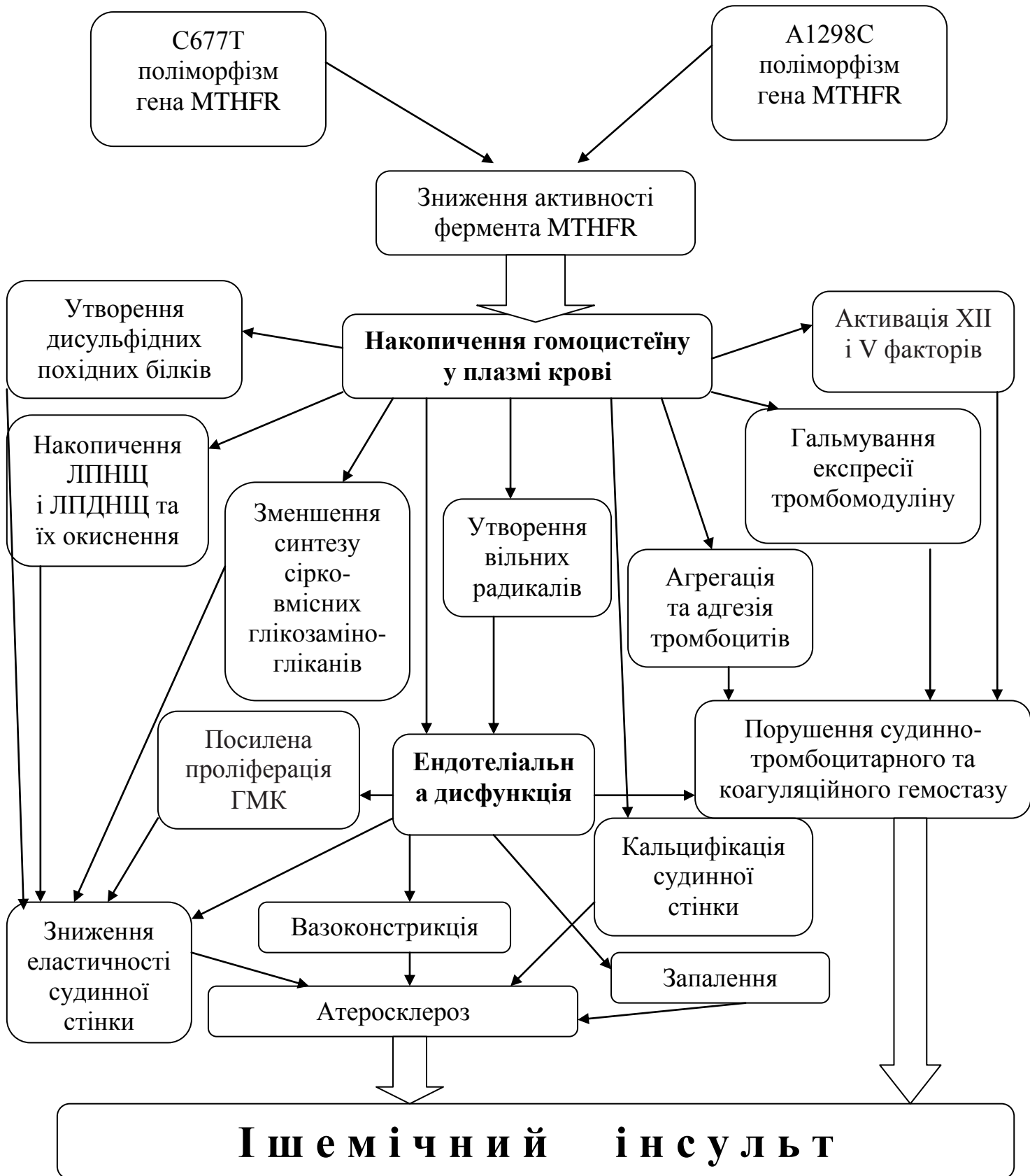


Рисунок – Зв'язок C677T і A1298C поліморфізмів гена MTHFR з розвитком ішемічного інсульту

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуального наукового завдання, що полягає у встановленні зв'язку поліморфних варіантів С677Т і А1298С гена МТНFR з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту в осіб, що мають різні фактори ризику гострих порушень мозкового кровообігу.

1. Частота алельних варіантів гена метилентетрагідрофолатредуктази (МТНFR) в осіб контрольної групи за поліморфізмами С677Т і А1298С не відрізняється від більшості вивчених європейських популяцій та характеризується такими співвідношеннями: для першого: С/С – 46 %, С/Т – 48,4 %, Т/Т – 5,6 %; для другого: А/А – 46 %, А/С – 44,3 %, С/С – 9,7 %. Співвідношення генотипів гена МТНFR у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом (ІАТІ) за вивченими поліморфізмами достовірно відрізняється від групи осіб без ознак порушень мозкового кровообігу і становить для поліморфізму С677Т: С/С – 52,3 %, С/Т – 35,9 %, Т/Т – 11,8 % ( $P = 0,044$ ); для А1298С поліморфізму: А/А – 42,4 %, А/С – 37,0 %, С/С – 20,6 % ( $P = 0,039$ ).

2. Алельний поліморфізм гена МТНFR є важливим чинником спадкової схильності до розвитку гострих порушень мозкового кровообігу. Існує зв'язок між ішемічним атеротромботичним інсультом і С677Т та А1298С поліморфними варіантами гена МТНFR. Ризик ІАТІ у гомозигот за мінорним алелем (Т/Т і С/С) за вивченими поліморфізмами вищий, ніж у носіїв інших генотипів ( $P = 0,044$  та  $P = 0,039$  відповідно). В осіб з генотипом С/С за А1298С поліморфізмом ІАТІ виникає у 2,3 рази частіше, ніж у носіїв основного алеля ( $P = 0,027$ ; OR = 2,309).

3. За допомогою методів математичного моделювання встановлено, що в осіб чоловічої статі, гомозиготних за мінорним алелем С/С (А1298С поліморфізм), високий ризик розвитку ІАТІ не залежить від генотипу за С667Т локусом гена МТНFR. Збіг двох гомозигот за основним алелем або гетерозиготи за А1298С поліморфізмом і гомозиготи за мінорним алелем за С667Т поліморфізмом призводить до значного збільшення ризику ІАТІ.

4. Вплив генетичного чинника на розвиток цереброваскулярної патології має статеві особливості. Особи чоловічої статі з генотипом С/Т за С677Т поліморфізмом гена МТНFR у 2,3 рази стійкіші до ІАТІ, ніж з генотипом С/С ( $P = 0,010$ ; OR = 0,433). У чоловіків-гомозигот за мінорним алелем (С/С) за А1298С поліморфізмом ризик розвитку ІАТІ в 3,5 рази вищий, ніж у носіїв генотипу А/А ( $P = 0,016$ ; OR = 3,474).

5. Виявлено асоціацію досліджених поліморфізмів з деякими факторами ризику ІАТІ: індексом маси тіла (ІМТ), артеріальною гіпертензією, курінням. Гомозиготи за мінорним алелем (поліморфізм А1298С) з  $ІМТ \geq 25$  кг/м<sup>2</sup> у 3,2 рази більш схильні до ІАТІ, ніж гомозиготи за основним алелем ( $P = 0,013$ , OR = 3,195). В осіб з нормальним артеріальним тиском – носіїв Т/Т-генотипу, у пацієнтів з гіпертензією з генотипом С/С за С677Т поліморфним варіантом гена МТНFR, а також у гетерозигот А/С з гіпертензією (А1298С поліморфізм) ішемічний атеротромботичний інсульт



виникає частіше ( $P = 0,039$ ;  $P = 0,010$  та  $P = 0,025$  відповідно). Ризик розвитку ІАТІ більший у групі осіб, що не палять, з генотипом Т/Т за поліморфізмом С677Т ( $P = 0,029$ ).

6. Установлено вплив С677Т та А1298С поліморфних варіантів гена МТНFR на характеристики ішемічного атеротромботичного інсульту. У гомозигот за основним алелем С/С (поліморфізм С677Т) з нормальною масою тіла частіше ураження зазнають вертебральні та базилярна артерії ( $P = 0,026$ ). В осіб з генотипом С/С за поліморфним варіантом С677Т з нормальним артеріальним тиском розвивається переважно легкий ступінь тяжкості перебігу хвороби ( $P = 0,021$ ). Гомозиготи С/С за А1298С поліморфізмом чоловічої статі більш схильні до повторних інсультів ( $P = 0,041$ ).

### **СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Гарбузова В.Ю. Аналіз впливу поліморфізму С677Т гена N<sup>5</sup>, N<sup>10</sup>-метилентетрагідрофолатредуктази на розвиток ішемічного інсульту у людей з різними факторами його ризику / В.Ю. Гарбузова, О.В. Полоніков, Д.О. Строй, О.І. Матлай, Ю.О. Атаман, В.А. Сухарєва, О.В. Атаман // *Фізіологічний журнал*. - 2014. - Т. 60, № 2. - С. 18-24 (*Здобувачем здійснено набір, статистичну обробку і аналіз матеріалу, оформлення статті до друку*).
2. Матлай О.І. Аналіз зв'язку С677Т поліморфізму гена N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>-метилентетрагідрофолатредуктази (МТНFR) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском /О.І. Матлай // *Загальна патологія та патологічна фізіологія*. – 2013. – Т.8, № 2.- С.191-198.
3. Матлай О.І. Вплив С677Т та А1298С поліморфізмів гена N<sup>5</sup>, N<sup>10</sup>-метилентетрагідрофолатредуктази (МТНFR) на основні характеристики ішемічного атеротромботичного інсульту / О.І. Матлай, В.Ю. Гарбузова, М.П. Сафонова, Д.Д. Сотніков // *Загальна патологія та патологічна фізіологія*. – 2014. – Т. 9, № 4. – С. 60 – 68. (*Здобувачем здійснено набір, статистичну обробку і аналіз матеріалу, оформлення статті до друку*).
4. Матлай О.І. Аналіз зв'язку С677Т поліморфізму гена N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>-метилентетрагідрофолатредуктази (МТНFR) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі / О.І. Матлай // *Вісник проблем біології і медицини*. – 2014. – вип. 1 (106).- С.143-148.
5. Матлай О.І. Вивчення зв'язку деяких антропометричних даних з С677Т поліморфізмом гена N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>- метилентетрагідрофолатредуктази (МТНFR) у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом / О.І. Матлай // *Світ медицини та біології*. – 2014. – вип. 2 (44).- С.57-61.
6. Матлай О.І. Асоціація деяких антропометричних даних з А1298С поліморфізмом гена N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>- метилентетрагідрофолатредуктази (МТНFR) у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом / О.І. Матлай // *Вісник проблем біології і медицини*. – 2015. – вип. 2, Т.3 (120).- С.176-182.
7. Матлай О.І. Статеві особливості розподілу алельних варіантів гена N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>-

метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR) за A1298C поліморфізмом у пацієнтів з ішемічним атеротромботичним інсультом / О.І. Матлай, В.Ю. Гарбузова // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. – 2015. –Т.3, №2.- С.199-206. (Здобувачем здійснено набір, статистичну обробку і аналіз матеріалу, оформлення статті до друку).

8. Матлай О.І. Однонуклеотидний поліморфізм С677Т гена метилентетрагідрофолатредуктази у хворих з гострими порушеннями мозкового кровообігу / О.І. Матлай, В.Ю. Гарбузова //Науково-практична конференція студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини», 16-18 квітня 2014 р. : збірник тез доповідей. – Суми : Вид-во СумДУ, 2014. – С. 150-151.

9. Гарбузова В.Ю. Асоціація поліморфізма С677Т гена метилентетрагідрофолатредуктази с розвитием ишемического инсульта / В.Ю. Гарбузова, В.А. Сухарева, О.И. Матлай, А.В. Атаман // Сборник трудов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2014» том I, 2014. – Москва. – С. 236-237.

10. Матлай О.И. Связь полиморфизма С677Т гена метилентетрагідрофолатредуктази с ишемическим атеротромботическим инсультом у пациентов с артериальной гипертензией / О.И. Матлай, В.А. Сухарева, В.Ю. Гарбузова // Материалы 79-й Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежная наука и современность», посвященная 79-летию КГМУ, 16-17 апреля 2014 г. часть I, 2014. – С. 22.

11.Матлай О.І. Зв'язок С677Т поліморфізму гена N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>-метилентетрагідрофолат-редуктази з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб з надмірною вагою / О.І. Матлай, В.Ю. Гарбузова // Матеріали V міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених , 15-16 травня 2014. – Вінниця. – С. 18-19.

12. Матлай О.І. Однонуклеотидний поліморфізм А1298С гена метилентетрагідро-фолатредуктази у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом / О.І. Матлай, В.А. Сухарева, В.Ю. Гарбузова //Науково-практична конференція студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини», 23-24 квітня 2015 р. : збірник тез доповідей. – Суми : Вид-во СумДУ, 2015. – С. 200-201.

13. Матлай О.І. Дослідження частоти А1298С поліморфізму гена метилентетрагідрофолатредуктази у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом / О.І. Матлай, В.Ю. Гарбузова // XIX міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених присвячений пам'яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука, 27-29 квітня 2015 р. – Тернопіль: Вид-во Укрмедкнига. - С. 293.

14. Матлай О.І. Зв'язок А1298С поліморфізму гена N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup> -метилентетрагідрофолатредуктази з факторами ризику ішемічного атеротромботичного інсульту / О.І. Матлай // Бюллетень XIV чтений им. В.В. Подвысоцкого, 27-28 мая 2015 р.– Одесса. – С. 148-150.

## АНОТАЦІЯ

**Матлай О. І. Зв'язок алельного поліморфізму гена метилентетрагідро-фолатредуктази (MTHFR) з розвитком ішемічних інсультів.** – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Сумський державний університет МОН України, Суми, 2015.

Дисертація присвячена виявленню впливу генетичних чинників (однонуклеотидних поліморфізмів С677Т та А1298С гена метилентетрагідро-фолатредуктази (MTHFR)) на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАТІ).

Встановлено частоти алелів і генотипів поліморфних варіантів С677Т та А1298С гена MTHFR у представників української популяції і вперше досліджено їх асоціацію з ішемічним атеротромботичним інсультом.

З'ясовано, що існує зв'язок між ішемічним атеротромботичним інсультом і С677Т та А1298С поліморфними варіантами гена MTHFR. Ризик ІАТІ у гомозигот за мінорним алелем (Т/Т і С/С) за вивченими поліморфізмами вищий, ніж у носіїв інших генотипів ( $P = 0,044$ ;  $P = 0,039$ ). В осіб з генотипом С/С за А1298С поліморфізмом ІАТІ виникає у 2,3 раза частіше, ніж у носіїв основного алеля ( $P = 0,027$ ;  $OR = 2,309$ ).

Виявлено, що вплив генетичного чинника на розвиток цереброваскулярної патології має статеві особливості. Особи чоловічої статі з генотипом С/Т за С677Т поліморфізмом гена MTHFR в 2,3 раза стійкіші до ІАТІ, ніж хворі з генотипом С/С ( $P = 0,010$ ;  $OR = 0,433$ ). У чоловіків-гомозигот за мінорним алелем (С/С) за А1298С поліморфізмом ризик розвитку ІАТІ в 3,5 раза вищий, ніж у носіїв генотипу А/А ( $P = 0,016$ ;  $OR = 3,474$ ).

Вивчено зв'язок досліджених поліморфізмів з деякими факторами ризику ІАТІ: індексом маси тіла (ІМТ), артеріальною гіпертензією, курінням. Виявлено, що гомозиготи за мінорним алелем (поліморфізм А1298С) з  $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$  у 3,2 раза більш схильні до ІАТІ, ніж гомозиготи за основним алелем ( $P = 0,013$ ,  $OR = 3,195$ ). В осіб з нормальним артеріальним тиском – носіїв Т/Т-генотипу, у пацієнтів з гіпертензією з генотипом С/С за С677Т поліморфним варіантом гена MTHFR, а також у гетерозигот А/С з гіпертензією (А1298С поліморфізм) ішемічний атеротромботичний інсульт виникає частіше ( $P = 0,039$ ;  $P = 0,010$  та  $P = 0,025$  відповідно). Ризик розвитку ІАТІ більший у групі осіб, що не палять, з генотипом Т/Т за поліморфізмом С677Т ( $P = 0,029$ ).

Установлено вплив С677Т та А1298С поліморфних варіантів гена MTHFR на характеристики ІАТІ. У гомозигот за основним алелем С/С (поліморфізм С677Т) з нормальною масою тіла частіше ураження зазнають вертебральні та базилярна артерії ( $P = 0,026$ ). В осіб з генотипом С/С за поліморфним варіантом С677Т з нормальним артеріальним тиском розвивається переважно легкий ступінь тяжкості перебігу хвороби ( $P =$

0,021). Гомозиготи С/С за А1298С поліморфізмом чоловічої статі більш схильні до повторних інсультів ( $P = 0,041$ ).

Ключові слова: ген метилентетрагідрофолатредуктази, однонуклеотидний поліморфізм генів, ішемічний атеротромботичний інсульт.

## АННОТАЦІЯ

**Матлай О.И. Связь аллельного полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) с развитием ишемических инсультов. - На правах рукописи.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 - патологическая физиология. - Сумской государственной университету МОН Украины, Сумы, 2015.

Диссертация посвящена выявлению влияния генетических факторов (однонуклеотидных полиморфизмов С677Т и А1298С гена метилентетрагидро-фолатредуктазы (MTHFR)) на развитие ишемического атеротромботического инсульта (ИАТИ).

Установлено частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов С677Т и А1298С гена MTHFR у представителей украинской популяции и впервые исследованы их ассоциации с ишемическим атеротромботическим инсультом.

Установлено, что существует связь между ишемическим атеротромботическим инсультом, с одной стороны, и С677Т и А1298С полиморфными вариантами гена MTHFR, с другой. Риск ИАТИ у гомозигот по минорному аллелю (Т/Т и С/С) по изученным полиморфизмам выше, чем у носителей других генотипов ( $P = 0,044$ ;  $P = 0,039$ ). У лиц с генотипом С/С по А1298С полиморфизму ИАТИ возникает в 2,3 раза чаще, чем у носителей основного аллеля ( $P = 0,027$ ;  $OR = 2,309$ ).

Выявлено, что влияние генетического фактора на развитие цереброваскулярной патологии имеет половые особенности. Лица мужского пола с генотипом С/Т по С677Т полиморфизму гена MTHFR в 2,3 раза более стойки к ИАТИ, чем больные с генотипом С/С ( $P = 0,010$ ;  $OR = 0,433$ ). У мужчин-гомозигот по минорному аллелю (С/С) по А1298С полиморфизму риск развития ИАТИ в 3,5 раза выше, чем у носителей генотипа А/А ( $P = 0,016$ ;  $OR = 3,474$ ).

Изучена связь исследованных полиморфизмов с некоторыми факторами риска ИАТИ: индексом массы тела (ИМТ), артериальной гипертензией, курением. Выявлено, что гомозиготы по минорному аллелю (полиморфизм А1298С) с ИМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup> в 3,2 раза более подвержены ИАТИ, чем гомозиготы по основному аллелю ( $P = 0,013$ ,  $OR = 3,195$ ). У лиц с нормальным артериальным давлением - носителей Т/Т-генотипа, у пациентов с гипертензией с генотипом С/С по С677Т полиморфному варианту гена MTHFR, а также у гетерозигот А/С с гипертензией (А1298С полиморфизм) ишемический атеротромботический инсульт возникает чаще ( $P = 0,039$ ;  $P = 0,010$  и  $P = 0,025$  соответственно). Риск развития ИАТИ больше в группе лиц

с генотипом Т/Т по полиморфизму С677Т, которые не курят (P = 0,029).

Установлено влияние С677Т и А1298С полиморфных вариантов гена МТНFR на характеристики ИАТИ. У гомозигот по основному аллелю С/С (полиморфизм С677Т) с нормальной массой тела чаще поражению подвергаются вертебральные и базилярная артерии (P = 0,026). У лиц с генотипом С/С по полиморфному варианту С677Т с нормальным артериальным давлением развивается легкая степень тяжести болезни (P = 0,021). Гомозиготы С/С по А1298С полиморфизму мужского пола более склонны к повторным инсультам (P = 0,041).

Ключевые слова: ген метилентетрагидрофолатредуктазы, однонуклеотидный полиморфизм генов, ишемический атеротромботический инсульт.

## ANNOTATION

**Matlay O. I. Communication of allelic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene with ischemic stroke. - Manuscript.**

Thesis for the degree of candidate of medical sciences in specialty 14.03.04 - pathological physiology. - Sumy State University, Sumy, 2015.

Dissertation is devoted to revealing the influence of genetic factors (SNPs С677Т and А1298С gene methylenetetrahydrofolatereductase (MTHFR)) on the development of atherothrombotic ischemic stroke.

The frequency of allele and genotype polymorphisms С677Т and А1298С МТНFR gene from representatives of the Ukrainian population, and for the first time their association with atherothrombotic ischemic stroke was investigated.

It was established that there is a relationship between atherothrombotic ischemic stroke and С677Т and А1298С polymorphic variants of the gene МТНFR. Risk of atherothrombotic ischemic stroke homozygotes for the minor allele (Т/Т and С/С) of the studied polymorphisms is higher than that of the carriers of other genotypes (P = 0,044; P = 0,039). In patients with genotype С/С of А1298С polymorphism atherothrombotic ischemic stroke occurs 2,3 more frequently than that in the main allele carriers (P = 0,027; OR = 2,309).

It was found that the influence of genetic factors on the development of cerebrovascular disease has sexual features. Males with genotype С/Т polymorphism of С677Т МТНFR gene is 2,3 times more resistant to atherothrombotic ischemic stroke than in patients with genotype С/С (P = 0,010; OR = 0,433). Men-minor allele homozygotes (С/С) at the risk of А1298С polymorphism atherothrombotic ischemic stroke is 3,5 times higher than that of genotype А/А (P = 0,016; OR = 3,474).

The relationship between studied polymorphisms with some risk factors АТИС: body mass index (BMI), hypertension, smoking. It was revealed that homozygotes for the minor allele (polymorphism А1298С) with a BMI  $\geq$  25 kg/m<sup>2</sup>

are 3,2 times more prone to atherothrombotic ischemic stroke I than homozygotes for the main allele ( $P = 0,013$ ;  $OR = 3,195$ ). In individuals with normal blood pressure - the carriers of T/T genotype in hypertensive patients with genotype C/C for C677T polymorphic variant of the gene MTHFR, as well as in the heterozygote A/C with hypertension (A1298C polymorphism) ischemic atherothrombotic stroke occurs more frequently ( $P = 0,039$ ;  $P = 0,010$  and  $P = 0,025$  respectively). The risk of atherothrombotic ischemic stroke is greater in the group with genotype T/T polymorphism C677T who do not smoke ( $P = 0,029$ ).

The effect of the C677T and A1298C polymorphisms of MTHFR gene on the characteristics of atherothrombotic ischemic stroke is established. At the main allele homozygotes for the C/C (C677T polymorphism) with normal body weight often defeat exposed vertebral and basilar artery ( $P = 0,026$ ). In patients with genotype C/C for C677T polymorphic variant with normal blood pressure develops mild disease ( $P = 0,021$ ). Homozygotes C/C A1298C polymorphism of males are more prone to recurrent stroke ( $P = 0,041$ ).

Keywords: methylenetetrahydrofolate reductase gene, single nucleotide polymorphisms of genes, atherothrombotic ischemic stroke.

### **СПИСОК СКОРОЧЕНЬ:**

АТ – артеріальний тиск;

ІАТІ – ішемічний атеротромботичний інсульт;

ІМТ – індекс маси тіла;

ЛПДНЩ – ліпопротеїни дуже низької щільності;

ЛПНЩ – ліпопротеїни низької щільності;

MTHFR – methylenetetrahydrofolate-reductase;

SNP – single nucleotide polymorphism.