Журнал клінічних та експериментальних JC&EMR медичних досліджень

УДК [616.127-005.8+616.831-005.1]-06:575

Abstract

Rozиmenko I.A.,
Garbuzova V. Yu.,
Ataman A.V.,
Obukhova O.A.
Sumy State University,
2, Rymskogo-Korsakova st.,
Sumy, 40007, Ukraine

THE DISTRIBUTION OF ALLELIC VARIANTS T134967G POLYMORPHISM OF THE ANKH GENE IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME WITH NORMAL BLOOD PRESSURE AND HYPERTENSION

Introduction. Transmembrane protein *ANKH* inorganic pyrophosphate transport regulator (*ANKH*) is regulates transport of inorganic pyrophosphate (PPi) of the cells into the extracellular environment, thus by playing an important role inhibitor of ectopic calcification of the vascular wall. Protein is contains 7-12 multi-pass transmembrane domains, each of 20 amino acids long. Mutations in this gene have been associated with autosomal dominant craniometaphyseal dysplasia and calcium pyrophosphate dehydrates deposition disease. Persons with recessive mutation of the *ANKH* gene are suffering from progressive ankylosis with concomitant vascular calcification caused by violation of inorganic pyrophosphate transport. As the calcification of the atherosclerotic plaque is an unto ward prognostic factor of the acute coronary syndrome, the polymorphism of the *ANKH* gene can be associated with the disease progression.

Purpose. To establish the frequency of allelic variants of the *ANKH* gene for T134967G polymorphism in patients with acute coronary syndrome (ACS) in persons with normal blood pressure and hypertension.

Materials and Methods. We used venous blood of 118 patients with ACS (22% women and 78% men) aged 40 to 73 years (mean age 55,9±0,89 years) who was hospitalized in the cardiology department of Sumy City Clinical Hospital #1. The control group consisted of 110 patients. Definition of T134967G polymorphism (rs187483) of *ANKH* gene was performed using PCR with the following restriction fragment length analysis of the allocation of them by electrophoresis in agarose gel. Restriction *Hin*6I (*Hin*P1I) was used for restriction analysis. Statistical analysis was performed by using the software package SPSS-17. Thus the significance of differences was determined by Pearson's chi-squered test and Student's *t*-test. The value of $P < 0,05$ was considered as significant.

Results. Genotyping of patients with ACS for T134967G polymorphism of the *ANKH* gene was allowed setting the frequency with which there are some variants of this gene in patients with normal values of blood pressure (BP) and hypertension. The distribution of allelic variants among patients with ACS with different values of blood pressure was not significantly different ($P = 0,949$).

In persons who have the T/T genotype in control group and in patients with ACS, the value of BP syst. ($P = 0,623$), BP diast. ($P = 0,065$), BP pulse ($P = 0,265$) and BP mean ($P = 0,159$) were not significantly different. Values of BP syst. ($P = 0,839$), BP diast. ($P = 0,561$), BP pulse ($P = 0,407$) and BP mean ($P = 0,827$) in carriers of minor allele (T/G+G/G) were not significantly different between controls and patients with ACS. Patients with ACS – homozygotes for the major allele (T/T) – had significantly higher blood pressure syst. (P <0,0001), BP diast. (P <0,0001), BP pulse (P = 0,0007) and BP mean (P <0,0001) than practically healthy persons. Values of BP syst. (P <0,0001), BP diast. (P = 0,0003), BP pulse (P = 0,0001) and BP mean (P <0,0001) in patients with ACS and genotype T/G+G/G for T134967G polymorphism of the *ANKN* gene were also significantly higher than in controls.

Conclusion. In patients with ACS, regardless of genotype (T/T or T/G+G/G) values of BP syst., BP diast., BP pulse and BP mean is significantly higher than in the control group.

Key words: *ANKH* inorganic pyrophosphate transport regulator, acute coronary syndrome, allelic polymorphism.

Corresponding author: *inchik-27486@yandex.ru

Резюме

Розуменко І.О., Гарбузова В.Ю., Атаман О.В., Обухова О.А.
Сумський державний університет, вул. Римського-Корсакова, 2, Суми, 40007, Україна

РОЗПОДІЛ АЛЕЛЬНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНА ANKH ЗА T134967G ПОЛІМОРФІЗМОМ У ХВОРИХ ІЗ ГОСТРИМ КОРОНАРНИМ СИНДРОМОМ З НОРМАЛЬНИМ ТА ПІДВИЩЕНИМ АРТЕРІАЛЬНИМ ТИСКОМ

Наведено результати дослідження T134967G поліморфізму гена ANKH у 118 хворих із гострим коронарним синдромом (ГКС) і 110 здорових осіб (контрольна група) з нормальною величиною артеріального тиску і артеріальною гіпертензією. Встановлено, що у хворих із ГКС, незалежно від генотипу (T/T чи T/G+G/G) за T134967G поліморфізмом гена ANKH, показники всіх видів тисків достовірно вищі, ніж у осіб контрольної групи. Доведено, що не існує зв’язку між T134967G поліморфізмом і розвитком артеріальної гіпертензії у пацієнтів із ГКС

Ключові слова: регулятор транспорту неорганічного пірофосфату ANKH, гострий коронарний синдром, поліморфізм генів.

Резюме

Розуменко И.А., Гарбузова В.Ю., Атаман А.В., Обухова О.А.
Сумский государственный университет, ул. Римского-Корсакова, 2, Сумы, 40007, Украина

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ПО T134967G ПОЛИМОРФИЗМУ ГЕНА ANKH У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ С НОРМАЛЬНОЙ ВЕЛИЧИНОЙ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ И АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Наведены результаты изучения T134967G полиморфизма гена ANKH у 118 лиц с острым коронарным синдромом (ОКС) и 110 здоровых индивидуумов (контрольная группа) с нормальной величиной артериального давления и артериальной гипертензией. Установлено, что у больных с ОКС, независимо от генотипа (T/T или T/G+G/G) по T134967G полиморфизму гена ANKH, величины всех видов давления достоверно выше, чем в контрольной группе. Доказано, что нет связи между T134967G полиморфизмом и развитием артериальной гипертензии у пациентов с ОКС.

Ключевые слова: регулятор транспорта неорганического пирофосфата ANKH, острый коронарный синдром, полиморфизм генов.

Автор, відповідальний за листування: * *inchik-27486@yandex.ru

Вступ

Трансмембранний білок *ANKH* регулює транспорт неорганічного пірофосфату (PPi) із клітини у позаклітинне середовище [1; 2], виконуючи роль інгібітора масивної ектопічної кальцифікації судинної стінки. Білок містить 7-12 трансмембранних доменів, кожен по 20 амінокислот [3]. Вперше роль *ANKH* була визначена Sweet H.O. і Green M.C. у 1973 році на основі спонтанної мутації гена *АНК* у мишей з прогресуючим анкілозом [4]. Визначено, що мутації у гені *ANKH* призводять до двох різних варіантів розладів кальцификації: краніометафізарної дисплазії [5; 6] і сімейної хвороби осадження кальцію пірофосфату дигідрату [7; 8]. У осіб з мутацією гена *ANKH* розвивається прогресуючий анкілоз із супутньою кальцифікацією судин, викликаною порушенням транспорту PPi [1].

Ген *ANKH* міститься у 5 (5p15.2–p14.1) хромосомі, має 12 екзонів і 11 інтронів, розташованих справа наліво по напрямку транскрипції [9]. Мутації у цьому гені асоційовані з анкілозом [10; 11; 13], краніометафізарною дисплазією [5; 6], зі зниженням рухливості і кількості сперматозоїдів, що призводить до чоловічого безпліддя [12], сечокам'яною хворобою нирок [13] і хондрокальцинозом [14]. Є дані про те, що зниження рівня білку *ANKH* призводить до розвитку кальцифікації стулок аортального клапану [15]. Щодо впливу T134967G однонуклеотидного поліморфізму гена *ANKH* на розвиток гострого коронарного синдрому у слов'янській популяції, то ця проблема досліджується нами вперше.

Представлену роботу виконано в рамках науково-дослідної теми "Роль поліморфізму генів у розвитку патологічних станів і хвороб", № 0114U006297.

Мета дослідження. Визначити розподіл алельних варіантів T134967G поліморфізму гена *ANKH* у хворих із гострим коронарним синдромом (ГКС) з нормальною величиною артеріального тиску і артеріальною гіпертензією.

Матеріали і методи. У роботі було використано венозну кров 118 хворих із ГКС (22,0% жінок і 78,0% чоловіків) середнім віком 55,91±0,89 роки, яких було госпіталізовано у кардіологічне відділення Сумської міської клінічної лікарні № 1.

Дослідження проводили з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Хельсінкської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етнічні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964, з подальшими доповненнями, включаючи версію 2000 р.) та Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. Усі пацієнти підписали інформовану угоду на участь у дослідженнях з наступним забором венозної крові на генетичний аналіз

Діагноз гострого інфаркту міокарда та нестабільної стенокардії було встановлено на підставі даних клінічних, електрокардіографічних та біохімічних досліджень згідно з рекомендаціями експертів ВООЗ, а також відповідно до рекомендацій європейського та американського товариств кардіологів [16; 17]. Контрольна група складалася зі 110 пацієнтів, у яких відсутність серцево-судинної патології підтверджували шляхом збору анамнестичних даних, запису електрокардіограм, вимірювання артеріального тиску та дослідження ряду біохімічних показників крові. Контрольна група і група хворих із ГКС не відрізнялися за співвідношенням осіб різної статі (P = 0,294 за χ^2-критерієм) та за середнім віком (P = 0,103). Але в осіб хворих із ГКС показники артеріального тиску систолічного (АТ сист.), артеріального тиску діастолічного (АТ діаст.), артеріального тиску пульсового (АТ пул.) і артеріального тиску середнього (АТ сер.) достовірно вищі, ніж у осіб контрольної групи (P < 0,001).

Визначення T134967G (rs187483) поліморфізму гена *ANKH* (8-й інтрон) було проведено за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів.

Для генотипування венозну кров набирали в стерильних умовах в моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти ("Sarstedt", Німеччина), що слугувала антикоагулянтом. Кров заморожували і зберігали при температурі -20°С. ДНК з неї виділяли, використовуючи набори "Изоген" (Росія). Ампліфікацію ділянки гена, що містить сайт T134967G поліморфізму, проводили за допомогою пари специфічних праймерів: прямого (sence) 5' AACCTCTTCCTTTCTGCAGC 3' і зворотного (antisense) – 5' CCAGAATAACCCCAGCAACA 3'. Для ампліфікації брали 50-100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буферу, 1,5 мМ сульфату магнію, 200 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 10 pM кожного з праймерів і 1,0 ОД Taqполімерази ("Thermo Scientific", США), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Ампліфікація фрагмента 8-го інтрону складалася з 33 циклів: денатурація – 94°C (50 с), гібридизація праймерів – 64,5°C (45 с) і елонгація – 72°C (1 хв). Потім 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37°C протягом 18 годин з 3 ОД рестриктази Hin6I (HinP1I) ("Thermo Scientific", США) у Tango-буфері такого складу: 33 мМ трис-HCl (pH 7,9), 10 мМ хлориду магнію, 66 мМ хлориду калію і 0,1 мг/мл альбуміну. Наявність у 134967-й позиції гена *ANKH* тиміну перешкоджає рестрикції, а при заміні тиміну на гуанін рестриктаза Hin6I розщеплює ампліфіковану ділянку (довжина – 350 п.о.) на два фрагменти: 235 і 115 пар основ.

Ампліфікати вивченого фрагмента гена *ANKH* після рестрикції розділяли в 2,5% агарозному гелі, що містив 10 мкг/мл бромистого етидію. Горизонтальний електрофорез (0,13A; 200V) проводили протягом 25 хв. Візуалізацію ДНК після електрофорезу здійснювали за допомогою трансілюмінатора ("Біоком", Росія).

Статистичний аналіз проводили з використанням програми SPSS-17. При цьому достовірність відмінностей визначали за χ^2-критерієм і за t – критерієм Стьюдента. Значення P < 0,05 вважали достовірним.

Результати досліджень та їх обговорення. Розподіл алельних варіантів *ANKH* гена за T134967G поліморфізмом у хворих із ГКС з нормальним та підвищеним показниками артеріального тиску подано в табл. 1.

Таблиця 1

Частота генотипів за T134967G поліморфізмом гена ANKH у хворих із ГКС з нормальним тиском та артеріальною гіпертензією

Генотип		*Артеріальна гіпертензія (-)*	*Артеріальна гіпертензія (+)*
T/T	n	24	38
		52,2%	52,8%
T/G+G/G	n	22	34
		47,8%	47,2%
Разом	n	46	72
		100%	100%
χ^2 = 0,004; P = 0,949			

Примітка: *подано частоту генотипу в абсолютних одиницях і відсотках. P – статистична значимість відмінностей між порівнюваними групами за χ^2-критерієм*

Аналізуючи отримані результати можна бачити, що не існує достовірної різниці у співвідношенні алельних варіантів за досліджуваним поліморфізмом у хворих із ГКС з артеріальною гіпертензією та з нормальними показниками тиску. Так, серед пацієнтів із ГКС, що мали нормальні величини АТ, осіб з генотипом T/T було 52,2%, а з генотипом T/G+G/G – 47,8%. Розподіл алельних варіантів серед хворих із ГКС з артеріальною гіпертензією становив 52,8% і 47,2% відповідно (χ^2 = 0,004; P = 0,949). Таким чином, не існує достовірного зв'язку між T134967G поліморфізмом досліджуваного гена і величиною артеріального тиску у пацієнтів із ГКС.

У табл. 2 наведено показники АТ сист., АТ діаст., АТ пул. та АТ сер. у практично здорових осіб і у хворих із ГКС в залежності від варіантів генотипу за T134967G поліморфізмом гена *ANKH*. Із отриманих даних випливає, що в осіб з різними варіантами генотипів (T/T і T/G+G/G) як у контрольній групі, так і у хворих із ГКС, значення АТ сист., АТ діаст., АТ пул. і АТ сер. достовірно не відрізнялися.

Інші результати були отримані, коли аналіз проводився між групами порівняння. Хворі із ГКС – гомозиготи за основним алелем (T/T) – мали достовірно вищий АТ сист., ніж практично здорові особи: 140,5±2,3 мм рт. ст. проти 124,3±1,2 мм рт. ст. (P <0,0001). У осіб контрольної групи з генотипом T/T показник АТ діаст. дорівнював 79,3±0,8 мм рт ст., а у хворих із ГКС – 90,0±1,4 мм рт ст. (P <0,0001). Величина АТ пул. в групах порівняння з генотипом T/T складала 44,9±0,9 мм рт ст. і 50,5±1,4 мм рт ст. відповідно (P = 0,0007). Також було виявлено достовірну відмінність між показниками АТ сер. у осіб із T/T генотипом: 94,3±0,9 мм рт ст. у контролі й 106,8±1,6 мм рт ст. у хворих із ГКС (P <0,0001).

Таблиця 2

***Показники артеріального тиску (АТ) у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за T134967G поліморфізмом гена ANKH** (M±m)*

Показники		*T/T*	*T/G+G/G*	*F*	P_1
АТ сист.	Контроль	124,3± 1,2 (74)	125,3± 1,6 (36)	1,450	0,623
	ГКС	140,5± 2,3 (62)	141,2± 2,4 (56)	0,051	0,839
	P_2	< 0,0001	< 0,0001		
АТ діаст.	Контроль	79,3±0,8	82,1±1,3	0,869	0,065
	ГКС	90,0±1,4	88,9±1,2	0,375	0,561
	P_2	< 0,0001	0,0003		
АТ пул.	Контроль	44,9±0,9	43,2±1,2	0,076	0,265
	ГКС	50,5±1,4	52,2±1,6	0,377	0,407
	P_2	0,0007	0,0001		
АТ сер.	Контроль	94,3±0,9	96,5±1,2	0,039	0,159
	ГКС	106,8±1,6	106,3±1,5	0,107	0,827
	P_2	< 0,0001	< 0,0001		

Примітка: *F – критерій Фішера, P1 і P2 – значимість відмінностей між генотипами за даними однофакторного дисперсійного аналізу (P1) і між контролем та ГКС за t-критерієм Стьюдента (P2). У дужках – кількість пацієнтів.*

У пацієнтів із генотипом T/G+G/G за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* спостерігались схожі результати. У носіїв мінорного алелю величина АТ сист. дорівнювала 125,3±1,6 мм рт ст. у контрольній групі і 141,2±2,4 мм рт ст. у хворих із ГКС (P <0,0001). Величина АТ діаст. у групах порівняння становила 82,1±1,3 мм рт ст. і 88,9±1,2 мм рт ст. відповідно (P = 0,0003). Хворі із ГКС, носії мінорного алелю T/G+G/G, мали достовірно вищий рівень АТ пул., ніж особи контрольної групи: 52,2±1,6 мм рт ст. проти 43,2±1,2 мм рт ст. (P = 0,0001). Величина АТ сер. у хворих із ГКС з генотипом T/G+G/G також була вищою, ніж у практично здорових осіб і становила 106,3±1,5 мм рт ст. проти 96,5±1,2 мм рт ст. (P <0,0001).

Відомо понад 7 тисяч однонуклеотидних поліморфізмів гена *ANKH*. Суть алельного поліморфізму T134967G полягає в тому, що у 134967-й позиції гена *ANKH* (на межі 8 екзону і 8-го інтрону), азотиста основа тимін заміщена на гуанін [3]. Поліморфізми в інтронах не призводять до зміни послідовності азотистих основ у змістовній частині гена [18], але за рахунок альтернативного сплайсингу вони можуть бути зчеплені з регуляторними ділянками гена (8-мим екзоном, rs2288474), що може призводити до розвитку патологічних станів і хвороб.

У проведених нами дослідженнях було встановлено співвідношення генотипів T/T і T/G+G/G серед здорових осіб, яке становило 67,3% і 32,7% відповідно. Частота мінорного алелю дорівнювала 0,182. Схожі дані було отримано у результатах інших авторів. Так, Timms A. E. et al. виявили розподіл генотипів (T/T і T/G+G/G) за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* серед мешканців Нью-Йорку, який становив 66,3% і 33,7% [3]. Частота мінорного алелю дорівнювала 0,288 і достовірно не відрізнялась від групи українських пацієнтів (P > 0,05).

На сьогодні T134967G поліморфізм гена *ANKH* мало досліджений. У деяких працях описаний його зв'язок із хондрокальцинозом [19] і анкілозуючим спондилітом [3]. Дані щодо асоціації T134967G поліморфізму гена *ANKH* з розвитком серцево-судинних хвороб та факторами ризику відсутні.

Висновки

1. Не існує достовірного зв'язку між T134967G поліморфізмом гена *ANKH* і величиною артеріального тиску у пацієнтів із ГКС.

2. У гомозигот за основним алелем T/T за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* хворих із ГКС показники АТ сист. (P < 0,0001), АТ діаст. (P < 0,0001), АТ пул. (P = 0,0007) і АТ сер. (P < 0,0001) достовірно вищі, ніж у практично здорових індивідуумів.

3. Носії мінорного алелю T/G+G/G хворі із ГКС також мали достовірно вищі показники АТ сист. (P < 0,0001), АТ діаст. (P = 0,0003), АТ пул. (P = 0,0001) і АТ сер. (P < 0,0001), ніж особи контрольної групи.

References (список літератури)

1. Ho A.M., Johnson M.D., Kingsley D.M. Role of the mouse ank gene in control of tissue calcification and arthritis. *Science*. 2000; 289:265–270.
2. Gurley K.A., Reimer R.J., Kingsley D.M. Biochemical and genetic analysis of ANK in arthritis and bone disease. *Am J Hum Genet*. 2006; 79:1017–1029.
3. Timms A. E., Zhang Y., Bradbury L., Wordsworth B. P., Brown M. A. Investigation of the Role of ANKH in Ankylosing Spondylitis. *Arthritis & rheumatism.* 2003; 48(10):2898–2902.
4. Sweet H.O., Green M.C. Progressive ankylosis, a new skeletal mutation in the mouse. *J Hered*. 1981; 72(2):87-93.
5. Nurnberg P., Thiele H., Chandler D., Hohne W. et al. Heterozygous mutations in ANKH, the human ortholog of the mouse progressive ankylosis gene, result in craniometaphyseal dysplasia. *Nat Genet*. 2001; 28:37–41.
6. Reichenberger E., Tiziani V., Watanabe S., Park L. et al. Autosomal dominant craniometaphyseal dysplasia is caused by mutations in the transmembrane protein ANK. *Am J Hum Genet*. 2001; 68:1321–1326.
7. Pendleton A., Johnson M.D., Hughes A., Gurley K.A. et al. Mutations in ANKH cause chondrocalcinosis. *Am J Hum Genet*. 2002; 71:933–940.
8. Williams C.J., Zhang Y., Timms A., Bonavita G. et al. Autosomal dominant familial calcium pyrophosphate dihydrate deposition disease is caused by mutation in the transmembrane protein ANKH. *Am J Hum Genet*. 2002; 71:985–991.
9. Malkin I., Dahmb S., Sukc A., Kobylianskya E., Toliatc M., Ruf N., Livshitsa G., Nqrnberg P. Association of ANKH gene polymorphisms with radiographic hand bone size and geometry in a Chuvasha population. *Bone*. 2005; 36:365–373.
10. Tsui H.W., Inman R.D., Paterson A.D., Reveille J.D., Tsui F.W.L. ANKH variants associated with ankylosing spondylitis: gender differences. Arthritis Research & Therapy. 2005; 7:513-525.
11. Liu Z., Cui Y., Zhou X., Zhang X., Han J. Association of mineralization-related genes TNAP and ANKH polymorphisms with ankylosing spondylitis in the Chinese Han population. *BioScience Trends*. 2013; 7(2):89-92.
12. Wang J., Wang C., Tsui H.W., Las Heras F., Cheng E.Y. et al. Microcytosis in ank/ank mice and the role of ANKH in promoting erythroid differentiation. *Exp Cell Res*. 2007; 313:4120–4129.
13. Korkmaz C., Sayer J.A. ANKH and Renal Stone Formation in Ankylosing Spondylitis. *J Rheumatol*. 2012; 39:1756.
14. Abhishek A., Doherty M. Pathophysiology of articular chondrocalcinosis — role of ANKH. *Nature Ryviews. Rheumatology*. 2011; 7:96–104.
15. Zhao G., Xu M.J., Zhao M.M., Dai X.Y., Kong W., Gerald M. et al. Activation of nuclear factor-kappa B accelerates vascular calcification by inhibiting progressive ankylosis protein homolog expression. *Kidney Int*. 2012; 82(1):34–44.
16. Braunwald E., Antman E.M., Beasley J.W., Califf R.M., Cheitlin M.D., Hochman J.S. et al. ACC/AHA guidelinesfor the management of patients with unstable angina and non ST-elevation myocardial infarction: executive summary and recommendations. A report of the american college of cardiology. *Circulation*. 2000; 102:1193–1209.
17. Bertrand M.E., Simoons M.L., Fox K.A., Wallentin L.C., Hamm C.W., McFadden E., et al. Management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur. Heart J.* 2002; 23:1809–1840.
18. Гарбузова В.Ю., Обухова О.А., Атаман Ю.О., Дубовик Є.І. та ін. Частота поліморфізму ApaI гена рецептора вітаміну D у хворих з ішемічним інсультом. *Загальна патологія та патологічна фізіологія*. 2012; 7(2):142-148.

19. Zhang Y., Johnson K., Russell R.G.G., Wordsworth B.P., Carr A.J., Terkeltaub R.A., Brown M.A.. Association of Sporadic Chondrocalcinosis With a -4-Basepair G-to-A Transition in the 5-Untranslated Region of ANKH That Promotes Enhanced Expression of ANKH Protein and Excess Generation of Extracellular Inorganic Pyrophosphate. *Arthritis & rheumatism.* 2005; 52(4):1110–1117.

(received 30.03.2015, published online 30.06.2015)

(отримано 30.03.2015, опубліковано 30.06.2015)