

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДЗ «ЛУГАНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»

Гарбузова Вікторія Юріївна

УДК 616.13–004.6:547.96 (043.3)

**РОЛЬ СИСТЕМИ МАТРИКСНОГО Gla-ПРОТЕЇНУ В ПАТОГЕНЕЗІ  
СКЛЕРОТИЧНИХ УРАЖЕНЬ АРТЕРІЙ ТА ЇХ УСКЛАДНЕНЬ  
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ Й МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

14.03.04 – патологічна фізіологія

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
доктора біологічних наук

Луганськ – 2013

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Сумському державному університеті МОН України

**Науковий консультант :** доктор медичних наук, професор  
**Атаман Олександр Васильович,**  
Сумський державний університет МОН України,  
завідувач кафедри фізіології і патофізіології з курсом  
медичної біології.

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор  
**Зябліцев Сергій Володимирович,**  
Донецький національний медичний університет  
ім. М. Горького МОЗ України,  
професор кафедри патологічної фізіології

доктор медичних наук, професор  
**Непорада Каріне Степанівна,**  
ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»  
МОЗ України,  
завідувач кафедри медичної, біологічної та  
біоорганічної хімії

доктор медичних наук, професор  
**Файфура Василь Васильович,**  
пенсіонер за віком

Захист відбудеться "30" травня 2013 року об 11 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 29.600.02 при ДЗ «Луганський державний медичний університет» МОЗ України за адресою: 91045, м. Луганськ, кв. 50-річчя Оборони Луганська, 1.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДЗ «Луганський державний медичний університет» МОЗ України (91045, м. Луганськ, кв. 50-річчя Оборони Луганська, 1).

Автореферат розіслано "20" квітня 2013 р.

Вчений секретар спеціалізованої  
вченої ради, канд. мед. наук, доцент

В. М. Шанько

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Проблема походження і механізмів розвитку склеротичних уражень кровоносних судин – основної причини смертельно небезпечних ускладнень: гострого коронарного синдрому (ГКС) та ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАТІ) – посідає одне з перших місць серед наукових проблем як клінічної, так і експериментальної медицини. Причиною цього є велика поширеність та смертність від серцево-судинних недуг у високорозвинених країнах світу загалом і в Україні зокрема.

Хоча за останні кілька десятиріч смертність від артеріосклерозу істотно зменшилася, його ускладнення все ще посідають перше місце серед причин летальності в економічно розвинених країнах світу (Silbernagl S., 2000; Hansson G. K., 2005; Kumar V. et al., 2005). Не є винятком і Україна, де на серцево-судинні недуги, зумовлені артеріосклерозом, припадає понад 60 % усіх смертей (Медико-демографічний атлас України, 2010).

Такий стан проблеми спонукає дослідників проникати все глибше і глибше в патогенетичні механізми склерозування судин, вивчати їх не лише на традиційних – тканинному й клітинному, а й на молекулярному та молекулярно-генетичному рівнях.

Серед чинників, з якими пов'язують розвиток ускладнень артеріосклерозу, важливого значення надають кальцифікації артерій, яка може відбуватися як в інтимі (мінералізація атеросклеротичних бляшок), так і в середньому шарі судинної стінки (склероз Менкеберга) (Abedin M. et al., 2004; Dao H. H. et al., 2005; Johnson R. C. et al., 2006; Guzman R. J., 2007; Atkinson J., 2008). Відкладання солей кальцію в структурах артерій, на думку багатьох авторів, є несприятливим прогностичним фактором, що свідчить про високу ймовірність настання фатальних ускладнень (Lehto S., 1996; Lanzer P., 1998; Wayhs R., 2002).

З огляду на це зусилля багатьох учених спрямовані сьогодні на розкриття механізмів, що лежать в основі ектопічної мінералізації взагалі і кальцифікації кровоносних судин зокрема. Великий прогрес у розумінні цих механізмів досягнуто завдяки відкриттю природних чинників, що запобігають відкладанню солей кальцію в м'які тканини у фізіологічних умовах і при патології. Однією з центральних ланок у захисті судин від ектопічної кальцифікації виявився білок – матриксний Gla-протеїн (MGP), наявність якого в тканинах перешкоджає як ініціюванню патологічного обвапнення, так і його поширенню (Proudfoot D. et al., 2006; Weissen-Plenz G. et al., 2008; Shao J. S. et al., 2010).

Неспростовні докази того, що відкритий наприкінці 80-х років минулого сторіччя MGP є потужним антикальциногенним чинником, добуто за допомогою новітньої методики генетичного нокауту. Так, було встановлено, що у мишей, позбавлених гена MGP (MGP  $-/-$  миші), закономірно розвивається медіакальциноз, який, як правило, завершується аневризмою аорти, розрив якої призводить до смерті тварин (Luo G. et al., 1997).

У великій кількості праць удалося з'ясувати фактори, причетні до регуляції експресії гена MGP, і виявити можливі механізми, через які реалізують себе антикальциногенні властивості відповідного білка. Це дало підстави вести мову про функціональну систему MGP, до якої можуть бути зараховані, крім самого протеїну, такі чинники, як рецептор вітаміну D (VDR), ферменти, що беруть участь у

біохімічних перетвореннях MGP, вітамін К-оксидоредуктаза (VKOR) і  $\gamma$ -глутамілкарбоксилаза (GGCX), а також можливі мішені для MGP, зокрема кістковий морфогенетичний протеїн (BMP-2).

Ефективна діяльність цієї системи може залежати від багатьох факторів, серед яких поліморфізм генів, що кодують структуру відповідних білків. Останнім часом цей аспект проблеми привертає все більшу і більшу увагу, про що свідчить значна кількість праць, присвячених зв'язкам молекулярно-генетичних чинників із розвитком патологічних процесів та хвороб у людини. Проте комплексні дослідження, у яких би вивчалася роль генетичного поліморфізму MGP і пов'язаних із ним протеїнів у розвитку серцево-судинних недуг, до цього часу не проводилися.

Крім того, важливим, на наш погляд, було з'ясувати, яким чином пригнічення функціонування MGP впливає на стан судинної стінки в умовах дії на неї патогенних факторів, що індукують кальцифікацію артерій і зумовлюють розвиток артеріосклерозу Менкеберга. На розв'язання цієї проблеми були спрямовані проведені нами експериментальні дослідження, у яких "вимкнення" функціональної активності MGP досягалося введенням варфарину, що специфічно пригнічує процеси карбоксилювання MGP і в такий спосіб робить його нездатним підтримувати сталість мінерального складу м'яких тканин.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертацію виконано відповідно до плану наукових досліджень Сумського державного університету МОН України. Вона є самостійним фрагментом у рамках наукового напрямку університету "Вивчення стану здоров'я дитячого та дорослого населення Сумської області в умовах впливу несприятливих соціальних, економічних та екологічних чинників" та науково-дослідних тем "Роль алельного поліморфізму генів у розвитку патологічних процесів і хвороб", № держреєстрації 0110U005038, і "Визначення ролі поліморфізму поодиноких нуклеотидів гена MGP у розвитку склеротичних уражень кровоносних судин", № держреєстрації 0111U002154.

**Мета і завдання дослідження.** Мета дослідження полягала в з'ясуванні ролі системи MGP у розвитку склеротичних уражень артерій та їх ускладнень.

Відповідно до мети в роботі поставлено такі завдання:

1. З'ясувати вплив функціонального стану MGP на розвиток структурних змін в артеріальних судинах шурів в умовах відтворення гострої D-вітамінної інтоксикації.

2. Дослідити показники мінерального обміну в сироватці крові і в тканинах аорти, активність про- і антикальциногенних ферментів у судинній стінці тварин із D-вітамінною інтоксикацією на тлі пригнічення залежного від вітаміну К  $\gamma$ -карбоксилювання MGP за допомогою варфарину і при введенні бісфосфонатів, що чинять ангіопротекторну дію.

3. Визначити вплив високих доз вітаміну D на інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення в артеріях тварин в умовах порушення функціональної активності MGP варфарином і при введенні бісфосфонатів.

4. Вивчити зв'язок алельного поліморфізму генів MGP, VDR, VKORC1, GGCX і BMP-2 з розвитком ГКС в осіб жіночої і чоловічої статей з різними факторами ризику склеротичних уражень артерій.

5. Провести дослідження асоціації генів системи MGP (MGP, VDR, VKORC1, GGCX і BMP-2) з ІАТІ у пацієнтів із різними факторами ризику атеросклерозу.

6. Вивчити зв'язок поліморфізму досліджуваних генів системи MGP з порушеннями ліпопротеїнового обміну у хворих із кардіо- і цереброваскулярною патологією.

7. Визначити вплив одонуклеотидного поліморфізму генів системи MGP на порушення коагуляції крові як патогенетичного механізму тромботичних ускладнень атеро- й артеріосклерозу.

8. Проаналізувати значення генетичного поліморфізму системи MGP як чинника спадкової схильності до склеротичних уражень артеріальних судин та їх ускладнень в українській популяції.

*Об'єкт дослідження* – патогенез склеротичних уражень артерій та їх ускладнень.

*Предмет дослідження* – участь системи MGP у розвитку кальцифікації кровоносних судин, гострого коронарного синдрому та ішемічного атеротромботичного інсульту.

#### **Методи дослідження.**

1. Патолофізіологічний експеримент – моделювання уражень кровоносних судин із використанням високих доз вітаміну D та з пригніченням функціональної активності MGP за допомогою варфарину.

2. Гістологічні методи вивчення патологічних змін у тканинах кровоносних судин.

3. Біохімічні методи визначення показників пероксидного окиснення ліпідів, активності про- та антикальциногенних ферментів у тканинах артерій, а також показників фосфорно-кальцієвого обміну у сироватці крові і судинній стінці експериментальних тварин.

4. Молекулярно-генетичні методи вивчення одонуклеотидного поліморфізму генів.

5. Статистичні методи обробки цифрових даних і аналізу одержаних результатів.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Одержано нові дані про те, що пригнічення процесів відновлення вітаміну K варфарином спричиняє розвиток вираженої кальцифікації аорти щурів уже через 96 год від початку введення тваринам токсичних доз вітаміну D. Сама по собі гостра інтоксикація вітаміном D ще не призводить у ці строки до появи гістологічних ознак значного обвапнення. Застосування бісфосфонатів (ЕГДК) істотно не впливає на частоту і вираженість кальцинозу аорти, що розвивається внаслідок поєднаного введення щурам вітаміну D і варфарину.

Уперше показано, що при поєднаній дії високих доз вітаміну D і варфарину збільшується активність лужної фосфатази у судинній стінці експериментальних тварин. Високі дози вітаміну D істотно зменшують екто-АТФазну активність аортальної стінки. На це зменшення не впливають ні варфарин, ні ЕГДК. Збільшення активності лужної фосфатази з одночасним зменшенням екто-АТФазної активності судинної стінки свідчить про порушення балансу між прокальциногенними й антикальциногенними ферментами, внаслідок чого створюються умови, що сприяють процесу кальцифікації у тварин з D-вітамінною

інтоксикацією. Стан функціональної активності MGP і бісфосфонати не впливають на активацію ПОЛ, зумовлену високими дозами вітаміну D.

Уперше вивчено зв'язок поліморфізму генів MGP, VDR, VKORC1, GGCX і BMP-2 з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту. Встановлено, що ризик розвитку ІАТІ у гомозигот за мінорним алелем А/А (G-7A поліморфізм гена MGP) у 2,6 раза вищий, ніж у носіїв основного алеля - G/G і G/A, а у гомозиготних носіїв мінорного алеля С/С (T2255C поліморфізм гена VKORC1) у 2,2 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем.

Уперше досліджено асоціацію поліморфізмів генів MGP, VDR, VKORC1, GGCX і BMP-2 з ГКС в українській популяції. Показано, що ризик розвитку ГКС у гомозигот за мінорним алелем А/А (G-7A поліморфізм гена MGP) у 2,8 раза вищий, ніж у носіїв основного алеля – G/G і G/A, а у гомозигот за мінорними алелями В/В (BsmI поліморфізм гена VDR) – у 2,1; Gln/Gln (Arg325Gln поліморфізм гена GGCX) і С/С (T2255C поліморфізм гена VKORC1) у 2 рази вищий, ніж у гомозиготних носіїв основних алелів – b/b, Arg/Arg, T/T. З використанням методів математичного моделювання створена двокомпонентна класифікаційна модель, яка включає поліморфізми G-7A і Thr83Ala гена MGP і дозволяє прогнозувати ризик ГКС із прогностичною здатністю більше 60 %. Установлено, що збіг у пацієнта однакових варіантів генотипів за зазначеними поліморфізмами асоціюється з високим ризиком розвитку ГКС: у гетерозигот цей ризик підвищується у 2,1, а в гомозигот за мінорним алелем – у 6,3 раза. Фенотипова ентропія взаємодії G-7A і Thr83Ala локусів становить 8 %, що підтверджує виражений синергічний ефект обох SNP.

Уперше проаналізовано зв'язок поліморфізмів генів системи MGP із порушеннями ліпідного обміну і гіперкоагуляцією крові (ГКК) у пацієнтів із ГКС та ІАТІ. У хворих із ГКС, які мають генотипи Т/С (T-138C поліморфізм гена MGP) і а/а (ApaI поліморфізм гена VDR), а також у пацієнтів з ІАТІ, які є носіями генотипів С/С, Т/С (T-138C поліморфізм гена MGP) і Ala/Ala (Thr83Ala поліморфізм гена MGP), виявлені порушення ліпідного спектра плазми крові, що свідчать про більшу схильність як до розвитку атеросклерозу, так і до його ускладнень. У хворих з ішемічним інсультом із гаплотипом bAT (поліморфізми BsmI, ApaI, TaqI гена VDR) прояви порушень ліпідного профілю крові виникають у 3,8 раза рідше, ніж у представників інших гаплотипів, що свідчить про протективне значення поєднання даних алелів щодо ускладнення ІАТІ дисліпопротеїнемією. Ризик розвитку синдрому гіперкоагуляції крові у хворих з ІАТІ у 2,7 раза вищий у пацієнтів із генотипом А/А за поліморфізмом ApaI гена VDR, ніж у гомозигот за основним алелем. ГКК достовірно частіше виникає у носіїв А/А генотипу за поліморфізмом G-7A гена MGP, ніж у носіїв G/G і G/A генотипів.

**Практичне значення одержаних результатів.** Дисертаційна робота є фундаментальним дослідженням. Одержані результати розширюють і поглиблюють наукові уявлення про роль системи MGP у патогенезі склеротичних уражень артеріальних судин та їх ускладнень.

Відтворення експериментальних моделей артеріосклерозу із застосуванням варфарину та бісфосфонатів може застосовуватися для поглибленого вивчення патогенетичних механізмів артеріосклерозу та природних чинників, що йому запобігають.

Дані про асоціацію поліморфізмів генів системи MGP з ураженнями артерій можуть бути використані для прогнозування ймовірності розвитку гострого коронарного синдрому та ішемічного атеротромботичного інсульту у пацієнтів із факторами ризику атеросклерозу. Виявлення осіб із генетичною схильністю до кардіо- і цереброваскулярної патології сприятиме своєчасній профілактиці фатальних наслідків артеріосклерозу, а отже, буде мати значний соціальний та економічний ефекти.

Одержані в роботі результати можуть бути використані при розробці нових підходів і способів запобігання, прогнозування і патогенетичного лікування склеротичних уражень судин та боротьби з їх наслідками.

Результати наукових досліджень, викладених у дисертації, впроваджено у науково-дослідну роботу і навчальний процес на кафедрах патофізіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, Донецького національного медичного університету ім. М. Горького, Івано-Франківського національного медичного університету, Кримського державного медичного університету ім. С. І. Георгієвського, 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.** Матеріали проведених досліджень, подані в дисертаційній роботі, є особистим внеском автора у розв'язання проблеми, що вивчається. Автором самостійно розроблено й обґрунтовано план досліджень та їх методичне забезпечення, проведено патентно-інформаційний пошук, проаналізовано літературу з теми дисертації, визначено мету і завдання роботи, виконано експериментальні й молекулярно-генетичні дослідження, статистичну обробку, аналіз та узагальнення одержаних результатів, сформульовано основні положення і висновки, написано всі розділи дисертації.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертації повідомлено й обговорено на V Національному конгресі патофізіологів України «Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів» (м. Запоріжжя, 17–19 вересня 2008 р.), VI Національному конгресі патофізіологів України «Від експериментальних досліджень до клінічної патофізіології» (м. Ялта, 3–5 жовтня 2012 р.), Всеросійській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Медико-біологічні аспекти мультифакторіальної патології» (м. Курськ, 17–19 травня 2011 р.), 4th International IMBG conference for young scientists, «Molecular biology: advanced and perspectives» (Kyiv, September 14–17, 2011), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Нейроендокринні та імунні процеси в нормі та патології: від теорії до практики» (м. Запоріжжя, 27–28 вересня 2011 р.), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Проблеми спадкової та мультифакторної патології» (м. Київ, 3–4 квітня 2012 р.), IV науково-практичній конференції, присвяченій 80-річчю з дня народження проф. О. О. Маркової, (м. Тернопіль, 10–11 листопада 2011 р.), науковій конференції "VII читання ім. В. В. Підвисоцького" (Одеса, 22–23 травня 2008 р.), науково-практичній конференції, присвяченій 11-м читанням ім. В. В. Підвисоцького (м. Одеса, 24–25 травня 2012 р.), науково-практичних конференціях студентів, молодих

вчених, лікарів та викладачів «Актуальні питання теоретичної медицини» (м. Суми, 2010, 2011, 2012 рр.).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 44 наукові роботи, з них 31 стаття (6 – за кордоном, 5 – у журналах, що цитуються у наукометричних базах, решта – у фахових виданнях, що входять до переліку ВАК України), 13 тез доповідей у матеріалах конференцій. Чотири наукові роботи опубліковано за одноосібної участі автора.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертацію викладено на 432 сторінках (основний обсяг становить 269 сторінок). Вона має такі розділи: вступ, огляд літератури, матеріали і методи дослідження, результати власних досліджень та їх обговорення (п'ять підрозділів), аналіз та узагальнення результатів, висновки, додатки. Список літератури містить 432 джерела (37 – кирилицею, 395 – латиницею). Роботу ілюстровано 99 таблицями та 61 рисунком, які займають 36 повних сторінок, і 155 додатками.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

*Експериментальні дослідження.* Досліди виконано на 84 статевозрілих щурах обох статей лінії Вістар, маса яких становила 200–250 г. Методичну основу проведених досліджень становив патофізіологічний експеримент, метою якого було моделювання гострої D-вітамінної інтоксикації із застосуванням додаткових чинників, які могли впливати на розвиток судинних уражень, зумовлених високими дозами вітаміну D.

Вітамін D<sub>3</sub> у формі олійного розчину холекальциферолу вводили тваринам у шлунок через зонд з розрахунку 300000 МО/кг щодоби протягом 4 днів. Використана в роботі доза препарату викликає гостру інтоксикацію у щурів, але не спричиняється до смерті тварин протягом перших 10 днів від початку введення вітаміну (Price P.A., Faus S.A., 2000).

Варфарин – препарат, що специфічно інгібує VKOR, а отже, унеможливорює карбоксилювання молекул MGP, – вводили підшкірно через кожні 12 год з розрахунку 150 мг/кг. Для запобігання кровотеч і пов'язаної з ними загибелі тварин через 24 і 48 год після першої ін'єкції варфарину вводили вітамін K<sub>1</sub> (філлоквінон) з розрахунку 15 мг/кг (Price P.A., Faus S.A., 2000).

Натрієву сіль етан-1-гідрокси-1,1-дифосфонової кислоти (ЕГДК) у дозі 150 мг/кг вводили у шлунок через зонд за 1 год до введення вітаміну D.

Для проведення патофізіологічного аналізу було сформовано 7 експериментальних груп:

Група I. Контроль. Тваринам цієї групи вводили у шлунок через зонд і підшкірно розчинники відповідних препаратів у відповідних об'ємах.

Група II. Вітамін D (300 000 МО/кг) – 4 введення через кожні 24 год.

Група III. Варфарин (150 мг/кг) – 8 введень через кожні 12 год.

Група IV. Поєднане введення вітаміну D і варфарину у наведених вище кількостях.

Група V. ЕГДК (150 мг/кг) – 4 введення через кожні 24 год.

Група VI. Поєднане введення вітаміну D і ЕГДК у наведених вище кількостях.

Група VII. Поєднане введення вітаміну D, варфарину і ЕГДК.



Через 24 години після останнього введення препаратів щурів забивали шляхом декапітації й одразу проводили забір матеріалу для досліджень. Об'єктами вивчення були: сироватка крові та аорта. Кров після забою тварин збирали у стерильну пробірку та отримували сироватку шляхом центрифугування при 3000 об/хв упродовж 10 хв. Залежно від цілей досліду отримували гомогенат, подрібнюючи аорту в рідкому азоті, готували поздовжні смужки судини або спалювали її в муфельній печі.

Ліпіди з тканин кровоносних судин виділяли за Foch J. і співавт. (1957). Накопичення гідропероксидів (ГПЛ) у полієнових ліпідах оцінювали за характерним для дієнових кон'югатів УФ-спектром поглинання розчину ліпідів у метанол-гексані (5:1). Коефіцієнт молярної екстинції при максимальній довжині хвилі 232 нм брали таким, що дорівнює  $2,1 \cdot 10^4$  моль<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup> (Барабой В. А. и соавт., 1991). Вміст шиффових основ (ШО) визначали спектрофотометрично (максимум збудження флюоресценції – 360 нм, максимум випромінювання – 420–440 нм) (Колесова О.Е., 1984).

Вивчення екто-АТФазної активності проводили на препаратах ізольованих стрічок артерій в умовах інкубації упродовж 15 хв при 37 °С у розчині Кребса із додаванням АТФ із розрахунку концентрації його в розчині 0,02 моль/л. Активність екто-АТФази оцінювали за приростом концентрації неорганічного фосфату, вміст якого в розчині вимірювали за утворенням молібденової сині за наявності молібдату амонію і аскорбінової кислоти (DuBois K. P., Potter V. R., 1943). Активність лужної фосфатази в препаратах аорти вивчали в умовах їх інкубації в гліциновому буфері впродовж 30 хв при 37 °С з додаванням як субстрату реакції р-нітрофенілфосфату. Оцінку активності ферменту проводили за кількістю утвореного за одиницю часу р-нітрофенолу, вміст якого в розчині визначали фотометрично за оптичною густиною зразка при 405 нм (Bessey O. A., 1946).

Концентрацію загального кальцію у сироватці крові визначали за допомогою набору реагентів "Кальцій-Ново" фірми "Вектор-Бест" (Росія) колориметричним методом, що ґрунтується на утворенні забарвлених комплексів кальцію з металохромогенним арсеназо III. Аналіз вмісту кальцію у тканинах аорти проводили на спектрофотометрі С-115-М-1 в атомно-абсорбційному режимі при довжині хвилі 422,2 нм. Вміст неорганічного фосфору в сироватці крові та в гомогенатах судин оцінювали фотометрично за утворенням молібденової сині за наявності молібдату амонію і відновлювача – аскорбінової кислоти (DuBois K. P., Potter V. R., 1943).

Вивчення патоморфологічних змін кровоносних судин проводили за загальноприйнятими гістологічними методиками: після проведення через спирти і заливання в парафін із парафінових блоків готували серійні зрізи завтовшки 7–10 мкм, які фарбували гематоксилін-еозином, а для виявлення солей кальцію – алізарином червоним і за методикою фон Косса.

*Молекулярно-генетичні дослідження.* Для генотипування було використано кров 118 хворих на ГКС, 170 – ІАТІ і 234 практично здорових осіб. Венозну кров набирали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,7 мл із калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти (11,7 мМ) як антикоагулянт ("Sarstedt", Німеччина), заморожували та зберігали при температурі –20 °С. ДНК виділяли з цільної крові з використанням наборів DIAtom DNA Prep 200 («Isogene», Росія).

У роботі було вивчено 10 поліморфізмів: промотору гена MGP T-138C, стартової точки гена MGP G-7A, 4-го екзону гена MGP Thr83Ala, 2-го екзону гена VDR FokI, 8-го інтрону гена VDR BsmI і ApaI, 9-го екзону гена VDR TaqI, 8-го екзону гена GGCX Arg325Gln, 2-го інтрону гена VKORC1 T2255C, 2-го екзону гена BMP-2 Ser37Ala.

Алельний поліморфізм вивчали методом полімеразної ланцюгової реакції з подальшим аналізом довжини рестрикційних фрагментів (PCR-RFLP) (табл. 1). 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).

Таблиця 1

### Умови проведення PCR і рестрикційного аналізу

Ген	Поліморфізм	Структура праймерів	Рестриктаза	Фрагменти рестрикції
MGP	T-138C rs 1800802	П: 5`-AAGCATACGATGGCCAAACTTCTGCA-3` 3: 5`-GAACTAGCATTTGGAACCTTTCCCAACC-3`	<i>BseNI</i>	142, 118, 24
	G-7A rs 1800801	П: 5`-CTAGTTCAGTGCCAACCCTTCCCCACC-3` 3: 5`-TAGCAGCAGTAGGGAGAGAGGCTCCCA-3`	<i>NcoI</i>	500, 240,260
	Thr83Ala rs 4236	П: 5`-TCAATAGGGAAGCCTGTGATG-3` 3: 5`-AGGGGG ATACAAAATCAGGTG-3`	<i>Eco47I</i>	173, 127, 46
VDR	FokI rs 2228570	П: 5`-AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTG-3` 3: 5`-ATGGAAACACCTTGCTTCTTCTCCCTC-3`	<i>FokI</i>	267, 204, 63
	BsmI rs 1544410	П: 5`-AGGGAGACGTAGCAAAAGGAG-3` 3: 5`-TGCCCCAAGGTCACAATAAC-3`	<i>BsmI</i>	425, 232, 193
	ApaI rs 7975232	П: 5`-CAGAGCATGGACAGGGAGCAA-3` 3: 5`-CACTTCGAGCACAAGGGGCGTTAGC-3`	<i>ApaI</i>	501, 284, 217
	TaqI rs 731236	П: 5`-CAGAGCATGGACAGGGAGCAA-3` 3: 5`-CACTTCGAGCACAAGGGGCGTTAGC-3`	<i>TaqI</i>	501, 294, 207
GGCX	Arg325Gln rs 699664	П: 5`-GGAGAAGTCTCCTAAGGGAACG-3` 3: 5`-AGTC CAGCCTTTGCTGTACACT -3`	<i>XmnI</i>	384, 216, 168
VKORC1	T2255C rs 2359612	П: 5'-GAACAGAGAGAGGAACCAAGGGAGTGGA-3' 3: 5'-TCTGAACCATGTGTTCAGCCAGGACC-3'	<i>NcoI</i>	198, 172, 26
BMP-2	Ser37Ala rs 2273073	П: 5'-CTCACGTCGGTCCTGTG C-3' 3: 5'-CCCTGCTCCATGCCTCAC-3'	<i>Hpy99I</i>	393, 253, 140

*Статистичні методи дослідження.* Статистичний аналіз виконували з використанням програми SPSS-17. Перед перевіркою статистичних гіпотез відповідно до вимог ГОСТ 11.006-74 проводили аналіз нормальності розподілу величин у вибірках шляхом визначення коефіцієнтів асиметрії та ексцесу за допомогою критеріїв Уїлкі-Хана-Шапіро та Ліллієфорса за алгоритмами, що реалізовані у програмі SPSS-17. Визначення достовірності відмінностей між двома вибірками проводили за допомогою критерію Стюдента (t). Відмінність вважали

достовірною, якщо вірогідність випадкової різниці не перевищувала 0,05 ( $p < 0,05$ ). Для оцінки відмінностей у середніх тенденціях та незалежних вибірках використовували непараметричні критерії, а саме: критерій Вілконсона–Манна–Уїтні (критерій U) та точний метод Фішера для чотирипольної таблиці (ТМФ). Використання непараметричних критеріїв дозволило з'ясувати істотні відмінності в тих випадках, коли критерій t їх не виявляв (Урбах В. Ю., 1975; Зайцев В. М., 2006). Для дослідження значущості відмінностей між середніми значеннями декількох груп даних (групи з різними генотипами) використовували однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA – analysis of variance) із критерієм Фішера (Кобзарь А. И., 2006). Перевірку різниці розподілу генотипів здійснювали за допомогою  $\chi^2$ -критерію Пірсона. Значення  $p < 0,05$  вважали статистично значимими.

З метою прогнозування ризику виникнення певної події (ГКС, ІАТІ та ін.) використовували метод логістичної регресії. Вибір головних предикторів розвитку ускладнень атеросклеротичного процесу серед вивчених поліморфізмів здійснювали методом “Random Forest” (Breiman L., 2001; Strobl C., 2008). І нарешті для виявлення та характеристики міжгенних взаємодій використовували метод MDR (multifactor dimensionality reduction) (Alison A. M., Marylyn D., 2006).

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

**Вплив MGP на розвиток кальцифікації кровоносних судин, зумовленої D-вітамінною інтоксикацією.** Уведення щурам вітаміну D зумовлювало появу початкових ознак мінералізації у вигляді поодиноких преципітатів вапна у 4 із 6 дослідних тварин (табл. 2).

Таблиця 2

### Наявність ознак кальцифікації аортальної стінки у щурів за різних умов експерименту

№	Характер впливу	-	+	++	+++	++++
I	Контроль	6	0	0	0	0
II	Вітамін D	2	4	0	0	0
III	Варфарин	6	0	0	0	0
IV	Вітамін D + варфарин	0	0	2	4	0
V	ЕГДК	6	0	0	0	0
VI	Вітамін D + ЕГДК	5	1	0	0	0
VII	Вітамін D + варфарин + ЕГДК	0	1	3	2	0

Примітка: "-" – відсутність кальцинозу, "+" – поодинокі відкладання вапна у вигляді дрібних преципітатів, "++" – дрібні осередки кальцинозу, "+++ – великі осередки кальцинозу у вигляді безструктурних ізольованих конгломератів, "++++" – суцільний кальциноз медії; n = 6 у кожній групі

При поєднаному введенні вітаміну D з ангіопротектором ЕГДК описану вище картину спостерігали лише в 1 з 6 щурів. Разюче відмінна картина була характерна для тварин, які отримували одночасно вітамін D і варфарин, що "вилучає" MGP з активного функціонування в тканинах. Так, у всіх шести тварин цієї

експериментальної групи аорта мала ознаки вираженого кальцинозу – від дрібних до великих осередків обвапнення.

Додавання ЕГДК до комбінації "вітамін D + варфарин" істотно не змінювало картину: у всіх 6-ти тварин цієї експериментальної групи виявляли кальцифікацію аорти, щоправда, дещо менш виражену. Необхідно зазначити, що введення щурам одного лише варфарину не викликало структурних змін в аортальній стінці, що пояснюється короткою тривалістю експерименту. За даними Price P. A. (2000), перші ознаки обвапнення судин виявляються не раніше ніж через 2 тижні від початку систематичного введення тваринам препарату.

Серед механізмів токсичної дії вітаміну D важливе значення мають гіперкальціємія і гіперфосфатемія (Joy M. S. et al., 2007; Ketteler M., 2008). Уведення щурам токсичних доз вітаміну D супроводжувалося зростанням у сироватці крові концентрації кальцію на 37 % і фосфору на 24 %. Варфарин не впливав на ці показники у D-гіпервітамінозних тварин, проте ЕГДК істотно їх зменшувала, якщо порівнювати із "чистою" D-вітамінною інтоксикацією. Таке зменшення для кальцію виявляло себе як у групі "вітамін D + ЕГДК" (на 11 %,  $P = 0,004$ ), так і при поєднаному введенні вітаміну D, варфарину і ЕГДК (на 10 %,  $P = 0,01$ ). Однак необхідно зазначити, що повної нормалізації вмісту кальцію при цьому не наставало: він залишався істотно вищим, ніж у "чистому" контролі ( $P < 0,001$ ). І, нарешті, привертає до себе увагу той факт, що концентрація кальцію у сироватці крові тварин групи "вітамін D + варфарин + ЕГДК" була істотно меншою, якщо порівнювати з групою "вітамін D + варфарин" (рис. 1). Це свідчить про здатність бісфосфонатів зменшувати до певної міри гіперкальціємічний ефект токсичних доз вітаміну D, незважаючи на стан системи MGR.

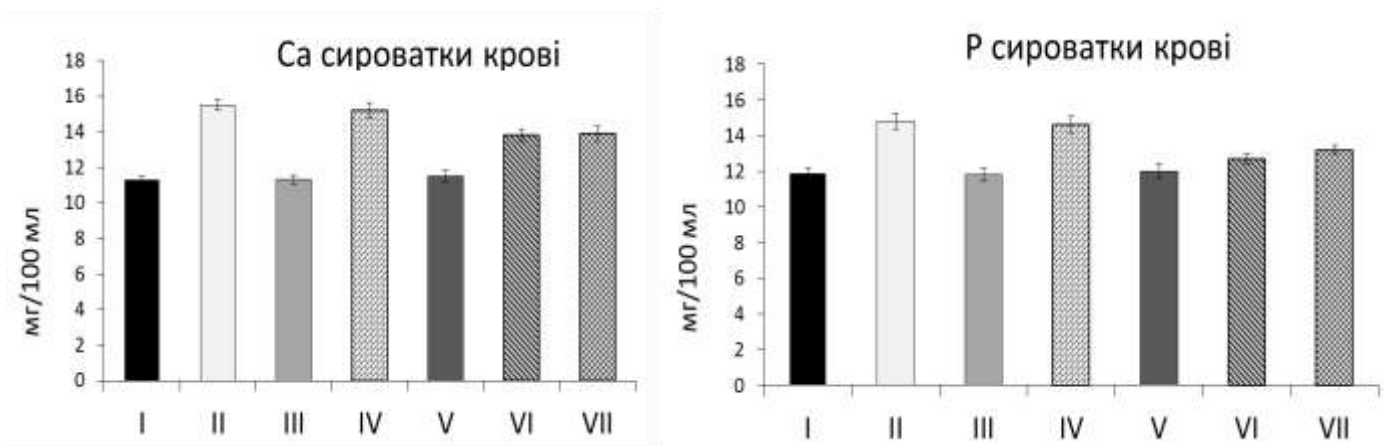


Рис. 1 Вміст кальцію і неорганічного фосфору у сироватці крові щурів в умовах гострої D-вітамінної інтоксикації та додаткових впливів (I – контроль; II – вітамін D; III – варфарин; IV – вітамін D + варфарин; V – ЕГДК; VI – вітамін D + ЕГДК; VII – вітамін D + варфарин + ЕГДК)

Що стосується концентрації неорганічного фосфору у сироватці крові, то під впливом ЕГДК цей показник також істотно зменшувався, якщо порівнювати зі станом "чистої" D-вітамінної інтоксикації, як у групі "вітамін D + ЕГДК" ( $P = 0,003$ ), так і при поєднаному введенні вітаміну D, варфарину і ЕГДК ( $P = 0,014$ ). При цьому

повна нормалізація рівня  $P_i$  відбувалася лише у першій із названих вище груп ( $P = 0,072$  при порівнянні з контролем), а в другій – він залишався вищим за контрольні рівні ( $P = 0,010$ ) (рис. 1).

Першими ознаками порушення мінерального обміну в периферичних тканинах є збільшення в них вмісту кальцію і неорганічного фосфату до рівнів, що викликають утворення і відкладання солей на клітинних та позаклітинних структурах і започатковують у такий спосіб ектопічну кальцифікацію (Wallin R. et al., 2001; Giachelli C. M., 2004). Зростання концентрації цих мінеральних компонентів у тканинах передуює у часі появи виражених структурних змін, а отже, може вважатися більш ранньою ознакою процесів обвапнення.

Гостра D-вітамінна інтоксикація супроводжується значним зростанням вмісту кальцію і фосфатів у тканинах аорти. Так, рівень кальцію тут збільшувався втричі ( $0,92 \pm 0,07$  проти  $0,32 \pm 0,05$  ммоль/г сухої тканини,  $P < 0,001$ ), а неорганічного фосфору – більш ніж у 2 рази ( $3,5 \pm 0,21$  проти  $1,6$  ммоль/г вологої тканини,  $P < 0,001$ ). Варфарин (група III) і ЕГДК (група V) ніяк не впливали на ці показники. Проте при додатковому введенні варфарину тваринам із D-вітамінною інтоксикацією (група IV) у судинній стінці відзначали стрімке зростання вмісту кальцію (у 34 рази) і фосфатів (у 30 разів), якщо порівнювати з "чистим" контролем (група I) (рис. 2).

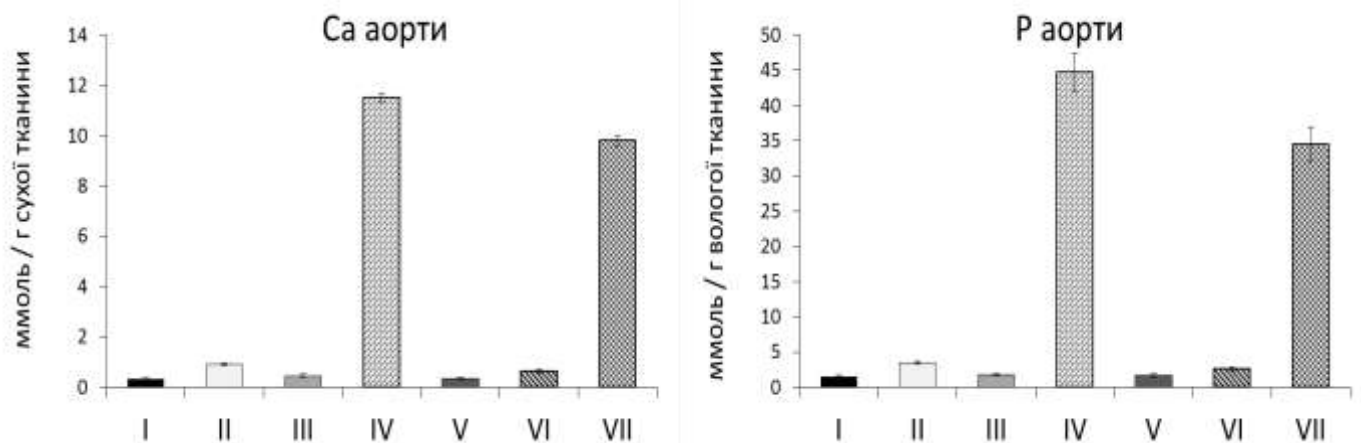


Рис. 2 Вміст кальцію і неорганічного фосфору в тканинах аорти щурів в умовах гострої D-вітамінної інтоксикації та додаткових впливів (I – контроль; II – вітамін D; III – варфарин; IV – вітамін D + варфарин; V – ЕГДК; VI – вітамін D + ЕГДК; VII – вітамін D + варфарин + ЕГДК)

Відповідно при порівнянні цих величин із показниками "чистих" D-гіпервітамінозних тварин (група II) таке зростання становило 12,5 рази – для Ca і 13 разів – для  $P_i$  ( $P < 0,001$ ). ЕГДК на відміну від варфарину, навпаки, до певної міри запобігала кальцифікації аортальної стінки у D-гіпервітамінозних тварин. Так, у щурів, що отримували разом із вітаміном D ЕГДК (група VI), рівень кальцію і фосфатів у судинах зменшувався відповідно на 31,6 ( $P = 0,018$ ) і 25,8 % ( $P = 0,012$ ). Проте повної нормалізації не наставало і зазначені показники залишалися вищими за контрольні (Ca – на 85 %,  $P = 0,010$ ;  $P_i$  – на 62,5 %,  $P = 0,003$ ). І нарешті, при

поєднаному введенні тваринам вітаміну D, варфарину та ЕГДК (група VII) було встановлено, що рівень кальцію і неорганічного фосфору в аортальній стінці зменшувався, якщо порівнювати з тваринами IV групи (вітамін D + варфарин), але залишався набагато вищим порівняно з групами VI (вітамін D + ЕГДК) і II (вітамін D).

Таким чином, досить потужний ангіопротектор, яким є ЕГДК, не може "перекрити" дію варфарину, спрямовану на вилучення MGP із механізмів активного захисту тканин від ектопічної мінералізації.

Відомо, що у нормі концентрація іонів  $\text{Ca}^{2+}$  та фосфатів у позаклітинній рідині є вищою за ту, при якій починає відбуватись осадження фосфатних солей у розчині. Таке осадження у м'яких тканинах не відбувається лише тому, що існує система природних інгібіторів кальцифікації – антикальциногенні фактори, до яких належать досліджуваний нами MGP і неорганічний пірофосфат ( $\text{PP}_i$ ) (Towler D. A., 2005).  $\text{PP}_i$  з одного боку, інгібує утворення і ріст кристалів гідроксіапатиту (завдяки своїм фізично-хімічним властивостям), а з іншого – слугує субстратом для тканинної лужної фосфатази – ферменту, який, гідролізуючи його, створює довкола високу концентрацію неорганічного фосфату і переводить таким чином інгібітор кальцифікації у прокальциногенний чинник. Провідним шляхом генерування  $\text{PP}_i$  у тканинах кровоносних судин є реакції, що здійснюються ектоферментами (ектонуклеотидазами), здатними розщеплювати позаклітинні нуклеозидтрифосфати, зокрема АТФ, з утворенням  $\text{PP}_i$ . (Parish S. et al., 1995; Towler D. A., 2005). З огляду на це ми обрали для вивчення ролі про- та антикальциногенних ферментів у розвитку кальцифікації судин два ензими – лужну фосфатазу й екто-АТФазу, від активності яких залежать головним чином концентрація  $\text{PP}_i$  у тканинах судин і його антикальциногенні властивості.

Активність лужної фосфатази артеріальної стінки істотно зростала через 96 год від початку введення високих доз вітаміну D. Таке зростання становило майже 21 %, якщо порівнювати з контролем ( $P = 0,006$ ). Додавання до вітаміну D варфарину призводило до подальшого збільшення цього показника: він був вищим від контролю на 39 ( $P < 0,001$ ) і 14,8 % – порівняно з однією тільки D-вітамінною інтоксикацією ( $P = 0,038$ ). ЕГДК ніяк не впливала на активність лужної фосфатази у D-гіпервітамінозних тварин, проте дещо зменшувала цей показник у тварин, що отримували високі дози вітаміну D і варфарин ( $P = 0,01$ ) (рис. 3).

Протилежну спрямованість змін, якщо порівнювати з лужною фосфатазою, було виявлено під час вивчення екто-АТФазної активності ізольованих поздовжніх смужок аортальних судин у щурів з D-гіпервітамінозом. Так, здатність гідролізувати екзогенний АТФ препаратами аортальної стінки зменшувалася майже вдвічі через 96 год від початку введення тваринам токсичних доз вітаміну D ( $2,3 \pm 0,25$  проти  $4,3 \pm 0,25$  мкмоль  $\text{Pi}/\text{cm}^2 \cdot \text{год}$ ,  $P < 0,001$ ). Ні варфарин, ні ЕГДК не впливали на цей показник у D-гіпервітамінозних тварин, проте в групі VII (вітамін D + варфарин + ЕГДК) він виявився вищим, ніж у групах II (вітамін D) ( $P = 0,021$ ) і IV (вітамін D + варфарин) ( $P = 0,029$ ).

Цікавим, на нашу думку, є той факт, що сам по собі варфарин (група III), на відміну від вітаміну D, підвищував екто-АТФазну активність аортальної стінки. Якщо дотримуватися тієї позиції, що різні антикальциногенні механізми судинної

стілки якимось чином функціонально пов'язані між собою, то таке зростання ектонуклеотидазної активності потрібно розглядати як захисну компенсаторну реакцію, що виникає в умовах вилучення MGP із системи захисту тканин від ектопічної кальцифікації. За цих обставин підвищення активності інших природних антикальциногенних чинників, зокрема ектонуклеотидаз, можна вважати цілком доцільним.

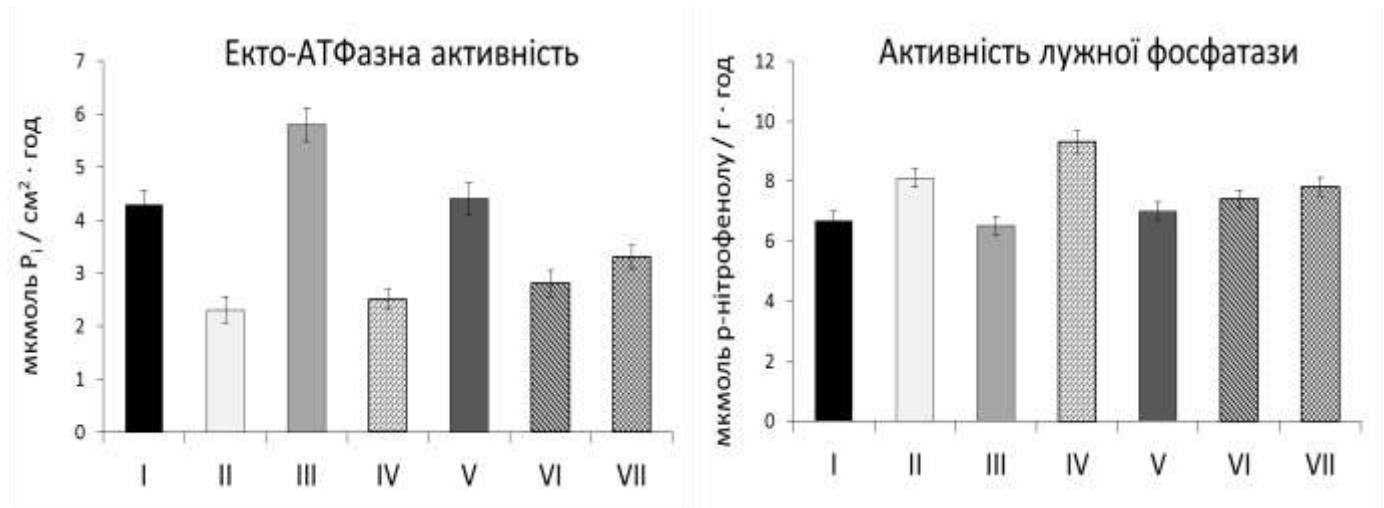


Рис. 3 Активність антикальциногенних (екто-АТФаза) і прокальциногенних (лужна фосфатаза) ферментів у тканинах аорти щурів в умовах гострої D-вітамінної інтоксикації та додаткових впливів (I – контроль; II – вітамін D; III – варфарин; IV – вітамін D + варфарин; V – ЕГДК; VI – вітамін D + ЕГДК; VII – вітамін D + варфарин + ЕГДК)

З огляду на те, що вітамін D має виражені прооксидантні властивості (Спиричев В. Б., 1971, Сергеев П. В., 1974), а ушкодження клітин є невід'ємною складовою артеріосклеротичних уражень (Меерсон Ф. З., 1984), цікавим було вивчити вплив первинних порушень системи MGP на прояви оксидативного стресу як одного з механізмів патогенної дії гіпервітамінозу D на судинну стінку.

Перш за все ми ще раз підтвердили наші дані про те, що стан гіпервітамінозу D супроводжується значним наростанням вмісту ГПЛ і ШО в тканинах кровоносних судин (Атаман О. В., 1990, Гарбузова В. Ю., 2004, Хижня Я. В., 2011). Так, через 96 год від початку введення холекальциферолу вміст ГПЛ в аортальній стінці зростав більше ніж у 5 разів, а ШО – у 3,4 раза ( $P < 0,001$ ). Жоден із додаткових факторів – ні варфарин, ні ЕГДК – не впливав на ці показники у тварин з D-вітамінною інтоксикацією (рис. 4), що свідчило про незалежність пероксидного механізму ушкодження судин від стану системи MGP і загальних параметрів фосфорно-кальцієвого обміну в організмі, тобто чинників, на які була спрямована дія відповідно варфарину та ЕГДК.

Застосовані нами в роботі агенти – варфарин і ЕГДК – впливають на різні механізми токсичної дії вітаміну D. Бісфосфонати (ЕГДК) втручаються у розвиток D-гіпервітамінозних уражень судин через загальні механізми, оскільки основною мішенню їх дії є кісткова тканина. Стабілізуючи обмін мінеральних компонентів у кістках, бісфосфонати зменшують вираженість характерних для токсичної дії

вітаміну D гіперкальціемії та гіперфосфатемії. Крім того, вони припиняють надходження у кров із кісткової тканини білково-мінеральних комплексів (сироваткових факторів кальцифікації), які, осідаючи на стінках судин, можуть започатковувати процеси ектопічного обвапнення (Ross R., 1999; Price P. A., 1998, 2000). При цьому бісфосфонати, як вважають, безпосередньо не втручаються в події, що розгортаються в тканинах кровоносних судин, а отже, можна вважати, що їх ангіопротекторна дія зумовлюється впливом на загальні механізми токсичної дії вітаміну D.

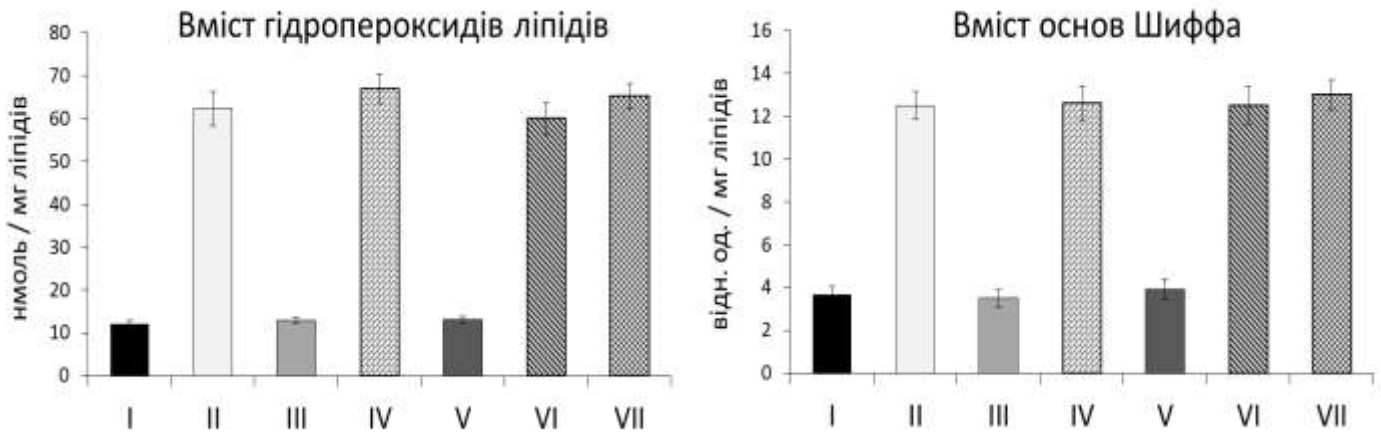


Рис. 4 Утворення продуктів ПОЛ в аортальній тканині щурів в умовах гострої D-вітамінної інтоксикації та додаткових впливів (I – контроль; II – вітамін D; III – варфарин; IV – вітамін D + варфарин; V – ЕГДК; VI – вітамін D + ЕГДК; VII – вітамін D + варфарин + ЕГДК)

Варфарин, специфічно інгібуючи вітамін K-епоксидоредуктазу, унеможливує утворення функціонально активної форми MGP – основного природного антикальциногенного фактора судинної стінки. За умов порушеного  $\gamma$ -карбоксилювання MGP не здатний запобігати ектопічній кальцифікації, більше того, накопичення його недокарбоксильованої форми в тканинах перешкоджає здійсненню антикальциногенних функцій тим білкам, які ще утворюються в ураженій судинній стінці (Price P. A., 2000). Наразі виникає ситуація, коли замість активації систем, що протистоять ектопічній мінералізації, – а саме цього вимагає стан D-вітамінної інтоксикації, – ці системи пригнічуються, а отже, компенсація як така стає неможливою. Наслідок – очевидний: бурхливо, упродовж кількох діб, розвивається кальцифікація артерій, до того ж у відносно стійкого до такого типу уражень виду тварин – щурів (рис. 5).

Таким чином, пригнічення функціональної активності MGP за допомогою варфарину істотно підвищує чутливість артеріальних судин до розвитку кальцифікації в умовах гострої інтоксикації вітаміном D. За цих умов прокальциногенна дія високих доз холекальциферолу поєднується з пригніченням діяльності природних антикальциногенних систем, до яких і належить MGP.



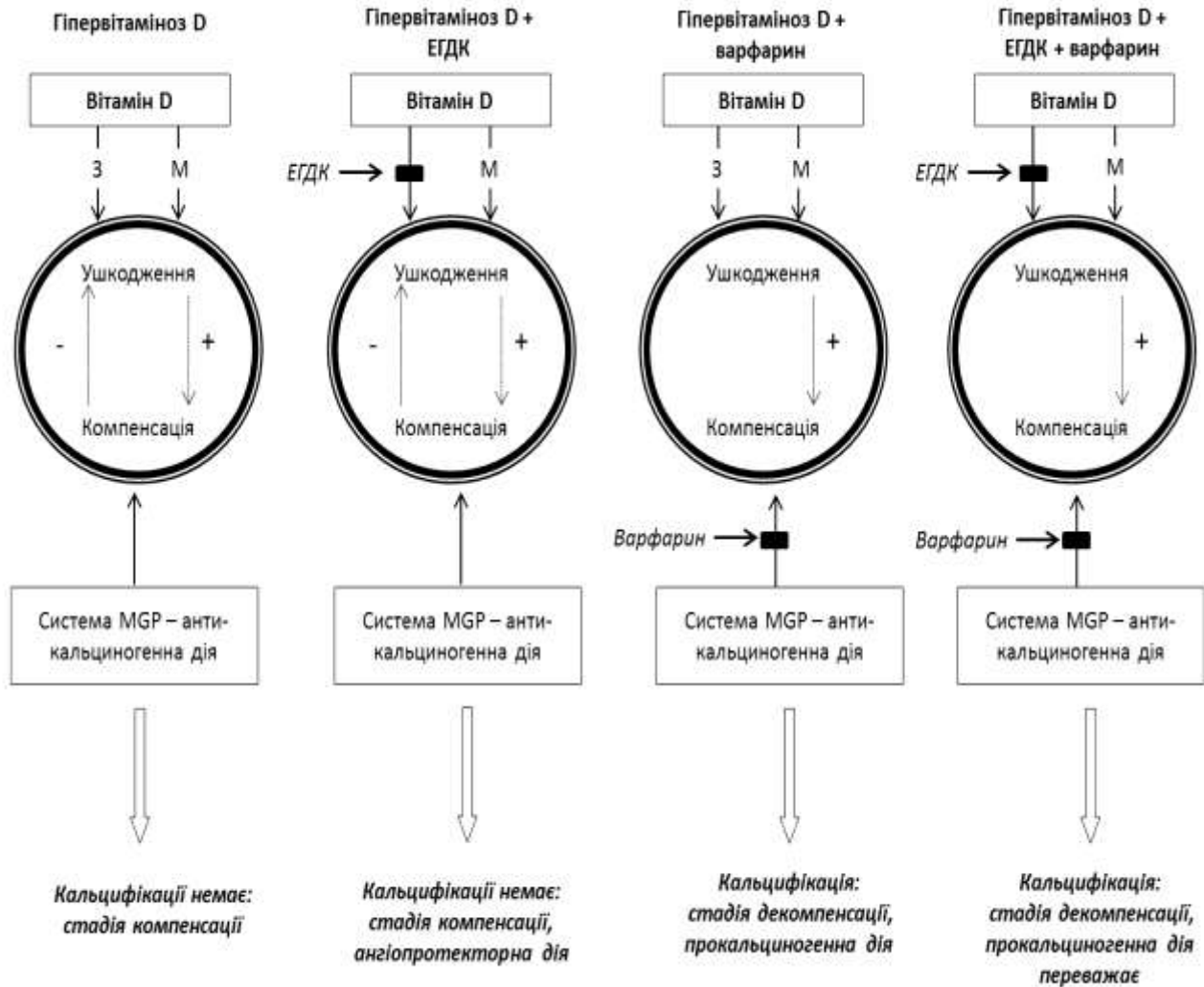


Рис. 5 Вплив системи MGP на розвиток D-вітамінного ушкодження артеріальної стінки. З – загальні механізми; М – місцеві механізми

**Алельний поліморфізм генів системи MGP як чинник спадкової схильності до розвитку гострого коронарного синдрому.** В результаті генотипування хворих із ГКС та аналізу розподілу алельних варіантів генів системи MGP було виявлено, що існує зв'язок між ГКС і поліморфними варіантами генів MGP (G-7A), VDR (BsmI), GGCX (Arg325Gln) і VKORC1 (T2255C).

Порівняння частоти різних варіантів G-7A поліморфізму у хворих основної і контрольної груп дало такі результати: співвідношення генотипів G/G, G/A і A/A у групі з ГКС становило 41,5; 45,8 і 12,7 %, а в контролі відповідно – 50,4; 44,0 і 5,6 % ( $P = 0,040$ ). Розподіл алельних варіантів генотипу (T/T, T/C і C/C) за T2255C поліморфізмом гена VKORC1 у хворих із ГКС становив 27,1; 41,5 і 31,4 %, а в контролі відповідно – 37,2; 42,7; 20,1 % ( $P = 0,038$ ). Показник  $P$ , визначений за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона, дорівнював 0,091 для BsmI поліморфізму гена VDR і 0,110 для Arg325Gln поліморфізму гена GGCX, що свідчить про відсутність статистично достовірної різниці у розподілі алельних варіантів цих генетичних маркерів (рис. 6).

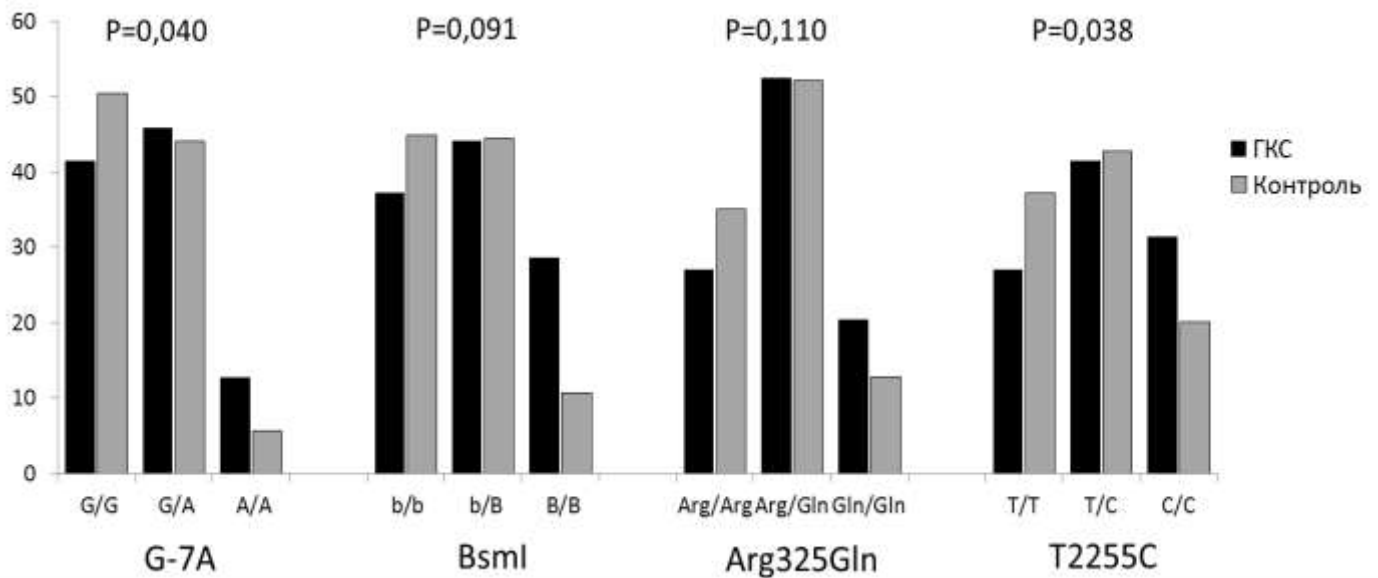


Рис. 6 Частота алельних варіантів генів MGP, VDR, GGCX, VKORC1 у хворих із ГКС (чорні стовпчики) і в контрольній групі (сірі стовпчики). P – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

Методом логістичної регресії підтверджена асоціація між поліморфізмами G-7A, T2255C і гострим коронарним синдромом: у гомозигот за мінорним алелем для поліморфізму G-7A ризик ГКС у 2,8 раза вищий ( $P = 0,014$ ), ніж у носіїв основного алеля, а для T2255C у 2,1 раза, якщо порівнювати з гомозиготами за основним алелем ( $P = 0,012$ ). Крім того, встановлено, що у гомозигот за мінорним алелем за поліморфізмами Arg325Gln ( $P = 0,037$ ) і BsmI ( $P = 0,031$ ) ризик ГКС приблизно у 2 рази більший, якщо порівнювати з гомозиготами за основним алелем.

Подібні дослідження у даному напрямку нечисленні й суперечливі. Так, Herrmann S.M. et al. (2000) довели, що частота мінорних алелів (-7A і Ala83) гена MGP у хворих на інфаркт міокарда із низьким рівнем факторів ризику є більшою, ніж у відповідній контрольній підгрупі. У працях Ortlepp et al. (2005) встановлено асоціацію B/B генотипу за BsmI поліморфізмом гена VDR із ризиком розвитку інфаркту міокарда у пацієнтів віком до 65 років. Wang et al. (2006), вивчаючи розподіл генотипів за T2255C поліморфізмом гена VKORC1, виявили, що наявність C алеля більше ніж удвічі збільшує ризик розвитку ішемічної хвороби серця та інсульту та понад утричі – ризик розвитку розшарування аорти. Проте Shanker et al. (2011) та Pan et al. (2009) не виявили зв'язку поліморфних варіантів та гаплотипів гена VDR із розвитком ішемічної хвороби серця. Hindorff A. et al. (2007) показали, що жоден із досліджуваних поліморфізмів гена VKORC1, серед яких T2255C, не був асоційований з розвитком захворювань серця і судин.

Аналіз взаємодії між вивченими поліморфізмами з використанням методів математичного моделювання дозволив установити якісні та кількісні відмінності впливу генів системи MGP на розвиток ГКС. За допомогою методу мультифакторної просторової редукції (MDR) найкращою класифікаційною моделлю визнана двокомпонентна модель, що містить поліморфізми G-7A і Thr83Ala гена MGP (прогностична здатність 63 % за методом MDR і 68 % за

методом “Random forest”). Збіг в однієї особи подібних за спрямованістю варіантів генотипів за вказаними поліморфізмами асоціюється з високим ризиком розвитку ГКС: у гетерозигот він підвищується у 2,1 ( $P = 0,003$ ), а у гомозигот за мінорним алелем – у 6,3 рази ( $P = 0,001$ ).

Фенотипова ентропія взаємодії G-7A і Thr83Ala локусів становить 8 %, що підтверджує виражений синергічний ефект обох однонуклеотидних поліморфізмів (рис. 7).

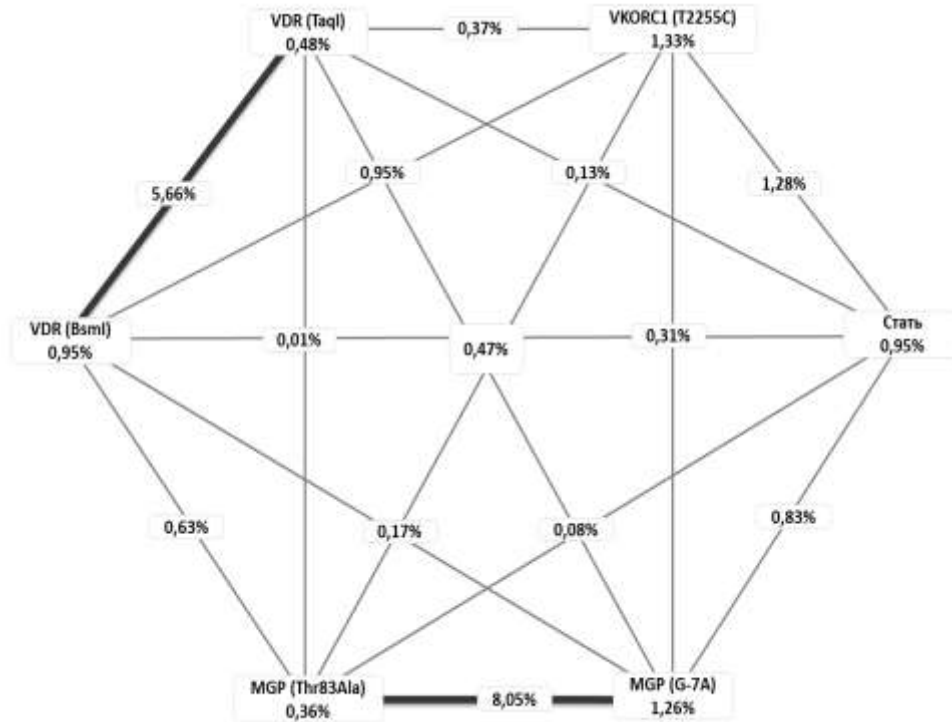


Рис. 7 Графік кластерного аналізу результатів моделювання міжгенної взаємодії методом MDR при гострому коронарному синдромі. Жирною лінією показана синергічна взаємодія

Розвиток атеросклеротичного процесу і тяжкість його ускладнень пов'язані з наявністю у хворих певних факторів ризику, серед яких стать, ІМТ, артеріальний тиск, цукровий діабет, паління, стрес та інші.

Виявлена асоціація досліджених поліморфізмів із факторами ризику гострого коронарного синдрому. Залежність між генотипом і ГКС має статеві особливості. При порівнянні частоти генотипів у основній і контрольній групах за поліморфізмом G-7A окремо у жінок і чоловіків встановлено, що серед жінок контрольної групи генотип G/G мали 50,6 %, G/A – 41,6 %, A/A – 7,8 %, а серед хворих із ГКС відповідно – 26,9; 50,0; 23,1 %. Генотип G/G був виявлений у 50,3 %, G/A – 45,2 %, A/A – 4,5 % практично здорових чоловіків, а серед хворих із ГКС – у 45,7; 44,6 і 9,7 % відповідно. Таким чином, доведено статистично значиму асоціацію G-7A поліморфізму з ГКС в осіб жіночої статі ( $P = 0,036$ ) і відсутність такого зв'язку у чоловіків ( $P = 0,244$ ). Методом логістичної регресії підтверджено, що особи жіночої статі, гомозиготні за мінорним алелем A/A (поліморфізм G-7A гена MGP), у 5,6 рази частіше хворіють на ГКС, ніж жінки-носії основного алеля (G/A і G/G).

Під час вивчення розподілу алельних варіантів у основній і контрольній групах за поліморфізмом BsmI окремо у жінок і чоловіків встановлено, що співвідношення частот генотипів (b/b, b/B, B/B) серед жінок контрольної групи становило 39,0; 49,3; 11,7 %, а серед хворих із ГКС – відповідно 42,3; 46,2; 11,5 %. Генотип b/b був виявлений у 47,8; b/B – у 42,0; B/B – у 10,2 % практично здорових чоловіків, а серед хворих із ГКС відповідно – у 35,8; 43,5 і 20,7 %. Таким чином, доведено статистично значиму асоціацію BsmI поліморфізму з ГКС в осіб чоловічої статі ( $P = 0,040$ ) і відсутність такого зв'язку в жінок ( $P = 0,953$ ). Методом логістичної регресії був підтверджений зв'язок між статтю пацієнтів і розвитком ГКС у пацієнтів із різними генотипами за BsmI поліморфізмом гена VDR. У чоловіків, носіїв B/B генотипу, ризик ГКС у 2,7 раза більший, ніж у представників генотипу b/b.

ГКС виникає частіше в осіб із  $IMT \geq 25 \text{ кг/м}^2$ , що мають генотип A/A (поліморфізм G-7A гена MGP) та у пацієнтів з  $IMT < 25 \text{ кг/м}^2$  із генотипом B/B (поліморфізм BsmI гена VDR), ніж у представників інших генотипів. У представників генотипу C/C з  $IMT < 25 \text{ кг/м}^2$  (поліморфізм T2255C гена VKORC1) ризик ГКС майже в 4 рази більший, ніж у гомозигот за основним алелем (T/T).

Існує асоціація між G-7A поліморфізмом гена MGP і розвитком ГКС в осіб із підвищеним АТ: у гомозигот за мінорним алелем (A/A) з артеріальною гіпертензією частіше розвивається ГКС, ніж у носіїв інших генотипів. Ризик ГКС у 3,3 раза більший в осіб із підвищеним артеріальним тиском, що є гомозиготами за мінорним алелем за поліморфізмом Arg325Gln гена GGCX, у 2,9 раза у носіїв мінорного алеля за поліморфізмом T2255C гена VKORC1 і на 48 % у гетерозигот Ser/Ala за Ser37Ala поліморфізмом гена BMP-2, ніж у гомозигот за основним алелем.

Виявлений вплив поліморфізмів G-7A гена MGP і BsmI гена VDR на розвиток ГКС в осіб, які не палять: у гомозигот за мінорним алелем (A/A і B/B) ризик виникнення ГКС більший.

Встановлений зв'язок поліморфних варіантів генів GGCX і VKORC1 з розвитком гострого коронарного синдрому в осіб, які мають стресову професію. Так, серед представників стресової професії ризик ГКС у 4,5 раза більший у гомозигот за мінорним алелем Gln/Gln і в 4 рази у носіїв C/C генотипу, ніж у гомозигот за основним алелем.

Існує зв'язок алельних варіантів гена MGP за поліморфізмом T-138C із клінічними варіантами ГКС: у гомозигот T/T і C/C частіше виникає ангінозна форма ГКС. Виявлена асоціація між поліморфізмом FokI гена VDR і Arg325Gln гена GGCX та розвитком ускладнень: гомозиготи за мінорним алелем (f/f) і за основним алелем (Arg/Arg) частіше мають ускладнення, ніж носії інших генотипів. Такий зв'язок із розвитком ускладнень ГКС підтвердився за FokI поліморфізмом для пацієнтів чоловічої статі, хворих із  $IMT \geq 25 \text{ кг/м}^2$ , пацієнтів без артеріальної гіпертензії, цукрового діабету та ожиріння, а за Arg325Gln поліморфізмом для пацієнтів з  $IMT \geq 25 \text{ кг/м}^2$ , хворих із дисліпопротеїнемією атерогенного характеру та артеріальною гіпертензією.

**Зв'язок поліморфізму генів системи MGP з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту.** У результаті проведеного аналізу розподілу генотипів за вивченими поліморфізмами генів системи MGP було встановлено, що

існує зв'язок між ішемічним атеротромботичним інсультом і поліморфними варіантами генів MGP (G-7A) та VKORC1 (T2255C).

Порівняння частоти різних варіантів G-7A поліморфізму гена MGP у хворих з ІАТІ і в контрольній групі дало такі результати: співвідношення генотипів G/G, G/A і A/A в основній групі становило 35,9; 48,8 і 15,3 %, а в контрольній відповідно – 43,5; 50,0 і 6,5 % ( $P = 0,051$ ) (рис. 8). Методом логістичної регресії встановлено, що гомозиготи за мінорним алелем (A/A) мають ризик ІАТІ у 2,6 раза більший, ніж носії основного алеля (G/A і G/G) ( $P = 0,023$ ).

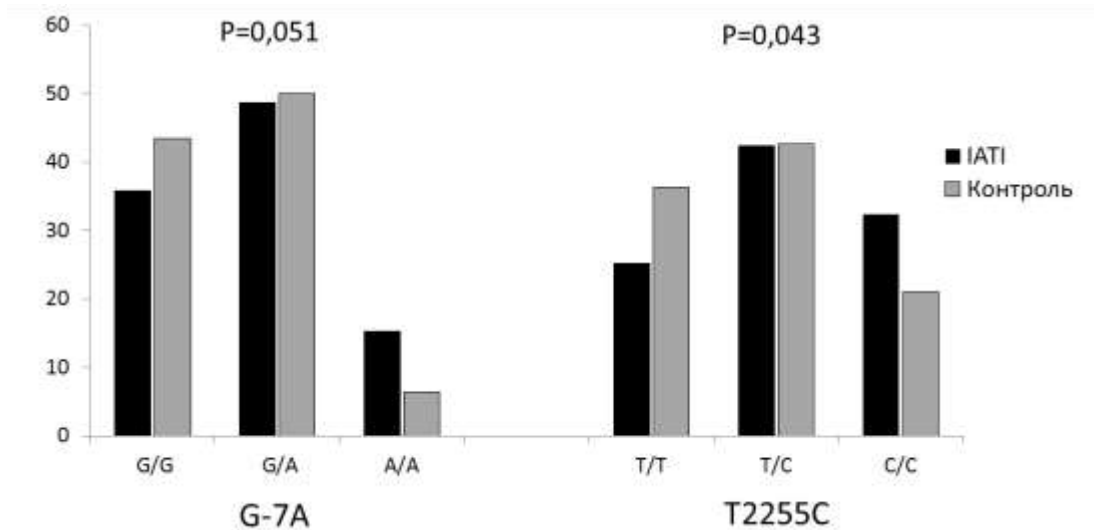


Рис. 8 Частота алельних варіантів генів MGP і VKORC1 у хворих із ІАТІ (чорні стовпчики) і в контрольній групі (сірі стовпчики). P – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

Аналіз частоти розподілу алельних варіантів гена VKORC1 за поліморфізмом T2255C у хворих основної і контрольної груп виявив, що співвідношення генотипів T/T, T/C і C/C у групі з ІАТІ становило 25,3; 42,4; 32,4 %, а в контролі відповідно – 36,3; 42,7; 21,0 % ( $P = 0,043$ ) (рис. 8). Методом логістичної регресії підтверджений вплив поліморфних варіантів гена VKORC1 на розвиток ішемічного інсульту: у носіїв C/C генотипу ризик ІАТІ у 2,2 раза більший, ніж у представників генотипу T/T ( $P = 0,013$ ).

Щодо даних літератури з цього питання, то необхідно зазначити, що у більшості робіт вивчався зв'язок генів системи MGP з ураженнями коронарних артерій та їх наслідками (гострим коронарним синдромом, інфарктом міокарда). Що стосується атеросклерозу мозкових артерій та ішемічного інсульту як одного з його тяжких наслідків, то лише в кількох публікаціях останніх років порушувалася проблема ролі кальцифікації судин загалом та MGP зокрема в розвитку цереброваскулярної патології. У 2010 році Shyu et al. досліджували зв'язок генетичного поліморфізму генів GGCX (Gln325Arg), VKORC1 (rs9923231) та NQO1 (Pro187Ser) з ризиком розвитку ІАТІ і виявили статистично значимий протективний ефект зазначених поліморфізмів щодо ризику ішемічного інсульту. У роботі Vos et

al. (2011) встановлено зв'язок між кальцифікацією внутрішньочерепних артерій каротидного басейну та обсягом уражень білої речовини головного мозку, з одного боку, і кальцифікацією великих екстракраніальних гілок сонних артерій та величиною інфаркту мозку – з другого. Залежність ніяк не була пов'язана з наявністю і вираженістю атеросклеротичних бляшок, що їх виявляли за допомогою ультразвукового дослідження. Таким чином, на думку авторів, кальцифікація як інтра-, так і екстракраніальних судин є чинником, асоційованим із розвитком ішемічних уражень мозку, і може розглядатися як самостійний фактор ризику інсультів.

Виявлена асоціація досліджених поліморфізмів з деякими факторами ризику ішемічного інсульту. Залежність між генотипом і ІАТІ має статеві особливості. При порівнянні частоти генотипів в основній і контрольній групах за G-7A поліморфізмом окремо у жінок і чоловіків отримані такі результати. Серед жінок контрольної групи генотип G/G мали 40,0; G/A – 55,6; A/A – 4,4 %, а серед хворих з ІАТІ відповідно – 29,2; 47,2; 23,6 %. Генотип G/G був виявлений у 45,6; G/A – 46,8; A/A – 7,6 % практично здорових чоловіків, а серед хворих з ІАТІ відповідно – у 40,8; 50,0 і 9,2 %. Таким чином, виявлено статистично значиму асоціацію G-7A поліморфізму з ІАТІ в осіб жіночої статі ( $P = 0,022$ ) і відсутність такого зв'язку в чоловіків ( $P = 0,798$ ). Істотні відмінності у розподілі генотипів між особами жіночої і чоловічої статей виявлено у групі хворих із ІАТІ: у хворих жінок відсоток гомозигот за основним алелем нижчий, а за мінорним алелем – вищий, ніж у чоловіків ( $P = 0,026$ ). Методом логістичної регресії було підтверджено, що особи жіночої статі, гомозиготні за мінорним алелем A/A (поліморфізм G-7A гена MGP), у 6,6 раза частіше хворіють на ІАТІ, ніж жінки-носії основного алеля (G/A і G/G) ( $P = 0,015$ ).

У чоловіків, носіїв C/C генотипу (поліморфізм T2255C гена VKORC1), ризик ІАТІ у 2,5 раза більший, ніж у представників генотипу T/T ( $P = 0,023$ ).

При порівнянні частоти генотипів в основній і контрольній групах за поліморфізмом T2255C гена VKORC1 окремо у пацієнтів з нормальним і підвищеним ІМТ з'ясовано, що у пацієнтів з ІМТ  $< 25$  кг/м<sup>2</sup> співвідношення генотипів T/T, T/C, C/C серед хворих з ІАТІ і практично здорових осіб достовірно відрізняється. Так, в основній групі воно становило 19,5; 51,2; 29,3 %, а в контролі – 47,4; 34,2; 18,4 % ( $P = 0,031$ ). Таким чином, поліморфізм T2255C гена VKORC1 впливає на розвиток ІАТІ у пацієнтів з ІМТ  $< 25$  кг/м<sup>2</sup>. Цей висновок був підтверджений і методом логістичної регресії. У гомозигот за мінорним алелем C/C з ІМТ  $< 25$  кг/м<sup>2</sup> ризик інсульту майже у 4 рази більший, ніж у носіїв генотипу T/T ( $P = 0,34$ ).

Ризик ІАТІ у 3,2 раза більший в осіб із нормальним артеріальним тиском, які є гетерозиготами (F/f) за Fok поліморфізмом гена VDR ( $P = 0,040$ ), і у 5 разів у носіїв мінорного алеля Gln/Gln за поліморфізмом Arg325Gln гена GG CX ( $P = 0,014$ ), ніж у гомозигот за основним алелем. У гетерозиготних жінок (Thr/Ala) за поліморфізмом Thr83Ala гена MGP з ІАТІ ймовірність артеріальної гіпертензії у 5 разів вища, ніж у гомозигот за основним алелем ( $P = 0,030$ ).

Виявлений вплив поліморфізмів G-7A гена MGP і T2255C гена VKORC1 на розвиток ішемічного інсульту в осіб, які не палять: у гомозигот за мінорним алелем (A/A і C/C) ризик виникнення ІАТІ більший.

Аналіз даних про зв'язок поліморфізмів генів системи MGP із різними варіантами ішемічного інсульту свідчить про відсутність асоціації досліджуваних генетичних маркерів з обсягом уражень головного мозку, локалізацією атеротромботичного процесу, тяжкістю перебігу, повторюваністю і неврологічними проявами ІАТІ. Залежність була виявлена лише у деяких підгрупах пацієнтів. Так, існує зв'язок алельних варіантів генів GGСХ за поліморфізмом Arg325Gln і VKORC1 за поліморфізмом T2255C із повторними випадками інсульту. Так, співвідношення генотипів Arg/Arg, Arg/Gln, Gln/Gln в осіб жіночої статі з первинним інсультом становило 39,2; 49 %; 11,8 %, а з повторним відповідно – 23,8; 38,1; 38,1 % (P = 0,035). Таким чином, у гомозигот за мінорним алелем Gln/Gln жіночої статі повторний інсульт розвивався частіше, ніж у носіїв інших генотипів. Серед носіїв Gln/Gln генотипу із цукровим діабетом ризик повторного інсульту більший, ніж серед носіїв інших генотипів.

Був доведений вплив T2255C поліморфізму гена VKORC1 на частоту повторних випадків інсульту. Співвідношення гомозигот за основним алелем (T/T), гетерозигот (T/C) і гомозигот за мінорним алелем (C/C) серед пацієнтів із первинним ІАТІ становило відповідно 18,1; 41,0; 41,0 %, і серед осіб, що зазнали повторних інсультів, – 36,9; 44,6; 18,5 % (P = 0,002). У гомозигот за основним алелем (T/T) ймовірність повторних випадків інсульту більша, ніж у представників інших генотипів. Зв'язок T2255C поліморфізму гена VKORC1 із частотою повторних випадків інсульту був підтверджений для більшості факторів ризику ІАТІ. Так, у носіїв T/T генотипу чоловічої статі (P = 0,05), пацієнтів з артеріальною гіпертензією (P = 0,027), з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> (P = 0,002), без ознак гіперкоагуляції крові (P = 0,015), з порушенням ліпідного складу плазми крові (P = 0,014), осіб без ожиріння (P = 0,001) і без цукрового діабету (P = 0,001) ризик повторних інсультів більший, ніж у носіїв інших генотипів.

**Асоціація поліморфізму генів системи MGP із порушеннями ліпопротеїнового обміну у хворих із кардіо- і цереброваскулярною патологією.** Дисліпопротеїнемія є одним із основних факторів ризику розвитку кардіо- і цереброваскулярної патології. Стан процесів ліпідного обміну оцінювали за такими загальноприйнятими показниками плазми крові, як загальний холестерол (ХС), холестерол у складі ліпопротеїнів різної густини (ХС-ЛПНГ, ХС-ЛПДНГ, ХС-ЛПВГ), тригліцериди. На підставі концентрацій зазначених ліпідів було обчислено індекс атерогенності, збільшення якого понад 3 одиниці відображає так звану дисліпопротеїнемію атерогенного характеру (ДАХ) – провідний фактор ризику атеросклерозу та основних його ускладнень (інфаркту міокарда, ішемічного інсульту).

У хворих із ГКС достовірна різниця у показниках ліпідного спектра плазми крові зареєстрована для поліморфізмів T-138C (ген MGP), ApaI і BsmI (ген VDR). Так, для хворих із ГКС, які мали T/C генотип, були характерні вищі, ніж у пацієнтів з генотипами T/T і C/C, концентрації ХС-ЛПДНГ ( $0,94 \pm 0,07$  проти  $0,76 \pm 0,04$  і  $0,82 \pm 0,11$  і ммоль/л, P = 0,016) і тригліцеридів ( $2,08 \pm 0,16$  проти  $1,59 \pm 0,08$  і

$1,80 \pm 0,23$  ммоль/л,  $P = 0,016$ ). Аналіз вивчених показників для AраI поліморфізму гена VDR свідчить про більш виражені зміни у носіїв основного алеля, якщо порівнювати із гетерозиготами та гомозиготами за мінорним алелем. Так, для хворих з ГКС, що мали генотип a/a, були характерні вищі, ніж у пацієнтів з генотипом a/A та A/A, концентрації ХС-ЛПДНГ ( $0,95 \pm 0,06$  проти  $0,72 \pm 0,05$  та  $0,78 \pm 0,73$  ммоль/л відповідно,  $P = 0,026$ ) і тригліцеридів ( $2,09 \pm 0,15$  проти  $1,60 \pm 0,10$  і  $1,72 \pm 0,16$  ммоль/л, відповідно,  $P = 0,026$ ). Порівняння характеристик ліпідного обміну у хворих із ГКС, що мають різні генотипи за BsmI поліморфізмом, показало, що в носіїв мінорного алеля (b/B і V/V) рівень ХС-ЛПВГ достовірно нижчий, ніж у гомозигот за основним алелем (b/b):  $0,99 \pm 0,03$  ммоль/л і  $1,01 \pm 0,04$  ммоль/л проти  $1,11 \pm 0,04$  ммоль/л ( $P = 0,028$ ). При урахуванні статі пацієнтів виявилось, що тільки у чоловіків, BsmI генотип впливає на досліджувані показники. Так, чоловіки, що є носіями мінорного алеля, як і в загальній вибірці, мають нижчі, ніж гомозиготи за основним алелем, показники ХС-ЛПВГ. Серед жінок така залежність не зафіксована. Отримані результати свідчать про те, що носії T/C, a/a, b/B і V/V генотипів більш схильні до розвитку атеросклерозу як такого, так і до його ускладнень.

Серед усіх вивчених поліморфізмів зв'язок із розвитком дисліпопротеїнемії атерогенного характеру пацієнтів із ГКС був зафіксований лише для BsmI поліморфізму гена VDR (рис. 9). Співвідношення гомозигот за основним алелем, гетерозигот і гомозигот за мінорним алелем (b/b, b/B і V/V) становило для хворих без ДАХ 65,0; 25,0; 10,0 %, а для пацієнтів із ДАХ відповідно – 31,6; 48,0; 20,4 %. Розподіл алельних варіантів генотипу за поліморфізмом BsmI у хворих з ГКС з ДАХ і без ДАХ має достовірну різницю ( $P = 0,019$ ).

Зв'язок із ДАХ за цим поліморфізмом був підтверджений у хворих чоловіків ( $P = 0,010$ ), в осіб, які палять ( $P = 0,034$ ), у пацієнтів без цукрового діабету ( $P = 0,023$ ), у хворих, що мають стресову професію ( $P = 0,036$ ), та у хворих без синдрому гіперкоагуляції крові ( $P = 0,004$ ).

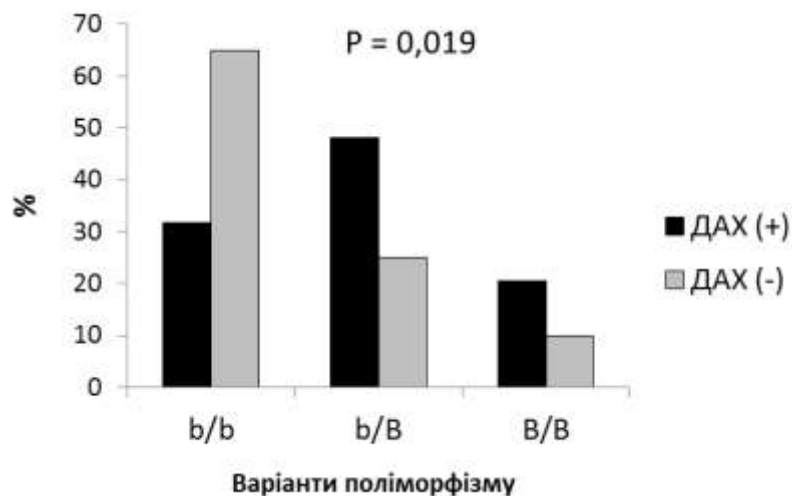


Рис. 9 Частота алельних варіантів гена VDR за поліморфізмом BsmI у хворих з ГКС з ДАХ (чорні стовпчики) і без ДАХ (сірі стовпчики). P – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона



У хворих з ІАТІ, що мали у своєму геномі рідкісний С-алель (поліморфізм Т-138С), були характерні вищі, ніж у пацієнтів з генотипом Т/Т, концентрації загального ХС ( $5,38 \pm 0,19$  проти  $4,84 \pm 0,15$  ммоль/л;  $P = 0,025$ ), ХС-ЛПНГ ( $3,63 \pm 0,17$  проти  $3,02 \pm 0,14$  ммоль/л;  $P = 0,008$ ) і індексу атерогенності ( $5,66 \pm 0,52$  проти  $4,24 \pm 0,31$ ;  $P = 0,013$ ). Натомість вміст антиатерогенного ХС-ЛПВГ у них виявився нижчим ( $0,96 \pm 0,04$  проти  $1,06 \pm 0,03$  ммоль/л;  $P = 0,029$ ). Це свідчить про більшу схильність носіїв мінорного алеля (Т/С + С/С) до атеросклерозу і його ускладнень.

Порівняння характеристик ліпідного обміну у хворих з ІАТІ, що мають різні генотипи за G-7A поліморфізмом, показало, що у носіїв мінорного алеля (G/A+A/A) рівень загального ХС вищий, ніж у гомозигот за основним алелем (G/G) ( $4,72 \pm 0,22$  проти  $5,22 \pm 0,14$  ммоль/л;  $P = 0,046$ ). Асоціації інших показників ліпідного спектра з даним поліморфізмом не встановлено. Проте при урахуванні статі пацієнтів виявилось, що лише у жінок, а не у чоловіків, G-7A генотип все ж впливає на досліджувані показники. Так, жінки, що є носіями мінорного алеля (G/A+A/A), мають вищі, ніж гомозиготи за основним алелем (G/G), показники загального ХС ( $5,57 \pm 0,21$  проти  $4,7 \pm 0,41$  ммоль/л;  $P = 0,045$ ) та ХС-ЛПНГ ( $3,68 \pm 0,2$  проти  $2,84 \pm 0,4$  ммоль/л;  $P = 0,042$ ) і нижчий рівень ХС-ЛПВГ ( $0,99 \pm 0,04$  проти  $1,16 \pm 0,08$  ммоль/л;  $P = 0,048$ ). Відмінності за вмістом ХС-ЛПДНГ і тригліцеридів також наближалися до рівня статистичної значимості ( $P = 0,054$ ).

Чоловіки з генотипом В/В за VsmI поліморфізмом мають нижчі показники тригліцеридів і ХС-ЛПНГ, а з генотипом А/А за ApaI гена VDR ще й ХС-ЛПДНГ та індексу атерогенності, а також вищий рівень ХС-ЛПВГ і менший ризик розвитку ДАХ, ніж носії інших генотипів. Пацієнти чоловічої статі, які є носіями зазначених генотипів, більш стійкі до розвитку атеросклерозу і до його ускладнень, серед яких ІАТІ.

Методом логістичної регресії з'ясовано, що у пацієнтів з ІАТІ ризик розвитку ДАХ у гетерозигот (Thr/Ala) за поліморфізмом Thr83Ala удвічі ( $P = 0,045$ ), а у жінок-гетерозигот (G/A) за поліморфізмом G-7A гена MGP у 5,5 рази вищий ( $P = 0,007$ ), ніж у гомозигот за основним алелем. У хворих чоловіків із генотипом а/а за поліморфізмом ApaI гена VDR дисліпопротеїнемія атерогенного характеру розвивається частіше, ніж у представників інших генотипів.

Bagger et al. (2000), досліджуючи асоціацію деяких поліморфізмів гена VDR у датських жінок, не виявили зв'язку між ApaI, VsmI та TaqI поліморфізмами та рівнем сироваткових ліпопротеїнів. Проте Filus et al. (2008) з'ясували, що існує зв'язок між FokI поліморфізмом і деякими показниками ліпідного спектра плазми крові: у носіїв основного алеля (F/F, F/f) рівень антиатерогенного ХС-ЛПВГ нижчий, ніж у гомозигот за мінорним алелем (f/f).

При аналізі даних про вміст ліпідів у плазмі крові хворих з ІАТІ, що є носіями різних гаплотипів за VsmI-ApaI-TaqI поліморфізмами гена VDR, відзначали відсутність рівня статистичної значимості показників ліпідного спектра серед представників гаплотипів, що порівнювалися. Проте виявлено зв'язок між VsmI-ApaI-TaqI гаплотипами і ДАХ (рис. 10). Так, співвідношення гаплотипів у хворих без ознак ДАХ становило 70,0; 11,7 і 18,3%, у той час як у пацієнтів з ризиком ДАХ – 83,3; 11,1 і 5,6 % ( $P = 0,042$ ). Отже, у хворих із ІАТІ з гаплотипом bAT прояви порушень ліпідного спектра плазми крові виникають у 3,8 рази рідше, ніж у

представників інших гаплотипів, що свідчить про протективне значення поєднання цих алелів щодо ускладнення ІАТІ дисліпопротеїнемією. На зв'язок гаплотипу з ДАХ впливали і деякі додаткові чинники, такі як стать, АТ, цукровий діабет, паління, гіперкоагуляція крові. Так, у носіїв bAT гаплотипу чоловічої статі ( $P = 0,012$ ), пацієнтів з нормальним артеріальним тиском ( $P = 0,035$ ), хворих з ІАТІ без цукрового діабету ( $P = 0,039$ ) та осіб, які палять ( $P = 0,023$ ), ризик розвитку ДАХ менший, ніж у носіїв інших гаплотипів.

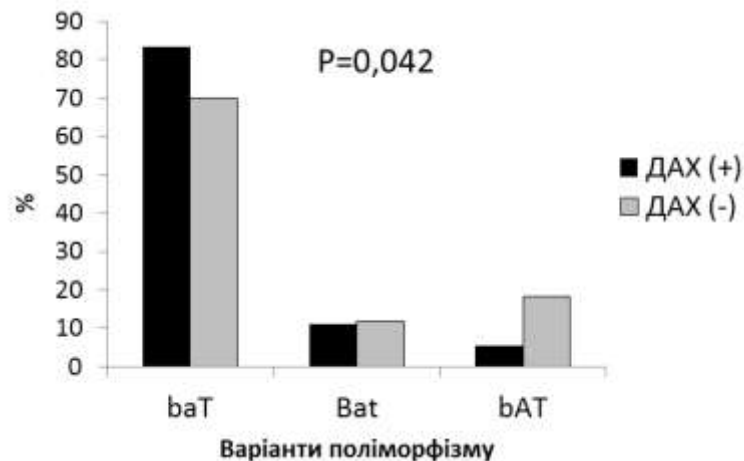


Рис. 10 Частота алельних варіантів гена VDR за BsmI-ApaI-TaqI гаплотипами у хворих з ІАТІ з ДАХ (чорні стовпчики) і без ДАХ (сірі стовпчики).  $P$  – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

Таким чином, поліморфізми генів системи MGP асоційовані з порушеннями ліпопротеїнового обміну у хворих із кардіо- і цереброваскулярною патологією. Вивчення генетичної складової цього процесу є важливою ланкою у розумінні патогенезу атеросклерозу.

**Вплив поліморфізму генів системи MGP на порушення коагуляції крові як патогенетичного механізму тромботичних ускладнень атеро- та артеріосклерозу.** Серед основних факторів ризику ускладнень атеросклеротичного процесу важливе місце посідають чинники, що зумовлюють гіперкоагулянтну активність крові. Стан процесів згортання крові у хворих з ГКС оцінювали за низкою загальноприйнятих показників, серед яких протромбіновий час, протромбіновий індекс, тромбіновий час, вміст фібриногену у плазмі крові, інтенсивність спонтанного фібринолізу.

Біохімічні ознаки гіперкоагуляційного синдрому зареєстровані серед хворих із ГКС, які є гомозиготами за мінорним алелем (A/A) за поліморфізмом G-7A гена MGP і характеризуються меншими середніми величинами протромбінового часу ( $9,58 \pm 0,37$  с проти  $10,92 \pm 0,24$  с у гетерозигот і  $10,60 \pm 0,23$  с у гомозигот за основним алелем;  $P = 0,025$ ) та протромбінового індексу ( $87,60 \pm 3,17$  % проти  $98,35 \pm 1,84$  % у гетерозигот і  $96,61 \pm 1,96$  % у гомозигот за основним алелем;  $P = 0,026$ ). Ознаки гіперкоагуляції крові (ГКК) виявлені у гомозигот за основним алелем (T/T) за поліморфізмом T2255C гена VKORC1, які мали достовірно менші середні величини протромбінового часу ( $10,06 \pm 0,33$  с проти  $10,17 \pm 0,22$  с у

гетерозигот і  $11,00 \pm 0,28$  с у гомозигот за мінорним алелем;  $P = 0,050$ ) та у гетерозигот (T/t) за поліморфізмом TaqI гена VDR, у яких реєстрували нижчі показники протромбінового індексу ( $93,35 \pm 1,89$  % проти  $97,75 \pm 2,05$  % у гомозигот за основним алелем і  $102,17 \pm 2,5$  % у гомозигот за мінорним алелем;  $P = 0,044$ ).

Синдром ГКК, що характеризувався більшим вмістом фібриногену та меншими середніми величинами протромбінового часу і протромбінового індексу, серед хворих з ІАТІ виявлено у гомозигот за мінорним алелем (A/A) за поліморфізмом G-7A гена MGP, гомозигот за B-алелем за поліморфізмом BsmI і гомозигот за A-алелем за поліморфізмом ApaI гена VDR.

Середні величини всіх вивчених показників згортання крові у хворих з ІАТІ залежали від BsmI-ApaI-TaqI поліморфізму гена VDR: носії bAT гаплотипу мали менші показники протромбінового часу ( $8,63 \pm 0,40$  с проти  $8,67 \pm 0,41$  с для Bat і  $9,73 \pm 0,18$  с для baT гаплотипів;  $P = 0,018$ ) і протромбінового індексу ( $76,8 \pm 2,18$  % проти  $77,9 \pm 2,71$  % для Bat і  $86,1 \pm 1,36$  % для baT гаплотипів;  $P = 0,007$ ). У представників Bat гаплотипу фіксували менші значення протромбінового часу ( $14,9 \pm 0,60$  с проти  $15,4 \pm 0,54$  с для bAT і  $16,9 \pm 0,33$  с для baT гаплотипів;  $P = 0,026$ ) і більший вміст фібриногену ( $4,52 \pm 0,29$  г/л проти  $4,15 \pm 0,26$  г/л для bAT і  $3,81 \pm 0,11$  г/л для baT гаплотипів;  $P = 0,046$ ). Особи з гаплотипом baT ознак гіперкоагуляційного синдрому не мали.

Поділ хворих із ГКС на дві підгрупи за наявністю і відсутністю функціональних і біохімічних ознак гіперкоагуляції крові (схильними до пришвидшеного згортання крові вважали пацієнтів, у яких протромбіновий час був  $< 9$  с, а протромбіновий індекс  $< 80$  %) не виявив будь-якого впливу вивчених поліморфізмів генів системи MGP на ризик розвитку гіперкоагуляційного синдрому. Проте аналіз з урахуванням факторів ризику дозволив з'ясувати наявність можливого зв'язку між поліморфізмом G-7A гена MGP у хворих із ГКС і розвитком ознак гіперкоагуляції крові. Так, у пацієнтів із ГКС, що є гомозиготами за мінорним алелем (A/A) за поліморфізмом G-7A гена MGP, синдром гіперкоагуляції виникає частіше, якщо у них  $IMT \geq 25$  кг/м<sup>2</sup> ( $P = 0,016$ ), вони не мають ожиріння ( $P = 0,028$ ) і хворі на цукровий діабет ( $P = 0,029$ ). У осіб із ГКС, що є гомозиготами за мінорним алелем (f/f) за поліморфізмом FokI гена VDR, синдром гіперкоагуляції виникає частіше у пацієнтів із дисліпопротеїнемією атерогенного характеру ( $P = 0,038$ ) та у хворих без цукрового діабету ( $P = 0,042$ ). Крім того, виявлений вплив на розвиток ГКК TaqI поліморфізму гена VDR у хворих із ГКС, які не палять ( $P = 0,011$ ).

Поділ хворих з ІАТІ на підгрупи за наявністю і відсутністю ознак гіперкоагуляції крові виявив асоціацію G-7A поліморфізму гена MGP із зазначеним синдромом (рис. 11). Співвідношення гомозигот за основним алелем (G/G), гетерозигот (G/A) і гомозигот за мінорним алелем (A/A) серед хворих з ішемічним інсультом, що мають синдром ГКК становило 34,1; 42,9; 23,1 %, тоді як у пацієнтів без ГКК відповідно 38,0; 55,7; 6,3 % ( $P = 0,009$ ). Таким чином, у хворих з ІАТІ, що мають генотип A/A за поліморфізмом G-7A гена MGP порушення коагуляційних властивостей крові розвиваються частіше, ніж у носіїв інших генотипів.

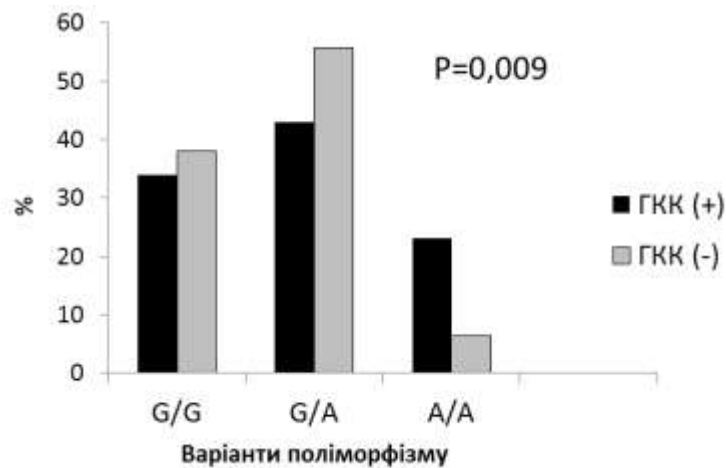


Рис. 11 Частот алельних варіантів гена MGP за поліморфізмом G-7A у хворих з ІАТІ з гіперкоагуляцією крові (чорні стовпчики) і з нормальним рівнем коагуляції (сірі стовпчики). P – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

За даними проведеного регресивного аналізу на залежність між G-7A поліморфізмом і ГКК у хворих з ІАТІ впливають стать, ІМТ, рівень артеріального тиску і факт паління. Так, у осіб жіночої статі, які є гомозиготами за мінорним алелем (A/A) ризик розвитку ГКК у 6,8 раза вищий, ніж у носіїв генотипу G/G ( $P = 0,027$ ). Гомозиготні за А-алелем пацієнти мають у 5,3 раза вищий ризик ГКК, ніж гомозиготи за G-алелем, якщо їх ІМТ більший ніж  $25 \text{ кг/м}^2$  ( $P = 0,017$ ), у 4,2 раза, якщо у них артеріальна гіпертензія ( $P = 0,022$ ), і у 4,1 раза, якщо вони не палять ( $P = 0,026$ ).

Аналіз з урахуванням факторів ризику дозволив виявити зв'язок із гіперкоагуляцією крові у деяких підгрупах пацієнтів за вивченими генотипами. Так, у чоловіків з інсультом, гомозиготних за основним алелем за поліморфізмом Thr83Ala гена MGP (Thr/Thr), імовірність розвитку ГКК у 4 рази вища, ніж у носіїв мінорного алеля (Thr/Ala+Ala/Ala) ( $P = 0,007$ ). У носіїв B/B генотипу за поліморфізмом BsmI гена VDR, які хворі на артеріальну гіпертензію ( $P = 0,024$ ), цукровий діабет ( $P = 0,019$ ) і мають дисліпопротіємію атерогенного характеру ( $P = 0,009$ ), синдром гіперкоагуляції крові розвивається частіше.

Виявлений зв'язок BsmI-ApaI-TaqI гаплотипів з розвитком синдрому ГКК у пацієнтів з ішемічним інсультом (рис. 12). Співвідношення гаплотипів baT, Bat і bAT у хворих без ознак ГКК становило 88,0; 6,7 і 5,3 %, у той час як у пацієнтів зі зменшеними показниками протромбінового часу і протромбінового індексу – 69,3; 15,9 і 14,8 %. Різниця розподілу гаплотипів була статистично значимою ( $P = 0,016$ ). Серед представників bAT гаплотипу з ІАТІ у 2,8 раза більше таких, які мають ознаки гіперкоагуляційного синдрому.

Асоціація досліджуваних гаплотипів із ГКК залежала від таких факторів, як стать ( $P = 0,013$ ), АТ ( $P = 0,041$ ), паління ( $P = 0,023$ ) та індекс атерогенності ( $P = 0,021$ ).

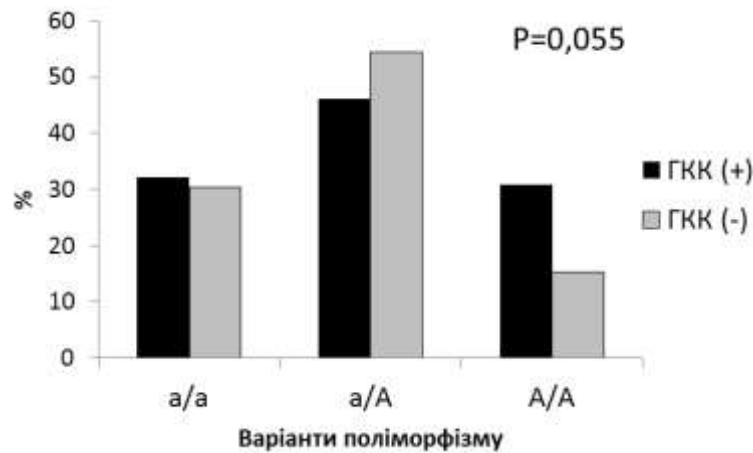


Рис. 12 Частота алельних варіантів ена VDR за поліморфізмами BsmI-ApaI-TaqI у хворих з ІАТІ з гіперкоагуляцією крові (чорні стовпчики) і з нормальним рівнем коагуляції (сірі стовпчики). P – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

Середня величина жодного з показників, що характеризують стан системи згортання крові, не залежала від поліморфізмів Arg325Gln гена GGCX, T2255C гена VKORC1 і Ser37Ala гена BMP-2. Відмінності між вивченими величинами у гомозигот за основним алелем, гетерозигот і гомозигот за мінорним алелем були статистично недостовірними ( $P > 0,005$ ).

Таким чином, порушення коагуляції крові є важливим патогенетичним механізмом тромботичних ускладнень атеро- й артеріосклерозу, у розвитку якого, безперечно, велику роль відіграє генетичний компонент.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуальної наукової проблеми – з'ясування ролі молекулярно-генетичних механізмів у розвитку склеротичних уражень кровоносних судин та їх ускладнень. На основі даних експериментальних досліджень та аналізу клінічного матеріалу встановлено зв'язок функціонального стану системи матричного Gla-протеїну і ряду однонуклеотидних поліморфізмів відповідних генів із кальцифікацією артеріальних судин і такими ускладненнями атеросклерозу, як гострий коронарний синдром та ішемічний атеротромботичний інсульт.

1. Блокування варфарином участі MGP у механізмах захисту тканин від процесів ектопічної кальцифікації призводить до розвитку вираженої кальцифікації аорти щурів уже через 96 годин від початку введення тваринам токсичних доз вітаміну D (300000 МО/кг). Сама по собі гостра інтоксикація вітаміном D ще не викликає у ці строки появи ознак значного обвапнення. Бісфосфонати (ЕГДК) істотно не впливають на частоту і вираженість кальцинозу аорти, що розвивається внаслідок поєднаного введення щурам вітаміну D і варфарину.
2. Порушення  $\gamma$ -карбоксилування MGP за допомогою варфарину призводить до стрімкого і значного зростання вмісту кальцію (у 34 рази) і фосфатів (у 30 разів) у тканинах судин D-гіпервітамінозних тварин, якщо порівнювати з чистою

D-вітамінною інтоксикацією. ЕГДК має певну ангіопротекторну дію, яка виявляє себе зменшенням темпів зростання вмісту кальцію і неорганічного фосфору в аорті щурів із гіпервітамінозом D. ЕГДК не запобігає розвиткові кальцифікації судин у тварин, які отримували разом із вітаміном D варфарин. Перші дні гострої D-вітамінної інтоксикації супроводжуються розвитком гіперкальціємії і гіперфосфатемії, на рівень якої не впливає введення тваринам варфарину. ЕГДК істотно зменшує вміст кальцію і фосфору у сироватці крові D-гіпервітамінозних тварин, проте повністю їх не нормалізує.

3. Гостра D-вітамінна інтоксикація викликає зростання активності лужної фосфатази (на 21 %) у тканинах артеріальних судин і зменшує їх екто-АТФазну активність (у 2 рази). При поєднаній дії високих доз вітаміну D і варфарину збільшення активності лужної фосфатази досягає найбільших значень. Посилення діяльності цього ензиму з одночасним зменшенням екто-АТФазної активності судинної стінки свідчить про порушення балансу між прокальциногенними і антикальциногенними ферментами, внаслідок чого створюються умови, що сприяють процесу кальцифікації артерій у тварин із D-вітамінною інтоксикацією і блокуванням функції системи MGP. Інтоксикація вітаміном D супроводжується накопиченням проміжних (гідропероксиди ліпідів) і кінцевих (основи Шиффа) продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) в аортальній стінці щурів. Функціональний стан системи MGP і бісфосфонати не впливають на активацію ПОЛ, зумовлену високими дозами вітаміну D.
4. Алельний поліморфізм генів системи MGP є важливим чинником спадкової схильності до розвитку склеротичних уражень артеріальних судин та їх ускладнень. Існує зв'язок між гострим коронарним синдромом (ГКС) і поліморфними варіантами генів MGP (G-7A), VDR (BsmI), GGCX (Arg325Gln) і VKORC1 (T2255C). Ризик ГКС у гомозигот за мінорним алелем для G-7A поліморфізму був вищим у 2,8 раза ( $P = 0,014$ ), ніж у носіїв основного алеля, а для BsmI ( $P = 0,031$ ), T2255C ( $P = 0,012$ ) і Arg325Gln ( $P = 0,037$ ) поліморфізмів приблизно у 2 рази, якщо порівнювати з гомозиготами за основним алелем. Виявлено асоціацію між ішемічним атеротромботичним інсультом (ІАТІ) і поліморфними варіантами генів MGP (G-7A) та VKORC1 (T2255C). У гомозигот за мінорним алелем A/A (G-7A поліморфізм) ризик ІАТІ у 2,6 раза більший, ніж у носіїв основного алеля (G/G + G/A) ( $P = 0,023$ ), а у гомозигот за мінорним алелем C/C (T2255C поліморфізм) – у 2,2 раза, якщо порівнювати з гомозиготами за основним алелем (T/T) ( $P = 0,013$ ).
5. Аналіз взаємодії між вивченими поліморфізмами дозволив створити класифікаційні моделі, кращою з яких визнано двокомпонентну модель, що включає поліморфізми G-7A і Thr83Ala гена MGP (прогностична здатність 63 % за методом MDR і 68 % – за методом “Random forest”). Збіг в однієї особи подібних за спрямованістю варіантів генотипів за зазначеними поліморфізмами асоціюється зі збільшенням ризику ГКС: у гетерозигот за обома поліморфізмами він підвищується у 2,1 раза, а в гомозигот за мінорними алелями – у 6,3 раза. Фенотипова ентропія взаємодії G-7A і Thr83Ala локусів становить 8 %, що підтверджує виражений синергічний ефект обох поліморфізмів.
6. Вплив генетичного чинника на розвиток кардіо- і цереброваскулярної патології має статеві особливості. Особи жіночої статі, гомозиготні за мінорним алелем A/A

(поліморфізм G-7A гена MGP), у 5,6 раза частіше хворіють на ГКС ( $P = 0,015$ ) і у 6,6 раза – на ІАТІ ( $P = 0,017$ ), ніж жінки-носії основного алеля (G/A+G/G). У чоловіків, носіїв В/В генотипу (поліморфізм BsmI гена VDR), ризик ГКС у 2,7 раза вищий, ніж у гомозигот за мінорним алелем (b/b) ( $P = 0,013$ ), а в осіб чоловічої статі, які є носіями С/С генотипу (поліморфізм T2255C гена VKORC1), ризик ІАТІ у 2,5 раза вищий, ніж в осіб із генотипом Т/Т ( $P = 0,023$ ).

7. Виявлено асоціацію ряду досліджених поліморфізмів із деякими факторами ризику ГКС: індексом маси тіла (ІМТ), артеріальною гіпертензією, палінням, стресовими професіями. ГКС виникає частіше в осіб з  $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$ , які мають генотип А/А (поліморфізм G-7A гена MGP), і в пацієнтів з  $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$ , які мають генотип В/В (поліморфізм BsmI гена VDR), якщо порівнювати з особами з іншими варіантами генотипу за цими поліморфізмами. Існує асоціація між G-7A поліморфізмом гена MGP і розвитком ГКС в осіб з підвищеним артеріальним тиском: у гомозигот за мінорним алелем (А/А) ГКС розвивається частіше, ніж у пацієнтів з іншими генотипами (G/G + G/A). Виявлено вплив поліморфізмів G-7A гена MGP і BsmI гена VDR на розвиток ГКС в осіб, які не палять: у гомозигот за мінорними алелями (А/А і В/В) ризик виникнення хвороби вищий. В осіб, які мають стресові професії, поліморфні варіанти генів GGCX і VKORC1 асоційовані з розвитком ГКС. Так, ризик ГКС у 4,5 раза більший ( $P = 0,020$ ) у гомозигот за мінорним алелем Gln/Gln (ген GGCX) і в 4 рази вищий ( $P = 0,011$ ) у носіїв С/С генотипу (ген VKORC1), ніж у гомозигот за основними алелями.
8. Установлено зв'язок між деякими вивченими поліморфізмами і факторами ризику ішемічного інсульту. В осіб із генотипом С/С (поліморфізм T2255C гена VKORC1), які мають  $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$ , ризик ІАТІ майже в 4 рази більший ( $P = 0,034$ ), ніж у гомозигот за основним алелем (Т/Т). Існує асоціація між BsmI-ApaI-TaqI гаплотипом гена VDR і розвитком ІАТІ в осіб із підвищеним артеріальним тиском: у носіїв baT гаплотипу частіше розвивається ішемічний інсульт, ніж у носіїв інших гаплотипів. Ризик ІАТІ у 3,2 раза вищий в осіб із нормальним артеріальним тиском, які є гетерозиготами (F/f) за Fok поліморфізмом гена VDR ( $P = 0,040$ ), і у 5 разів – у носіїв мінорного алеля Gln/Gln за поліморфізмом Arg325Gln гена GGCX ( $P = 0,014$ ), ніж у гомозигот за основними алелями. Виявлено вплив поліморфізмів G-7A гена MGP і T2255C гена VKORC1 на розвиток ІАТІ в осіб, які не палять: у гомозигот за мінорними алелями (відповідно А/А і С/С) ризик виникнення ІАТІ більший, ніж у носіїв інших варіантів генотипу за цими поліморфізмами.
9. Існує певний зв'язок між вивченими поліморфізмами генів і порушеннями ліпопротеїнового обміну у хворих із ГКС та ІАТІ. Хворі на ГКС із генотипами Т/С (поліморфізм T-138C гена MGP) і a/a (поліморфізм ApaI гена VDR) мали вищий, ніж носії інших генотипів, рівень тригліцеридів і ХС-ЛПДНГ. А в пацієнтів-чоловіків із генотипами b/B і B/B (поліморфізм BsmI гена VDR) рівень ХС-ЛПВГ був достовірно нижчий, ніж у гомозигот за основним алелем (b/b). Для хворих з ІАТІ, які мали у своєму геномі мінорний алель С (поліморфізм T-138C гена MGP), були характерні вищі, ніж у пацієнтів із генотипом Т/Т, значення індексу атерогенності, концентрації загального холестеролу і ХС-ЛПНГ. Натомість вміст антиатерогенного ХС-ЛПВГ у них, як і у пацієнтів, геном яких містить Ala-алель (поліморфізм Thr83Ala гена MGP), виявився нижчим. Жінки-

носії мінорного алеля (G/A+A/A) за поліморфізмом G-7A гена MGP мають вищі, ніж гомозиготи за основним алелем (G/G), показники загального ХС і ХС-ЛПНГ і нижчий рівень ХС-ЛПВГ. Це свідчить про те, що носії даних генотипів більш схильні до розвитку атеросклерозу як такого, так і до його ускладнень, серед яких ГКС і ІАТІ.

10. Поліморфні варіанти деяких вивчених генів мають зв'язок із порушеннями коагуляції крові у хворих з ІАТІ. Ризик розвитку синдрому гіперкоагуляції крові (ГКК) у 2,7 раза більший у пацієнтів із генотипом A/A за поліморфізмом ApaI гена VDR, ніж у гомозигот за основним алелем ( $P = 0,032$ ). ГКК достовірно частіше виникає у носіїв A/A генотипу за поліморфізмом G-7A гена MGP, ніж у носіїв двох інших варіантів генотипу. Генотип A/A збільшує ризик ГКК у жінок у 6,8 раза ( $P = 0,027$ ), у пацієнтів з  $IMT \geq 25$   $kg/m^2$  – у 5,3 раза ( $P = 0,017$ ), в осіб з артеріальною гіпертензією – у 4,2 раза ( $P = 0,022$ ), а в тих, хто не палить, – у 4,1 раза ( $P = 0,026$ ), якщо порівнювати з носіями генотипу G/G відповідних категорій пацієнтів. У чоловіків, гомозиготних за основним алелем за поліморфізмом Thr83Ala гена MGP, імовірність розвитку ГКК у 4,2 раза вища, ніж у носіїв мінорного алеля ( $P = 0,001$ ). У носіїв B/B генотипу за поліморфізмом BsmI гена VDR, які хворі на артеріальну гіпертензію, цукровий діабет і мають порушення ліпопротеїнового обміну, ГКК розвивається частіше, ніж у гетерозигот і гомозигот за основним алелем.

11. Функціональний стан природних антикальциногенних механізмів і поліморфізм генів системи MGP мають стосунок до виникнення склеротичних уражень артеріальних судин і розвитку тяжких їх ускладнень (ГКС, ІАТІ). Деякі варіанти поліморфізму генів цієї системи можуть вважатися генетичними чинниками серцево-судинної патології, що впливають як на механізми розвитку патологічних процесів, так і на фактори їх ризику.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Гарбузова В. Ю. Загальні механізми токсичної дії вітаміну D / В. Ю. Гарбузова, Я. В. Хижня // Вісник Сумського державного університету. Серія Медицина. – 2009. – Т. 1, № 2. – С. 49–61. *(Здобувач провів огляд літератури, проаналізував можливі механізми токсичної дії вітаміну D).*
2. Гарбузова В. Ю. Механізми розвитку склеротичних уражень судинної стінки за умов гіпервітамінозу D / В. Ю. Гарбузова, Л.О. Лось // Вісник Сумського державного університету. Серія Медицина. – 2010. – Т. 1, № 2. – С. 5–10. *(Здобувач провів огляд літератури, проаналізував сучасні механізми розвитку склеротичних уражень кровоносних судин за умов D-вітамінної інтоксикації).*
3. Гарбузова В. Ю. Вплив ангіопротекторів з різними механізмами дії на розвиток дистрофічних і склеротичних уражень судинної стінки / В. Ю. Гарбузова, О. А. Обухова // Вісник Сумського державного університету. Серія Медицина. – 2011. – Т. 2, № 1. – С. 12–22. *(Здобувач провів огляд літератури, проаналізував вплив ангіопротекторів на розвиток склеротичних уражень кровоносних судин).*
4. Атаман А. В. Частота одонуклеотидних поліморфізмів ( $T^{138} \rightarrow C$ ,  $G^{-7} \rightarrow A$ ,  $Thr_{83} \rightarrow Ala$ ) гена матричного Gla-протеїна в українській популяції / А. В. Атаман, В. Ю. Гарбузова, Е. И. Дубовик // Курский научно-практ. вестник



- «Человек и его здоровье». – 2011. – № 3. – С. 5–12. (Здобувач самостійно провів молекулярно-генетичні дослідження, сформулював висновки, підготував статтю до друку).
5. Частота алельних варіантів гена матричного Gla-протеїну (MGP) у хворих з гострим коронарним синдромом / В. Ю. Гарбузова, В. Л. Гур'янова, О. М. Пархоменко, В. Є. Досенко, О. В. Атаман // Фізіол. журнал. – 2011. – Т. 57, № 3. – С. 16–24. (Здобувач провів огляд літератури, самостійно виконав молекулярно-генетичні дослідження, сформулював висновки, підготував статтю до друку).
  6. Гарбузова В. Ю. Матриксний Gla-протеїн (MGP) та його роль в кальцифікації судинної стінки / В. Ю. Гарбузова, О. В. Атаман // Фізіол. журнал. – 2011. – Т. 57, № 4. – С. 96–112. (Здобувач провів огляд літератури, проаналізував можливі механізми антикальциногенної дії MGP, підготував статтю до друку).
  7. Атаман Ю. О. Застосування дискримінантного аналізу для оцінки кальцифікації артерій нижніх кінцівок / Ю. О. Атаман, В. Ю. Гарбузова, О. В. Атаман // Здобутки клініч. та експерим. медицини. – 2011. – № 2. – С. 162–165. (Здобувач провів статистичний аналіз результатів).
  8. Association of matrix Gla protein gene allelic polymorphisms (G7>A, T-138>C and Thr83>Ala) with acute coronary syndrome in the Ukrainian population / V. Yu. Garbuzova, V. L. Gurianova, D. A. Stroy, V. E. Dosenko, A. N. Parkhomenko, A. V. Ataman // Experimental & Clinical Cardiology. – 2012. – Vol. 17, № 1. – P. 30–33. (Здобувач самостійно виконав молекулярно-генетичні дослідження, проаналізував можливі механізми впливу поліморфізмів гена MGP на розвиток гострого коронарного синдрому, сформулював висновки).
  9. Investigation of the MGP promoter and exon 4 polymorphisms in patients with ischemic stroke in the Ukrainian population / A. V. Ataman, V. Yu. Garbuzova, Yu. A. Ataman, O. I. Matlaj, O. A. Obukhova // Journal of Cell and Molecular Biology. – 2012. – Vol. 10, № 1. – С. 19–26. (Здобувач підготував літературний огляд з тематики статті, самостійно провів молекулярно-генетичні дослідження, проаналізував можливі механізми впливу вивчених поліморфізмів гена MGP на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту).
  10. Garbuzova V. Yu. Matrix Gla-Protein and Its Role in Vascular Calcification / V. Yu. Garbuzova, A. V. Ataman // International Journal of Physiology and Pathophysiology. – 2012. – Vol. 3, № 1. – P. 79–99. (Здобувач провів огляд літератури, проаналізував можливі механізми реалізації антикальциногенних властивостей MGP, підготував статтю до друку).
  11. The Frequency of Allelic Polymorphism of Matrix Gla-Protein Gene in Patients with Acute Coronary Syndrome / V. Yu. Garbuzova, V. L. Gurianova, A. N. Parkhomenko, V. E. Dosenko, A. V. Ataman // International Journal of Physiology and Pathophysiology. – 2012. – Vol. 3, № 2. – P. 101–110. (Здобувач самостійно виконав молекулярно-генетичні дослідження, проаналізував можливі механізми впливу поліморфізмів гена MGP на розвиток гострого коронарного синдрому, сформулював висновки, підготував статтю до друку).
  12. Атаман Ю. А. Применение метода логистической регрессии для оценки кальцификации артерий нижних конечностей / Ю. А. Атаман, А. В. Атаман, В. Ю. Гарбузова // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2012. – № 2. – С. 44–48. (Здобувач провів статистичний аналіз результатів).

13. Поліморфізм гена матричного Gla-протеїну (MGP) у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом / В. Ю. Гарбузова, О. І. Матлай, Ю. О. Атаман, Є. І. Дубовик, А. О. Бороденко, О. А. Обухова, О. В. Атаман // Фізіол. журнал. – 2012. – Т. 58, № 5. – С. 14–21. *(Здобувач самостійно виконав молекулярно-генетичні дослідження, проаналізував можливі механізми впливу поліморфізмів гена MGP на розвиток ішемічного інсульту, сформулював висновки, підготував статтю до друку).*
14. Гарбузова В. Ю. Вивчення деяких показників мінерального обміну в сироватці крові і тканинах аорти щурів за умов гіпервітамінозу D та коригуючих впливів з різними механізмами дії / В. Ю. Гарбузова // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 4, Т. 1 (96). – С. 90–95.
15. Гарбузова В. Ю. Вивчення активності про- і антикальциногенних ферментів судинної стінки щурів за умов гіпервітамінозу D та коригуючих впливів з різними механізмами дії / В. Ю. Гарбузова // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 4, Т. 2 (97). – С. 79–86.
16. Зв'язок G-7A поліморфізму гена матричного Gla-протеїну з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі / В. Ю. Гарбузова, Ю. О. Атаман, О. І. Матлай, Є. І. Дубовик, О. В. Атаман // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 1 (91). – С. 72–76. *(Здобувач провів молекулярно-генетичні дослідження, висунув гіпотезу щодо можливого впливу поліморфізму промотора гена MGP на механізми склеротичних уражень артеріальних судин, підготував статтю до друку).*
17. Аналіз асоціації T-138C поліморфізму гена матричного Gla-протеїну з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском / В. Ю. Гарбузова, Ю. О. Атаман, Є. І. Дубовик, О. В. Атаман // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 2, Т. 1 (92). – С. 46–49. *(Здобувач самостійно виконав молекулярно-генетичні дослідження, сформулював висновки, підготував статтю до друку).*
18. Аналіз зв'язку FokI поліморфізму гена рецептора вітаміну D з ішемічним інсультом в осіб різної статі / О. А. Обухова, В. Ю. Гарбузова, Ю. О. Атаман, А. О. Бороденко, О. В. Атаман // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 3, Т. 1 (94). – С. 85–89. *(Здобувач самостійно виконав молекулярно-генетичні дослідження, сформулював висновки, підготував статтю до друку).*
19. Обухова О. А. Однонуклеотидний поліморфізм BsmI гена рецептора вітаміну D у хворих з гострими розладами мозкового кровообігу / О. А. Обухова, В. Ю. Гарбузова, Ю. О. Атаман // Світ медицини та біології. – 2012. – № 4. – С. 40–44. *(Здобувач особисто провів молекулярно-генетичні дослідження, проаналізував можливі причини зв'язку між поліморфізмом гена і гострими розладами мозкового кровообігу).*
20. Аналіз асоціації T-138C поліморфізму гена матричного Gla-протеїну з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі / В. Ю. Гарбузова, Ю. О. Атаман, Є. І. Дубовик, А. О. Бороденко, О. І. Матлай, О. А. Обухова, О. В. Атаман // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2012. – Т. 7, № 1. – С. 139–145. *(Здобувач проаналізував літературу з тематики статті, виконав молекулярно-генетичні дослідження, провів аналіз одержаних результатів, сформулював висновки).*

21. Зв'язок Thr83Ala поліморфізму гена матричного Gla-протеїну з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском / О. В. Атаман, В. Ю. Гарбузова, Ю. О. Атаман, Є. І. Дубовик // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2012. – Т. 7, № 1. – С. 119–124. *(Здобувач проаналізував літературу з тематики статті, виконав молекулярно-генетичні дослідження, підготував статтю до друку).*
22. Частота поліморфізму AraI гена рецептора вітаміну D у хворих з ішемічним інсультом / В. Ю. Гарбузова, О. А. Обухова, Ю. О. Атаман, Є. І. Дубовик, В. В. Будко, О. В. Атаман // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2012. – Т. 7, № 2. – С. 142–148. *(Здобувач виконав молекулярно-генетичні дослідження, сформулював висновки, підготував статтю до друку).*
23. Гарбузова В. Ю. Вивчення частоти алельних варіантів FokI поліморфізму гена рецептора вітаміну D у хворих з гострим коронарним синдромом / В. Ю. Гарбузова // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології : зб. наук. праць. – Київ; Луганськ, 2012. – Вип. 5 (113). – С. 17–26.
24. Гарбузова В. Ю. Аналіз асоціації FokI поліморфізму гена рецептора вітаміну D з факторами ризику гострого коронарного синдрому / В. Ю. Гарбузова // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології : зб. наук. праць. – Київ; Луганськ, 2012. – Вип. 6 (114). – С. 29–39.
25. Аналіз асоціації поліморфних варіантів TaqI гена рецептора вітаміну D з ішемічним інсультом у хворих різної статі / В. Ю. Гарбузова, О. А. Обухова, Ю. О. Атаман, А. О. Бороденко, Є. І. Дубовик, О. В. Атаман // Перспективи медицини та біології. – 2012. – Т. IV, № 2. – С. 48–56. *(Здобувач самостійно виконав молекулярно-генетичні дослідження, провів аналіз одержаних результатів, сформулював висновки, підготував статтю до друку).*
26. Гарбузова В. Ю. Частота AraI поліморфізму гена рецептора вітаміну D у хворих з гострим коронарним синдромом / В. Ю. Гарбузова, Г. Ф. Ткач // Український морфологічний альманах. – 2012. – Т. 10, № 4. – С. 19–22. *(Здобувач особисто провів молекулярно-генетичні дослідження, проаналізував можливі причини зв'язку між поліморфізмом гена і гострими розладами коронарного кровообігу, сформулював висновки).*
27. Аналіз асоціації G-7A поліморфізму гена матричного Gla-протеїну з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб з нормальним і підвищеним рівнем коагуляції крові / В. Ю. Гарбузова, Ю. О. Атаман, Є. І. Дубовик, О. В. Атаман // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2012. – № 2 (28). – С. 45–48. *(Здобувач проаналізував літературу з тематики статті, провів молекулярно-генетичні дослідження, сформулював можливі причини зв'язку між поліморфізмом гена і коагулянтною системою крові).*
28. Аналіз асоціації G-7A поліморфізму гена матричного Gla-протеїну з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском / В. Ю. Гарбузова, Ю. О. Атаман, Є. І. Дубовик, А. О. Бороденко, О. В. Атаман // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2012. – № 1 (16). – С. 37–39. *(Здобувач провів огляд літератури, самостійно виконав молекулярно-генетичні дослідження, підготував статтю до друку).*
29. Аналіз зв'язку Thr83Ala поліморфізму гена матричного Gla-протеїну з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі / В. Ю. Гарбузова, Ю. О. Атаман, О. І. Матлай, О. А. Обухова, Є. І. Дубовик, А. О. Бороденко,

- О. В. Атаман // Клінічна та експериментальна патологія. – 2012. – Т. XI, № 1 (39). – С. 33–37. (Здобувач провів огляд літератури, самостійно виконав молекулярно-генетичні дослідження, підготував статтю до друку).
30. Атаман О. В. Аналіз асоціації Bsm-Ara-Taq-гаплотипів гена рецептора вітаміну D з ішемічним інсультом у пацієнтів різної статі / О. В. Атаман, В. Ю. Гарбузова, О. А. Обухова // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2012. – № 4. – С. 58–64. (Здобувач особисто провів молекулярно-генетичні дослідження, проаналізував можливі причини зв'язку між гаплотипами гена VDR і статтю у пацієнтів гострими розладами мозкового кровообігу, сформулював висновки).
31. Thr83Ala polymorphism of MGP gene exon is not related to ischemic atherothrombotic stroke in the north-eastern region of Ukraine / V. Yu. Garbuzova, Y. A. Ataman, O. I. Matlay, Ye. I. Dubovyk, A. O. Borodenko, T. S. Mazur, A. V. Ataman // Вісник Сумського державного університету: серія «Медицина». – 2012. – № 2. – С. 42–49. (Здобувач провів огляд літератури, самостійно виконав молекулярно-генетичні дослідження, підготував статтю до друку).
32. Взаємозв'язок енергодефіцитних, пероксидних і кальцієвих механізмів у розвитку кальцифікації судинної стінки / О. В. Атаман, В. Ю. Гарбузова, Р. Ф. Наумко, Ю. О. Атаман, О. А. Обухова, Л. О. Лось, Я. В. Хижня // Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів: V Національний конгрес патофізіологів України, 17–19 вересня 2008 р. : матер. конгр. / Запорізький державний медичний університет. – Запоріжжя, 2008. – С. 99.
33. Роль порушень фосфорно-кальцієвого обміну в патогенезі артеріосклерозу Менкеберга / О. В. Атаман, В. Ю. Гарбузова, Ю. О. Атаман, Л. О. Лось, О. А. Обухова, Я. В. Хижня // VII читання ім. В.В. Підвисоцького : наукова конференція, 22–23 травня 2008 р. : матер. конф. / Одеський національний медичний університет. – Одеса, 2008. – С. 26–27.
34. Связь однонуклеотидных полиморфизмов гена матриксного Gla-протеина с острым коронарным синдромом в украинской популяции / А. В. Атаман, В. Ю. Гарбузова, В. Е. Досенко, А. Н. Пархоменко // Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии : Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием, 17–19 мая 2011 г. : матер. конф. / Курский государственный медицинский университет. – Курск, 2011. – С. 27–28.
35. Дубовик Є. І. Вивчення зв'язку деяких факторів ризику гострого коронарного синдрому з поліморфізмом G<sup>-7</sup>→A гена матриксного Gla-протеїну (MGP) / Є. І. Дубовик, В. Ю. Гарбузова // Нейроендокринні та імунні процеси в нормі та патології: від теорії до практики: Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, 27–28 вересня 2011 р. : матер. конф. / Запорізький державний медичний університет. – Запоріжжя, 2011. – С. 72.
36. Dubovyk E. I. Frequency of the MGP single nucleotide polymorphisms (G<sup>-7</sup>→A, T<sup>-138</sup>→C, Thr<sub>83</sub>→Ala) in Ukrainian population / E. I. Dubovyk, V. Y. Garbuzova // Molecular biology : advanced and perspectives: 4<sup>th</sup> International IMBG conference for young scientists, september 14–17, 2011: mater. of the conf. / Institute of Molecular Biology and Genetics. – Kyiv, 2011. – P. 125.

37. Гарбузова В. Ю. Вивчення  $T^{138} \rightarrow C$  поліморфізму промотора матричного Gla-протеїну у практично здорових донорів в українській популяції / В. Ю. Гарбузова, Є. І. Дубовик // Актуальні питання теоретичної медицини : науково-практична конференція студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів, 20–22 квітня, 2011 р. : матер. конф. / Сумський державний університет. – Суми, 2011. – С. 57–58.
38. Гарбузова В. Ю. Вивчення частоти алельних варіантів промотора гена матричного Gla-протеїну (MGP) у хворих з гострим коронарним синдромом (ГКС) в українській популяції / В. Ю. Гарбузова, О. В. Атаман, Є. І. Дубовик // Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : IV науково-практична конференція, присвячена 80-річчю з дня народження проф. О.О. Маркової, 10–11 листопада 2011 р. : матер. конф. / Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського. – Тернопіль, 2011. – С. 170–171.
39. Гарбузова В. Ю. Частота алельних варіантів гена матричного Gla-протеїну (MGP) в українській популяції / В. Ю. Гарбузова, Є. І. Дубовик, Т. С. Мазур // Актуальні питання теоретичної медицини : науково-практична конференція студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів, присвячена 20-річчю заснування медичного інституту, 10–12 квітня 2012 р. : матер. конф. / Сумський державний університет. – Суми, 2012. – С. 70–71.
40. Association of matrix Gla-protein gene allelic polymorphisms with acute coronary syndrome in the Ukrainian population / A. O. Borodenko, Ye. I. Dubovyk, V. Yu Garbuzova, A. V. Ataman // Actual problems of fundamental and clinical medicine (in english) : науково-практична конференція студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів, присвячена 20-річчю заснування медичного інституту, 10–12 квітня 2012 р. : матер. конф. / Сумський державний університет. – Суми, 2012. – С. 302.
41. Гарбузова В. Ю. Частота алельних варіантів гена матричного Gla-протеїну (MGP) у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом / В. Ю. Гарбузова, Є. І. Дубовик, О. В. Атаман // Проблеми спадкової та мультифакторної патології: науково-практична конференція з міжнародною участю, 3–4 квітня 2012 р. : матер. конф. / Національна медична академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика. – Київ, 2012. – С. 25–26.
42. Вивчення частоти алельних варіантів гена матричного Gla-протеїну у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом / В. Ю. Гарбузова, О. А. Обухова, Ю. О. Атаман, О. В. Атаман // Науково-практична конференція, присвяченої 11-м читанням ім. В. В. Підвисоцького, 4–25 травня 2012 р. : матер. конф. / Український науково-дослідний інститут медицини транспорту. – Одеса, 2012. – С. 25–26.
43. Зв'язок поліморфізмів гена матричного Gla-протеїну з атеротромботичним варіантом ішемічного інсульту та деякими факторами його ризику / О. В. Атаман, В. Ю. Гарбузова, О. І. Матлай, Ю. О. Атаман, А. О. Бороденко, Є. І. Дубовик // Від експериментальних досліджень до клінічної патофізіології : VI Національний конгрес патофізіологів України, 3–5 жовтня 2012 р. : матер.

конгр. / Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15, № 3. – С. 303.

44. Аналіз асоціації BsmI поліморфізму гена рецептора вітаміну D (VDR) у хворих з гострим коронарним синдромом / О. В. Атаман, В. Ю. Гарбузова, О. А. Обухова, Є. І. Дубовик // Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: V науково-практична конференція, 1–2 листопада 2012 р. : матер. конф. / Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського. – Тернопіль, 2012. – С. 157.

## АНОТАЦІЯ

**Гарбузова В. Ю. Роль системи матричного Gla-протеїну в патогенезі склеротичних уражень артерій та їх ускладнень (експериментальні й молекулярно-генетичні дослідження).** – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Державний заклад "Луганський державний медичний університет" МОЗ України, Луганськ, 2013.

Дисертація присвячена вивченню ролі системи матричного Gla-протеїну (MGP) в патогенезі серцево-судинних захворювань.

Установлено, що блокування варфарином участі MGP у механізмах захисту тканин від процесів ектопічної кальцифікації призводить до розвитку вираженого обвапнення аорти через 96 годин від початку введення щурам токсичних доз вітаміну D (300000 МО/кг). Показано, що додаткові умови для кальцифікації за умов гострої D-вітамінної інтоксикації створюються за рахунок порушення балансу між про- і антикальциногенними ферментами судинної стінки: в тканинах артеріальних судин активність лужної фосфатази зростає на 21 %, а екто-АТФази зменшується у 2 рази порівняно з контролем.

Доведено, що алельний поліморфізм генів системи MGP є важливим чинником спадкової схильності до розвитку склеротичних уражень артеріальних судин та їх ускладнень. Для прогнозування ризику гострого коронарного синдрому (ГКС) створено двокомпонентну класифікаційну модель, яка включає поліморфізми G-7A і Thr83Ala гена MGP і має прогностичну здатність понад 60 %. Збіг в однієї особи подібних за спрямованістю варіантів генотипів за зазначеними поліморфізмами асоціюється зі збільшенням ризику ГКС: у гетерозигот за обома поліморфізмами він підвищується у 2,1 рази, а в гомозигот за мінорними алелями – у 6,3 рази.

Виявлено асоціацію ряду досліджених поліморфізмів із деякими факторами ризику атеросклерозу: статтю, індексом маси тіла, артеріальною гіпертензією, порушеннями ліпопротеїнового обміну і коагуляції крові, палінням, стресовими професіями,

**Ключові слова:** матричний Gla-протеїн, кальцифікація, алельний поліморфізм, гострий коронарний синдром, ішемічний атеротромботичний інсульт.

## АННОТАЦИЯ

**Гарбузова В. Ю. Роль системы матриксного Gla-протеина в патогенезе склеротических поражений артерий и их осложнений (экспериментальные и молекулярно-генетические исследования).** – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Государственное учреждение "Луганский государственный медицинский университет" МЗ Украины, Луганск, 2013.

Диссертация посвящена изучению роли системы матриксного Gla-протеина (MGP) в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний.

Установлено, что блокирование варфарином участия MGP в механизмах защиты тканей от процессов эктопической кальцификации приводит к развитию выраженного обызвествления аорты через 96 часов от начала введения крысам токсических доз витамина D (300000 МЕ / кг): содержание кальция в тканях сосудов увеличивается в 34 раза и фосфатов в 30 раз по сравнению с чистой D-витаминной интоксикацией. Показано, что дополнительные условия для кальцификации при острой D-витаминной интоксикации создаются за счет нарушения баланса между про- и антикальциногенными ферментами сосудистой стенки: в тканях артериальных сосудов активность щелочной фосфатазы возрастает на 21 %, а экто-АТФазы снижается в 2 раза по сравнению с контролем. Интоксикация витамином D сопровождается накоплением продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в аортальной стенке крыс. Функциональное состояние системы MGP и бисфосфонаты не влияют на активацию ПОЛ, обусловленную высокими дозами витамина D.

Доказано, что аллельный полиморфизм генов системы MGP является важным фактором наследственной предрасположенности к развитию склеротических поражений артериальных сосудов и их осложнений. Риск острого коронарного синдрома (ОКС) у гомозигот по минорному аллелю для G-7A полиморфизма гена MGP в 2,8 раза выше, чем у носителей основного аллеля, а для BsmI (ген VDR), T2255C (ген VKORC1) и Arg325Gln (ген GGCX) полиморфизмов примерно в 2 раза по сравнению с гомозиготами по основному аллелю. Риск ишемического атеротромботического инсульта (ИАТИ) у гомозигот по минорному аллелю A/A (G-7A полиморфизм) в 2,6 раза больше, чем у носителей основного аллеля, а у гомозигот по минорному аллелю C/C (T2255C полиморфизм) в 2,2 раза, если сравнивать с гомозиготами по основному аллелю.

Для прогнозирования риска ОКС создана двухкомпонентная классификационная модель, которая включает полиморфизмы G-7A и Thr83Ala гена MGP и имеет прогностическую способность более 60 %. Совпадение у индивидуума сходных по направленности вариантов генотипов по указанным полиморфизмам ассоциируется с увеличением риска ОКС: у гетерозигот по обоим полиморфизмам он повышается в 2,1 раза, а у гомозигот по минорным аллелям – в 6,3 раза.

Влияние генетического фактора на развитие кардио- и цереброваскулярной патологии имеет половые особенности. Лица женского пола, гомозиготные по минорному аллелю A/A (полиморфизм G-7A гена MGP), в 5,6 раза чаще страдают ОКС и в 6,6 раза – ИАТИ, чем женщины-носительницы основного аллеля (G/A +

G/G). У мужчин, носителей В/В генотипа (полиморфизм BsmI гена VDR), риск ОКС в 2,7 раза выше, чем у гомозигот по минорному аллелю (b/b), а у лиц мужского пола, которые являются носителями С/С генотипа (полиморфизм T2255C гена VKORC1), риск ИАТИ в 2,5 раза выше, чем у лиц с генотипом Т/Т.

Обнаружены ассоциации ряда исследованных полиморфизмов с некоторыми факторами риска атеросклероза: индексом массы тела, артериальной гипертензией, нарушениями липопротеинового обмена и свертываемости крови, курением, стрессовыми профессиями.

**Ключевые слова:** матриксный Gla-протеин, кальцификация, аллельный полиморфизм, острый коронарный синдром, ишемический атеротромботический инсульт.

## SUMMARY

**Garbuzova V. Yu. Role of matrix Gla-protein system in the pathogenesis of arterial sclerotic lesions and their complications (experimental and molecular-genetic studies).** – Manuscript.

The thesis for a doctoral degree in biological sciences in specialty 14.03.04 – Pathological Physiology. – State Institution "Lugansk State Medical University". – Lugansk, 2013.

The thesis is devoted to the study of matrix Gla-protein (MGP) system role in the pathogenesis of cardiovascular diseases.

It was established that blocking MGP participation in the mechanisms of protecting tissues from ectopic calcification by warfarin leads to pronounced calcification of aorta after 96 hours from the start of injecting toxic doses of vitamin D (300000 IU / kg) in rats. It was shown that the additional conditions for calcification under acute vitamin D-intoxication are created by an imbalance between pro- and anticalcinogenic enzymes of vascular wall: alkaline phosphatase activity increases by 21 %, and ecto-ATPase activity decreases 2 times as compared with controls in tissues of blood vessels.

It was proved that allelic gene polymorphism of MGP system is an important factor in genetic predisposition to the development of sclerotic lesions of arteries and their complications. To predict the risk of acute coronary syndrome (ACS) a two-component classification model was created. This model includes polymorphisms G-7A and Thr83Ala of MGP gene and its predictive capacity is over 60 %. Coincidence similar in orientation variants of genotypes for these polymorphisms in one person is associated with increased risk of ACS: in heterozygotes for both polymorphisms it is increased 2.1 times, and in homozygotes for the minor alleles – 6.3 times.

The association of the studied polymorphisms with some risk factors for atherosclerosis was discovered: sex, body mass index, hypertension, disorders of lipoprotein metabolism and blood coagulation, smoking, stressful occupations.

**Key words:** matrix Gla-protein, calcification, allelic polymorphism, acute coronary syndrome, atherothrombotic ischemic stroke.