

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

На правах рукопису

Матлай Ольга Іванівна

УДК 616.831-005.1-06:616.12-005.4:575.113.2(043.5)

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

14.03.04 – патологічна фізіологія

**Дисертація на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук**

**Науковий керівник –
Гарбузова Вікторія Юріївна,
професор, доктор біологічних наук**

Суми – 2015

ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень	3
Вступ	5
Розділ 1. Огляд літератури	12
1.1. Сучасні уявлення про патогенез ішемічного інсульту	12
1.2. Роль поліморфізмів гена MTHFR у розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту	22
Розділ 2. Матеріали і методи дослідження	32
2.1. Характеристика клінічного матеріалу	32
2.2. Клінічні методи дослідження	38
2.3. Молекулярно-генетичні дослідження	39
2.4. Методи статистичного аналізу	43
Розділ 3. Результати власних досліджень	
3.1. Зв'язок С677Т поліморфізму гена MTHFR з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту	45
3.2. Асоціація А1298С поліморфізму гена MTHFR з гострим ішемічним атеротромботичним ураженням головного мозку	62
3.3. Комплексний вплив С677Т та А1298С поліморфізмів гена MTHFR на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту	79
3.4. Вплив С677Т та А1298С поліморфних варіантів гена MTHFR на основні характеристики гострої атеротромботичної ішемії мозку	84
Розділ 4. Аналіз та узагальнення результатів дослідження	93
Висновки	107
Список використаних джерел	109
Додатки	137

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- АГ – артеріальна гіпертензія
АТ – артеріальний тиск
АТ_{діаст} – діастолічний артеріальний тиск
АТ_{пул} – пульсовий артеріальний тиск
АТ_{сист} – систолічний артеріальний тиск
АТ_{сер} – середній артеріальний тиск
АТФ – аденозинтрифосфорна кислота
ВББ – вертебробазиллярний басейн
ГЕБ – гематоенцефалічний бар'єр
ГПЛ – гідропероксиди ліпідів
ЕД – ендотеліальна дисфункція
ІАТІ – ішемічний атеротромботичний інсульт
ІГМ – інфаркт головного мозку
ІМТ – індекс маси тіла
ІХС – ішемічна хвороба серця
КТ – комп'ютерна томографія
ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів
ССЗ – серцево-судинні захворювання
ХС – холестерол
ЛПДНЩ – ліпопротеїди дуже низької щільності
ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності
ЦД – цукровий діабет
ЦНС – центральна нервова система
А – аденін
Ala – аланін
С – цитозин
Glu – глютамінова кислота
ГЦ – гомоцистеїн

ГГЦ – гіпергомоцистеїнемія

NMDA – N-метил-D-аспарат

MTR – метіонін-синтаза

MTRR – метіонін-синтаза-редуктаза

MTHFR – метилентетрагідрофолатредуктаза

SNP – однонуклеотидний поліморфізм

T – тимін

THF – тетрагідрофолат

ВСТУП

Актуальність теми

Судинні захворювання мозку є однією з найактуальніших медико-соціальних проблем сучасності та основним чинником, що спричиняє смерть та інвалідизацію населення планети [29, 35, 36, 50, 51, 74, 214]. Особливо небезпечними є гострі порушення мозкового кровообігу. Лише третина пацієнтів відновлюється частково або повністю після перенесеного інсульту, третина залишається інвалідами, а третина помирає впродовж місяця – року [36, 50, 51]. Глобальний характер проблеми судинних захворювань визначає необхідність міждисциплінарної інтеграції [64]. Сьогодні різні аспекти цього питання інтенсивно вивчаються неврологами, нейрохірургами, патофізіологами, генетиками практично в усіх розвинених країнах світу [136, 142].

Аналіз динаміки захворюваності на інсульт за останні десятиріччя свідчить про стійку тенденцію до зростання — на 0,5–2 % за 1 рік [26, 52, 216]. На жаль, в Україні показники захворюваності та смертності, пов'язані з ураженнями судин головного мозку, вищі, ніж середні показники в європейських країнах [50, 51]. Щорічно від 100 до 110 тис. жителів країни вперше зіштовхуються з мозковими катастрофами, а від 40 до 43 тис. з них помирає [36, 50, 51]. Третина інсультів трапляється у людей працездатного віку. Збільшується кількість повторних інсультів та інвалідизованих хворих [26, 29, 43].

Серед гострих порушень мозкового кровообігу найбільша частка припадає на ішемічні інсульти, атеротромботичний варіант яких відзначається у 40–60 % випадків [38, 117, 118] і виникає найчастіше внаслідок ураження прецеребральної або великої церебральної артерії [17, 26].

Провідний механізм ураження судин – це ендотеліальна дисфункція, основним ініціюючим чинником якої часто є гомоцистеїн. Амінокислота

гомоцистеїн є проміжним продуктом процесу синтезу метіоніну. Вирішальну роль у синтезі метіоніну з гомоцистеїну відіграє фермент N^5,N^{10} -метилентетрагідрофолатредуктаза (MTHFR), який відновлює N^5,N^{10} -метилентетрагідрофолат до N^5 -метилтетрагідрофолату, що несе на собі метильну групу, необхідну для реметилування гомоцистеїну. Пригнічення активності ферменту MTHFR призводить до надмірного накопичення гомоцистеїну в плазмі крові – гіпергомоцистеїнемії. Доведено, що гомоцистеїн має виражену токсичну дію, механізм якої визначається декількома біохімічними каналами і значною мірою пов'язаний з ендотеліальною дисфункцією [110, 161, 178, 179]. Відомо, що підвищення рівня гомоцистеїну в крові має виражений атерогенний і тромбофілітичний ефекти [4, 20, 109, 110, 157, 161]. Епідеміологічні дослідження підтвердили, що гомоцистеїн є незалежним фактором ризику атеросклерозу і його тяжких ускладнень – ішемічного атеротромботичного інсульту, інфаркту міокарда, тромбоемболії, [10, 17, 171, 191].

Ішемічний атеротромботичний інсульт (ІАТІ) належить до категорії мультифакторіальних захворювань, в основі формування яких лежить складна взаємодія генетичних факторів і факторів зовнішнього середовища [7, 41, 60, 166]. Аналітичними дослідженнями ВООЗ доведено, що традиційні підходи в профілактиці, діагностиці та лікуванні більшості поширених мультифакторіальних хвороб, у тому числі й церебральних, малоефективні й призводять до істотних економічних витрат [36, 51]. Із розвитком молекулярно-генетичних технологій з'явилися широкі можливості для вивчення генетичної складової цих захворювань.

Ураховуючи провідне значення ферменту метилентетрагідрофолатредуктази у метаболізмі гомоцистеїну, можна припустити, що поліморфізм його гена може бути пов'язаний із розвитком ендотеліальної дисфункції та ішемічного інсульту.

Сьогодні описано понад 600 одонуклеотидних поліморфізмів, деякі з них можуть впливати на активність ферменту MTHFR та викликати

підвищення рівня гомоцистеїну крові [121, 144, 159, 212, 228]. Доведено найбільше практичне значення двох із них – С677Т в екзоні 4 (rs1801133) і А1298С в екзоні 7 (rs1801131) [144, 159, 228]. Описано вплив поліморфних варіантів С677Т та А1298С гена МТНFR на розвиток серцево-судинних захворювань [218, 230], порушень вагітності та дефектів ембріонального розвитку [115, 209], онкологічних хвороб [103, 193] та нейрокогнітивних розладів [97, 196].

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

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертацію виконано відповідно до плану наукових досліджень Сумського державного університету МОН України. Вона є самостійним фрагментом науково-дослідних тем «Зв'язок алельного поліморфізму генів ектопічної кальцифікації з розвитком поширених серцево-судинних хвороб та їх ускладнень» (№ державної реєстрації 0115U000688) та «Значення поліморфізму поодиноких нуклеотидів у розвитку найпоширеніших патологічних процесів і хвороб людини» (№ державної реєстрації 0114U006297).

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

Для досягнення поставленої мети визначено такі завдання:

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

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

Об'єкт дослідження – генетичний поліморфізм гена МТНFR.

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

Методи дослідження:

1. Клінічні методи дослідження, що доводять перенесений ішемічний атеротромботичний інсульт і характеризують антропометричні, функціональні, біохімічні та інші показники життєдіяльності організму.

2. Молекулярно-генетичні методи визначення алельних варіантів гена МТНFR (виділення ДНК із лейкоцитів периферичної крові, полімеразна ланцюгова реакція з подальшим аналізом довжини рестрикційних фрагментів, горизонтальний електрофорез фрагментів ДНК).

3. Методи статистичного аналізу.

Наукова новизна одержаних результатів

Установлено частоти алелів та генотипів за С677Т і А1298С поліморфними варіантами гена МТНFR та досліджено їх асоціацію з ішемічним атеротромботичним інсультом. Доведено, що у гомозигот за

мінорним алелем (Т/Т за С677Т і С/С за А1298С поліморфізмами) ІАТІ розвивається частіше, ніж у носіїв основного алеля.

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

Уперше проаналізовано вплив поліморфних варіантів гена МТНFR на розвиток ІАТІ у пацієнтів із різними факторами ризику. Встановлено, що особи чоловічої статі з генотипом С/Т за С677Т поліморфізмом гена МТНFR у 2,3 рази стійкіші до розвитку ІАТІ, ніж хворі з генотипом С/С. У чоловіків-гомозигот за мінорним алелем (С/С) за А1298С поліморфізмом ризик розвитку ІАТІ в 3,5 рази більший, ніж у носіїв генотипу А/А. Виявлено, що гомозиготи за мінорним алелем (поліморфізм А1298С) з ІМТ ≥ 25 кг/м² у 3,2 рази більш схильні до ІАТІ, ніж гомозиготи за основним алелем. В осіб з нормальним артеріальним тиском – носіїв Т/Т-генотипу та пацієнтів з гіпертензією з генотипом С/С за С677Т поліморфним варіантом гена МТНFR, а також у гетерозигот А/С з гіпертензією (А1298С поліморфізм) ішемічний атеротромботичний інсульт виникає частіше. Ризик розвитку ІАТІ більший у групі осіб з генотипом Т/Т за поліморфізмом С677Т, які не палять.

Уперше встановлено вплив С677Т та А1298С поліморфних варіантів гена МТНFR на характеристики ішемічного атеротромботичного інсульту. Показано, що у гомозигот за основним алелем С/С (поліморфізм С677Т) з нормальною масою тіла частіше ураження зазнають вертебральні та базиллярна артерії. В осіб з генотипом С/С за поліморфним варіантом С677Т з нормальним артеріальним тиском розвивається легкий ступінь тяжкості перебігу хвороби. Гомозиготи С/С за А1298С поліморфізмом чоловічої статі більш схильні до повторних інсультів.

Практичне значення одержаних результатів

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

Дані про асоціацію C677T й A1298C поліморфізмів гена MTHFR з розвитком ІАТІ можуть бути використані для прогнозування ймовірності розвитку захворювання у пацієнтів з факторами ризику атеросклерозу. Виявлення осіб, генетично схильних до ІАТІ, дасть можливість проводити ранню профілактику ішемії мозку, що зменшить соціально-економічні витрати держави.

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

Особистий внесок здобувача

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

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертації представлені та обговорені на V Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених (Вінниця, 15–

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

Публікації

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

Обсяг і структура дисертації

Дисертацію викладено на 166 сторінках (основний обсяг становить 136 сторінок). Вона має такі розділи: вступ, огляд літератури, матеріали і методи дослідження, результати власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки, додатки. Список літератури містить 247 джерел (87 – кирилицею, 160 – латиницею). Роботу ілюстровано 42 таблицями, 10 рисунками і 39 додатками.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сучасні уявлення про патогенез ішемічного інсульту

Церебральний інсульт – гостре порушення мозкового кровообігу, що призводить до ушкодження тканин мозку і розладів його функцій. За етіопатогенетичними та клінічними відмінностями розрізняють такі види інсультів: ішемічний (або інфаркт мозку) та геморагічний (крововилив), що буває двох типів: внутрішньомозковий та субарахноїдальний нетравматичний [37, 39, 74].

Експерти Національного інституту неврологічних порушень та інсульту США запропонували класифікацію гострих ішемічних порушень мозкового кровообігу, в якій за механізмом їх патогенезу виділяють такі підтипи: атеротромботичний, кардіоеMBOLІчний, лакунарний, гемодинамічний, гемореологічний [213]. Доволі часто (32 % випадків) причини, механізми розвитку і підтип інсульту не вдається точно з'ясувати [124].

Ішемічний атеротромботичний інсульт становить 30–60 % випадків церебральної ішемії і виникає внаслідок атеросклерозу великих артерій, що призводить до їх стенозу та оклюзії [17, 38, 117, 118, 207]. Формування більшої частини інфаркту відбувається вже через 3–6 годин від моменту появи перших симптомів інсульту, а подальше «доформування» осередку ушкодження триває впродовж 48–72 годин і більше, що залежить від термінів відновлення системної гемодинаміки, ступеня супутнього набряку мозку та інших патогенетичних факторів [57, 58].

Серед умов, що сприяють розвитку інфаркту головного мозку (ІГМ), правомірно виділяти локальні та системні чинники. Найбільш частими локальними чинниками є атеросклеротичні ураження магістральних артерій голови і артерій мозку – стенози (оклюзії), а також у поєднанні з ними локальне тромбоутворення; різні ураження серця як джерела кардіоеMBOLІчних інфарктів

мозку; дегенеративно-дистрофічні зміни шийного відділу хребта, що спричиняють екстракраніальну компресію хребцевих артерій. До відносно рідкісних локальних факторів належать краніовертебральні аномалії, фібро-м'язові дисплазії, патологічна звивистість магістральних артерій голови, дилатаційна артеріопатія, артеріїти. До системних факторів відносять порушення центральної та церебральної гемодинаміки, коагулопатії, еритроцитоз та поліцитемію, пригнічення газотранспортних властивостей крові. Локальні та системні фактори перебувають у взаємозв'язку і взаємозалежності, часто не доступні для розпізнавання та оцінювання [16, 74].

Усі випадки атеротромбозу можна поділити на два види: ураження макросудин з утворенням територіальних інфарктів (70 %) та ураження мікросудин із формуванням дрібних інфарктів (30 %). Частіше за все при гемісферних ІГМ уражається басейн середньої (50–75 % випадків), рідше – передньої і задньої мозкових артерій (20 та 10 % відповідно). Стенози інтракраніальних артерій є причиною 5–10 % ІГМ, причому переважає ураження каротидного сифона, проксимальних ділянок середньої мозкової та основної артерій [17, 18, 19]. Відомо, що кожен хвилину через сонні артерії протікає 600–800 мл крові, а через хребцеві – близько 200 мл, тому частота ІГМ у передній циркуляції (каротидному басейні) в 3–4 рази вища, ніж у задній (вертебробазиллярному басейні) [66, 83].

Уявлення про патогенез інфаркту мозку розширила концепція ішемічної напівтіні [15, 17, 18, 19]. Існують морфологічні особливості формування зони інфаркту та пенумбри: «ядро» інфаркту складається з некротизованих нейронів, а у зоні ішемічної напівтіні загибель клітин відбувається за механізмом апоптозу [17, 18, 40, 47, 59]. У процесі гострої церебральної ішемії ділянка мозку з найбільш вираженим зниженням мозкового кровотоку (менше ніж 10 мл на 100 г мозкової тканини за 1 хвилину) зазнає необоротного ушкодження за рахунок некрозу дуже швидко (впродовж 6–8 хвилин) [17, 18, 19, 29, 40, 59]. Це так зване ядро мозкового інфаркту. Впродовж декількох годин ця центральна зона (ядро) оточена ішемізованою, але живою тканиною (з рівнем кровотоку 20

мл на 100 г мозкової тканини за 1 хвилину) – так звана зона ішемічної напівтіні, або пенумбри [17, 18, 19, 29, 40, 59]. У зоні пенумбри реакції глутаматкальцієвого каскаду індукують та підтримують інші віддалені наслідки ішемії: реакцію геному з включенням проапоптозних молекулярних програм, зміни астроцитарного та мікрогліального клітинних пулів із подальшими імунними реакціями, локальне запалення в осередку ішемії, порушення мікроциркуляції та ГЕБ, що сприяє «доформуванню» інфарктних змін [15, 17, 18, 19, 29].

Формування стійкого структурно-морфологічного дефекту при інфаркті мозку може тривати 3–6 годин після виникнення перших симптомів інсульту, створюючи так зване терапевтичне вікно, впродовж якого можна відновити кровопостачання ішемізованої ділянки мозку, призупинити процес її формування, а відтак і мінімізувати неврологічний дефіцит [21, 22, 25, 26]. Якщо цього не досягають, то продовжується «доформування» осередку інфаркту впродовж наступних 24–48 годин залежно від ступеня зниження мозкового кровотоку. Таким чином, формування ділянки інфаркту – це динамічний процес циркуляторно-метаболічних порушень, який триває декілька годин і завершується через 1–2 доби, а можливо пізніше після виникнення перших симптомів гострого порушення мозкового кровообігу. Визначальними щодо остаточного розміру зони інфаркту є ступінь і тривалість фокальної гіперперфузії тканини мозку, що змінюється з часом [21, 22, 35].

Провідними патогенетичними механізмами гострої ішемії головного мозку є такі процеси: виснаження клітинних енергетичних ресурсів, надмірне накопичення збуджувальних амінокислот і пов'язана з цим ексайтотоксичність, утворення активних форм кисню з розвитком оксидантного стресу, функціональні зміни гематоенцефалічного бар'єра (ГЕБ) та його складової – ендотелію церебральних судин, реакція стрес-реалізуючої імунонейроендокринної системи на ушкодження головного мозку [26, 40, 59].

Виснаження клітинних енергетичних ресурсів розвивається внаслідок раптового зменшення перфузії головного мозку. Це сприяє зниженню

активності мітохондріального дихального ланцюга та синтезу АТФ [80, 165]. Розвиток енергетичного дефіциту і лактатацидозу в умовах зростаючої до критичних значень ішемії мозкової тканини запускає патологічні реакції, що проходять у всіх основних клітинних пулах центральної нервової системи.

Під час розвитку гострої церебральної ішемії спостерігається певна послідовність реалізації метаболічних порушень. Первинна реакція виникає у разі зменшення мозкового кровотоку нижче 55 мл/100 г за 1 хв і проявляється гальмуванням синтезу білка. Зменшення мозкового кровотоку нижче 35 мл/100 г за 1 хв стимулює анаеробний гліколіз [17, 29]. У випадку, якщо мозковий кровотік становить менше 20 мл/100 г за 1 хв (верхній ішемічний поріг або поріг утрати електричної функції нейронів), на фоні максимального підвищення фракції витягання кисню з артеріальної крові до 45–50 % порушується церебральний метаболізм: швидкість церебрального метаболізму кисню знижується до 2,0–2,5 мл/100 г за 1 хв, а швидкість церебрального метаболізму глюкози – до 2 мл/100 г за 1 хв. На короткий термін (перші 1–6 год) це допомагає підтримувати метаболічний рівень кисню, глюкози, запобігаючи розвитку інфаркту мозку [40, 59, 197].

Поступово знижується споживання кисню. Недостатнє надходження кисню зумовлює перехід на анаеробний гліколіз для підтримання можливості синтезу АТФ за рахунок молочної кислоти і накопичення вуглекислого газу, що призводить до розвитку метаболічного ацидозу. Останній є основною причиною виникнення цитотоксичного набряку головного мозку, який розвивається у внутрішньоклітинному секторі через декілька годин після формування ішемії [40, 59, 118]. На 2–7-му добу після розвитку ішемічного інсульту в позаклітинному секторі виникає вазогенний набряк головного мозку. Внаслідок зниження перфузійного тиску з опасистих клітин вивільняється гістамін, порушується проникність гематоенцефалічного бар'єра, що обумовлює трансудацію рідини та білків крові в інтерстиціальну тканину [197]. Набряк головного мозку ще більшою мірою порушує кисневу дифузію, клітинний обмін та мікрогемодинаміку, розвивається «зачароване коло» з

дедалі сильнішим пошкодженням і розширенням ішемічного вогнища. В цей час відбувається порушення авторегуляції мозкового кровотоку, посилюються агрегація тромбоцитів, внутрішньосудинний стаз, венозний застій і венозна гіперволеція, що поглиблює ступінь ішемії та робить її незворотною [40, 59, 204].

Ще однією з основних ланок ураження тканини мозку при ішемії є надмірне накопичення збуджувальних амінокислот. Депресія енергетичної продукції у клітині призводить до порушення функції Na^+/K^+ -АТФазної ферментної системи з подальшим розладом трансмембранних іонних градієнтів [40, 59, 168]. У результаті цього запускається каскад ушкоджувальних глутаматкальцієвих реакцій, які відіграють ключову роль у формуванні вогнища некрозу в мозковій тканині під час ішемії [40, 59, 92].

Порушення активного іонного транспорту призводить до пасивного відтоку K^+ із клітин та припливу Ca^{2+} до клітин, у результаті чого відбуваються деполяризація клітинних мембран та подальший приплив Ca^{2+} до клітин через потенціалзалежні кальцієві канали [40, 59, 168]. Накопичення H^+ у клітині та ацидоз також призводять до значного вивільнення Ca^{2+} з органел. Збільшення концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} в пресинаптичних нейронах зумовлює неспецифічне, нефізіологічне вивільнення збуджувальних амінокислот – глутамату та аспартату – в міжклітинний простір, одночасно з цим відбувається порушення зворотного захоплення глутамату [26, 40, 59]. Вивільнені у великій кількості глутамат та аспартат, викликають перезбудження постсинаптичних рецепторів, що одержало назву ексайтотоксичності [40, 59, 78].

Здебільшого відбувається активація рецепторів до N-метил-D-аспартату (NMDA-рецептори), яким належить важлива роль у регуляції нейрональної збудливості та синаптичної пластичності [40, 59, 168]. NMDA-рецептори становлять гетерогенну популяцію, що включає іонотропні глутаматні рецептори та метаболотропні рецептори, зв'язані з G-білком. Іонотропні рецептори є провідною ланкою у здійсненні збуджувальної передачі в ЦНС, яка

бере участь у запуску патобіохімічного каскаду під час гострої фокальної церебральної ішемії [40, 59, 112, 120].

У фізіологічних умовах NMDA-рецептори активуються мілімолярними концентраціями глутамату, наявного у синаптичній щілині упродовж декількох мілісекунд. За умов патологічної імпульсації рецептори активуються мікромолярними концентраціями глутамату, але протягом значно більшого проміжку часу [40, 59, 165]. Перезбудження саме NMDA-рецепторів глутаматом призводить до «шокового» відкриття кальцієвих каналів та масивного припливу Ca^{2+} до нейронів зі значним збільшенням його вмісту в клітинах. Активація AMPA-рецепторів спричиняє зміну проникності постсинаптичної мембрани для K^+ та Na^+ , підсилення входу Na^+ у клітину та короткочасну деполяризацію постсинаптичної мембрани, що викликає додаткове збільшення припливу Ca^{2+} до клітини через агоністзалежні (NMDA) та потенціалзалежні канали [26, 40, 59].

Сучасні вчені вважають, що надходження іонів Ca^{2+} усередину клітини через канали NMDA-рецепторів є ключовою подією в здійсненні токсичних впливів глутамату. Приплив Na^+ супроводжується входом у клітини води та Cl^- , що призводить до набухання апікальних дендритів та лізису нейронів [40, 59, 141]. Під час зростання ішемії головного мозку ступінь вираженості деструктивних змін нейронів відповідає рівню глутамату. «Кальцієве перевантаження» нейронів та активація кальційзалежних процесів (підвищення активності протеаз, кіназ, ендонуклеаз, ліпооксигеназ, фосфоліпази A_2 та інших ферментів) призводять до значних змін у метаболізмі та генетичному апараті клітини, а також до неконтрольованої дії вільних радикалів, наслідком чого є необоротна клітинна загибель [40, 59].

Крім того, модифіковані ліпіди клітинних мембран мають властивість індукувати апоптоз. Це здійснюється за рахунок зміни концентрації цитозольного кальцію, що опосередковує дію активних форм кисню на системи внутрішньоклітинних месенджерів, а також за рахунок прямого впливу на експресію проапоптозних генів, зокрема *bax*, *bcl-xS*, *c-fos*, *c-jun*, *p53* [40, 59, 86,

163]. Крім того, продукти ПОЛ викликають активацію стрес-реалізуючої імунонейроендокринної системи [26, 40, 59].

Процес ураження мозку поглиблюється за рахунок утворення активних форм кисню з розвитком оксидантного стресу. Підвищення рівня іонів Ca^{2+} у цитоплазмі клітин викликає неспецифічну активацію фосфоліпази A_2 та інших фосфоліпаз, що підсилюють ушкодження структурних фосфоліпідів мембран. Деструкція мембран нейронів за умов активації клітинних ферментів призводить до активації процесів вільнорадикального окиснення та перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [18, 19, 112]. Особливо руйнівний розпад фосфоліпідів відбувається в зовнішній клітинній мембрані та мембранах внутрішньоклітинних органел. При цьому масивно вивільняється арахідонова кислота, метаболізм якої пов'язаний з утворенням простагландинів, тромбоксанів, гідрокси- та гідропероксижирних кислот, лейкотрієнів, ліпоперекисів і реактивних вільних радикалів, що значно інтенсифікує процеси вільнорадикального окиснення і перекисного окиснення ліпідів. Різде посилення окиснювальних процесів призводить до розвитку оксидантного стресу, що є одним з універсальних механізмів пошкодження тканин організму, особлива небезпека розвитку якого в ЦНС визначається значною інтенсивністю окиснювального метаболізму мозку [17, 40, 47, 59, 165]. Позаклітинне вивільнення прозапальних цитокінів, медіаторів запалення, високоактивних вільних радикалів і гострофазових астроцитарних білків негативно впливає на міжклітинні структури, навколишні клітинні мембрани і, що важливо, на судинну стінку. Це призводить до пошкодження базальної судинної мембрани, щільних міжендотеліальних контактів, самої ендотеліальної вистилки церебральних судин та, як наслідок, розвитку функціональних порушень гематоенцефалічного бар'єра [40, 52, 59, 77].

Згідно із сучасними уявленнями про патогенез ішемічного інсульту велику роль у його розвитку відіграє гематоенцефалічний бар'єр, що обумовлено експресією ендотеліальних клітин, антигенів основного комплексу гістосумісності та молекул клітинної адгезії, а також здатністю гліозного

ендотелію продукувати Ca^{2+} -незалежну ізоформу ферменту синтетази – оксид азоту, що в цілому посилює ефекти прозапальних цитокінів, сприяючи надалі розвитку некробіозу [40, 59, 108]. Гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) об'єднує сукупність фізіологічних механізмів і відповідних анатомічних утворень центральної нервової системи, вибірково регулює обмін речовин між кров'ю, цереброспінальною рідиною і центральною нервовою системою та забезпечує сталість внутрішнього середовища клітин головного і спинного мозку [13, 75]. Він, будучи напівпроникною мембраною, виконує захисну функцію, захищаючи нервову систему від надходження з крові чужорідних речовин, і регуляторну функцію, забезпечуючи перехід в мозкову речовину і спинномозкову рідину субстратів, які беруть участь у біохімічних процесах, що проходять у нервовій тканині. Зміни проникності ГЕБ відбиваються на організмі в цілому [49]. Основним елементом структури ГЕБ є ендотеліальні клітини. Особливістю церебральних судин є наявність щільних контактів між ендотеліальними клітинами. До структури ГЕБ також входять перицити і астроцити [244]. Міжклітинні проміжки між ендотеліальними клітинами, перицитами та астроцитами нейроглії ГЕБ менші, ніж проміжки між клітинами в інших тканинах організму. Ці три види клітин є структурною основою ГЕБ [199]. Прорив гематоенцефалічного бар'єра при захворюваннях нервової системи обумовлюється механізмами, в основі яких лежать функціональне порушення цілісності міжендотеліальних контактів, розлад бар'єрних функцій мембран ендотеліоцитів і гліальних клітин, а також руйнування окремих клітинних елементів, що формують цей бар'єр, на тій чи іншій ділянці [13]. З вищенаведеного випливає, що провідна роль у розладі функціонування ГЕБ належить ендотеліальній дисфункції.

Ендотелій – одинарний шар тонких клітин, що має досить високу метаболічну та секреторну активність. Стратегічне розміщення ендотелію дозволяє йому відчувати зміни гемодинаміки, а розміщеним на його поверхні специфічним рецепторам сприймати сигнали від циркулюючих у крові медіаторів та нейрогормонів (ацетилхолін, брадикінін та ін.). У відповідь на ці

стимули ендотелій виробляє вазоактивні речовини, що регулюють судинний тонус, процеси проліферації, запалення, коагуляції, фібринолізу та окиснення. До них належать оксид азоту, простаноїди, ендотеліальний фактор гіперполяризації, ендотеліні, інтерлейкін-1, ендотеліальний фактор росту та ін. [12, 241]. Ендотеліальна дисфункція (активація ендотелію) являє собою неадекватну реакцію та/або утворення в ендотелії різних біологічно активних речовин, які сприяють розвитку вазоспазму, запаленню, тромбозу, а також структурній перебудові судинної стінки [134, 140, 151]. Основну роль у формуванні ЕД відіграють оксидантний стрес та недостатність оксиду азоту [45, 70]. Окрім цих факторів, ендотеліальна дисфункцію викликають гіперхолестеринемія, гіперліпідемія, гіпергомоцистеїнемія, артеріальна гіпертензія, гіперглікемія, надмірна вага, паління, малорухливий спосіб життя та ін. [5, 11, 76, 174]. Відповідно основними причинами ураження ендотелію є фактори ризику атеросклерозу, що реалізують свою руйнівну дію через посилення процесів оксидантного стресу. Згідно із сучасними уявленнями, активація ендотелію проявляється порушенням балансу між основними функціями ендотелію – вазодилатацією і вазоконстрикцією, інгібуванням та ініціюванням проліферації, антитромботичною й протромботичною, антиоксидантною та прооксидантною. Ендотеліальна дисфункція є фактором, який сприяє розвитку та прогресуванню атеросклерозу [135]. Доведено, що функція ендотелію порушується раніше, ніж з'являються клінічні та морфологічні зміни атеросклерозу. На сьогодні ендотеліальна дисфункція вважається предиктором високого ризику серцево-судинних захворювань [1, 22, 45, 68, 71, 72, 85].

У монографії Малахова В. О. проаналізовано функціональний стан імунонейроендокринної системи [40, 59]. Авторами було доведено, що однією з провідних функцій імунонейроендокринної системи є забезпечення узгодженої дії її регуляторних ланок у реакціях на стрес, яким безумовно є церебральна ішемія. Базою стрес-реакції є активація комплексу систем, що реалізують її та систем, які лімітують стресорну реакцію. Під час гострої фокальної ішемії

мозку стрес-реалізуюча система чутливо реагує на зміни гомеостазу та проводить регуляцію цих порушень через власні відвідні осі безпосередньо зміною активності гіпоталамо-гіпофізарно-наднирковозалозної та симпатoadреналової систем. Проте первинно адаптаційна стресорна реакція невдовзі залучається до участі у механізмах патологічного процесу. Надмірні гормональні зміни зумовлюють комплекс циркуляторних та метаболічних порушень, які завершують цикл гострої судинної мозкової недостатності, в результаті чого відбувається зрив авторегуляції головного мозку.

Таким чином, основними етапами патогенезу ішемічного інсульту є зниження мозкового кровотоку, яке призводить до виснаження клітинних енергетичних ресурсів, наслідками чого є глутаматна ексайтотоксичність та розвиток оксидантного стресу, що зумовлюють експресію проапоптозних генів, впливаючи на функціональні зміни гематоенцефалічного бар'єра, розвиток ендотеліальної дисфункції, спричиняючи реакцію стрес-реалізуючої імунонейроендокринної системи на ушкодження головного мозку [26].

1.2. Роль поліморфізмів гена MTHFR у розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту

У патогенезі ішемічного інсульту дисфункція ендотелію є однією з ранніх ознак [12, 28, 56, 240]. Фактори ризику серцево-судинних захворювань рано чи пізно порушують баланс ендотеліальних судинних агентів, що в подальшому реалізується в ініціюванні та прогресуванні патологічних змін судин, зокрема церебральних [5, 11, 12, 18, 19]. Дисфункція ендотелію може бути самостійною причиною порушення кровообігу, оскільки провокує ангіоспазм чи тромбоз судин, а, з іншого боку, порушення регіонарного кровообігу (ішемія, венозний застій) можуть призводити до ендотеліальної дисфункції [12, 65, 84, 134, 135, 151].

Ендотеліальна дисфункція – це дисбаланс між продукцією вазодилатувальних, антипроліферативних, ангіопротекторних факторів (оксид азоту, простациклін, тканинний активатор плазміногена та ін.) і вазоконстрикторних, протромботичних, проліферативних, прозапальних субстанцій (ендотелін, тромбоксан А₂, супероксиданіон, інгібітор тканинного активатора плазміногена, цитокіни та ін.) [12, 68, 134, 137, 151].

До основних причин дисфункції ендотелію відносять гемодинамічні фактори (пристінкове напруження зсуву), дисліпідемію (гіперхолестеринемія), гіпергомоцистеїнемію, асиметричний диметиларгінін, гіперглікемію, вільнорадикальне пошкодження ендотелію, екзогенні та ендогенні інтоксикації, вікові зміни [44, 54, 82].

Одним з основних факторів ушкодження ендотелію є гіпергомоцистеїнемія [36, 48]. Вперше про гоцистеїн (ГЦ) та наслідки його підвищення заговорили в 1969 р., коли McCully [178], спостерігаючи дітей із високим (понад 100 мкмоль/л) рівнем гоцистеїну крові, зазначав, що у них зарано виникають тяжкі форми ураження артерій. Також McCully висунув теорію про існування патогенетичного зв'язку між гоцистеїнемією й атеросклерозом [179]. У 1976 р. Wilcken D. & Wilcken B. оприлюднили перші дослідження, які показали, що рівень гоцистеїну був значно вищий у

пацієнтів з ішемічною хворобою серця (ІХС) порівняно з контрольною групою [243].

Сьогодні доведено, що підвищення рівня гомоцистеїну в плазмі є незалежним фактором ризику виникнення та розвитку атеросклерозу [63, 178, 179, 242]. Метааналіз 27 досліджень, в яких було задіяно понад 4 000 пацієнтів із кардіоваскулярною патологією, підтвердив значення амінокислоти гомоцистеїну як незалежного фактора ризику розвитку патології коронарних, церебральних та периферичних судин. Доведено, що підвищення рівня загального гомоцистеїну на кожні 5 мкмоль/л супроводжується зростанням ризику розвитку коронарних захворювань на 60 % у чоловіків та 80 % – у жінок [173]. Physicians Health Study показало, що стандартизований показник відносного ризику подальшого розвитку ішемії міокарда у хворих із рівнем гомоцистеїнемії вище 15,8 мкмоль/л становить 3,4 порівняно з тими хворими, у яких рівень гомоцистеїну перебуває в межах нормальних значень [177]. Доведено, що гіпергомоцистеїнемія у 2,2 раза підвищує ризик цереброваскулярної патології [31, 139, 227]. За приблизним оцінюванням зниження рівня ГЦ до 10 мкмоль/л дало б змогу попередити або відстрочити розвиток цереброваскулярної патології у 15–40 % [31, 48]. Підвищення рівня гомоцистеїну в крові має виражений атерогенний і тромбофілітичний ефекти [4, 20, 109, 110, 111, 133, 157, 161, 205]. Епідеміологічні дослідження підтвердили, що гіпергомоцистеїнемія являє собою незалежний фактор ризику розвитку інфаркту міокарда, інсульту, тромбоемболії, атеросклерозу [10, 17, 171, 160, 191].

ГЦ виявляє виражену токсичну дію на клітину, тому для її захисту існують спеціальні механізми виведення гомоцистеїну з клітини. В організмі метаболізм гомоцистеїну здійснюється трьома шляхами: (1) шлях реметилювання, тобто він перетворюється на метіонін, (2) включення в цикл синтезу цистеїну (і відповідно глутатіону) або (3) у незміненому вигляді він дифундує в позаклітинному середовищі. Третій шлях вважається безпосередньою причиною підвищення загальної концентрації гомоцистеїну

в позаклітинних рідинах (плазма і сеча) [48, 63, 180]. Синтез метіоніну з гомоцистеїну вимагає наявності 5-метилентетрагідрофолату, що є донором метильної групи. Ця активна форма фолієвої кислоти утворюється за наявності ензиму 5,10-метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR) в результаті відновлення 5,10-метилентетрагідрофолату. Гомоцистеїн окиснюється в плазмі крові, внаслідок чого утворюється велика кількість вільних радикалів, які токсичні до клітин ендотелію, активуючи їх [9, 48]. Гомоцистеїн сприяє утворенню дисульфідних похідних білків, накопиченню в мембранах клітин і міжклітинному просторі ліпопротеїдів низької та дуже низької щільності та їх окисненню, а також зменшенню синтезу сірковмісних глікозаміногліканів, що призводить до зниження еластичності судинної стінки. Безпосередньо пошкоджуючи ендотелій, гомоцистеїн пригнічує синтез оксиду азоту, що є цитотоксичним до ендотеліоцитів [67]. Унаслідок цього підвищуються агрегаційна здатність тромбоцитів та їх адгезивні властивості, порушується функція тканинного активатора плазміногена, блокуючи його зв'язування з ендотеліоцитами [127].

Крім того, гомоцистеїн є потужним мутагеном для гладком'язових клітин і специфічно бере участь у формуванні атеросклерозу завдяки посиленій проліферації гладком'язових клітин [154, 162]. Надлишок ГЦ сприяє активації XII і V факторів, а також експресії тканинного фактора, що веде до порушення вивільнення природних інгібіторів згортання й антиагрегантів – протеїну С, інгібітора зовнішнього шляху згортання крові; зниження глікозаміногліканзалежної активації антитромбіну III; пригнічуення активності тромбомодуліну [61, 156]. Паралельно спостерігається підвищена агрегація тромбоцитів унаслідок зниження синтезу ендотелієм релаксувального фактора та NO, а також посиленого вивільнення пошкодженими ендотеліоцитами фактора Віллебрандта [61, 155, 162]. Зниження синтезу ендотеліального оксиду азоту обумовлене зменшенням експресії синтази азоту за рахунок дії продуктів перекисного окиснення ліпідів, ініційованого гомоцистеїном. Окреслені атерогенні й

тромбофілітичні ефекти в сукупності визначають хронічну ендотеліальну дисфункцію при гіпергомоцистеїнемії [55, 61, 63, 81, 134, 161].

Гомоцистеїн сам по собі є посередником у метіоніновому циклі, метою якого є генерація метильної групи, необхідної в багатьох реакціях організму, пов'язаних із метилуванням [113]. Амінокислоти – метіонін, серин, гліцин і гістидин – метаболізуються за допомогою реакцій, залежних від фолієвої кислоти. Загальний гомоцистеїн у плазмі регулюється вмістом фолієвої кислоти [5, 33, 81, 129, 176]. Фолатний цикл – складний каскадний процес, контрольований ферментами, що як коферменти мають похідні фолієвої кислоти. Ця кислота є складною молекулою, що складається з птероїдної кислоти та одного (моноглутамат) або декількох (поліглутамати) залишків глютамінової кислоти. Їжа містить відновлені поліглутамати, які повинні бути гідролізовані за допомогою ферменту птероїлполіглутаматгідролази до моноглутамату, щоб вони могли бути абсорбовані в проксимальному відділі тонкого кишківника. Після всмоктування фолатмоноглутамат відновлюється до тетрагідрофолату (ТНФ) – сполуки, що має біологічну активність. Далі відбувається процес метилування фолатів, після чого вони надходять у кров у вигляді 5-метилтетрагідрофолату (5-CH₃-ТНФ). У середині клітини 5-метилтетрагідрофолат є донором метильних груп й основним джерелом тетрагідрофолату. Останній є акцептором великої кількості моноуглецевих фрагментів, перетворюючись на різні види фолатів (5,10-метилентетрагідрофолат – 5,10-CH₂-ТНФ; 5,10-метенілтетрагідрофолат – 5,10-CH-ТНФ; 10-формілтетрагідрофолат – 10-CHO-ТНФ), які, у свою чергу, є специфічними коферментами цілої ланки внутрішньоклітинних реакцій, зокрема під час синтезу пуринів і піримідинової основи тиміну. Однією з реакцій, що вимагають наявності 5,10-метилентетрагідрофолата та 5-метилтетрагідрофолата, є синтез метіоніну з гомоцистеїну (шлях реметилування в обміні гомоцистеїну). Реметилування гомоцистеїну в метіонін каталізує цитоплазматичний фермент метіонін-синтаза (MTR). Для роботи ферменту необхідний метилкобаламін, похідне вітаміну В12.

Метіонін-синтаза забезпечує перетворення гомоцистеїну в метіонін за допомогою реакції, в якій метилкобаламін відіграє роль проміжного переносника метильної групи. При цьому відбувається окиснення кобаламіну, і фермент MTR переходить у неактивний стан. Відновлення функції ферменту можливе у процесі реакції метилування за участі ферменту метіонін-синтази-редуктази (MTRR). Донором метильної групи є активована форма метіоніну – S-аденозилметіонін, яка використовується також для метилування інших сполук: ДНК, РНК, білків і фосфоліпідів [5, 33, 61, 63, 81].

Вирішальну роль у синтезі метіоніну з гомоцистеїну відіграє фермент 5,10-метилентетрагідрофолатредуктаза (MTHFR), що відновлює 5,10-метилентетрагідрофолат до 5-метилтетрагідрофолату, що несе на собі метильну групу, необхідну для реметилування гомоцистеїну.

Уперше MTHFR була виділена у 1995 році Кутцбахом і Стокстадом. Фермент належить до групи флавопротеїнів і складається з двох однакових субодиниць. Молекулярна маса білка залежить від типу тканини, де він утворюється. У печінці синтезується MTHFR масою 70 кДа, у більшості інших тканин – 77 кДа [73]. N-термінальний домен молекули ферменту є каталітичним, С-термінальний – регуляторним. Активність ферменту пригнічується диметилгідрофолатом і S-аденозинметіоніном. Також відомо, що під час фосфорилування молекули білка його активність зменшується на 20 %.

Амінокислотну послідовність ферменту метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR) кодує ген метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR, NAD(P)H, MTHR_HUMAN, MTHR).

Ген MTHFR ідентифікували у 1993 році. У людини він локалізований на короткому плечі 1-ї пари хромосом (1p36.3). Ген знаходиться на мінус-ланцюзі, має довжину 20335 п. н. і складається з 11 екзонів, розділених 10 інтронами [144, 159, 212]. Екзони мають довжину від 102 до 432 п. н., 9 інтронів – від 250 до 1500 п. н. і 1 інтрон – 4200 п. н. Промотор гена MTHFR

містить характерні для більшості генів СААТ і GC-бокси, а також регуляторні елементи – SN1, AP1, AP2. Особливістю промоторної ділянки гену MTHFR є відсутність ТАТА-боксу, наявного у більшості еукаріотичних генів. Цікаво, що ТАТА-бокс відсутній і в інших генах, що кодують ферменти гомоцистеїнового метаболізму. Транскрипція може починатися з різних ділянок гена, що призводить до утворення різних ізоформ білку – 70 кДа (печінкова ізоформа) і 77 кДа (характерна для більшості інших тканин).

У миші цей ген розміщений у 4-й хромосомі. Послідовність амінокислот у миші приблизно на 90 % ідентична такій послідовності у людини. Розміри екзонів, розміщення меж та розмірів інтронів також дуже подібна у двох видів. Такі відомості корисні під час проектування конструкцій для таргетингу генів на моделях мишачих поколінь при дефіциті MTHFR [144, 159, 212].

Існує ряд алельних варіантів цього гена (понад 600 SNP) [121], що спричиняють тяжку недостатність ферменту, але більшість із цих варіантів рідкісні. Практичне значення мають два поліморфізми: С677Т в екзоні 4 і А1298С в екзоні 7 [144, 159, 212, 228].

Одним із клінічно значущих поліморфізмів гена MTHFR є варіант, при якому відбувається заміна амінокислотного залишку аланіну на залишок валіну в сайті зв'язування фолату (поліморфізм С677Т (Ala222Val) гена MTHFR, rs1801133). У результаті мутації утворюється варіант ферменту з порогом термолабільності 55 °С, що має вдвічі знижену активність. У гомозигот за Т-алелем активність ферменту *in vitro* знижена на 70 %, а у гетерозигот – на 35 %. У разі зниження активності MTHFR порушуються доставка і метаболізм фолієвої кислоти, що призводить до накопичення гомоцистеїну в плазмі крові та розвитку гіпергомоцистеїнемії [61, 69, 87, 164, 170, 233, 235].

Іншим варіантом, розміщеним в екзоні 7, є заміна нуклеотиду аденіну на цитозин у позиції 1298, що призводить до заміни глютамінової кислоти на

аланін у білку (поліморфізм A1298C (Glu429Ala) гена MTHFR, rs1801131). Ця заміна призводить до зниження активності ферменту, більш вираженого у носіїв двох алелей 1298C (генотип C/C). Виявлено, що у носіїв генотипу CC1298 активність ферменту становить близько 50 % порівнянно з носіями генотипу AA1298. Припускають, що це пов'язано з його інгібітором S-аденозилметіоніном. Результати деяких досліджень демонструють, що лише A1298C поліморфізм не може істотно впливати на рівень гомоцистеїну в плазмі, якщо не поєднується з C677T варіантом [99, 119, 194]. Проте інші дослідники виявили, що такий зв'язок існує [89, 104, 105, 219, 237].

Аналізуючи дослідження, спрямовані на вивчення зв'язку поліморфізмів C677T та A1298C гена MTHFR з різними мультифакторіальними захворюваннями, виявлено, що дані SNP мають найбільшу асоціацію із серцево-судинними захворюваннями [101, 102, 119, 130, 187, 194, 233], патологією вагітності та дефектами ембріонального розвитку [167, 201, 209, 224, 229], онкологічними захворюваннями [6, 62, 79, 116, 132, 147, 180, 181, 193, 198, 221], нейрокогнітивними захворюваннями [97, 122, 196, 200].

Під час дослідження зв'язку між мутаціями C677T та A1298C і серцево-судинними захворюваннями виявлено, що гомозиготні мутації 677T та 1298C зустрічаються набагато частіше у пацієнтів із кардіоваскулярними захворюваннями, ніж у здорових донорів [119, 148, 194].

Так, Kang S. S. et al. [233] були першими, хто припустив, що гомозиготний генотип (T/T) MTHFR C677T-варіанта може бути фактором ризику для серцево-судинних захворювань [146, 169, 231, 235]. Дослідження Kluijtmans L.A. та колег доводить, що мутації в гені MTHFR призводять до підвищення рівня гомоцистеїну та можуть бути генетичним фактором ризику передчасних серцево-судинних захворювань [192, 232]. Gardemann H. et al., вивчаючи MTHFR C677T, підтвердили залежність наявності генотипу TT із високим ризиком розвитку коронарного атеросклерозу, ішемічної хвороби серця та інфаркту міокарда. [230]. Дослідження молодих чоловіків Ізраїлю

продемонструвало більш високу поширеність гомозиготного МТНFR 677Т у хворих із гострим інфарктом міокарда [218]. Висновки, одержані Mager A., засвідчують, що гомозиготна за С677Т мутація МТНFR поширена і пов'язана з підвищеним ризиком передчасних ССЗ в ізраїльській групі населення [189]. Досліджуючи популяцію жінок у постменопаузі, Roest M. et al. виявили, що МТНFR 677 С/Т-поліморфізм пов'язаний із незначним зниженням ризику інсульту, в той час як не було ніякого зв'язку між МТНFR 677 С/Т-поліморфізмом і тромбозом глибоких вен [185].

Результати дослідження Kawamoto R. підтверджують асоціацію між С677Т поліморфізмом гена МТНFR та атеросклерозом сонних артерій в японського населення [95]. Виявлено значну асоціацію між рівнем гомоцистеїну і серцево-судинним ризиком у всіх генотипів С677Т МТНFR (Meleady R. et al.) [234]. У працях Strain J. et al. зазначено, що особи з МТНFR 677ТТ генотипом генетично схильні до підвищеного гомоцистеїну плазми, а в більшості популяцій мають значно вищий ризик серцево-судинних захворювань [114]. Вивчення впливу поліморфізмів гена МТНFR на рівень гомоцистеїну індійців виявило більший вплив А1298С поліморфізму порівнянно з С677Т [158]. Про величезний потенціал прогностичного значення С677Т МТНFR-гена у пацієнтів з ішемічною хворобою серця свідчить дослідження Aleyasin A. et al. представників іранської популяції [184]. Lakhdar Ghazouani et al., вивчаючи пацієнтів Тунісу з коронарною хворобою, підтвердили зв'язок С677Т поліморфізму з цією патологією. Для А1298С поліморфізму такої асоціації виявлено не було [153]. Наявність такої асоціації між С677Т МТНFR та коронарною хворобою було підтверджено у праці бразильських учених [149]. Праця Alghashama A. засвідчила, що С677Т поліморфізм гена МТНFR пов'язаний із ризиком гіпертонії, особливо при супроводі ожиріння та діабету серед населення Саудівської Аравії [102]. Проведений у 2014 році метааналіз, що вмещував 30 досліджень (5207 пацієнтів із гіпертонічною хворобою та 5383 представники групи контролю) для С677Т поліморфізму та 6 досліджень (1009 хворих та 994 практично

здорових) для A1298C поліморфізму, підтверджує вищезазначені висновки про те, що C677T поліморфізм асоційований із підвищеним ризиком гіпертензії, але для A1298C такого зв'язку виявлено не було [99].

Дані, отримані Naviv et al., довели зв'язок обидвох SNP гена MTHFR із серцево-судинними захворюваннями у пацієнтів на гемодіалізі [226]. Те, що A1298C поліморфізм пов'язаний із тяжкістю атеросклерозу сонних артерій у хворих із термінальною стадією ниркової недостатності, а поєднання A1298C та C677T однонуклеотидних поліморфізмів гена MTHFR значно підвищує ризик захворювання, підтвердили дослідження Aruna Poduri et al. [194].

Вивчення індійської популяції показало, що MTHFR C677T поліморфізм і рівень гомоцистеїну були пов'язані з ішемічною хворобою серця [101]. Таких самих висновків дійшли й китайські дослідники [130, 187].

Isordia-Salas et al. у своїх працях доводить, що T-алель поліморфізму C677T гена MTHFR являє собою незалежний фактор ризику для ішемічного інсульту осіб молодого віку мексикансько-метиського населення [223]. Дослідження випадків мозкових катастроф у представників Туреччини та їх зв'язок з C677T та A1298C поліморфізмами гена MTHFR, дало можливість стверджувати про те, що ці поліморфізми є самостійними факторами ризику для ішемічного та геморагічного інсультів, незалежно від інших атеротромботичних факторів [188]. Про синергічний ефект MTHFR мутацій з рівнем гомоцистеїну та ризиком розвитку ішемічного інсульту також свідчить праця Almawī W.Y. et al. [119].

У той самий час когорта науковців не виявила асоціації між мутаціями C677T, A1298C і серцево-судинними захворюваннями. Brattström L. et al. [126] провели метааналіз, щоб визначити взаємозв'язок між ризиком серцево-судинних захворювань і MTHFR-генотипу. Вони повідомили, що хоча у людей з генотипом TT була в середньому на 25 % вища концентрація гомоцистеїну, ніж у людей із генотипом CC, варіант TT не пов'язаний зі збільшенням ризику серцево-судинних захворювань. Дослідники індонезійської популяції дійшли висновку, що C677T-мутації в гені MTHFR

не являють собою генетичний фактор ризику розвитку ішемічної хвороби серця й дефектів нервової трубки [222]. Гомозиготи мутантного алеля T/T зустрічалися приблизно з однаковою частотою у всіх зразках ДНК у хворих з АГ I–III стадій м. Саратова [53].

Таким чином, результати дослідження зв'язку C677T і A1298C поліморфізмів гена MTHFR з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту є неоднозначним, що спонукало до вивчення цього питання щодо української популяції.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Характеристика клінічного матеріалу

У дослідженні використано кров 170 хворих на ІАТІ (42,4 % жінок і 57,6 % чоловіків) віком від 40 до 85 років (середній вік становив $64,7 \pm 0,73$ роки), які перебували на диспансерному обліку в поліклінічному відділенні Сумської клінічної лікарні № 5, і кров 124 осіб контрольної групи (36,3 % жінок і 63,7 % чоловіків), середній вік – $76,7 \pm 0,93$ роки, у яких відсутність цереброваскулярної патології підтверджували шляхом збирання анамнестичних даних, оцінки неврологічного статусу, зняття електрокардіограми і вимірювання артеріального тиску. Критеріями виключення з дослідження були виражені когнітивні та психічні захворювання, онкологічні захворювання, цукровий діабет, тяжкі захворювання печінки та нирок, виражена серцева недостатність, порушення ритму серця та провідності..

Ішемічний характер інсульту встановлювався за даними анамнезу і клінічної неврологічної картини хвороби, результатами комп'ютерної томографії головного мозку. Патогенетичний варіант інсульту визначали відповідно до критеріїв TOAST (виділяють п'ять основних підтипів ішемічних інсультів: атеротромботичний, кардіоемболічний, лакунарний, інсульт унаслідок рідкісних причин та інсульт невстановленої етіології) [124] на підставі анамнезу і особливостей клінічного перебігу хвороби, даних ультразвукової доплерографії магістральних артерій голови, електрокардіограми.

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 ($P < 0,001$), що збільшувало

надійність контролю, адже знижувалася ймовірність розвитку ІАТІ у пацієнтів контрольної групи в майбутньому.

Дослідження проводилося з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицини, Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етнічні принципи проведення наукових медичних досліджень за участі людини (1964 р. з наступними доповненнями, включаючи версію 2000 р.) і Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. Всі пацієнти підписали інформовану згоду на участь у дослідженнях із подальшим забором венозної крові на генетичний аналіз.

У таблиці 2.1.1 наведено порівняльну клінічну характеристику обох груп пацієнтів. Звідси випливає, що хворі з ІАТІ мали істотно вищі, якщо порівнювати з контрольною групою, показники зросту, маси тіла, систолічного та 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 статі ($P > 0,05$).

Таблиця 2.1.1 – Загальна клінічна характеристика хворих з ІАТІ та осіб контрольної групи

Показник	Група хворих з ІАТІ (n = 170)	Контрольна група (n = 124)	P
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 ²	29,0 ± 0,54	28,7 ± 0,77	0,744
ІМТ (ч), кг/м ²	27,6 ± 0,41	27,0 ± 0,55	0,355
АТ сист, мм рт. ст.	167 ± 2,3	152,6 ± 2,1	< 0,001
АТ діаст, 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 значущість відмінностей; * – за χ^2 -критерієм

У таблиці 2.1.2 наведена порівняльна характеристика пацієнтів з ІАТІ різної статі. Під час порівняння представників жіночої та чоловічої статей, хворих на ІАТІ, не було виявлено статистичної відмінності за віком ($P = 0,084$), масою тіла ($P = 0,865$) та ІМТ ($P = 0,143$). Показники артеріального тиску також не відрізнялися у групах порівняння.

Таблиця 2.1.2 – Загальна клінічна характеристика пацієнтів з ІАТІ

Показники	Жінки ($n = 72$)	Чоловіки ($n = 98$)	P
Вік, повних років	$67,13 \pm 1,20$	$62,89 \pm 0,87$	0,084
Зріст, см	$163,77 \pm 0,66$	$173,64 \pm 0,74$	0,004
Маса тіла, кг	$78,37 \pm 1,50$	$82,80 \pm 1,42$	0,865
ІМТ, $\text{кг}/\text{м}^2$	$29,27 \pm 0,58$	$27,45 \pm 0,42$	0,143
АТ сист, мм рт. ст.	$172,57 \pm 3,57$	$162,86 \pm 2,81$	0,519
АТ діаст, мм рт. ст.	$98,82 \pm 1,78$	$92,81 \pm 1,56$	0,460
АТ пул, мм рт. ст.	$73,75 \pm 2,57$	$70,05 \pm 2,12$	0,517
АТ сер, мм рт. ст.	$123,40 \pm 2,22$	$116,16 \pm 1,81$	0,952

Примітка: n – кількість пацієнтів; P – статистична значущість відмінностей

Наявність традиційних факторів ризику у групі хворих на ІАТІ відображена у таблиці 2.1.3.

Таблиця 2.1.3 – Дані про наявність факторів ризику в осіб жіночої і чоловічої статі, хворих на ІАТІ

Показники	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)
	$\chi^2 = 4,647; P = 0,031$		
Паління	8 (11,1)	42 (42,9)	50 (29,4)
	$\chi^2 = 20,15; P < 0,001$		

Примітка: n – кількість пацієнтів; # – для цього показника: $n = 72$ (жінки); $n = 98$ (чоловіки); $n = 170$ (загалом); у дужках – %

Артеріальна гіпертензія посідала головне місце серед чинників ризику і виявлялася у 75,3 % пацієнтів (81,9 % жінок і 70,4 % чоловіків). Суттєві статеві відмінності в частоті факторів ризику встановлено під час порівняння відповідних показників, що характеризують ожиріння, концентрацію глюкози крові натще та паління. 34,7 % обстежених мали ожиріння. Надмірна вага частіше була виявлена у осіб жіночої статі: 43,1 % проти 28,6 % у чоловіків ($P = 0,05$). 17,6 % хворих на ІАТІ мали цукровий діабет. При чому у жінок це захворювання зустрічалося частіше (25,0 % проти 12,2 %, $P = 0,031$). Натомість серед чоловіків курців було набагато більше (42,9 %), ніж серед жінок (11,1 %).

Характеристику інсульту у пацієнтів жіночої і чоловічої статей залежно від обсягу уражень головного мозку, артеріального басейну, де відбулося тромбоутворення, тяжкості перебігу ІАТІ, повторності інсульту та його неврологічних проявів подано в таблиці 2.1.4.

Ішемічний інсульт за обсягом уражень головного мозку поділяють на такі форми: 1) тотальний інфаркт, зумовлений тромботичним або тромбоемболічним закупоренням великого артеріального русла; неврологічна симптоматика відповідає ураженню основних судинних басейнів; 2) інфаркт у кінцевих гілках великих артерій мозку або в «межових зонах» – ділянках, васкуляризованих дистальними артеріями малого калібру із сусідніх судинних басейнів; причиною виникнення цього варіанта інфаркту здебільшого є зниження перфузійного тиску, тобто гемодинамічний чинник; 3) лакунарний інфаркт у ділянці таламуса, внутрішньої капсули, стовбура мозку або в білій речовині півкуль великого мозку, зумовлений локальними порушеннями кровотоку в ділянці мікроангіопатій у разі артеріальної гіпертензії.

Серед обстежених пацієнтів 62,5 % мали тотальний інсульт, 3,0 % мали інфаркт у кінцевих гілках і 34,5 % – лакунарний варіант інсульту (табл. 2.1.4). Різниця у розподілі осіб різної статі залежно від обсягу уражень виявлено не було ($P = 0,089$).

Таблиця 2.1.4 – Клінічна характеристика ішемічного інсульту в осіб жіночої і чоловічої статей

	Жінки, n (%)	Чоловіки, n (%)	Загалом, n (%)
<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: n – кількість пацієнтів; у дужках – %; P – статистична значущість відмінностей

Клінічна картина ІАТІ багатогранна, що пов'язано з ураженням певних мозкових артерій. Так, ураження (1) передньої, середніх і задньої мозкових артерій характеризуються парезом ноги або геміпарезом із переважним ураженням ноги на протилежному боці, геміплегією, геміанестезією, геміанопсією на протилежному щодо вогнища боці тіла, зорові розлади: гомонімна геміанопсія зі збереженням макулярного зору або квадрантна геміанопсія. Клінічна картина гострого закупорення (2) вертебральних і базилярної артерій характеризується втратою свідомості, окоруховими порушеннями, зумовленими ураженням III, IV, VI пар черепних нервів, розвитком тризму, тетрапарезу або тетраплегії, порушеннями м'язового тону (короткочасна децеребраційна ригідність, горметонічні судоми, що змінюються м'язовою гіпо- і атонією). У той самий час спостерігаються варіанти ІАТІ, коли одночасно відбувається ураження кількох судин із вищенаведених груп (3). Серед представників дослідної групи 77,6 % мали ураження передньої, середніх і задньої мозкових артерій; 14,1 % – ураження у ВББ і 8,3 % хворих мали поєднаний варіант ураження. Різниця у розподілі осіб різної статі залежно від артеріального басейну виявлено не було ($P = 0,068$).

За тяжкістю клінічного перебігу, яку визначали під час госпіталізації, було виділено ІАТІ легкого ступеня – слабовиражена неврологічна симптоматика, яка повністю відновлюється за 3 тижні; середньої тяжкості – без симптомів набряку мозку, порушень свідомості з наявністю осередків неврологічної симптоматики, та важкого ступеня – виражена загальнономозкова симптоматика з пригніченням свідомості, ознаками набряку мозку, значним осередковим дефектом, вегетативними і трофічними порушеннями.

У 32,4 % хворих інсульт мав перебіг легкої форми, у 38,8 % перебіг був середньої тяжкості та у 28,8 % пацієнтів – важкий перебіг хвороби. Достовірно значущих відмінностей під час розподілу осіб різної статі залежно від тяжкості перебігу виявлено не було ($P = 0,579$).

Неврологічний дефіцит виявляється залежно від ураженого артеріального басейну. Клінічно це проявляється сенсорними порушеннями, руховими розладами або, що відбувається найчастіше, у хворих сенсорухові неврологічні прояви. Лише сенсорні порушення спостерігалися у 16,5 % хворих, лише рухові – у 2,4 % хворих, а поєднаний варіант було зафіксовано у 81, 1 % хворих. Різниця у розподілі осіб різної статі залежно від неврологічних проявів виявлено не було ($P = 0,148$).

Цікаві дані отримані щодо повторності інсульту. У 38 % хворих розвивався повторний інсульт. Причому вторинний ІАТІ у чоловіків розвивався значно частіше, ніж у жінок (44,9 % проти 29,2 %, $P = 0,037$).

2.2. Клінічні методи дослідження

Для верифікації діагнозу та оцінювання загального стану осіб основної групи у роботі були використані клініко-діагностичні методи дослідження.

Шляхом опитування та збору анамнестичних даних з'ясовували вік хворих, спадкову схильність, наявність шкідливих звичок та супутніх патологій.

Вимірювали артеріальний тиск за методом Короткова ручним тонометром. Вимірювання проводили на кожній руці 3 рази з інтервалом не менше 1 хвилини, при цьому за кінцевий АТ бралось середнє з двох останніх вимірювань.

Вимірювання концентрації глюкози в плазмі крові проводили натще після щонайменше 8-годинного голодування глюкозооксидазним методом фотометрично.

Для визначення серцевої діяльності проводили електрокардіографію стандартно у 12 відведеннях.

Для одержання інформації про будову судин, товщину судинної стінки, наявність внутрішньосудинних бляшок (атером), їх будову, ступінь звуження або закупорення (оклюзії) судин проводили ультразвукову доплерографію судин ший та голови.

Комп'ютерна томографія головного мозку дозволяла виявити ранні ознаки інсульту, конкретизувати басейн ураження, локалізацію, розмір вогнища, але що найбільш важливо – виключити внутрішньочерепний крововилив і процеси, що проявляються подібним чином (церебральні пухлини і геморагії).

2.3. Молекулярно-генетичні дослідження

Для вивчення поліморфних варіантів гена MTHFR були використані молекулярно-генетичні методи (виділення ДНК із лейкоцитів периферичної крові, полімеразна ланцюгова реакція з подальшим аналізом довжин рестрикційних фрагментів, горизонтальний електрофорез) та статистичні методи. Дослідження проводили на базі наукової лабораторії молекулярно-генетичних досліджень Сумського державного університету (науковий керівник – проф. О. В. Атаман).

Виділення ДНК із лейкоцитів крові

Для генотипування венозну кров набирали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти («Sarstedt», Німеччина), що була антикоагулянтом. Кров заморожували і зберігали при температурі -20°C . Забір крові для досліджень проводився кваліфікованими спеціалістами в клінічних умовах із дотриманням усіх правил медичної асептики та антисептики.

Виділення геномної ДНК проводили з використанням комерційного набору «Diatom DNA Prep 100» (ООО «Лаборатория «Изоген», Росія). Метод базується на застосуванні лізуючого реагенту із гуанідинізоціанатом, призначеним для лізису клітин, солюбілізації клітинного дебрису, а також для денатурації клітинних нуклеаз. За наявності лізуючого реагенту ДНК активно сорбується на *NucleoSTM*-сорбенті, потім легко відмивається від білків та солей спиртовим розчином. Згодом ДНК екстрагують із сорбенту та переносять у стерильні вільні від ДНК та РНК мікропробірки. Отримана ДНК

може безпосередньо використовуватися для проведення полімеразної ланцюгової реакції. Набір дозволяє виділяти із свіжого біологічного матеріалу високомолекулярну ДНК (40–50 тисяч пар нуклеотидів високої чистоти ($OD_{260/280 \text{ нм}}$ 1.6–2.0)). Вихід чистої ДНК із 100 мкл нерозведеної крові становить 3–5 мкг. У процесі виділення ДНК дотримувалися рекомендацій, наведених у комерційному наборі, та проводили маніпуляції згідно з таким протоколом.

Протокол виділення ДНК.

1. У пробірку об'ємом 1,5 мл внести 100 мкл нерозведеної венозної крові та додати 400 мкл лізуючого розчину. Перемішати вміст пробірок обертанням 10 разів.

2. Термостатування суміші 5 хв за температури 65 °С.

3. Центрифугування пробірок упродовж 10 с при 5 000 об/хв та додавання 20 мкл ретельно збовтаної на вортексі суспензії сорбенту *NucleoSTM*.

4. Перемішування проб упродовж 10 хвилин.

5. Центрифугування пробірок упродовж 10 с при 5 000 об/хв та видалення супернатанту за допомогою помпи, не торкаючись осаду сорбенту.

6. Додавання 200 мкл лізуючого розчину, ретельне перемішування на вортексі до гомогенного стану.

7. Додавання 1 мл сольового розчину та перемішування пробірок 10 разів.

8. Центрифугування пробірок упродовж 10 с при 5 000 об/хв та видалення супернатанту за допомогою помпи, не торкаючись осаду сорбенту із ДНК.

9. Додавання 1 мл сольового розчину та перемішування пробірок на вортексі до гомогенного стану.

10. Центрифугування пробірок упродовж 10 с при 5 000 об/хв та видалення супернатанту за допомогою помпи, не торкаючись осаду сорбенту із ДНК.

11. Повторне виконання положень 9 та 10 протоколу.
12. Висушування осаду при температурі 65 °С протягом 5 хв.
13. Додавання в пробірки 50 мкл ЕкстраГену™ при постійному перемішуванні останнього розчину.
14. Суспензування вмісту пробірок на вортексі до отримання гомогенної суспензії і термостатування за температури 65 °С протягом 5 хв.
15. Суспензування вмісту пробірок та центрифугування протягом 1 хв при 10 000 об/хв.
16. Перенесення супернатанту до мікропробірок та зберігання за температури –20 °С.

Визначення алельного поліморфізму 4-го екзона гена MTHFR C677T (rs 1801133).

Ампліфікацію ділянки гена, що містить сайт C677T поліморфізму, проводили за допомогою пари специфічних праймерів: прямого (sense) – 5'GTCATCCSTATTTGGCAGGTTAC3' і зворотного (antisense) – 5'CTGAGAGGAGATCTGGGAAGAA3'. Праймери було синтезовано фірмою «Metabion» (Німеччина). 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 15 рМ кожного з праймерів і 0,75 ОД Таq-полімерази («Ферментас», Литва), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. PCR проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 («Applied Biosystems», США). Ампліфікація фрагмента, що містив стартову ділянку, складалася із 33 циклів: денатурація – 94 °С (50с), 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 20 годин із 3 ОД рестриктази HinfI («Thermo Scientific», США) у буфері R такого складу: 10 мМ тріс-НСl (рН 8,5), 10 мМ MgCl₂, 100 мМ КСl, 0,1 мг/мл альбуміну. Наявність у 677-й позиції гена MTHFR цитозину перешкоджає рестрикції, а при його заміні на тимін рестриктаза розщеплює

ампліфіковану ділянку (довжина – 334 пари азотистих основ) на два фрагменти – 241 і 93 пари основ (рис. 2.3.1). Ампліфікати вивченого фрагмента гена MTHFR після рестрикції розділяли у 2,5 % агарозному гелі, що містив 10 мкг/мл бромистого етидію. Горизонтальний електрофорез (0,13А; 200V) проводили вродовж 25 хв. Візуалізацію ДНК після електрофорезу здійснювали за допомогою транслюмінатора («Біоком», Росія).

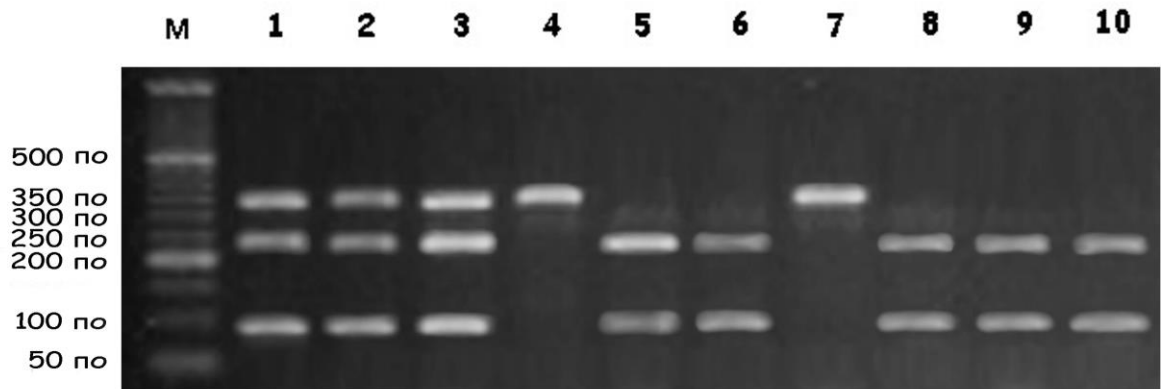


Рисунок 2.3.1 – Результати рестрикційного аналізу С677Т поліморфізму гена MTHFR. М – маркер молекулярної маси (по – пари нуклеїнових основ); доріжки 4, 7 відповідають С/С - генотипу; доріжки 1, 2, 3 – С/Т-генотипу; 5, 6, 8, 9, 10 – Т/Т - генотипу

Визначення алельного поліморфізму 7-го екзона гена MTHFR A1298C (rs 1801130).

Ампліфікацію ділянки гена, що містить сайт A1298C поліморфізму, проводили за допомогою пари специфічних праймерів: прямого (sense) – 5'GCAAGTCCCCCAAGGAGG3' і зворотного (antisense) – 5'GGGTCCCCACTCCAGCATC3'. Праймери було синтезовано фірмою «Metabion» (Німеччина). 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 1,0 ОД Taq-полімерази («Thermo Scientific», США), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. PCR проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 («Applied Biosystems2, США). Ампліфікація

фрагмента, що містив поліморфну ділянку, яка вивчалася, складалася із 30 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 продовж 20 годин із 3 ОД рестриктази MboII («Thermo Scientific», США) у буфері В такого складу: 10 мМ тріс-НСІ (рН 7,5), 10 мМ MgCl₂, 0,1 мг/мл альбуміну. Ампліфікат складався із 145 пар нуклеотидів (п. н.). Генотип АА ідентифікувався на електрофореграмі фрагментами – 29, 37, 79 п. н., генотип АС – 29, 37, 79, 108 п. н., СС – 37, 108 п. н. (рис.2.3.2).

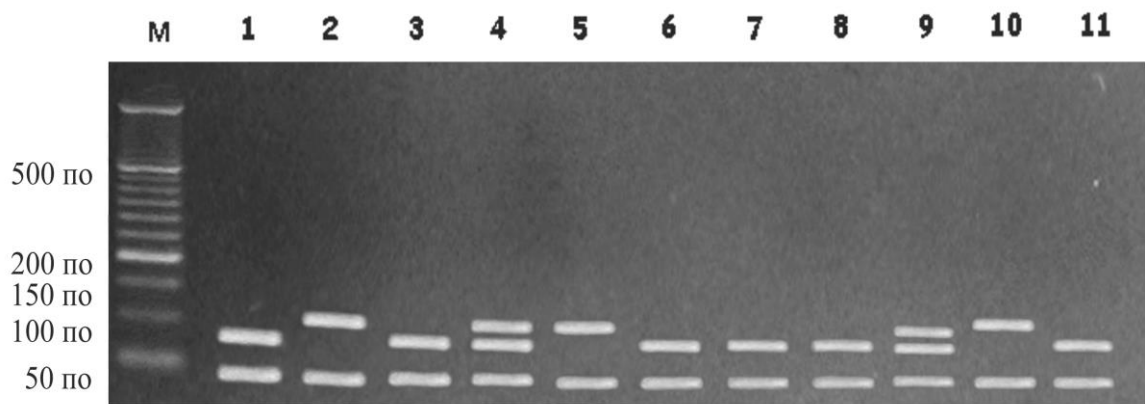


Рисунок 2.3.2 – Результати рестрикційного аналізу A1298C поліморфізму гена MTHFR. М – маркер молекулярної маси (по – пари нуклеїнових основ); доріжки 1, 3, 6, 7, 8, 11 відповідають А/А - генотипу; доріжки 4, 9 – А/С-генотипу; 2, 5, 10 – С/С - генотипу

Ампліфікати вивченого фрагмента гена MTHFR після рестрикції розділяли в 2,5 % агарозному гелі, що містив 10 мкг/мл бромистого етидію. Горизонтальний електрофорез (0,13 А; 200 V) проводили впродовж 20 хв. Візуалізацію ДНК після електрофорезу здійснювали за допомогою транслюмінатора («Біоком», Росія).

2.4. Методи статистичного аналізу

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 критерію Колмогорова-Смирнова за алгоритмами, реалізованими у програмі SPSS-17.

Визначення достовірності відмінностей між двома вибірками проводили за допомогою критерію Стьюдента (t). На основі величини t й кількості ступенів вільності ($l = n_1 + n_2 - 2$) за таблицею розподілу Стьюдента визначали вірогідність відмінностей двох вибірок (P). Відмінність вважали достовірною, якщо вірогідність випадкової різниці не перевищувала 0,05 ($p < 0,05$). [32].

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 [42].

Перевірку різниці розподілу генотипів здійснювали за допомогою χ^2 -критерію Пірсона. Значення $p < 0,05$ вважали статистично значущими.

Із метою прогнозування ризику виникнення ІАТІ використовували метод логістичної регресії. А для виявлення та характеристики міжгенних взаємодій використовували метод MDR (multifactor dimensionality reduction) [88].

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Зв'язок С677Т поліморфізму гена МТНFR з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту

Як зазначалося, найбільш клінічно значущим поліморфізмом гена МТНFR є варіант, розміщений у 4-му екзоні – заміна цитозину на тимін, що призводить до заміни амінокислотного залишку аланіну на валін у положенні 222, в сайті зв'язування фолату (поліморфізм С677Т, Ala222Val, rs1801133). Частоту алелів і трьох можливих варіантів генотипу за С677Т поліморфізмом, а також перевірку відповідності розподілу основного та мінорного алелів рівновазі Харді – Вайнберга подано в таблиці 3.1.1.

Таблиця 3.1.1 – Частота генотипів і алелів за С677Т поліморфізмом гена МТНFR у контрольній групі і у хворих з ІАТІ

	<i>Контрольна група</i>	<i>Група хворих з ІАТІ</i>
Гомозиготи С/С, n (%)	57 (46,0)	89 (52,3)
Гетерозиготи С/Т, n (%)	60 (48,4)	61 (35,9)
Гомозиготи Т/Т, n (%)	7 (5,6)	20 (11,8)
С-алель	0,7	0,7
Т-алель	0,3	0,3
χ^2	3	3,37
P	> 0,05	> 0,05

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

Аналізуючи наведені дані, можна зробити висновок, що розподіл алелів за С677Т поліморфізмом у контрольній групі та у групі хворих з ІАТІ не має статистично достовірних відхилень від очікуваних за генетично-популяційним законом величин ($P > 0,05$).

На рисунку 3.1.1 подано результати аналізу частот окремих варіантів генотипу за С677Т поліморфізмом в осіб контрольної групи та у хворих з ІАТІ. Співвідношення гомозигот за основним алелем С/С, гетерозигот С/Т і гомозигот за «патологічним» алелем Т/Т в основній групі становило 52,3; 35,9 і 11,8 %, а в контрольній – 46,0; 48,4 і 5,6 % відповідно. Під час аналізу виявлено статистично достовірні відмінності у розподілі різних варіантів генотипу між хворими з ІАТІ і практично здоровими особами. Показник Р, визначений за χ^2 -критерієм Пірсона, дорівнював 0,044. Отже, у гомозигот за мінорним алелем (Т/Т) ризик розвитку інсульту вищий, ніж у носіїв основного алеля (С/С, С/Т).

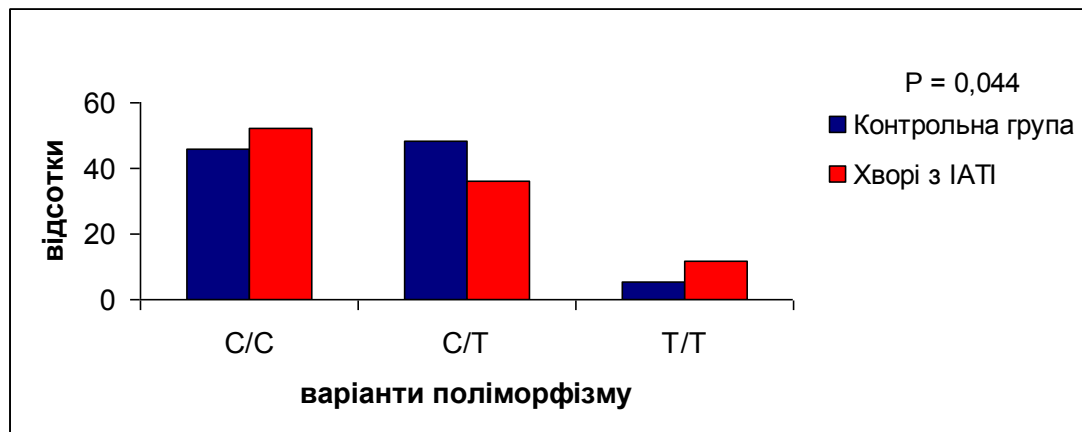


Рисунок 3.1.1 – Частота алельних варіантів гена МТНFR за С677Т поліморфізмом у хворих з ІАТІ (червоні стовпчики) і в контрольній групі (сині стовпчики). Р – статистична значущість відмінності показників за χ^2 -критерієм Пірсона

Аналіз за статтю. Розподіл частот алельних варіантів за вивченим поліморфізмом в осіб різної статі у групах порівняння подано у таблиці 3.1.2. Як випливає з наведених даних, частота різних алельних варіантів (С/С, С/Т, Т/Т) гена МТНFR за С677Т поліморфізмом істотно не відрізняється в осіб жіночої статі хворих на ІАТІ (51,4; 38,9; 9,7 %) та пацієток контрольної групи (60,0; 35,6; 4,4 %) ($\chi^2 = 1,460$, Р = 0,482).

Проте розподіл варіантів цього поліморфізму в осіб чоловічої статі є різним. Співвідношення гомозигот за С-алелем, гетерозигот і гомозигот за

T-алелем у хворих чоловіків становило 53,0; 33,7 і 13,3 %, у групі контролю – 38,0; 55,7 і 6,3 % відповідно ($\chi^2 = 9,095$, $P = 0,011$).

Таблиця 3.1.2 – Вплив C677T поліморфізму гена MTHFR на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАТІ) в осіб жіночої і чоловічої статей

Генотипи	Жінки (n, %)		Чоловіки (n, %)	
	контроль	інсульт	контроль	інсульт
C/C	27 (60,0)	37 (51,4)	30 (38,0)	52 (53,0)
C/T	16 (35,6)	28 (38,9)	44 (55,7)	33 (33,7)
T/T	2 (4,4)	7 (9,7)	5 (6,3)	13 (13,3)
Разом	45 (100)	72 (100)	79 (100)	98 (100)
P	P = 0,482		P = 0,011	

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

За допомогою методу логістичної регресії було встановлено, що ризик розвитку ІАТІ у чоловіків, носіїв C/T-генотипу, у 2,3 менший, ніж у носіїв основного алеля (табл. 3.1.3).

Таблиця 3.1.3 – Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за C677T поліморфізмом гена MTHFR у осіб чоловічої статі

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

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

У таблиці 3.1.4 представлено дані генотипування за C677T поліморфізмом у хворих з ІАТІ і у практично здорових осіб чоловічої та жіночої статей. Одержані результати свідчать про відсутність статистично значущих відмінностей між особами жіночої і чоловічої статі як у

контрольній групі пацієнтів ($P = 0,061$), так і у хворих з ІАТІ ($P = 0,677$). Але необхідно відзначити, що у представників групи контролю ці відмінності є дуже близькими до рівня статистичної значущості ($P = 0,061$ за χ^2 -критерієм).

Таблиця 3.1.4 – Частота генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТНFR у жінок і чоловіків у контрольній групі і у хворих з ІАТІ

Генотип	Контроль (n, %)		Інсульт (n, %)	
	жінки	чоловіки	жінки	чоловіки
С/С	27 (60,0)	30 (38,0)	37 (51,3)	52 (53,0)
С/Т	16 (35,6)	44 (55,7)	28 (39,0)	33 (33,7)
Т/Т	2 (4,4)	5 (6,3)	7 (9,7)	13 (13,3)
Разом	45 (100)	79 (100)	72 (100)	98 (100)
P	P = 0,061		P = 0,677	

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Аналіз частоти ішемічних атеротромботичних інсультів у жінок і чоловіків із різними варіантами генотипу за С677Т поліморфізмом виявив наявність статистично значущих відмінностей між особами-гетерозиготами жіночої і чоловічої статей (табл. 3.1.5). У чоловіків, носіїв С/Т-генотипу, схильність до інсульту вища порівняно з жінками ($P = 0,028$).

Таблиця 3.1.5 – Частота ішемічних інсультів у жінок і чоловіків із різними варіантами генотипу за С677Т поліморфізмом гена МТНFR

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

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Аналіз за антропометричними даними. У роботі вивчено такі антропометричні показники пацієнтів, як зріст (см), вагу (кг) та розрахований на їх основі індекс маси тіла (ІМТ) ($ІМТ = \text{вага (кг)}/\text{зріст}^2 \text{ (м)}$) у пацієнтів із різними варіантами генотипу за С677Т поліморфізмом гена МТНFR.

Аналіз показників зросту у пацієнтів з ІАТІ та осіб контрольної групи не виявив статистично значущих відмінностей у носіїв різних генотипів ($P = 0,655$ та $P = 0,140$ відповідно) (табл. 3.1.6).

Різниця маси тіла серед вивчених груп також не була достовірною ($P = 0,574$ та $P = 0,432$ відповідно). Під час аналізу індексу маси тіла відмінностей у представників різних груп виявлено не було ($P = 0,884$ та $P = 0,473$ відповідно).

Таблиця 3.1.6 – Показники зросту, маси тіла та індексу маси тіла (ІМТ) загалом в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за С677Т поліморфізмом гена МТНFR ($M \pm m$)

		<i>C/C</i>	<i>C/T</i>	<i>T/T</i>	<i>F</i>	<i>P₁</i>
Зріст, см	Контроль	162,13±1,39(56)	163,48±1,19(60)	170,0±4,11(7)	2,002	0,140
	ІАТІ	168,85±0,84(89)	169,51±1,08(61)	167,60±1,80(20)	0,425	0,655
	P_2	0,998	< 0,001	0,540		
Маса тіла, кг	Контроль	74,23±2,21	72,27±1,58	79,43±7,23	0,846	0,432
	ІАТІ	80,03±1,14	81,77±2,02	78,65±2,6	0,556	0,574
	P_2	0,011	< 0,001	0,899		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	28,23±0,72	27,09±0,59	27,43±2,15	0,752	0,473
	ІАТІ	28,11±0,41	28,45±0,64	28,07±0,99	0,123	0,884
	P_2	0,865	0,121	0,640		

Примітка: *F* – критерій Фішера; P_1 і P_2 – значущість відмінностей між генотипами за даними однофакторного дисперсійного аналізу (P_1) і між контролем та ІАТІ за t-критерієм Стьюдента (P_2). У дужках – кількість пацієнтів

Аналізуючи антропометричні показники в осіб із різними генотипами за С677Т поліморфізмом контрольної групи та хворих з ІАТІ, було отримано

такі результати. Носії С/С-генотипу контрольної групи і групи хворих не відрізнялися за зростом та ІМТ ($P = 0,998$ та $P = 0,865$ відповідно). Проте маса тіла у гомозигот С/С-групи з ІАТІ була вища, ніж у контролі ($(80,03 \pm 1,14)$ кг проти $(74,23 \pm 2,21)$ кг, $P = 0,011$). Гетерозиготи С/Т з ІАТІ були вищі за зростом ($(169,51 \pm 1,08)$ см проти $(163,48 \pm 1,19)$ см, $P < 0,001$) та мали більшу масу тіла ($(81,77 \pm 2,02)$ кг проти $(72,27 \pm 1,58)$ кг, $P < 0,001$) порівняно з контролем. Проте ІМТ у групах порівняння з генотипом С/Т не відрізнявся, що пояснюється пропорційністю відхилень показників зросту та маси тіла. У носіїв Т/Т-генотипу показники зросту, маси тіла та ІМТ не відрізнялися у дослідній і контрольній групах.

Під час порівняння показників зросту, маси тіла та ІМТ в осіб жіночої і чоловічої статей залежно від генотипу пацієнтів за С677Т поліморфізмом гена МТНFR було виявлено, що у кожній групі (хворих з ІАТІ та контрольній) як у жінок, так і у чоловіків середні значення цих показників істотно не відрізнялися, тобто не залежали від даного генетичного поліморфізму (табл. 3.1.7).

Щодо порівняння між групами, то виявлено такі відмінності. У хворих жінок, носіїв С/С-генотипу, був вищий зріст ($(164,22 \pm 0,97)$ см проти $(155,92 \pm 1,76)$ см, $P < 0,001$) і більша маса тіла ($(79,35 \pm 1,64)$ кг проти $(71,77 \pm 2,25)$ кг, $P = 0,007$) порівняно з представницями контрольної групи з відповідним генотипом. Для жінок із генотипом С/Т отримані подібні результати. Хворі жінки мали більший зріст ($(163,50 \pm 0,94)$ см проти $(155,63 \pm 2,14)$ см, $P < 0,001$) та більшу масу тіла ($(75,93 \pm 2,28)$ кг проти $(66,56 \pm 3,27)$ кг, $P = 0,034$). У свою чергу, це не впливало на ІМТ, що можна пояснити пропорційністю відхилень показників зросту і маси тіла (табл. 3.1.7). Жінки з Т/Т-генотипом, як і група в цілому, не відрізнялися за зростом, масою тіла та ІМТ у групах порівняння. Порівнюючи представників чоловічої статі, можна зробити висновки про те, що носії С/С-генотипу з ІАТІ мали більший зріст ($(172,15 \pm 1,06)$ см проти $(167,50 \pm 1,63)$ см,

$P = 0,014$) порівняно з контролем, проте не відрізнялися за масою тіла та ІМТ.

Таблиця 3.1.7 – Показники зросту, маси тіла та індексу маси тіла (ІМТ) в осіб жіночої і чоловічої статей у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за С677Т поліморфізмом гена МТНFR ($M \pm m$)

		<i>C/C</i>	<i>C/T</i>	<i>T/T</i>	<i>F</i>	<i>P₁</i>
<i>Жінки</i>						
Зріст, см	Контроль	155,92±1,76 (26)	155,63±2,14 (16)	161,00±3,00 (2)	0,365	0,697
	IAT1	164,22±0,97 (37)	163,50±0,94 (28)	160,71±1,93 (7)	1,210	0,304
	P ₂	<0,001	<0,001	0,942		
Маса тіла, кг	Контроль	71,77±2,25	66,56±3,27	69,00±1,00	0,941	0,399
	IAT1	79,35±1,64	75,93±2,58	75,14±5,92	0,801	0,453
	P ₂	0,007	0,034	0,616		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	29,65±0,98	27,49±1,33	26,66±1,38	1,066	0,354
	IAT1	29,47±0,65	28,41±0,95	29,14±2,29	0,425	0,656
	P ₂	0,929	0,579	0,613		
<i>Чоловіки</i>						
Зріст, см	Контроль	167,50±1,63 (30)	166,34±1,17 (44)	173,60±4,82 (5)	1,688	0,192
	IAT1	172,15±1,06 (52)	174,61±1,27 (33)	171,31±1,91 (13)	1,427	0,245
	P ₂	0,014	<0,001	0,592		
Маса тіла, кг	Контроль	76,37±3,62	74,34±1,70	83,60±9,72	0,821	0,444
	IAT1	80,52±1,58	86,73±2,78	80,54±2,63	2,508	0,087
	P ₂	0,234	<0,001	0,673		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	27,00±0,99	26,95±0,65	27,74±3,38	0,058	0,944
	IAT1	27,14±0,48	28,49±0,87	27,49±0,93	1,116	0,332
	P ₂	0,887	0,149	0,917		

Примітка. Див. табл. 3.1.6

Хворі на IAT1 чоловіки-гетерозиготи порівняно з контролем мали не лише більший зріст ((174,61 ± 1,27) см проти (166,34 ± 1,17) см, $P < 0,001$), а й масу тіла ((86,73 ± 2,78) кг проти (74,34 ± 1,70) кг, $P < 0,001$), що, у свою чергу, також не впливало на ІМТ. Чоловіки з T/T-генотипом за зростом, масою тіла та ІМТ не відрізнялися в групах порівняння (табл. 3.1.7).

Поділ представників дослідної і контрольної груп залежно від величини ІМТ (< 25 кг/м² і ≥ 25 кг/м²) дав можливість проаналізувати вплив поліморфного варіанта С677Т гена МТНFR на розвиток IAT1 в осіб із

нормальним і підвищеним значеннями цього показника. Аналіз зв'язку С677Т поліморфізму гена МТНFR з розвитком ІАТІ у контрольній групі та у хворих з ІАТІ залежно від ІМТ засвідчив, що ні у представників із нормальним ІМТ, ні в осіб із підвищеним ІМТ не існує жодної різниці у розподілі генотипів (додаток А).

Співвідношення генотипів істотно не відрізнялося ні у осіб, хворих на ІАТІ ($P = 0,979$), ні у практично здорових осіб ($P = 0,965$) (додаток Б).

Під час поділу пацієнтів, носіїв різних генотипів (С/С, С/Т, Т/Т), контрольної та основної груп залежно від ІМТ так само не було виявлено статистично значущих відмінностей (додаток В).

Аналіз за показниками артеріального тиску. Під час вивчення показників $АТ_{діаст}$, $АТ_{сист}$, $АТ_{пул}$ і $АТ_{сер}$ у пацієнтів контрольної групи та у хворих з ІАТІ, які мають різний генотип за С677Т поліморфізмом, зроблено висновок, що всі чотири різновиди АТ істотно не відрізняються у носіїв із різними варіантами генотипів за досліджуванним поліморфізмом (табл. 3.1.8).

Аналіз між групами виявив таке. У хворих гомозигот за основним алелем (С/С) показники АТ були вищими, ніж у осіб контрольної групи: $АТ_{сист}$ – $(166,80 \pm 2,87)$ мм рт. ст. проти $(149,00 \pm 2,99)$ мм рт. ст. ($P < 0,001$), $АТ_{діаст}$ – $(93,37 \pm 1,54)$ мм рт. ст. проти $(85,13 \pm 1,85)$ мм рт. ст. ($P < 0,001$), $АТ_{пул}$ – $(73,43 \pm 2,39)$ мм рт. ст. проти $(63,87 \pm 2,23)$ мм рт. ст. ($P = 0,007$) і $АТ_{сер}$ – $(117,85 \pm 1,75)$ мм рт. ст. проти $(106,42 \pm 2,04)$ мм рт. ст. ($P < 0,001$) (табл. 3.1.8).

У хворих гетерозигот (С/Т) усі види тиску, крім пульсового, відрізнялися у контрольній та дослідній групах: $АТ_{сист}$ ($(154,66 \pm 3,22)$ мм рт. ст. проти $(168,69 \pm 4,18)$ мм рт. ст., $P = 0,009$), $АТ_{діаст}$ ($(98,52 \pm 2,24)$ мм рт. ст. проти $(87,03 \pm 1,42)$ мм рт. ст., $P < 0,001$) та $АТ_{сер}$ ($(121,91 \pm 2,77)$ мм рт. ст. проти $(109,58 \pm 1,85)$ мм рт. ст., $P < 0,001$).

У гомозигот за мінорним алелем різниці між показниками $АТ_{сист}$, $АТ_{діаст}$, $АТ_{сер}$ та $АТ_{пул}$ у групах порівняння виявлено не було.

Таблиця 3.1.8 – Показники артеріального тиску (АТ) загалом у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за С677Т поліморфізмом гена МТНFR (M ± m)

		<i>C/C</i>	<i>C/T</i>	<i>T/T</i>	<i>F</i>	<i>P₁</i>
АТ сист	Контроль	149,00±2,99(56)	154,66±3,22(60)	164,29±6,11(7)	1,777	0,174
	ІАТІ	166,80±2,87(89)	168,69±4,18(61)	162,50±6,23(20)	0,339	0,713
	P ₂	< 0,001	0,009	0,873		
АТ діаст	Контроль	85,13±1,85	87,03±1,42	90,00±4,88	0,662	0,518
	ІАТІ	93,37±1,54	98,52±2,24	94,50±2,85	2,039	0,133
	P ₂	< 0,001	< 0,001	0,430		
АТ пул	Контроль	63,87±2,23	67,63±2,51	74,29±6,49	1,354	0,262
	ІАТІ	73,43±2,39	70,16±2,59	68,00±4,27	0,746	0,476
	P ₂	0,007	0,479	0,449		
АТ сер	Контроль	106,42±2,04	109,58±1,85	114,76±4,35	1,379	0,256
	ІАТІ	117,85±1,75	121,91±2,77	117,17±3,78	1,008	0,367
	P ₂	< 0,001	< 0,001	0,734		

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Досліджуючи артеріальний тиск у осіб жіночої статі, були отримані такі результати (табл. 3.1.9). Під час вивчення показників АТ_{сист}, АТ_{діаст}, АТ_{пул} і АТ_{сер} у жінок контрольної та дослідної груп, які мають різний генотип за С677Т поліморфізмом, виявлено, що всі чотири різновиди АТ істотно не відрізняються у носіїв із різними варіантами генотипів.

Однак аналіз між групами виявив, що у хворих жінок носіїв С/С-генотипу показники всіх видів АТ, крім пульсового, вищі, ніж у представниць контрольної групи: АТ_{сист} – (169,05 ± 4,91) мм рт. ст. проти (147,1 ± 3,71) мм рт. ст. (P = 0,0016), АТ_{діаст} – (97,30 ± 2,18) мм рт. ст. проти (84,81 ± 2,05) мм рт. ст. (P < 0,001) та АТ_{сер} – (121,22 ± 2,53) мм рт. ст. проти (105,60 ± 2,53) мм рт. ст. (P < 0,001).

У жінок-гетерозигот (С/Т) показники всіх видів артеріального тиску були вищими у хворих з ІАТІ, ніж у контролі: АТ_{сист} – (178,93 ± 6,3) мм рт. ст. проти (148,1 ± 7,33) мм рт. ст. (P = 0,004),

Таблиця 3.1.9 – Показники артеріального тиску (АТ) в осіб жіночої та чоловічої статей у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за С677Т поліморфізмом гена МТНFR (M ± m)

		<i>C/C</i>	<i>C/T</i>	<i>T/T</i>	<i>F</i>	<i>P₁</i>
<i>Жінки</i>						
АТ сист	Контроль	147,1±3,71(26)	148,1±7,33(16)	175,0±5,0(2)	1,36	0,268
	IATP	169,05±4,91(37)	178,93±6,30(28)	165,7±15,25 (7)	1,047	0,357
	P ₂	0,002	0,004	0,766		
АТ діаст	Контроль	84,81±2,05	87,5±3,09	85,00±5,00	0,295	0,746
	IATP	97,30±2,18	102,32±3,28	92,86±5,22	1,500	0,230
	P ₂	<0,001	0,005	0,476		
АТ пул	Контроль	62,3±3,24	60,6±5,41	90,0±0,0	2,301	0,113
	IATP	71,76±3,43	76,61±4,19	72,86±10,17	0,395	0,675
	P ₂	0,059	0,025	0,419		
АТ сер	Контроль	105,6±2,24	107,7±4,21	115,0±7,1	0,504	0,608
	IATP	121,22±2,53	127,86±4,06	117,14±8,52	1,44	0,243
	P ₂	<0,001	0,002	0,903		
<i>Чоловіки</i>						
АТ сист	Контроль	150,69±4,64(29)	157,09±3,47(43)	160,00±7,75(5)	0,779	0,462
	IATP	165,19±3,92(52)	160,00±5,20(33)	160,77±5,60(13)	0,390	0,678
	P ₂	0,024	0,631	0,939		
АТ діаст	Контроль	85,41±3,03	86,86±1,59	92,00±6,60	0,541	0,584
	IATP	90,58±2,06	95,3±2,99	95,4±3,5	1,152	0,320
	P ₂	0,151	0,010	0,632		
АТ пул	Контроль	65,28±3,11	70,23±2,72	68,00±7,34	0,706	0,497
	IATP	74,62±3,30	64,70±2,93	65,38±3,86	2,715	0,071
	P ₂	0,065	0,172	0,739		
АТ сер	Контроль	107,17±3,34	110,27±2,01	114,67±6,11	0,608	0,510
	IATP	115,45±2,35	116,87±3,62	117,2±3,92	0,087	0,917
	P ₂	0,041	0,096	0,738		

Примітка. Див. табл. 3.1.6

$AT_{\text{діаст}} - (102,32 \pm 3,28)$ мм рт. ст. проти $(87,5 \pm 3,09)$ мм рт. ст. ($P = 0,004$),
 $AT_{\text{пул}} - (76,61 \pm 4,19)$ мм рт. ст. проти $(60,6 \pm 5,41)$ мм рт. ст. ($P = 0,025$) та
 $AT_{\text{сер}} - (127,86 \pm 4,06)$ мм рт. ст. проти $(107,70 \pm 4,21)$ мм рт. ст. ($P = 0,002$).

У жінок гомозигот за мінорним алелем, як і в групах загалом, різниці між показниками $AT_{\text{сист}}$, $AT_{\text{діаст}}$, $AT_{\text{сер}}$ та $AT_{\text{пул}}$ виявлено не було (табл. 3.1.9).

Вплив C677T поліморфізму гена MTHFR на показники АТ у чоловіків був дещо інший (табл. 3.1.9). У гомозигот за С-алелем з ІАТІ лише показники систолічного та середнього АТ були вищими порівняно з контролем: $AT_{\text{сист}} - (165,19 \pm 3,92)$ мм рт. ст. проти $(150,69 \pm 4,64)$ мм рт. ст. ($P = 0,024$) і $AT_{\text{сер}} - (115,45 \pm 2,35)$ мм рт. ст. проти $(107,17 \pm 3,30)$ мм рт. ст. ($P = 0,041$). А у чоловіків гетерозигот лише $AT_{\text{діаст}}$ відрізнявся від практично здорових осіб: $(95,30 \pm 2,99)$ мм рт. ст. проти $(86,86 \pm 1,59)$ мм рт. ст., $P = 0,010$.

У чоловіків гомозигот за мінорним алелем, як і у групі в цілому і у осіб жіночої статі, різниці між показниками $AT_{\text{сист}}$, $AT_{\text{діаст}}$, $AT_{\text{сер}}$ та $AT_{\text{пул}}$ виявлено не було (табл. 3.1.9).

Під час поділу пацієнтів дослідної та контрольної груп на тих, які мали нормальний та підвищений артеріальний тиск (сistolічний АТ > 140 мм рт. ст., діастолічний АТ > 90 мм рт. ст.), отримано такі результати (табл. 3.1.10). Серед осіб із нормальним тиском співвідношення генотипів С/С, С/Т, Т/Т в основній групі становило 52; 36; 12%, у групі контролю відповідно – 52; 48 та 0 % ($P = 0,039$). У групі пацієнтів із підвищеним артеріальним тиском такої залежності виявлено не було ($P = 0,178$). Таким чином, особи з нормальним тиском – гомозиготи за «патологічним» Т-алелем – більш схильні до розвитку ІАТІ. Аналіз одержаних результатів свідчить про вплив генотипу Т/Т на розвиток ІАТІ незалежно від величини артеріального тиску.

Таблиця 3.1.10 – Зв'язок С677Т поліморфізму гена МТНFR з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАТІ) в осіб із нормальним і підвищеним артеріальним тиском

	<i>Генотип</i>	<i>Контроль, n (%)</i>	<i>ІАТІ, n (%)</i>
Нормальний АТ	С/С	25 (52,0)	22 (52,0)
	С/Т	23 (48,0)	15 (36,0)
	Т/Т	0 (0)	5 (12,0)
	Разом	48 (100)	42 (100)
$\chi^2 = 6,505; P = 0,039$			
Підвищений АТ	С/С	30 (41,0)	67 (52,0)
	С/Т	36 (49,0)	46 (36,0)
	Т/Т	7 (10,0)	15 (12,0)
	Разом	73 (100)	128 (100)
$\chi^2 = 3,451; P = 0,178$			

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Одночасно з цим застосування χ^2 -критерію Пірсона продемонструвало, що у представників обох груп розподіл алельних варіантів С677Т поліморфізму не відрізнявся у пацієнтів з гіпертензією та в осіб з нормальним тиском. Але у представників контрольної групи ці відмінності є близькими до рівня статистичної значущості ($P = 0,068$ за χ^2 -критерієм) (табл. 3.1.11).

Таблиця 3.1.11 – Частота генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТНFR в осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском у контрольній групі і у хворих з ІАТІ

	<i>Генотип</i>	<i>Нормальний АТ, n (%)</i>	<i>Підвищений АТ, n (%)</i>
Контрольна група	С/С	25 (52,0)	30 (41,1)
	С/Т	23 (48,0)	36 (49,3)
	Т/Т	0 (0)	7 (9,6)
	Разом	48 (100)	73 (100)
$\chi^2 = 5,383; P = 0,068$			
Хворі з ІАТІ	С/С	22 (52,4)	67 (52,3)
	С/Т	15 (35,7)	46 (36,0)
	Т/Т	5 (11,9)	15 (11,7)
	Разом	42 (100)	128 (100)
$\chi^2 = 0,001; P = 0,999$			

Примітка. див. табл. 3.1.2

Аналіз частоти осіб гіпертоніків та нормотоніків серед носіїв різних генотипів у дослідній і контрольній групах дав такі результати (табл. 3.1.12). Серед гомозигот С/С хворих з інсультом 75,3 % було з підвищеним АТ і 24,7 % – з нормальним тиском. Серед осіб контрольної групи це співвідношення становило 54,5 та 45,5 % відповідно. Показник Р, розрахований за χ^2 -критерієм Пірсона, дорівнював 0,010, що свідчить про існування зв'язку між ІАТІ та величиною АТ у носіїв С/С-генотипу. У гомозигот за С-алелем із гіпертензією ІАТІ виникає частіше. Для носіїв С/Т- і Т/Т-генотипів такої залежності виявлено не було. Проте виявлення інсульту у гомозигот С/С, які мали підвищений артеріальний тиск, свідчить про прояв артеріальної гіпертензії як фактора ризику, незалежного від генотипу пацієнтів за С677Т поліморфізмом.

Таблиця 3.1.12 – Частота осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за С677Т поліморфізмом гена МТНFR

Генотип	Показник	Контроль, n (%)	ІАТІ, n (%)
С/С	Нормальний АТ	25 (45,5)	22 (24,7)
	Підвищений АТ	30 (54,5)	67 (75,3)
	Разом	55 (100)	89 (100)
$\chi^2 = 6,648; P = 0,010$			
С/Т	Нормальний АТ	23 (39,0)	15 (24,6)
	Підвищений АТ	36 (61,0)	46 (75,4)
	Разом	59 (100)	61 (100)
$\chi^2 = 2,871; P = 0,090$			
Т/Т	Нормальний АТ	0 (0)	5 (25,0)
	Підвищений АТ	7 (100,0)	15 (75,0)
	Разом	7 (100)	20 (100)
$\chi^2 = 2,148; P = 0,143$			

Примітка. Див. табл. 3.1.2.

Артеріальна гіпертензія є безумовним модифікованим фактором ризику розвитку мозкових катастроф. На підставі вищенаведеного можна

стверджувати, що С677Т поліморфізм гена МТНFR не впливає істотною мірою на асоціацію між АТ та ІАТІ, проте гомозиготи за основним алелем із підвищеним артеріальним тиском більш схильні до розвитку інсульту порівняно з гетерозиготами та гомозиготами за мінорним алелем.

Аналіз за фактом паління. Розподіл генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТНFR у групі тих, які не палять, був таким: контроль – С/С – 47,3 %, С/Т – 48,4 %, Т/Т – 4,3 %, ІАТІ – 51,7; 35; 13,3 % відповідно. Показник Р, визначений за χ^2 -критерієм Пірсона, дорівнював 0,029 (табл. 3.1.13). У групі осіб, які не палять, ІАТІ настає частіше у гомозигот за мінорним алелем (Т/Т), порівняно з іншими генотипами. Відсутність такого зв'язку у курців, мабуть, можна пояснити тим, що паління, будучи доведеним фактором ризику ІАТІ, може маскувати залежність між досліджуваним SNP та інсультом.

Таблиця 3.1.13 – Зв'язок С677Т поліморфізму гена МТНFR з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАТІ) в осіб, які палять і які не палять

	<i>Генотип</i>	<i>Контроль, n (%)</i>	<i>ІАТІ, n (%)</i>
Ті, які не палять	С/С	44 (47,3)	62 (51,7)
	С/Т	45 (48,4)	42 (35,0)
	Т/Т	4 (4,3)	16 (13,3)
	Разом	93 (100)	120 (100)
$\chi^2 = 7,051; P = 0,029$			
Ті, які палять	С/С	13 (41,9)	27 (54,0)
	С/Т	15 (48,4)	19 (38,0)
	Т/Т	3 (9,7)	4 (8,0)
	Разом	31 (100)	50 (100)
$\chi^2 = 1,118; P = 0,527$			

Примітка. Див. табл. 3.1.2

У контрольній групі генотип достовірно не відрізнявся серед курців і тих, хто не палить ($P = 0,153$) (додаток Г). У хворих з ІАТІ співвідношення генотипів також не було різним у групах порівняння ($P = 0,613$).

Паління є доведеним фактором ризику ІАТІ і не залежить від алельних варіантів за С677Т поліморфізмом гена МТНFR.

Аналіз за показниками рівня глюкози в крові. У гострому періоді ішемічного інсульту досить поширеними є зміни концентрації глюкози в крові (за відсутності у хворого цукрового діабету). Найчастіше відбувається підвищення цього показника – гіперглікемія ($> 5,5$ ммоль/л).

У нашому дослідженні визначали концентрацію глюкози натще у представників як основної, так і контрольної групи, при цьому діагноз цукрового діабету не встановлювали (табл. 3.1.14).

Таблиця 3.1.14 – Значення глюкози крові в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за С677Т поліморфізмом гена МТНFR ($M \pm m$)

	<i>C/C</i>	<i>C/T</i>	<i>T/T</i>	<i>F</i>	<i>P₁</i>
<i>Загалом</i>					
Контроль	5,39±0,95 (57)	5,18±0,09 (60)	5,43±0,31 (7)	1,426	0,244
ІАТІ	5,98±0,16 (89)	5,74±0,18 (61)	6,23±0,41 (20)	0,917	0,402
P_2	0,452	0,007	0,286		
<i>Жінки</i>					
Контроль	5,39±0,15 (27)	5,25±0,14 (16)	5,60±0,30 (2)	0,330	0,721
ІАТІ	6,18±0,28 (37)	6,05±0,32 (8)	7,13±0,89 (7)	1,084	0,344
P_2	0,027	0,07	0,411		
<i>Чоловіки</i>					
Контроль	5,39±0,15 (30)	5,16±0,12 (44)	5,36±0,44 (5)	1,001	0,372
ІАТІ	5,84±0,19 (52)	5,47±0,19 (33)	5,74±0,38 (13)	0,832	0,483
P_2	0,098	0,129	0,584		

Примітка. Див. табл. 3.1.6

Під час порівняння концентрації глюкози крові натще серед пацієнтів контрольної та дослідної груп залежно від генотипу у групі в цілому, а також у осіб жіночої і чоловічої статей окремо не було виявлено різниці значень цього показника у представників різних генотипів. Проте при порівнянні між групами виявлено, що хворі-гетерозиготи мали вищу концентрацію глюкози крові, ніж особи контрольної групи ((5,74 ± 0,18) ммоль/л проти (5,18 ± 0,09) ммоль/л, P = 0,007). Крім того, хворі жінки-гомозиготи за основним алелем мали вищі значення вивченого показника, ніж жінки контрольної групи з таким самим генотипом ((6,18 ± 0,28) ммоль/л проти (5,39 ± 0,15) ммоль/л, P = 0,027). Концентрація глюкози крові у осіб чоловічої статі достовірно не відрізнялась у представників різних генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТНFR (табл. 3.1.14).

Аналіз за наявністю ожиріння. Під час аналізу розподілу алельних варіантів гена МТНFR у осіб з ожирінням та без ожиріння виявлено відсутність зв'язку між ІАТІ та генотипами пацієнтів обох груп дослідження (табл. 3.1.15). Але у групи осіб без ожиріння встановлено відмінності, дуже близькі до рівня статистичної значущості (P = 0,061 за χ^2 -критерієм).

Таблиця 3.1.15 – Зв'язок С677Т поліморфізму гена МТНFR з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАТІ) в осіб з ожирінням та без ожиріння

	Генотип	Контроль, n (%)	ІАТІ, n (%)
Ожиріння немає	С/С	40 (43,5)	56 (50,5)
	С/Т	47 (51,1)	41 (36,9)
	Т/Т	5 (5,4)	14 (12,6)
	Разом	92 (100)	111 (100)
$\chi^2 = 5,610; P = 0,061$			
Ожиріння є	С/С	16 (51,6)	33 (55,9)
	С/Т	13 (41,9)	20 (33,9)
	Т/Т	2 (6,5)	6 (10,2)
	Разом	31 (100)	59 (100)
$\chi^2 = 0,744; P = 0,689$			

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Таким чином, існує зв'язок між ішемічним атеротромботичним інсультом і С677Т поліморфним варіантом гена МТНFR. Ризик розвитку ІАТІ у гомозигот за «патологічним» Т-алелем вищий, ніж у носіїв основного алеля. Виявлена більша стійкість до розвитку ІАТІ у гетерозигот С/Т чоловічої статі, ніж у представників із генотипом С/С. Установлено зв'язок С677Т поліморфізму з такими факторами ризику ІАТІ – артеріальна гіпертензія та паління.

3.2. Асоціація A1298C поліморфізму гена MTHFR з гострим ішемічним атеротромботичним ураженням головного мозку

Іншим важливим поліморфізмом гена MTHFR, розміщеного в 7-му екзоні, є заміна нуклеотиду аденіну на цитозин у позиції 1298, що призводить до заміни глутамінової кислоти на аланін у білку (поліморфізм A1298C, Glu429Ala, rs1801131).

Частоту алелів і трьох можливих варіантів генотипу за A1298C поліморфізмом, а також перевірку відповідності розподілу основного й мінорного алелів рівновазі Харді – Вайнберга подано в таблиці 3.2.1.

Таблиця 3.2.1 – Частота генотипів і алелів за A1298C поліморфізмом гена MTHFR у контрольній групі та у хворих з ІАТІ

	<i>Контрольна група</i>	<i>Група хворих з ІАТІ</i>
Гомозиготи А/А, n (%)	57 (46,0)	72 (42,4)
Гетерозиготи А/С, n (%)	55 (44,3)	63 (37,0)
Гомозиготи С/С, n (%)	12 (9,7)	35 (20,6)
А-алель	0,68	0,61
С-алель	0,32	0,39
χ^2	0,06	8,38
P	> 0,05	> 0,05

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

Аналіз наведених даних дає можливість зробити висновок, що розподіл алелів за A1298C поліморфізмом у контрольній групі та групі хворих з ІАТІ не має статистично достовірних відхилень від очікуваних за генетично-популяційним законом величин ($P > 0,05$).

На рисунку 3.2.1 подано результати аналізу частот окремих варіантів генотипу за A1298C поліморфізмом в осіб контрольної групи та у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом. Установлено, що у хворих на ІАТІ

співвідношення гомозигот за основним алелем (A/A), гетерозигот (A/C) і гомозигот за мінорним алелем (C/C) становить 42,3; 37,1 та 20,6 %, а в контрольній групі – відповідно 46,0; 44,3; 9,7 %.

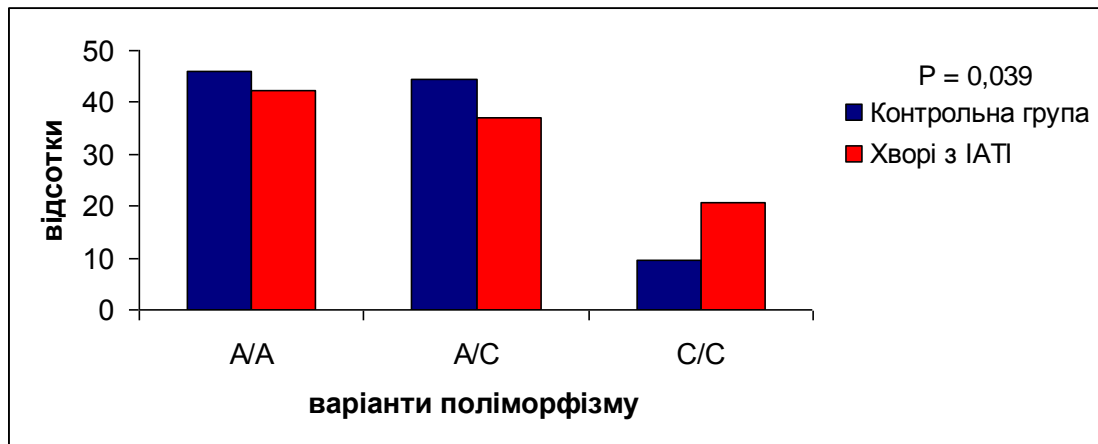


Рисунок 3.2.1. – Частота алельних варіантів гена MTHFR за поліморфізмом A1298C у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом (червоні стовпчики) і в контрольній групі (сині стовпчики). P – статистична значущість відмінності показників за χ^2 -критерієм Пірсона

Відмінності в розподілі частот зазначених генотипів між групою хворих на ІАТІ та контрольною групою були статистично достовірними. Показник P, визначений за χ^2 -критерієм Пірсона, дорівнював P = 0,039. Цей висновок був підтверджений і під час застосування методу логістичної регресії: у гомозигот за мінорним алелем ризик інсульту в 2,3 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем (P = 0,027, OR = 2,309) (табл. 3.2.2).

Таблиця 3.2.2 – Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за A1298C поліморфізмом гена MTHFR

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

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

Аналіз за статтю. Розподіл частот алельних варіантів за A1298C поліморфізмом гена MTHFR в осіб різної статі у групах порівняння подано у таблиці 3.2.3. Виявлено, що у жінок, хворих на ІАТІ, співвідношення гомозигот за основним алелем (A/A), гетерозигот (A/C) і гомозигот за мінорним алелем (C/C) становило: 47,0; 36,8 і 18,0 %, а в контрольній групі – відповідно 46,7; 40,0; 13,3 % ($\chi^2 = 0,592$, $P = 0,744$). Таким чином, не існує достовірної різниці у розподілі генотипів серед хворих на ІАТІ та практично здорових осіб жіночої статі.

Таблиця 3.2.3 – Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАТІ) в осіб жіночої і чоловічої статей

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

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

У чоловіків розподіл варіантів цього поліморфізму був різним і мав такий вигляд: дослідна група – A/A – 38,8 %, A/C – 38,8 % і C/C – 22,4 %, контрольна група – 45,6; 46,8 і 7,6 % відповідно ($\chi^2 = 7,254$, $P = 0,027$). Таким чином, чоловіки, носії C/C-генотипу більш схильні до ризику розвитку ІАТІ, ніж чоловіки з A/A-генотипом. Застосування методу логістичної регресії дало можливість підтвердити ці висновки. Отже, у чоловіків-гомозигот за мінорним алелем (C/C) ризик розвитку ІАТІ в 3,5 раза вищий, ніж у носіїв генотипу A/A (табл. 3.2.4).

Таблиця 3.2.4 – Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за А1298С поліморфізмом гена МТНFR у осіб чоловічої статі

<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/C	0,027	0,328	0,007	0,933	0,973	0,512	1,850
C/C	1,245	0,516	5,824	0,016	3,474	1,264	9,549

Примітка. Див.табл.3.2.2

У таблиці 3.2.5 наведено дані генотипування за А1298С поліморфізмом у хворих на ІАТІ і практично здорових осіб чоловічої та жіночої статей. Одержані результати свідчать про відсутність статистично значущих відмінностей між особами жіночої і чоловічої статей як у контрольній групі пацієнтів ($P = 0,526$), так і у хворих з ІАТІ ($P = 0,529$).

Таблиця 3.2.5 – Частота генотипів за А1298С поліморфізмом гена МТНFR у жінок і чоловіків у контрольній групі та у хворих з ішемічним інсультом

<i>Генотип</i>	<i>Контроль (n, %)</i>		<i>Інсульт (n, %)</i>	
	<i>жінки</i>	<i>чоловіки</i>	<i>жінки</i>	<i>чоловіки</i>
A/A	21 (46,7%)	30 (38,0%)	34 (47,0%)	38 (41,8%)
A/C	18 (40,0%)	44 (55,7%)	25 (36,8%)	38 (38,8%)
C/C	6 (13,3%)	5 (6,3%)	13 (18,1%)	22 (22,4%)
Разом	45 (100%)	79 (100%)	72 (100%)	98 (100%)
<i>P</i>	0,526		0,529	

Примітка. Див. табл. 3.2.3

Аналіз частоти ішемічних атеротромботичних інсультів у жінок і чоловіків із різними варіантами генотипу за А1298С поліморфізмом також не виявив наявності статистично значущих відмінностей (табл. 3.2.6).

Таблиця 3.2.6 – Частота ішемічних інсультів у жінок і чоловіків з різними варіантами генотипу за A1298C поліморфізмом гена MTHFR

	A/A		A/C		C/C	
	інсульт (-)	інсульт (+)	інсульт (-)	інсульт (+)	інсульт (-)	інсульт (+)
Жінки	21 (36,8%)	34 (47,2%)	18 (32,7%)	25 (39,7%)	6 (50,0%)	13 (37,1%)
Чоловіки	36 (52,6%)	38 (52,8%)	37 (67,3%)	38 (60,3%)	6 (50,0%)	22 (62,9%)
Разом	57	72	55	63	12	35
P	0,236		0,434		0,434	

Примітка. Див. табл. 3.2.3

Аналіз за антропометричними даними. У роботі вивчено такі антропометричні показники, як зріст (см), вагу (кг) та розрахований на їх основі індекс маси тіла (ІМТ) у пацієнтів з різними варіантами генотипу за A1298C поліморфізмом гена MTHFR.

Аналіз показників зросту у пацієнтів з ІАТІ та осіб контрольної групи не виявив статистично значущих відмінностей у носіїв різних генотипів ($P = 0,690$ та $P = 0,652$ відповідно) (табл. 3.2.7).

Різниця маси тіла серед вивчених груп також не була достовірною ($P = 0,845$ та $P = 0,162$ відповідно). Під час аналізу індексу маси тіла відмінностей у представників різних груп виявлено не було ($P = 0,487$ та $P = 0,329$ відповідно) (табл. 3.2.7).

Аналізуючи антропометричні показники у осіб із різними генотипами за A1298C поліморфізмом контрольної групи та хворих з ІАТІ, було одержано такі результати. Носії A/A-генотипу контрольної групи і групи хворих не відрізнялися за зростом ($P = 0,999$) та ІМТ ($P = 0,969$). Але маса тіла у гомозигот A/A хворих з ІАТІ була вища, ніж у контролі ($(79,83 \pm 1,64)$ кг проти $(74,11 \pm 2,15)$ кг, $P = 0,033$). Гетерозиготи A/C з ІАТІ були вищими за зростом ($(168,70 \pm 1,40)$ см проти $(160,70 \pm 1,08)$ см, $P < 0,001$) та мали більшу масу тіла ($(81,10 \pm 1,66)$ кг проти $(74,70 \pm 1,86)$ кг, $P = 0,011$) порівняно з контролем (табл. 3.2.7).

Таблиця 3.2.7 – Показники зросту, маси тіла та індексу маси тіла (ІМТ) загалом у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за А1298С поліморфізмом гена МТНFR (M ± m)

		A/A	A/C	C/C	F	P ₁
Зріст, см	Контроль	163,32±1,5(57)	163,70±1,08(54)	160,75±3,2(12)	0,429	0,652
	IAT1	169,53±1,1(72)	168,70±0,9(63)	168,17±1,4(35)	0,371	0,690
	P ₂	0,999	< 0,001	0,018		
Маса тіла, кг	Контроль	74,11±2,15	74,70±1,86	65,92±2,62	1,850	0,162
	IAT1	79,83±1,64	81,10±1,66	80,77±1,76	0,169	0,845
	P ₂	0,033	0,011	< 0,001		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	27,79±0,69	27,92±0,68	25,59±0,98	1,123	0,329
	IAT1	27,76±0,48	28,56±0,61	28,58±0,62	0,724	0,487
	P ₂	0,969	0,484	0,017		

Примітка: F – критерій Фішера; P₁ і P₂ – значущість відмінностей між генотипами за даними однофакторного дисперсійного аналізу (P₁) і контролем та IAT1 за t-критерієм Стьюдента (P₂). У дужках – кількість пацієнтів

Проте ІМТ у групах порівняння з генотипом А/С не відрізнявся, що пояснюється пропорційністю відхилень показників зросту і маси тіла. У носіїв С/С-генотипу показники зросту ((168,17 ± 1,40) см проти (160,75 ± 3,20) см, P = 0,018), маси тіла ((80,77 ± 1,76) кг проти (65,92 ± 2,62) кг, P < 0,001) та ІМТ ((28,58 ± 0,62) кг/м² проти (25,59 ± 0,98) кг/м², P = 0,017) статистично відрізнялися між дослідною і контрольною групами (табл. 3.2.7).

Під час порівняння показників зросту, маси тіла та ІМТ в осіб жіночої і чоловічої статей залежно від генотипу пацієнтів за А1298С поліморфізмом гена МТНFR було виявлено, що у кожній групі (хворих з IAT1 та контрольній) як у жінок, так і у чоловіків середні значення цих показників істотно не відрізнялися, тобто не залежали від цього генетичного поліморфізму (табл. 3.2.8).

Таблиця 3.2.8 – Показники зросту, маси тіла та ІМТ в осіб жіночої і чоловічої статей у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за A1298C поліморфізмом гена MTHFR ($M \pm m$)

		A/A	A/C	C/C	F	P ₁
<i>Жінки</i>						
Зріст, см	Контроль	157,33±2,27(21)	155,94±1,26 (17)	151,83±2,90(6)	1,017	0,371
	IAT1	163,79±1,03(34)	164,04±1,05(25)	162,23±1,26(13)	0,498	0,610
	P ₂	0,004	< 0,001	0,001		
Маса тіла, кг	Контроль	71,00±2,65	71,12±2,85	61,50±4,09	1,709	0,194
	IAT1	76,29±1,89	78,80±2,6	78,77±3,70	0,387	0,687
	P ₂	0,102	0,058	0,012		
ІМТ ₂ кг/м ²	Контроль	28,80±1,1	29,36±1,33	26,7±1,62	0,609	0,549
	IAT1	28,47±0,69	29,39±1,08	29,83±1,18	0,524	0,595
	P ₂	0,789	0,986	0,147		
<i>Чоловіки</i>						
Зріст, см	Контроль	166,81±1,79(36)	167,27±1,03 (37)	169,67±1,94(6)	0,286	0,752
	IAT1	174,66±1,35(38)	171,76±0,99(38)	171,68±1,64(22)	1,814	0,169
	P ₂	0,001	0,002	0,537		
Маса тіла, кг	Контроль	75,92±3,02	76,35±2,35	70,33±2,36	0,380	0,685
	IAT1	83,00±2,51	82,61±2,14	81,95±1,77	0,043	0,958
	P ₂	0,910	0,053	0,004		
ІМТ ₂ кг/м ²	Контроль	27,19±0,88	27,26±0,78	24,49±1,05	0,869	0,423
	IAT1	27,14±0,66	28,02±0,73	27,85±0,67	0,492	0,613
	P ₂	0,964	0,479	0,024		

Примітка. Див. табл. 3.2.7

Щодо порівняння між групами, то було виявлено певні відмінності. Хворі жінки, носії A/A-генотипу, були вищими за зростом порівняно із представницями контрольної групи з відповідним генотипом ((163,79 ± 1,03) см проти (157,33 ± 2,27) см, P = 0,004). Однак різниці між масою тіла та ІМТ не виявлено. У жінок із генотипом A/C були одержані подібні результати. Хворі жінки мали більший зріст, ніж здорові ((164,04 ± 1,05) см проти (155,94 ± 1,27) см, P < 0,001) та більшу масу тіла ((78,80 ± 2,59) кг проти (71,12 ± 2,85) кг, P < 0,001). Жінки із C/C генотипом,

як і група в цілому, відрізнялися за зростом ($(162,23 \pm 1,26)$ см проти $(151,83 \pm 2,90)$ см, $P = 0,001$) та масою тіла ($(78,77 \pm 3,70)$ кг проти $(61,50 \pm 4,09)$ кг, $P = 0,012$) у групах порівняння. У свою чергу, це не впливало на ІМТ, що можна пояснити пропорційністю відхилень показників зросту і маси тіла (табл. 3.2.8).

Порівнюючи представників різних генотипів чоловічої статі, можна зробити висновки про те, що носії А/А-генотипу хворі з ІАТІ мали більший зріст ($(174,66 \pm 1,79)$ см проти $(166,81 \pm 1,79)$ см, $P < 0,001$) порівняно з контролем, проте не відрізнялися за масою тіла та ІМТ. Хворі на ІАТІ чоловіки-гетерозиготи порівняно з контролем мали не лише більший зріст ($(171,76 \pm 0,99)$ см проти $(167,27 \pm 1,0)3$ см, $P = 0,002$), а ще й масу тіла ($(82,61 \pm 2,14)$ кг проти $(76,35 \pm 2,35)$ кг, $P = 0,053$), що, у свою чергу, також не впливало на ІМТ. Чоловіки із С/С-генотипом за зростом не відрізнялися у групах порівняння. Проте розбіжності виникли за показниками маси тіла ($(81,95 \pm 1,77)$ кг проти $(70,33 \pm 2,36)$ кг, $P = 0,004$) та ІМТ ($(27,85 \pm 0,67)$ кг/м² проти $(24,52 \pm 1,05)$ кг/м² $P = 0,024$) (табл. 3.2.8).

Поділ представників дослідної і контрольної груп залежно від величини ІМТ (< 25 кг/м² і ≥ 25 кг/м²) дав можливість проаналізувати вплив поліморфного варіанта А1298С гена МТНFR на розвиток ІАТІ в осіб із нормальним і підвищеним значеннями цього показника. Аналіз зв'язку А1298С поліморфізму гена МТНFR з розвитком ІАТІ у контрольній групі та у хворих з ІАТІ залежно від ІМТ показав, що у представників із нормальним ІМТ не існує жодної різниці у розподілі генотипів ($P = 0,986$) (табл. 3.2.9).

Однак різниця була помічена в осіб із підвищеним ІМТ. У представників з ІМТ ≥ 25 кг/м² розподіл варіантів А1298С поліморфізму був різним і мав такий вигляд: дослідна група – А/А – 42,6 %, А/С – 34,1 % і С/С – 23,3 %, контрольна група – 48,2; 43,5 і 8,2 % відповідно ($\chi^2 = 8,246$, $P = 0,016$). Тобто носії С/С-генотипу з ІМТ ≥ 25 кг/м² більш схильні до розвитку ІАТІ.

Таблиця 3.2.9 – Зв'язок A1298C поліморфізму гена MTHFR з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту в осіб з ІМТ < 25 кг/м² та ІМТ ≥ 25 кг/м²

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

Примітка. Див. табл. 3.2.3

Вищенаведене було підтверджене методом логістичної регресії. Гомозиготи за мінорним алелем з ІМТ ≥ 25 кг/м² у 3,2 раза (P = 0,013, OR = 3,195) більш схильні до розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту, ніж гомозиготи за основним алелем (табл. 3.2.10).

Таблиця 3.2.10 – Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за A1298C поліморфізмом гена MTHFR в осіб з ІМТ ≥ 25 кг/м²

Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95 % CI для OR нижній	95 % CI для OR верхній
A/C	0,120	0,304	0,157	0,692	0,886	0,489	1,608
C/C	1,162	0,468	6,167	0,013	3,195	1,277	7,990

Примітка. Див. табл. 3.2.2

Якщо проводити поділ представників контрольної та дослідної груп залежно від нормальної маси тіла (ІМТ < 25 кг/м²), надмірної ваги (ІМТ = 25–30 кг/м²) та ожиріння (ІМТ > 30 кг/м²), то жодної різниці у поділі генотипів не виявлено (P₁ = 0,960; P₂ = 0,086; P₃ = 0,087) (додаток Д).

Співвідношення генотипів залежно від ІМТ (< 25 кг/м² і ≥ 25 кг/м²) істотно не відрізнялося ні в осіб, хворих на ІАТІ (P = 0,646), ні у практично здорових осіб (P = 0,211) (додаток Е).

Під час поділу пацієнтів – носіїв різних генотипів (А/А, А/С, С/С) – контрольної та основної груп залежно від ІМТ було виявлено таке (табл. 3.2.11). У представників, хворих на ІАТІ з різним ІМТ, розподіл варіантів А1298С поліморфізму був різним і мав такий вигляд: ІМТ < 25 кг/м² – А/А – 41,5 %, А/С – 46,3 % і С/С – 12,2 %; ІМТ = 25–30 кг/м² – 52,9; 25,7 і 21,4 %; ІМТ > 30 кг/м² – 30,5; 44,1 і 25,4 % відповідно ($\chi^2 = 10,049$; P = 0,040) Гомозиготи за мінорним алелем (С/С) з ІМТ > 30 кг/м² більш схильні до ризику розвитку ІАТІ, ніж представники основного алеля.

Таблиця 3.2.11 – Частота генотипів за А1298С поліморфізмом гена МТНFR в осіб залежно від ІМТ у контрольній групі та у хворих на ІАТІ

	Генотип	ІМТ < 25 кг/м ² , n (%)	ІМТ = 25-30 кг/м ² , n (%)	ІМТ > 30 кг/м ² , n (%)
Контрольна група	А/А	16 (43,2)	28 (50,9)	13 (41,9)
	А/С	16 (43,2)	22 (40,0)	16 (51,6)
	С/С	5 (13,5)	5 (9,1)	2 (6,5)
	Разом	37 (100)	55 (100)	31 (100)
$\chi^2 = 1,976$; P = 0,740				
Хворі з ІАТІ	А/А	17 (41,5)	37 (52,9)	18 (30,5)
	А/С	19 (46,3)	18 (25,7)	26 (44,1)
	С/С	5 (12,2)	15 (21,4)	15 (25,4)
	Разом	41 (100)	70 (100)	59 (100)
$\chi^2 = 10,049$; P = 0,040				

Примітка. Див. табл. 3.2.3

Під час поділу пацієнтів – носіїв різних генотипів (А/А, А/С, С/С) – контрольної та дослідної груп залежно від ІМТ (< 25 кг/м² і ≥ 25 кг/м²) було виявлено, що пацієнти з генотипом С/С, порівняно з пацієнтами із генотипами А/А та А/С, більш схильні до розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту ($\chi^2 = 4,000$; P = 0,046) (табл. 3.2.12).

Таблиця 3.2.12 – Частота осіб-носіїв різних генотипів за A1298C поліморфізмом гена MTHFR залежно від ІМТ у групах порівняння

Генотип	Показник	Контроль, n (%)	IAT1, n (%)
A/A	ІМТ < 25 кг/м ²	16 (28,1)	17 (23,6)
	ІМТ ≥ 25 кг/м ²	41 (71,9)	55 (76,4)
	Разом	57 (100)	72 (100)
$\chi^2 = 0,332; P = 0,564$			
A/C	ІМТ < 25 кг/м ²	17 (31,5)	19 (30,2)
	ІМТ ≥ 25 кг/м ²	37 (68,5)	44 (69,8)
	Разом	54 (100)	63 (100)
$\chi^2 = 0,024; P = 0,877$			
C/C	ІМТ < 25 кг/м ²	5 (41,7)	5 (14,3)
	ІМТ ≥ 25 кг/м ²	7 (58,3)	30 (85,7)
	Разом	12 (100)	35 (100)
$\chi^2 = 4,000; P = 0,046$			

Примітка. Див. табл. 3.2.3

Під час поділу пацієнтів залежно від нормальної маси тіла (ІМТ < 25 кг/м²), надмірної ваги (ІМТ = 25–30 кг/м²) та ожиріння (ІМТ > 30 кг/м²) жодної різниці не було виявлено (додаток Ж).

Аналіз за показниками артеріального тиску. При вивченні показників АТ_{сист.}, АТ_{діаст.}, АТ_{пул.} і АТ_{сер.} у пацієнтів контрольної групи та у хворих з ІАТІ, які мають різний генотип за A1298C поліморфізмом, зроблено висновок, що всі чотири різновиди АТ істотно не відрізняються у носіїв з різними варіантами генотипів за досліджуваним поліморфізмом (табл. 3.2.13).

Аналіз між групами виявив подібні відмінності. У хворих гомозигот за основним алелем (A/A) показники деяких видів АТ були вищими, ніж в осіб контрольної групи: АТ_{сист.} – (166,67 ± 3,42) мм рт. ст. проти

(153,66 ± 3,18) мм рт. ст. (P = 0,008), АТ_{діаст} – (94,72 ± 1,46) мм рт. ст. проти (85,71 ± 1,74) мм рт. ст. (P < 0,001) і АТ_{сер} – (118,70 ± 1,96) мм рт. ст. проти (109,70 ± 2,04) мм рт. ст. (P = 0,002) (табл. 3.2.13).

Таблиця 3.2.13 – Показники артеріального тиску (АТ) загалом в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за А1298С поліморфізмом гена МТНFR (M ± m)

		A/A	A/C	C/C	F	P ₁
АТ сист	Контроль	153,66±3,18(56)	152,17±3,23(53)	150,00±6,48(12)	0,138	0,871
	IATP	166,67±3,42(72)	164,52±3,49(63)	172,00±5,45(35)	0,742	0,478
	P ₂	0,008	0,012	0,034		
АТ діаст	Контроль	85,71±1,74	85,28±1,61	84,58±3,45	0,658	0,520
	IATP	94,72±1,46	94,60±2,12	98,00±3,20	0,634	0,532
	P ₂	< 0,001	< 0,001	0,027		
АТ пул	Контроль	65,95±2,37	66,89±2,54	65,42±5,48	0,052	0,949
	IATP	71,94±2,59	69,92±2,59	74,00±3,69	0,422	0,656
	P ₂	0,099	0,409	0,232		
АТ сер	Контроль	109,70±2,04	107,58±1,95	106,39±3,91	0,416	0,660
	IATP	118,70±1,96	117,91±2,36	122,67±3,70	0,786	0,457
	P ₂	0,002	< 0,001	0,020		

Примітка. Див. табл. 3.2.7

У хворих гетерозигот (A/C) різниця була ідентичною, що й у носів A/A-генотипу: АТ_{сист} ((164,52 ± 3,49) мм рт. ст. проти (152,17 ± 3,23) мм рт. ст., P = 0,012), АТ_{діаст} ((94,60 ± 2,12) мм рт. ст. проти (85,28 ± 1,61) мм рт. ст., P < 0,001) та АТ_{сер} ((117,91 ± 2,36) мм рт. ст. проти (107,58 ± 1,95) мм рт. ст., P < 0,001).

У гомозигот за мінорним алелем (C/C) також була виявлена розбіжність між показниками АТ_{сист} ((172,00 ± 5,45) мм рт. ст. проти (150,00 ± 6,48) мм рт. ст., P = 0,034), АТ_{діаст} ((98,00 ± 3,20) мм рт. ст. проти (84,58 ±

3,45) мм рт. ст., $P = 0,027$) та $AT_{сер}$ ($(122,67 \pm 3,70)$ мм рт. ст. проти $(106,39 \pm 3,91)$ мм рт. ст., $P = 0,020$).

Дослідження артеріального тиску осіб жіночої статі виявило таке (табл. 3.2.14). Під час вивчення показників $AT_{сист}$, $AT_{діаст}$, $AT_{пул}$ і $AT_{сер}$ у жінок контрольної та дослідної груп, які мають різний генотип за A1298C поліморфізмом помічено, що всі чотири різновиди АТ істотно не відрізняються у носіїв із різними варіантами генотипів.

Проте аналіз між групами виявив, що у хворих жінок-носіїв С/С-генотипу показники всіх видів АТ, крім пульсового, вищі, ніж у представниць контрольної групи: $AT_{сист}$ – $(171,32 \pm 5,37)$ мм рт. ст. проти $(150,71 \pm 5,30)$ мм рт. ст. ($P = 0,013$), $AT_{діаст}$ – $(97,65 \pm 2,46)$ мм рт. ст. проти $(87,14 \pm 2,50)$ мм рт. ст. ($P = 0,006$) та $AT_{сер}$ – $(122,21 \pm 3,19)$ мм рт. ст. проти $(108,33 \pm 3,11)$ мм рт. ст. ($P = 0,005$).

У жінок-гетерозигот (А/С) також усі показники артеріального тиску, крім пульсового, були вищими у хворих з ІАТІ, ніж у контролі: $AT_{сист}$ – $(174,00 \pm 5,60)$ мм рт. ст. проти $(149,12 \pm 5,41)$ мм рт. ст. ($P = 0,004$), $AT_{діаст}$ – $(100,60 \pm 3,52)$ мм рт. ст. проти $(84,71 \pm 2,29)$ мм рт.ст. ($P = 0,002$) та $AT_{сер}$ – $(125,07 \pm 3,98)$ мм рт. ст. проти $(106,18 \pm 2,98)$ мм рт. ст. ($P = 0,001$).

У жінок гомозигот за мінорним алелем, як і у носіїв основного алелю, були одержані ідентичні результати: $AT_{сист}$ – $(173,08 \pm 9,43)$ мм рт. ст. проти $(140,83 \pm 10,20)$ мм рт. ст. ($P = 0,054$), $AT_{діаст}$ – $(98,46 \pm 3,55)$ мм рт. ст. проти $(84,17 \pm 5,83)$ мм рт. ст. ($P = 0,043$) та $AT_{сер}$ – $(123,33 \pm 5,09)$ мм рт. ст. проти $(103,06 \pm 6,21)$ мм рт. ст. ($P = 0,031$) (табл. 3.2.14).

Вивчення артеріального тиску осіб чоловічої статі відобразило таке (табл. 3.2.14). Під час дослідження показників $AT_{сист}$, $AT_{діаст}$, $AT_{пул}$ і $AT_{сер}$ чоловіків контрольної та дослідної груп, які мають різний генотип за A1298C поліморфізмом, виявлено, що всі чотири різновиди АТ істотно не відрізняються у носіїв із різними варіантами генотипів. Аналіз між групами також не дав жодних асоціацій.

Таблиця 3.2.14 – Показники артеріального тиску (АТ) в осіб жіночої та чоловічої статей у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за А1298С поліморфізмом гена МТНFR (M ± m)

		<i>A/A</i>	<i>A/C</i>	<i>C/C</i>	<i>F</i>	<i>P₁</i>
<i>Жінки</i>						
АТ сист	Контроль	150,71±5,30(21)	149,12±5,41(17)	140,83±10,20(6)	0,411	0,666
	ІАТІ	171,32±5,37(34)	174,00±5,60(25)	173,08±9,43(13)	0,057	0,945
	P ₂	0,013	0,004	0,054		
АТ діаст	Контроль	87,14±2,50	84,71±2,29	84,17±5,83	0,300	0,742
	ІАТІ	97,65±2,46	100,60±3,52	98,46±3,55	0,273	0,762
	P ₂	0,006	0,002	0,043		
АТ пул	Контроль	63,57±4,17	64,41±4,43	56,67±9,19	0,380	0,686
	ІАТІ	73,68±3,94	73,40±3,59	74,62±7,39	0,013	0,987
	P ₂	0,098	0,122	0,172		
АТ сер	Контроль	108,33±3,11	106,18±2,98	103,06±6,21	0,376	0,689
	ІАТІ	122,21±3,19	125,07±3,98	123,33±5,09	0,163	0,850
	P ₂	0,005	0,001	0,031		
<i>Чоловіки</i>						
АТ сист	Контроль	155,43±3,99(35)	153,61±4,05(36)	159,17±6,88(6)	0,161	0,852
	ІАТІ	162,50±4,31(38)	158,29±4,22(38)	171,36±6,82(22)	1,564	0,215
	P ₂	0,235	0,427	0,381		
АТ діаст	Контроль	88,06±2,38	85,56±2,13	85,00±4,28	0,366	0,695
	ІАТІ	92,11±1,61	90,66±2,49	97,73±4,70	1,533	0,221
	P ₂	0,157	0,126	0,186		
АТ пул	Контроль	67,37±2,86	68,06±3,11	74,17±4,17	0,392	0,677
	ІАТІ	70,39±3,44	67,63±3,57	73,64±4,09	0,573	0,566
	P ₂	0,506	0,928	0,949		
АТ сер	Контроль	110,51±2,70	108,24±2,52	109,72±4,91	0,197	0,822
	ІАТІ	115,57±2,30	113,20±2,69	122,27±5,15	1,861	0,161
	P ₂	0,156	0,184	0,234		

Примітка. Див. табл. 3.2.7

При поділі пацієнтів дослідної та контрольної груп на тих, які мали нормальний та підвищений артеріальний тиск (систоличний АТ > 140 мм рт. ст., діастолічний АТ > 90 мм рт. ст.), не було помічено залежності між А1298С поліморфізмом та вивченим показником (додаток И).

Водночас застосування χ^2 -критерію Пірсона продемонструвало, що у представників обох груп розподіл алельних варіантів А1298С поліморфізму не відрізнявся у пацієнтів із гіпертензією і в осіб із нормальним артеріальним тиском (додаток К).

Аналіз частоти осіб гіпертоніків та нормотоніків серед носіїв різних генотипів у дослідній і контрольній групах дав такі результати (табл. 3.2.15).

Таблиця 3.2.15 – Частота осіб із нормальним і підвищеним артеріальним тиском у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за А1298С поліморфізмом гена МТНFR

Генотип	Показник	Контроль, n (%)	ІАТІ, n (%)
А/А	Нормальний АТ	21 (37,5)	18 (25,0)
	Підвищений АТ	35 (62,5)	54 (75,0)
	Разом	56 (100)	72 (100)
$\chi^2 = 2,323; P = 0,127$			
А/С	Нормальний АТ	23 (43,4)	15 (23,8)
	Підвищений АТ	30 (56,6)	48 (76,2)
	Разом	53 (100)	63 (100)
$\chi^2 = 5,013; P = 0,025$			
С/С	Нормальний АТ	4 (33,3)	9 (25,7)
	Підвищений АТ	8 (66,7)	26 (74,3)
	Разом	12 (100)	35 (100)
$\chi^2 = 0,259; P = 0,611$			

Примітка. Див. табл. 3.2.3.

Гетерозигот А/С хворих на інсульт було 76,2 % з підвищеним АТ і 23,8 % з нормальним тиском. Серед осіб контрольної групи це співвідношення становило 56,6 та 43,4 % відповідно. Показник P, розрахований за χ^2 -критерієм Пірсона, дорівнював 0,025, що свідчить про існування зв'язку між ІАТІ і величиною АТ у носіїв А/С-генотипу. У гетерозигот із гіпертензією ризик розвитку ІАТІ більший, ніж у гетерозигот із нормальним АТ. Для носіїв А/А- та С/С-генотипів такої залежності не виявлено.

Аналіз за фактом паління. Розподіл генотипів за A1298C поліморфізмом гена MTHFR у групі тих, які не палять і тих, які палять не був статистично достовірним (додаток Л).

Під час поділу пацієнтів – носіїв різних генотипів (A/A, A/C, C/C) – контрольної та дослідної груп залежно від факту паління також не було зафіксовано жодних асоціацій (додаток М).

Аналіз частоти осіб, які палять та які не палять, серед носіїв різних генотипів у дослідній і контрольній групах показав таке (додаток Н). Для носіїв A/A-, A/C- та C/C-генотипів ніякої залежності між A1298C поліморфізмом та розвитком ІАТІ, враховуючи такий фактор ризику, як паління виявлено не було.

Аналіз за показниками рівня глюкози в крові. Аналіз показників рівня глюкози у пацієнтів з ІАТІ та осіб контрольної групи не виявив статистично значущих відмінностей у носіїв різних генотипів ($P = 0,459$ та $P = 0,637$ відповідно) (табл. 3.2.16).

Різниця ж показників рівня глюкози серед вивчених груп була достовірною у носіїв основного алеля: у гомозигот A/A ($6,05 \pm 0,09$) ммоль/л проти ($5,21 \pm 0,19$) ммоль/л, $P < 0,001$) та у гетерозигот A/C ($5,84 \pm 0,18$) ммоль/л проти ($5,37 \pm 0,09$) ммоль/л, $P = 0,027$).

Під час порівняння показників рівня глюкози в осіб жіночої і чоловічої статей залежно від генотипу пацієнтів за A1298C поліморфізмом гена MTHFR було з'ясовано, що у кожній групі (хворих з ІАТІ та контрольній, як у жінок, так і у чоловіків) середні значення цих показників істотно не відрізнялися, тобто не залежали від зазначеного генетичного поліморфізму (табл. 3.2.16).

Щодо порівняння між групами, то знайдені певні відмінності. У хворих жінок показники рівня глюкози ($6,38 \pm 0,32$) ммоль/л проти ($5,21 \pm 0,15$) ммоль/л, $P = 0,008$) та чоловіків ($5,76 \pm 0,22$) ммоль/л проти ($5,21 \pm 0,13$) ммоль/л, $P = 0,037$), носіїв A/A-генотипу, були вищими, ніж у представників контрольної групи обох статей із відповідним генотипом. Для

жінок та чоловіків-носіїв А/С- та С/С-генотипів обох груп ніякої залежності не виявили (табл. 3.2.16).

Таблиця 3.2.16 – Значення глюкози крові в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за А1298С поліморфізмом гена МТНFR (М ± m)

	<i>A/A</i>	<i>A/C</i>	<i>C/C</i>	<i>F</i>	<i>P₁</i>
<i>Загалом</i>					
Контроль	5,21±0,09(57)	5,37±0,09 (55)	5,30±0,17(12)	0,707	0,495
IАТІ	6,05±0,19 (72)	5,84±0,18 (63)	5,81±0,25(35)	0,452	0,637
P ₂	<0,001	0,027	0,254		
<i>Жінки</i>					
Контроль	5,21±0,15(21)	5,42±0,18(18)	5,62±0,19(6)	0,976	0,385
IАТІ	6,38±0,32(34)	6,07±0,35(25)	6,10±0,45(13)	0,259	0,772
P ₂	0,008	0,148	0,493		
<i>Чоловіки</i>					
Контроль	5,21±0,13(36)	5,34±0,11(37)	4,98±0,22(6)	0,781	0,461
IАТІ	5,76±0,22(38)	5,68±0,19(38)	5,64±0,28(22)	0,064	0,939
P ₂	0,037	0,128	0,245		

Примітка. Див. табл. 3.2.7

Отже, виявлено зв'язок між ішемічним атеротромботичним інсультом і А1298С поліморфним варіантом гена МТНFR. Ризик розвитку ІАТІ у гомозигот за «патологічним» С-алелем вищий, ніж у носіїв основного алеля. Також спостерігається більша схильність до розвитку ІАТІ в осіб чоловічої статі з генотипом С/С, ніж у представників із генотипом А/А. Установлено зв'язок А1298С поліморфізму з деякими факторами ризику ІАТІ: індексом маси тіла, артеріальною гіпертензією та палінням.

3.3. Комплексний вплив C677T та A1298C поліморфізмів гена MTHFR на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту

Наступним кроком нашого дослідження стало вивчення поєднаного впливу C677T та A1298C поліморфізмів гена MTHFR і з'ясування їх спільного внеску в розвиток ІАТІ. Використовуючи сучасні підходи до статистичного аналізу, ми створили так звані класифікаційні моделі, що дозволяють прогнозувати ризик розвитку хвороби у загальній популяції, а також діагностувати недугу в необстежених пацієнтів. Для оцінювання комплексного впливу вивчених локусів гена MTHFR на розвиток ІАТІ та моделювання їх взаємодії був використаний метод мультифакторної просторової редукції (MDR).

На рисунку 3.3.1 відображена комбінація генотипів C667T та A1298C поліморфізмів гена MTHFR. Наведена класифікаційна модель мала прогностичну здатність 59 % на навчальній (Training Balanced Accuracy) і 52 % – на тестованій вибірці (Testing Balanced Accuracy) з крос-перевірною здатністю 8/10 (Crossvalidation Consistency). Виявлено, що збіг гомозиготи за мінорним алелем за одним із обраних SNP та одним із трьох можливих генотипів за іншим SNP асоціюється з високим ризиком розвитку ІАТІ. При цьому збіг двох гомозигот за основним алелем також призводить до значного збільшення ризику розвитку ІАТІ.

Також методом MDR встановлено, що частка ентропії (найбільший незалежний ефект) щодо статусу «випадок – контроль» пов'язана з локусами C667T та A1298C і дорівнює 1,57; 1,67 % відповідно (рис. 3.3.2). При цьому аналіз міжлокусних взаємодій виявив відсутність синергічного ефекту між досліджуваними поліморфними сайтами гена MTHFR. Навпаки, між ними спостерігався слабкий нейтралізуючий ефект (-0,82 %). Застосування пермутаційних (рандомізованих) тестів показало, що наведена двокомпонентна модель є статистично значущою на рівні $p < 0,05$.

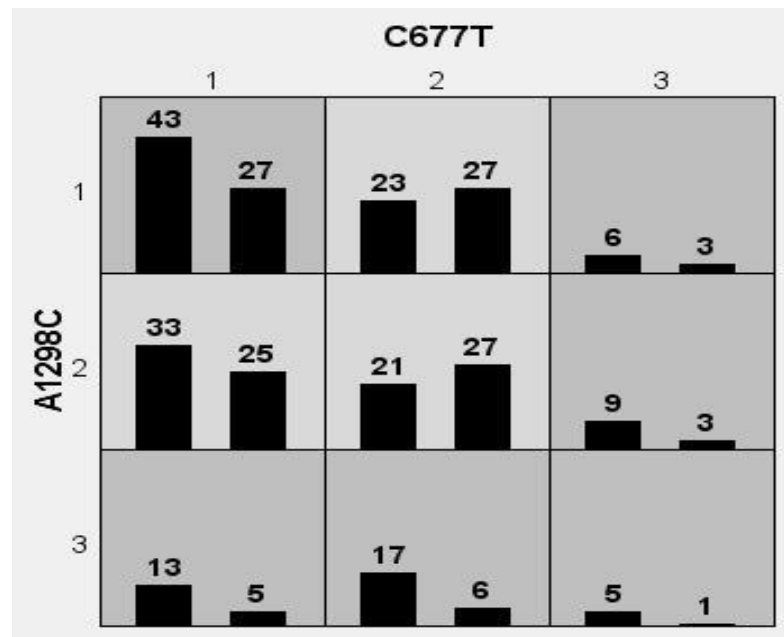


Рисунок 3.3.1 – Відображення комбінації генотипів за C677T та A1298C поліморфізмами, пов'язаних із високим і низьким рівнями ризику ІАТІ. Лівий стовпчик у межах кожної клітинки відображає кількість випадків, правий стовпчик – кількість контролю. Темно-сірі клітинки відповідають високому ризику, а світло-сірі – низькому ризику розвитку ІАТІ

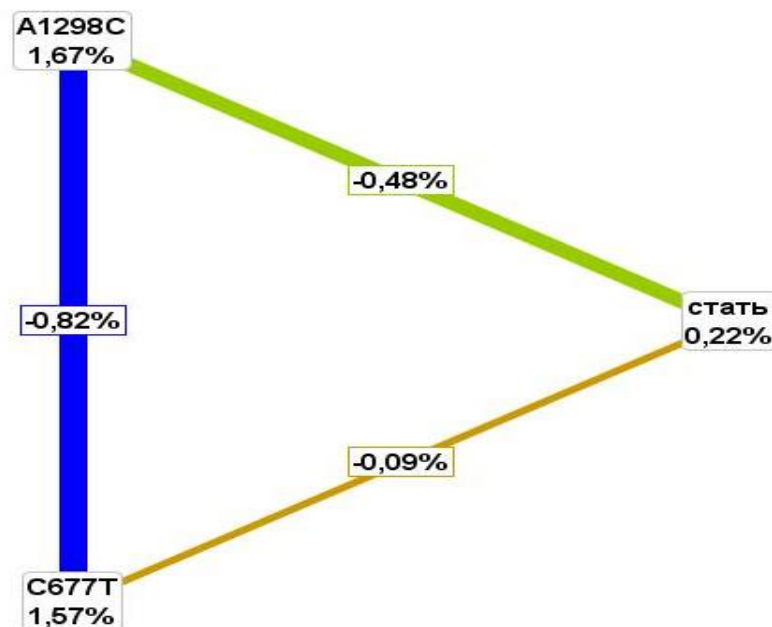


Рисунок 3.3.2 – Графік кластерного аналізу результатів моделювання міжлокусної взаємодії методом MDR при ІАТІ. Синім позначена нейтралізуюча взаємодія, коричневим – відсутність взаємодії

З метою поглибленого дослідження поєднаного впливу окреслених у роботі поліморфних варіантів на розвиток ІАТІ ми провели аналіз за допомогою методу MDR серед осіб різної статі. Таким чином, з'ясувалося, що у жінок двокомпонентна модель мала Training Balanced Accuracy 58 %, а Testing Balanced Accuracy всього лише 43 % із крос-перевірною здатністю 7/10, що свідчить про її доволі слабку класифікаційну здатність (рис. 3.3.3).

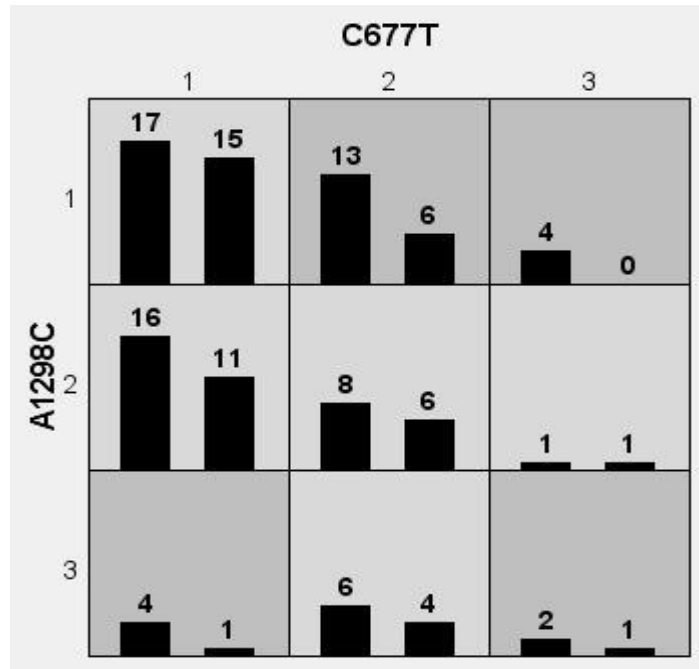


Рисунок 3.3.3 – Відображення комбінації генотипів за C677T та A1298C поліморфізмами, пов'язаних із високим і низьким рівнями ризику ІАТІ в осіб жіночої статі. Лівий стовпчик у межах кожної клітинки відображає кількість випадків, правий стовпчик – кількість контролю. Темно-сірі клітинки відповідають високому ризику, а світло-сірі – низькому ризику розвитку ІАТІ

Проте з'ясувалося, що на відміну від даних, одержаних для загальної вибірки, серед жінок наявний синергізм між C677T та A1298C локусами гена MTHFR (0,77 %) (рис. 3.3.4). Однак пермутаційні тести показали, що ця модель не досягає рівня статистичної значущості ($P > 0,05$).



Рисунок 3.3.4 – Графік кластерного аналізу результатів моделювання міжлокусної взаємодії методом MDR при ІАТІ серед осіб жіночої статі. Червоним позначена синергічна взаємодія

Цікавими виявилися результати аналізу даних серед осіб чоловічої статі. Було з'ясовано, що класифікаційна здатність створеної двокомпонентної моделі, порівняно з даними для обох статей підвищилася. Так, Training Balanced Accuracy зросла до 66 %, а Testing Balanced Accuracy – до 62 %. Крос-перевірна здатність була максимальною і становила 10/10. Установлено, що збіг гомозиготи за мінорним алелем за A1298C поліморфізмом з будь-яким іншим генотипом за C667T локусом асоціюється з високим ризиком розвитку ІАТІ (рис 3.3.5). Необхідно зазначити, що збіг двох гомозигот за основним алелем, а також гетерозиготи за A1298C поліморфним варіантом і гомозиготи за мінорним алелем за C667T поліморфізмом призводить до значного збільшення ризику розвитку ІАТІ. Застосування рандомізованих тестів показало, що наведена двофакторна модель є статистично значимою на рівні $P < 0,05$.

Методом MDR встановлено, що частка ентропії щодо статусу «випадок – контроль», пов'язана з локусами C667T та A1298C, зросла у чоловіків до 3,52 та 3,42 % відповідно (рис. 3.3.6). Характер міжлокусної взаємодії характеризувався синергічним впливом, що в цьому випадку становив 0,82 %. Проведення рандомізованих тестів з'ясувало, що зазначена модель серед осіб чоловічої статі досягає рівня статистичної значущості ($P < 0,05$).

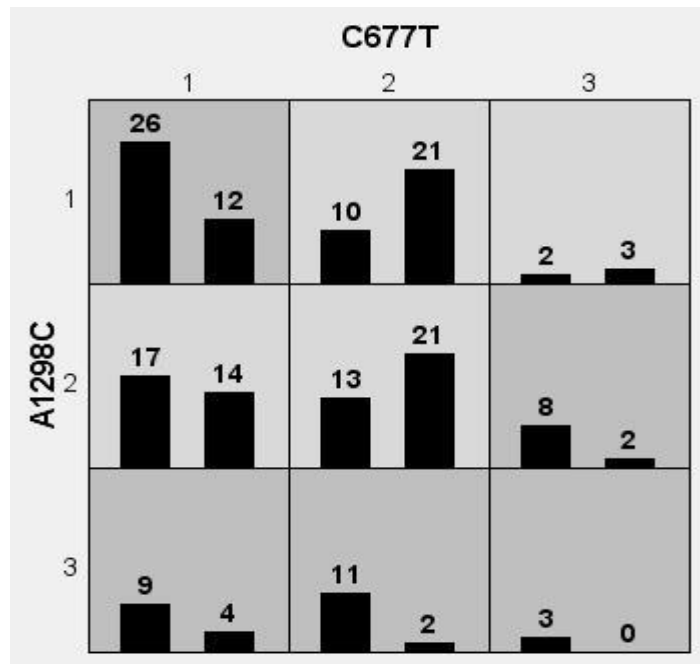


Рисунок 3.3.5 – Відображення комбінації генотипів за C677T та A1298C поліморфізмами, пов'язаних із високим і низьким рівнями ризику ІАТІ, в осіб чоловічої статі. Лівий стовпчик у межах кожної клітинки відображає кількість випадків, правий стовпчик – кількість контролю. Темно-сірі клітинки відповідають високому ризику, а світло-сірі – низькому ризику розвитку ІАТІ

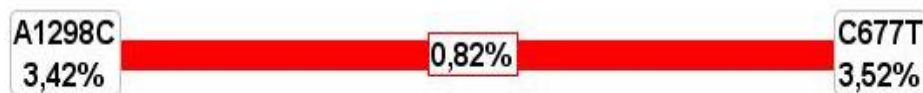


Рисунок 3.3.6 – Графік кластерного аналізу результатів моделювання міжгенної взаємодії методом MDR при ІАТІ серед осіб чоловічої статі. Червоним і оранжевим позначена синергічна взаємодія, коричневим – відсутність взаємодії

Таким чином, в осіб чоловічої статі збіг гомозиготи за мінорним алелем за A1298C поліморфізмом із будь-яким іншим генотипом за C677T локусом асоціюється з високим ризиком розвитку ІАТІ. Збіг двох гомозигот за основним алелем, або гетерозиготи за A1298C поліморфним варіантом і гомозиготи за мінорним алелем за C677T поліморфізмом призводить до значного збільшення ризику розвитку ІАТІ.

3.4. Вплив С677Т та А1298С поліморфних варіантів гена МТНFR на основні характеристики гострої атеротромботичної ішемії мозку

Аналіз даних про зв'язок С677Т поліморфізму гена МТНFR з ІАТІ залежно від обсягу уражень не виявив жодних асоціацій між вивченим SNP та досліджуваною характеристикою ІАТІ.

Проведеними дослідженнями з'ясовано, що не існує залежності між генотипом пацієнтів за поліморфізмом С677Т, з одного боку, і ділянками артеріального басейну, атеротромботичні зміни яких призводять до ІАТІ, з іншого (додаток П). Проте така залежність виявляється, якщо хворих з ІАТІ з різною зоною ураження поділити на підгрупи щодо маси тіла на тих, хто мав нормальну вагу, та тих, у кого було ожиріння (табл. 3.4.1).

Таблиця 3.4.1 – Вплив С677Т поліморфізму гена МТНFR на розвиток варіантів ІАТІ за ураженням артеріальним басейном в осіб з нормальною масою тіла та ожирінням

	Генотип	Передня, середні, задня мозкові артерії, n (%)	Вертебральні та базилярна артерії, n (%)	Поєднані варіанти, n (%)
Нормальна маса тіла	С/С	41 (48,8)	14 (77,8)	1 (11,1)
	С/Т	32 (30,1)	3 (16,7)	6 (66,7)
	Т/Т	11 (13,1)	1 (5,5)	2 (22,2)
	Разом	84 (100)	18 (100)	9 (100)
$\chi^2 = 11,042; P = 0,026$				
Ожиріння	С/С	27(56,25)	3 (50,0)	3 (60,0)
	С/Т	15 (31,25)	3 (50,0)	2 (40,0)
	Т/Т	6 (12,5)	0 (0)	0 (0)
	Разом	48 (100)	6 (100)	5 (100)
$\chi^2 = 2,042; P = 0,728$				

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

Співвідношення гомозигот за основним алелем, гетерозигот та гомозигот за мінорним алелем серед пацієнтів із нормальною масою тіла з ураженням передньої, середніх і задньої мозкових артерій становило відповідно 48,8; 30,1; 13,1 %, вертебральних і базилярної артерій – 77,8; 16,7; 5,5 % та поєднаних варіантів – 11,1; 66,7; 22,2 % ($P = 0,026$). Отже, у гомозигот С/С частіше страждають вертебральні та базилярна артерії. У пацієнтів з ожирінням цей розподіл дав такі результати: 56,25; 31,25; 12,5 % та 50,0; 0 % та 60,0; 40,0; 0 % відповідно ($P = 0,728$). Таким чином, у пацієнтів з нормальною масою тіла існує зв'язок між Т/Т-генотипом за С677Т поліморфізмом і ділянкою ураження.

Проведений аналіз показав відсутність асоціації досліджуваного нами SNP з тяжкістю перебігу ІАТІ (додаток Р).

За умови, якщо статистичний аналіз проводити з урахуванням фактора ризику атеротромботичних ускладнень – артеріальної гіпертензії, то виявляється таке. Співвідношення гомозигот за основним алелем, гетерозигот та гомозигот за мінорним алелем серед хворих, які мали нормальний артеріальний тиск, залежно від ступеня тяжкості перебігу становило відповідно: легкий ступінь – 71,4; 28,6; 0 %; середньої тяжкості – 56,25; 18,75; 25,0 %; тяжкий ступінь – 25,0; 66,7; 8,3 % ($P = 0,022$) (табл. 3.4.2).

У пацієнтів з підвищеним артеріальним тиском розподіл був таким: легкий ступінь – 48,8; 36,6; 14,6%; середньої тяжкості – 50,0; 38,0; 12,0 %; тяжкий ступінь – 59,0; 32,4; 8,1 % ($P = 0,842$). Таким чином, існує зв'язок між С/С генотипом та ступенем тяжкості перебігу (легкого ступеню), враховуючи такий показник, як артеріальна гіпертензія (табл. 3.4.2).

Таблиця 3.4.2 – Вплив С677Т поліморфізму гена MTHFR на тяжкість клінічного перебігу ІАТІ в осіб із нормальним та підвищеним артеріальним тиском

	Генотип	Ступінь тяжкості перебігу		
		легкий, n (%)	середньої тяжкості, n (%)	тяжкий, n (%)
Нормальний АТ	С/С	10 (71,4)	9 (56,25)	3 (25,0)
	С/Т	4 (28,6)	3 (18,75)	8 (66,7)
	Т/Т	0 (0)	4 (25,0)	1 (8,3)
	Разом	14 (100)	16 (100)	12 (100)
$\chi^2 = 11,541; P = 0,021$				
Підвищений АТ	С/С	20 (48,8)	25 (50,0)	22 (59,0)
	С/Т	15 (36,6)	19 (38,0)	12 (32,4)
	Т/Т	6 (14,6)	6 (12,0)	3 (8,1)
	Разом	41 (100)	50 (100)	37 (100)
$\chi^2 = 1,413; P = 0,842$				

Примітка. Див. табл. 3.4.1

С677Т поліморфізм гена MTHFR не впливав і на частоту повторних випадків інсульту (додаток С). Співвідношення між первинним і повторними ІАТІ у гомозигот за основним алелем і в носіїв мінорного алеля було приблизно однаковим ($P = 0,448$).

Аналіз даних про асоціацію А1298С поліморфізму гена MTHFR із різними клінічними варіантами ішемічного атеротромботичного інсульту виявив таке. Вивчення зв'язку А1298С поліморфізму з ІАТІ залежно від обсягу уражень в осіб жіночої та чоловічої статей не показало жодних асоціацій між вивченим SNP та досліджуваною характеристикою ІАТІ (додаток Т).

Проведений аналіз виявив зв'язок між А1298С поліморфізмом та варіантом ІАТІ залежно від обсягу уражень в осіб із нормальною масою тіла та ожирінням (табл. 3.4.3). У представників з нормальною масою тіла, хворих на ІАТІ з різним обсягом ураження, розподіл варіантів А1298С поліморфізму був різним і мав такий вигляд: тотальний – А/А – 35,7 %, А/С – 56,3 % і С/С

– 6,3 %; кінцевий – 0; 0 і 100,0 %; лакунарний – 62,5; 12,5 і 25,0 % відповідно ($\chi^2 = 12,833$; $P = 0,012$). Таким чином, у гомозигот за мінорним алелем з нормальною масою тіла кінцевий інсульт траплявся частіше, ніж тотальний та лакунарний ($\chi^2 = 12,833$; $P = 0,012$).

Таблиця 3.4.3 – Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ за обсягом ураження в осіб з нормальною масою тіла та ожирінням

	Генотип	Тотальний, n (%)	Кінцевий, n (%)	Лакунарний, n (%)
Нормальна маса тіла	A/A	12 (37,5)	0 (0)	5 (62,5)
	A/C	18 (56,3)	0 (0)	1 (12,5)
	C/C	2 (6,3)	1 (100,0)	2 (25,0)
	Разом	32 (100)	1 (100)	8 (100)
$\chi^2 = 12,833$; $P = 0,012$				
Ожиріння	A/A	29 (40,8)	3 (75,0)	21 (42,9)
	A/C	29 (40,8)	0 (0)	13 (26,5)
	C/C	13 (18,3)	1 (25,0)	15 (30,6)
	Разом	71 (100)	4 (100)	49 (100)
$\chi^2 = 6,068$; $P = 0,194$				

Примітка. Див. табл. 3.4.1

Таку саму залежність виявлено і при поділі пацієнтів залежно від маси тіла (ІМТ < 25 кг/м², ІМТ = 25–30 кг/м² та ІМТ > 30 кг/м²) (табл. 3.4.4). У представників з ІМТ < 25 кг/м², хворих на ІАТІ з різним обсягом ураження, розподіл варіантів A1298C поліморфізму був різним і мав такий вигляд: тотальний – A/A – 37,5 %, A/C – 56,3 % і C/C – 12,5 %; кінцевий – 0; 0 і 100,0 %; лакунарний – 62,5; 12,5 і 25,0 % відповідно ($\chi^2 = 12,833$; $P = 0,012$). Таким чином, у гомозигот за мінорним алелем ІМТ < 25 кг/м² кінцевий інсульт трапляється частіше, ніж тотальний та лакунарний ($\chi^2 = 12,833$; $P = 0,012$).

Таблиця 3.4.4 – Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ за обсягом ураження в осіб з ІМТ

	<i>Генотип</i>	<i>Тотальний, n (%)</i>	<i>Кінцевий, n (%)</i>	<i>Лакунарний, n (%)</i>
ІМТ < 25 кг/м ²	A/A	12 (37,5)	0(0)	5 (62,5)
	A/C	18 (56,3)	0 (0)	1 (12,5)
	C/C	2 (12,5)	1 (100,0)	2 (25,0)
	Разом	32 (100)	1 (100)	8 (100)
$\chi^2 = 12,833; P = 0,012$				
ІМТ = 25-30 кг/м ²	A/A	19 (51,4)	1(100)	16 (53,3)
	A/C	12 (32,4)	0 (0)	5 (16,7)
	C/C	6 (16,2)	0 (0)	9 (30,0)
	Разом	37 (100)	1 (100)	30 (100)
$\chi^2 = 3,989; P = 0,408$				
ІМТ > 30 кг/м ²	A/A	10 (29,4)	2 (66,7)	5 (26,3)
	A/C	17 (50,0)	0 (0)	8 (42,1)
	C/C	7 (20,6)	1 (33,3)	6 (31,6)
	Разом	34 (100)	3 (100)	19 (100)
$\chi^2 = 3,677; P = 0,451$				

Примітка. Див. табл. 3.2.3

Також виявлений зв'язок A1298C поліморфізму з ІАТІ залежно від обсягу уражень в осіб, які не палять та які палять (табл. 3.4.5). У представників, які не палять, хворих на ІАТІ з різним обсягом ураження, розподіл варіантів A1298C поліморфізму був різним і мав такий вигляд: тотальний – A/A – 36,2 %, A/C – 49,3 % і C/C – 14,5 %; кінцевий – 75,0; 0 і 25,0 %; лакунарний – 38,5; 27,3 і 34,1 % відповідно ($\chi^2 = 11,073; P = 0,026$). Таким чином, у гомозигот за основним алелем, які не палять, частіше траплявся кінцевий інсульт.

Таблиця 3.4.5 – Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ за обсягом ураження в осіб, які палять і які не палять

	Генотип	Тотальний, n (%)	Кінцевий, n (%)	Лакунарний, n (%)
Ті, які не палять	A/A	25 (36,2)	3 (75,0)	17 (38,5)
	A/C	34 (49,3)	0 (0)	12 (27,3)
	C/C	10 (14,5)	1 (25,0)	15 (34,1)
	Разом	69 (100)	4 (100)	44 (100)
$\chi^2 = 11,073; P = 0,026$				
Ті, які палять	A/A	16 (47,1)	0 (0)	9 (69,2)
	A/C	13 (38,2)	0 (0)	2 (15,4)
	C/C	5 (14,7)	1 (100)	2 (15,4)
	Разом	34 (100)	1 (100)	13 (100)
$\chi^2 = 7,568; P = 0,109$				

Примітка. Див. табл. 3.4.1

Проте вивчення зв'язку A1298C поліморфізму з ІАТІ залежно від обсягу уражень в осіб із нормальним та підвищеним артеріальним тиском не виявило жодних асоціацій між вивченим SNP та досліджуваною характеристикою ІАТІ (додаток У).

Одержані результати свідчать, що немає залежності між генотипом пацієнтів за A1298C поліморфізмом, які вивчалися, з одного боку, і ділянками артеріального басейну, атеротромботичні зміни яких спричиняють ІАТІ, – з іншого (додаток Ф). Такої залежності не було виявлено навіть з урахуванням таких факторів ризику, як стать (додаток Х), надмірна вага (додатки Ц, Ш), артеріальна гіпертензія (додаток Щ) та факт паління (додаток Ю).

За тяжкістю клінічного перебігу було виділено ІАТІ: 1) легкого, 2) середньої тяжкості і 3) тяжкого ступенів. Проведений аналіз показав відсутність асоціації досліджуваного нами SNP з тяжкістю перебігу ІАТІ, не зважаючи на традиційні фактори ризику: стать (додаток Я), надмірну вагу (додатки 1 та 2), артеріальну гіпертензію (додаток 3) та факт паління (додаток 4).

Вивчений A1298C поліморфізм гена MTHFR не впливав і на частоту повторних випадків інсульту. Вплив SNP на повторюваність інсульту в осіб жіночої статі не був виявлений ($\chi^2 = 0,918$; $P = 0,632$) (табл. 3.4.6). Кардинально відмінний результат встановлено в осіб чоловічої статі. Співвідношення гомозигот за основним алелем, гетерозигот і гомозигот за мінорним алелем серед пацієнтів із первинним ІАТІ становило відповідно 50,0; 31,5; 18,5 % і серед осіб, які зазнали повторних інсультів, – 25,0; 47,7; 27,3 % ($P = 0,041$). Отже, гомозиготи С/С більш схильні до повторних інсультів, ніж носії основного А-алеля.

Таблиця 3.4.6 – Зв'язок A1298C поліморфізму гена MTHFR з повторністю ІАТІ в осіб жіночої та чоловічої статей

	<i>Генотип</i>	<i>Первинний, n (%)</i>	<i>Повторний, n (%)</i>
Жінки	A/A	25 (49,0)	9 (42,9)
	A/C	16 (31,4)	9 (42,9)
	C/C	10 (19,6)	3 (14,3)
	Разом	14 (100)	19 (100)
$\chi^2 = 0,918$; $P = 0,632$			
Чоловіки	A/A	27 (50,0)	11 (25,0)
	A/C	17 (31,5)	21 (47,7)
	C/C	10 (18,5)	12 (27,3)
	Разом	54 (100)	44 (100)
$\chi^2 = 6,386$; $P = 0,041$			

Примітка. Див. табл. 3.4.1

Такий зв'язок також виявили під час проведення аналізу між A1298C поліморфізмом та повторюваністю ІАТІ з урахуванням факту паління (табл. 3.4.7). Серед пацієнтів, які не палять і мають інсульт первинно, співвідношення А/А-, А/С-, С/С-генотипів становило відповідно 45,0; 31,3; 23,8 %, а серед осіб, які мають ІАТІ повторно, – 25,0; 55,0; 20,0 % ($P = 0,034$). Таким чином, гетерозиготи А/С, які не палять, більш схильні до повторних інсультів, ніж гомозиготи за основним та мінорним алелями. Співвідношення

A/A-, A/C-, C/C-генотипів серед пацієнтів, які палять і мають ІАТІ первинно, становило відповідно 64,0; 32,0; 4,0 %, а серед осіб, які палять та мають ІАТІ повторно, – 40,0 %, 32,0 %, 28,0 % ($P = 0,053$). Тобто, гомозиготи C/C, які палять, більш схильні до повторних інсультів, ніж носії A/A- та A/C-алелів.

Таблиця 3.4.7 – Зв'язок A1298C поліморфізму гена MTHFR з повторністю ІАТІ в осіб, які палять і які не палять

	<i>Генотип</i>	<i>Первинний, n (%)</i>	<i>Повторний, n (%)</i>
Ті, які не палять	A/A	36 (45,0)	10 (25,0)
	A/C	25 (31,3)	22 (55,0)
	C/C	19 (23,8)	8 (20,0)
	Разом	80 (100)	40 (100)
$\chi^2 = 6,790; P = 0,034$			
Ті, які палять	A/A	16 (64,0)	10 (40,0)
	A/C	8 (32,0)	8 (32,0)
	C/C	1 (4,0)	7 (28,0)
	Разом	25 (100)	25 (100)
$\chi^2 = 5,885; P = 0,053$			

Примітка. Див. табл. 3.4.1

Проте зв'язку A1298C поліморфізму із частотою повторних випадків інсульту не було підтверджено для таких факторів ризику, як надмірна вага (додатки 5, 6), артеріальна гіпертензія (додаток 7).

Одержані результати свідчать, що немає залежності між генотипом пацієнтів за вивченим поліморфізмом і неврологічними проявами. Достовірності у розподілі не встановлено і за врахування таких факторів ризику, як стать (додаток 8), ІМТ (додатки 9, 10), артеріальна гіпертензія (додаток 11), паління (додаток 12).

Таким чином, з'ясовано вплив C677T та A1298C поліморфних варіантів гена MTHFR на деякі характеристики ішемічного атеротромботичного інсульту. У гомозигот за основним алелем C/C (поліморфізм C677T) із нормальною масою тіла частіше ураження зазнають вертебральні та

базиллярна артерії. В осіб із генотипом C/C за поліморфним варіантом C677T із нормальним артеріальним тиском розвивається легкий ступінь тяжкості перебігу хвороби. Гомозиготи C/C за A1298C поліморфізмом чоловічої статі більше схильні до повторних інсультів.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проблема цереброваскулярних захворювань та їх найтяжчої форми – мозкового інсульту – вже тривалий час є однією з найактуальніших у сучасній медицині, що зумовлено насамперед швидким старінням населення та зростанням факторів ризику. Частка ішемічних інсультів становить майже 90 % усієї цереброваскулярної патології. За даними ВООЗ смертність від інсультів складає 10–15 % загальної смертності, тобто займає 2–3-тє місця після захворювань серця та злоякісних пухлин. Питання профілактики та лікування судинних захворювань нервової системи мають не лише медичне, а й велике соціальне значення. [50, 51, 52, 136, 142].

Останнім часом активно вивчається роль ендотеліальної дисфункції в патогенезі інсульту [14, 18, 19, 83]. У будь-якому випадку фактори ризику судинних захворювань викликають дисбаланс ендотеліальних судинних агентів, що в подальшому реалізується в ініціюванні й прогресуванні патологічних змін судин, зокрема церебральних [18, 19]. Дисфункція ендотелію може бути самостійною причиною порушення кровообігу, оскільки провокує ангіоспазм чи тромбоз судин, а з іншого боку, порушення регіонарного кровообігу (наприклад, ішемія) можуть призводити до ендотеліальної дисфункції [18, 19].

Одним із чинників, що ушкоджують ендотелій, є гіпергомоцистеїнемія. Обмін гомоцистеїну відбувається за рахунок механізмів реметилювання та транссульфування, баланс між цими процесами і визначає його концентрацію у плазмі крові. Важливе значення у метаболізмі гомоцистеїну відіграє фермент 5,10-метилентетрагідрофолатредуктаза (MTHFR). Кількість протеїну і його функціональна здатність визначаються структурою та інтенсивністю експресії відповідного гена. Серед факторів, що впливають на характеристики гена MTHFR, важливе значення має його однонуклеотидний поліморфізм [113, 129].

Метою нашого дослідження стало вивчення зв'язку поліморфних варіантів С677Т та А1298С гена МТНFR з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту та деякими факторами його ризику.

Ми дослідили розподіл алельних варіантів за вищезазначеними поліморфізмами гена МТНFR у практично здорових осіб та хворих з ІАТІ. Співвідношення генотипів С/С, С/Т і Т/Т за С677Т поліморфізмом у контрольній групі становило 46,0; 48,4 і 5,6 %. Частота мінорного (Т) алеля дорівнювала 0,3. Ураховуючи важливе значення поліморфізмів гена МТНFR у розвитку патології вагітності та дефектів ембріонального розвитку [107, 195, 209, 247], схильності до онкологічних [79, 103, 246] та нейрокогнітивних захворювань [97, 122, 196], вченими, зокрема й українськими, активно проводиться вивчення частоти генотипів і алелів за найбільш важливими, клінічно значущими поліморфізмами. Так, Tatarskyu et al., досліджуючи розподіл генотипів за цим поліморфізмом у різних регіонах України, з'ясували, що частота мінорного алеля в українській популяції дорівнює в середньому 0,29 [220]. Федота О. М. та співавт., проводячи аналогічні дослідження серед мешканців м. Харкова та Харківської області виявили, що частота Т-алеля серед здорових осіб становить 0,284 [62]. За даними Гречаніної О. Я. та співавт., які провели молекулярно-генетичне безвибіркове вивчення 200 зразків крові новонароджених, частота мінорного Т-алеля серед мешканців Східної України дорівнює 0,274 [24]. Чорна Л. Б. та співавт. досліджуючи генетичний статус західноукраїнських жінок, виявили, що частота мінорного алеля за С677Т поліморфізмом серед практично здорових осіб становить 0,25 [2, 3]. У праці Грека А. В. та співавт., які вивчали вплив С677Т поліморфізму на клінічний перебіг гострого коронарного синдрому, частота «патологічного» (Т) алеля серед практично здорових осіб становить 0,32 [23]. Щодо інших популяцій, у праці Гречаніної О. Я. наведені дані про частоту мінорного алеля за С677Т поліморфним варіантом, що становить у кавказців – 0,327, іспанців – 0,479, афроамериканців – 0,119, ашкеназів – 0,477 [24]. За даними інших авторів частота Т-алеля коливається від 0,5707 у

Китаї [225] до 0,126 у Бахреїні [236]. У праці Tatarskyu et al. проаналізована частота мінорного (Т) алеля за С677Т поліморфізмом серед багатьох популяцій світу: в Туреччині вона становить 0,325, у Греції – 0,353, на Кіпрі – 0,4, в Йорданії – 0,16, Лівані – 0,304, Тунісі – 0,292, Індії – 0,4, Великобританії – 0,186, Іспанії – 0,545, Ірландії – 0,286, Нідерландах – 0,27, Швеції – 0,338, Росії – 0,259, Італії – 0,432 [166].

Дослідження розподілу алельних варіантів за А1298С поліморфізмом гена МТНFR виявило, що співвідношення генотипів А/А, А/С і С/С становить 46,0; 44,3; 9,7 %. Частота мінорного С-алеля становить 0,32. Подібні результати одержані Черною Л. Б. та співавт. під час вивчення генотипів практично здорових жінок-мешканок західноукраїнського регіону. Частота «патологічного» (С) алеля у цій когорті 0,35 [2]. За даними Friso S. et al. серед італійців частота мінорного (С) алеля дорівнює 0,33 [91]. Щодо інших популяцій, то у представників Туреччини частота С-алеля становить 0,33 [219], а серед населення Південної Індії – 0,389 [203].

Таким чином, згідно з одержаними результатами, розподіл алельних варіантів гена МТНFR за С677Т та А1298С поліморфізмами у практично здорових осіб збігається з результатами, одержаними для більшості європейських популяцій.

Наступним кроком роботи було вивчення розподілу генотипів за С677Т й А1298С поліморфізмами у хворих на ішемічний атеротромботичний інсульт. Співвідношення гомозигот за основним алелем С/С, гетерозигот С/Т і гомозигот за «патологічним» алелем Т/Т за С677Т поліморфізмом у групі хворих на ІАТІ становило 52,3; 35,9 і 11,8 %. Алельні варіанти генотипу за А1298С поліморфізмом (А/А, А/С, С/С) розподілялися таким чином: 42,3; 37,1 і 20,6 %. Порівнюючи одержані дані з результатами розподілу для практично здорових осіб, зроблений важливий висновок про те, що носії Т/Т-генотипу за С677Т поліморфізмом та С/С-генотипу за А1298С поліморфізмом більш схильні до розвитку ІАТІ. Таким чином, вивчені

генетичні чинники є безумовними предикторами розвитку цереброваскулярної патології.

Результати досліджень більшості інших вчених підтверджують цей висновок. Дев'ятнадцять досліджень «випадок–контроль», пов'язаних з ішемічним інсультом, виявили значний зв'язок С677Т поліморфізму гена МТНFR із ризиком розвитку цієї патології [175]. Оновлений метааналіз із 38 досліджень показав, що заміна С на Т у положенні 677 гена МТНFR підвищує ризик розвитку ішемічного інсульту в дорослих, особливо при атеросклерозі великих артерій [128]. Китайські вчені, досліджуючи асоціацію А1298С поліморфізму гена МТНFR з інсультом (ішемічним та геморагічним), з'ясували, що представники країн Азії, носії С/С-генотипу, більш схильні до ризику розвитку ішемічного інсульту, ніж гетерозиготи та носії основного С-алеля. Проте такої залежності не виявлено для представників Кавказу [105]. У 2014 р. Shan Kang et al. провели порівняльний метааналіз (13 досліджень) для оцінювання зв'язку А1298С гена МТНFR з ішемічним інсультом у представників Європи та Азії. Ми також виявили значні асоціації С-алеля з розвитком ішемічного інсульту в азіатів, однак не у європейців [104]. Zhang M. J. et al., унаслідок вивчення впливу А1298С поліморфізму на ризик розвитку інсульту в дорослих на основі метааналізу 15 досліджень, виявили значний вплив зазначеного поліморфізму на порушення мозкового кровотоку в дорослого населення, особливо в азіатській популяції [89]. Проте у низці досліджень одержані інші результати. Так, Dawn L. Harmon et al. не виявили зв'язку С677Т поліморфізму з розвитком ішемічного інсульту в ірландського населення [145]. Madonna P. et al., на підставі одержаних результатів також вважають, що гомозиготний Т/Т-варіант гена МТНFR не є асоційованим із розвитком ішемічного інсульту в італійців [162].

Одним із важливих факторів ризику ІАТІ є статеві приналежність. Особи чоловічої статі, особливо віком від 35 до 44 років і старше 85 років, мають більш високий ризик розвитку гострих порушень мозкового кровообігу,

[96]. Ураховуючи доведеність статевих особливостей розвитку ІАТІ, одним із завдань нашого дослідження стало вивчення зв'язку С677Т та А1298С поліморфізмів гена МТНFR із розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту в осіб різної статі.

Проведені дослідження не виявили розбіжностей у розподілі генотипів у осіб різної статі як контрольної, так і основної групи. Проте ми довели зв'язок вивчених генетичних чинників із розвитком ІАТІ в осіб чоловічої статі: у носіїв Т/Т-генотипу за С677Т поліморфізмом та носіїв С/С-генотипу за А1298С поліморфізмом ризик розвитку ІАТІ вищий, ніж у носіїв основного алеля.

Tatarskyu et al., вивчаючи асоціацію генотипів за С677Т поліморфізмом з розвитком ішемічного інсульту у представників чоловічої та жіночої статей, з'ясували, що у жінок-гомозигот за мінорним алелем (Т/Т) інсульт розвивається частіше, ніж у чоловіків [166]. Radha Rama Devi et al. встановили, що співвідношення генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТНFR достовірно відрізняється у практично здорових індійців чоловічої та жіночої статей. Автори довели, що частота Т-алеля є більшою у жінок, ніж у чоловіків [202]. Clifford A. et al. дослідили генотипи практично здорових жінок США, що мають різний рівень гомоцистеїну, та довели, що збільшення рівня цієї амінокислоти пов'язане з Т/Т-генотипом. В осіб чоловічої статі такої залежності не виявлено [143].

Значення надмірної ваги тіла та ожиріння як факторів ризику розвитку серцево-судинних захворювань, зокрема й ішемічного атеротромботичного інсульту, останнім часом значно зросло, оскільки поширеність ожиріння у світовій популяції з кожним роком збільшується. У Honolulu Heart Program і Фремінгемському дослідженні виявлено, що кількість пацієнтів, госпіталізованих з приводу ішемічного інсульту, збільшується на 10–30 % у разі підвищення індексу маси тіла на 3 кг/м² [208, 239]. Висловлено припущення, що за можливості розв'язання проблеми ожиріння середня тривалість життя збільшилася б на 4 роки [30]. Зайва вага також сприяє

підвищенню вмісту в крові холестерину, що сприяє еволюції атеросклерозу [46].

У проведених нами дослідженнях виявлено, що хворі з ІАТІ, носії мінорного алеля за С677Т поліморфізмом, порівняно з контрольною групою, мали більшу масу тіла, причому як жінки, так і чоловіки. Також статистично значущі відмінності виявлені під час вивчення частот осіб залежно від ІМТ. Хворих осіб з $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$ із генотипом С/С за А1298С поліморфізмом було 23,3 %, а практично здорових – 8,2 % ($P = 0,016$). Установлено, що в осіб з $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$ ІАТІ виявлявся в 3,2 раза частіше, ніж у пацієнтів з $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$ ($P = 0,013$, $R = 3,195$).

Подібні результати одержані й у дослідженні I. Lambrinouadaki et al. у грецькій популяції [183]. Виявлено, що серед здорових жінок у постменопаузі ІМТ був достовірно вищим у носіїв мінорного алеля, ніж у гомозигот за основним алелем. Проте у праці T. Taguchi et al. не помічено зв'язку між генотипом за С677Т поліморфізмом гена МТНFR і величиною ІМТ серед молодих здорових японок [211]. Під час дослідження пацієнтів Саудівської Аравії A. Settin et al. виявили, що носії Т677Т- та С1298С-генотипів мали більш високі значення ІМТ порівнянно з гомозиготами за С-алелем (С677Т МТНFR поліморфізм) та А-алелем (А1298С МТНFR поліморфізм) [182]. У популяції етнічних киргизів також було досліджено, що патологічний Т-алель за поліморфізмом С677Т пов'язаний з абдомінальним ожирінням [100]. Таким чином, в українців, як і у більшості популяцій світу, Т/Т-генотип за С677Т поліморфізмом та С/С-генотип за А1298С поліморфізмом гена МТНFR асоційовані з надмірною вагою і є факторами ризику розвитку ожиріння у пацієнтів з ІАТІ.

Результати епідеміологічних досліджень, проведених останніми десятиліттями, свідчать про те, що артеріальна гіпертензія є одним із основних факторів ризику виникнення інсультів [215]. Близько 54 % інсультів у всьому світі спричинені підвищенням артеріального тиску (АТ) незалежно від статі та віку [172], тому пацієнти з АГ більш схильні до інсульту (у 3/4

випадках), ніж особи з нормальним АТ [150]. Частота виникнення інсульту збільшується пропорційно підвищенню рівня як систолічного, так і діастолічного артеріального тиску. Зокрема з'ясовано, що підвищення систолічного АТ на 2 мм рт. ст. в осіб середнього віку пов'язане зі збільшенням ризику розвитку інсульту на 10 % [93]. Адекватний контроль за рівнем системного артеріального тиску значно знижує ризик виникнення інсульту та сприяє істотному зменшенню частоти летальності від нього.

Ураховуючи важливість артеріальної гіпертензії як фактора ризику ІАТІ, наступним етапом нашої роботи стало вивчення ролі артеріального тиску в розвитку інсульту в пацієнтів із різними генотипами за С677Т та А1298С поліморфізмами гена МТНFR. Ми вивчили залежність величини систолічного, діастолічного, пульсового і середнього артеріального тиску від поліморфних варіантів гена МТНFR як у групі практично здорових осіб, так і серед хворих із ішемічним атеротромботичним інсультом. Вивчення частот осіб із нормальним та підвищеним артеріальним тиском залежно від варіантів генотипу за поліморфним варіантом С677Т гена МТНFR виявило, що серед хворих носіїв генотипу С/С гіпертоніків було 75,3 %, а нормотоніків – 24,7 %, у контрольній групі – відповідно 54,5 та 45,5 % ($P = 0,010$). Також існує зв'язок між величиною артеріального тиску в гетерозигот за поліморфним варіантом А1298С та розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту. Носіїв А/Т-генотипу, хворих на ІАТІ, з підвищеним АТ було 76,2 % , а з нормальним тиском – 23,8 % ($P = 0,025$).

Подібні дослідження у подібному напрямку нечисленні. Те, що С677Т поліморфізм впливає на розвиток артеріальної гіпертензії серед мешканців міста Буенос-Айроса (у вибірці переважали особи жіночої статі – 94 жінки проти 44 чоловіків) виявлено у праці Fridman O. et al. [217]. Дослідження Demirel Y. et al. з'ясували зв'язок С677Т та А1298С поліморфізмів гена МТНFR з гіпертонічною хворобою у населення Туреччини [125]. Досліджуючи 83 чоловіків та 40 жінок різного віку Саудівської Аравії, які мали артеріальну гіпертензію, Alghasham A. et al. помітили, що існує

асоціація між АГ в осіб незалежно від статі та віку, які мали носійство «патологічних» Т- та С-алелів за С677Т та А1298С поліморфними варіантами гена МТНFR, особливо в разі коли артеріальна гіпертензія супроводжується ожирінням та діабетом [102].

Останні дані ВООЗ свідчать про те, що близько 1/3 усіх випадків смертності від серцево-судинних захворювань серед осіб середнього віку зумовлено фактом паління [123, 245]. Серед чоловіків молодого віку, які палять, інфаркт міокарда реєструють у 4 рази частіше, ніж серед тих, хто не палить [137]. Після 60 років у чоловіків, які палять, інфаркт міокарда розвивається вдвічі частіше, ніж серед тих, хто не палить [125]. Ризик розвитку цереброваскулярних захворювань у тих, хто палить, майже втричі вищий і залежить від інтенсивності паління [152].

Розподіл генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТНFR у групі тих, хто не палить, виявив, що у хворих з ІАТІ носіїв Т/Т-генотипу 13,3 %, у контролі – 4,3 %. Статистичний аналіз одержаних даних показав, що у носіїв генотипу Т/Т, які не палять, ІАТІ настає частіше ($P = 0,029$). При розподілі генотипів за А1298С поліморфізмом залежно від факту паління не було встановлено асоціативної залежності між генотипами та розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту. Одержані результати підтверджують той факт, що паління, будучи доведеним фактором ризику серцево-судинних захворювань, впливає на розвиток ішемічного інсульту незалежно від генотипу пацієнтів за С677Т та А1298С поліморфізмами гена МТНFR.

Щодо досліджень інших авторів, то їх незначна кількість. Німецькими вченими проведено дослідження, яке показало, що алкоголізм та паління значною мірою порушують процес метилування ДНК. В осіб, які є носіями мінорних алелів за поліморфізмами С677Т та А1298С, за даними Semmler A., відбувається гіперметилування ДНК [94]. У праці Jin P. et al. повідомлено, що серед пацієнтів Китаю, які палили та були носіями Т-алеля (С677Т поліморфізм), ризик розвитку судинної деменції вищий порівнянно з

тими, хто не палить [99]. Linnebank M. et al. було проаналізовано зв'язок поліморфізмів C677T та A1298C із рівнем гомоцистеїну плазми крові у 1060 паліїв м. Бонна (Німеччина) та тих, хто не палить [90]. Виявлено, що в осіб, які палять і є носіями T/T-алеля, рівень гомоцистеїну значно вищий, ніж у тих, хто не палить.

Цукровий діабет 2-го типу – провідний модифікований фактор ризику серцево-судинних захворювань. Найчастіше він визначає несприятливий прогноз, зокрема для життя хворих із такою патологією. 65–75 % хворих на ЦД 2-го типу помирають від серцево-судинної патології [27, 131]. 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 [8, 34].

У наших дослідженнях показано, що хворі з ІАГІ – носії C/T-генотипу за C677T поліморфізмом ($P = 0,007$) та носії A/A- та A\C-генотипів за A1298C поліморфізмом ($P < 0,001$, $P = 0,027$) – мають вищі показники концентрації глюкози в крові порівняно з групою контролю. Розбіжності у розподілі генотипів за вивченими поліморфізмами в основній і контрольній групах виявлено не було.

Для з'ясування залежності для SNP C677T та діабету в китайців був проведений метааналіз 29 досліджень, що засвідчив значущий зв'язок між MTHFR C677T поліморфізмом і ЦД 2-го типу [190]. Ризик розвитку діабету в жінок з T/T-генотипом за C677T поліморфізмом вищий, ніж у чоловіків. Крім того, T/T-алель більшою мірою пов'язаний з ризиком розвитку ЦД серед жінок з ІМТ більше 23 кг/м^2 [206]. Вивчення впливу гена MTHFR на розвиток цукрового діабету серед населення Китаю показало, що пацієнти з генотипом CC (rs1801131) значно схильніші до ЦД 2-го типу порівняно з носіями AA- або (AA + AC)- генотипів [106]. Ці результати підтвержені метааналізом 6 досліджень. Доведений зв'язок між C1298C-генотипом та розвитком діабету. Аналіз підгруп відповідно до етнічної належності,

показав, що A1298C поліморфізм має значний зв'язок із діабетом в азіатській популяції порівняно з кавказцями [186].

Клінічна картина при ішемічному інсульті визначається судинним басейном, у якому сформувався інфаркт, розміром вогнища, станом колатерального кровообігу та іншими факторами. Клінічні прояви інфаркту головного мозку різноманітні, проте мають значення лише сукупність ознак та ступінь їх вираженості. Саме клінічний перебіг порушення мозкового кровообігу визначає тактику подальшого ведення хворих, здатність до самообслуговування, ступінь втрати працездатності та тривалість відновного періоду – основні медичні та соціально-економічні питання, що ставить перед суспільством ця глобальна проблема [51, 52].

Вивчаючи вплив поодиноких нуклеотидних поліморфізмів C677T й A1298C на основні характеристики ішемічного атеротромботичного інсульту, одержано цікаві результати. В осіб із нормальною масою тіла з T/T-генотипом (C677T поліморфізм) частіше трапляється одночасне ураження передньої, середньої, задньої мозкових та вертебро-базиллярних артерій ($P = 0,026$). У хворих із нормальним артеріальним тиском ІАТІ – носіїв C/C-генотипу частіше перебігав у легкій (71,4 %), ніж у середній (56,25 %) та тяжкій (25,0 %) формах ($P = 0,021$). Проведення аналізу між A1298C поліморфізмом та обсягом ураження у осіб з нормальною масою тіла виявило залежність між генотипом C/C та розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту – кінцевий ІАТІ зафіксований у всіх пацієнтів із таким генотипом ($P = 0,012$). Аналогічна залежність встановлена залежно від ІМТ. У хворих-носіїв C/C-генотипу з $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$ кінцевий інсульт траплявся частіше, ніж тотальний та лакунарний ($P = 0,012$). Жодної залежності між генотипом за A1298C поліморфізмом та обсягом уражень в осіб різної статі з нормальним та підвищеним артеріальним тиском та надмірною вагою не помічено. У чоловіків із C/C-генотипом кількість представників, які зазнали повторного (27,3 %) ішемічного атеротромботичного інсульту, була більшою, ніж пацієнтів із первинним

(18,5 %) ІАТІ ($P = 0,041$). Установлена залежність між А/С-генотипом та повторюваністю ІАТІ у осіб які не палять. У хворих з первинним інсультом А/С-генотип мають 31,3 %, а з повторним інсультом 55,0 % ($P = 0,034$). Особи із С/С-генотипом, які зловживають тютюнопалінням, первинний ІАТІ мають 4,0 %, а повторний інсульт – 28,0 % ($P = 0,053$). Залежності між А1298С поліморфізмом та повторюваністю ІАТІ, беручи до уваги вагу хворих та наявність артеріальної гіпертензії, виявлено не було. Таким чином, тяжкість клінічного перебігу ішемічного атеротромботичного інсульту більша у носіїв «патологічних» Т- та С-алелів за С677Т та А1298С поліморфними варіантами гена МТНFR, ніж у носіїв основного алеля за досліджуваними поліморфізмами.

Вивчення патогенезу ішемічного інсульту є провідним напрямком сучасної експериментальної та клінічної медицини. На думку багатьох вчених, генетичні чинники мають важливе значення у виникненні та розвитку цього захворювання [1, 2, 41, 166, 220]. Ураховуючи центральну роль фермента метилентетрагідрофолатредуктази в обміні гомоцистеїну, можна припустити активний вплив поліморфізмів гена МТНFR на стан ендотелію. Доведено, що заміна С на Т у положенні 677 4-го екзона і А на С у положенні 1298 7-го екзона призводить до зміни амінокислотної послідовності білка і значного зменшення активності фермента на 70 та 50 % відповідно [61, 87, 89, 104, 164, 215, 219, 233]. Наслідками зазначеного процесу стануть накопичення гомоцистеїну в позаклітинних рідинах та розвиток гіпергомоцистеїнемії. Вплив гомоцистеїну на розвиток ішемічного інсульту пов'язаний з цілою низкою процесів. Насамперед, окислюючись у плазмі крові, він сприяє утворенню великої кількості вільних радикалів, що призводить до активації ендотелію. Порушення функції ендотелію – один із універсальних механізмів патогенезу різних захворювань, зокрема й і порушень мозкового кровообігу [14]. Дисфункція ендотелію може сприяти розвитку атеросклерозу та атеротромбозу, підвищенню агрегаційної здатності моноцитів та тромбоцитів, модуляції гіперкоагуляції та порушенню

вмісту ліпопротеїдів низької щільності [50, 63]. Пошкоджуючи ендотелій, гомоцистеїн пригнічує синтез оксиду азоту, призводить до вазоконстрикції, запалення та розвитку атеросклерозу. Зниження еластичності судинної стінки – одного з факторів, що викликає розвиток атеросклерозу, – відбувається за рахунок сприяння гомоцистеїном утворення дисульфідних похідних білків, накопичення в мембранах клітин і міжклітинному просторі ліпопротеїнів низької та дуже низької щільності та їх окиснення, зменшення синтезу сірковмісних глікозаміногліканів. Окиснені ліпіди каталізують експресію прозапальних цитокінів та інактивують оксид азоту. Посилена проліферація гладком'язових клітин проходить за рахунок мутагенної дії гомоцистеїну на ці клітини, що також сприяє втраті еластичності судинної стінки. Накопичення гомоцистеїну так само сприяє інтракраніальній кальцифікації артеріальної судинної стінки, що, у свою чергу, теж спричиняє розвиток атеросклерозу.

Надмірна кількість цієї амінокислоти каталізує активацію XII і V факторів, а також експресію тканинного фактора, наслідком чого є порушення вивільнення природних інгібіторів згортання й антиагрегантів – протеїну C, інгібітора зовнішнього шляху згортання крові. При цьому знижується глікозаміногліканзалежна активація антитромбіну III, пригнічується активність тромбомодуліну [61, 156]. Водночас відбувається підвищена агрегація тромбоцитів та посилюються їх адгезивні властивості за рахунок зниження синтезу ендотелієм релаксувального фактора і NO, а також посиленого вивільнення пошкодженими ендотеліоцитами фактора Віллебрандта [61, 155, 162]. Атерогенні й тромбофілітичні наслідки в поєднанні визначають хронічну ендотеліальну дисфункцію при гіпергомоцистеїнемії [48, 55, 61, 63, 69, 162]. Тобто, гіпергомоцистеїнемія відіграє важливу роль не лише як чинник ушкодження ендотелію, а й як негативний агент, що призводить до порушення регуляції судинного тону, порушення ліпідного обміну та патології судинно-тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу.

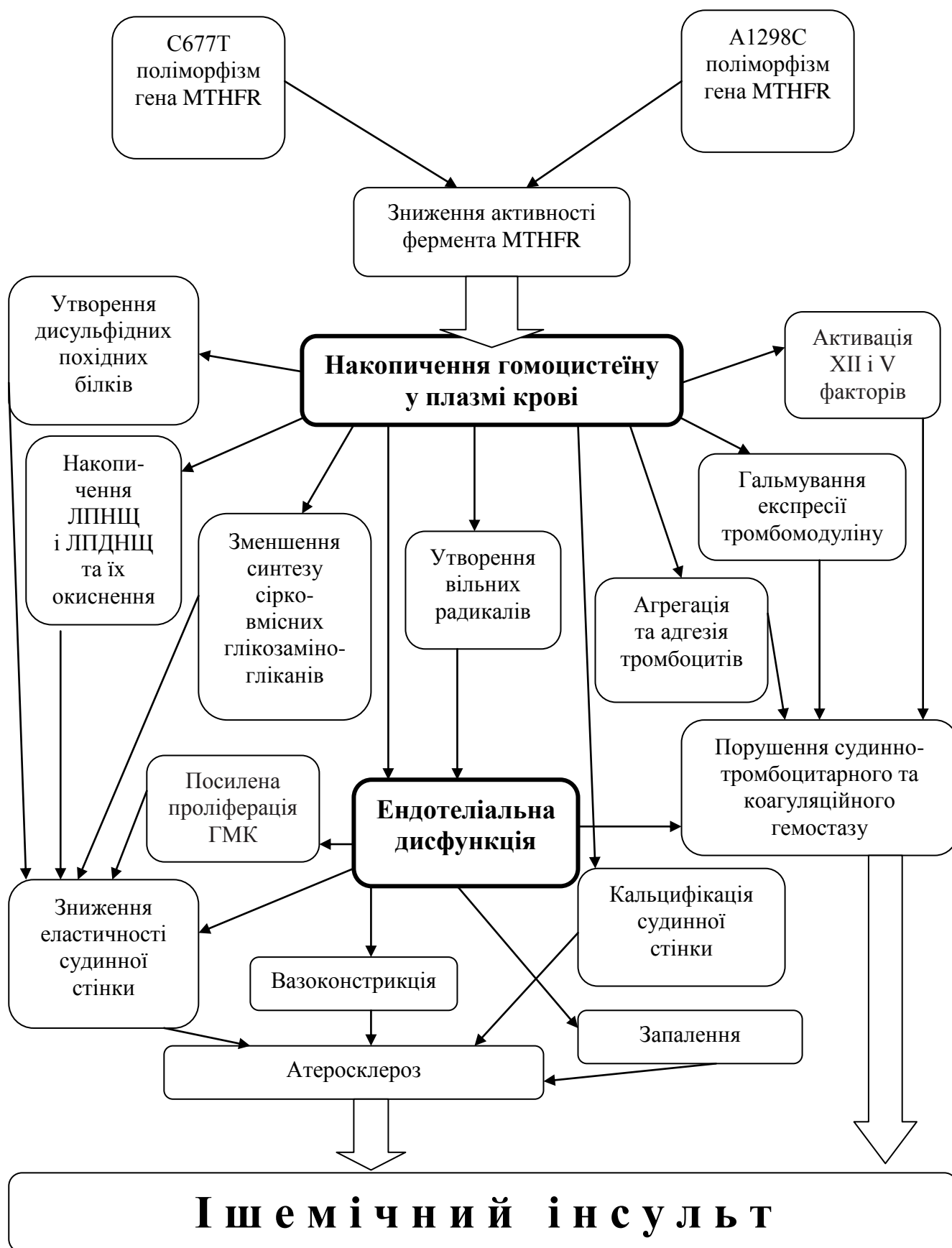


Рисунок. 4.1 – Зв'язок C677T і A1298C поліморфізмів гена MTHFR з розвитком ішемічного інсульту

Безумовно, в патогенезі ІАТІ як мультифакторіального захворювання важливе значення мають як фактори зовнішнього середовища, так і генетичні чинники. З'ясування ролі останніх стане новим етапом у профілактиці, діагностиці та лікуванні цереброваскулярних патологій.

ВИСНОВКИ

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

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

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

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

гетерозиготи за A1298C поліморфізмом і гомозиготи за мінорним алелем за C677T поліморфізмом призводить до значного збільшення ризику ІАТІ.

4. Вплив генетичного чинника на розвиток цереброваскулярної патології має статеві особливості. Особи чоловічої статі з генотипом C/T за C677T поліморфізмом гена MTHFR у 2,3 раза стійкіші до ІАТІ, ніж з генотипом C/C ($P = 0,010$; $OR = 0,433$). У чоловіків-гомозигот за мінорним алелем (C/C) за A1298C поліморфізмом ризик розвитку ІАТІ в 3,5 раза вищий, ніж у носіїв генотипу A/A ($P = 0,016$; $OR = 3,474$).

5. Виявлено асоціацію досліджених поліморфізмів з деякими факторами ризику ІАТІ: індексом маси тіла (ІМТ), артеріальною гіпертензією, курінням. Гомозиготи за мінорним алелем (поліморфізм A1298C) з $IMT \geq 25$ кг/м² у 3,2 раза більш схильні до ІАТІ, ніж гомозиготи за основним алелем ($P = 0,013$, $OR = 3,195$). В осіб з нормальним артеріальним тиском – носіїв T/T-генотипу, у пацієнтів з гіпертензією з генотипом C/C за C677T поліморфним варіантом гена MTHFR, а також у гетерозигот A/C з гіпертензією (A1298C поліморфізм) ішемічний атеротромботичний інсульт виникає частіше ($P = 0,039$; $P = 0,010$ та $P = 0,025$ відповідно). Ризик розвитку ІАТІ більший у групі осіб, що не палять, з генотипом T/T за поліморфізмом C677T ($P = 0,029$).

6. Установлено вплив C677T та A1298C поліморфних варіантів гена MTHFR на характеристики ішемічного атеротромботичного інсульту. У гомозигот за основним алелем C/C (поліморфізм C677T) з нормальною масою тіла частіше ураження зазнають вертебральні та базилярна артерії ($P = 0,026$). В осіб з генотипом C/C за поліморфним варіантом C677T з нормальним артеріальним тиском розвивається переважно легкий ступінь тяжкості перебігу хвороби ($P = 0,021$). Гомозиготи C/C за A1298C поліморфізмом чоловічої статі більш схильні до повторних інсультів ($P = 0,041$).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Агеев Ф. Т. Роль эндотелиальной дисфункции в развитии и прогрессировании сердечно-сосудистых заболеваний / Ф. Т. Агеев // Сердечная недостаточность. – 2003. – № 1. – С. 22–25.
2. Алельний поліморфізм генів MTHFR, MTR та MTRR у пацієнтів із щілинами верхньої губи та/або у піднебіння і у їхніх матерів / Л. Б. Чорна, Г. Р. Акоюн, Г. В. Макух, І. М. Федорик // Цитология и генетика. – 2011. – № 3. – С. 51–56.
3. Анализ полиморфных вариантов генов MTHFR, MTR, MTRR и мутаций генов FV и FII свертывания крови среди женщин с привычным невынашиванием беременности / Л. Б. Чорная, Г. В. Макух, Г. Р. Акоюн и др. // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія: Біологія. – 2011. – Вип. 13, № 947. – С. 118–124.
4. Арзуманян Е. С. Механизмы токсического действия гомоцистеиновой кислоты на нейрональные клетки / Е. С. Арзуманян, М. С. Степанова // Нейрохимия. – 2010. – № 27 (3). – С. 251–256.
5. Ассоциация полиморфизма генов фолатного цикла и сывороточного содержания интерлейкина-33 у пациентов с высоким суммарным сердечно-сосудистым риском на комбинированной терапии артериальной гипертензии / И. И. Чукаева, А. И. Хачирова, Л. В. Ганковская и др. // Патологія. – 2014. – № 2 (31). – С. 51–54.
6. Ассоциация полиморфных вариантов генов фолатного цикла с риском развития агрессивных и индолентных лимфом / О. В. Березина, А. С. Вайнер, Т. И. Поспелова и др. // Бюллетень СО РАМН. – 2011. – Т. 31, № 2. – С. 20–25.
7. Атаман О. В. Патофізіологія : підручник : в 2 т. Т. 1. Загальна патологія / О. В. Атаман. – Вінниця : Нова Книга, 2012. – 592 с.

8. Балаболкин М. И. Лечение сахарного диабета и его осложнений / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова, В. М. Креминская. – М., 2005. – С. 274, 356–357.
9. Баранова Е. И. Клиническое значение гомоцистеинемии / Е. И. Баранова, О. О. Большакова // Артериальная гипертензия. – 2004. – Т. 10, № 1. – С. 39–44.
10. Безсмертна Г. В. Метаболічні фактори ризику судинних захворювань у хворих із різними типами ішемічного інсульту / Г. В. Безсмертна // Лікарська справа. – 2005. – № 7. – С. 12–18.
11. Белоусов Ю. Б. Эндотелиальная дисфункция как причина атеросклеротического поражения артерий при артериальной гипертензии. Методы коррекции / Ю. Б. Белоусов, Ж. Н. Намсараев // Фармотека. – 2004. – № 6 (84). – С. 62–72.
12. Билецкий С. В. Эндотелиальная дисфункция и патология сердечно-сосудистой системы / С. В. Билецкий, С. С. Билецкий // Внутренняя медицина. – 2008. – № 2 (8). – С. 36–41.
13. Бредбери М. Концепция гематоэнцефалического барьера / М. Бредбери. – М. : Медицина, 1983. – 593 с.
14. Бувальцев В. И. Дисфункция эндотелия как новая концепция профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний / В. И. Бувальцев // Междунар. мед. журн. – 2001. – № 3. – С. 202–208.
15. Верещагин Н. В. Мозговое кровообращение: современные методы исследования в клинической неврологии / Н. В. Верещагин, В. В. Борисенко, А. Г. Власенко. – М. : Интер-Весы, 1993. – 208 с.
16. Виленский Б. С. Инсульт: профилактика, диагностика и лечение / Б. С. Виленский. – СПб. : ООО «Издательство «Фолиант», 2002. – 397 с.
17. Віничук С. М. Мозковий інсульт: сучасний погляд на проблему та стратегію лікування / С. М. Віничук // Мистецтво лікування. – 2004. – № 5. – С. 8–15.

18. Волошин П. В. Эндотелиальная дисфункция при цереброваскулярной патологии / П. В. Волошин, В. А. Малахов, А. Н. Завгородняя. – Харьков, 2006. – 92 с.
19. Волошин П. В. Эндотелиальная дисфункция у больных с церебральным ишемическим инсультом: пол, возраст, тяжесть заболевания, новые возможности медикаментозной коррекции / П. В. Волошин, В. А. Малахов, А. Н. Завгородняя // Международный неврологический журнал. – 2007. – № 2 (12). – С. 15–20.
20. Вплив нейровітану на рівень генетично обумовленої гіпергомоцистемії, ліпідів крові та ендогенної інтоксикації при ішемічному інсульті / В. М. Шевага, М. С. Білобрин, А. В. Кульматицький, Х. М. Орлинська // Міжнар. неврол. журн. – 2008. – № 6. – С. 28–33.
21. Головченко Ю. И. Основные принципы базисной терапии у пациентов с ишемическим инсультом в острейшем периоде / Ю. И. Головченко, М. А. Трещинская // Медицина неотложных состояний. – 2006. – № 4 (5). – С. 23–27.
22. Головченко Ю. И. Патогенетические особенности локальной регуляции мозгового кровообращения при эндотелиальной дисфункции / Ю. И. Головченко, М. А. Трещинская // Материалы XIII Международной конференции «Актуальные направления в неврологии», м. Судак, 2011 г. – Судак, 2011.
23. Грек А. В. С677Т поліморфізм гена метилентетрагідрофолатредуктази у хворих на гоострий коранарний синдром / А. В. Грек, І. І. Савенко, О. С. Сасюк // J. Clin. Exp. Med. Res. – 2014. – № 2 (4). – С. 458–465.
24. Гречанина Е. Я. Распространенность полиморфизмов С677Т МТНFR и А66G МTRR генов системы фолатного цикла в популяциях восточной Украины / Е. Я. Гречанина, В. А. Гусар // Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики. – Київ ; Луганськ, 2010. – С. 91–97.

25. Гусев Е. И. Ишемическая болезнь головного мозга. Актовая речь / Е. И. Гусев. – М., 1992. – 36 с.
26. Гусев Е. И. Проблема инсульта в России / Е. И. Гусев // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2003. – № 9. – С. 3–7.
27. Дедов И. И. Факторы риска ишемической болезни сердца у больных сахарным диабетом типа 2: роль гиперсимпатикотонии и возможности ее коррекции / И. И. Дедов, А. А. Александров // Качество жизни. Медицина. – 2003. – С. 16–21.
28. Денисюк В. І. Дисфункція ендотелію як предиктор ризику виникнення хвороб серцево-судинної системи / В. І. Денисюк, С. В. Валуєва // Серце і судини. – 2006. – № 3. – С. 104–107.
29. Дзяк Л. А. Инсульт у молодых пациентов / Л. А. Дзяк, Е. С. Цуркаленко // Здоров'я України. – 2009. – № 5 (1). – С. 12–15.
30. Европейская хартия по борьбе с ожирением / Европейская министерская конференция ВОЗ по борьбе с ожирением «Питание и физическая активность в интересах здоровья», Стамбул, Турция, 15–17 ноября 2006 г. // Документ ВОЗ EUR/06/5062700/8, 16 ноября 2006 г. – Стамбул, 2006. – 7 с.
31. Евтушенко С. К. Роль гомоцистеина в развитии ишемических инсультов у лиц молодого возраста (обзор литературы и личные наблюдения) / С. К. Евтушенко, Д. А. Филимонов // Международный неврологический журнал. – 2013. – № 7 (61). – С. 19–30.
32. Зайцев В. М. Прикладная медицинская статистика / В. М. Зайцев, В. Г. Лифляндский, В. И. Маринкин. – М. : Фолиант, 2006. – 432 с.
33. Зайчик А. Ш. Основы патохимии : учебник для студентов медицинских вузов / А. Ш. Зайчик, Л. П. Чурилов. – СПб. : ЭЛБИ-СПб., 2001. – 688 с.
34. Заславская Р. М. Сосудистые осложнения у больных сахарным диабетом (альтернативные методы диагностики и лечения) / Р. М. Заславская, Е. У. Тулемисов, Л. В. Смирнова. – М., 2006. – С. 34–36.

35. Зозуля І. С. Гострий період ішемічного інсульту: сучасний погляд на проблему / І. С. Зозуля, О. П. Мошенська // Український медичний часопис. – 2009. – № 4 (72). – С. 67–73.
36. Зозуля І. С. Гіпергомоцистеїнемія та інші метаболічні предиктори розвитку та перебігу ішемічного інсульту / І. С. Зозуля, В. І. Шевчук, Г. В. Безсмертна. – К. : Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, 2011. – С. 34–36.
37. Зозуля І. С. Інсульт: тактика, стратегія ведення, профілактика, реабілітація та прогнози : посібник для лікаря / І. С. Зозуля, Ю. І. Головченко, О. П. Онопрієнко. – Київ, 2010. – 320 с.
38. Инсульт. Практическое руководство для ведения больных / под ред. Ч. П. Ворлоу. – СПб. : Политехника, 2001. – 629 с.
39. Інсульт: різновиди, фактори ризику, фізична реабілітація / Б. Мицкан, Г. Єдинак, З. Остап'як та ін. // Лікувальна фізична культура, спортивна медицина й фізична реабілітація. Фізичне виховання, спорт і культура здоров'я у сучасному суспільстві : збірник наукових праць. – 2012. – № 3 (19). – С. 295–301.
40. Ішемічний інсульт: обрані сторінки патогенезу та лікування : 150-річчю Харків. мед. т-ва та 30-річчю кафедри лікувальної фізкультури, спорт. мед. та реабілітації присвячується : монографія / В. О. Малахов, В. О. Монастирський, В. С. Личко та ін. – Харків : ТОВ «ЕДЕНА», 2010. – 154 с.
41. К вопросу о генетических механизмах развития сосудистых заболеваний мозга / В. П. Иванов, О. В. Васильева, А. В. Полоников и др. // Ученые записки: Электронный научный журнал Курского государственного университета. – 2010. – № 2. – С. 47–52.
42. Кобзарь А. И. Прикладная математическая статистика / А. И. Кобзарь. – М. : Физматлит, 2006. – 327 с.
43. Коваленко В. М. Динаміка показників стану здоров'я населення за 1995–2005 рр. : аналітично-статистичний посібник для лікарів-кардіологів,

- ревматологів, терапевтів загальної практики / В. М. Коваленко, В. М. Корнацький, Т. С. Манойленко. – К., 2006. – 72 с.
44. Коноплева Л. Ф. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний и методы ее коррекции / Л. Ф. Коноплева // *Therapia*. – 2011. – № 3 (56). – С. 26–30.
45. Коркушко О. В. Эндотелиальная дисфункция / О. В. Коркушко, В. Ю. Лишнева // *Кровообіг та гемостаз*. – 2003. – № 2. – С. 4–15.
46. Литвиненко Н. В. Клініко-нейровізуалізаційні характеристики гострого періоду нелакунарних гемісферальних інсультів у осіб з ожирінням / Н. В. Литвиненко, М. Ю. Дельва, І. І. Дельва // *Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник Української медичної стоматологічної академії*. – 2011. – Т. 11, вип. 4 (36), ч. 1. – С. 55–58.
47. Миненко Е. В. Проблема ишемического инсульта. Конференции EFNS, Одесса, 2007 / Е. В. Миненко // *Український неврологічний журнал*. – 2007. – № 2. – С. 91–93.
48. Мироненко Т. В. Засоби медикаментозної корекції рівня гомоцистеїну та ліпідного спектра крові у хворих на ішемічний інсульт у ранньому відновному періоді / Т. В. Мироненко, Л. В. Яковлева // *Международный медицинский журнал*. – 2014. – № 3. – С. 45–48.
49. Мищенко В. А. Структура, проницаемость гематоэнцефалического барьера и перспективы доставки через него лекарственных средств / В. А. Мищенко, О. А. Горюхина // *Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. – 1996. – № 4. – С. 116–120.
50. Мищенко Т. С. Факторы риска и клинические особенности у больных с различными подтипами ишемического инсульта / Т. С. Мищенко, Н. В. Овсянникова, В. В. Лебединец // *Международный медицинский журнал*. – 2011. – № 3. – С. 27–32.
51. Міщенко Т. С. Аналіз епідеміології цереброваскулярних хвороб в Україні / Т. С. Міщенко // *Судинні захворювання головного мозку*. – 2010. – № 3. – С. 2–9.

52. Міщенко Т. С. Епідеміологія цереброваскулярних захворювань в Україні / Т. С. Міщенко // Судинні захворювання головного мозку. – 2006. – № 1. – С. 3–7.
53. Молекулярно-генетические исследования больных эссенциальной артериальной гипертензией / О. В. Шевченко, А. А. Свистунов, Е. Н. Бычков, В. Б. Бородулин // Медицинский альманах. – 2011, апрель. – № 3 (16). – С. 88–91.
54. Мостбауер Г. В. Сосудистое старение: механизмы развития и модификация / Г. В. Мостбауер // Therapia. – 2012. – № 9 (72). – С. 42–47.
55. Мухин Н. А. Гипергомоцистеинемия как фактор риска развития заболеваний сердечно-сосудистой системы / Н. А. Мухин, С. В. Моисеев, В. В. Фомин // Клиническая медицина. – 2001. – № 6. – С. 7–14.
56. Намаканов Б. А. Эндотелиальная дисфункция при артериальной гипертензии – фактор риска сердечно-сосудистых осложнений / Б. А. Намаканов, М. М. Расулов // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2005. – № 6. – С. 98–101.
57. Одинак М. М. Ишемия мозга. Нейропротективная терапия. Дифференцированный подход / М. М. Одинак, И. А. Вознюк, С. Н. Янишевский // Воен.-мед. акад. – СПб. : Б. и., 2002. – 77 с.
58. Одинак М. М. Уровень гомоцистеина плазмы, риск цереброваскулярных заболеваний и витамины группы В / М. М. Одинак, С. Н. Янишевский, И. А. Вознюк // Медлайн-Экспресс. – 2008. – № 1. – С. 20–23.
59. Патогенетичні ланки ішемічного інсульту / В. О. Малахов, В. О. Монастирський, В. С. Личко та ін. // Новости медицины и фармации. – 2011. – № 360 (тематический номер «Неврология»).
60. Полиморфизм генов фибриногена у больных с ишемическим инсультом / Е. И. Гусев, О. О. Фаворова, М. А. Судомоина и др. // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2008. – № 4. – С. 27–30.

61. Полиморфизм генов фолатного обмена и болезни человека / И. Н. Фетисова, А. С. Добролюбов, М. А. Липин, А. В. Поляков // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – Т. X, № 1. – С. 123–134.
62. Поліморфізм С677Т гена MTHFR у хворих на псоріаз / О. М. Федота, П. П. Рижко, Л. В. Рощенюк та ін. // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. – 2010. – Вип. 12, № 920. – С. 37–41.
63. Приступа Л. Н. Клінічне значення гомоцистеїнемії в атеросклеротичному процесі (огляд літератури) / Л. Н. Приступа, А. В. Грек, Ю. О. Атаман // Вісник СумДУ. Серія Медицина. – 2012. – № 1. – С. 54–61.
64. Протокол, 2012. Уніфікований клінічний протокол медичної допомоги. Гострі порушення мозкового кровообігу. Ішемічний інсульт. – К., 2012. – 76 с.
65. Раваєва М. Ю. Роль оксиду азоту в розвитку ендотеліальної дисфункції / М. Ю. Раваєва, О. М. Чуян, Н. А. Древетняк // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія «Біологія, хімія». – 2013. – Т. 26 (65), № 4. – С. 147–157.
66. Сейн Д. С. Кардиогенный инсульт / Д. С. Сейн, Дж. Ф. Тул // Сосудистые заболевания головного мозга : руководство для врачей / пер. с англ. ; под ред. акад. РАМН Е. И. Гусева, проф. А. Б. Гехт. – 6-е изд. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – С. 347–361.
67. Соболева Е. В. Гомоцистеинемия как мишень терапевтического воздействия у больных ишемической болезнью сердца. Эффекты симвастатина / Е. В. Соболева // Рус. мед. журнал. – 2007. – № 2. – С. 24–29.
68. Состояние функции эндотелия у больных с ишемическим инсультом при различной степени атеросклеротического поражения сонных артерий / М. М. Танащян, З. А. Суслина, В. Г. Ионова и др. // Неврологический вестник. – 2007. – Т. 39, Вып. 1. – С. 12–16.
69. Спиридонова М. Г. Популяционное исследование частоты полиморфизма С677Т гена метилентетрагидрофолатредуктазы в Якутии /

- М. Г. Спиридонова, В. А. Степанов, Н. Р. Максимов и др. // Генетика. – 2004. – Т. 40, № 5. – С. 704–708.
70. Сторожаков Г. И. Эндотелиальная дисфункция при артериальной гипертензии у пациентов пожилого возраста / Г. И. Сторожаков, Г. С. Верещагина, Н. В. Малышева // Клин. геронтология. – 2003. – Т. 9, № 1. – С. 23–28.
71. Суслина З. А. Атеросклероз и ишемические нарушения мозгового кровообращения / З. А. Суслина, М. М. Танащян, О. В. Лагода // Атеротромбоз. – 2009. – № 22 (33). – С. 60–67.
72. Суслина З. А. Ишемический инсульт: кровь, сосудистая стенка, антитромботическая терапия / З. А. Суслина, М. М. Танащян, В. Г. Ионова. – М. : Медицинская книга, 2005. – 248 с.
73. Трифонова Е. А. Генетическое разнообразие и неравновесие по сцеплению в локусе метилентетрагидрофолатредуктазы / Е. А. Трифонова, М. Г. Спиридонова, В. А. Степанов // Генетика. – 2008. – Т. 44 (10). – С. 1410–1419.
74. Тул Д. Ф. Сосудистые заболевания головного мозга : руководство для врачей / Д. Ф. Тул ; пер. с англ. ; под ред. акад. РАМН Е. И. Гусева, проф. А. Б. Гехт. – 6-е изд. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 608 с.
75. Фізіологія людини / за ред. В. М. Покровського, Г. Ф. Коротько. – К. : Видавництво «Медицина», 2001. – 325 с.
76. Функция эндотелия и 1/D-полиморфизм гена ангиотензин-превращающего фермента у больных эссенциальной гипертензией / А. Г. Полупанов, А. Н. Халматов, Н. Б. Ческидова и др. // Кардиология. – 2007. – Т. 47, № 6. – С. 46–49.
77. Хама-Мурад А. Х. Вторичное повреждение при мозговом инсульте и возможность восстановления функций мозга (роль цитокинов, нейротрофических факторов, адгезионных молекул) / А. Х. Хама-Мурад, Л. И. Павлинова, А. А. Мокрушин // Нейрохимия. – 2007. – Т. 24, № 2. – С. 121–131.

78. Хейсс В. Д. Исследование пенумбры как основной мишени при терапии ишемического инсульта / В. Д. Хейсс // Инсульт : Приложение к Журналу неврологии и психиатрии. – 2003. – № 9. – С. 11–13.
79. Хурани И. Ф. Влияние мутации генов MTHFR и MMP-12 на активность прооксидантных и профибротических агентов и уровень гомоцистеина у больных раком грудной железы / И. Ф. Хурани // Клиническая онкология. – 2011. – № 4 (4). – С. 54–57.
80. Цимбалюк В. И. Роль некоторых нейроиммунных и сосудистых факторов при ишемических повреждениях головного мозга / В. И. Цимбалюк, М. С. Бровченко // Укр. мед. часопис. – 2005. – № 4 (48). – С. 25–28.
81. Шевченко О. П. Гипергомоцистеинемия и ее клиническое значение / О. П. Шевченко, Г. А. Олефриенко // Лаборатория. – 2002. – № 1. – С. 3–7.
82. Шишкин А. Н. Эндотелиальная дисфункция и артериальная гипертензия / А. Н. Шишкин, М. Л. Лындина // Артериальная гипертензия. – 2008. – № 4. – С. 315–319.
83. Щепанкевич Л. А. Ишемический инсульт: оценка параметров сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза в остром периоде заболевания / Л. А. Щепанкевич, П. И. Пилипенко // Вестн. неврол., психиатр. и нейрохирур. – 2011. – № 1. – С. 11–13.
84. Эндотелиальная дисфункция и цереброваскулярная патология у больных сахарным диабетом / Е. Л. Товажнянская, И. О. Безуглова, О. И. Дубинская и др. // Международный медицинский журнал. – 2014. – № 3. – С. 26–30.
85. Эндотелий. Функция и дисфункция / З. А. Лупинская, А. Г. Зарифьян, Т. Ц. Гурович, С. Г. Шлейфер. – Б. : КРСУ, 2008. – С. 255–260.
86. Яворская В. А. Профилактика инсульта с позиций доказательной медицины: ABC / В. А. Яворская, Н. В. Дьолог, А. В. Гребенюк // Здоров'я України. – 2006. – № 13–14, 15–16.

87. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase / P. Frosst, H. J. Blom, R. Milos et al. // *Nat. Genet.* – 1995. – Vol. 10. – P. 111–113.
88. Alison A. M. Ritchie. Multifactor dimensionality reduction: An analysis strategy for modelling and detecting gene – gene interactions in human genetics and pharmacogenomics studies / A. M. Alison, D. Marylyn // *Human genomics.* – 2006. – Vol. 2, № 5. – P. 318–328.
89. A Meta-Analysis of the Relationship between MTHFR Gene A1298C Polymorphism and the Risk of Adult Stroke / M. J. Zhang, Z. C. Hu, Y. W. Yin et al. // *Cerebrovasc. Dis.* – 2014. – № 38 (6). – P. 425–432. – DOI : 10.1159/000369122. – ePub. 2014, Dec. 3.
90. A possible genetic link between MTHFR genotype and smoking behaviour / M. Linnebank, S. Moskau, A. Semmler et al. // *PLoS One.* – 2012. – № 7 (12). – P. e53322. – DOI : 10.1371/journal.pone.0053322. – ePub. 2012, Dec. 28.
91. A1298C methylenetetrahydrofolate reductase mutation and coronary artery disease: relationships with C677T polymorphism and homocysteine/folate metabolism / S. Friso, D. Girelli, E. Trabetti // *Clin. Exp. Med.* – 2002, May. – № 2 (1). – P. 7–12.
92. Acute ischemic stroke / A. E. Hillis, R. T. Johnson, J. Griffin, J. McArthur // *Current Therapy in Neurologic Disease.* – 7th ed. – St. Louis, MO : Mosby, 2005. – P. 213–217.
93. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies / S. Lewington, R. Clarke, N. Qizilbash et al. // *Lancet.* – 2002. – Vol. 14 (360). – P. 1903–1913.
94. Alcohol abuse and cigarette smoking are associated with global DNA hypermethylation: results from the German Investigation on Neurobiology in Alcoholism (GINA) / A. Semmler, P. Heese, B. Stoffel-Wagner et al. // *Alcohol.* – 2015, Mart. – Vol. 49 (2). – P. 97–101. – DOI: 10.1016/j.alcohol.2015.01.004. – ePub. 2015, Jan. 20.

95. An association of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphism and common carotid atherosclerosis / R. Kawamoto, K. Kohara, Y. Tabara et al. // *J. Hum. Genet.* – 2001. – Vol. 46. – P. 506–510.
96. Association between cardiovascular death and myocardial infarction and serum selenium in a matched-pair longitudinal study / J. T. Salonen, G. Alfthan, J. K. Huttunen et al. // *Lancet.* – 1982. – № 2 (8291). – P. 175–179.
97. Association between genetic and environmental factors and the risk of Alzheimer's disease / M. Styczyska, J. B. Strosznajder, D. Religa et al. // *Folia Neuropathol.* – 2008. – № 46 (4). – P. 249–254.
98. Association between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T/A1298C polymorphisms and essential hypertension: a systematic review and meta-analysis / Y. L. Wu, C. Y. Hu, S. S. Lu et al. // *Metabolism.* – 2014, Dec. – № 63 (12). – P. 1503–1511.
99. Association between MTHFR gene polymorphisms, smoking, and the incidence of vascular dementia / P. Jin, S. Hou, B. Ding et al. // *Asia Pac. J. Public. Health.* – 2013, Jul. – Vol. 25 (4 Suppl). – P. 57S–63S. – DOI : 10.1177/1010539513492819. – ePub. 2013, Jul. 15.
100. Association of C677T gene polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase with insulin resistance among Kirghizes / O. S. Lunegova, A. S. Kerimkulova, N. B. Turdakmatov et al. // *Kardiologia.* – 2011. – № 51 (3). – P. 58–62.
101. Association of homocysteine and methylene tetrahydrofolate reductase(MTHFR C677T) gene polymorphism with coronary artery disease (CAD) in the population of North India / R. Tripathi¹, S. Tewari², P. K. Singh, S. Agarwal // *Genetics and Molecular Biology.* – 2010, Apr. – Jun. – № 33 (2). – P. 224–228. – DOI : 10.1590/S1415-47572010005000026. – Published online 2010, Jun. 1.
102. Association of MTHFR C677T and A1298C gene polymorphisms with hypertension / Abdullah Alghashama, Ahmad A. Settina, Ahmad Alia et al. //

International Journal of Health Sciences, Qassim University. – 2012. – Vol. 6, № 1 (Jan. 2012/ Safar 1433H).

103. Association of polymorphisms MTHFR C677T and A1298C with risk of colorectal cancer, genetic and epigenetic characteristic of tumors, and response to chemotherapy / A. M. Fernández-Peralta, L. Daimiel, N. Nejda et al. // *Int. J. Colorectal. Dis.* – 2010. – № 25 (2). – P. 141–151.

104. Association of the A1298C polymorphism in MTHFR gene with ischemic stroke / S. Kang, Y. Wu, L. Liu et al. // *J. Clin. Neurosci.* – 2014, Feb. – № 21 (2). – P. 198–202. – DOI : 10.1016/j.jocn.2013.04.017. – ePub. 2013, Oct. 13.

105. Association of the methylenetetrahydrofolate reductase gene A1298C polymorphism with stroke risk based on a meta-analysis / Q. Lv, J. Lu, W. Wu et al. // *Genet. Mol. Res.* – 2013. – Dec. 19. – № 12 (4). – P. 6882-6894. – DOI : 10.4238/2013.December.19.7.

106. Associations of common variants in methionine metabolism pathway genes with plasma homocysteine and the risk of type 2 diabetes in Han Chinese / T. Huang, J. Sun, Y. Chen et al. // *J. Nutrigenet. Nutrigenomics.* – 2014. – № 7 (2). – P. 63–74. – DOI : 10.1159/000365007. – ePub. 2014, Jul. 25.

107. Bagley P. J. A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with an accumulation of formylated tetrahydrofolates in red blood cells / P. J. Bagley, J. Selhub // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1998. – Oct. 27. – № 95 (22). – P. 13217–13220.

108. Biochemical markers in acute ischemic stroke / M. D. Hill, M. Jackowski, N. Bayer et al. // *Canadian Medical Association Journal.* – 2000. – № 162 (8). – P. 1139–1140.

109. Boldyrev A. A. Molecular mechanisms of homocysteine toxicity / A. A. Boldyrev // *Biochemist (Mosc).* – 2009. – № 74 (6). – P. 589–598.

110. Borowczyk K. Metabolism and neurotoxicity of homocysteine thiolactone in mice: evidence for a protective role of paraoxonase / K. Borowczyk, D. M. Shih, H. Jakubowski // *J. Alzheimers. Dis.* – 2012. – № 30 (2). – P. 225–231.

111. Bostom A. G. Homocysteine and arteriosclerosis: Subclinical and clinical disease associations / A. G. Bostom, J. Selhub // *Circulation*. – 1999. – Vol. 99. – P. 2361–2363.
112. Bredt D. S. Nitric Oxide Signaling in Brain: Potentiating the Gain with YC-1 / D. S. Bredt // *Mol. Pharmacol.* – 2003. – № 63. – P. 1206–1208.
113. Brustolin S. Genetics of homocysteine metabolism and associated disorders / S. Brustolin, R. Giugliani, T. M. Félix // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 2010, January. – № 43 (1). – P. 1–7.
114. B-vitamins, homocysteine metabolism and CVD / J. J. Strain, L. Dowey, M. Ward et al. // *Proceedings of the Nutrition Society*. – 2004. – Vol. 63. – P. 597–603.
115. C677T and A1298C Mutations in the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene in Patients with Recurrent Abortion from the Iranian Azeri Turkish / Morteza Bagheri, Isa Abdi Rad, Mir Davood Omrani et al. // *International Journal of Fertility and Sterility*. – 2010, Oct. – Dec. – Vol. 4, № 3. – P. 134–139.
116. C677T Gene Polymorphism of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) in Meningiomas and High-grade Gliomas / A. M. Kafadar, H. Yulmaz, D. Kafadar et al. // *Anticancer research*. – 2006. – Vol. 26. – P. 2445–2450.
117. Caplan L. *Caplan's Stroke: a clinical approach* / L. Caplan. – 3rd ed. – Butterworth-Heinemann, 2000. – 568 p.
118. Caplan L. R. *Stroke* / L. R. Caplan. – New York : Demos Medical Publishing. – 2005. – 233 p.
119. Case-control Study of methylenetetrahydrofolate reductase mutations and hyperhomocysteinemia and risk of stroke / W. Y. Almawi, A. Khan, S. S. Al-Othman // *J. Stroke Cerebrovasc Dis.* – 2009, Sep. – Oct. – № 18 (5). – P. 407–408. – DOI : 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2008.12.003.
120. Chamorro H. The harms and benefits of inflammatory and immune responses in vascular disease / H. Chamorro, J. Hallenbeck // *Stroke*. – 2006. – № 37. – P. 291.

121. Characterization of six novel mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in patients with homocystinuria / S. Sibani, B. Christensen, E. O'Ferrall et al. // *Hum. Mutat.* – 2000. – № 15 (3). – P. 280–287.
122. Chilici A. M. Allelic association of the methylenetetrahydrofolate reductase gene with schizophrenia / A. M. Chilici, Beatrix-Katalin Ferencz, O. Popescu // *Series of Chemistry.* – 2007. – № 16 (3). – P. 1–6.
123. 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.
124. 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.
125. Combined effect of Factor V Leiden, MTHFR, and angiotensin-converting enzyme (insertion/deletion) gene mutations in hypertensive adult individuals: a population-based study from Sivas and Canakkale, Turkey / Y. [Demirel](#), S. [Dogan](#), A. [Uludag](#) // [Genet. Test. Mol. Biomarkers.](#) – 2011, Nov. – № 15 (11). – P. 785–791. – DOI : 10.1089/gtmb.2011.0044. – ePub. 2011, Jun. 23.
126. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a meta-analysis L. Brattstrom, D. E. Wilcken, J. Ohrvik, L. Brudin // *Circulation.* – 1998. – Dec. 8. – № 98 (23). – P. 2520–2526.
127. Coppola A. Homocysteine, coagulation, platelet function, and thrombosis / A. Coppola, G. Davi, V. De Stefano // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2000. – Vol. 26. – P. 234–239, 243–254.
128. Cui T. MTHFR C677T mutation increased the risk of Ischemic Stroke, especially in large-artery atherosclerosis in adults: an updated meta-analysis from 38 researches / [T. Cui](#) // *Int. J. Neurosci.* – 2015, Jan. 7.
129. Daly S. Homocysteine and folic acid: implications for pregnancy / S. Daly, A. Cotter, A. E. Molloy // *Semin. Vasc. Med.* – 2005. – Vol. 5. – P. 190–200.

130. Detection of C677T mutation of MTHFR in subject with coronary heart disease by hairpin probe with enzymatic color on microarray / Q. Chen, Y. Sun, L. Zhang et al. // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2011. – Oct. 15. – Vol. 28, Issue 1. – P. 84–90.
131. 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.
132. DNA Promoter Methylation in Breast Tumors: No Association with Genetic Polymorphisms in MTHFR and MTR / M. H. Tao, P. G. Shields, J. Nie et al. / *Cancer. Epidemiol. Biomarkers. Prev.* – 2009. – № 18 (3). – P. 998–1002.
133. Endothelial dysfunction and atherothrombosis in mild hyperhomocysteinemia / N. Weiss, C. Keller, U. Hoffmann, J. Loscalzo // *Vasc. Med.* – 2002. – Vol. 7. – P. 227–239.
134. Endothelial dysfunction in patients with ischemic stroke / Z. A. Suslina, M. M. Tanashyan, M. A. Domashenko et al. // *Annals Clin. Exp. Neurol.* – 2008. – Vol. 2, № 1. – P. 4–11.
135. Endothelial Function Predicts Future Development of Coronary Artery Disease : A Study of Women With Chest Pain and Normal Coronary Angiograms./ R. Bugiardini, O. Manfrini, C. Pizzi et al. // *Circulation*. – 2004. – Vol. 109. – P. 2518–2523.
136. Estimated prevalence and control of risk factors for cardiovascular disease in the population and physicians / I. M. Gorbas, O. M. Barna, V. Y. Sakalosh, M. A. Bakumenko // *Liky Ukrainy*. – 2010. – Vol. 1. – P. 24–26.
137. Fagerstrom K. The Epidemiology of smoking: Health Consequences and Benefits of Cessation / K. Fagerstrom // *Drugs*. – 2002. – Vol. 62, № 2. – P. 1–9.
138. Faulx M. D. Detection of endothelial dysfunction with brachial artery ultrasound scanning / M. D. Faulx, A. T. Wright, B. D. Hoit // *Am. Heart. J.* – 2003. – № 145 (6). – P. 943–951.

139. Folate and homocysteine in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease or dementia: a case control study / M. A. Smach, N. Jacob, J. L. Golmard et al. // *European Neurology*. – 2011. – № 65 (5). – P. 270–278. – DOI :10.1159/000326301.
140. Forstermann U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease / U. Forstermann // *Pflügers Arch*. – 2010. – Vol. 459, № 6. – P. 923–939.
141. Gaseous transmitters as new agents in neuroendocrine regulation / A. Costa, A. Poma, P. Navarra et al. // *Journal of Neuroendocrinology*. – 1997. – № 149. – P. 199–207.
142. Gaydaev Y. O. Health problems and directions of its improvement in modern conditions / Y. O. Gaydaev, V. M. Kornatchkyi // *Ukr. Kardiol. J*. – 2007. – Vol. 5. – P. 7.
143. Gender and single nucleotide polymorphisms in MTHFR, BHMT, SPTLC1, CRBP2, CETP, and SCARB1 are significant predictors of plasma homocysteine normalized by RBC folate in healthy adults / A. J. Clifford, K. Chen, L. McWade et al. // *J. Nutr.* – 2012, Sep. – № 142 (9). – P. 1764–1771. – DOI : 10.3945/jn.112.160333. – ePub. 2012, Jul. 25.
144. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) / P. Goyette, A. Pai, R. Milos et al. // *Mamm. Genome*. – 1998. – Vol. 9. – P. 652–656.
145. Genetic Analysis of the Thermolabile Variant of 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase as a Risk Factor for Ischemic Stroke / Dawn L. Harmon, Rachael M. Doyle, Raymond Meleady et al. // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 1999. – Vol. 19. – P. 208–211.
146. Genetic polymorphism of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) as a risk factor for coronary artery disease / H. Morita, J. Taguchi, H. Kurihara et al. // *Circulation*. – 1997. – Vol. 95. – P. 2032–2036.
147. Genetic polymorphisms in the one-carbon metabolism pathway and breast cancer risk: A population-based case-control study and meta-analyses /

J. Lissowska, Mia M. Gaudet, Louise A. Brinton et al. // *Int. J. Cancer.* – 2007. – Vol. 120. – P. 2696–2703.

148. Genotype and allele frequencies of the polymorphic methylenetetrahydrofolate reductase gene in Turkey / A. Sazci, E. Ergul, G. Kaya, I. Kara // *Cell. Biochem. Funct.* – 2005. – Vol. 23. – P. 51–54.

149. Genotype frequency in MTHFR samples to C677T polymorphism in patients from the city of Curitiba-PR / Marcos Edgar, Herkenhoff; Rodrigo Guilherme, Backes; Rodrigo, Gaulke; Vanessa Rosália, Remualdo // *J. Bras. Patol. Med. Lab.* – 2012. – № 48 (6). – P. 435–438.

150. Gorelick P. B. New horizons for stroke prevention: PROGRESS and HOPE P. B. Gorelick // *Lancet Neurol.* – 2002. – Vol. 1. – P. 149–156.

151. Hadi H. A. R. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus / H. A. R. Hadi, J. A. Suwaidi // *Vasc. Health. Risk. Manag.* – 2007. – Vol. 3, № 6. – P. 853–876.

152. Hansson G. K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease / G. K. Hansson // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 352, № 4. – P. 1685–1695.

153. Homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms in Tunisian patients with severe coronary artery disease (Citations: 2) / L. Ghazouani, N. Abboud, N. Mtiraoui et al. // *Journal of Thrombosis and Thrombolysis.* – 2009. – Vol. 27, № 2. – P. 191–197.

154. Homocysteine Induces Synthesis of a Serine Elastase in Arterial Smooth Muscle Cells From Multi-organ Donors / D. Jourdheuil-Rahmani, P. H. Rolland, E. Rosset et al. // *Cardiovascular Research.* – 1997. – № 34 (3). – P. 597–602.

155. Homocysteine inhibits endothelial cell growth via DNAhypomethylation of the cyclin A gene / S. Jamaluddin, I. Chen, F. Yang et al. // *Blood.* – 2007. – Vol. 110. – P. 3648–3655.

156. Homocysteine inhibits inactivation of factor Va by activated protein C / A. Undas, E. B. Williams, S. Butenas et al. // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276. – P. 4389–4397.

157. Homocysteine is toxic for dopaminergic neurons in primary mesencephalic culture / K. Imamura, T. Takeshima, K. Nakaso, K. Nakashima // *Neuroreport*. – 2007. – № 18 (13). – P. 1319–22.
158. Homocysteine levels are associated with MTHFR A1298C polymorphism in Indian population / J. Kumar, Swapan K. Das, P. Sharma et al. // *Journal of Human Genetics*. – 2005, December. – Vol. 50, Issue 12. – P. 655–663.
159. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA mapping and mutation identification / P. Goyette, J. S. Sumner, R. Milos et al. // *Nat. Genet.* – 1994, Jun. – № 7 (2). – P. 195–200.
160. Hyperhomocysteinemia and Other Inherited Prothrombotic Conditions in Young Adults With a History of Ischemic Stroke / P. Madonna, V. de Stefano, A. Coppola et al. // *Stroke*. – 2002. – Vol. 33. – P. 51–56.
161. Ian F. W. McDowell. Homocysteine and Endothelial Dysfunction: A Link with Cardiovascular Disease / Ian F. W. McDowell, Derek Lang // *J. Nutr.* – 2000. – Vol. 130. – P. 369–372.
162. Induction of cyclin. A gene expression by homocysteine in vascular smooth muscle cells / J. Tsai, H. Wang, M. Perrella et al. // *J. Clin. Invest.* – 1996. – Vol. 97. – P. 146–153.
163. Inflammation and stroke: putative role for cytokines, adhesion molecules and iNOS in brain response to ischemia / G. Del Zoppo, I. Ginis, J. M. Hallenbeck et al. // *Brain. Pathol.* – 2000. – № 10. – P. 95–112.
164. Intermediate hyperhomocysteinemia resulting from compound heterozygosity of methylenetetrahydrofolate reductase mutations / S. S. Kang, P. W. K. Wong, H. G. O. Bock et al. // *Am. J. Hum. Genet.* – 1991 a. – Vol. 48. – P. 546–551.
165. Ionotropic glutamate receptors: still a target for neuroprotection in brain ischemia? Insights from in vitro studies / P. Calabresi, D. Centonze, L. M. Cupini et al. // *Neurobiol. Dis.* – 2003. – Vol. 12. – P. 82–88.
166. Ischemic stroke in Ukrainian population: possible involvement of the F2 G20210A, F5 G1691A and MTHFR C677T gene variants / P. F. Tatarsky, et al.

- A. M. Kucherenko, S. A. Kravchenko et al. // *Biopolymers and Cell.* – 2010. – Vol. 26, № 4. – P. 299–305.
167. Isotalo P. A. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutations / P. A. Isotalo, G. A. Wells, J. G. Donnelly // *Am. J. Hum. Genet.* – 2000. – Vol. 67. – P. 986–990.
168. Jander S. Imaging Inflammation in Acute Brain Ischemia / S. Jander, M. Schroeter, A. Saleh // *Stroke.* – 2007. – № 38. – P. 642–645.
169. Kang S. S. Genetic and nongenetic factors for moderate hyperhomocyst(e)inemia / S. S. Kang, P. W. Wong // *Atherosclerosis.* – 1996. – Vol. 119. – P. 135–138.
170. Kang S. S. Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev* / S. S. Kang, P. W. K. Wong, M. R. Malinow // *Nutr.* – 1992. – Vol. 12. – P. 279–298.
171. Kraus J. P. Biochemistry and molecular genetics of cystathionine beta-synthase deficiency / J. P. Kraus // *Eur. J. Pediatr.* – 2006. – Vol. 157. – P. 50–53.
172. Lawes C. M. International Society of Hypertension. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001 / C. M. Lawes, S. Vander Hoorn, A. Rodgers // *Lancet.* – 2008. – Vol. 371. – P. 1513–1518.
173. Lentz S. R. Homocysteine: Is it a clinically important cardiovascular risk factor / S. R. Lentz, W. G. Haynes // *Clev. Clin. J. Med.* – 2004. – Vol. 71. – P. 729–734.
174. Lerman A. Endothelial function: cardiac events / A. Lerman, A. M. Zeiher // *Circulation.* – 2005. – Vol. 111. – P. 363–368.
175. Li P. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphisms and susceptibility to ischemic stroke: a meta-analysis / P. Li, C. Qin // *Gene.* – 2014. – Feb. 10. – № 535 (2). – P. 359–364. – DOI : 10.1016/j.gene.2013.09.066. – ePub. 2013, Oct. 16.

176. Lucock M. Folic acid: nutritional biochemistry, molecular biology, and role in disease processes / M. Lucock // *Mol. Genet. Metab.* – 2000. – Vol. 71. – P. 121–138.
177. Malinow M. R. Homocysteine, diet and cardiovascular disease. A statement for Health Professionals from the Nutrition Committee, American Heart Association / M. R. Malinow, A. G. Bostom, R. M. Krauss // *Circulation.* – 1999. – Vol. 99. – P. 178–182.
178. McCully K. S. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of atherosclerosis / K. S. McCully // *American Journal Pathology.* – 1969. – № 56. – P. 311–323.
179. McCully K. Chemical pathology of homocysteine. Atherogenesis / K. McCully // *Anal. Clinical Laboratory Science.* – 1993. – № 23. – P. 78–85.
180. Medina M. A. Glutamine and cancer / M. A. Medina // *J. Nutrition.* – 2001. – Vol. 131. – P. 324–332.
181. Meta-analyses of observational and genetic association studies of folate intakes or levels and breast cancer risk / S. J. Lewis, R. M. Harbord, R. Harris, G. D. Smith // *J. Natl. Cancer. Inst.* – 2006. – Vol. 98. – P. 1607–1622.
182. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and angiotensinogen converting enzyme (ACE) gene polymorphisms related to overweight and obesity among Saudi patients in Al Qassim / A. Settin, A. Algasham, M. Dowaidar, H. Ismail // *Int. J. Health. Sci. (Qassim).* – 2011, Jul. – № 5 (2 Suppl. 1). – P. 24–25.
183. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism is associated with central adiposity and increased androgenicity in healthy postmenopausal women / I. Lambrinoudaki, G. Kaparos, D. Papadimitriou et al. // *European Journal of Endocrinology.* – 2008. – Vol. 159. – P. 233–240.
184. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) Gene C677T Polymorphism Is Associated with Coronary Atherosclerosis Disease in a Sample of Iranian Patients / A. Aleyasin, M. Ghaedi, S. Davoodi et al. // *The Journal of Tehran Heart Center.* – 2006. – Vol. 1, № 2. – P. 77–81.

185. Methylenetetrahydrofolate reductase 677 C/T Genotype and Cardiovascular Disease Mortality in Postmenopausal Women / M. Roest, Yvonne T. Van der Schouw, Diederick E. Grobbee et al. // *Am. J. Epidemiol.* – 2001. – Vol. 153. – P. 673–679.
186. Methylenetetrahydrofolate reductase A1298C polymorphism and diabetes risk: evidence from a meta-analysis / Y. Yan, H. Liang, S. Yang et al. // *Ren. Fail.* – 2014, Aug. – № 36 (7). – P. 1013–1017. – DOI : 10.3109/0886022X.2014.917429. – ePub. 2014, May 15.
187. Methylenetetrahydrofolate reductase C667T polymorphism is associated with increased risk of coronary artery disease in a Chinese population / W. Chen, K. Hua, H. Gu et al. // *Scand. J. Immunol.* – 2014, Nov. – № 80 (5). – P. 346–353. – DOI : 10.1111/sji.12215.
188. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms are associated with ischemic and hemorrhagic stroke: Dual effect of MTHFR polymorphisms C677T and A1298C (Citations: 11) / A. Sazci, E. Ergul, N. Tuncer et al. // *Brain. Research. Bulletin.* – 2006. – Vol. 71, № 1. – P. 45–50.
189. Methylenetetrahydrofolate Reductase Genotypes and Early-Onset Coronary Artery Disease / A. Mager, S. Lalezari, T. Shohat et al. // *Circulation.* – 1999. – Vol. 100. – P. 2406–2410.
190. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and type 2 diabetes mellitus in Chinese population: a meta-analysis of 29 case-control studies / B. Zhu, X. Wu, X. Zhi et al. // *PLoS One.* – 2014. – Jul. 21. – № 9 (7). – P. e102443. – DOI : 10.1371/journal.pone.0102443. eCollection 2014.
191. Moat S. J. Plasma total homocysteine: instigator or indicator of cardiovascular disease / S. J. Moat // *Ann. Clin. Biochem.* – 2008. – Vol. 45. – P. 345–348.
192. Molecular Genetic Analysis in Mild Hyperhomocysteinemia: A Common Mutation in the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Is a Genetic Risk Factor for Cardiovascular Disease / Leo A. J. Kluijtmans, Lambert P. W. J. van den Heuvel, Godfried H. J. Boers et al. // *Am. J. Hum. Genet.* – 1996. – Vol. 58. – P. 35–41.

193. MTHFR 677C T and 1298A C Gene Polymorphisms and Its Relation to Levels of Homocysteine, Folate Vitamin B12 and Vitamin B2 In Colorectal Cancer Austral / S. Chandy, M. N. Sadananda Adiga, G. Ramesh et al. // Asian Journal of Cancer. – 2010, April. – Vol. 9, № 2. – P. 89–98.
194. MTHFR A1298C polymorphism is associated with cardiovascular risk in end stage renal disease in North Indians / Aruna Poduri, Debabrata Mukherjee, Kamal Sud et al. // Molecular and Cellular Biochemistry. – 2008. – Vol. 308, № 1. – P. 43–50.
195. Mutations in the factor V, prothrombin and MTHFR genes are not risk factors for recurrent fetal loss / A. Dilley, C. Benito, W. C. Hooper et al. // J. Matern. Fetal. Neonatal. Med. – 2002. – № 11 (3). – P. 176–182.
196. No Association of Functional Polymorphisms in Methylenetetrahydrofolate Reductase and the Risk and Minor Physical Anomalies of Schizophrenia in Korean Population / Su-Gyeong Kim, Joo Yun Song, Eun-Jeong Joo et al. // J. Korean. Med. Sci. – 2011. – Vol. 26. – P. 1356–1363.
197. O'Neil M. J. Stroke: Mechanisms of Excitotoxicity and Approaches for Therapy / M. J. O'Neil, D. Lodge, D. McCulloch // Handbook of Contemporary Neuropharmacology. – John Wiley and Sons Inc., 2007. – P. 348–401.
198. One-carbon metabolism-related gene polymorphisms and risk of breast cancer / T. Suzuki, K. Matsuo, K. Hirose et al. // Carcinogenesis. – 2008. – Vol. 29, № 2. – P. 356–362.
199. Pardridge W. M. Molecular Biology of the Blood-brain barrier / W. M. Pardridge // Mol. Biotechnol. – 2005. – № 30 (1). – P. 57–70.
200. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease / S. Seshadri, A. Beiser, J. Selhub et al. // N. Engl. J. Med. – 2002. – № 346 (7). – P. 476–483.
201. Plasma homocysteine levels correlated to interactions between folate status and methylene tetrahydrofolate reductase gene mutation in women with unexplained recurrent pregnancy loss / K. S. Kumar, V. Govindaiah, S. E. Naushad et al. // J. Obstet. Gynaecol. – 2003. – Vol. 23. – P. 55–58.

202. Prevalence of methylene tetrahydrofolate reductase polymorphism in South Indian population / A. Radha Rama Devi, V. Govindaiah, G. Ramakrishna et al. // *Current science*. – 2004. – Vol. 86. – P. 440–443.
203. Prevalence of MTHFR gene polymorphisms (C677T and A1298C) among Tamilians / T. Angeline, N. Jeyaraj, S. Granito, G. J. Tsongalis // *Exp. Mol. Pathol.* – 2004, Oct. – № 77 (2). – P. 85–88.
204. Recovery after stroke: A qualitative perspective / B. O’Connell, B. Hanna, W. Penney et al. // *J. Qual. Clin. Practice*. – 2001. – № 21. – P. 120–125.
205. Relation of plasma total homocysteine to cardiovascular mortality in a French population / J. Blacher, A. Benetos, J. M. Kirzin et al. // *Am. J. Cardiol.* – 2002, Sep. 15. – № 90 (6). – P. 591–595.
206. Relationship of MTHFR gene 677C → T polymorphism, homocysteine, and estimated glomerular filtration rate levels with the risk of new-onset diabetes / X. Qin, Y. Li, H. Yuan et al. // *Medicine (Baltimore)*. – 2015, Feb. – № 94 (7). – P. e563. – DOI : 10.1097/MD.0000000000000563.
207. Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE Study): a casecontrol study / M. O’Donnell, D. Xavier, L. Liu, H. Zhang // *Lancet*. – 2010. – № 376. – P. 112–123.
208. Risk of hospitalized stroke in men enrolled in the Honolulu Heart Program and the Framingham Study: a comparison of incidence and risk factor effects / B. L. Rodriguez, R. D’Agostino, R. D. Abbott et al. // *Stroke*. – 2002. – Vol. 33. – P. 230–236.
209. Genetic polymorphisms of MTHFR (677T AND 1298C) and homocysteine metabolism as maternal risk factor for down’s syndrome patients in north indian population / Sanjeev Kumar Pandey, Pankaj Kumar Mohanty, Sunil Kumar Polipalli, Seema Kapoor // *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* – 2013, Apr. – Vol. 4 (2). – P. 249–256.
210. Selhub J. Homocysteine metabolism / J. Selhub // *Ann. Rev. Nutr.* – 1999. – Vol. 19. – P. 217–246.

211. Serum folate, total homocysteine levels and methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T polymorphism in young healthy female Japanese / T. Taguchi, H. Mori, A. Hamada et al. // *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* – 2012. – Vol. 21 (2). – P. 291–295.
212. Seven novel mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and genotype/phenotype correlations in severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency / P. Goyette, P. Frosst, D. S. Rosenblatt, R. Rozen // *Am. J. Hum. Genet.* – 1995, May. – № 56 (5). – P. 1052–1059.
213. Special Report from the National Institute of Neurological Disorders and Stroke, 1990. Classification of cerebrovascular diseases III. *Stroke* 21. – P. 637–676.
214. Stroke incidence and prevalence in Europe: a review of available data / T. Truelsen, B. Piechowski-Jo Wiak, R. Bonita et al. // *Eur. J. Neurol.* – 2006. – Vol. 13. – P. 581–598.
215. Stroke risk profile: adjustment for antihypertensive medication. The Framingham Study / Ralph B. D'Agostino, Philip A. Wolf, Albert J. Belanger, William B. Kannel // *Stroke.* – 1994. – Vol. 25. – P. 40–43.
216. Stroke unit care and outcome. Results from the 2001 National Sentinel Audit of Stroke (England, Wales and Northern Ireland) / A. D. Rudd, A. Hofman, P. Irwin, D. Lowe // *Stroke.* – 2005. – Vol. 36. – P. 103–106.
217. Study on homocysteine levels and methylenetetrahydrofolate reductase gene variant (C677T) in a population of Buenos Aires City / O. Fridman, R. Porcile, V. Vanasco et al. // *Clin. Exp. Hypertens.* – 2008, Oct. – № 30 (7). – P. 574–584. – DOI : 10.1080/10641960802251958.
218. Synergistic Effects of Prothrombotic Polymorphisms and Atherogenic Factors on the Risk of Myocardial Infarction in Young Males / A. Inbal, D. Freimark, B. Modan et al. // *Blood.* – 1999. – Vol. 93, № 7 (April 1). – P. 2186–2190.
219. Tagging SNPs in the MTHFR gene and risk of ischemic stroke in a Chinese population / B. S. Zhou, G. Y. Bu, M. Li et al. // *J. Mol. Sci.* – 2014. – May 20. – № 15 (5). – P. 8931–8940. – DOI : 10.3390/ijms15058931.

220. Tatarsky P. Allelic polymorphism of F2, F5 and MTHFR GENES in population of Ukraine / P. Tatarsky, A. Kucherenko, L. Livshits // Цитология и генетика. – 2010. – № 3. – С. 3–8.
221. The association between methylene-tetrahydrofolate reductase gene polymorphism and lung cancer risk / S. Arslan, S. Karadayi, M. E. Yildirim et al. // Mol. Biol. Rep. – 2011, Feb. – № 38 (2). – P. 991–996. – DOI : 10.1007/s11033-010-0194-z. – ePub. 2010, Jun. 8.
222. The C677T Mutation in the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene among the Indonesian Javanese Population Kobe / A. H. Sadewa, Sunarti, R. Sutomo et al. // J. Med. Sci. – 2002. – Vol. 48, № 4. – P. 137–144.
223. The C677T Polymorphism of the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Is Associated with Idiopathic Ischemic Stroke in the Young Mexican-Mestizo / I. Isordia-Salas, F. Barinagarrementeria-Aldatz, A. Leacos-Miranda et al. // Cerebrovasc. Dis. – 2010. – Vol. 29. – P. 454–459.
224. The C677T Variant in the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene and Idiopathic Spontaneous Abortion in a Romanian Population Group / Radu A. Popp, Tania O. Crisan, Adrian P. Trifa et al. // Not. Sci. Biol. – 2012. – № 4 (1). – P. 7–11.
225. The coagulation factor V Leiden, MTHFRC677T variant and eNOS 4ab polymorphism in young Chinese population with ischemic stroke / C. Shi, X. Kang, Y. Wang, Y. Zhou et al. // Clin. Chim. Acta. – 2008. – Vol. 396, № 1/2. – P. 7–9.
226. The Common Mutations C677T and A1298C in the Human Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Are Associated with Hyperhomocysteinemia and Cardiovascular Disease in Hemodialysis Patients (Citations: 16) / Y. S. Haviv, V. Shpichinetsky, N. Goldschmidt et al. // Nephron. – 2002. – Vol. 92, № 1. – P. 120–126.
227. The Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis // JAMA. – 2002. – № 288 (16). – P. 2015–2022.

228. The human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genes: genomic organization, mRNA structure and linkage to the CLCN6 gene Original Research Article / Derval J. Gaughan, Sandrine Barbaux, Leo A. J. Kluijtmans, Alexander S. Whitehead // *Gene*. – 2000. – October 31. – Vol. 257, Issue 2. – P. 279–289.
229. The methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism and male infertility in Italy / L. Stuppia, V. Gatta, O. Scarciolla et al. // *Endocrinol. Invest.* – 2003. – Vol. 26, № 7. – P. 620–622.
230. The TT genotype of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene polymorphism is associated with the extent of coronary atherosclerosis in patients at high risk for coronary artery disease / A. Gardemann, H. Weidemann, M. Philipp et al. // *European Heart Journal*. – 1999. – Vol. 20. – P. 584–592.
231. Thermolabile defect of methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease / S. S. Kang, E. L. Passen, N. Ruggie et al. // *Circulation*. – 1993. – Vol. 88. – P. 1463–1469.
232. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease / L. A. Kluijtmans, J. J. Kastelein, J. Lindemans et al. // *Circulation*. – 1997. – Vol. 96. – P. 2573–2577.
233. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in patients with coronary artery disease / S. S. Kang, P. W. Wong, J. M. Zhou et al. // *Metabolism*. – 1988. – Vol. 37. – P. 611–613.
234. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase, homocysteine, and cardiovascular disease risk: the European Concerted Action Project / R. Meleady, Per M. Ueland, H. Blom et al. // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2003. – Vol. 77. – P. 63–70.
235. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease / S. S. Kang, P. W. K. Wong, A. Susmano et al. // *Am. J. Hum. Genet.* – 1991 b. – Vol. 48. – P. 536–545.
236. Thrombophilic polymorphisms in Israel / A. Diskin Zoosmann, E. Gazit, L. Peleg et al. // *Blood Cells Mol. Dis.* – 2008. – № 41. – P. 230–233.

237. Trabetti E. Homocysteine, MTHFR gene polymorphisms, and cardiovascular risk / E. Trabetti // *J. Appl. Genet.* – 2008. – Vol. 49. – P. 267–282.
238. Tu J. V. Reducing the global burden of stroke: INTERSTROKE / J. V. Tu // *Lancet.* – 2010. – Vol. 376. – P. 74–75.
239. Use of Framingham risk score and new biomarkers to predict cardiovascular mortality in older people: population based observational cohort study / W. de Ruijter, R. G. Westendorp, W. J. Assendelft et al. // *BMJ*. – 2009. – Jan. 8. – Vol. 33. – P. a3083. – DOI : 10.1136/bmj.a3083.P1-8.
240. Vanhoutte P. M. Endothelial dysfunction: the first step toward coronary arteriosclerosis / P. M. Vanhoutte // *Circ. J.* – 2009. – № 73 (4). – P. 595–601.
241. Verma S. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist / S. Verma, T. J. Anderson // *Circulation.* – 2002. – Vol. 105. – P. 546.
242. Wald D. S. Reconciling the evidence on serum homocysteine and ischaemic heart disease: a meta-analysis / D. S. Wald, J. K. Morris, N. J. Wald // *PLoS ONE.* – 2011. – Vol. 6. – P. e16473.
243. Wilcken D. E. L. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism / D. E. L. Wilcken, B. Wilcken // *J. Clin. Invest.* – 1976. – Vol. 57. – P. 1079–1082.
244. Wolf S. Die Blut-Hirn-Schranke: Eine Besonderheit des cerebralen Mikrozirkulationssystems / S. Wolf, B. Seehaus, K. Minol // *Naturwissenschaften.* – 1996. – № 83. – P. 302–311.
245. World Health Organization. Controlling the smoking Epidemic. Report of the WHO Expert Committee. – Geneva : WHO, 1979. – 87 p.
246. Yu L. Association of MHTFR Ala222Val (rs1801133) polymorphism and breast cancer susceptibility: An update meta-analysis based on 51 research studies / L. Yu, J. Chen // *Diagnostic. Pathology.* – 2012. – Vol. 7. – P. 171.
247. Zetterberg H. Methylenetetrahydrofolate reductase and transcobalamin genetic polymorphisms in human spontaneous abortion: biological and clinical implications / H. Zetterberg // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2004. – № 2 (1). – P. 7.

Додаток А

Розподіл осіб із різними генотипами за поліморфним варіантом С677Т гена MTHFR у контрольній групі та у хворих на ІАТІ залежно від ІМТ

	Генотип	Контроль, n (%)	ІАТІ, n (%)
ІМТ < 25 кг/м ²	С/С	17 (44,7)	22 (53,6)
	С/Т	19 (50,0)	14 (34,2)
	Т/Т	2 (5,3)	5 (12,2)
	Разом	38 (100)	41 (100)
$\chi^2 = 2,574; P = 0,276$			
ІМТ \geq 25 кг/м ²	С/С	39 (46,0)	67 (52,0)
	С/Т	41 (48,2)	47 (36,4)
	Т/Т	5 (5,8)	15 (11,6)
	Разом	85 (100)	129 (100)
$\chi^2 = 3,924; P = 0,141$			

Примітка. Подано частоту генотипу в абсолютних одиницях і відсотках. P – статистична значущість відмінностей між порівнюваними групами за χ^2 -критерієм

Додаток Б

Частота генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТНFR в осіб залежно від ІМТ у контрольній групі та у хворих на ІАТІ

	<i>Генотип</i>	<i>ІМТ < 25 кг/м², n (%)</i>	<i>ІМТ ≥ 25 кг/м², n (%)</i>
Контрольна група	С/С	17 (44,7)	39 (46,0)
	С/Т	19 (50,0)	41 (48,2)
	Т/Т	2 (5,3)	5 (5,8)
	Разом	38 (100)	85 (100)
$\chi^2 = 0,042; P = 0,979$			
Хворі на ІАТІ	С/С	22 (53,7)	67 (52,0)
	С/Т	14 (34,1)	47 (36,4)
	Т/Т	5 (12,2)	15 (11,6)
	Разом	41 (100)	129 (100)
$\chi^2 = 0,071; P = 0,965$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток В

Частота осіб-носіїв різних генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТНFR залежно від ІМТ у групах порівняння

<i>Генотип</i>	<i>Показник</i>	<i>Контроль, n (%)</i>	<i>IATI, n (%)</i>
С/С	ІМТ < 25 кг/м ²	17 (30,4)	22 (24,7)
	ІМТ ≥ 25 кг/м ²	39 (69,6)	67 (75,3)
	Разом	56 (100)	89 (100)
$\chi^2 = 0,556; P = 0,456$			
С/Т	ІМТ < 25 кг/м ²	19 (31,7)	14 (23,0)
	ІМТ ≥ 25 кг/м ²	41 (68,3)	47 (77,0)
	Разом	60 (100)	61 (100)
$\chi^2 = 1,158; P = 0,282$			
Т/Т	ІМТ < 25 кг/м ²	2 (28,6)	5 (25,0)
	ІМТ ≥ 25 кг/м ²	5 (71,4)	15 (75,0)
	Разом	7 (100)	20 (100)
$\chi^2 = 0,034; P = 0,853$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток Г

Частота генотипів за С677Т поліморфізмом гена МТНFR в осіб, які палять і які не палять, у контрольній групі та у хворих на ІАТІ

	<i>Генотип</i>	<i>Ті, хто не палить, n (%)</i>	<i>Ті, хто палить, n (%)</i>
Контрольна група	С/С	44 (47,3)	13 (41,9)
	С/Т	45 (48,4)	15 (48,4)
	Т/Т	4 (4,3)	3 (9,7)
	Разом	93 (100)	31 (100)
$\chi^2 = 1,337; P = 0,513$			
Хворі на ІАТІ	С/С	62 (51,7)	27 (54,0)
	С/Т	42 (35,0)	19 (38,0)
	Т/Т	16 (13,3)	4 (8,0)
	Разом	120 (100)	50 (100)
$\chi^2 = 0,979; P = 0,613$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток Д

Зв'язок А1298С поліморфізму гена МТНFR з розвитком ІАТІ в осіб із різним ІМТ

	<i>Генотип</i>	<i>Контроль, n(%)</i>	<i>ІАТІ, n(%)</i>
ІМТ < 25 кг/м ²	A/A	16 (43,2)	17 (41,5)
	A/C	16 (43,2)	19 (46,3)
	C/C	5 (13,5)	5 (12,2)
$\chi^2 = 0,083; P = 0,960$			
ІМТ = 25–30 кг/м ²	A/A	28 (50,9)	37 (52,9)
	A/C	22 (40,0)	18 (25,7)
	C/C	5 (9,1)	15 (21,4)
$\chi^2 = 4,917; P = 0,086$			
ІМТ > 30 кг/м ²	A/A	13 (41,9)	18 (30,5)
	A/C	16 (51,6)	26 (44,1)
	C/C	2 (6,5)	15 (25,4)
$\chi^2 = 4,891; P = 0,087$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток Е

Частота генотипів за A1298C поліморфізмом гена MTHFR в осіб залежно від ІМТ у контрольній групі та у хворих з ІАТІ

	<i>Генотип</i>	<i>ІМТ < 25 кг/м², n (%)</i>	<i>ІМТ ≥ 25 кг/м², n (%)</i>
Контрольна група	A/A	16 (42,1)	41 (48,2)
	A/C	17 (44,7)	37 (43,5)
	C/C	5 (13,2)	7 (8,2)
	Разом	38 (100)	85 (100)
$\chi^2 = 0,874; P = 0,646$			
Хворі на ІАТІ	A/A	17 (41,5)	55 (42,6)
	A/C	19 (46,3)	44 (34,1)
	C/C	5 (12,2)	30 (23,3)
	Разом	41 (100)	129 (100)
$\chi^2 = 3,115; P = 0,211$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток Ж

Частота осіб-носіїв різних генотипів за А1298С поліморфізмом гена МТНFR залежно від ІМТ у групах порівняння

<i>Генотип</i>	<i>Показник</i>	<i>Контроль, n (%)</i>	<i>IATI, n (%)</i>
A/A	ІМТ < 25 кг/м ²	16 (28,1)	17 (23,6)
	ІМТ = 25-30 кг/м ²	28 (49,1)	37 (51,4)
	ІМТ > 30 кг/м ² ,	13 (22,8)	18 (25,0)
	Разом	57 (100)	72 (100)
$\chi^2 = 0,343; P = 0,842$			
A/C	ІМТ < 25 кг/м ²	16 (29,6)	19 (30,2)
	ІМТ = 25-30 кг/м ²	22 (40,7)	18 (28,6)
	ІМТ > 30 кг/м ² ,	16 (29,6)	26 (41,3)
	Разом	54 (100)	63 (100)
$\chi^2 = 2,360; P = 0,307$			
C/C	ІМТ < 25 кг/м ²	5 (41,7)	5 (14,3)
	ІМТ = 25-30 кг/м ²	5 (41,7)	15 (42,9)
	ІМТ > 30 кг/м ² ,	2 (16,7)	15 (42,9)
	Разом	12 (100)	35 (100)
$\chi^2 = 4,846; P = 0,089$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток II

Зв'язок A1298C поліморфізму гена MTHFR із розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАТІ) в осіб із нормальним і підвищеним артеріальним тиском

	<i>Генотип</i>	<i>Контроль, n (%)</i>	<i>ІАТІ, n (%)</i>
Нормальний АТ	A/A	21 (43,8)	18 (42,9)
	A/C	23 (47,9)	15 (35,7)
	C/C	4 (8,3)	9 (21,4)
	Разом	48 (100)	42 (100)
$\chi^2 = 3,453; P = 0,178$			
Підвищений АТ	A/A	35 (47,9)	54 (42,2)
	A/C	30 (41,1)	48 (37,5)
	C/C	8 (11,0)	26 (20,3)
	Разом	73 (100)	128 (100)
$\chi^2 = 2,907; P = 0,234$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток К

Частота генотипів за A1298C поліморфізмом гена MTHFR в осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском у контрольній групі та у хворих на ІАТІ

	<i>Генотип</i>	<i>Нормальний АТ, n (%)</i>	<i>Підвищений АТ, n (%)</i>
Контрольна група	A/A	21 (43,8)	35 (47,9)
	A/C	23 (47,9)	30 (41,1)
	C/C	4 (8,3)	8 (11,0)
	Разом	48 (100)	73 (100)
$\chi^2 = 0,619; P = 0,734$			
Хворі на ІАТІ	A/A	18 (42,9)	54 (42,2)
	A/C	15 (35,7)	48 (37,5)
	C/C	9 (21,4)	26 (20,3)
	Разом	42 (100)	128 (100)
$\chi^2 = 0,050; P = 0,975$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток Л

Зв'язок А1298С поліморфізму гена МТНFR із розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАТІ) в осіб, які палять і які не палять

	<i>Генотип</i>	<i>Контроль, n (%)</i>	<i>ІАТІ, n (%)</i>
Ті, хто не палять	А/А	40 (43,0)	46 (38,3)
	А/С	42 (45,2)	47 (39,2)
	С/С	11 (11,8)	27 (22,5)
	Разом	93 (100)	120 (100)
$\chi^2 = 4,079; P = 0,130$			
Ті, хто палять	А/А	17 (54,8)	26 (52,0)
	А/С	13 (41,9)	16 (32,0)
	С/С	1 (3,2)	8 (16,0)
	Разом	31 (100)	50 (100)
$\chi^2 = 3,367; P = 0,186$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток М

Частота осіб, які палять і які не палять, у групах порівняння залежно від варіанта генотипу за А1298С поліморфізмом гена МТНFR

<i>Генотип</i>	<i>Показник</i>	<i>Контроль, n (%)</i>	<i>ІАТІ, n (%)</i>
А/А	Не палять	40 (70,2)	46 (63,9)
	Палять	17 (29,8)	26 (36,1)
	Разом	57 (100)	72 (100)
$\chi^2 = 0,566; P = 0,452$			
А/С	Не палять	42 (76,4)	47 (74,6)
	Палять	13 (23,6)	16 (25,4)
	Разом	53 (100)	63 (100)
$\chi^2 = 0,049; P = 0,825$			
С/С	Не палять	11 (91,7)	27 (77,1)
	Палять	1 (8,3)	8 (22,9)
	Разом	12 (100)	35 (100)
$\chi^2 = 1,218; P = 0,270$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток Н

Частота генотипів за А1298С поліморфізмом гена МТНFR в осіб, які палять і які не палять, у контрольній групі та у хворих з ІАТІ

	<i>Генотип</i>	<i>Ті, хто не палить, n (%)</i>	<i>Ті, хто палить, n (%)</i>
Контрольна група	A/A	40 (43,0)	17 (54,8)
	A/C	42 (45,2)	13 (41,9)
	C/C	11 (11,8)	1 (3,2)
	Разом	93 (100)	31 (100)
$\chi^2 = 2,540; P = 0,281$			
Хворі на ІАТІ	A/A	46 (38,3)	26 (52,0)
	A/C	47 (39,2)	16 (32,0)
	C/C	27 (22,5)	8 (16,0)
	Разом	120 (100)	50 (100)
$\chi^2 = 2,770; P = 0,250$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток П

Вплив С677Т поліморфізму гена МТНFR на розвиток варіантів ІАТІ за артеріальним басейном, що зазнає уражень

<i>Генотип</i>	<i>Передня, середні, задня мозкові артерії, n (%)</i>	<i>Вертебральні та базиллярна артерії, n (%)</i>	<i>Поєднані варіанти, n (%)</i>
C/C	68 (51,5)	17 (70,8)	4 (28,6)
C/T	47 (35,6)	6 (25,0)	8 (57,1)
T/T	17 (12,9)	1 (4,2)	2 (14,3)
Разом	132 (100)	24 (100)	14 (100)
$\chi^2 = 7,047; P = 0,133$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток Р

Вплив С677Т поліморфізму гена МТНFR на тяжкість клінічного перебігу ІАТІ

Генотип	Ступінь тяжкості перебігу		
	легкий, n (%)	середньої тяжкості, n (%)	тяжкий, n (%)
С/С	30 (54,5)	34 (51,5)	25 (51,0)
С/Т	19 (34,5)	22 (33,3)	20 (40,8)
Т/Т	6 (11,0)	10 (15,2)	4 (8,2)
Разом	55 (100)	66 (100)	49 (100)
$\chi^2 = 1,773; P = 0,777$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток С

Зв'язок С677Т поліморфізму гена МТНFR з повторюваністю ІАТІ

Генотип	Первинний, n (%)	Повторний, n (%)
С/С	51(48,6)	38 (58,4)
С/Т	41 (39,0)	20 (30,8)
Т/Т	13 (12,4)	7 (10,8)
Разом	105 (100)	65 (100)
$\chi^2 = 1,606; P = 0,448$		

Примітка. Див. додаток А

Додаток Т

Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ за обсягом ураження в осіб жіночої та чоловічої статей

	Генотип	Тотальний, n (%)	Кінцевий, n (%)	Лакунарний, n (%)
Жінки	A/A	18 (48,7)	2 (66,7)	13 (43,3)
	A/C	16 (43,2)	0 (0)	8 (26,7)
	C/C	3 (8,1)	1 (33,3)	9 (30,0)
	Разом	37 (100)	3 (100)	30 (100)
$\chi^2 = 7,398; P = 0,116$				
Чоловіки	A/A	23 (34,8)	1 (50,0)	13 (48,1)
	A/C	31 (47,0)	0 (0)	6 (22,2)
	C/C	12 (18,2)	1 (50,0)	8 (29,6)
	Разом	66 (100)	2 (100)	27 (100)
$\chi^2 = 6,598; P = 0,159$				

Примітка. Див. додаток А

Додаток У

Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ за обсягом ураження в осіб із нормальним та підвищеним артеріальним тиском

	Генотип	Тотальний, n (%)	Кінцевий, n (%)	Лакунарний, n (%)
Нормальний АТ	A/A	10 (38,5)	1 (50,0)	6 (50,0)
	A/C	12 (46,2)	0 (0)	2 (16,7)
	C/C	4 (15,4)	1 (50,0)	4 (33,3)
	Разом	26 (100)	2 (100)	12 (100)
$\chi^2 = 4,945; P = 0,293$				
Підвищений АТ	A/A	31 (40,3)	2 (66,7)	20 (44,4)
	A/C	35 (45,5)	0 (0)	12 (26,7)
	C/C	11 (14,3)	1 (33,3)	13 (28,9)
	Разом	77 (100)	3 (100)	45 (100)
$\chi^2 = 7,668; P = 0,105$				

Примітка. Див. додаток А

Додаток Ф

**Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ
за артеріальним басейном, що зазнає уражень**

<i>Генотип</i>	<i>Передня, середні, задня мозкові артерії, n (%)</i>	<i>Вертебральні та базиллярна артерії, n (%)</i>	<i>Поєднані варіанти, n (%)</i>
A/A	57 (43,2)	13 (54,2)	2 (14,3)
A/C	50 (37,9)	6 (25,0)	7 (50,0)
C/C	25 (18,9)	5 (20,8)	5 (35,7)
Разом	132 (100)	24 (100)	14 (100)
$\chi^2 = 6,745; P = 0,150$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток Х

**Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ
за ураженим артеріальним басейном в осіб жіночої та чоловічої статей**

	<i>Генотип</i>	<i>Передня, середні, задня мозкові артерії, n (%)</i>	<i>Вертебральні та базиллярна артерії, n (%)</i>	<i>Поєднані варіанти, n (%)</i>
Жінки	A/A	31 (50,0)	3 (42,8)	0 (0)
	A/C	21 (33,9)	2 (28,6)	2 (66,7)
	C/C	10 (16,1)	2 (28,6)	1 (33,3)
	Разом	62 (100)	7 (100)	3 (100)
$\chi^2 = 3,461; P = 0,484$				
Чоловіки	A/A	26 (37,1)	10 (58,8)	2 (18,2)
	A/C	29 (41,4)	4 (23,5)	5 (45,5)
	C/C	15 (21,4)	3 (17,6)	4 (36,4)
	Разом	70 (100)	17 (100)	11 (100)
$\chi^2 = 5,442; P = 0,245$				

Примітка. Див. додаток А

Додаток Ц

Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ за ураженим артеріальним басейном в осіб із нормальною масою тіла та ожирінням

	Генотип	Передня, середні, задня мозкові артерії, n (%)	Вертебральні та базиллярна артерії, n (%)	Поєднані варіанти, n (%)
Нормальна маса тіла	A/A	14 (43,8)	2(40,0)	1 (25,0)
	A/C	14 (43,8)	2 (40,0)	3 (75,0)
	C/C	4 (12,5)	1 (20,0)	0 (0)
	Разом	32 (100)	5 (100)	4 (100)
$\chi^2 = 1,843; P = 0,765$				
Ожиріння	A/A	43 (43,0)	11 (57,9)	1 (10,0)
	A/C	36 (36,0)	4 (21,1)	4 (40,0)
	C/C	21 (21,0)	4 (21,1)	5 (50,0)
	Разом	100 (100)	19 (100)	10 (100)
$\chi^2 = 8,029; P = 0,091$				

Примітка. Див. додаток А

Додаток Ш

**Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ
за ураженим артеріальним басейном в осіб з ІМТ
(ІМТ < 25 кг/м², ІМТ = 25 - 30 кг/м² та ІМТ ≥ 30 кг/м²)**

	<i>Генотип</i>	<i>Передня, середні, задня мозкові артерії, n (%)</i>	<i>Вертебральні і базиллярна артерії, n(%)</i>	<i>Поєднані варіанти, n(%)</i>
ІМТ < 25 кг/м ²	A/A	14 (43,8)	2 (40,0)	1 (25,0)
	A/C	14 (43,8)	2 (40,0)	3 (75,0)
	C/C	4 (12,5)	1 (20,0)	0 (0)
	Разом	32 (100)	5 (100)	4 (100)
$\chi^2 = 1,843; P = 0,765$				
ІМТ = 25–30 кг/м ²	A/A	28 (53,8)	8 (61,5)	1 (20,0)
	A/C	15 (28,8)	1 (7,7)	2 (40,0)
	C/C	9 (17,3)	4 (30,8)	2 (40,0)
	Разом	52 (100)	13 (100)	5 (100)
$\chi^2 = 5,200; P = 0,276$				
ІМТ > 30 кг/м ²	A/A	15 (31,3)	3 (50,0)	0 (0)
	A/C	21 (43,8)	3 (50,0)	2 (40,0)
	C/C	12 (25,0)	0 (0)	3 (60,0)
	Разом	48 (100)	6 (100)	5 (100)
$\chi^2 = 6,229; P = 0,183$				

Примітка. Див. додаток А

Додаток Щ

**Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ
за ураженим артеріальним басейном в осіб із нормальним
та підвищеним артеріальним тиском**

	<i>Генотип</i>	<i>Передня, середні, задня мозкові артерії, n (%)</i>	<i>Вертебральні та базиллярна артерії, n (%)</i>	<i>Поєднані варіанти, n (%)</i>
Нормальний АТ	A/A	13 (44,8)	5 (62,5)	0 (0)
	A/C	10 (34,5)	3 (37,5)	2 (40,0)
	C/C	6 (20,7)	0 (0)	3 (60,0)
	Разом	29 (100)	8 (100)	5 (100)
$\chi^2 = 8,128; P = 0,087$				
Підвищений АТ	A/A	44 (42,7)	8 (50,0)	2 (22,2)
	A/C	40 (38,8)	3 (18,8)	5 (55,6)
	C/C	19 (18,4)	5 (31,3)	2 (22,2)
	Разом	103 (100)	16 (100)	9 (100)
$\chi^2 = 4,555; P = 0,336$				

Примітка. Див. додаток А

Додаток Ю

Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ за ураженим артеріальним басейном в осіб, які палять і які не палять

	<i>Генотип</i>	<i>Передня, середні, задня мозкові артерії, n (%)</i>	<i>Вертебральні та базилярна артерії, n (%)</i>	<i>Посіднані варіанти, n (%)</i>
Ті, хто не палять	A/A	37 (38,1)	8 (50,0)	1 (14,3)
	A/C	41 (42,3)	3 (18,8)	3 (42,9)
	C/C	19 (19,6)	5 (31,3)	3 (42,9)
	Разом	97 (100)	16 (100)	7 (100)
$\chi^2 = 5,790; P = 0,215$				
Ті, хто палять	A/A	20 (57,1)	5 (62,5)	1 (14,3)
	A/C	9 (25,7)	3 (37,5)	4 (57,1)
	C/C	6 (17,1)	0 (0)	2 (28,6)
	Разом	35 (100)	8 (100)	7 (100)
$\chi^2 = 6,153; P = 0,188$				

Примітка. Див. додаток А

Додаток Я

Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ за тяжкістю клінічного перебігу в осіб жіночої та чоловічої статей

	Генотип	Легкий, n (%)	Середньої тяжкості, n (%)	Тяжкий, n (%)
Жінки	A/A	11 (42,3)	10 (40,0)	13 (61,9)
	A/C	8 (30,8)	11 (44,0)	6 (28,6)
	C/C	7 (26,9)	4 (16,0)	2 (9,5)
	Разом	26 (100)	25 (100)	21 (100)
$\chi^2 = 4,371; P = 0,358$				
Чоловіки	A/A	13 (44,8)	15 (36,6)	10 (35,7)
	A/C	12 (41,4)	16 (39,0)	10 (35,7)
	C/C	4 (13,8)	10 (24,4)	8 (28,6)
	Разом	29 (100)	41 (100)	28 (100)
$\chi^2 = 2,016; P = 0,733$				

Примітка. Див. додаток А

Додаток І

Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ за тяжкістю клінічного перебігу в осіб із нормальною масою тіла та ожирінням

	Генотип	Легкий, n (%)	Середньої тяжкості, n (%)	Тяжкий, n (%)
Нормальна маса тіла	A/A	7 (53,8)	7 (43,8)	3 (25,0)
	A/C	5 (38,5)	8 (50,0)	6 (50,0)
	C/C	1 (7,7)	1 (6,3)	3 (25,0)
	Разом	13 (100)	16 (100)	12 (100)
$\chi^2 = 3,834; P = 0,429$				
Ожиріння	A/A	17 (40,5)	18 (36,0)	20 (54,1)
	A/C	15 (35,7)	19 (38,0)	10 (27,0)
	C/C	10 (23,8)	13 (26,0)	7 (18,9)
	Разом	42 (100)	50 (100)	37 (100)
$\chi^2 = 2,958; P = 0,565$				

Примітка. Див. додаток А

Додаток 2

**Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ
за тяжкістю клінічного перебігу в осіб з ІМТ
(ІМТ < 25 кг/м², ІМТ = 25–30 кг/м² та ІМТ ≥ 30 кг/м²)**

	<i>Генотип</i>	<i>Легкий, n (%)</i>	<i>Середньої тяжкості, n (%)</i>	<i>Тяжкий, n (%)</i>
ІМТ < 25 кг/м ²	A/A	7 (53,8)	7(43,8)	3 (25,0)
	A/C	5 (38,5)	8 (50,0)	6 (50,0)
	C/C	1 (7,7)	1 (6,3)	3 (25,0)
	Разом	13 (100)	16 (100)	12 (100)
$\chi^2 = 3,834; P = 0,429$				
ІМТ = 25–30 кг/м ²	A/A	12 (48,0)	10 (47,6)	15 (62,5)
	A/C	6 (24,0)	7 (33,3)	5 (20,8)
	C/C	7 (28,0)	4 (19,1)	4 (16,7)
	Разом	25 (100)	21 (100)	24 (100)
$\chi^2 = 2,181; P = 0,702$				
ІМТ > 30 кг/м ²	A/A	5 (29,4)	8 (27,6)	5 (38,5)
	A/C	9 (53,0)	12 (41,4)	5 (38,5)
	C/C	3 (17,6)	9 (31,0)	3 (23,1)
	Разом	17 (100)	29 (100)	13 (100)
$\chi^2 = 1,593; P = 0,810$				

Примітка. Див. додаток А

Додаток 3

Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ за тяжкістю клінічного перебігу в осіб із нормальним та підвищеним артеріальним тиском

	<i>Генотип</i>	<i>Легкий, n (%)</i>	<i>Середньої тяжкості, n (%)</i>	<i>Тяжкий, n (%)</i>
Нормальний АТ	A/A	6 (42,9)	6 (37,5)	6 (50,0)
	A/C	6 (42,9)	6 (37,5)	3 (25,0)
	C/C	2 (14,3)	4 (25,0)	3 (25,0)
	Разом	14 (100)	16 (100)	12 (100)
$\chi^2 = 1,350; P = 0,853$				
Підвищений АТ	A/A	18 (43,9)	19 (38,0)	17 (45,9)
	A/C	14 (34,1)	21 (42,0)	13 (35,1)
	C/C	9 (22,0)	10 (20,0)	7 (18,9)
	Разом	41 (100)	50 (100)	37 (100)
$\chi^2 = 0,900; P = 0,924$				

Примітка. Див. додаток А

Додаток 4

Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ за тяжкістю клінічного перебігу в осіб, які палять і які не палять

	<i>Генотип</i>	<i>Легкий, n (%)</i>	<i>Середньої тяжкості, n (%)</i>	<i>Тяжкий, n (%)</i>
Ті, хто не палить	A/A	15 (36,6)	15 (31,9)	16 (50,0)
	A/C	15 (36,6)	21 (44,7)	11 (34,4)
	C/C	11 (26,8)	11 (23,4)	5 (15,6)
	Разом	41 (100)	47 (100)	32 (100)
$\chi^2 = 3,327; P = 0,505$				
Ті, хто палить	A/A	9 (64,3)	10 (52,6)	7 (41,2)
	A/C	5 (35,7)	6 (31,6)	5 (29,4)
	C/C	0 (0)	3 (15,8)	5 (29,4)
	Разом	14 (100)	19 (100)	17 (100)
$\chi^2 = 5,040; P = 0,283$				

Примітка. Див. додаток А

Додаток 5

Зв'язок A1298C поліморфізму гена MTHFR з повторністю ІАТІ в осіб жіночої та чоловічої статей

	<i>Генотип</i>	<i>Первинний, n (%)</i>	<i>Повторний, n (%)</i>
Нормальна маса тіла	A/A	13 (52,0)	4 (25,0)
	A/C	8 (32,0)	11 (68,8)
	C/C	4 (16,0)	1 (6,3)
	Разом	25 (100)	16 (100)
$\chi^2 = 5,319; P = 0,070$			
Ожиріння	A/A	39 (48,7)	16 (32,6)
	A/C	25 (31,3)	19 (38,8)
	C/C	16 (20,0)	14 (28,6)
	Разом	80 (100)	49 (100)
$\chi^2 = 3,311; P = 0,191$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток 6

Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на повторюваність ІАТІ в осіб із ІМТ

	<i>Генотип</i>	<i>Первинний, n (%)</i>	<i>Повторний, n (%)</i>
ІМТ < 25 кг/м ²	A/A	13 (52,0)	4 (25,0)
	A/C	8 (32,0)	11 (68,8)
	C/C	4 (16,0)	1 (6,3)
	Разом	25 (100)	16 (100)
$\chi^2 = 5,319; P = 0,070$			
ІМТ = 25–30 кг/м ²	A/A	27 (58,7)	10 (41,7)
	A/C	10 (21,7)	8 (33,3)
	C/C	9 (19,6)	6 (25,0)
	Разом	46 (100)	24 (100)
$\chi^2 = 1,907; P = 0,385$			
ІМТ > 30 кг/м ²	A/A	12 (35,3)	6 (24,0)
	A/C	15 (44,1)	11 (44,0)
	C/C	7 (20,6)	8 (32,0)
	Разом	34 (100)	25 (100)
$\chi^2 = 1,340; P = 0,512$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток 7

**Зв'язок A1298C поліморфізму гена MTHFR із повторюваністю ІАТІ
в осіб із нормальним та підвищеним артеріальним тиском**

	<i>Генотип</i>	<i>Первинний, n (%)</i>	<i>Повторний, n (%)</i>
Нормальний АТ	A/A	14 (53,8)	4 (25,0)
	A/C	8 (30,8)	7 (43,8)
	C/C	4 (15,4)	5 (31,3)
	Разом	26 (100)	16 (100)
$\chi^2 = 3,554; P = 0,169$			
Підвищений АТ	A/A	38 (48,1)	16 (32,7)
	A/C	25 (31,6)	23 (46,9)
	C/C	16 (20,3)	10 (20,4)
	Разом	79 (100)	49 (100)
$\chi^2 = 3,597; P = 0,166$			

Примітка. Див. додаток А

Додаток 8

**Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ
за клінічними проявами в осіб жіночої та чоловічої статей**

	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення, n (%)</i>	<i>Сенсорні порушення, n (%)</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення, n (%)</i>
Жінки	A/A	–	6 (60,0)	28 (45,2)
	A/C	–	3 (30,0)	22 (35,5)
	C/C	–	1 (10,0)	12 (19,4)
	Разом	–	10 (100)	62 (100)
$\chi^2 = 893; P = 0,640$				
Чоловіки	A/A	1 (25,0)	11 (61,1)	26 (34,2)
	A/C	1 (25,0)	3 (16,7)	34 (44,7)
	C/C	2 (50,0)	4 (22,2)	16 (21,1)
	Разом	4 (100)	18 (100)	76 (100)
$\chi^2 = 7,500; P = 0,112$				

Примітка. Див. додаток А

Додаток 9

Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ за клінічними проявами в осіб із нормальною масою тіла та ожирінням

	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення, n (%)</i>	<i>Сенсорні порушення, n (%)</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення, n (%)</i>
Нормальна маса тіла	A/A	–	3 (42,9)	14 (41,2)
	A/C	–	3 (42,9)	16 (47,1)
	C/C	–	1 (14,3)	4 (11,8)
	Разом	–	7 (100)	34 (100)
$\chi^2 = 0,056; P = 0,972$				
Ожиріння	A/A	1 (25,0)	14 (66,7)	40 (38,5)
	A/C	1 (25,0)	3 (14,3)	40 (38,5)
	C/C	2 (50,0)	4 (19,0)	24 (23,1)
	Разом	4 (100)	21 (100)	104 (100)
$\chi^2 = 8,047; P = 0,090$				

Примітка. Див. додаток А

Додаток 10

**Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ
за клінічними проявами в осіб із ІМТ**

	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення, n (%)</i>	<i>Сенсорні порушення, n (%)</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення, n (%)</i>
ІМТ < 25 кг/м ²	A/A	–	3 (42,9)	14 (41,2)
	A/C	–	3 (42,9)	16 (47,1)
	C/C	–	1 (14,3)	4 (11,8)
	Разом	–	7 (100)	34 (100)
$\chi^2 = 0,056; P = 0,972$				
ІМТ = 25–30 кг/м ²	A/A	1 (33,3)	11 (73,3)	25 (48,1)
	A/C	0 (0)	1 (6,7)	17 (32,7)
	C/C	2 (66,7)	3 (20,0)	10 (19,2)
	Разом	3 (100)	15 (100)	52 (100)
$\chi^2 = 8,500; P = 0,075$				
ІМТ > 30 кг/м ²	A/A	0 (0)	3 (50,0)	15 (28,8)
	A/C	1 (100,0)	2 (33,3)	23 (44,2)
	C/C	0 (0)	1 (16,7)	14 (26,9)
	Разом	1 (100)	6 (100)	52 (100)
$\chi^2 = 2,448; P = 0,654$				

Примітка. Див. додаток А

Додаток 11

**Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ
за клінічними проявами в осіб з нормальним та підвищеним
артеріальним тиском**

	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення, n (%)</i>	<i>Сенсорні порушення, n (%)</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення, n (%)</i>
Нормальний АТ	A/A	0 (0)	6 (54,5)	12 (40,0)
	A/C	0 (0)	3 (27,3)	12 (40,0)
	C/C	1 (100,0)	2 (18,2)	6 (20,0)
	Разом	1 (100)	11 (100)	30 (100)
$\chi^2 = 4,531; P = 0,339$				
Підвищений АТ	A/A	1 (33,3)	11 (64,7)	42 (38,9)
	A/C	1 (33,3)	3 (17,65)	44 (40,7)
	C/C	1 (33,3)	3 (17,65)	22 (20,4)
	Разом	3 (100)	17 (100)	108 (100)
$\chi^2 = 4,791; P = 0,309$				

Примітка. Див. додаток А

Додаток 12

**Вплив A1298C поліморфізму гена MTHFR на розвиток варіантів ІАТІ
за клінічними проявами в осіб, які палять і які не палять**

	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення, n (%)</i>	<i>Сенсорні порушення, n (%)</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення, n (%)</i>
Ті, хто не палять	A/A	1 (50,0)	9 (56,2)	36 (35,3)
	A/C	0 (0)	3 (18,8)	44 (43,1)
	C/C	1 (50,0)	4 (25,0)	22 (21,6)
	Разом	2 (100)	16 (100)	102 (100)
$\chi^2 = 5,309; P = 0,257$				
Ті, хто палять	A/A	0 (0)	8 (66,7)	18 (50,0)
	A/C	1 (50,0)	3 (25,0)	12 (33,3)
	C/C	1 (50,0)	1 (8,3)	6 (16,7)
	Разом	2 (100)	12 (100)	36 (100)
$\chi^2 = 3,866; P = 0,424$				

Примітка. Див. додаток А

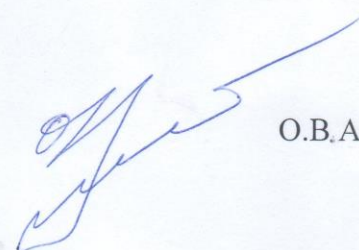
Додаток 13



Акт впровадження

1. **Пропозиція для впровадження:** Роль N^5, N^{10} -метилентетрагідрофолатредуктази у розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту.
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет, м. Суми, вул.Р.-Корсакова, 2, 40007.
3. **Автор:** аспірант кафедри фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету Матлай Ольга Іванівна.
4. **Джерело інформації:**
 - 1) Загальна патологія та патологічна фізіологія, 2013, т.8, №2, с. 191-198. Аналіз зв'язку С677Т поліморфізму гена N^5, N^{10} -метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском.
 - 2) Вісник проблем біології і медицини, 2014, вип..1, №106, с.-143-147. Аналіз зв'язку С677Т поліморфізму гена N^5, N^{10} -метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі.
 - 3) Фізіологічний журнал, 2014, т.60, №2, с. 18-24. Аналіз впливу поліморфізму С677Т гена N^5, N^{10} -метилентетрагідрофолатредуктази на розвиток ішемічного інсульту у людей з різними факторами його ризику.
5. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету.
6. **Термін впровадження:** жовтень 2014 р.
7. **Форма впровадження:** в лекційний курс і практичні заняття.
8. **Зауваження та пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження:
 Зав.кафедри фізіології і патофізіології
 з курсом медичної біології
 д.мед.н., професор


 О.В.Атаман

Додаток 14

ЗАТВЕРДЖУЮ
Перший проректор ІФНМУ
« 15 / 11 » проф. Г. М. Ерстенюк
2014 року



Акт впровадження

1. **Пропозиція для впровадження:** Роль N^5, N^{10} -метилентетрагідрофолатредуктази у розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту.
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет, м. Суми, вул. Р.-Корсакова, 2, 40007.
3. **Автор:** аспірант кафедри фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету Матлай Ольга Іванівна.
4. **Джерело інформації:**
 - 1) Загальна патологія та патологічна фізіологія, 2013, т.8, №2, с. 191-198. Аналіз зв'язку C677T поліморфізму гена N^5, N^{10} -метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском.
 - 2) Вісник проблем біології і медицини, 2014, вип..1, №106, с.-143-147. Аналіз зв'язку C677T поліморфізму гена N^5, N^{10} -метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі.
 - 3) Фізіологічний журнал, 2014, т.60, №2, с. 18-24. Аналіз впливу поліморфізму C677T гена N^5, N^{10} -метилентетрагідрофолатредуктази на розвиток ішемічного інсульту у людей з різними факторами його ризику.
5. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патофізіології Івано-Франківського національного медичного університету.
6. **Термін впровадження:** жовтень 2014р.
7. **Форма впровадження:** в лекційний курс і практичні заняття.
8. **Зауваження та пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження:
Зав.кафедри патофізіології
д.мед.н., професор

Л.М. Заяць

Додаток 15

ЗАТВЕРДЖУЮ
 Проректор з наукової роботи ВДНЗУ «Українська
 медична стоматологічна академія» д.мед.н., професор
 _____ І.П. Кайдашев
 « 15 » _____ 2014 року

Акт впровадження *

1. **Пропозиція для впровадження:** Роль N⁵,N¹⁰-метилентетрагідрофолатредуктази у розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту.
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет, м. Суми, вул..Р.-Корсакова, 2, 40007.
3. **Автор:** аспірант кафедри фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету Матлай Ольга Іванівна.
4. **Джерело інформації:**
 - 1) Загальна патологія та патологічна фізіологія, 2013, т.8, №2, с. 191-198.
 Аналіз зв'язку С677Т поліморфізму гена N⁵,N¹⁰-метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском.
 - 2) Вісник проблем біології і медицини, 2014, вип..1, №106, с.-143-147.
 Аналіз зв'язку С677Т поліморфізму гена N⁵,N¹⁰-метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі.
 - 3) Фізіологічний журнал, 2014, т.60, №2, с. 18-24.
 Аналіз впливу поліморфізму С677Т гена N⁵, N¹⁰-метилентетрагідрофолатредуктази на розвиток ішемічного інсульту у людей з різними факторами його ризику.
5. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патофізіології ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія».
6. **Термін впровадження:** жовтень 2014р.
7. **Форма впровадження:** в лекційний курс і практичні заняття.
8. **Зауваження та пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патофізіології
 ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»,
 д.мед.н., професор

В.О.Костенко