

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
МЕДИЧНИЙ ІНСТИТУТ**

---

*На правах рукопису*

**Дубовик Євген Іванович**

УДК: 616.13-004.6:547.96(043.3)

**РОЛЬ АЛЕЛЬНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА ВІТАМІН К-  
ЕПОКСИД РЕДУКТАЗИ У РОЗВИТКУ ІШЕМІЧНОГО  
АТЕРОТРОМБОТИЧНОГО ІНСУЛЬТУ**

14.01.15 – нервові хвороби

**Робота на здобуття кваліфікаційного ступеня магістра**

**Науковий керівник –  
Потапов Олександр Олександрович,  
професор, доктор медичних наук,  
завідувач кафедри нейрохірургії  
та неврології**

Суми – 2015

## ЗМІСТ

С.

Перелік умовних скорочень .....	4
Вступ .....	6
<b>Розділ 1</b> Огляд літератури. ....	12
1.1 Структура і функція вітамін К епоксид редуктази. ....	12
1.2 Поліморфізм гена вітамін К епоксид редуктази та його зв'язок із розвитком серцево-судинних хвороб. ....	16
1.3 Роль генетичного поліморфізму у патогенезі ішемічного атеротромботичного інсульту. ....	21
 <b>Розділ 2</b> Матеріали і методи дослідження. ....	 27
2.2 Характеристика клінічного матеріалу .....	27
2.3 Молекулярно-генетичні дослідження .....	30
2.4 Методи статистичного аналізу .....	32
 <b>Розділ 3</b> Зв'язок поліморфізму гена VKORC1 з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту .....	 34
3.1 T2255C поліморфізм гена VKORC1 .....	34
3.2 G3730A поліморфізм гена VKORC1 .....	44
 <b>Розділ 4</b> Зв'язок поліморфізму гена VKORC1 із порушеннями ліпопротеїнового обміну у хворих із ішемічним атеротромботичним інсультом. ....	  51
 <b>Розділ 5</b> Вплив поліморфізму гена VKORC1 на порушення коагуляції крові як патогенетичного механізму розвитку ішемічного атеротромботичного	

інсульту. . . . . 57

**Розділ 6** Значення поліморфізму гена VKORC1 у розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту та його ускладнень (аналіз і узагальнення результатів дослідження) . . . . . 63

Висновки . . . . . 72

Практичні рекомендації . . . . . 74

Список використаних джерел . . . . . 75

Додатки . . . . . 91

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

АГ – артеріальна гіпертензія

АТ – артеріальний тиск

АТФ – аденозинтрифосфорна кислота

ГКК – гіперкоагуляція крові

ГМК – гладкі м'язові клітини

ДАТ – діастолічний артеріальний тиск

ДАХ – дисліпідемія атерогенного характеру

ІАТІ – ішемічний атеротромботичний інсульт

ІМТ – індекс маси тіла

мРНК – матрична рибонуклеїнова кислота

ГПМК – гостре порушення мозкового кровообігу

ПАТ – пульсовий артеріальний тиск

ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів

САТ – систолічний артеріальний тиск

СрАТ – середній артеріальний тиск

ХС – холестерол

ХС-ЛПВГ – холестерол ліпопротеїдів високої густини

ХС-ЛПДНГ – холестерол ліпопротеїдів дуже низької густини

ХС-ЛПНГ – холестерол ліпопротеїдів низької густини

ЦД – цукровий діабет

А – аденін

С – цитозин

Г – гуанін

GGCX –  $\gamma$ -глутамілкарбоксилаза

Gla –  $\gamma$ -карбоксиглутамінова кислота

MGP – матриксний Gla-протеїн

SNP – однонуклеотидний поліморфізм

T – тимін

TGF- $\beta$  – трансформуючий фактор росту- $\beta$

VDR – рецептор вітаміну D

VKOR – вітамін K-епоксидредуктазний комплекс

3'-UTR – 3'-кінцева ділянки, що не транлюється

## ВСТУП

### Актуальність теми

Говорячи про цінність людського життя неможливо перебільшити, як неможливо переоцінити і розмір його втрати. Тисячі хвороб щодня забирають людські життя, визначаючи тим самим основні пріоритети та напрями розвитку медичної науки, завдання якої, у першу чергу, і полягає у збереженні життя людини.

На теперішній час «трагічним лідером» у світовій структурі смертності є хвороби серцево-судинної системи [56, 85]. Саме через них по всій планеті щороку помирає близько 17,3 млн. людей. З них від інсульту щорічно гине понад 6,2 млн. [27, 51, 101]. В Україні за рік трапляється понад 111 тис. нових випадків інсультів, 40 тис. з яких закінчується смертю пацієнта протягом першого року. Інші помирають у наступні 3 роки, або на завжди лишаються інвалідами [2]. Вражаючим є і той факт, що дана хвороба почала все частіше вражати людей середнього та молодого віку і на сьогодні є причиною третини випадків інвалідності серед працездатного населення [6]. Слід також зазначити, що у структурі інсультів понад 75% від усіх випадків в нашій країні припадає на інсульти ішемічного генезу [4].

Пошук способів боротьби з таким могутнім ворогом вимагає від вчених детального заглиблення у найдрібніші аспекти причинності розвитку зазначеного захворювання та дослідження найтонших механізмів різноманітних ланок його патогенезу.

Серед причин ішемічного атеротромботичного інсульту вагомого значення сьогодні надають процесам кальцифікації судинної стінки та порушенням функціонування системи гемостазу, що, у свою чергу, стає причиною артеріального тромбозу [69, 81, 113]. Відомо, що низка білків, які забезпечують функціонування системи коагуляції (фактори згортання II, VII, IX, X), системи фібринолізу (протеїни C, S, Z), та запобігають ектопічній мінералізації судинної стінки (MGP), проходить у рамках посттрансляційної

модифікації фази активації у, так званому, циклі вітаміну К [108]. Завдяки цьому залишки глютамінової кислоти в амінокислотних послідовностях наведених вище протеїнів перетворюються на залишки  $\gamma$ -карбоксихлутамінової кислоти, переводячи таким чином білки із неактивної в активну форму. Функціонування самого циклу вітаміну К неможливе без вітамін К-епоксидредуктази (VKOR) – фермента, дія якого спрямована на постійне відновлення окиснених форм вітаміну К [127]. Останнє дає можливість припустити, що дефекти функціонування цього ензима може стати відправною точкою у спотвореній реалізації молекулярного каскаду активації вітамін К-залежних білків, що в кінцевому результаті стане причиною тромбозів і кальцифікації стінки судин та одного з їх найтяжчих ускладнень – інфаркту головного мозку.

Потужність та успіх сучасної науки багато в чому визначається складністю та технологічністю методів, які вчений використовує для вирішення поставлених задач. Новітня методична база медико-біологічної науки дозволяє занурюватись у вивчення структури генетичної інформації та молекулярних процесів її реалізації. Секвенування геному людини та відкриття явища одонуклеотидного поліморфізму генів стало зорею вивчення впливу генетичного коду на кількісні зміни експресії та подальше біологічне функціонування білків, а також направило зусилля науковців на пошук зв'язку одонуклеотидних варіацій з розвитком патологічних станів та хвороб.

Не дивно, що за останнє десятиріччя світова наукова література поповнилась чималою кількістю праць, спрямованих на розкриття генетичної складової ішемічного інсульту. Серед них низка робіт, присвячених пошуку зв'язку поліморфізму поодиноких нуклеотидів генів деяких факторів згортання крові [91, 94, 98], білків системи фібринолізу [45, 114], а також генів VKORC1 [21, 132] та GGCX [53] з розвитком ІАТІ та факторами його ризику. Проте дані, отриманні різними вченими, не завжди співпадають та мають популяційні відмінності. Роботи, направлені на пошук асоціації

T2255C та G3730A поліморфних ділянок гена VKORC1 з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту в нашій країні взагалі відсутні. Остання обставина і спонукала нас до проведення власних досліджень.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами**

Роботу 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-дослідної теми "Роль алельного поліморфізму генів у розвитку патологічних процесів і хвороб", № держреєстрації 0110U005038.

### **Мета і завдання дослідження**

Мета роботи полягала в з'ясуванні можливого зв'язку алельного поліморфізму гена вітамін К-епоксидоредуктази з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту.

Відповідно до мети в роботі поставлено такі завдання:

1. Провести генотипування хворих з ІАТІ та практично здорових донорів за T2255C та G3730A поліморфними локусами гена VKORC1.
2. Вивчити зв'язок T2255C алельного поліморфізму гена VKORC1 з розвитком ІАТІ в осіб жіночої і чоловічої статей з різними факторами ризику ішемічного інсульту.
3. Провести дослідження асоціації G3730A поліморфізму гена VKORC1 з розвитком ІАТІ в осіб різної статі з різними факторами ризику ішемічного інсульту.
4. З'ясувати вплив однонуклеотидного поліморфізму гена VKORC1 на порушення системи гемостазу як патогенетичного механізму розвитку ІАТІ.
5. Дослідити асоціацію поліморфізму генів VKORC1 з порушеннями ліпопротеїнового обміну у хворих із цереброваскулярною патологією.

*Об'єкт дослідження* – патогенез ішемічного атеротромботичного інсульту.



*Предмет дослідження* – роль поліморфізму поодиноких нуклеотидів гена VKORC1 у розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту.

#### **Методи дослідження**

1. Загальноклінічні та інструментальні методи (ЕКГ, УЗД, МРТ).
2. Лабораторні методи (визначення вмісту глюкози крові, ліпопротеїдів плазми крові, показників коагулограми).
3. Молекулярно-генетичні методи дослідження поліморфізму поодиноких нуклеотидів генів (виділення ДНК із лейкоцитів цільної крові, полімеразна ланцюгова реакція, горизонтальний електрофорез).
4. Статистичні методи обробки цифрових даних і наукового аналізу одержаних результатів.

#### **Наукова новизна одержаних результатів**

Уперше серед населення Північно-Східного регіону України проведений аналіз, з урахуванням статі та віку досліджуваних індивідуумів, зв'язку носійства алелей та генотипів за поліморфними ділянками гена VKORC1 (T2255C та G3730A) з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту та факторами його ризику. Встановлено, що ризик розвитку ІАТІ у гомозиготних носіїв мінорного алеля С/С (T2255C поліморфізм гена VKORC1) у 2,2 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем (Т/Т).

Уперше проведений аналіз зв'язку поліморфізмів генів циклу вітаміну К із порушеннями ліпідного обміну і гіперкоагуляцією крові (ГКК) у пацієнтів із ІАТІ. У хворих із ІАТІ, які є носіями генотипу А/А (G3730A поліморфізм гена VKORC1), виявлені порушення ліпідного спектра плазми крові, що свідчить про більшу схильність як до розвитку атеросклерозу, так і до його ускладнень. Ризик розвитку синдрому гіперкоагуляції крові у хворих з ІАТІ достовірно вищий у носіїв С/С генотипу за поліморфізмом T2255C гена VKORC1, ніж у носіїв Т/Т і Т/С генотипів.

#### **Практичне значення одержаних результатів**

Отримані у роботі дані розширюють та поглиблюють наукові уявлення про роль вітаміну К-епоксидоредуктази у порушеннях системи гемостазу та

процесів ектопічної кальцифікації. Виявлені у роботі асоціації генотипів гена VKORC1 з розвитком ІАТІ з високою долею ймовірності свідчать про участь білка, структуру якого він кодує, у формуванні патогенетичних подій на різних стадіях, що передують ішемії.

З'ясовані у дослідженні поодинокі алелі та генотипи можуть слугувати маркерами для оцінки індивідуального ризику ішемічного атеротромботичного інсульту серед населення Північно-Східного регіону України. Виявлення подібних маркерів має стати основою у пошуку нових мішеней для превентивної терапії, яка б компенсувала генетично обумовлені несприятливі особливості функціонування системи гемостазу та гальмувала процеси мінералізації судин для тих людей, у яких виявлена спадкова схильність до ІАТІ.

### **Особистий внесок здобувача**

Матеріали проведених досліджень, подані в роботі, є особистим внеском автора у розв'язання проблеми, що вивчається.

Автор самостійно провів розробку та обґрунтування плану досліджень та їх методичне забезпечення, виконав огляд літератури з досліджуваної теми. Автором визначено мету і завдання роботи, виконано експериментальні та молекулярно-генетичні дослідження, статистичну обробку, аналіз й узагальнення одержаних результатів, оформлення останніх у вигляді таблиць та графічних об'єктів, сформульовано основні положення і висновки, власноруч написано всі розділи дисертації.

### **Апробація результатів дисертації**

Основні положення дисертації повідомлено й обговорено на наукових засіданнях кафедри нейрохірургії та неврології медичного інституту Сумського державного університету, науково-практичних конференціях неврологів м. Сум (2013-2014 рр.), Міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини» (м. Суми, 10-12 квітня 2013 р.), II Міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні

питання теоретичної та практичної медицини» (м. Суми, 16-18 квітня 2014 р.), VI науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (м. Тернопіль, 30-31 жовтня 2014 року).

### **Публікації**

За матеріалами дисертації опубліковано 4 наукові роботи, з них 1 стаття у закордонному журналі, 3 тез доповідей у матеріалах конференцій.

### **Обсяг і структура роботи**

Роботу викладено на 103 сторінках (основний обсяг становить 74 сторінки). Вона має такі розділи: вступ, огляд літератури, матеріали і методи дослідження, результати власних досліджень (три підрозділи), аналіз та узагальнення результатів, висновки, практичні рекомендації, додатки. Список літератури містить 139 джерела (6 – кирилицею, 133 – латиницею). Роботу ілюстровано 21 таблицею, 8 рисунками і 26 додатками.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1 Структура і функція вітамін К епоксид редуктази

Сім'я вітамінів К це сім'я похідних 2-метил-1,4-нафтохінону, які включають в себе природний вітамін К<sub>1</sub>, 2-метил-3-фітіл-1,4-нафтохінон; вітамін К<sub>2</sub>, 2-метил-3-поліізопреноїд-1,4-нафтохінон; і синтетичний менадіон (вітамін К<sub>3</sub>). Вітамін К<sub>2</sub> складається із серії повторюваних молекул ненасичених пренільних одиниць в 3 положенні молекули нафтохінона. У ссавців основною функцією вітаміну К є дія в якості кофактора для ферменту  $\gamma$ -глутамілкарбоксилази (GGCX). GGСХ каталізує посттрансляційне карбоксилювання специфічної глутамінової кислоти до гамакарбоксиглутамінової кислоти в різних вітамін К-залежних білках [96]. Ця посттрансляційна модифікація має вирішальне значення для біологічних функцій вітамін К-залежних білків, які беруть участь у згортанні крові, мінералізації кісток і м'яких тканин, сигналах трансдукції та проліферації клітин [25, 50]. У процесі карбоксилювання гама-протон глутамінової кислоти відводиться окисненовим посередником вітаміну К [125] з подальшим додаванням вуглецю. Одночасно з карбоксилюванням, відновлена форма вітаміну К (вітамін К гідрохінон (КН<sub>2</sub>)) окислюється до 2,3-епоксид вітаміну К (КО), який через обмежену кількість вітаміну К *in vivo*, має бути перетворений назад в КН<sub>2</sub> для продовження реакції. Це циклічне перетворення вітаміну К складає окислювально-відновний цикл, відомий сьогодні як цикл вітаміну К [108, 126]. Незважаючи на те, що гідроокис вітаміну К було визначено як метаболіт епоксиду вітаміну К (КО), прийнято вважати, що три форми вітаміну К беруть участь в окисно-відновному циклі: вітамін К, КН<sub>2</sub> і КО. Фермент, відповідальний за перетворення КО до його відновленої форми, називається вітамін К епоксид редуктазою (VKOR).

Вітамін К епоксид редуктаза (VKOR) – ключовий фермент у відновному перетворенні вітаміну К, що грає важливу роль в гамма-карбоксилюванні вітамін К-залежних факторів згортання крові (II, VII, IX, X). VKOR є точкою дії кумаринових антикоагулянтів, наприклад, варфарину, які широко використовуються в терапії тромбоемболічних ускладнень [15, 134, 137]. Активна форма ферменту, окрім факторів згортання крові, також впливає на вироблення інших вітамін К-залежних білків у печінці, до яких входять білок S, протеїн С і білок Z та деякі протеїни, що синтезуються позапечінковими тканинами: остеокальцин, матриксний Gla-протеїн, білок S, Gas6, і чотири трансмембранні білки, PRGP1, PRGP2, TmG3, і TmG4. Утворюється VKOR в багатьох тканинах, зокрема в печінці, у серці, у підшлунковій та слинних залозах, у нирках, легенях та кістках [121].

З моменту відкриття ферментативної активності VKOR в 1970 році [24], було описано численні невдалі спроби виділити цей мембранний фермент із печінкових мікросом [28]. Виділення VKOR виявилось доволі складним, оскільки вона інактивувалась будь-яким детергентом, що використовувався для розчинення [100]. У першу чергу через втрату активності під час очищення, було висловлено припущення, що відновлення КО було представлено мультиензимним комплексом [28].

Перше повідомлення про часткове виділення VKOR з мікросом печінки щурів було зроблено Lee et al. [68]. Печінкові мікросоми щурів, розчинені в натрій холаті, були розділені розривним сахарозним градієнтом до ізолятів 200S мікросомальних субфракцій, що містили VKOR активність. Ця частково очищена VKOR мала у 2,5-3,0 рази вищу специфічну активність для перетворення КО у вітамін К і вітаміна К в КН<sub>2</sub>, ніж початкова мікросома. Спроби подальшого очищення VKOR від фракції 200S призводили до втрати ферментативної активності. Дослідники спостерігали варфарин-чутливий білок (WSP) з масою 14-17 кДа в 200S фракції, який був мічений радіоактивним N-[3H]-етілмалеїдом ([<sup>3</sup>H]NEM) у місці вільних залишків цистеїну. Субстрати, КО, вітамін К та інгібітор, варфарин, усі ефективно

блокували приєднання [ $^3\text{H}$ ]NEM до відновленого WSP. Дослідники припустили, що мічений [ $^3\text{H}$ ]NEM компонент є поодиноким поліпептидом, містить один дисульфідний зв'язок, що представляє VKOR активність. На жаль, ці автори зробили остаточний висновок, що мало ймовірно, що поодинокий поліпептид з відносно низькою молекулярною масою здатен каталізувати комплекс складних реакцій.

З тих пір як було прийнято вважати, що VKOR – це мультиферментний комплекс, виділення VKOR було зосереджене на пошуці потенційного(-их) компонента(-тів), які можуть бути залучені в систему відновлення КО. Cain et al. [26] вивчали мікросоми печінки щурів за допомогою Bio-Gel P-100-фільтрації. На основі отриманих результатів вчені цієї групи припустили, що мікросомальна епоксид гідролаза, інтегральний мембранний білок, є другим компонентом VKOR комплексу. Автори запропонували, що димер глутатіон-S трансфераза (GST) забезпечує варфарин-чутливий тіоловий окислювально-відновний центр, а мікросомальна епоксид гідролаза забезпечує сайт зв'язування КО для каталітичної реакції відновлення. Тим не менш, пізніше було показано, що миші, нокаутовані по гену мікросомальної епоксид гідролази, не мали дефекту в метаболізмі вітаміну К [111]. Останнє вказує, на те що мікросомальна епоксид гідролаза не бере участі у відновленні КО.

Один загальний висновок з попередніх спроб виділення протеїну є те, що VKOR – це мультиферментний комплекс. Тим не менше, після ідентифікації гена VKOR [60, 75], було визначено код інтегрального мембранного білка, що складається із 163-амінокислотних залишків та містить CXXC мотив. Цей фермент був визначений Т. Лі та співав. [60] як VKOR, і як VKORC1 (комплексна субодиниця 1) Ольденбургом і його колегами [75], які вважають, що є ще й інша субодиниця, яка досі не ідентифікована. Тим не менш дослідники змогли очистити VKOR до > 93% чистоти з клітин комах [100]; причому всі забруднюючі білки були визначені методом мас-спектрометрії і вони навряд чи сприяють VKOR активності.

Крім того цей фермент, що складається з одного пептиду, може виконати перетворення як КО до вітаміну К, так і вітаміну К до  $\text{KH}_2$ . Отримані результати показують, що VKOR є єдиним ферментом, але це не виключає можливості того, що невідомий фізіологічний відновник може зв'язуватися з нею утворюючи ферментний комплекс *in vivo*.

Вітамін К епоксид редуктаза (VKOR) (молекулярна маса 18235 Да) складається зі 163 амінокислотних залишків і являє собою інтегральний мембранний протеїн, який каталізує відновлення 2,3-епоксиду вітаміна К (КО) і вітаміна К до вітаміну К гідрохінона ( $\text{KH}_2$ ), кофактора, що необхідний для реакції гама-глутаміл карбоксилювання вітаміну К-залежних протеїнів. Модель мембранної топології показує, що VKOR охоплює мембрану ендоплазматичного ретикулула три рази амінозалишками, що розташовані в просвіті і карбоксильними залишками, що розташовані в цитоплазмі [72, 129]. Протеїн містить СХХС-мотив, характерний для сімейства тіоредоксинових ферментів [39]. Обидва активні сайти (цистеїн 132 і 135) і запропонований сайт зв'язування варфарину (тирозин 139) розташовані в третій трансмембранній спіралі (рис. 1).

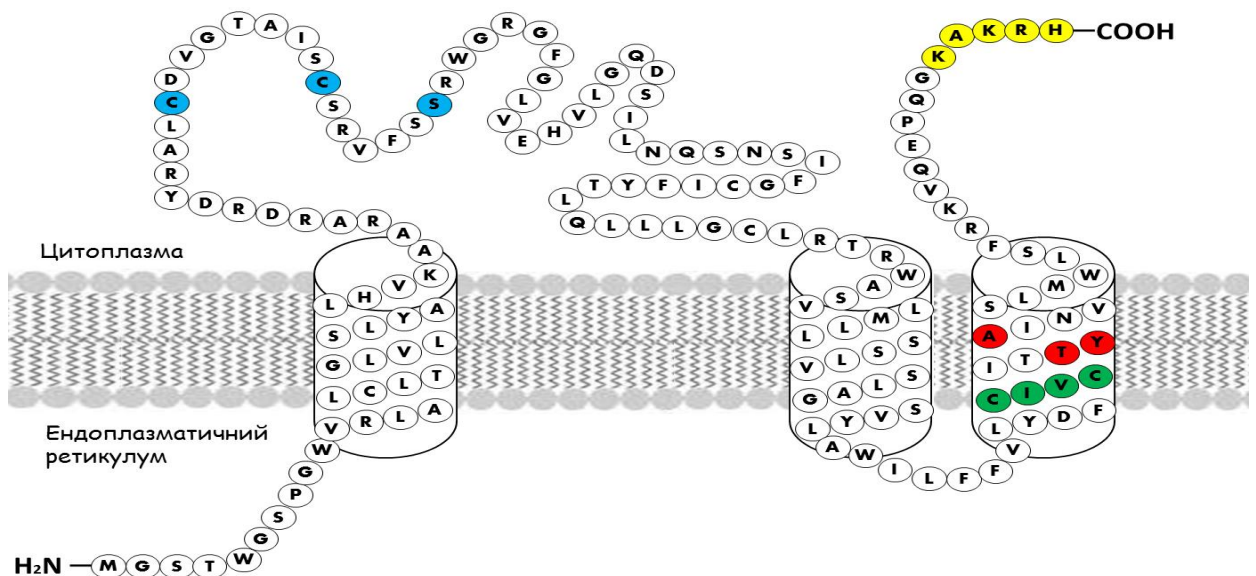


Рис. 1.1 Схематичне зображення пептидного ланцюга молекули VKOR та його топографія. Червоним позначений варфарин-зв'язуючий сайт, зеленим – активний сайт, блакитним – консервативні залишки цистеїну, жовтим – С-кінцевий домен

Пропонується, що активний дисульфідний сайт повинен бути відновленим, щоб фермент був активним [135]. VKOR використовує дві сульфгідрильні групи для каталітичної реакції, і ці дві сульфгідрильні групи окислюються назад в дисульфідні зв'язки протягом кожного каталітичного циклу [107]. Окрім активних сайтів та сайтів зв'язування з варфарином молекула VKOR містить дві функціональні ділянки: (1) С-кінцевий домен отримання сигналу на мембрані ендоплазми (*a C-terminal endoplasmic membrane retention signal (Lys-Lys-X-X or Lys-X-Lys-X-X )*); (2) трансмембранний домен (*a transmembrane domain*) [47].

## **1.2 Поліморфізм гена вітамін К епоксид редуктази та його зв'язок із розвитком серцево-судинних хвороб**

Одне з основних повідомлень щодо розташування гена VKORC1 надійшло з дослідження сімейного дефіциту факторів згортання (FMFD). FMFD – це рідкісне генетичне захворювання з аутосомно-рецесивним типом наслідування, що проявляється кровотечами і характеризується неадекватним  $\gamma$ -карбоксилюванням факторів згортання крові II, VII, IX та X. Fregin та інші досліджували два покоління з FMFD з підозрою на мутації в комплексі VKORC1, яке біохімічно проявлялось підвищенням співвідношення вітамін К епоксиду до вітамін К гідрохінону. Методом широкогеномного сканування виявили маркер на хромосомі 16 [57]. Аналіз гаплотипів підтвердив гомозиготність по хромосомному регіону 16p12-q21 в одному із поколінь. Мапове дослідження R<sub>w</sub> в пацюків і подібного гену в мишей (*war*) визначило гомологічні області на 16 хромосомі людини, і декілька відомих генів, які розташовувались поруч з R<sub>w</sub> і *war* на короткому плечі 16 хромосоми.

У номері журналу “Nature” від 5 лютого 2004 року вийшло незалежно один від іншої 2 статті, які повідомляли про ідентифікацію гена VKORC1 [60, 75]. Rost та інші визначили ген VKORC1 і підтвердили його функцію шляхом трансфекції нового гену в лінію клітин. Щоб визначити ген, вони



секвенували геномну ДНК в 4-х Мб регіоні 16 хромосоми від 2 пробандів з FMFD і 4 незв'язаних пацієнтів з резистентністю до варфарину. Вони знайшли ген, що містив 5126 пар нуклеотидів та складався з 3 екзонів, які кодують білок зі 163-амінокислот. Вчені назвали цей ген вітамін К епоксид редуказний комплекс, субодиниця 1 (VKORC1). Нозерн блоттинг виявив високий рівень експресії в клітинах печінки та серця. Кожен пацієнт зі стійкістю до варфарину мав унікальний місенс одонуклеотидний поліморфізм в новому гені, в той час як пацієнти з FMFD були гомозиготами по ідентичному C292T місенс поліморфізму, що спричиняв до заміни аргініну на триптофан у 98 положенні протеїну. Потім вони секвенували 26 кумарин-стійких щурів і виявили A416C місенс мутації в кожного з них; усі 15 кумарин чутливих щура не мали цього SNP. Дослідники підтвердили функцію VKORC1 шляхом трансфекції нового гену до людських ембріональних клітинах нирок.

Лі та інші використовували позиційне клонування для виявлення VKORC1 в хромосомному регіоні 16p12-q21. Вони зосередили свою увагу на 13 генах-кандидатах з невідомою функцією, послідовність яких передбачала трансмембранне положення білків, що вони їх кодують. За допомогою інтерферуючих РНК (міРНК), вони секвенували кожен ген у клітинній лінії карциноми легені. Вони виявили, що MGC11276 мРНК, яка відображається на 16p11.2, відповідала VKOR активності. Вчені підтвердили активність VKORC1 шляхом трансфекції гену до клітин комах (*S. frugiperda*) і продемонструвати, що клітини отримали варфарин чутливу VKORC1 активність. Таким чином, витончені експерименти знайшли нову редуктазу з VKOR активністю. *In vivo*, редуктаза, ймовірно, функціонує з іншими білками, утворюючи комплекс в ендоплазматичному ретикулумі.

Ген VKORC1 у людини представлено однією копією, яка міститься в короткому плечі 16-ї хромосоми (16p11.2) на мінус-ланцюгу. У гені закодовано 163 амінокислотні залишки зрілого білка. Довжина гена – 5126 нуклеотидів, він складається з 3 екзонів, розділених двома інтронами.

На сьогодні описано понад 117 поліморфізмів поодиноких нуклеотидів у гені вітамін К-епоксидоредуктазного комплексу, субодиниці 1. Найкраще вивченими з огляду на зв'язок із серцево-судинними захворюваннями є чотири: поліморфізм промотору G-1639A (rs9923231), поліморфізм першого інтрону C1173T (rs9934438), поліморфізм другого інтрону C2255T (rs2359612) та поліморфізм 3'-UTR ділянки G3730A (rs7294).

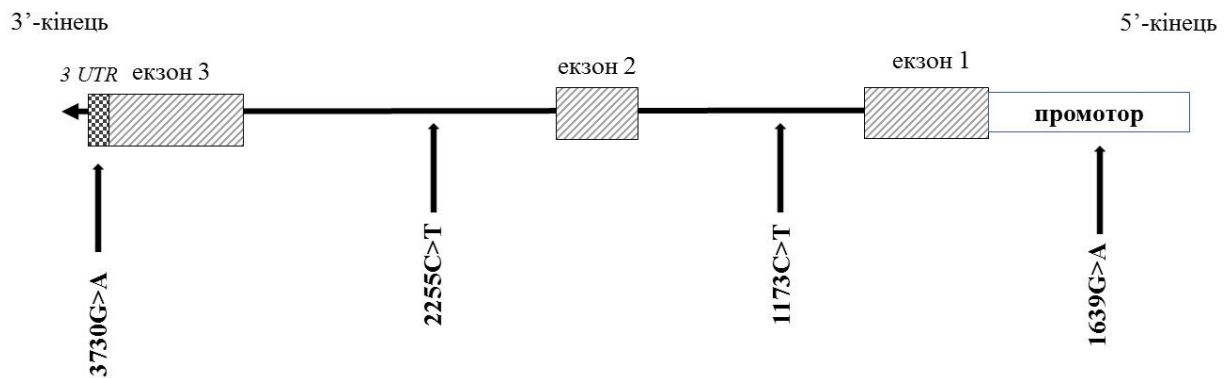


Рис. 1.2 Структура гена VKORC1 і локалізація однуклеотидних поліморфізмів

G-1639A поліморфізм розміщений у другому положенні E-боксу, що має нуклеотидну послідовність CA/GNNTG [131]. Yuan et al. вивчали вплив даного SNP на активність промотору і довели, що A-алель пов'язаний з її значним зниженням і з більш низьким рівнем експресії мРНК VKORC1 [10]. Wang et al. підтвердили цей висновок. При визначенні рівня експресії мРНК у HepG2-клітинах печінки вони виявили, що -1639A-алель пов'язаний з 2-кратним зниженням експресії мРНК порівняно з -1639G-алелем. Але таке зниження активності промотору обмежується лише HepG2-клітинами і не виявлене в інших тканинах [102].

Більшість досліджень генетичного поліморфізму гена VKORC1 проводилася з метою вивчення його впливу на метаболізм кумаринових коагулянтів в організмі людини з подальшим застосуванням отриманих

даних у корекції дози препаратів у пацієнтів із різними алельними варіантами названого гена.

Одними з перших почали вивчати інформативні SNP у гені VKORC1 Rieder et al. [37]. Найбільша їх увага була звернена на G6853C поліморфізм (rs17886369), який корелює з різним рівнем експресії гена VKOR і визначає 21-25 % варіабельності дози варфарину у пацієнтів. Авторами з'ясовано, що носії G-алеля мають вищий рівень ендогенної епоксидоредуктазної активності і повинні отримувати більшу дозу варфарину. Так, середня терапевтична доза варфарину на добу становить у гомозигот за основним алелем (G/G генотип) 6,0–6,2 мг, у гетерозигот (C/G) – 4,3–4,9 мг і у носіїв C/C генотипу – 2,7–3,4 мг.

В інших дослідженнях доведено, що варіабельність дози варфарину може бути пов'язана ще з двома поліморфізмами: промотору G-1639A (rs9923231) [133] і першого інтрону C1173T (rs9934438) [8]. Так, встановлено, що варфариннечутливі пацієнти мали G-алель у –1639-му положенні гена VKORC1, тоді як варфаринчутливі – виключно A-алель. Дослідники підкреслили, що G-1639A та C1173T поліморфізми тісно пов'язані між собою і корелюють із втратою експресії гена VKORC1 при трансфекції його в лінію клітин.

На даний час названо 5 основних SNP у гені VKORC1, що визначають із метою коригування дози оральних антикоагулянтів: T-4931C (rs719616114), G-1639A (rs9923231), C1173T (rs9934438), G1542C (rs8050894), C7566T (rs2359612), які утворюють 2 основних гаплотипи. Гаплотип А містить у собі мінорні алелі і пов'язаний зі зниженням експресії мРНК і меншою підтримуючою дозою варфарину порівняно з гаплотипом В, який об'єднує основні алелі [102].

Ураховуючи наявність серед вітамін К-залежних протеїнів тих, які беруть участь у підтриманні кальцієвого гомеостазу в організмі, подальші дослідження з вивчення одонуклеотидних поліморфізмів гена VKORC1 були спрямовані на пошук зв'язку генетичної варіабельності останнього з

розвитком уражень серцево-судинної та кісткової систем. Так, Teitchert et al. установили, що представники білої раси, які є носіями Т-алеля за С1173Т поліморфізмом 1 інтрону гена VKORC1 мають значно вищий ризик розвитку кальцифікації аорти, ніж носії основного алеля [126].

Wang et al. з'ясували, що наявність С-алеля в 2255-му положенні гена VKORC1 (С2255Т поліморфізм) збільшує більше ніж у два рази ризик розвитку інсульту та ішемічної хвороби серця і більше ніж у три рази – ризик розвитку розшарування аорти. Також вчені виявили, що пацієнти з С/С та С/Т генотипами мали нижчий рівень карбоксильованого остеокальцину, ніж носії Т/Т генотипу [132]. Lemmens et al., на відміну від отриманих у японському дослідженні результатів, не виявили зв'язку С1173Т поліморфізму з розвитком ішемічної хвороби серця та інсультом серед населення Західної Європи [65].

Hindorff et al. досліджували зв'язок Т2255С, С698Т та G3730А поліморфізмів гена VKORC1 з розвитком інфаркту міокарда, інсульту та венозної тромбоемболії. Отримані результати показали, що жоден із трьох вивчених SNP не був асоційований із розвитком зазначених серцево-судинних захворювань [33]. Результати щодо відсутності зв'язку Т2255С поліморфізму VKORC1 з венозною тромбоемболією підтвердились і у дослідженні Verstuuyft et al. [130]. Smadja et al. також не виявили зв'язку поліморфізму гена VKORC1 з розвитком венозної тромбоемболії, але вже для G-1639А поліморфізму промотору [76]. Проте Lacut et al. встановили, що Т/Т генотип за С1173Т поліморфізмом пов'язаний зі зменшеним ризиком розвитку венозної тромбоемболії серед населення Франції [128].

Таким чином, дані про зв'язок алельного поліморфізму гена VKORC1 з розвитком серцево-судинних хвороб неоднозначні і суперечливі, що ставить на порядок денний вивчення впливу SNP зазначеного гена патологічні процеси в судинах та їх ускладнення, зокрема такі, як ішемічний атеротромботичний інсульт.

### 1.3 Роль генетичного поліморфізму у патогенезі ішемічного атеротромботичного інсульту

В останні роки все більшої популярності набуває проблема створення «генетичного паспорта пацієнта», а також вивчення популяційних закономірностей – динаміки частот генів у конкретних популяціях, етнічних групах. Більшість генетичних варіацій обумовлена замінами поодиноких нуклеотидів різноманітних генів, що призводять до кількісних змін експресії або впливають на біологічні властивості білків. Відомо близько 10 млн однонуклеотидних поліморфізмів, проте їх біологічний сенс не завжди зрозумілий. У даному розділі, використовуючи сучасні дані світової літератури, зроблена спроба проаналізувати роль генетичної мінливості у розвитку цереброваскулярних захворювань, зокрема інсульту ішемічного генезу.

*Гени, що визначають реологічні властивості крові.* F2 – ген, що кодує протромбін. Останній являє собою попередник тромбіну, тому безпосередньо відповідає за утворення тромбу. Поліморфізм 20210 G/A призводить до зростання рівня експресії гена, а отже, до підвищення вмісту протромбіна та ймовірності тромбозу. Має аутомосно-домінантний тип успадкування [104, 120]. Поліморфний локус 20210 G/A асоційований з підвищенням концентрації протромбіну в плазмі, його вважають значущим генетичним фактором ризику тромбозу і дестабілізації судинної стінки [106].

F5 – ген, що кодує коагуляційний фактор V (фактор Лейдена). Функція зазначеного фактора полягає в активації утворення тромбіну з протромбіну. Поліморфізм 1691 G/A (R506Q) гена F5 обумовлює стійкість білка, що призводить до гіперкоагуляції. Носії мінорного алеля володіють підвищеним ризиком розвитку тромбоемболії, інфаркту міокарда та ішемічного інсульту [42, 43, 115, 117].

F7 – ген, що кодує фактор згортання VII. Активний фактор VII, взаємодіючи з фактором III, призводить до активації факторів згортання IX і X, що в кінцевому підсумку призводить до формування кров'яного згустку. Поліморфні ділянки Thr353Gln (10976A) і 1289 G/A не причетні до розвитку атеросклеротичних процесів. Їх слід розглядати як протективні фактори проти тромбозів та серцево-судинних катастроф [12, 91].

P2Y12 – ген, що кодує пуринергічний рецептор P2Y, який відіграє важливу роль у зміні форми тромбоцитів та їх агрегації. Варіант H1H2 поліморфізму H1/H2 асоційований з підвищеною агрегацією тромбоцитів, а гаплотип H2 характеризується максимально високим рівнем агрегації тромбоцитів і пов'язаний зі зростанням ризику розвитку системного атеросклерозу [77].

*Гени, що впливають на ремоделювання судин.* MMP1 – ген, що кодує матриксну металопротеїназу 1 (MMP1). MMP1 руйнує колаген I, II і III типів, бере участь у ремоделюванні і загоєнні судинної стінки, грає істотну роль у розриві атеросклеротичної бляшки. Основна функція MMP1 – деградація колагену. Наявність алеля 2G поліморфізму 1607 1G/2G гена MMP1 асоціюється з підвищеною активністю даного ферменту, особливо в присутності цитокінів та факторів росту. Варіант 2G2G збільшує ризик атеросклеротичного ураження судин нижніх кінцівок і хвороби Альцгеймера [97].

MMP3 – ген, що кодує MMP3, беру участь у деградації колагену II, III, IV, IX та X типів, протеогліканів, фібронектину, ламініна та еластина, а також активує інші MMP (типів 1, 7 і 9). MMP3 служить ключовим ферментом у процесі ремоделювання сполучної тканини. Деякі алельні варіанти гена MMP3 асоційовані з прогресуванням атеросклерозу, ураженням серця, головного мозку та нижніх кінцівок [109, 122].

MMP9 – ген, що кодує MMP9. Протеїн бере участь у руйнації колагенів IV і V типів. Т-алель SNP 1562 C/T пов'язаний з підвищенням синтезу відповідного ферменту та розвитком системного атеросклерозу [49].

MTHFR – ген, що кодує метилентетрагідрофолатредуктазу. Фермент незворотно перетворює 5,10-метилентетрагідрофолат в 5-метилтетрагідрофолат. Порушення метаболізму MTHFR призводить до гомоцистеїнемії, чинить токсичний ефект на ендотеліоцити, в яких посилюються процеси перекисного окислення ліпідів і пригнічується синтез оксиду азоту. Носійство аллеля Т поліморфізму 677 С/Т асоціюється зі зниженою активністю ензима, зростанням вмісту гомоцистеїну в крові і підвищеним ризиком атеросклеротичного ураження судин [64, 83, 87].

NOS3 – ген, що кодує кальцій залежну NO-синтетазу, яка регулює судинний тонус та інгібує агрегацію тромбоцитів. Kullo і співавт. проаналізували зв'язок між 14 однонуклеотидними поліморфізмами гена NOS3 і співвідношенням артеріального тиску на верхніх і нижніх кінцівках і прийшли до висновку, що два з них (rs891512 і rs1808593) справляють істотний вплив на зазначене співвідношення [22, 40]. В іншому дослідженні генетичний поліморфізм NOS3 не був асоційований з розвитком ішемічного інсульту і товщиною комплексу «інтима-медіа» [38].

CRP – ген, що кодує С-реактивний протеїн – основний білок гострої фази запалення, який відіграє одну з ключових ролей у патогенезі дестабілізації атеросклеротичної бляшки. Поліморфізм гена CRP 1059 G/C асоційований з атеросклерозом [86] і розвитком ішемічного інсульту [78].

PON1 і PON2 – гени, що кодують параоксоназу 1 і 2. Ці ферменти відносяться до класу арілдіалкілфосфатаз, здатних каталізувати розщеплення Р-О-зв'язків у молекулі з'єднання параоксона, який містить фосфор. У результаті даного впливу незворотно (ковалентно) зв'язується холінестераза і блокується її активність. PON1 і PON2 послаблюють запальний вплив окислених ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), пригнічують хемотаксис моноцитів і тим самим сповільнюють прогресування атеросклерозу. Поліморфні ділянки гена PON1 (55 L/M, 192 Q/R і -107 C/T) асоційовані з деменцією [116] і серцево-судинними захворюваннями [11, 80]. В іншому дослідженні був виявлений зв'язок варіанту гена PON1 L55 с

вмістом гомоцистеїну в плазмі крові, а алелей PON2 G148 і PON2 S311 – з концентрацією ЛПНЩ [79, 118].

IL1A і IL18. Інтерлейкіни 1a і 18 – важливі прозапальні цитокіни, що синтезуються у відповідь на пошкодження або загибель клітин. Молекули виступають медіаторами гострого і хронічного запалення: активують лімфоцити і нейтрофіли, індукують хемотаксис лейкоцитів і макрофагів, стимулюють проліферацію ендотеліальних клітин судин. Однонуклеотидні заміни в гені IL18 677 C/A і 137 G/C асоційовані з розвитком ішемічного інсульту і впливають на його тяжкість [62]. Також знайдений зв'язок генетичної мінливості IL1A з розвитком парадонтита і атеросклероза [61, 82].

TNF – ген, що кодує фактор некрозу пухлин (цитокін, що відноситься до групи прозапальних білків). Збільшення концентрації фактора некрозу пухлин асоційоване з запальним процесом, дестабілізацією атеросклеротичної бляшки і розвитком хвороби Альцгеймера [20]. Поліморфізм TNF K93Q асоційований з розвитком ішемічного інсульту і корелює з товщиною комплексу «інтима-медіа» сонних артерій у курців [89].

*Гени, що відповідають за артеріальний тиск.* ACE – ген, що кодує ангіотензин-перетворюючий фермент, який перетворює ангіотензин I в ангіотензин II. Аналіз асоціацій поліморфізму гена ACE I/D серед турецького населення, що живе близько Чорного моря не виявив прямої кореляції з розвитком гіпертонічної хвороби та ішемічного інсульту [112]. Однак в інших дослідженнях носійство D алеля було асоційоване з ішемічним інсультом, натрій залежною гіпертонічною хворобою, судинною деменцією та інфарктом міокарда [34, 35, 67].

AGT – ген, що кодує ангіотензиноген, з якого утворюється ангіотензин I і ангіотензин II. Ці продукти впливають на судинний опір, призводячи до підвищення артеріального тиску. Поліморфізм гена AGT 235 M/T асоційований з ризиком розвитку лакунарних ішемічних уражень головного мозку у чоловіків, однак не пов'язаний з показниками артеріального тиску [17].



*Гени, що впливають на обмін ліпідів.* ABCG8 – ген, що кодує білок сімейства ABC-транспортерів, основна функція якого полягає у видаленні клітинних ліпідів. Даний білок відповідає за зв'язування різних біологічних молекул і їх транспорт через плазматичні і внутрішньоклітинні мембрани. Основна функція ABCG8 – регуляція всмоктування з кишківника холестерину і запобігання всмоктування інших стероїдів. Мутації в цьому гені можуть призводити до накопичення стероїдів і розвитку атеросклерозу. Вплив на трансмембранний рух холестерину обумовлює підвищення вмісту ліпідів в плазмі крові. Однак порівняльне дослідження частоти алелів гена ABCG8 (19 D/H, 54 Y/C, 400 T/K, 632 A/V) не виявило достовірних відмінностей у пацієнтів з гострим порушенням мозкового кровообігу і без нього. Носії генотипу 54YY мають вищий ризик розвитку ішемічного інсульту, ніж носії інших генотипів [46].

OLR1 – ген, що кодує рецептор 1 окиснених ЛПНЩ. Дія даного білка опосередкована через циклічний аденозинмонофосфат і підсилює окиснення ЛПНЩ. Поліморфізм гена OLR1 VS4 -14A/G і IVS4-73C/T був вивчений у пацієнтів, які перенесли ГПМК. Варіанти G/G і A/G асоціювалися з розвитком ГПМК і корелювали з вмістом ЛПНЩ, причому у гомозигот за мінорним алелем відзначено важкий перебіг ішемічного інсульту [63].

APOE – ген, що кодує аполіпопротеїн E, який входить до складу хіломікронів, ЛПНЩ і ліпопротеїнів дуже низької щільності. Активно бере участь у захопленні і видаленні з крові жирових частинок, тим самим реалізуючи свою анти атеросклеротичну дію. Існує три поліморфні варіанти зазначеного гена – APOE2, APOE3 і APOE4. Варіант E2 (Arg158Cys) асоційований з більш низьким вмістом загального холестерину в плазмі крові, в той час як E4 (Cys112Arg) – з підвищенням кількості холестерину і ризиком розвитку хвороби Альцгеймера, ГПМК і гострого інфаркту міокарда [88]. В іншій роботі показано, що деякі алелі гена APOE (поліморфізми 219 G/T і 113 G/C) впливають на обсяг і тяжкість клінічного перебігу ішемічного

інсульту, проте прямих асоціацій зі схильністю до розвитку ГПМК не виявлено [23].

*Гени внутрішньоклітинного регулювання.* PDE4 – ген, що кодує фосфодіестеразу, фермент, що відноситься до сімейства металофосфогідролаз. Білок регулює внутрішньоклітинне співвідношення циклічних аденозинмонофосфата і гуанозинмонофосфата за рахунок їх розщеплення до 5'-монофосфатного нуклеотиду. Дослідження поліморфних локусів гена PDE4D rs152312 rs2910829 продемонструвало асоціацію генотипів A/A і A/C (rs152312) з підвищеним ризиком розвитку ішемічного інсульту. Зв'язок з розвитком інфаркту головного мозку для іншого SNP встановлений не був [58, 110]. Однак серед індійського населення при вивченні rs456009, rs966221 і rs2910829 поліморфізмів гена PDE4D встановлена пряма залежність між rs2910829 і розвитком інсульту ішемічного генезу. Крім того, було встановлено взаємозв'язок даної поліморфної ділянки з локалізацією, розмірами ішемічного інсульту і тяжкістю перебігу ГПМК у курців і хворих на цукровий діабет [84].

Локус 9p21.3. В останні роки йдуть дебати на предмет асоціації генів-інгібіторів циклін-залежних кіназ з прогресуванням атеросклеротичного процесу. Зокрема, найбільш вивченим є епігенетичний механізм метилювання цитозину в дезоксирибонуклеїновій кислоті (CpG-сайти). У 2007 р була визначена асоціація локусу 9p21.3 з ризиком розвитку серцево-судинних захворювань [9]. Однак в іншому порівняльному дослідженні не виявлено прямих асоціацій між rs10757278 ділянки 9p21.3 і розвитком ішемічного інсульту і транзиторної ішемічної атаки. Все це обумовлює неухильний інтерес до локусу 9p21.3 і перспективу подальших пошуків його асоціацій з атеросклеротичним процесом і ризиком порушень мозкового кровообігу [41].

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Характеристика клінічного матеріалу

У дослідженні використано кров 170 хворих на ІАТІ, які перебували на диспансерному обліку в поліклінічному відділенні Сумської клінічної лікарні № 5, і 124 практично здорових донорів. Ішемічний характер інсульту встановлювався за даними анамнезу і клінічної картини хвороби, результатами МРТ-дослідження головного мозку. Патогенетичний варіант інсульту визначали відповідно до критеріїв TOAST [31], на підставі анамнезу і особливостей клінічного перебігу хвороби, даних ультразвукової доплерографії магістральних артерій голови, ЕКГ. Контрольна група і група хворих з ІАТІ не відрізнялися за співвідношенням осіб різної статі ( $P=0,294$ ), проте середній вік першої ( $76,7\pm 0,93$  роки) був істотно вищим, ніж другої ( $P < 0,001$ ). У табл. 2.1 наведено порівняльну клінічну характеристику обох груп пацієнтів.

*Таблиця 2.1*

#### Загальна клінічна характеристика пацієнтів з ІАТІ та осіб контрольної групи

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

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

Із табл. 2.1 випливає, що хворі з ІАТІ мали істотно вищі, якщо порівнювати з контрольною групою, показники зросту, маси тіла, систолічного і діастолічного артеріального тиску, концентрації глюкози крові натще. Проте відмінності між групами за індексом маси тіла були статистично не достовірними як в осіб жіночої, так і чоловічої статей ( $P > 0,05$ ). Дані про наявність відомих на сьогодні факторів ризику у групі хворих з ІАТІ відображено в табл. 2.2.

Таблиця 2.2

**Дані про наявність факторів ризику в осіб жіночої і чоловічої статі, хворих на ІАТІ**

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

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

Привертає до себе увагу та обставина, що основним фактором ризику як у жінок, так і у чоловіків була артеріальна гіпертензія, яку відзначали відповідно у 81,9 і 70,4 % пацієнтів. Друге місце посідали порушення складу ліпопротеїнів плазми крові атерогенного характеру: їх виявляли у 58,8 % жінок і 58,4 % осіб чоловічої статі. Значні статеві відмінності в частоті факторів ризику встановлено при порівнянні відповідних показників, що характеризують ожиріння, цукровий діабет і паління. Так, ожиріння та цукровий діабет у жінок виявляли частіше, ніж у чоловіків (у 43,1 і 25,0 %

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

У табл. 2.3 подано характеристику інсульту у пацієнтів жіночої і чоловічої статі залежно від обсягу уражень головного мозку, артеріального

Таблиця 2.3

**Клінічна характеристика ішемічного інсульту в осіб жіночої і чоловічої статей**

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

Примітка: у дужках – %

басейну, де відбулося тромбоутворення, тяжкості хвороби, повторності інсульту та його неврологічних проявів. Під час порівняння показників частот виявилися статистично значимі відмінності між жінками і чоловіками лише стосовно повторності інсульту. Так, вторинний ІАТІ у чоловіків розвивався значно частіше, ніж у жінок (44,9 проти 29,2 %).

## 2.2 Молекулярно-генетичні дослідження

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

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

1) *Виділення ДНК із лейкоцитів цільної крові.* ДНК виділяли з цільної крові з використанням наборів DIAtom DNA Prep 200 («Isogene», Росія). Цей метод базується на застосуванні лізуючого реагенту із гуанідинтіоціанатом, який призначений для лізису клітин, солюбілізації клітинного дебрису, а також для денатурації клітинних нуклеаз. За наявності лізуючого реагенту

ДНК активно сорбується на *NucleoS<sup>TM</sup>*-сорбенті, потім легко відмивається від білків та солей спиртовим розчином. Потім ДНК екстрагують із сорбента та переносять у стерильні, вільні від ДНК та РНК, мікропробірки. Виділення ДНК проводили згідно з протоколом, запропонованим у комерційному наборі.

2) *Визначення алельного поліморфізму 2-го інтрону гена VKORC1 T2255C (rs2359612)*. Використовували пару специфічних праймерів: прямий (sense) – 5'-GAACAGAGAGAGGAACCAAGGGAGTGGA-3' і зворотний (antisense) – 5'-TCTGAACCATGTGTCAGCCAGGACC-3'. Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буфера, 1,5 мМ сульфату магнію, 250 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 15 рМ кожного з праймерів і 1,0 ОД Таq-полімерази, об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Програма ампліфікації була такою: денатурація – 94 °С (50 с), гібридизація праймерів – 62,5 °С (45 с), елонгація – 72 °С (1 хв), разом 30 циклів. Для рестрикційного аналізу 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37 °С упродовж 18 годин із 3 ОД рестриктази *NcoI* у буфері Tango такого складу: 33 мМ трис-ацетату (рН 7,9), 10 мМ ацетату магнію, 66 мМ ацетату калію, 0,1 мг/мл альбуміну. Якщо в 2255-й позиції гена *VKORC1* містився тимін, ампліфікат, який складався із 198 пар основ, розщеплювався рестриктазою *NcoI* на два фрагменти: 172 і 26 пар основ. У разі заміни тиміну на цитозин сайт рестрикції для *NcoI* втрачався і візуалізувався один фрагмент завдовжки 198 пар основ. Горизонтальний електрофорез (0,1 А; 140 V) проводили впродовж 20 хв.

3) *Визначення алельного поліморфізму 3'-кінцевої ділянки, що не транслюється гена VKORC1 G3730A (rs7294)*. Алельний поліморфізм 3'UTR гена *VKORC1* визначали шляхом ампліфікації фрагмента і подальшої рестрикції. Послідовність нуклеотидів у специфічних праймерах була такою: прямий (sense) – 5'-GTCCSTAGAAGGCCSTAGATGT-3', зворотний (antisense) – 5'-GTGTGGCACATTTGGTCCATT-3'. Для ампліфікації брали

50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буфера, 1,5 мМ сульфату магнію, 200 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 20 рМ кожного з праймерів і 0,75 ОД Тақ-полімерази, об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Ампліфікація фрагмента, що містив стартову ділянку, складалася із 33 циклів: денатурація – 94 °С (50 с), гібридизація праймерів – 64,5 °С (45 с) та елонгація – 72 °С (1 хв). Для рестрикційного аналізу 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37 °С упродовж 18 годин з 2 ОД рестриктази *BseNI* у буфері Tango такого складу: 33 мМ трис-ацетату (рН 7,9), 10 мМ ацетату магнію, 66 мМ ацетату калію, 0,1 мг/мл альбуміну. Якщо в 3730-й позиції гена *VKORC1* містився гуанін, ампліфікат, що складався з 500 пар основ, розщеплювався рестриктазою *BseNI* на два фрагменти: 240 і 260 пар основ. У разі заміни гуаніну на аденін сайт рестрикції для *BseNI* втрачався і візуалізувався один фрагмент завдовжки 500 пар основ. Горизонтальний електрофорез (0,1 А; 140 V) проводили впродовж 40 хв.

### 2.3 Статистичні методи дослідження

Статистичний аналіз проводили з використанням програми SPSS-17. Перед перевіркою статистичних гіпотез відповідно до вимог ГОСТ 11.006-74 проведено 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 Стьюдента ( $t$ ). На основі величини  $t$  й кількості ступенів свободи ( $l = n_1 + n_2 - 2$ ) за таблицею розподілу Стьюдента знаходили вірогідність відмінностей двох вибірок ( $P$ ). Відмінність вважали достовірною, якщо вірогідність випадкової різниці не перевищувала 0,05 ( $p < 0,05$ ).



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. Перевірку різниці розподілу генотипів здійснювали за допомогою  $\chi^2$ -критерію Пірсона. Значення  $p < 0,05$  вважали статистично значимими. З метою прогнозування ризику розвитку певних подій використовували метод логістичної регресії.

### РОЗДІЛ 3

## ЗВ'ЯЗОК ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА VKORC1 З РОЗВИТКОМ ІШЕМІЧНОГО АТЕРОТРОМБОТИЧНОГО ІНСУЛЬТУ

Ішемічний атеротромботичний інсульт (ІАТІ) – це гостре порушення мозкового кровообігу, що настає у результаті атеросклерозу церебральних артерій, ускладненого утворенням тромбів [1,73]. З огляду на це патогенез ІАТІ зумовлений відкладанням ліпідів і проліферацією клітин інтими, утворення атеросклеротичної бляшки стає причиною тромбозу за умов розвитку дегенеративних змін в осередках атерогенезу. Такими змінами, що започатковують тромбоутворення, є формування на поверхні ендотелію виразок, які стають місцем первинної адгезії тромбоцитів і запускають складний каскад процесів судинно-тромбоцитарного і коагуляційного гемостазу.

Утворенню виразок в уражених судинах часто передує кальцифікація атеросклеротичних бляшок, що є одним із основних елементів дегенеративних змін ділянок атероматозу. Відкладання солей кальцію в інтимі артерій, що його виявляють за допомогою сучасних інструментальних методів дослідження, є поганою прогностичною ознакою з огляду на можливе тромбоутворення і розвиток інфарктів [18].

### 3.1 T2255C поліморфізм гена VKORC1

Частоту трьох можливих варіантів генотипу за вивченим поліморфізмом гена VKORC1, а також перевірку відповідності розподілу основного і мінорного алелів рівновазі Харді-Вайнберга подано в табл. 3.1.

Перевірка розподілу генотипів за T2255C поліморфізмом на відповідність закону Харді-Вайнберга показала, що і в контрольній, і в основній групах відхилення від встановленої рівноваги не є статистично

значимими. З'ясовано, що співвідношення алелів в обох групах істотно не відрізняється від очікуваних ( $P > 0,05$ ).

Таблиця 3.1

**Частота алельних варіантів і алелів за T2255C поліморфізмом гена VKORC1 у контрольній групі та у хворих з ІАТІ**

	<i>Контрольна група, n (%)</i>	<i>Хворі з ІАТІ, n (%)</i>
Гомозиготи Т/Т	45 (36,3)	43 (25,3)
Гетерозиготи Т/С	53 (42,7)	72 (42,4)
Гомозиготи С/С	26 (21,0)	55 (32,4)
Т-алель	0,58	0,46
С-алель	0,42	0,54
$\chi^2$	1,93	3,76
P	> 0,05	> 0,05

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

Порівняння частоти різних варіантів T2255C поліморфізму у хворих основної і контрольної груп дало такі результати: співвідношення генотипів Т/Т, Т/С і С/С у групі з ІАТІ 25,3 %, 42,4 %, 32,4 %, а в контролі – 36,3 %, 42,7 %, 21,0 % (рис. 3.1). Показник P, визначений за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона, дорівнював 0,043 і свідчив про статистично достовірну різницю у розподілі алельних варіантів гена VKORC1 за поліморфізмом 2-го інтрону у хворих з ІАТІ і практично здорових осіб. Таким чином, гомозиготи за мінорним алелем (С/С) мають більший ризик розвитку ІАТІ, ніж носії основного алеля.

Методом логістичної регресії підтверджений вплив поліморфних варіантів гена VKORC1 на розвиток ішемічного інсульту. У носіїв С/С генотипу ризик ІАТІ у 2,2 раза більший, ніж у представників генотипу Т/Т (табл. 3.2).

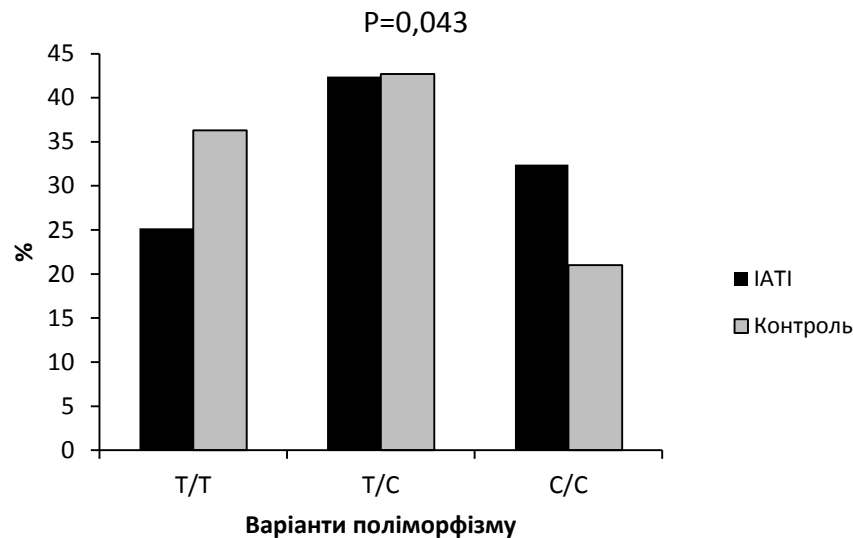


Рис. 3.1 Частота алельних варіантів гена VKORC1 за T2255C у хворих з ІАТІ (чорні стовпчики) і в контрольній групі (сірі стовпчики). P – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

Таблиця 3.2

### Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за T2255C поліморфізмом гена VKORC1

Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
C/C	0,795	0,320	6,184	0,013	2,214	1,183	4,141
T/C	0,352	0,280	1,582	0,208	1,422	0,822	2,460

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

*Аналіз за статтю.* При використанні  $\chi^2$ -критерію Пірсона було з'ясовано, що розподіл частоти алельних варіантів за вивченим поліморфізмом в осіб різної статі достовірно не відрізняється.

Проте методом логістичної регресії встановлений зв'язок між T2255C поліморфізмом гена VKORC1 та ішемічним інсультом у осіб чоловічої статі.

У чоловіків з генотипом С/С ризик розвитку ІАТІ у 2,5 раза більший, ніж у носіїв основного алеля Т/Т (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

**Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за T2255C поліморфізмом гена VKORC1 в осіб чоловічої статі**

Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
C/C	0,925	0,408	5,148	0,023	2,522	1,134	5,607
T/C	0,449	0,364	1,519	0,218	1,567	0,767	3,199

Примітка: див. табл. 3.2

*Аналіз за антропометричними даними.* При порівнянні показників зросту, маси тіла та ІМТ в основній і контрольній групах серед осіб жіночої і чоловічої статей залежно від генотипу пацієнтів за T2255C поліморфізмом гена VKOR не було виявлено різниці середніх значень вивчених показників і їх залежності від вивчених варіантів генетичного поліморфізму (додаток 1).

Що стосується порівняння між групами, то тут виявлено деякі відмінності антропометричних даних як у жінок, так і у чоловіків. Хворі з ІАТІ жінки, які є гомозиготами за основним (Т/Т) і мінорним алелем (С/С), мають достовірно вищі показники зросту ( $163,70 \pm 1,11$  см проти  $157,53 \pm 2,40$  см;  $P = 0,013$  – для Т/Т генотипу і  $161,94 \pm 1,20$  см проти  $153,38 \pm 2,40$  см;  $P = 0,002$  – для С/С генотипу), а жінки-гетерозиготи (Т/С) – маси тіла ( $79,89 \pm 2,26$  кг проти  $71,18 \pm 3,05$  кг;  $P = 0,024$ ) й зросту ( $164,59 \pm 1,03$  см проти  $155,65 \pm 1,47$  см;  $P < 0,001$ ), ніж практично здорові жінки.

У чоловіків з ІАТІ, представників С/С генотипу, показники зросту й маси тіла, а у гетерозигот (Т/С) тільки зросту були достовірно вищими, ніж у відповідному контролі (додаток 1).

Поділ кожної з двох груп – дослідної і контрольної – на дві підгрупи залежно від величини ІМТ дав можливість проаналізувати вплив

поліморфних варіантів гена *VKORC1* на розвиток ІАТІ у осіб з нормальним і підвищеним рівнями цього показника (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

**Розподіл осіб різних генотипів за T2255C поліморфізмом гена *VKORC1* у контрольній групі та групі хворих з ІАТІ залежно від ІМТ**

Генотип	ІМТ < 25 кг/м <sup>2</sup> (n)		ІМТ ≥ 25 кг/м <sup>2</sup> (n)	
	контроль	ІАТІ	контроль	ІАТІ
T/T	18	8	26	35
T/C	13	21	40	51
C/C	7	12	19	43
	P <sub>1</sub> =0,031		P <sub>1</sub> =0,220	
	P <sub>2</sub> =0,195, P <sub>3</sub> =0,391, P <sub>4</sub> =0,023, P <sub>5</sub> =0,565, P <sub>6</sub> =0,613			

Примітка: n – кількість осіб; P<sub>1</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем та ІАТІ; P<sub>2</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> та ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup> у контролі; P<sub>3</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> та ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup> у групах з ІАТІ; P<sub>4</sub> – значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> та ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup> з генотипом T/T у контрольній групі та групі з ІАТІ; P<sub>5</sub> – значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> та ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup> з генотипом T/C у контрольній групі та групі з ІАТІ; P<sub>6</sub> – значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> та ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup> з генотипом C/C у контрольній групі та групі з ІАТІ

При порівнянні частоти генотипів в основній і контрольній групах за поліморфізмом T2255C, окремо у пацієнтів з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> і ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup> 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 статистично достовірно відрізняється. Так, в основній групі воно становить 19,5 %, 51,2 %, 29,3 %, а в контролі – 47,4 %, 34,2 %, 18,4 % (P = 0,031). Таким чином, цей генетичний маркер впливає на розвиток ІАТІ у пацієнтів з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup>. Цей висновок був підтверджений і методом логістичної регресії (табл. 3.5). 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.

Таблиця 3.5

**Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за T2255C поліморфізмом гена VKORC1 в осіб із нормальними показниками ІМТ**

<i>Генотип</i>	<i>CR</i>	<i>SE</i>	<i>WS</i>	<i>P</i>	<i>OR</i>	<i>95% CI для OR нижній</i>	<i>95% CI для OR верхній</i>
C/C	1,350	0,638	4,480	0,034	3,857	1,105	13,463
T/C	1,291	0,552	5,459	0,019	3,635	1,231	10,731

Примітка: див. табл. 3.2

Порівняння даних про частоту генотипів поліморфізму 2-го інтрону гена VKORC1 в осіб, що мають різне значення ІМТ окремо в контрольній групі та у хворих з ішемічним інсультом, свідчить про відсутність статистично значимої відмінності у розподілі алельних варіантів гена серед практично здорових осіб і пацієнтів з ІАТІ. Аналіз частоти осіб у групах пацієнтів, утворених за генотипами гена VKORC1, дає можливість стверджувати, що гомозиготи за основним алелем Т/Т, які мають підвищений ІМТ, більшою мірою схильні до розвитку ІАТІ, ніж відповідні гомозиготи із нормальними показниками ІМТ ( $P = 0,023$ ) (табл. 3.4).

*Аналіз за показниками артеріального тиску.* У додатку 2 наведено показники САТ, ДАТ, ПАТ і СрАТ у пацієнтів контрольної групи та у хворих з ІАТІ, що мають різні генотипи за T2255C поліморфізмом гена VKORC1. Одержані дані свідчать, що всі чотири різновиди АТ не відрізняються у носіїв з різними варіантами генотипів як усередині контрольної групи, так і у хворих з ІАТІ.

При порівнянні між групами достовірної різниці у значенні показників тиску у хворих з ІАТІ і в контролі виявлено не було. Проте така різниця була виявлена при урахуванні статі пацієнтів (додаток 3). У жінок-гетерозигот (Т/С) з ішемічним інсультом значення всіх вивчених тисків були статистично достовірно вищими, якщо порівняти з контролем. У гомозигот за мінорним алелем (С/С) ДАТ і СрАТ, а у гомозигот за основним алелем (Т/Т) ще й САТ

були достовірно вищими, ніж у контролі. Щодо чоловіків, то вплив артеріального тиску на розвиток ІАТІ проявився меншою мірою. Значення систолічного і середнього артеріального тиску достовірно відрізнялись у групах порівняння лише у носіїв Т/Т генотипу, діастолічний – був вищим у гетерозигот Т/С, що хворіють на ІАТІ.

Дані про вплив поліморфізму 2-го інтрону гена *VKORC1* на розвиток ІАТІ в осіб із нормальним і підвищеним артеріальним тиском наведені у табл. 3.6. Як бачимо з таблиці, ні серед осіб із нормальним артеріальним тиском, ні з підвищеним не існує достовірної різниці у співвідношенні генотипів у основній і контрольній групах.

Таблиця 3.6

**Розподіл осіб різних генотипів за T2255C поліморфізмом гена *VKORC1* у контрольній групі і у хворих з ІАТІ залежно від величини АТ**

<i>Генотип</i>	<i>Нормальний АТ (n)</i>		<i>Підвищений АТ (n)</i>	
	<i>контроль</i>	<i>ІАТІ</i>	<i>контроль</i>	<i>ІАТІ</i>
Т/Т	15	8	29	35
Т/С	24	17	28	55
С/С	9	17	16	38
	P <sub>1</sub> =0,067		P <sub>1</sub> =0,172	
	P <sub>2</sub> =0,443, P <sub>3</sub> =0,360 P <sub>4</sub> =0,102, P <sub>5</sub> =0,008, P <sub>6</sub> =0,652			

Примітка: n – кількість осіб; P<sub>1</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем та ІАТІ; P<sub>2</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з нормальним та підвищеним АТ у контролі; P<sub>3</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з нормальним та підвищеним АТ у групах з ІАТІ; P<sub>4</sub> – значимість відмінностей у частоті осіб із нормальним та підвищеним АТ з генотипом Т/Т у контрольній групі та групі з ІАТІ; P<sub>5</sub> – значимість відмінностей у частоті осіб із нормальним та підвищеним АТ з генотипом Т/С у контрольній групі та групі з ІАТІ; P<sub>6</sub> – значимість відмінностей у частоті осіб із нормальним та підвищеним АТ з генотипом С/С у контрольній групі та групі з ІАТІ

Використання  $\chi^2$ -критерію Пірсона показало, що і в контрольній групі, і серед хворих з ІАТІ розподіл алельних варіантів вивченого поліморфізму не відрізнявся у пацієнтів з артеріальною гіпертензією і в осіб з нормальним



АТ. Отже, як в основній, так і в контрольній групах генотип за T2255C поліморфізмом гена VKORC1 не впливав на розвиток артеріальної гіпертензії.

При аналізі частоти осіб із нормальним та підвищеним артеріальним тиском серед носіїв різних генотипів (гомозигот за основним алелем, гетерозигот і гомозигот за мінорним алелем) у контрольній групі та групі з ішемічним інсультом виявлено статистично значиму залежність між рівнем АТ і ймовірністю розвитку ІАТІ у гетерозигот (Т/С).

*Аналіз за фактом паління.* У табл. 3.7 наведено дані про розподіл генотипів за T2255C поліморфізмом гена VKORC1 залежно від факту паління.

Таблиця 3.7

**Розподіл осіб різних генотипів за T2255C поліморфізмом гена VKORC1 у контрольній групі і у хворих з ІАТІ залежно від факту паління**

Генотип	Ті, хто не палить (n)		Курці (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
Т/Т	34	29	11	14
Т/С	43	53	10	19
С/С	16	38	10	17
	P <sub>1</sub> =0,029		P <sub>1</sub> =0,763	
	P <sub>2</sub> =0,167, P <sub>3</sub> =0,748, P <sub>4</sub> =0,399, P <sub>5</sub> =0,325, P <sub>6</sub> =0,501			

Примітка: n – кількість осіб; P<sub>1</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ; P<sub>2</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів у курців і тих, хто не палить у контролі; P<sub>3</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів у курців і тих, хто не палить у групах з ІАТІ; P<sub>4</sub> – значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не палить з генотипом Т/Т у контрольній групі та групі з ІАТІ; P<sub>5</sub> – значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не палить з генотипом Т/С у контрольній групі та групі з ІАТІ; P<sub>6</sub> – значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не палить з С/С у контрольній групі та групі з ІАТІ

Розподіл генотипів за вивченим поліморфізмом у курців істотно не відрізняється серед хворих з ІАТІ і в контролі. А серед тих, хто не палить співвідношення у групах порівняння достовірно різне. Серед хворих із ІАТІ з

генотипом Т/Т було 24,2 %, Т/С – 44,2 %, С/С – 31,6 %, а в контролі відповідно – 36,6 %, 46,2 %, 17,2 % ( $P = 0,029$ ). Таким чином, серед осіб, які не палять ризик розвитку ІАТІ більший у представників С/С генотипу. При порівнянні співвідношення генотипів у контрольній і основній групах відмінностей у частоті алельних варіантів гена VKORC1 між курцями і тими, хто не палить, не виявлено. Співвідношення між курцями і тими, хто не палить, у хворих з ІАТІ і в контролі статистично не відрізнялося в усіх групах, виділених за ознакою генотипу пацієнтів.

*Аналіз за наявністю цукрового діабету.* Визначення концентрації глюкози натще у хворих з ІАТІ показало, що рівень глюкози крові не залежав від поліморфізму, що вивчався. У пацієнтів із ІАТІ не виявлено зв'язку між поліморфними варіантами гена VKORC1 і цукровим діабетом. На відсутність такої залежності не впливали стать, ІМТ, наявність артеріальної гіпертензії, ДАХ і ГКК.

*Аналіз за наявністю ожиріння.* Під час вивчення розподілу алельних варіантів гена VKORC1 у пацієнтів з ішемічним інсультом зв'язку з розвитком ожиріння для поліморфізму Т2255С не виявлено. Співвідношення генотипів у групах порівняння не відрізнялося і при урахуванні основних факторів ризику ІАТІ (стать, ІМТ, паління, АГ, ДАХ, ожиріння, ЦД, ГКК).

Методом логістичної регресії виявлений зв'язок між поліморфними варіантами гена VKORC1 та ІАТІ у пацієнтів без ожиріння (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

**Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за Т2255С поліморфізмом гена VKORC1 у осіб без ожиріння**

Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
С/С	0,972	0,382	6,466	0,011	2,643	1,250	5,590
Т/С	0,518	0,333	2,416	0,120	1,679	0,874	3,225

Примітка: див. табл. 3.2

Носії генотипу С/С, що не мають ожиріння, у 2,6 раза частіше хворіють на ІАТІ, ніж представники Т/Т генотипу.

*Вплив SNP на основні характеристики ІАТІ.* Аналіз даних про зв'язок поліморфізму Т2255С гена VKORC1 з різними варіантами ІАТІ свідчить про відсутність асоціації досліджуваних генетичних маркерів з локалізацією атеротромботичного процесу, тяжкістю клінічного перебігу та неврологічними проявами інсульту. Цей висновок був підтверджений і при врахуванні статі пацієнтів та основних факторів ризику ІАТІ (ІМТ, артеріальна гіпертензія, паління, синдром ГКК, порушення ліпідного спектра плазми крові, ожиріння та цукровий діабет).

Не існує зв'язку між Т2255С гена VKORC1 та обсягом уражень головного мозку. Проте аналіз з урахуванням факторів ризику дозволив виявити деякі особливості. У чоловіків (додаток 4), осіб без артеріальної гіпертензії (додаток 5) і пацієнтів з ожирінням (додаток 6) співвідношення генотипів достовірно відрізняється у групах хворих із різним обсягом уражень головного мозку.

Був доведений вплив Т2255С поліморфізму гена VKORC1 на частоту повторних випадків інсульту (рис. 3.2).

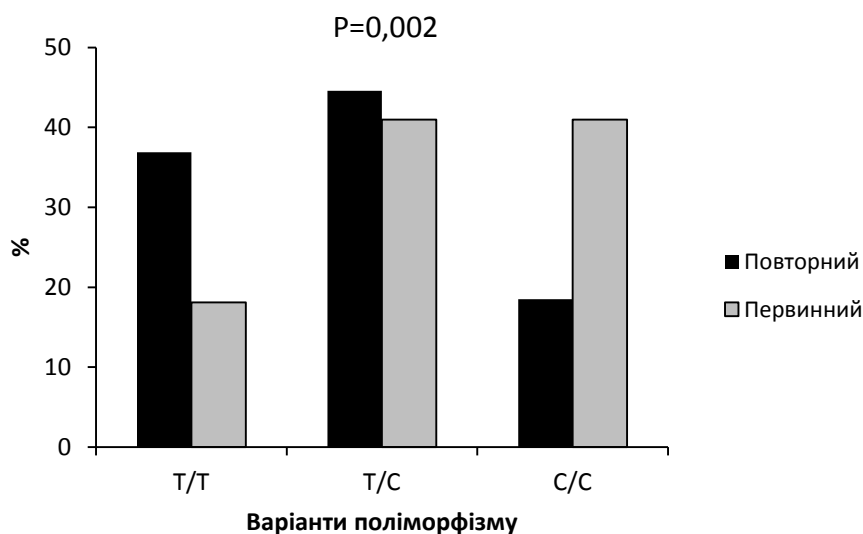


Рис. 3.2 Частота алельних варіантів гена VKORC1 за Т2255С у хворих з повторним ІАТІ (чорні стовпчики) і первинним ІАТІ (сірі стовпчики). Р – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

Співвідношення гомозигот за основним алелем, гетерозигот і гомозигот за мінорним алелем 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 % ( $P = 0,002$ ).

Таким чином, у гомозигот за основним алелем (Т/Т) ймовірність повторних випадків інсульту більша, ніж у представників інших генотипів. Зв'язок Т2255С поліморфізму гена *VKORC1* із частотою повторних випадків інсульту був підтверджений для більшості факторів ризику ІАТІ. Так, у носіїв Т/Т генотипу чоловічої статі ( $P = 0,05$ ) (додаток 7), пацієнтів з артеріальною гіпертензією ( $P = 0,027$ ) (додаток 8), з  $IMT < 25 \text{ кг/м}^2$  ( $P = 0,002$ ) (додаток 9), без ознак гіперкоагуляції крові ( $P = 0,015$ ) (додаток 10), з порушенням ліпідного складу плазми крові ( $P = 0,014$ ) (додаток 11), осіб без ожиріння ( $P = 0,001$ ) (додаток 12) і без цукрового діабету ( $P = 0,001$ ) (додаток 13) ризик повторних інсультів більший, ніж у носіїв інших генотипів.

### **3.2 G3730A поліморфізм гена *VKORC1***

Частоту трьох можливих варіантів генотипу за вивченим поліморфізмом гена *VKORC1*, а також перевірку відповідності розподілу основного й мінорного алелів рівновазі Харді-Вайнберга подано в табл. 3.9.

Перевірка розподілу генотипів за G3730A поліморфізмом на відповідність закону Харді-Вайнберга показала, що і в контрольній, і в основній групах відхилення від встановленої рівноваги не є статистично значимими. З'ясовано, що співвідношення алелів в обох групах істотно не відрізняється від очікуваних ( $P > 0,05$ ).

Порівняння частоти алельних варіантів гена *VKORC1* за G3730A поліморфізмом у хворих з ІАТІ і в контрольній групі свідчить про відсутність відмінностей у розподілі різних видів генотипу між хворими з ішемічним атеротромботичним інсультом і здоровими пацієнтами ( $P > 0,05$ ).

Таблиця 3.9

**Частота алельних варіантів і алелів за G3730A поліморфізмом гена VKORC1 у контрольній групі та у хворих з ІАТІ**

	<i>Контрольна група, n (%)</i>	<i>Хворі з ІАТІ, n (%)</i>
Гомозиготи G/G	45 (36,3)	54 (31,8)
Гетерозиготи G/A	63 (50,8)	85 (50,0)
Гомозиготи A/A	16 (12,9)	31 (18,2)
Arg-алель	0,62	0,57
Gln-алель	0,38	0,43
$\chi^2$	0,7	0,06
P	> 0,05	> 0,05

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

*Аналіз за статтю.* При аналізі частоти генотипів за G3730A поліморфізмом гена VKORC1 в осіб різної статі достовірної різниці у їх співвідношенні не виявлено. Таким чином, не існує зв'язку між даним поліморфізмом та ішемічним інсультом в осіб жіночої та чоловічої статей.

*Аналіз за антропометричними даними.* При порівнянні показників зросту, маси тіла та ІМТ в основній і контрольній групах серед осіб жіночої і чоловічої статей залежно від генотипу пацієнтів за G3730A поліморфізмом гена VKORC1 різниці середніх значень вивчених показників і їх залежності від деяких вивчених варіантів генетичного поліморфізму виявлено не було (додаток 14). Лише у чоловіків з ІАТІ, які мають генотип A/A, більший ІМТ ( $29,390 \pm 1,21$  кг/м<sup>2</sup>; P = 0,022), ніж у носіїв G/G і G/A генотипів.

Що стосується порівняння між групами, то тут виявлені певні відмінності антропометричних даних як у жінок, так і у чоловіків. Хворі з ІАТІ жінки, які є гомозиготами за мінорним алелем за G3730A поліморфізмом (A/A) мають достовірно вищі показники маси тіла ( $77,50 \pm 2,81$  кг проти  $66,71 \pm 4,46$  кг; P = 0,046), гетерозиготи (G/A) – зросту ( $164,42 \pm 0,94$  см проти  $155,52 \pm 1,52$  см; P < 0,001), а гомозиготи за основним алелем

(G/G) – і маси тіла ( $76,60 \pm 3,16$  кг проти  $66,07 \pm 2,67$  кг;  $P = 0,030$ ), і зросту ( $162,52 \pm 1,12$  см проти  $156,07 \pm 1,99$  см;  $P = 0,004$ ), ніж жінки з групи контролю. У чоловіків з ІАТІ, представників G/G генотипу, показники зросту, а у гетерозигот G/A ще й маси тіла, вищі, ніж у відповідному контролі (додаток 14).

Аналіз зв'язку алельних варіантів гена *VKORC1* з ішемічним інсультом в осіб з нормальним і підвищеним індексами маси тіла дає можливість стверджувати, що цей генетичний маркер не впливає на розвиток ІАТІ як в осіб з нормальним, так і підвищеним ІМТ.

*Аналіз за показниками артеріального тиску.* У додатку 15 наведено показники САТ, ДАТ, ПАТ і СрАТ у пацієнтів контрольної групи і хворих з ІАТІ, що мають різні генотипи за G3730A поліморфізмом гена *VKORC1*. Одержані дані свідчать про те, що у контрольній групі носії A/A генотипу мають достовірно вищі значення пульсового АТ, ніж представники інших генотипів ( $P = 0,049$ ). А серед хворих з ішемічним інсультом у тих самих гомозигот за мінорним алелем достовірно нижчі значення середнього тиску ( $P = 0,038$ ). При порівнянні між групами з'ясовано, що за вивченим поліморфізмом у представників G/G генотипу всі чотири види тиску були вищими серед хворих з ІАТІ, ніж у практично здорових осіб. Серед гетерозигот значення САТ, ДАТ і СрАТ достовірно відрізнялись у пацієнтів основної і контрольної груп. І лише у гомозигот за мінорним алелем A/A жоден із вивчених показників тиску статистично не відрізнявся у групах порівняння.

Така сама закономірність виявилася, коли аналіз проводився серед осіб жіночої статі (додаток 16). Винятком були лише гомозиготи за мінорним алелем (A/A), у яких на відміну від загальної групи ще й ДАТ і СрАТ у групі хворих були достовірно вищими порівняно з контролем. Щодо чоловіків, то відмінності від загальної групи стосувалися лише пульсового артеріального тиску: його значення в осіб чоловічої статі достовірно не відрізнялись у групах порівняння.

Дані про вплив поліморфізму 3'UTR гена VKORC1 на розвиток ІАТІ у осіб із нормальним і підвищеним АТ наведені у табл. 3.10.

Таблиця 3.10

**Розподіл осіб різних генотипів за G3730A поліморфізмом гена VKORC1 у контрольній групі і групі хворих з ІАТІ залежно від величини артеріального тиску**

Генотип	Нормальний АТ (n)		Підвищений АТ (n)	
	контроль	ІАТІ	контроль	ІАТІ
G/G	23	10	20	44
G/A	10	21	42	64
A/A	5	11	11	20
	P <sub>1</sub> =0,030		P <sub>1</sub> =0,543	
	P <sub>2</sub> =0,070, P <sub>3</sub> =0,218 P <sub>4</sub> <0,001, P <sub>5</sub> =0,313, P <sub>6</sub> =0,772			

Примітка: n – кількість осіб; P<sub>1</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ; P<sub>2</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з нормальним та підвищеним АТ у контролі; P<sub>3</sub> – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з нормальним та підвищеним АТ у групах з ІАТІ; P<sub>4</sub> – значимість відмінностей у частоті осіб із нормальним та підвищеним АТ з генотипом G/G у контрольній групі та групі з ІАТІ; P<sub>5</sub> – значимість відмінностей у частоті осіб із нормальним та підвищеним АТ з генотипом G/A у контрольній групі та групі з ІАТІ; P<sub>6</sub> – значимість відмінностей у частоті осіб із нормальним та підвищеним АТ з генотипом A/A у контрольній групі та групі з ІАТІ

Як бачимо з таблиці, серед осіб із нормальним АТ існує достовірна різниця у співвідношенні генотипів (G/G, G/A, A/A) у основній і контрольній групах. Так, у групі з ІАТІ вона становила відповідно 23,8 %, 50,0 %, 26,2 %, а в контролі – 47,9 %, 41,7 %, 10,4 % (P = 0,030). Таким чином, серед осіб з нормальним артеріальним тиском, що мають генотип A/A, ішемічного інсульт виникає частіше. Методом логістичної регресії підтверджено, що у нормотензивних носіїв мінорного алеля ризик ІАТІ у 5 разів більший, ніж у гомозигот за основним алелем (табл. 3.11)

Використання  $\chi^2$ -критерію Пірсона показало, що і в контрольній групі, і серед хворих з ІАТІ розподіл алельних варіантів вивченого поліморфізму не відрізнявся у пацієнтів з артеріальною гіпертензією і в осіб із нормальним

АТ. Отже, як в основній, так і в контрольній групі генотип за G3730A поліморфізмом гена VKORC1 не впливав на розвиток артеріальної гіпертензії (табл. 3.10).

Таблиця 3.11

**Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за G3730A поліморфізмом гена VKORC1 у пацієнтів з нормальним АТ**

<i>Генотип</i>	<i>CR</i>	<i>SE</i>	<i>WS</i>	<i>P</i>	<i>OR</i>	<i>95% CI для OR нижній</i>	<i>95% CI для OR верхній</i>
A/A	1,621	0,659	6,052	0,014	5,060	1,390	18,415
G/A	0,882	0,491	3,224	0,073	2,415	0,922	6,322

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

При аналізі частоти осіб із нормальним та підвищеним артеріальним тиском серед носіїв різних генотипів (гомозигот за основним алелем, гетерозигот і гомозигот за мінорним алелем) у контрольній групі та групі з ІАТІ виявлено статистично значиму залежність між рівнем АТ і ймовірністю розвитку ІАТІ у носіїв G/G генотипу.

*Аналіз за фактом паління.* Не виявлено зв'язку між цим генетичним маркером і розвитком ІАТІ як в осіб, які не палять, так і серед курців.

*Аналіз за наявністю цукрового діабету.* Визначення концентрації глюкози натще у хворих з ІАТІ показало, що рівень глюкози крові не залежав від поліморфізму, що вивчався. У пацієнтів з ІАТІ не виявлено зв'язку між поліморфними варіантами гена VKORC1 і цукровим діабетом.

*Аналіз за наявністю ожиріння.* не виявлено зв'язку G3730A поліморфізму гена VKORC1 з розвитком ожиріння у пацієнтів з ІАТІ. Співвідношення генотипів у групах порівняння не відрізнялось і при врахуванні основних факторів ризику інсульту (стать, ІМТ, паління, ДАХ, ЦД, ГКК). Лише у групах пацієнтів за величиною АТ виявлений достовірний зв'язок генотипу з розвитком ожиріння. Так, серед осіб із АГ розподіл



генотипів G/G, G/A, A/A серед тих, хто не має ожиріння, становив 28,2 %, 57,6 %, 14,1 %, а серед пацієнтів з ожирінням відповідно 46,5 %, 34,9 %, 18,6 % ( $P = 0,047$ ) (рис. 3.3). Таким чином, серед представників G/G генотипу, які хворі на ІАТІ і мають підвищений АТ, ожиріння розвивається частіше, ніж у носіїв інших генотипів.

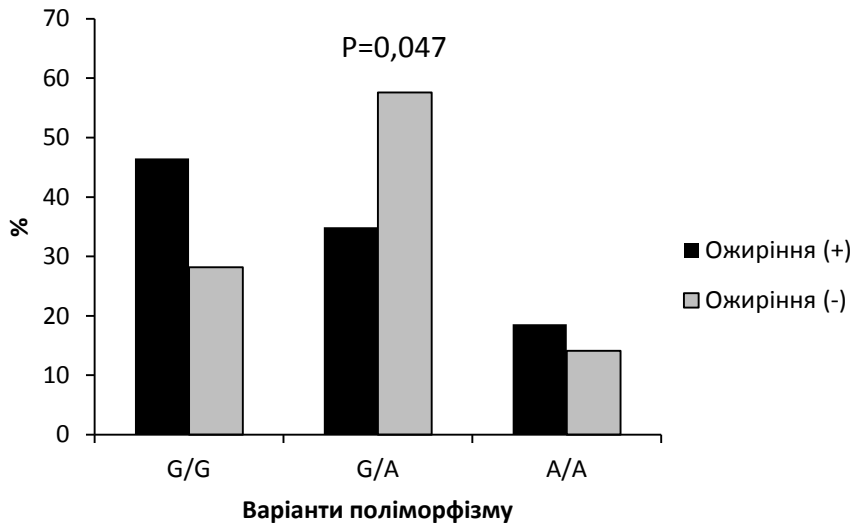


Рис. 3.3 Частота алельних варіантів гена VKORC1 за G3730A у хворих з ІАТІ, що мають підвищений артеріальний тиск з ожирінням (чорні стовпчики) і без ожиріння (сірі стовпчики). P – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

*Вплив SNP на основні характеристики ІАТІ.* Аналіз даних про зв'язок поліморфізму гена VKORC1 з різними варіантами ішемічного інсульту свідчить про відсутність асоціації досліджуваного генетичного маркера з обсягом уражень головного мозку, локалізацією атеротромботичного процесу, тяжкістю перебігу, повторюваністю і неврологічними проявами ІАТІ. Залежність була виявлена лише за повторюваністю інсульту і лише у жінок і хворих з цукровим діабетом. Так, співвідношення генотипів G/G, G/A, A/A в осіб жіночої статі з первинним інсультом становило відповідно 39,2 %, 49 %, 11,8 %, а з повторним 23,8 %, 38,1 %, 38,1 % ( $P = 0,035$ ) (рис. 3.4). Таким чином, у гомозигот за мінорним алелем жіночої статі повторний інсульт розвивався частіше, ніж у носіїв інших генотипів.

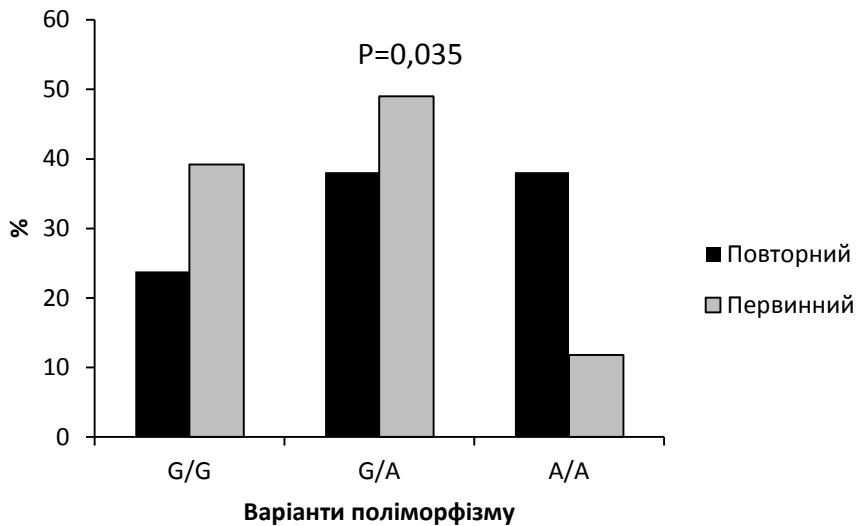


Рис. 3.4 Частота алельних варіантів гена VKORC1 за G3730A у жінок з повторним (чорні стовпчики) і первинним інсультом (сірі стовпчики). P – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

Щодо пацієнтів з ІАТІ, які хворіють на цукровий діабет, то розподіл генотипів серед осіб із первинним інсультом був таким: 22,2 %, 72,2 %, 5,6 %, а з повторним відповідно – 33,3 %, 25,0 %, 41,7 % (P = 0,018) (рис. 3.5). Таким чином, серед носіїв A/A генотипу із цукровим діабетом ризик повторного інсульту більший, ніж серед носіїв інших генотипів.

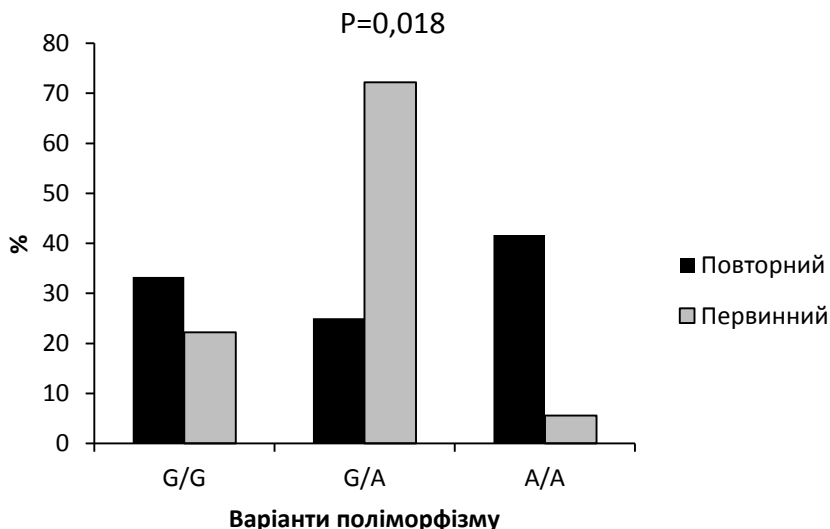


Рис. 3.5 Частота алельних варіантів гена VKORC1 за G3730A у хворих з цукровим діабетом з повторним (чорні стовпчики) і первинним інсультом (сірі стовпчики). P – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

## РОЗДІЛ 4

### ЗВ'ЯЗОК ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА VKORC1 ІЗ ПОРУШЕННЯМИ ЛІПОПРОТЕЇНОВОГО ОБМІНУ У ХВОРИХ ІЗ ІШЕМІЧНИМ АТЕРОТРОМБОТИЧНИМ ІНСУЛЬТОМ

Дисліпопротеїнемія є одним із основних факторів ризику розвитку кардіо- і цереброваскулярної патології. Встановлена пряма кореляція між смертністю від серцево-судинних захворювань і підвищеним рівнем у крові загального холестеролу і холестеролу у складі ліпопротеїдів низької густини [5]. Проспективними дослідженнями на великих вибірках пацієнтів доведено, що зростання рівня загального холестеролу в крові є незалежним фактором ризику ішемічної хвороби серця як у чоловіків, так і у жінок. Його зниження у крові на 10% зменшує ризик ІХС у пацієнтів віком до 40 років на 50 %, до 50 років – на 40 %, до 60 років – на 30 % [5]. Оскільки ХС-ЛПВГ є антиатерогенним, то зниження його рівня у крові, як і зростання вмісту ХС-ЛПНГ та ХС-ЛПДНГ, також є фактором ризику атеросклерозу.

Стан процесів ліпідного обміну оцінювали за такими загальноприйнятими показниками плазми крові, як загальний холестерол, холестерол у складі ліпопротеїнів різної густини, 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 табл. 4.1 подано дані про ліпідний спектр плазми крові хворих з ішемічним інсультом, що мають різні варіанти генотипів за T2255C, G3730A поліморфізмами гена VKORC1.

Таблиця 4.1

**Вміст ліпідів плазми крові у хворих з ІАТІ залежно від варіантів генотипу за T2255C, G3730A поліморфізмами гена VDR (M±m)**

Генотип	n	Загальний ХС	ХС-ЛПНГ	ХС-ЛПДНГ	ХС-ЛПВГ	Тригліцериди
<b>T2255C</b>						
T/T	54	4,72±0,22	2,97±0,21	0,72±0,05	1,03±0,04	1,58±0,11
T/C + C/C	103	5,22±0,14	3,40±0,13	0,80±0,03	1,02±0,03	1,76±0,08
		F=4,042	F=3,403	F=1,862	F=0,105	F=1,862
		P=0,046	P=0,067	P=0,174	P=0,746	P=0,174
<b>G3730A</b>						
G/G	60	4,80±0,18	3,00±0,17	0,71±0,04	1,08±0,04	1,57±0,09
G/A +A/C/Cla	97	5,20±0,16	3,41±0,15	0,81±0,04	0,98±0,03	1,78±0,08
		F=2,805	F=3,240	F=2,669	F=4,516	F=2,669
		P=0,096	P=0,074	P=0,104	P=0,035	P=0,104

Примітка: F – критерій Фішера; P – значимість відмінностей між генотипами за даними однофакторного дисперсійного аналізу; n – кількість пацієнтів; усі показники в ммоль/л

Порівняння характеристик ліпідного обміну у хворих з ІАТІ, що мають різні генотипи за T2255C поліморфізмом, показало, що в носіїв мінорного алеля (T/C+C/C) рівень загального ХС вищий, ніж у гомозигот за основним алелем (T/T) ( $4,72 \pm 0,22$  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, T2255C генотип все ж впливає на досліджувані показники (табл. 4.2).

Так, жінки, що є носіями мінорного алеля (T/C+C/C), мають вищі, ніж гомозиготи за основним алелем (T/T), 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 ( $P = 0,054$ ).

Таблиця 4.2

**Вміст ліпідів плазми крові у хворих з ІАТІ жіночої статі залежно від варіантів генотипу за T2255C поліморфізмом гена VKORC1 ( $M \pm m$ )**

Показник	T/T (n = 18)	T/C + C/C (n = 50)	F	P
Загальний ХС	4,7±0,41	5,57±0,21	4,178	0,045
ХС-ЛПНГ	2,84±0,4	3,68±0,2	4,301	0,042
ХС-ЛПДНГ	0,7±0,09	0,9±0,05	3,852	0,054
ХС-ЛПВГ	1,16±0,08	0,99±0,04	4,069	0,048
Тригліцериди	1,54±0,19	1,98±0,11	3,852	0,054

Примітка: F – критерій Фішера; P – значимість відмінностей між генотипами за даними однофакторного дисперсійного аналізу; n – кількість пацієнтів; усі показники в ммоль/л

Щодо поліморфізму 3'UTR, то пацієнти, геном яких містить Ala-алель, мають нижчий, якщо порівнювати із гомозиготами за основним алелем, рівень антиатерогенного ХС-ЛПВГ. Крім того, у них відзначали дещо вищу концентрацію ХС-ЛПНГ, проте відмінності між двома порівнюваними варіантами генотипів не досягали рівня статистичної значимості, хоча були близькими до нього ( $P = 0,074$ ).

Результати розрахунку індексу атерогенності показали відсутність достовірної різниці у значенні цього показника між представниками різних генотипів за поліморфізмом T2255C.

Щодо поліморфізму G3730A, то відмінності між двома порівнюваними варіантами генотипів (G/G і G/A+A1C/C1a) не досягали рівня статистичної значимості, хоча були близькими до нього ( $P = 0,058$ ).

Проведений аналіз не виявив статистично значимої асоціації поліморфізму другого інтрона гена VKORC1 з ДАХ. Відсутність такого зв'язку спостерігалась і тоді, коли хворих з ІАТІ ділили на підгрупи за

статтю, за величиною ІМТ ( $<25$  і  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup>), за наявністю артеріальної гіпертензії, цукрового діабету чи синдрому гіперкоагуляції крові.

Розподіл алельних варіантів за поліморфізмом T2255C у хворих з ішемічним інсультом з ДАХ і без ДАХ достовірно не відрізняється. Проте різницю у розподілі було виявлено у хворих жіночої, а не чоловічої, статі (додаток 17). Методом логістичної регресії встановлено, що у жінок-гетерозигот (Т/С) ризик розвитку ДАХ у 5,5 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

**Аналіз ризику дисліпопротеїнемії атерогенного характеру у хворих з ІАТІ (жінок і чоловіків) залежно від генотипу за T2255C поліморфізмом гена VKORC1**

Стать	Гено-тип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
Жінки	Т/С	1,715	0,633	7,331	0,007	5,556	1,606	19,223
	С/С	0,944	0,710	1,770	0,183	2,571	0,640	10,338
Чоловіки	Т/С	-0,270	0,457	0,349	0,555	0,764	0,312	1,869
	С/С	0,241	0,785	0,094	0,759	1,273	0,273	5,933

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

Нами не виявлено зв'язку між генотипом хворих з ІАТІ за T2255C поліморфізмом і ознаками ДАХ у кожній з підгруп, утворених за іншими факторами ризику (ІМТ, паління, артеріальна гіпертензія, цукровий діабет, гіперкоагуляція крові).

Щодо G3730A поліморфізму, то  $\chi^2$ -критерій Пірсона не виявив зв'язку поліморфних варіантів гена VDR у хворих з ішемічним інсультом із розвитком ДАХ. Проте за допомогою методу логістичної регресії встановлено, що у гетерозигот (G/A) імовірність розвитку ДАХ удвічі вища, ніж у гомозигот за основним алелем (табл. 4.4).

На зв'язок даного SNP із ДАХ впливали такі додаткові чинники, як ІМТ і АТ. Розподіл генотипів (G/G, G/A, A/A) в осіб з ІМТ<25 кг/м<sup>2</sup> без ДАХ становив 45 %, 45 %, 10 %, а у пацієнтів з ДАХ відповідно 5,9 %, 82,4 %, 11,8 % (P = 0,026). Таким чином, серед пацієнтів із ІМТ<25 кг/м<sup>2</sup>, що є гетерозиготами, ДАХ розвивається частіше, ніж у хворих, гомозиготних за основним алелем (додаток 18). Крім того, у пацієнтів з інсультом, що мають артеріальну гіпертензію, ДАХ розвивається частіше у носіїв мінорного алеля, ніж у хворих із генотипом G/G (додаток 19). Різниця у співвідношенні генотипів (G/G, G/A, A/A) у пацієнтів-гіпертоніків без ДАХ (46,7 %, 48,9 %, 4,4 %) і з ДАХ (25,4 %, 59,2 %, 15,5 %) є статистично достовірною (P = 0,027).

Таблиця 4.4

**Аналіз ризику дисліпопротеїнемії атерогенного характеру у хворих з ІАТІ залежно від генотипу за G3730A поліморфізмом гена VKORC1**

Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
G/A	0,703	0,351	4,002	0,045	2,019	1,014	4,019
A/A	0,606	0,541	1,252	0,263	1,833	0,634	5,294

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

Інші досліджені чинники, такі як стать, цукровий діабет, паління, гіперкоагуляція крові, не впливали на зв'язок G3730A поліморфізму з розвитком ДАХ у хворих на інсульт.

Таким чином, аналіз отриманих результатів про асоціацію поліморфізму генів системи VKORC1 з порушеннями ліпопротеїнового обміну у хворих із ІАТІ дозволяє зробити такі висновки:

1. Жінки-носії мінорного алеля (T/C+C/C) за поліморфізмом T2255C гена VKORC1 мають вищі, ніж гомозиготи за основним алелем (T/T),

показники загального ХС і ХС-ЛПНГ і нижчий рівень ХС-ЛПВГ. Пацієнти, що є носіями цих генотипів, більш схильні до розвитку атеросклерозу як такого, так і до його ускладнень, серед яких ІАТІ.

2. У пацієнтів з ІАТІ ризик розвитку ДАХ у гетерозигот (G/A) за поліморфізмом G3730A удвічі, а у жінок-гетерозигот (T/C) за поліморфізмом T2255C гена VKORC1 у 5,5 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем.



## РОЗДІЛ 5

### ВПЛИВ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА VKORC1 НА ПОРУШЕННЯ КОАГУЛЯЦІЇ КРОВІ ЯК ПАТОГЕНЕТИЧНОГО МЕХАНІЗМУ РОЗВИТКУ ІШЕМІЧНОГО АТЕРОТРОМБОТИЧНОГО ІНСУЛЬТУ

Серед основних факторів ризику ускладнень атеросклеротичного процесу важливе місце посідають чинники, що зумовлюють гіперкоагулянтну активність крові. Так, зростання рівня фібриногену плазми крові вважають самостійним фактором, що збільшує ризик загострення ішемічної хвороби серця та вірогідність настання ішемічного інфаркту головного мозку [14,70].

Стан процесів згортання крові у хворих з ІАТІ оцінювали за низкою загальноприйнятих показників, серед яких протромбіновий час і протромбіновий індекс, тромбіновий час, вміст фібриногену у плазмі крові, інтенсивність спонтанного фібринолізу.

У табл. 5.1 подано дані про значення показників коагуляції крові у плазмі хворих з ІАТІ з різними варіантами генотипів за T2255C, G3730A поліморфізмами гена VKORC1.

Середня величина жодного із цих показників не залежала у хворих з ІАТІ від генотипу пацієнтів за G3730A поліморфізмом гена VKORC1. Щодо поліморфізму T2255C, то гомозиготи за мінорним алелем (C/C) характеризувались більшим вмістом фібриногену ( $4,73 \pm 0,15$  г/л) та меншими середніми величинами протромбінового часу ( $8,37 \pm 0,34$  с) і протромбінового індексу ( $77,4 \pm 2,34$  %), тобто мали біохімічні ознаки гіперкоагуляційного синдрому.

Таблиця 5.1

**Деякі показники коагуляції крові у хворих з ІАТІ залежно від варіантів генотипу за T2255C, G3730A поліморфізмами гена VKORC1 (M±m)**

Генотип	n	Протромбіновий час, с	Протромбінний індекс, %	Тромбінний час, с	Фібриноген, г/л	Спонтанний фібриноліз, хв
<b>T2255C</b>						
T/T	61	9,88±0,27	86,4±2,08	16,3±0,41	3,85±0,15	482,5±4,5
T/C	83	9,52±0,21	84,5±1,52	17,0±0,41	3,74±0,14	474,4±4,4
C/C	26	8,37±0,34	77,4±2,34	15,4±0,7	4,73±0,15	487,5±4,8
		F=5,394	F=3,594	F=2,211	F=7,312	F=1,671
		P=0,005	P=0,030	P=0,113	P=0,001	P=0,191
<b>G3730A</b>						
G/G	67	9,20±0,23	81,2±1,48	16,0±0,42	3,98±0,14	484,7±4,4
G/A	83	9,68±0,23	85,9±1,80	16,9±0,41	3,91±0,13	473,9±4,0
A/A	20	9,55±0,44	86,6±3,13	16,7±0,72	3,82±0,32	484,0±8,3
		F=1,038	F=2,227	F=1,262	F=0,156	F=1,855
		P=0,356	P=0,111	P=0,286	P=0,856	P=0,160

Примітка: F – критерій Фішера; P – значимість відмінностей між генотипами за даними однофакторного дисперсійного аналізу; n – кількість пацієнтів

Поділ хворих з ІАТІ на дві підгрупи за наявністю і відсутністю функціональних і біохімічних ознак гіперкоагуляції крові дав можливість вивчити вплив досліджуваного генетичного маркера на ризик розвитку гіперкоагуляційного синдрому. Поліморфізм T2255C у хворих з ІАТІ виявився асоційованим із зазначеним синдромом (рис. 5.1).

У хворих з ІАТІ, що мають генотип C/C, ГКК розвивається частіше, ніж у носіїв інших генотипів. Асоціацію поліморфізму T2255C у хворих з ІАТІ, що мають синдром гіперкоагуляції, підтверджено за допомогою критерію  $\chi^2$  у жінок (додаток 20), у хворих з ІМТ $\geq$ 25 кг/м<sup>2</sup> (додаток 21), у пацієнтів з артеріальною гіпертензією (додаток 22), у тих, хто не палить

(додаток 23), в осіб зі збільшеним індексом атерогенності ліпопротеїнів (додаток 24).

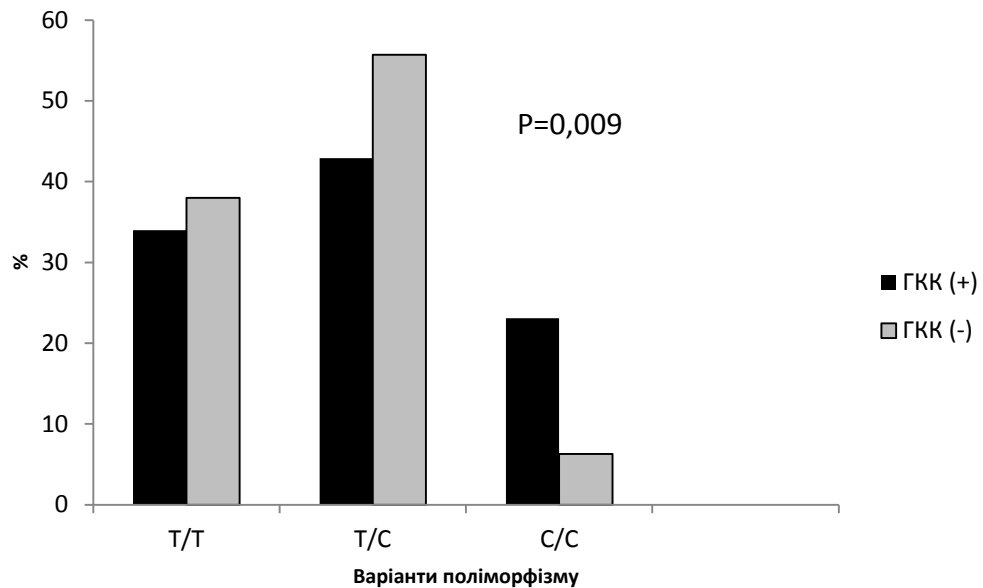


Рис. 5.1 Частота алельних варіантів гена VKORC1 за поліморфізмом T2255C у хворих з ІАТІ з гіперкоагуляцією крові (чорні стовпчики) і з нормальним рівнем коагуляції (сірі стовпчики). P – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

За даними проведеного регресивного аналізу на залежність між T2255C поліморфізмом і ГКК у хворих з ІАТІ впливають стать, ІМТ, рівень артеріального тиску і факт паління (табл. 5.2).

Так, у жінок, а не у чоловіків, ризик розвитку ГКК у гомозигот за мінорним алелем у 6,8 раза вищий, ніж у носіїв генотипу T/T ( $P = 0,027$ ). Гомозиготні за A-алелем пацієнти мають вищий, ніж гомозиготи за G-алелем, ризик ГКК, якщо їхній ІМТ більший за  $25 \text{ кг/м}^2$  ( $P = 0,017$ ), якщо у них артеріальна гіпертензія ( $P = 0,022$ ) і якщо вони належать до тих, хто не палить ( $P = 0,026$ ) (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

**Аналіз ризику гіперкоагуляції крові у різних групах хворих з ІАТІ залежно від генотипу за T225C поліморфізмом гена VKORC1**

<i>Група</i>	<i>Гено-тип</i>	<i>CR</i>	<i>SE</i>	<i>WS</i>	<i>P</i>	<i>OR</i>	<i>95% CI для OR нижній</i>	<i>95% CI для OR верхній</i>
<b><i>Стать</i></b>								
Жінки	T/C	0,141	0,557	0,064	0,800	1,152	0,387	3,430
	C/C	1,920	0,870	4,864	0,027	6,818	1,238	37,544
Чоловіки	T/C	-0,372	0,430	0,748	0,387	0,690	0,297	1,600
	C/C	0,693	0,775	0,801	0,371	2,000	0,438	9,128
<b><i>Індекс маси тіла</i></b>								
ІМТ<25 кг/м <sup>2</sup>	T/C	-1,099	0,764	2,069	0,150	0,333	0,075	1,489
	C/C	0,560	1,009	0,308	0,578	1,750	0,242	12,642
ІМТ≥25 кг/м <sup>2</sup>	T/C	0,091	0,381	0,057	0,812	1,095	0,519	2,313
	C/C	1,663	-,698	5,683	0,017	5,275	1,344	10,705
<b><i>Артеріальний тиск</i></b>								
Нормальний АТ	T/C	-,1,135	0,747	2,310	0,129	0,321	0,074	1,389
	C/C	1,099	1,242	0,783	0,376	3,000	0,263	34,198
Артеріальна гіпертензія	T/C	0,123	0,385	0,101	0,750	1,130	0,531	2,406
	C/C	1,444	0,631	5,234	0,022	4,239	1,230	14,611
<b><i>Паління</i></b>								
Ті, хто не палять	T/C	-0,167	0,409	0,167	0,683	0,846	0,380	1,885
	C/C	1,409	0,633	4,949	0,026	4,091	1,182	14,153
Курці	T/C	-0,118	0,601	0,038	0,845	0,889	0,274	2,886
	C/C	1,204	1,243	0,939	0,333	3,333	0,292	38,082

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

Щодо G3730A поліморфізму гена VKORC1, то зв'язку між даним SNP і розвитком ГКК не виявлено. Необхідно, однак, зазначити, що асоціація досліджуваного поліморфізму з ГКК залежала від таких факторів, як стать (додаток 25) і АТ (додаток 26). Нами встановлено, що у чоловіків з інсультом (а не у жінок), гомозиготних за основним алелем (G/G), імовірність розвитку ГКК у 4 рази вища, ніж у носіїв мінорного алеля (G/A+A1C/ClA) (табл. 5.3). Схожий зв'язок виявлено і в групі хворих з ІАТІ, що мають нормальний артеріальний тиск.

Таблиця 5.3

**Аналіз ризику ГКК у хворих з ІАТІ (жінок і чоловіків) залежно від генотипу за G3730A поліморфізмом гена VKORC1**

Стать	Гено-тип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
Жінки	G/G	-0,307	0,517	0,513	0,474	0,691	0,251	1,901
Чоловіки	G/G	1,437	0,432	11,042	0,001	4,208	1,803	9,821

Примітка: порівняння проводилося відносно носіїв мінорного алеля (G/A+A1C/ClA); CR – коефіцієнт регресії; SE – стандартна похибка; WS – статистика Вальда; P – статистична значимість; OR – відношення ризику; CI – довірчий інтервал

Що стосується інших чинників (ІМТ, цукровий діабет, паління, ДАХ), то вони істотно не впливали на зв'язок SNP із ГКК у хворих з інсультом.

Таким чином, вивчення впливу поліморфізму генів системи VKORC1 на порушення коагуляції крові у хворих з ІАТІ дозволяє зробити такі висновки:

1. Біохімічні ознаки синдрому ГКК, що характеризуються більшим вмістом фібриногену та меншими середніми величинами протромбінового часу і протромбінового індексу, виявлено серед хворих з ІАТІ у гомозигот за мінорним алелем (C/C) за поліморфізмом T2255C гена VKORC1.

2. ГКК достовірно частіше виникає у носіїв C/C генотипу за поліморфізмом T2255C гена VKORC1, ніж у носіїв T/T і T/C генотипів. У жінок з таким генотипом ризик розвитку ГКК у 6,8, у пацієнтів з ІМТ $\geq$ 25

кг/м<sup>2</sup> – у 5,3, в осіб з артеріальною гіпертензією – у 4,2, а у тих, хто не палить – у 4,1 раза більший, ніж у носіїв генотипу Т/Т. У чоловіків з інсультом, гомозиготних за основних алелем за поліморфізмом G3730A гена VKORC1, імовірність розвитку ГКК у 4 рази вища, ніж у носіїв мінорного алеля.

**РОЗДІЛ 6**  
**ЗНАЧЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА VKORC1 У РОЗВИТКУ**  
**ІШЕМІЧНОГО АТЕРОТРОМБОТИЧНОГО ІНСУЛЬТУ ТА ЙОГО**  
**УСКЛАДНЕНЬ**

(аналіз і узагальнення результатів дослідження)

Генотипування хворих із ІАТІ за двома сайтами гена VKORC1 і порівняння одержаних даних із результатами рестрикційного аналізу в контрольній групі дало змогу встановити асоціацію T2255C поліморфізму з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту. Так, у носіїв мінорного алеля (C/C) ризик розвитку ІАТІ відповідно у 2,2 раза більший, ніж у носіїв основного алеля (T/T, T/C).

Подібні дослідження у даному напрямку нечисленні і суперечливі. Porojan et al. досліджували зв'язок алельних поліморфізмів генів VKORC1 та KLOTNO з атеросклерозом і кальцифікацією. Автори з'ясували, що поліморфізм першого інтрону C1173T гена VKORC1 асоційований з кальцифікацією кровоносних судин і є важливим генетичним фактором розвитку атеросклерозу [95].

Wang et al., вивчаючи розподіл генотипів за T2255C поліморфізмом гена VKORC1, виявили, що присутність С алелю більше ніж у два рази збільшує ризик розвитку ішемічної хвороби серця та геморагічного інсульту та понад у три рази – ризик розвитку розшарування аорти [132]. Проте Hindorff et al., які досліджували зв'язок групи поліморфізмів гена VKORC1, серед яких T2255C, з розвитком інфаркту міокарда та інших серцево-судинних хвороб, показали, що жоден із досліджуваних SNP не був асоційований з розвитком захворювань серця і судин, що вивчалися [33].

У 2010 році Shyu et al. досліджували зв'язок генетичного поліморфізму генів GGCX (Gln325Arg), VKORC1 (G3730A) та NQO1 (Pro187Ser) з ризиком розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту. Дослідники виявили статистично значимий протективний ефект зазначених поліморфізмів

відносно ризику розвитку ішемічного інсульту. Синергізм досліджуваних локусів був більш вираженим у пацієнтів, які не вживали спиртних напоїв та не були курцями [53].

Один із механізмів, через який система вітамін К-залежних білків чинить свою протекторну дію на виникнення серцево-судинних захворювань, пов'язаний із впливом білків на процеси кальцифікації артерій [18, 19, 105] Тому основна кількість наукових досліджень присвячена саме цій проблемі. Так, Crosier et al. [71] показали, що поліморфізми T-138C, G-7A та Thr83Ala гена MGP мають зв'язок із кальцифікацією коронарних артерій (ККА) у чоловіків як самостійно, так і в поєднанні з іншими факторами ризику атеросклерозу. Водночас статистично достовірної асоціації цих самих видів SNP з ККА у жінок не виявлено. Найбільш асоційованими з ККА були гомозиготи за мінорним алелем. У чоловіків із таким генотипом при всіх трьох видах SNP тяжкість ККА була достовірно нижчою, ніж у гомозигот за основним алелем. Автори дійшли висновку, що, незважаючи на виявлений зв'язок між поліморфізмом гена MGP і вмістом MGP у сироватці крові, з одного боку, і розвитком ККА – з другого, два останні показники між собою ніяк не пов'язані. На думку авторів, генетичні варіанти гена MGP впливають на ККА не через концентрацію MGP у сироватці крові, а іншим, ще не відомим способом.

Необхідно зазначити, що у більшості робіт вивчався зв'язок генів циклу вітаміну К 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 останнього року порушувалася проблема ролі кальцифікації судин в розвитку цереброваскулярної патології.

Так, у роботі Vos et al. [27] встановлено тісний 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. Необхідно зазначити, що ця 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.

Тут варто зауважити, що виконане нами дослідження є першим, присвяченим вивченню асоціації поліморфізмів гена *VKORC1* із розвитком ішемічного інсульту атеротромботичного походження.

Механізми реалізації дії вивчених нами генетичних факторів можуть бути пов'язані не лише із впливом на процеси кальцифікації коронарних і мозкових артерій, але й на процеси згортання крові [32]. Як відомо, вітамін К-епоксидредуктаза здійснює пост трансляційну модифікацію вітамін К-залежних прокоагулянтних білків, тим самим впливаючи на процеси згортання крові. Останній факт має надзвичайно велике значення в патогенезі коронарного і церебрального тромбозу. Про антагоністичний характер взаємодії між коагуляцією та кальцифікацією судинної стінки свідчать роботи ряду дослідників [123, 136], а *VKOR* може розглядатися як сполучна ланка у цих процесах. Сьогодні існує думка, що активний, чітко відрегульований характер процесу кальцифікації [13, 99] може вказувати на його пристосувальне значення в патогенезі атеросклерозу. Не виключено, що обвапнення є оптимальним варіантом закінчення патологічного процесу в судинній стінці і фактори, що затримують відкладання кальцію, мають розглядатися як фактори-ризик дестабілізації атеросклеротичної бляшки. До таких факторів можна зарахувати поліморфізми T2255C і G3730A, що значно частіше зустрічаються у хворих на ІАТІ. Певна річ, що наведене припущення потребує як експериментальних, так і клінічних доказів, а тому зумовлює необхідність продовжувати дослідження в цьому напрямі. Важливим на даному етапі є висновок про те, що поліморфізм гена *VKORC1* може розглядатися як один із генетичних чинників серцево-судинної патології.

Серед хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом біохімічні ознаки гіперкоагуляційного синдрому, що характеризуються більшим вмістом фібриногену та меншими середніми величинами протромбінового часу і протромбінового індексу виявлено у гомозигот за мінорним алелем (C/C) за поліморфізмом T2255C гена VKORC1.

Дослідження інших вчених у цьому питанні неоднозначні. Так, Watzka et al. не виявили асоціації між поліморфними варіантами гена VKORC1 і GGCX та рівнем вітамін К-залежних факторів коагуляції серед населення Німеччини [93]. Marieke et al., обстежуючи пацієнтів із тромбозом глибоких вен, не виявили зв'язку між гаплотипами VKORC1, NQO1 та GGCX (поліморфізми rs6738645, rs699664, rs10179904, rs11676382, rs17026447, rs2028898) та ризиком венозного тромбозу. Лише для гаплотипу H1 гена GGCX за зазначеними поліморфізмами був виявлений зв'язок зі зниженням активності II фактора згортання крові [55].

Vanakker et al. показали, що генетичний поліморфізм G3730 гена VKORC1 та поліморфізм 8-го екзону Arg325Gln гена GGCX знижує карбоксилазну активність та індукує дефіцит вітамін К-залежних факторів згортання крові. Вчені зробили висновок, що генетична мінливість GGCX та VKORC1 є фактором ризику тяжких неонатальних кровотеч [48].

Kimura et al. досліджували вплив поліморфізмів генів GGCX, VKORC1 та CALU на активність С- та S-протеїнів серед японців. Жінки, які були гомозиготами за основним алелем (Arg325Gln поліморфізм гена GGCX), мали значно вищий рівень активності протеїну С, ніж гетерозиготи та гомозиготи за мінорним алелем [92].

При поділі пацієнтів на групи за наявністю і відсутністю синдрому гіперкоагуляції крові в осіб з ішемічним інсультом виявлений зв'язок між ГКК і генотипом. ГКК достовірно частіше виникає у носіїв C/C генотипу за поліморфізмом T2255C гена VKORC1, ніж у носіїв інших генотипів. У жінок із таким генотипом ризик розвитку ГКК у 6,8 раза, у пацієнтів із ІМТ $\geq$ 25 кг/м<sup>2</sup> у 5,3 раза, у осіб з артеріальною гіпертензією у 4,2 раза, а у тих, хто не

палить, у 4,1 раза більший, ніж у носіїв генотипу Т/Т. У чоловіків з інсультом, гомозиготних за основним алелем за поліморфізмом G3730A гена VKORC1, імовірність розвитку ГКК у 4 рази вища, ніж у носіїв мінорного алеля. Таким чином, порушення коагуляції крові є важливим патогенетичним механізмом тромботичних ускладнень атеросклерозу, у розвитку якого, безперечно, велику роль відіграє генетичний компонент.

ІАТІ є тяжким наслідком атеросклеротичного процесу, розвиток якого на певних стадіях пов'язаний з порушеннями ліпідного обміну. У наших дослідженнях був вивчений ліпідний спектр плазми крові хворих на ІАТІ з різними поліморфними варіантами гена VKORC1. Для хворих з ІАТІ, геном яких містить А-алель (поліморфізм G3730A гена VKORC1) вміст антиатерогенного ХС-ЛПВГ виявився нижчим, ніж у носіїв основного алеля. Жінки-носії мінорного алеля (Т/С+С/С) за поліморфізмом T2255C гена VKORC1 мають вищі, ніж гомозиготи за основним алелем (Т/Т), показники загального ХС і ХС-ЛПНГ і нижчий рівень ХС-ЛПВГ. Пацієнти, які є носіями цих генотипів, мають більший ризик розвитку як атеросклерозу, так і його ускладнень, серед яких ІАТІ.

За величинами ліпідного спектра плазми крові ми розрахували індекс атерогенності та поділили всіх пацієнтів на дві групи – з нормальними та підвищеними значеннями індексу атерогенності. Серед хворих з ІАТІ ризик розвитку ДАХ у гетерозигот (G/A) за поліморфізмом G3730A у 2 рази, а у жінок-гетерозигот (Т/С) за поліморфізмом T2255C у 5,5 рази вищий, ніж у гомозигот за основним алелем.

Щодо досліджень інших авторів, то їх – обмаль. Так, Bagger et al., досліджуючи асоціацію деяких поліморфізмів гена VKORC1 та VDR у датських жінок, які перебували у постменопаузі, не виявили зв'язку між G-1639A (VKORC1) ApaI, BsmI та TaqI (VDR) поліморфізмами та рівнем сироваткових ліпопротеїнів [124]. Проте Filus et al. 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) [103].

Таким чином, поліморфізми гена VKORC1 асоційовані з порушеннями ліпопротеїнового обміну у хворих із цереброваскулярною патологією. Вивчення генетичної складової цього процесу є важливою ланкою в розумінні патогенезу атеросклерозу.

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

Безперечним фактором ризику цереброваскулярних захворювань є стать. Статеві відмінності особливо вирізняються в молодому віці і з роками починають спадати: після 70 років ризик смерті від серцево-судинних захворювань приблизно однаковий [7]. У віці 35 – 70 років серед чоловіків ризик смерті від інсульту на 30 %, а від ІМ у 2-3 рази вищий, ніж серед жінок [16]. Статистично доведено, що неушкоджені атеросклерозом артерії зустрічаються лише у 8 % чоловіків проти 52 % жінок вікової категорії 40 – 70 років [138].

У наших дослідженнях з'ясовано, що вплив вивчених поліморфізмів на ускладнення атеросклеротичного процесу, що виявляється у вигляді ІАТІ, має статеві особливості. У чоловіків, носіїв С/С генотипу (поліморфізм T2255C гена VKORC1), ризик ІАТІ у 2,5 рази більший, ніж у представників генотипу Т/Т.

Епідеміологічні дослідження показали, що поєднання декількох факторів ризику серцево-судинних захворювань в одного хворого багаторазово збільшує ризик розвитку цих хвороб та їх фатальних ускладнень [16]. Одним із небезпечних чинників, що впливає на виникнення і тяжкість перебігу захворювань серця і судин, є збільшення маси тіла. Доведено, що зростання маси тіла пацієнта всього на 10 % значно ускладнює його серцево-судинний статус [66]. Ожиріння не лише сприяє підвищенню артеріального тиску, рівня холестеролу, розвитку діабету, які є поширеними

причинами хвороб серця і судин, а й виступає самостійним незалежним від інших фактором ризику серцево-судинних захворювань, у тому числі й ІАТІ [74]. За даними італійських вчених, серед пацієнтів, які перенесли ішемічний інсульт, осіб із підвищеним індексом маси тіла на 22 % більше, ніж із нормальними значеннями цього показника. В осіб із нормальною масою тіла ризик інсульту на 64 % нижчий, ніж у пацієнтів з ожирінням [16].

У наших дослідженнях встановлено, що у представників генотипу C/C (поліморфізм T2255C гена VKORC1) із  $IMT < 25 \text{ кг/м}^2$  ризик ІАТІ майже в 4 рази більший, ніж у гомозигот за основним алелем (T/T).

Fox et al. провели широкомасштабне дослідження асоціації 70987 SNP різноманітних генів із показниками індексу маси тіла. Серед генів, для яких виявлений зв'язок поліморфних варіантів з вивченим антропометричним показником, гена VKORC1 не було [52].

Відомо, що із збільшенням артеріального тиску на кожні 20/10 мм рт. ст. (відповідно для САТ і ДАТ), починаючи з 115/75 мм рт. ст., ризик серцево-судинної смертності подвоюється [3]. За даними досліджень ВООЗ, за 1 рік з 15 мільйонів випадків інсульту в 12,7 мільйона випадків його причиною є артеріальна гіпертензія [16].

Ми вивчили залежність величини систолічного, діастолічного, пульсового і середнього артеріального тиску від поліморфних варіантів гена VKORC1 як у групі практично здорових осіб, так і серед хворих із ішемічним інсультом. Були виявлені відмінності у значенні величин тиску серед носіїв деяких генотипів. Проте нас більше цікавило питання: чи пов'язані певні алельні варіанти гена VKORC1 із розвитком ІАТІ у хворих із нормальним і підвищеним артеріальним тиском. У більшості випадків було підтверджено, що артеріальна гіпертензія є самостійним фактором ризику серцево-судинних захворювань і не залежить від генетичного поліморфізму VKORC1. Проте деякі зв'язки були виявлені. У гетерозиготних жінок (G/A) за поліморфізмом G3730 гена VKORC1 з ІАТІ ймовірність артеріальної гіпертензії у 5 разів вища, ніж у гомозигот за основним алелем.

За даними ВООЗ близько 1/3 усіх випадків смертності від серцево-судинних захворювань серед осіб середнього віку обумовлено палінням [139]. Нефатальний ІМ у чоловіків, які палять, після 60 років розвивається в 2 рази частіше, ніж серед тих, які не палять [30]. Серед чоловіків молодого віку фатальний ІМ серед тих, хто палять, реєструють у 4 рази частіше, ніж серед тих, хто не палять [44]. Відносний ризик цереброваскулярних захворювань у тих, хто палить приблизно в 3 рази вищий і залежить від інтенсивності паління [54].

У наших дослідженнях не виявлено зв'язку між різними варіантами генотипів у курців і тих, хто не палить. Це підтверджує той факт, що паління є доведеним фактором ризику ІАТІ й асоційоване з цими хворобами незалежно від генотипу пацієнтів за вивченими поліморфізмами.

Цукровий діабет 2-го типу є одним із головних незалежних факторів ризику серцево-судинної патології, яка найчастіше визначає прогноз, у тому числі для життя, у хворих цієї категорії. Серцево-судинна патологія є основною причиною смерті хворих на ЦД 2-го типу (65–75 % випадків) [36]. Ризик розвитку ішемічної хвороби серця у хворих на ЦД 2-го типу в 2–4 рази вищий, а ризик розвитку гострого інфаркту міокарда – в 6-10 разів вищий, ніж у загальній популяції хворих.

Ortlepp et al. вивчали вплив BsmI (VDR) та C1173T (VKORC1) поліморфізму на розвиток ЦД 2-го типу та ішемічної хвороби серця у пацієнтів, які мали високий ризик ІХС. Вчені дійшли висновку, що генетичний поліморфізм BsmI гена VDR асоційований з розвитком цукрового діабету 2-го типу та ІХС серед населення з високим ризиком ІХС [119].

Ще у дослідженнях 50-х років ХХ ст. було показано, що особи, які працюють одночасно в двох місцях або працюють більше 8 годин на добу, мають відносно більш високий ризик розвитку інфаркту міокарда, і що небезпечно – навіть у молодому віці. Інші дослідження продемонстрували, що в осіб, робота яких пов'язана з великим напруженням, жорсткими

часовими рамками, частими проблемами на роботі, має значно більший ризик розвитку інфаркту міокарда [29]. За останні 15 років дослідження, присвячені стресу, пов'язаного з професійною діяльністю, висловлюють припущення про існування причинного зв'язку між стресом на роботі та розвитком серцево-судинних захворювань. Це справедливо як для смертності від серцево-судинних захворювань, так і для частоти розвитку ішемічної хвороби серця та гіпертензії [59].

У наших дослідженнях було проведено порівняння розподілу генотипів за вивченими поліморфізмами у пацієнтів із ІАТІ, які мають стресові й нестресові професії. Зв'язку з ішемічним інсультом у носіїв із різними генотипами за вивченими поліморфізмами серед осіб, які мають різні види професії, виявлено не було.

Таким чином, поліморфізм гена *VKORC1* є важливим генетичним чинником спадкової схильності до розвитку склеротичних уражень кровоносних судин та їх ускладнень, зокрема ішемічного інсульту атеротромботичного походження. Поглиблення знань про генетичну складову атеросклеротичного процесу може стати новим етапом у формуванні сучасних методів прогнозування, профілактики, діагностування і патогенетичного лікування атеросклерозу і його ускладнень.

## ВИСНОВКИ

У роботі наведено результати експериментальних досліджень та аналізу клінічного матеріалу. Встановлено зв'язок T2255C поліморфізму другого інтрону та G3730A поліморфного локуса 3'UTR гена VKORC1 із таким ускладненням атеросклерозу, як ішемічний атеротромботичний інсульт.

1. Виявлено асоціацію між ішемічним атеротромботичним інсультом (ІАТІ) і T2255C поліморфним варіантом гена VKORC1. У гомозигот за мінорним алелем C/C ризик ІАТІ у 2,2 раза більший, якщо порівнювати з гомозиготами за основним алелем (Т/Т) ( $P = 0,013$ ).
2. Вплив генетичного чинника на розвиток цереброваскулярної патології має статеві особливості. В осіб чоловічої статі, які є носіями C/C генотипу (поліморфізм T2255C гена VKORC1), ризик ІАТІ у 2,5 раза вищий, ніж в осіб із генотипом Т/Т ( $P = 0,023$ ).
3. Установлено зв'язок між деякими вивченими поліморфізмами і факторами ризику ішемічного інсульту. В осіб із генотипом C/C (поліморфізм T2255C гена VKORC1), які мають  $IMT < 25 \text{ кг/м}^2$ , ризик ІАТІ майже в 4 рази більший ( $P = 0,034$ ), ніж у гомозигот за основним алелем (Т/Т). Ризик ІАТІ у 5 разів вищий в осіб з нормальним артеріальним тиском, які є носіями мінорного алеля A/A за поліморфізмом G3730A гена VKORC1 ( $P = 0,014$ ), ніж у гомозигот за основними алелями. Виявлено вплив поліморфізма T2255C гена VKORC1 на розвиток ІАТІ в осіб, які не палять: у гомозигот за мінорними алелями (C/C) ризик виникнення ІАТІ більший, ніж у носіїв інших варіантів генотипу за цими поліморфізмами.
4. Існує певний зв'язок між вивченими поліморфізмами генів і порушеннями ліпопротеїнового обміну у хворих із ІАТІ. Вміст антиатерогенного ХС-ЛПВГ у пацієнтів, геном яких містить А-алель (поліморфізм G3730A), виявився нижчим, ніж в носіїв основно алеля (G). Жінки-носії мінорного алеля (Т/С+С/С) за поліморфізмом T2255C гена VKORC1 мають вищі, ніж



гомозиготи за основним алелем (Т/Т), 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 ІАТІ.

5. Вивчені поліморфні варіанти мають зв'язок із порушеннями коагуляції крові у хворих з ІАТІ. ГКК достовірно частіше виникає у носіїв С/С генотипу за поліморфізмом Т2255С гена *VKORC1*, ніж у носіїв двох інших варіантів генотипу. Генотип С/С збільшує ризик ГКК у жінок у 6,8 рази ( $P = 0,027$ ), у пацієнтів з  $IMT \geq 25$   $kg/m^2$  – у 5,3 рази ( $P = 0,017$ ), в осіб з артеріальною гіпертензією – у 4,2 рази ( $P = 0,022$ ), а в тих, хто не палить, – у 4,1 рази ( $P = 0,026$ ), якщо порівнювати з носіями генотипу Т/Т відповідних категорій пацієнтів. У чоловіків, гомозиготних за основним алелем за поліморфізмом G3730A гена *VKORC1*, імовірність розвитку ГКК у 4,2 рази вища, ніж у носіїв мінорного алеля ( $P = 0,001$ ).

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Поліморфний локус T2255C гена VKORC1 може слугувати маркером для оцінки індивідуального ризику розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту серед населення Північно-Східного регіону України.
2. С/С генотип за поліморфізмом T2255C гена VKORC1 може використовуватись у якості предиктора розвитку синдрому гіперкоагуляції крові у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом.
3. Алельний поліморфізм G3730A гена VKORC1 може бути діагностичним критерієм у виявленні спадкової схильності до порушення ліпідного спектра плазми крові, а також до розвитку атеросклерозу і його ускладнень.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Виленский Б.С. Современная тактика борьбы с инсультом / Б.С. Виленский. – СПб., 2005. – 288 с.
2. Коваленко В.М. Медико-соціальні аспекти хвороб системи кровообігу / В.М.Коваленко, В.М. Корнацький, Т.С. Манойленко – К., 2009.– 145с.
3. Купчинская Е.Г. Коррекция факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний у больных артериальной гипертензией / Е.Г. Купчинская, И.В. Лизогуб, О.А. Волошина // Газета «Здоров'я України». – 2007. – № 21/1. – С. 82-83.
4. Міщенко Т.С. Епідеміологія цереброваскулярних захворювань в Україні / Т.С. Міщенко // Судинні захворювання головного мозку. – 2006 – №1. – С. 3-7.
5. Моисеев В.С. Болезни сердца / В.С. Моисеев, А.В. Сумароков. – Санкт-Петербург: Универсум, 2001. – 472 с.
6. Ревенько І.Л. Епідеміологія інсульту в Україні / І.Л. Ревенько // Запорожский медицинский журнал. – 2010. – Том 12, №3. – С. 42-47.
7. 2009 Focused update incorporated into the ACC/AHA 2005 guidelines for the diagnosis and management of heart failure in adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines / S.A. Hunt, W.T. Abraham, M.H. Chin [et al.] // Circulation. – 2009. – Vol.119. – P. 391-479.
8. A C1173T Dimorphism in the VKORC1 Gene Determines Coumarin Sensitivity and Bleeding Risk / P.H. Reitsma, J.F. Heijden, A.P. Groot [et al.] // PLoS Med. – 2005.– Vol.2. – P. 312-316.
9. A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease / R. McPherson, A. Pertsemlidis, N. Kavaslar [et al.] // Science. – 2007. – Vol. 316. – P. 1488-1491.

10. A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with inter-individual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity / H. Yuan, J. Chen, M. Lee [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2005. – Vol.14. – P.1745-1751.
11. A paraoxonase gene polymorphism, PON1 (55), as an independent risk factor for increased carotid intima-media thickness in middle-aged women / G. Fortunato, P. Rubba, S. Panico [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2003. – Vol. 167, № 1. – P. 141-148.
12. A two adenine insertion polymorphism in the 3' untranslated region of factor VII gene is associated with peripheral arterial disease but not with venous thrombosis. Results of case-control studies / E. Serve, J.L. Reny, S. Akhavan [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 2007. – Vol. 98, № 4. – P. 733-737.
13. Abedin M. Vascular calcification. Mechanisms and clinical ramifications / M. Abedin, Y. Tintut, L. Demer // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2004. – Vol. 24. – P. 1161-1170.
14. Abnormal hemorheology, endothelial dysfunction and thrombogenesis in relation to hypertension in acute (ictus <12 h) stroke patients: The West Birmingham Stroke Project / G.Y. Lip, A.D. Blann, I.S. Faruqi [et al.] // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* – 2001. – Vol. 12. – P. 307-315.
15. Allelic variants in the CYP2C9 and VKORC1 loci and interindividual variability in the anticoagulant dose effect of warfarin in Italians / P. Borgiani, C. Ciccacci, V. Forte [et al.] // *Pharmacogenomics.* – 2007. – V. 8. – P. 1545-1550.
16. American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics – 2009 Update. A Report From the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee / D. Lloyd-Jones, R. Adams, M. Carnethon [et al.] // *Circulation.* – 2009. – Vol. 119, №3. – P. 480-486.
17. Angiotensinogen gene polymorphism as a risk factor for ischemic stroke / T. Nakase, T. Mizuno, S. Harada [et al.] // *J. Clin. Neurosci.* – 2007. – Vol. 14, № 10. – P. 943-947.

18. Arterial Calcification: A Review of Mechanisms, Animal Models, and the Prospects for Therapy / R. Wallin, N. Wajih, G.T. Greenwood [et al.] // *Med. Res. Rev.* – 2001. – Vol. 21, № 4. – P. 274-301.
19. Arterial mineralization and calcification of small brain vessels / S. Adams, N. Way, I.V. Men [et al.] // *Med. Res. Rev.* – 2004. – Vol. 43, № 9. – P. 432-439.
20. Association between polymorphism in regulatory region of gene encoding tumour necrosis factor alpha and risk of Alzheimer's disease and vascular dementia: a case-control study / S.M. McCusker, M.D. Curran, K.B. Dynan [et al.] // *Lancet.* – 2001. – Vol. 357, № 9254. – P. 436-439.
21. Association of Functional VKORC1 Promoter Polymorphism with Occurrence and Clinical Aspects of Ischemic Stroke in a Greek Population / G. Ragia, S. Marousi, J. Ellul [et al.] // *Disease Markers.* – 2013. – V. 35. – P. 641-646.
22. Association of polymorphisms in NOS3 with the ankle-brachial index in hypertensive adults / I.J. Kullo, M.T. Greene, E. Oerwinkle [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2008. – Vol. 196, № 2. – P. 905-912.
23. Associations of apolipoprotein E gene with ischemic stroke and intracranial atherosclerosis / S. Abboud, L.E. Viiri, D. Lutjohann [et al.] // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2008. – Vol. 16, № 8. – P. 955-960.
24. Bell R.G. Vitamin K activity of phylloquinone oxide / R.G. Bell, J.T. Matschiner // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1970. – V. 141. – P. 473-476.
25. Berkner K.L. The vitamin K-dependent carboxylase / K.L. Berkner // *Annu. Rev. Nutr.* – 2005. – V. 25. – P. 127-149.
26. Cain D. Assembly of the warfarin-sensitive vitamin K 2,3-epoxide reductase enzyme complex in the endoplasmic reticulum membrane / D. Cain, S.M. Hutson, R. Wallin // *J. Biol. Chem.* – 1997. – V. 272. – P. 29068-29075.
27. Calcification in major vessel beds relates to vascular brain disease / D. Bos, M.A. Ikram, S.E. Elias-Smale [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2011. – Vol. 31. – P. 2331-2337.

28. Characterization and purification of the vitamin K1 2,3 epoxide reductases system from rat liver / L.A. Begent, A.P. Hill, G.B. Steventon [et al.] // *J. Pharm. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 53. – P. 481-486.
29. Chi J.S. Stress and myocardial infarction / J.S. Chi, R.A. Kloner // *Heart.* – 2003. – Vol. 89, №5. – P. 475-476.
30. Cigarette smoking, tar yields, and non-fatal myocardial infarction: 14000 cases and 32000 controls in the United Kingdom / S. Parish, R. Collins, R. Peto [et al.] // *Brit. Med. J.* – 1995. – Vol. 311. – P. 471-477.
31. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment / H.P. Adams, B.H. Bendixen, L.J. Kappelle [et al.] // *Stroke.* – 1993. – Vol. 24. – P. 35-41.
32. Coagulation meets calcification: The vitamin K system / T. Krueger, R. Westenfeld, L.J. Schurgers [et al.] // *Int. J. Artif. Organs.* – 2009. – Vol. 32. – P. 67-74.
33. Common VKORC1 variants are not associated with arterial or venous thrombosis / A. Hindorff, S.R. Heckbert, N. Smith [et al.] // *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* – 2007. – Vol. 5. – P. 2025-2027.
34. DD genotype of ACE gene is a risk factor for intracerebral hemorrhage / A. Slowik, W. Turaj, T. Dziedzic [et al.] // *Neurology.* – 2004. – Vol. 63, № 2. – P. 359-361.
35. Deletion/insertion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and white matter hyperintensities in dementia: a pilot study / N. Purandare, R.C. Oude Voshaar, Y. Davidson [et al.] // *J. Am. Geriatr. Soc.* – 2006. – Vol. 54, № 9. – P. 1395-1400.
36. Diabetes mellitus: a major risk factor for cardiovascular disease. A joint editorial statement by the American Diabetes Association; The National Heart, Lung, and Blood Institute; The Juvenile Diabetes Foundation International; The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; and The American Heart Association // *Circulation.* – 1999. – Vol. 100. – P. 1132-1133.

37. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose / M.J. Rieder, A.P. Reiner, B.F. Gage [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 352. – P. 2285-2293.
38. Endothelial nitric oxide synthase exon 7 polymorphism, ischemic cerebrovascular disease, and carotid atheroma / H.S. Markus, Y. Ruigrok, N. Ali [et al.] // *Stroke.* – 1998. – Vol. 29, № 9. – P. 1908-1911.
39. Engineering of a recombinant vitamin K-dependent gamma-carboxylation system with enhanced gamma-carboxyglutamic acid forming capacity: evidence for a functional CXXC redox center in the system / N. Wajih, D.C. Sane, S.M. Hutson [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2005. – V. 280. – P. 10540-10547.
40. eNOS and ACE genes influence peripheral arterial disease predisposition in smokers / E. Sticchi, F. Sofi, I. Romagnuolo [et al.] // *J. Vasc. Surg.* – 2010. – Vol. 52, № 1. – P. 97-102.
41. Exploration of a hypothesized independent association of a common 9p21.3 gene variant and ischemic stroke in patients with and without angiographic coronary artery disease / S.R. Plant, G.P. Samsa, S.H. Shah [et al.] // *Cerebrovasc. Dis.* – 2011. – Vol. 31, № 2. – P. 117-122.
42. Factor II G20210A and factor V G1691A gene mutations and peripheral arterial occlusive disease / W. Renner, H. Koppel, M. Brodmann [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 2000. – Vol. 83, № 1. – P. 20-22.
43. Factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations are not associated with chronic limb ischemia: the Linz Peripheral Arterial Disease (LIPAD) study / T. Mueller, R. Marschon, B. Dieplinger [et al.] // *J. Vasc. Surg.* – 2005. – Vol. 41, № 5. – P. 808-815.
44. Fagerstrom K. The Epidemiology of smoking: Health Consequences and Benefits of Cessation / K. Fagerstrom // *Drugs.* – 2002. – Vol.62, №2. – P. 1-9.
45. Fibrinolytic gene polymorphism and ischemic stroke / K. Jood, P. Ladenvall, A. Tjärnlund-Wolf [et al.] // *Stroke.* – 2005. – V. 36. – P. 2077-2081.

46. Frequencies of four ATP-binding cassette transporter G8 polymorphisms in patients with ischemic vascular diseases / A. Szilvasi, H. Andrikovics, E. Pongracz [et al.] // *Genet. Test Mol. Biomarkers.* – 2010. – Vol. 14, № 5. – P. 667-672.
47. From interactions of single transmembrane helices to folding of alpha-helical membrane proteins: Analyzing transmembrane helix-helix interactions in bacteria / D. Schneider, C. Finger, A. Prodohl [et al.] // *Curr. Protein Pept.* – 2007. – V. 8. – P. 45-61.
48. Functional polymorphism in gamma-glutamylcarboxylase is a risk factor for severe neonatal hemorrhage / O.M. Vanakker, K. De Coen, L. Costrop [et al.] // *J. Pediatr.* – 2011. – Vol. 159, №2. – P. 347-349.
49. Functional polymorphism in the regulatory region of gelatinase B gene in relation to severity of coronary atherosclerosis / B. Zhang, S. Ye, S.M. Herrmann [et al.] // *Circulation.* – 1999. – Vol. 99, № 14. – P. 1788-1794.
50. Furie B. Vitamin K-dependent biosynthesis of gamma-carboxyglutamic acid / B. Furie, B.A. Bouchard // *Blood.* – 1999. – V. 93. – P. 1798-1808.
51. Gender differences in stroke incidence and poststroke disability in the Framingham Heart Study / R.E. Petrea, A.S. Beiser, S. Seshadri [et al.] // *Stroke.* – 2009. – V. 40. – P. 1032-1037.
52. Genome-wide association to body mass index and waist circumference: the Framingham Heart Study 100K project / C.S. Fox, N. Heard-Costa, L.A. Cupples [et al.] // *BMC Med. Genet.* – 2007. – Vol.19. – P.18-27.
53. Genotype polymorphisms of GG CX, NQO1, and VKORC1 genes associated with risk susceptibility in patients with large-artery atherosclerotic stroke / H.Y. Shyu, C.S. Fong, Y.P. Fu [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2010. – V. 411. – P. 840-845.
54. Hankey G.I. Smoking and risk of stroke / G.I. Hankey // *J. Cardiovasc. Risk.* – 1999. – Vol. 6. – P. 207-211.
55. Haplotypes of VKORC1, NQO1 and GG CX, their effect on activity levels of vitamin K-dependent coagulation factors, and the risk of venous thrombosis /



- C.H. Marieke de Visser, S. Roshani, W. Julie [et al.] // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2011. – Vol. 4. – P. 53-60.
56. Heart Disease and Stroke Statistics – 2011 Update. A Report From the American Heart Association / V.L. Roger, A.S. Go, D.M. Lloyd-Jones [et al.] // *Circulation*. – 2011. – Vol. 123. – P. 18-209.
57. Homozygosity mapping of a second gene locus for hereditary combined deficiency of vitamin K-dependent clotting factors to the centromeric region of chromosome 16 / A. Fregin, S. Rost, W. Wolz [et al.] // *Blood*. – 2002. – Vol. 100. – P. 3229-3232.
58. Houslay M.D. PDE4 cAMP phosphodiesterases: modular enzymes that orchestrate signalling cross-talk, desensitization and compartmentalization / M.D. Houslay, D.R. Adams // *Biochem. J.* – 2003. – Vol. 370, № 1. – P. 1-18.
59. Hypertension and acute myocardial infarction: an overview / R. Pedrinelli, P. Ballo, C. Fiorentini [et al.] // *J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown)*. – 2012. – Vol. 13, №3. – P. 194-202.
60. Identification of the gene for vitamin K epoxide reductase / T. Li, C.Y. Chang, D.Y. Jin [et al.] // *Nature*. – 2004. – Vol. 427. – P. 541-544.
61. Interleukin-1 gene polymorphisms as assessed in a 10-year study of patients with early-onset periodontitis / Z. Kratka, J. Bartova, O. Krejsa [et al.] // *Folia Microbiol. (Praha)*. – 2007. – Vol. 52, № 2. – P. 183-188.
62. Interleukin-18 promoter polymorphisms and risk of ischemic stroke / N. Zhang, J.T. Yu, N.N. Yu [et al.] // *Brain Res. Bull.* – 2010. – Vol. 81, № 6. – P. 590-594.
63. IVS4-14 A/G and IVS4-73 C/T polymorphisms in OLR1 gene in patients with ischemic cerebrovascular diseases / M.T. Vietri, A.M. Molinari, M. Boggia [et al.] // *Genet. Test Mol. Biomarkers*. – 2010. – Vol. 14, № 1. – P. 9-11.
64. Kim R.J. Association between factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations and events of the arterial circulatory system: a meta-analysis of published studies / R.J. Kim, R.C. Becker // *Am. Heart J.* – 2003. – Vol. 146, № 6. – P. 948-957.

65. Lack of association between variants in the VKORC1 gene and cerebrovascular or coronary heart disease / R. Lemmens, S. Abboud, L. Vanhees [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 2008. – Vol.12. – P. 2220-2223.
66. Lamon F.S. Impact of Body Mass Index on Coronary Heart Disease Risk Factors in Men and Women. The Framingham Offspring Study / F.S. Lamon, P.W.F. Wilson, E.J. Schaefer // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1996. – Vol.16. – P. 1509-1515.
67. Large-scale test of hypothesised associations between the angiotensin-converting-enzyme insertion/deletion polymorphism and myocardial infarction in about 5000 cases and 6000 controls. International Studies of Infarct Survival (ISIS) Collaborators / B. Keavney, C. McKenzie, S. Parish [et al.] // *Lancet.* – 2000. – Vol. 355, № 9202. – P. 434-442.
68. Lee J.J. Identification of a warfarin-sensitive protein component in a 200S rat liver microsomal fraction catalyzing vitamin K and vitamin K 2,3-epoxide reduction / J.J. Lee, L.M. Principe, M.J. Fasco // *Biochemistry.* – 1985. – Vol. 24. – P. 7063-7070.
69. Maas M.B. Ischemic Stroke: Pathophysiology and Principles of Localization / M.B. Maas, J.E. Safdieh // *Neurology.* – 2009. – V. 13. – P. 1-16.
70. Mann K.G. The dynamics of thrombin formation / K.G. Mann, S. Butenas, K. Brummel // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2003. – Vol. 23, №1. – P. 17-25
71. Matrix Gla protein polymorphisms are associated with coronary artery calcification / M.D. Crosier, S.L. Booth, I. Peter [et al.] // *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* – 2009. – Vol. 55. – P. 59-65.
72. Membrane topology mapping of vitamin K epoxide reductase by in vitro translation/cotranslocation / J.K. Tie, C. Nicchitta, G. VonHeijne [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280. – P. 16410-16416.
73. Meta-Analysis of Candidate Gene Polymorphisms and Ischemic Stroke in 6 Study Populations Association of Lymphotoxin-Alpha in Nonhypertensive

- Patients / W. Xingyu, S. Cheng, H. Victoria [et al.] // *Stroke*. – 2009. – Vol. 40. – P. 683-695.
74. Mhurchu C. Asia Pacific Cohort Studies Collaboration. Body mass index and cardiovascular disease in the Asia-Pacific Region: an overview of 33 cohorts involving 310 000 participants / C. Mhurchu // *Int. J. Epidemiol.* – 2004. – Vol. 33, №4. – P. 751-758.
75. Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2 / S. Rost, A. Fregin, V. Ivaskevicius [et al.] // *Nature*. – 2004. – Vol. 427. – P. 537-541.
76. No clear link between VKORC1 genetic polymorphism and the risk of venous thrombosis or peripheral arterial disease / M.D. Smadja, M.A. Lorient, L.A. Hindorff [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 2008. – Vol. 99. – P. 970-972.
77. P2Y12 H2 haplotype is associated with peripheral arterial disease: a case-control study / P. Fontana, P. Gaussem, M. Aiach [et al.] // *Circulation*. – 2003. – Vol. 108, № 24. – P. 2971-2973.
78. Pandey P. Presenilin gene predisposes to late-onset degenerative but not vascular dementia: a comparative study of PS1 and ApoE genes in a North Indian Cohort / P. Pandey, S. Pradhan, B. Mittal // *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* – 2007. – Vol. 24, № 3. – P. 151-161.
79. Paraoxonase 2 gene C311S polymorphism is associated with a risk of large vessel disease stroke in a Polish population / A. Slowik, D. Wloch, P. Szermer [et al.] // *Cerebrovasc. Dis.* – 2007. – Vol. 23, № 5–6. – P. 395-400.
80. Paraoxonase gene polymorphisms and stroke severity / L. Lazaros, S. Markoula, A. Kyritsis [et al.] // *Eur. J. Neurol.* – 2010. – Vol. 17, № 5. – P. 757-759.
81. Pathophysiology and Biomarkers in Acute Ischemic Stroke – A Review / Y. Guo, P. Li, Q. Guo [et al.] // *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* December. – 2013. – V. 12 (6). – P. 1097-1105.

82. Periodontitis and atherogenesis: causal association or simple coincidence? / F. D'Aiuto, M. Parkar, G. Andreou [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2004. – Vol. 31, № 5. – P. 402-411.
83. Peripheral arterial disease and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T mutations: a case-control study and metaanalysis / N. Khandanpour, G. Willis, F.J. Meyer [et al.] // *J. Vasc. Surg.* – 2009. – Vol. 49, № 3. – P. 711-718.
84. Phosphodiesterase 4D (PDE4D) gene variants and the risk of ischemic stroke in a South Indian population / A. Munshi, M.S. Babu, S. Kaul [et al.] // *J. Neurol. Sci.* – 2009. – Vol. 285, № 1–2. – P. 142-145.
85. Pleis J.R. Summary health statistics for U.S. adults: National Health Interview Survey / J.R. Pleis, B.W. Ward, J.W. Lucas // *Vital Health Stat.* – 2009. – Vol. 10. – P. 147-164.
86. Polymorphism in the human C-reactive protein (CRP) gene, serum concentrations of CRP, and the difference between intracranial and extracranial atherosclerosis / Z.Z. Liu, H. Liv, F. Gao [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2008. – Vol. 389. – P. 40-44.
87. Polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase (C677T) gene and homocysteine levels: a comparison in Brazilian patients with coronary arterial disease, ischemic stroke and peripheral arterial obstructive disease / A. Sabino, A.P. Fernandes, L.M. Lima [et al.] // *J. Thromb. Thrombolysis.* – 2009. – Vol. 27, № 1. – P. 82-87.
88. Polymorphism of the apolipoprotein E gene and the risk of myocardial infarction / O.E. Mustafina, E.I. Shagisultanova, I.A. Tuktarova [et al.] // *Mol. Biol. (Mosk.).* – 2002. – Vol. 36, № 6. – P. 978-984.
89. Polymorphism R92Q of the tumour necrosis factor receptor 1 gene is associated with myocardial infarction and carotid intima-media thickness – the ECTIM, AXA, EVA and GENIC Studies / O. Poirier, V. Nicaud, J. Garipey [et al.] // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2004. – Vol. 12, № 3. – P. 213-219.

90. Polymorphisms in the factor VII gene and ischemic stroke in young adults / S. Lopaciuk, J. Windyga, C.W. Watala [et al.] // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* – 2010. – V. 21. – P. 442-447.
91. Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease / D. Girelli, C. Russo, P. Ferraresi [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2000. – Vol. 343, № 11. – P. 774-780.
92. Polymorphisms in vitamin K-dependent gamma-carboxylation-related genes influence interindividual variability in plasma protein C and protein S activities in the general population / R. Kimura, Y. Kokubo, K. Miyashita [et al.] // *Int. J. Hematol.* – 2006. – Vol. 84, №5. – P. 387-397.
93. Polymorphisms in VKORC1 and GGCX are not major genetic determinants of vitamin K-dependent coagulation factor activity in Western Germans / M. Watzka, P. Westhofen, M. Hass [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 2009. – Vol. 102. – P. 418-420.
94. Polymorphisms of genes encoding coagulation factors II, V, VII, and XIII in relation to pediatric ischemic stroke: family-based and case-control study / I.A. Kopyta, E. Emich-Widera, A. Balcerzyk [et al.] // *Neurologist.* – 2012. – Vol. 18. – P. 282-286.
95. Porojan M. Genetic polymorphism of VKORC 1 and KLOTHO genes associated with atherosclerosis / M. Porojan, D.L. Dumitraşcu. // *Clujul. Medical.* – 2012. – Vol. 85, №4. – P. 533–536.
96. Presnell S.R. The vitamin K-dependent carboxylase / S.R. Presnell, D.W. Stafford // *Thromb. Haemost.* – 2002. – Vol. 87. – P. 937-946.
97. Pro-inflammatory genetic profiles in subjects with peripheral arterial occlusive disease and critical limb ischemia / A. Flex, E. Gaetani, F. Angelini [et al.] // *J. Intern. Med.* – 2007. – Vol. 262, № 1. – P. 124-130.
98. Prothrombin G20210A and factor V Leiden polymorphisms in stroke / T.P. They-They, O. Battas, I. Slassi [et al.] // *J. Mol. Neurosci.* – 2012. – Vol. 46. – P. 210-216.

99. Proudfoot D. Molecular mechanisms mediating vascular calcification: role of matrix Gla protein / D. Proudfoot, C.M. Shanahan // *Nephrology (Carlton)*. – 2006. – Vol. 11. – P. 455-461.
100. Purified vitamin K epoxide reductase alone is sufficient for conversion of vitamin K epoxide to vitamin K and vitamin K to vitamin KH<sub>2</sub> / P.H. Chu, T.Y. Huang, J. Williams [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2006. – Vol. 103. – P. 19308-19313.
101. Racial differences in vascular risk factors and outcomes of patients with intracranial atherosclerotic arterial stenosis / S.P. Waddy, G. Cotsonis, M.J. Lynn [et al.] // *Stroke*. – 2009. – Vol. 40. – P. 719-725.
102. Regulatory polymorphism in vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1) affects gene expression and warfarin dose requirement / D. Wang, H. Chen, K.M. Momary [et al.] // *Blood*. – 2008. – Vol. 112. – P. 1013-1021.
103. Relationship between vitamin D receptor BsmI and FokI polymorphisms and anthropometric and biochemical parameters describing metabolic syndrome / A. Filus, A. Trzmiel, J. Kuliczowska-Płaksej [et al.] // *Aging Male*. – 2008. – Vol. 11. – P. 34-39.
104. Ridker P.M. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease / P.M. Ridker, M.J. Stampfer, N. Rifai // *JAMA*. – 2001. – Vol. 285, № 19. – P. 2481-2485.
105. Rutsch F. Genetics in Arterial Calcification: Pieces of a Puzzle and Cogs in a Wheel / F. Rutsch, N. Yvonne, R. Terkeltaub // *Circ. Res.* – 2011. – Vol. 109. – P. 578-592.
106. Seven haemostatic gene polymorphisms in coronary disease: meta-analysis of 66,155 cases and 91,307 controls / Z. Ye, E.H. Liu, J.P. Higgins [et al.] // *Lancet*. – 2006. – Vol. 367, № 9511. – P. 651-658.
107. Site-directed mutagenesis of coumarin-type anticoagulant-sensitive VKORC1: evidence that highly conserved amino acids define structural requirements for

- enzymatic activity and inhibition by warfarin / S. Rost, A. Fregin, M. Hunerberg [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2005. – Vol. 94. – P. 780-786.
108. Stafford D.W. The vitamin K cycle / D.W. Srafford // *J. Thromb. Haemost.* – 2005. – Vol. 3. – P. 1873-1878.
109. Stromelysin-1 promoter 5A/6A polymorphism is an independent genetic prognostic risk factor and interacts with smoking cessation after index premature myocardial infarction / P.Y. Liu, Y.H. Li, W.C. Tsai [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2005. – Vol. 3, № 9. – P. 1998-2005.
110. Synthesis of pyrrolo[2,3-d]pyridazinones as potent, subtype selective PDE4 inhibitors / M.P. Giovannoni, N. Cesari, A. Graziano [et al.] // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* – 2007. – Vol. 22, № 3. – P. 309-318.
111. Targeted disruption of the microsomal epoxide hydrolase gene. Microsomal epoxide hydrolase is required for the carcinogenic activity of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene / M. Miyata, G. Kudo, Y.H Lee [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 274. – P. 23963-23968.
112. Tascilar N., Dursun A., Ankarali H. et al. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism has no effect on the risk of atherosclerotic stroke or hypertension // *J. Neurol. Sci.* – 2009. – Vol. 285, № 1–2. – P. 137-141.
113. Thanvi B.R. Haemorrhagic transformation in acute ischemic stroke following thrombolysis therapy: classification, pathogenesis and risk factors / B.R. Thanvi, S. Treadwell, T. Robinson // *Postgrad. Med. J.* – 2008. – Vol. 84. – P. 361-367.
114. The 4G/4G genotype at nucleotide position – 675 in the promoter region of the plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) gene is less frequent in young patients with minor stroke than controls / G. Endler, W. Lalouschek, M. Exner [et al.] // *Br. J. Haematol.* – 2000. – Vol. 110. – P. 469-471.
115. The COX-2 G/C –765 polymorphism may modulate the occurrence of cerebrovascular ischemia / D. Colaizzo, L. Fofi, G. Tiscia [et al.] // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* – 2006. – Vol. 17, № 2. – P. 93-96.

116. The cyclooxygenase 2 -765 C promoter allele is a protective factor for Alzheimer's disease / L. Abdullah, G. Ait-Ghezala, F. Crawford [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2006. – Vol. 395, № 3. – P. 240-243.
117. The factor II G20210A gene polymorphism, but not factor V Arg506Gln, is associated with peripheral arterial disease: results of a case-control study / J.L. Reny, M. Alhenc-Gelas, P. Fontana [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2004. – Vol. 2, № 8. – P. 1334-1340.
118. The paraoxonase gene polymorphism in stroke patients and lipid profile / B.S. Shin, S.Y. Oh, Y.S. Kim [et al.] // *Acta Neurol. Scand.* – 2008. – Vol. 117, № 4. – P. 237-243.
119. The vitamin D receptor gene variant is associated with the prevalence of type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease / J.R. Ortlepp, J. Lauscher, R. Hoffmann [et al.] // *Diabet. Med.* – 2001. – Vol. 18. – P. 842-845.
120. Thrombophilic risk factors for symptomatic peripheral arterial disease / F. Sofi, B. Lari, A. Rogolino [et al.] // *J. Vasc. Surg.* – 2005. – Vol. 41, № 2. – P. 255-260.
121. Tie J.K. Structure and function of vitamin K epoxide reductase / J.K. Tie, D.W. Stafford // *Vitamins and Hormones.* – 2008. – Vol. 78. – P. 104-130.
122. Treatment with dextromethorphan improves endothelial function, inflammation and oxidative stress in male heavy smokers / P.Y. Liu, C.C. Lin, W.C. Tsai [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2008. – Vol. 6, № 10. – P. 1685-1692.
123. Uotila L. The metabolic functions and mechanism of action of vitamin K / L. Uotila // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 1990. – Vol.201. – P. 109-117.
124. Vitamin D receptor and estrogen receptor gene polymorphisms in postmenopausal Danish women: no relation to bone markers or serum lipoproteins / Y.Z. Bagger, C. Hassager, A.M. Heegaard [et al.] // *Climacteric.* – 2000. – Vol. 3. – P. 84-91.
125. Vitamin K and energy transduction: A base strength amplification mechanism / P. Dowd, R. Hershline, S.W. Ham [et al.] // *Science.* – 2007. – Vol. 269. – P. 1684-1691.



126. Vitamin K Epoxide Reductase Complex Subunit 1 (VKORC1) Polymorphism and Aortic Calcification / M. Teichert, L.E. Visser, R.H.N. van Schaik [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2008. – Vol. 28. – P.771-776.
127. Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1): The key protein of the vitamin K cycle / J. Oldenburg, C.G. Bevens, C.R. Muller [et al.] // *Antioxid. Redox Signal.* – 2006. – V. 8. – P. 347-353.
128. Vitamin K epoxide reductase genetic polymorphism is associated with venous thromboembolism: results from the EDITH Study / K.Lacut, C.Larramendy–Gozalo, G.Le Gal [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2007. – Vol. 5. – P.2020-2024.
129. Vitamin K epoxide reductase significantly improves carboxylation in a cell line overexpressing factor X / Y.M. Sun, D.Y. Jin, R.M. Camire [et al.] // *Blood.* – 2005. – V. 106. – P. 3811-3815.
130. No clear link between VKORC1 risk of venous thromboembolism in postmenopausal women: new findings and meta–analysis / C. Verstuyft, M. Canonico, E. Bouazi [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2009. – Vol. 7. – P. 1034-1036.
131. VKORC1 haplotypes and their impact on the inter–individual and interethnic variability of oral anticoagulation / C. Geisen, M. Watzka, K. Sittinger [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 2005. – Vol. 94. – P. 773-779.
132. VKORC1 Haplotypes Are Associated With Arterial Vascular Diseases (Stroke, Coronary Heart Disease, and Aortic Dissection) / Y. Wang, Z. Weili, Y. Zhang [et al.] // *Circulation.* – 2006. – Vol. 113. – P. 1615-1621.
133. VKORC1 polymorphism, haplotypes and haplotype groups of warfarin dose among african-americans and european americans / N.A. Limda, T.M. Beasley, M.R. Crowley [et al.] // *Farmacol. Genomics.* – 2008. – Vol. 9. – P. 1445-1458.
134. VKORC1: molecular target of coumarins / J. Oldenburg, M. Watzka, R. Rost [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2007. Vol. 5. – P. 1-6.

135. Wajih N. Disulfide-dependent protein folding Is linked to operation of the vitamin K cycle in the endoplasmic reticulum: a protein disulfide isomerase-VKORC1 redox enzyme complex appears to be responsible for vitamin K1 2,3-epoxide reduction / N. Wajih, S.M. Hutson, R. Wallin // *J. Biol. Chem.* – 2007. – Vol. 282. – P. 2626-2635.
136. Wallin R. Effects of the blood coagulation vitamin K as an inhibitor of arterial calcification / R.Wallin, L.Schurgers, N.Wajih // *Thromb. Res.* – 2008. – Vol. 122. – P. 411-417.
137. Warfarin pharmacogenetics: a single VKORC1 polymorphism is predictive of dose across 3 racial groups / A.N. Limdi, M. Wadelius, L. Cavallari [et al.] // *Blood.* – 2010. – Vol. 115. – P. 3827-3834.
138. Wehrmacher W.H. A brief history of scientific geriatric cardiology / W.H. Wehrmacher, A. Ahmed // *Compr. Ther.* – 2008. – Vol. 34, №2. – P. 100-104.
139. World Health Organization. Controlling the smoking Epidemic. Report of the WHO Expert Committee. – Geneva: WHO, 1979. – 87 p.

## **ДОДАТКИ**

## Додаток 1

**Показники зросту, маси тіла та індексу маси тіла (ІМТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за T2255C поліморфізмом гена VKORC1 (M±m)**

Показники		T/T	T/C	C/C	F	P <sub>1</sub>
<b>Жінки</b>						
Зріст, см	Контроль	157,53±2,40 (19)	155,65±1,47 (17)	153,38±2,40 (8)	0,719	0,493
	IAT1	163,70±1,11 (27)	164,59±1,03 (27)	161,94±1,20 (18)	1,272	0,287
	P <sub>2</sub>	0,013	0,0001	0,002		
Маса тіла, кг	Контроль	69,11±2,79	71,18±3,05	68,25±3,97	0,204	0,817
	IAT1	75,44±2,41	79,89±2,26	77,44±2,77	0,918	0,404
	P <sub>2</sub>	0,094	0,024	0,075		
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	Контроль	27,971±1,17	29,412±1,27	29,098±1,76	0,375	0,690
	IAT1	28,114±0,80	29,582±0,80	29,584±1,10	0,866	0,425
	P <sub>2</sub>	0,917	0,905	0,812		
<b>Чоловіки</b>						
Зріст, см	Контроль	169,75±1,31 (36)	165,19±1,57 (31)	165,00±2,34 (12)	3,034	0,054
	IAT1	172,79±1,28 (38)	173,38±1,31 (37)	172,17±1,21 (23)	0,185	0,832
	P <sub>2</sub>	0,101	0,0001	0,005		
Маса тіла, кг	Контроль	77,44±1,77	75,10±3,90	72,00±3,90	0,572	0,567
	IAT1	81,74±2,18	82,86±2,39	83,65±2,15	0,160	0,852
	P <sub>2</sub>	0,132	0,083	0,007		
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	Контроль	27,022±0,70	27,203±1,08	26,526±1,02	0,082	0,922
	IAT1	27,337±0,64	27,550±0,64	28,276±0,79	0,397	0,673
	P <sub>2</sub>	0,740	0,775	0,193		

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

**Показники артеріального тиску (АТ) у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за T225C поліморфізмом гена VKORC1 (M±m)**

Показники		T/T	T/C	C/C	F	P <sub>1</sub>
САТ	Контроль	154,17±23,24 (54)	152,13±22,01 (47)	149,75±27,55 (20)	0,276	0,760
	IAT1	168,77±3,24 (65)	167,42±3,67 (64)	163,41±5,24 (41)	0,432	0,650
	P <sub>2</sub>	0,497	0,430	0,507		
ДАТ	Контроль	87,0±11,4	85,5±12,8	86,2±13,9	0,174	0,840
	IAT1	95,4±2,1	95,4±1,6	95,4±1,6	0,014	0,986
	P <sub>2</sub>	0,431	0,374	0,356		
ПАТ	Контроль	67,13±19,1	66,5±16,9	63,5±18,2	0,300	0,742
	IAT1	73,3±2,5	73,3±2,8	68,4±3,2	0,670	0,513
	P <sub>2</sub>	0,726	0,647	0,716		
СрАТ	Контроль	109,41±13,64	107,76±14,44	107,42±17,57	0,219	0,804
	IAT1	119,90±2,26	119,45±2,26	117,80±3,33	0,166	0,847
	P <sub>2</sub>	0,409	0,356	0,430		

Примітка: див. додаток 1

**Показники артеріального тиску (АТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в  
групах порівняння залежно від варіантів генотипу за T2255C  
поліморфізмом гена VKORC1 (M±m)**

Показники		T/T	T/C	C/C	F	P <sub>1</sub>
<b>Жінки</b>						
САТ	Контроль	150,00±6,57 (19)	147,65±4,92 (17)	148,13±5,82 (8)	0,047	0,954
	IAT1	170,56±5,27 (27)	175,93±5,55 (27)	170,56±8,76 (18)	0,260	0,772
	P <sub>2</sub>	0,017	0,001	0,117		
ДАТ	Контроль	87,1±2,4	86,4±2,8	81,2±3,3	0,853	0,434
	IAT1	99,1±3,2	100,0±2,6	96,7±3,7	0,262	0,770
	P <sub>2</sub>	0,008	0,001	0,016		
ПАТ	Контроль	62,8±5,0	61,1±4,1	61,1±5,7	0,237	0,790
	IAT1	71,5±3,7	75,9±4,4	73,9±5,6	0,276	0,760
	P <sub>2</sub>	0,159	0,026	0,179		
СрАТ	Контроль	108,07±3,58	106,86±3,11	103,54±3,39	0,309	0,736
	IAT1	122,90±3,62	125,31±3,21	121,30±5,25	0,256	0,775
	P <sub>2</sub>	0,007	0,0004	0,041		
<b>Чоловіки</b>						
САТ	Контроль	156,43±3,34 (35)	154,67±4,17 (30)	150,83±9,72 (12)	0,255	0,776
	IAT1	167,50±4,13 (38)	161,22±4,69 (37)	157,83±6,28 (23)	0,971	0,383
	P <sub>2</sub>	0,042	0,716	0,534		
ДАТ	Контроль	87,0±2,0	85,1±2,4	89,6±4,5	0,522	0,596
	IAT1	92,8±2,8	92,1±2,1	93,7±3,5	0,069	0,933
	P <sub>2</sub>	0,101	0,031	0,487		
ПАТ	Контроль	69,4±2,9	69,6±2,9	61,3±5,7	1,160	0,319
	IAT1	74,6±3,4	69,0±3,6	64,1±3,5	1,883	0,158
	P <sub>2</sub>	0,252	0,900	0,662		
СрАТ	Контроль	110,14±2,14	108,27±2,82	110,00±6,16	0,132	0,876
	IAT1	117,76±2,89	115,18±2,68	115,07±4,31	0,247	0,781
	P <sub>2</sub>	0,040	0,082	0,500		

Примітка: див. додаток 1

## Додаток 4

**Зв'язок в T225C поліморфізму гена VKORC1 з обсягом уражень  
головного мозку у хворих з ІАТІ чоловічої статі**

Генотип	ІАТІ за обсягом ураження		
	Тотальний, n (%)	Кінцевий, n (%)	Лакунарний, n (%)
T/T	15 (22,7)	2 (100,0)	5 (18,5)
T/C	31 (47,0)	0 (0)	9 (33,3)
C/C	20 (30,3)	0 (0)	13 (48,1)
$\chi^2 = 9,528; P = 0,049$			

## Додаток 5

**Зв'язок T225C поліморфізму гена VKORC1 з обсягом уражень  
головного мозку у пацієнтів з ІАТІ з нормальним АТ**

Генотип	ІАТІ за обсягом ураження		
	Тотальний, n (%)	Кінцевий, n (%)	Лакунарний, n (%)
T/T	5 (19,2)	1 (50,0)	0 (0)
T/C	14 (53,8)	0 (0)	3 (25,0)
C/C	7 (26,9)	1 (50,0)	9 (75,0)
$\chi^2 = 10,739; P = 0,030$			

## Додаток 6

**Зв'язок T225C поліморфізму гена VKORC1 з обсягом уражень  
головного мозку у пацієнтів з ІАТІ з ожирінням та без ожиріння**

Генотип	ІАТІ за обсягом ураження		
	Тотальний, n (%)	Кінцевий, n (%)	Лакунарний, n (%)
T/T	6 (17,6)	3 (100,0)	5 (26,3)
T/C	16 (47,1)	0 (0)	8 (42,1)
C/C	12 (35,3)	0 (0)	6 (31,6)
$\chi^2 = 9,998; P = 0,040$			

## Додаток 7

**Зв'язок T2255C поліморфізму гена VKORC1 з повторністю ІАТІ у хворих чоловічої статі**

<i>Генотип</i>	<i>Первинний, n (%)</i>	<i>Повторний, n (%)</i>
T/T	8 (14,8)	15 (34,1)
T/C	20 (37,0)	21 (47,7)
C/C	26 (48,1)	8 (18,2)
$\chi^2 = 10,776; P = 0,005$		

## Додаток 8

**Зв'язок T2255C поліморфізму гена VKORC1 з повторністю ІАТІ у хворих з підвищеними показниками артеріального тиску**

<i>Генотип</i>	<i>Первинний, n (%)</i>	<i>Повторний, n (%)</i>
T/T	16 (20,3)	19 (38,8)
T/C	34 (43,0)	21 (42,9)
C/C	29 (36,7)	9 (18,4)
$\chi^2 = 7,222; P = 0,027$		

## Додаток 9

**Зв'язок T2255C поліморфізму гена VKORC1 з повторністю ІАТІ у хворих з нормальними показниками ІМТ**

<i>Генотип</i>	<i>Первинний, n (%)</i>	<i>Повторний, n (%)</i>
T/T	2 (8,0)	6 (37,5)
T/C	11 (44,0)	10 (62,5)
C/C	12 (48,0)	0 (0)
$\chi^2 = 12,683; P = 0,002$		

## Додаток 10

**Зв'язок T2255C поліморфізму гена VKORC1 з повторністю ІАТІ у пацієнтів без ГКК**

<i>Генотип</i>	<i>Первинний, n (%)</i>	<i>Повторний, n (%)</i>
T/T	9 (18,4)	11 (36,7)
T/C	21 (42,9)	16 (53,3)
C/C	19 (38,8)	3 (10,0)
$\chi^2 = 8,430; P = 0,015$		



## Додаток 11

**Зв'язок T2255C поліморфізму гена VKORC1 з повторністю ІАТІ у пацієнтів з ДАХ**

<i>Генотип</i>	<i>Первинний, n (%)</i>	<i>Повторний, n (%)</i>
T/T	12 (21,1)	14 (40,0)
T/C	21 (36,8)	16 (45,7)
C/C	24 (42,1)	5 (14,3)
$\chi^2 = 8,503; P = 0,014$		

## Додаток 12

**Зв'язок T2255C поліморфізму гена VKORC1 з повторністю ІАТІ у хворих та без ожиріння**

<i>Генотип</i>	<i>Первинний, n (%)</i>	<i>Повторний, n (%)</i>
T/T	12 (16,9)	16 (40,0)
T/C	28 (39,4)	19 (47,5)
C/C	31 (43,7)	5 (12,5)
$\chi^2 = 13,465; P = 0,001$		

## Додаток 13

**Зв'язок T2255C поліморфізму гена VKORC1 з повторністю ІАТІ у хворих без ЦД**

<i>Генотип</i>	<i>Первинний, n (%)</i>	<i>Повторний, n (%)</i>
T/T	15 (17,2)	21 (39,6)
T/C	34 (39,1)	23 (43,4)
C/C	38 (43,7)	9 (17,0)
$\chi^2 = 13,559; P = 0,001$		

**Показники зросту, маси тіла та індексу маси тіла (ІМТ)  
в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від  
варіантів генотипу за G3730A поліморфізмом гена VKORC1 (M±m)**

Показники		G/G	G/A	A/A	F	P <sub>1</sub>
<b>Жінки</b>						
Зріст, см	Контроль	156,07±1,99 (14)	155,52±1,52 (23)	157,71±5,05 (7)	0,178	0,837
	IAT1	162,52±1,12 (25)	164,42±0,94 (33)	163,57±1,45 (14)	0,851	0,431
	P <sub>2</sub>	0,004	0,0001	0,164		
Маса тіла, кг	Контроль	66,07±2,67	72,91±2,63	66,71±4,46	1,752	0,186
	IAT1	76,60±3,16	78,42±1,63	77,50±2,81	0,160	0,853
	P <sub>2</sub>	0,030	0,065	0,046		
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	Контроль	27,131±1,01	30,265±1,17	26,903±1,62	2,332	0,110
	IAT1	28,976±1,12	29,049±0,62	29,093±1,32	0,003	0,997
	P <sub>2</sub>	0,279	0,325	0,331		
<b>Чоловіки</b>						
Зріст, см	Контроль	168,23±1,20 (30)	166,73±1,66 (40)	166,22±0,86 (9)	0,337	0,715
	IAT1	172,38±1,49 (29)	174,02±0,96 (52)	170,18±1,86 (17)	1,813	0,169
	P <sub>2</sub>	0,003	0,0001	0,148		
Маса тіла, кг	Контроль	77,33±3,52	74,65±2,07	74,89±4,70	0,259	0,773
	IAT1	84,76±3,20	80,62±1,37	85,06±3,31	1,286	0,281
	P <sub>2</sub>	0,124	0,014	0,086		
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	Контроль	27,131±0,96	26,931±0,75	27,027±1,49	0,014	0,986
	IAT1	28,413±0,83	26,632±0,43	29,390±1,21	3,986	0,022
	P <sub>2</sub>	0,318	0,716	0,246		

Примітка: див. додаток 1

**Показники артеріального тиску (АТ) у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за G3730A поліморфізмом гена VKORC1 (M±m)**

Показники		G/G	G/A	A/A	F	P <sub>1</sub>
САТ	Контроль	147,33±3,60 (43)	154,60±2,97 (62)	159,38±5,22 (16)	2,024	0,137
	IAT1	174,44±4,11 (54)	164,88±3,09 (85)	159,68±4,87 (31)	3,026	0,051
	P <sub>2</sub>	0,0001	0,021	0,969		
ДАТ	Контроль	85,7±1,7	86,9±1,6	85,6±2,7	0,163	0,850
	IAT1	99,1±2,6	94,1±1,4	91,9±2,3	2,657	0,073
	P <sub>2</sub>	0,0001	0,001	0,099		
ПАТ	Контроль	61,6±2,5	67,6±2,4	73,7±3,7	3,084	0,049
	IAT1	75,2±3,0	70,7±2,2	67,7±3,6	1,388	0,252
	P <sub>2</sub>	0,001	0,348	0,296		
СрАТ	Контроль	106,24±2,24	109,51±1,87	110,21±3,32	0,774	0,464
	IAT1	124,26±2,85	117,75±1,86	114,52±2,92	3,343	0,038
	P <sub>2</sub>	0,0001	0,003	0,366		

Примітка: див. додаток 1

**Показники артеріального тиску (АТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в  
групах порівняння залежно від варіантів генотипу за G3730A  
поліморфізмом гена VKORC1 (M±m)**

Показники		G/G	G/A	A/A	F	P <sub>1</sub>
<b>Жінки</b>						
САТ	Контроль	143,57±5,63 (14)	150,00±5,38 (23)	155,00±7,31 (7)	0,619	0,543
	IAT1	178,80±6,74 (25)	169,85±5,19 (33)	167,86±6,56 (14)	0,827	0,442
	P <sub>2</sub>	0,001	0,012	0,242		
ДАТ	Контроль	85,3±2,3	86,9±2,6	82,8±3,8	0,382	0,685
	IAT1	104,2±3,5	95,7±2,3	96,4±3,4	2,533	0,087
	P <sub>2</sub>	0,001	0,015	0,023		
ПАТ	Контроль	58,2±4,3	63,0±4,4	72,1±4,9	1,275	0,290
	IAT1	74,6±4,3	74,0±3,9	71,4±5,5	0,100	0,905
	P <sub>2</sub>	0,017	0,069	0,935		
СрАТ	Контроль	104,76±3,19	107,97±3,12	106,90±4,66	0,239	0,788
	IAT1	129,07±4,39	120,45±3,0	120,24±3,88	1,778	0,177
	P <sub>2</sub>	0,001	0,006	0,051		
<b>Чоловіки</b>						
САТ	Контроль	149,14±4,63 (29)	157,31±3,48 (39)	162,78±7,50 (9)	1,637	0,202
	IAT1	170,69±5,01 (29)	170,69±3,81 (52)	152,94±6,79 (17)	2,338	0,102
	P <sub>2</sub>	0,002	0,013	0,373		
ДАТ	Контроль	85,8±2,3	86,9±2,2	87,7±4,0	0,095	0,910
	IAT1	94,8±3,6	93,1±1,9	88,2±2,9	1,003	0,371
	P <sub>2</sub>	0,039	0,035	0,920		
ПАТ	Контроль	63,2±75,0	70,3±2,7	75,0±5,6	2,238	0,114
	IAT1	75,8±4,3	68,5±2,7	64,7±4,8	1,823	0,167
	P <sub>2</sub>	0,150	0,645	0,197		
СрАТ	Контроль	106,95±2,97	110,42±2,37	112,78±4,73	0,684	0,508
	IAT1	120,11±3,61	116,03±2,36	109,80±4,00	1,823	0,167
	P <sub>2</sub>	0,006	0,103	0,650		

Примітка: див. додаток 1

## Додаток 17

**Зв'язок T2255C поліморфізму гена VKORC1 з дисліпопротеїнемією атерогенного характеру (ДАХ) у хворих з ІАТІ жіночої статі**

Генотип	ДАХ (-), n (%)	ДАХ (+), n (%)
T/T	12 (42,9)	6 (15,0)
T/C	9 (32,1)	25 (62,5)
C/C	7 (25,0)	9 (22,5)
$\chi^2 = 7,908; P = 0,019$		

## Додаток 18

**Зв'язок G3730A поліморфізму гена VKORC1 з ДАХ у хворих з ІАТІ, що мають збільшений ІМТ**

Генотип	ДАХ (-), n (%)	ДАХ (+), n (%)
G/G	9 (45,0)	1 (5,9)
G/A	9 (45,0)	14 (82,4)
A/A	2 (10,0)	2 (11,8)
$\chi^2 = 7,292; P = 0,026$		

## Додаток 19

**Зв'язок G3730A поліморфізму гена VKORC1 з дисліпопротеїнемією атерогенного характеру (ДАХ) у хворих з ІАТІ, що мають підвищений артеріальний тиск**

Генотип	ДАХ (-), n (%)	ДАХ (+), n (%)
G/G	21 (46,7)	18 (25,4)
G/A	22 (48,9)	42 (59,2)
A/A	2 (4,4)	11 (15,5)
$\chi^2 = 7,248; P = 0,027$		

## Додаток 20

**Зв'язок T2255C поліморфізму гена VKORC1 з гіперкоагуляцією крові (ГКК) у хворих з ІАТІ жіночої статі**

<i>Генотип</i>	<i>ГКК (-), n (%)</i>	<i>ГКК (+), n (%)</i>
T/T	10 (37,0)	11 (24,4)
T/C	15 (55,6)	19 (42,2)
C/C	2 (7,4)	15 (33,3)
$\chi^2 = 6,357; P = 0,042$		

## Додаток 21

**Зв'язок T2255C поліморфізму гена VKORC1 з гіперкоагуляцією крові (ГКК) у хворих з ІАТІ зі збільшеним індексом маси тіла**

<i>Генотип</i>	<i>ГКК (-), n (%)</i>	<i>ГКК (+), n (%)</i>
T/T	26 (42,6)	23 (33,8)
T/C	32 (52,5)	31 (45,6)
C/C	3 (4,9)	14 (20,6)
$\chi^2 = 6,958; P = 0,031$		

## Додаток 22

**Зв'язок T2255C поліморфізму гена VKORC1 з гіперкоагуляцією крові (ГКК) у хворих з ІАТІ з підвищеним артеріальним тиском**

<i>Генотип</i>	<i>ГКК (-), n (%)</i>	<i>ГКК (+), n (%)</i>
T/T	26 (43,3)	23 (33,8)
T/C	30 (50,0)	30 (44,1)
C/C	4 (6,7)	15 (22,1)
$\chi^2 = 6,076; P = 0,048$		

## Додаток 23

**Зв'язок T2255C поліморфізму гена VKORC1 з гіперкоагуляцією крові (ГКК) у хворих з ІАТІ, які не палять**

<i>Генотип</i>	<i>ГКК (-), n (%)</i>	<i>ГКК (+), n (%)</i>
T/T	20 (37,7)	22 (32,8)
T/C	29 (54,7)	27 (40,3)
C/C	4 (7,5)	18 (26,9)
$\chi^2 = 7,545; P = 0,023$		

## Додаток 24

**Зв'язок T2255C поліморфізму гена VKORC1 з гіперкоагуляцією крові (ГКК) у хворих з ІАТІ, що мають ДАХ**

<i>Генотип</i>	<i>ГКК (-), n (%)</i>	<i>ГКК (+), n (%)</i>
T/T	16 (35,6)	12 (25,5)
T/C	26 (57,8)	23 (48,9)
C/C	3 (6,7)	12 (25,5)
$\chi^2 = 6,115; P = 0,047$		

## Додаток 25

**Зв'язок G3730A поліморфізму гена VKORC1 з гіперкоагуляцією крові (ГКК) у хворих з ІАТІ чоловічої статі**

<i>Генотип</i>	<i>ГКК (-), n (%)</i>	<i>ГКК (+), n (%)</i>
G/G	15 (28,8)	29 (63,0)
G/A	31 (59,6)	14 (30,4)
A/A	6 (11,5)	3 (6,5)
$\chi^2 = 11,553; P = 0,003$		

## Додаток 26

**Зв'язок G3730A поліморфізму гена VKORC1 з гіперкоагуляцією крові (ГКК) у хворих з ІАТІ з нормальним артеріальним тиском (АТ)**

<i>Генотип</i>	<i>ГКК (-), n (%)</i>	<i>ГКК (+), n (%)</i>
G/G	8 (42,1)	14 (60,9)
G/A	10 (52,6)	4 (17,4)
A/A	1 (5,3)	5 (21,7)
$\chi^2 = 6,553; P = 0,038$		