

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

На правах рукопису

Розуменко Інна Олександрівна

616.13-004.6-092.18:575(043.5)

**ЗВ'ЯЗОК ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ ІНГІБІТОРІВ ТА АКТИВАТОРІВ
ЕКТОПІЧНОЇ КАЛЬЦИФІКАЦІЇ З МЕХАНІЗМАМИ РОЗВИТКУ
ГОСТРОГО КОРОНАРНОГО СИНДРОМУ**

Спеціальність 14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Науковий керівник –
доктор біологічних наук, професор
Гарбузова Вікторія Юріївна

Суми – 2016

ЗМІСТ

	С.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	4
ВСТУП.....	6
 РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	
1.1. Сучасні уявлення про участь кальцифікації атеросклеротичної бляшки у розвитку гострого коронарного синдрому.....	13
1.2. Роль генетичних чинників у механізмах звапніння судин.....	23
 РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	
2.1. Клінічна характеристика пацієнтів.....	36
2.2. Методи досліджень.....	41
2.2.1. Молекулярно-генетичні методи дослідження.....	41
2.2.2. Статистичні методи дослідження.....	46
 РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	
3.1. Вплив алельного поліморфізму K121Q гена <i>ENPP1</i> на розвиток гострого коронарного синдрому	47
3.2. Зв'язок A69314G поліморфізму гена <i>TNAP</i> із розвитком гострого коронарного синдрому.....	75
3.3. Асоціація T134967G поліморфізму гена <i>ANKH</i> з виникненням гострого коронарного синдрому	102

РОЗДІЛ 4. ОБГОВОРЕННЯ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	130
ВИСНОВКИ.....	146
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	148

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АБ – атеросклеротична бляшка

АТІІ – ангіотензин ІІ

АДФ – аденозиндифосфат

АМФ – аденозинмонофосфат

АТ – артеріальний тиск

АТ діаст. – артеріальний тиск діастолічний

АТ пул. – артеріальний тиск пульсовий

АТ сер. – артеріальний тиск середній

АТ сист. – артеріальний тиск систолічний

АТФ – аденозинтрифосфат

ГКК – гіперкоагуляція крові

ГКС – гострий коронарний синдром

ГМК – гладком'язові клітини

ДАХ – дисліпідемія атерогенного характеру

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ЕКГ – електрокардіограма

ІА – індекс атерогенності

ІМ – інфаркт міокарда

ІМТ – індекс маси тіла

ІХС – ішемічна хвороба серця

мРНК – матрична рибонуклеїнова кислота

ПТІ – протромбіновий індекс

ПТЧ – протромбіновий час

ССЗ – серцево-судинні захворювання

ТЧ – тромбіновий час

ХС – холестерин

ХС-ЛПВЩ – холестерин у складі ліпопротеїнів високої щільності

ХС-ЛПДНЩ – холестерин у складі ліпопротеїнів дуже низької щільності

ХС-ЛПНЩ – холестерин у складі ліпопротеїнів низької щільності

ЦД – цукровий діабет

A – аденін

ANKH – регулятор транспорту неорганічного пірофосфату

BMP-2 – кістковий морфогенетичний протеїн

CVCs – кальцифікуючі судинні клітини

ENPP1 – ектонуклеотид пірофосфатази/фосфодіестерази 1

G – гуанін

K – лізин

MGP – матриксний Gla-протеїн

MMP – матриксні металопротеїнази

MMVs – мінералізувальні матриксні везикули

OPG – остеопротегерин

PCR – полімеразна ланцюгова реакція

PCR-RFLP – полімеразна ланцюгова реакція з подальшим аналізом довжини рестрикційних фрагментів

Pi – неорганічний фосфат

PPi – неорганічний пірофосфат

Q – глютамін

RANK – рецептор-активатор ядерного фактора каппа-В

RANKL – ліганд рецептора активатора ядерного фактора каппа-В

Ranx2/Cbfa1 – «runx2»-зв'язаний транскрипційний фактор 2/ядро-зв'язувальний фактор 1

SNP – однонуклеотидний поліморфізм

T – тимін

TNAP – тканина неспецифічна лужна фосфатаза

ВСТУП

Актуальність теми. Вивчення захворювань серцево-судинної системи було й залишається одним із актуальних питань сучасної теоретичної та практичної медицини. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, за 1 рік від хвороб серця і судин помирає понад 17 мільйонів осіб. У Європі гострий інфаркт міокарда є причиною смерті кожного шостого чоловіка і кожної сьомої жінки. Прикра статистика свідчить, що сьогодні Україна посідає перше місце серед країн Європи за рівнем смертності від хвороб серця та судин. Цей показник у нашій державі перевищує у 2,5 рази показники європейських країн. За даними Державної служби статистики в Україні 65,8 % смертей припадає на захворювання серцево-судинної системи [1], хворобами системи кровообігу страждають 25,9 млн осіб, із них 9,3 млн – працездатного віку [2]. За останні 25 років поширеність серцево-судинних хвороб серед населення країни зросла у 3 рази, а рівень смертності від них збільшився на 45 %.

Очевидно, що традиційні підходи у діагностиці та лікуванні серцево-судинних захворювань є неефективними. Тому зусилля світової наукової спільноти сьогодні спрямовані на пошук нових сучасних засобів прогнозування, профілактики, діагностики та лікування цих хвороб. Вивчення механізмів патогенезу кардіоваскулярних патологій на молекулярному та молекулярно-генетичному рівнях дозволить скласти цілісну уяву про механізми їх формування та відкриє нові шляхи для дослідження ефективних засобів їх фармакологічної корекції.

Патофізіологічною основою більшості серцево-судинних хвороб є атеросклеротичний процес [3]. Одним із найтяжчих ускладнень атеросклерозу вважають гострий коронарний синдром (ГКС) – період вираженого загострення ішемічної хвороби серця, до якого відносять такі нозологічні одиниці, як нестабільну стенокардію, дрібновогнищевий (без зубця Q) інфаркт міокарда, великовогнищевий (із зубцем Q) інфаркт міокарда та

раптову коронарну смерть [4, 5]. Розвиток останніх зумовлений гострим або підгострим первинним зменшенням постачання міокарда киснем, що спричиняється розривом або ерозією атеросклеротичної бляшки, асоційованим із запаленням, стійким або нестійким тромбозом вінцевої артерії, вазоконстрикцією та мікроеMBOLІзацією [6]. Кальцифікація атеросклеротичної бляшки є одним із несприятливих ускладнень, що призводить до звуження просвіту артерії та розвитку критичної ішемії серця і дестабілізації бляшки. Саме нестабільність бляшки в коронарних артеріях спричиняє розвиток прогресуючої нестабільної стенокардії та інфаркту міокарда. Численними дослідженнями доведено, що розвиток гострих коронарних явищ із руйнуванням атеросклеротичної бляшки у 70–80 % випадків відбувається на тлі кальцифікації коронарних артерій [7, 8]. На сьогодні показник кальцифікації коронарних судин є достовірною прогностичною передумовою розвитку кардіоваскулярних явищ і кардіальної смертності [9, 10]. Доведено, що мінімальне підвищення інтенсивності кальцифікації співвідноситься із дворазовим підвищенням ймовірності серцево-судинних явищ та смертності [11].

Відомо, що розвиток кальцифікації судин відбувається за умов порушення балансу між факторами – активаторами та інгібіторами – відкладення кристалів кальцію в судинній стінці. До основних чинників, що захищають судинну стінку від звапніння, належить неорганічний пірофосфат (PPi). Антикальциногенна дія PPi у тканинах пов'язана з пригніченням росту кристалів оксіапатиту за рахунок його хелатороподібної дії, гальмуванням трансдиференціювання гладком'язових клітин у хондроцити, активацією остеопонтину [12]. Кількість PPi у судинній стінці визначається дією 3 основних ферментів: два з яких – ENPP1 (ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family 1) та ANKH (inorganic pyrophosphate transport regulator) – забезпечують підвищення концентрації PPi й захищають судинну стінку від кальцифікації, третій – TNAP (tissue non-specific alkaline phosphatase) сприяє кальцифікації шляхом гідролізу PPi [13–18]. Активність

цих ферментів може залежати від багатьох факторів, зокрема й від структури генів, що кодують відповідні білки. Доведено, що порушення утворення або посилений гідроліз РРі можуть бути зумовлені генетичними аномаліями.

Незважаючи на значну кількість праць, присвячених ролі алельного поліморфізму генів у розвитку атеросклерозу та його ускладнень, дані про значення антикальциногенних маркерів, серед яких РРі, нечисленні й суперечливі.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Представлена дисертаційна робота є частиною планових комплексних науково-дослідних тем кафедри фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету «Роль поліморфізму генів у розвитку патологічних процесів і хвороб» (номер державної реєстрації 0114U006297).

Мета дослідження – встановлення зв'язку поліморфізму генів інгібіторів (K121Q поліморфізм гена *ENPP1* і T134967G поліморфізм гена *ANKH*) та активаторів (A69314G поліморфізм гена *TNAP*) ектопічної кальцифікації з механізмами розвитку гострого коронарного синдрому.

Для реалізації мети було поставлено такі завдання:

1. Встановити зв'язок поліморфізмів K121Q гена *ENPP1* (rs1044498), A69314G гена *TNAP* (rs3200255) і T134967G гена *ANKH* (rs187483) з розвитком гострого коронарного синдрому.

2. Дослідити асоціацію K121Q поліморфізма гена *ENPP1* з виникненням ГКС у пацієнтів із різними факторами ризику атеросклерозу (стать, артеріальна гіпертензія, паління, надмірна вага, гіперкоагуляція крові, цукровий діабет та дисліпідемія атерогенного характеру).

3. Провести статистичний аналіз патогенетичного зв'язку A69314G поліморфізму гена *TNAP* з розвитком ГКС з урахуванням факторів його ризику.

4. Визначити вплив T134967G поліморфізму гена *ANKH* на виникнення ГКС в осіб із різними факторами ризику.

5. Дослідити вплив K121Q, A69314G і T134967G поліморфізмів генів *ENPP1*, *TNAP* та *ANKH* на основні характеристики гострого коронарного синдрому.

Об'єкт дослідження – поліморфізм генів інгібіторів (*ENPP1* і *ANKH*) та активаторів (*TNAP*) ектопічної кальцифікації.

Предмет дослідження – участь досліджуваних генетичних чинників (однонуклеотидних поліморфізмів генів *ENPP1* (ектонуклеотид пірофосфатази/фосфодіестерази 1), *TNAP* (тканина неспецифічна лужна фосфатаза) та *ANKH* (регулятор транспорту неорганічного пірофосфату)) у розвитку ГКС.

Методи дослідження: лабораторні (загальний аналіз крові, біохімічні дослідження крові, глюкоза плазми крові натще), інструментальні (електрокардіографія (ЕКГ) у 12 відведеннях, вимірювання артеріального тиску (АТ), розрахунок показників індексу маси тіла (ІМТ)), молекулярно-генетичні методи вивчення однонуклеотидного поліморфізму генів (полімеразна ланцюгова реакція з подальшим аналізом довжини рестрикційних фрагментів (PCR-RFLP)), статистичні методи обробки цифрових даних та аналізу одержаних результатів.

Наукова новизна одержаних результатів

Уперше досліджено розподіл алелів та генотипів за поліморфізмами K121Q гена *ENPP1*, A69314G гена *TNAP* і T134967G гена *ANKH* у практично здорових осіб та хворих із ГКС в українській популяції. Доведено, що поліморфізми A69314G гена *TNAP* і T134967G гена *ANKH* асоційовані з розвитком гострого коронарного синдрому: ризик ГКС у носіїв мінорного алеля для A69314G поліморфізму у 2,2, а для T134967G – у 1,9 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем.

Уперше виявлено, що вплив вивчених генетичних чинників на розвиток кардіоваскулярної патології має статеві особливості. Ризик виникнення ГКС в осіб чоловічої статі з A/G + G/G генотипом (поліморфізм гена *TNAP*) у 2,19 раза вищий, ніж у пацієнтів з A/A генотипом.

Уперше проаналізовано зв'язок поліморфізмів генів інгібіторів та активаторів ектопічної кальцифікації з ГКС у пацієнтів з різними величинами індексу маси тіла (ІМТ). У пацієнтів з ІМТ < 25 кг/м², носіїв мінорного алеля, гострий коронарний синдром виникає в 3,9 (K121Q поліморфізм гена *ENPP1*) та 3,1 (T134967G поліморфізм гена *ANKH*) рази частіше, ніж у гомозигот за основним алелем. Ризик розвитку ГКС у пацієнтів з ІМТ ≥ 25 кг/м², носіїв мінорного алеля за A69314G поліморфізмом гена *TNAP*, майже у 2,9 рази вищий, ніж у гомозигот за основним алелем.

Уперше доведено зв'язок між A69314G поліморфізмом гена *TNAP* і розвитком ГКС у осіб, які палять. Ризик виникнення ГКС у курців, носіїв мінорного алеля (A/G + G/G), майже у 3,4 рази вищий, ніж у гомозигот за основним алелем (A/A). В осіб з T/G + G/G генотипом за T134967G поліморфізмом гена *ANKH*, тих, які не палять, ризик виникнення ГКС у 2,1 рази більший, ніж в осіб з T/T генотипом.

Уперше одержано дані про зв'язок K121Q поліморфізму гена *ENPP1* із порушеннями ліпідного обміну та гіперкоагуляцією крові у пацієнтів із ГКС. У хворих із ГКС, які мають K/K генотип, виявлені порушення ліпідного спектра плазми крові та коагуляції крові, що свідчать про більшу схильність як до розвитку атеросклерозу, так і до його ускладнень.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дисертаційної роботи розширюють та поглиблюють наукові знання про значення генетичних чинників у механізмах кальцифікації судинної стінки за умов атеросклеротичного процесу.

Дослідження про зв'язок поліморфізму генів про- та антикальциногенних чинників із розвитком гострого коронарного синдрому можуть бути застосовані для прогнозування ймовірності розвитку ускладнень у пацієнтів з різними факторами ризику атеросклерозу. Виявлення хворих з генетичною схильністю до кардіоваскулярної патології сприятиме своєчасній профілактиці летальних кінців артеріосклерозу.

Результати досліджень, подані у дисертації, впроваджено у науково-дослідну роботу і навчальний процес на кафедрах патофізіології Івано-Франківського національного медичного університету, Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, Дніпропетровської державної медичної академії, Української медичної стоматологічної академії (м. Полтава) МОЗ України, на кафедрі сімейної медицини з курсами пропедевтики внутрішніх хвороб та ендокринології Сумського державного університету МОН України.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проаналізовано наукову й патентну літературу, узагальнено основні результати наукових досліджень, виконаних вітчизняними та зарубіжними фахівцями з даної тематики, обґрунтовано актуальність досліджень. Разом із науковим керівником визначено мету та завдання досліджень. Молекулярно-генетичні дослідження проведено за участі дисертанта у науковій лабораторії молекулярно-генетичних досліджень СумДУ (науковий керівник – проф. О. В. Атаман). Автор написала всі розділи дисертації, сформулювала основні положення та висновки, що виносяться на захист, оформила дисертаційну роботу, написала та підготувала до друку наукові публікації.

Апробація результатів дисертації. Основні наукові положення, результати досліджень та висновки дисертаційної роботи були повідомлені та обговорені на наукових форумах різних рівнів, а саме:

– *міжнародного*: Міжнародній науково-практичній конференції «Стан та перспективи розвитку медицини в Україні» (20–21 листопада 2014р., Київ); Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної медицини: наукові дискусії» (24–25 жовтня 2014 р., Харків); III Міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної і практичної медицини» (23–24 квітня 2015 р., Суми); науково-практичній конференції з міжнародною участю «14-те читання ім. В. В. Підвисоцького» (27–28 травня 2015 р., Одеса); XIX Міжнародному

медичному конгресі студентів і молодих учених (27–29 квітня 2015р., Тернопіль); Республіканській науково-практичній конференції «Метаболічний синдром: інсулінорезистентність та інші категорії дисметаболізму» (10 квітня 2015р., Ташкент); ХІХ з'їзді Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю, присвяченого 90-річчю від дня народження академіка П. Г. Костюка (24–26 травня 2015р., Львів);

– *загальнодержавного*: Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених та студентів «Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони здоров'я» (26–27 березня 2015р., Запоріжжя); VII науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм. Здобутки клінічної і експериментальної медицини» (29–30 жовтня 2014р., Тернопіль).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 18 наукових робіт, із яких 7 статей (1 – за кордоном, 1 – у виданнях, що обліковуються наукометричною базою Scopus, решта – у фахових виданнях, що входять до переліку ДАК України), 11 тез доповідей у матеріалах конференцій, з'їздів, конгресів (серед них за кордоном – 1, у матеріалах європейських та міжнародних конференцій – 8, у всеукраїнських конференціях – 2). Одну наукову роботу у фаховому виданні, що входить до переліку ДАК України, опубліковано за одноосібної участі автора.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 181 сторінці (основний обсяг становить 144 сторінки). Вона складається із вступу, чотирьох розділів: огляд літератури, матеріали та методи дослідження, результати власних досліджень, обговорення та узагальнення результатів досліджень, а також висновків та списку використаних джерел. У дисертаційній роботі наведено 15 рисунків, 94 таблиці, 245 найменувань у списку використаних джерел (20 – кирилицею, 225 – латиницею), 6 додатків.

РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сучасні уявлення про участь кальцифікації атеросклеротичної бляшки у розвитку гострого коронарного синдрому

Гострий коронарний синдром (ГКС) – загострення стабільного перебігу ішемічної хвороби серця, сукупність патологічних реакцій, що клінічно проявляються розвитком інфаркту міокарда з чи без підвищення сегмента ST, нестабільною стенокардією або раптовою коронарною смертю [4, 5].

Найбільш частою причиною розвитку ГКС є тромбоз коронарних артерій, який виникає в місці розриву атеросклеротичної бляшки [19, 20].

Атеросклеротична бляшка (АБ) є основним компонентом атеросклеротичного процесу. В її структурі виділяють ядро й зовнішню оболонку (покришку). Ядро атеросклеротичної бляшки містить ліпіди – вільний холестерол, його ефіри та ближче до периферії – «опасисті» клітини. Після того як макрофаги доставляють ліпіди до ядра бляшки, вони руйнуються, ліпіди виходять із них, збільшуючи розмір ядра. Зовнішня оболонка – ділянка бляшки, що виступає в просвіт артерії, являє собою фіброзний утвір і багата на колаген I типу та еластин. Стійкість покришки визначається її екстрацелюлярним матриксом та його компонентами – колагеном і еластином, що утворюються гладком'язовими клітинами. У стабільній фазі атеросклеротичного процесу оболонка бляшки здатна витримувати значне розтягнення без розриву, у нестабільній фазі – стає схильною до розриву.

Ділянки оболонки бляшки, що переходять на незмінену стінку артерій, називаються плечовою ділянкою бляшки. Це найтонші ділянки покришки, і

тому вони найбільш уразливі. Як правило, розрив атеросклеротичної бляшки в нестабільній фазі відбувається саме в цій ділянці.

Основними патогенетичними факторами нестабільного перебігу атеросклеротичної бляшки є її ерозії, тріщини, надриви, розриви; судинний спазм; висока активність металопротеїназ, що виділяються активованими макрофагами та ушкоджують фібринозну оболонку бляшки; запалення; тромбоз. Одним із ускладнень атеросклерозу сьогодні вважають процес її кальцифікації – атерокальциноз. Кількість коронарного кальцію корелює з тяжкістю атеросклерозу у різних пацієнтів, а також з ураженням різних сегментів артерій вінцевого русла в одного й того самого індивідуума [21]. Всупереч загальноприйнятій думці доведено, що кальциноз не є пізнім проявом атеросклерозу [22]. Більшість атеросклеротичних бляшок містять мікро- та макрокальцинати, при цьому невеликі відкладення кальцію спостерігаються вже на ранніх стадіях атеросклеротичного процесу [23]. Доведено, що кальцифікація атеросклеротичної бляшки починається ще на стадії формування ліпідних смуг уже на другому десятилітті життя. Тому сьогодні оцінювання коронарного кальцинозу є методикою раннього виявлення атеросклерозу артерій [24].

Сьогодні існує дві точки зору щодо значення процесу кальцифікації у патогенезі атеросклерозу. Прихильники першої вважають, що кальцифікація є несприятливою прогностичною ознакою ускладнення атеросклеротичного процесу. За даними С. R. Wecker (2002), ризик можливих серцевих ускладнень вищий у пацієнтів із коронарокальцинозом [25]. Згідно з M. Vlaha (2009) навіть мінімальне зростання рівня кальцифікації співвідноситься з двократним збільшенням ймовірності серцево-судинних захворювань та смертності [11]. F. Otsuka та A. V. Finn установили, що ділянки з'єднання кальцинованих і некальцинованих частин бляшки внаслідок різної жорсткості є дуже чутливими до підвищень артеріального тиску й до розриву [26]. У дослідженні T. O. Севергіної виявлено певну кореляцію між звапнінням нестабільних атеросклеротичних бляшок вінцевих артерій та розвитком гострого

коронарного синдрому. Згідно з одержаними даними незначний ступінь кальцифікації АБ характерний для пацієнтів із ГКС, тоді як АБ із вираженим звапнінням асоціювалися з хронічною серцево-судинною патологією. Разом із тим наявність самих вогнищ кальцифікації у вінцевих артеріях у пацієнтів старше 60 років віднесено до факторів ризику розвитку ГКС [27]. Згідно з патоморфологічними дослідженнями В. С. Жданова та співавт., одержаними в результаті ендартеректомії під час проведення операцій аортокоронарного шунтування, кальциноз вінцевих артерій виявлено у 92 % спостережень. Морфологічні ознаки нестабільності АБ при хронічній формі ішемічної хвороби серця (ІХС) відзначені у 23,3 % спостережень, причому в 2/3 випадків вони були пов'язані з кальцинозом пластинчастого типу [28].

Прихильники другої точки зору вважають, що кальцифікація відіграє роль захисного механізму, підсилюючи міцність атеросклеротичних бляшок, схильних до розривів. За даними Н. В. Гагаріної та співавт., бляшка, що має щільну кальциновану покришку, майже у 5 разів більш стійка, ніж нормальна судинна стінка або «м'яка» бляшка, і набагато більш резистентна до розривів [29]. Деякі клінічні спостереження свідчать про те, що бляшки, пов'язані з розвитком ГКС, як правило, менш кальциновані, і що кальцій надає бляшкам стійкості [30, 31].

На тлі численних досліджень про погіршення прогнозу та збільшення ризику серцево-судинних ускладнень при зростанні індексу коронарного кальцію точка зору про захисний вплив кальцинозу може здатися парадоксальною [32]. Проте необхідно зауважити, що кальцифікація АБ не є обов'язковою причиною гострої події, а ступінь звапнення вінцевих артерій є перш за все маркером атеросклерозу і свідчить про більш виражене ураження атеросклеротичним процесом судинної стінки. Наявність кальцифікації асоціюється з різким зростанням серцево-судинного ризику незалежно від його стандартних факторів ризику [8]. При поширеному звапнінні судинного русла існує висока ймовірність наявності нестабільних бляшок, схильних до розриву [33, 34].

За даними сучасної судинної біології, відкладення кальцієвих депозитів в артеріальній стінці розглядається як активний регульований процес, подібний до формування кісткової тканини [35]. Кальцифікація інтими (атеросклеротичної бляшки) схожа з процесом енхондрального скостеніння на відміну від кальцифікації медії, що нагадує інтрамембранозний остеогенез [36, 37].

Останніми роками досягнуто значного прогресу у вивченні клітинних аспектів атерогенезу. Це стосується в першу чергу появи нових даних про участь в атерогенезі кістковомозкових стовбурових клітин як гемопоетичної, так і стромальної ліній диференціації. Ці дані дозволили припустити, що остеобласто- та остеокластоподібні клітини, які проліферують в атеросклеротичній бляшці, швидше за все, мають кістковомозкову природу. Проникнення в інтиму в місцях концентрації ліпідів стовбурових клітин гемопоетичної та стромальної ліній диференціювання є важливим моментом у розвитку атеросклерозу [38, 39].

До основних чинників, здатних спричиняти кальцифікацію атеросклеротичної бляшки, відносять запалення, оксидативний стрес та активацію ренін-ангіотензин-альдостеронової системи.

Розвиток запального процесу атеросклеротичної бляшки є невід'ємною складовою її розвитку і важливим фактором нестабільності. Про запалення атеросклеротичної бляшки свідчать її інфільтрація макрофагами, велика кількість Т-лімфоцитів [20], виявлення опасистих клітин і нейтрофілів. Запалення впливає на розвиток кальцифікації атеросклеротичної бляшки через виділення макрофагами прозапальних цитокінів: інтерлейкіну-2 (IL-2), інтерлейкіну-1 β (IL-1 β) [40, 41] та фактора некрозу пухлин – α (TNF- α) [41, 42] (рис. 1.1).

Оксидативний стрес активує кальцифікацію через ушкоджувальний вплив на судинну стінку активних форм кисню, продуктів перекисного окиснення ліпідів та окиснених ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) [36, 41, 43].

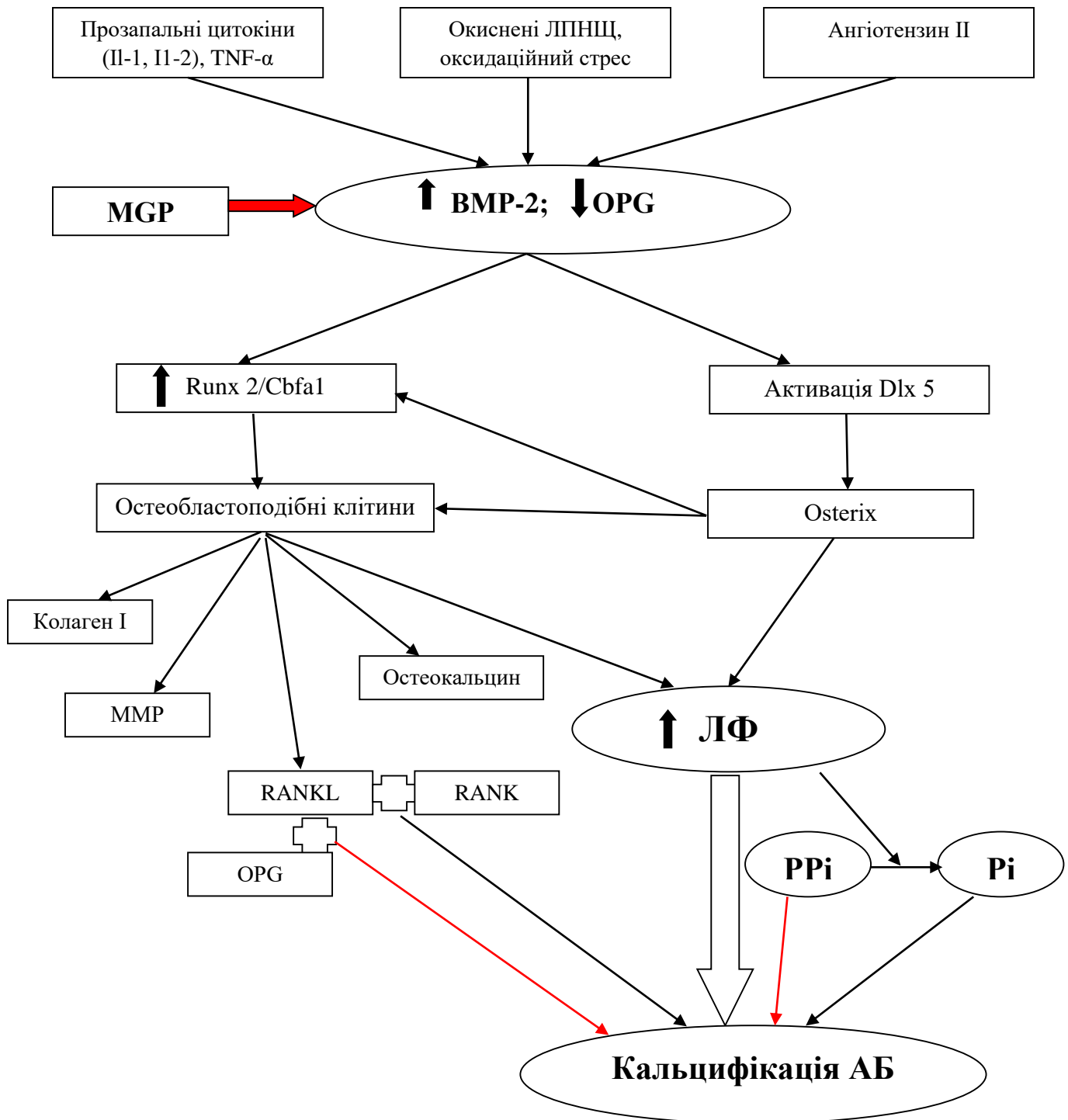


Рисунок 1.1 – Молекулярні механізми кальцифікації атеросклеротичної бляшки. Стрілка чорного кольору – посилення процесів, стрілка червоного кольору – пригнічення процесів

Не менш важливу роль у патогенезі атеросклерозу і розвитку звапніння інтими судин відіграє активація ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС). Серед компонентів РААС ангіотензин II (АГII) є основним атерогенним агентом [44]. Він не лише регулює експресію молекул адгезії (VCAM-1, ICAM-1, P-selectin), секрецію цитокінів і факторів росту судинної стінки, а й сприяє накопиченню в атеросклеротичній бляшці моноцитів, лімфоцитів, TNF- α , IL-6 і циклооксигенази-2.

Процес кальцифікації атеросклеротичної бляшки розпочинається з того, що прозапальні цитокіни, продукти вільнорадикального окиснення та активований АГII, діючи на фібробласти, стимулюють утворення й секрецію ними кісткового морфогенетичного протеїну-2 (BMP-2).

BMP-2 – представник сімейства кісткових морфогенетичних протеїнів, що належить до групи факторів росту. Його роль у звапнінні пов'язана зі здатністю активувати остеобласт-специфічний фактор транскрипції – Runx 2/Cbfa 1 (runt-related transcription factor 2/core-binding factor 1), який запускає хондрогенний шлях диференціації мезенхімальних клітин і утворення подібних до хондроцитів/остеобластів кальцифікуючих судинних клітин (CVCs) [36, 37, 41, 45]. У дослідженнях G. Karsenty описаний посилений синтез Runx 2/Cbfa 1 за 2–3 доби до початку кальцифікації. Автор припустив два механізми розв'язання цього питання: або Runx 2/Cbfa 1 контролює експресію інших факторів транскрипції, або Runx 2/Cbfa 1 гальмується посттрансляційними факторами [46]. Alexei Y. Savinov та ін. у своїй роботі зазначають, що гіперекспресія тканинної неспецифічної лужної фосфатази, про яку мова піде далі, значно підвищує активацію Runx2/Cbfa1 [47].

Активований Runx 2/Cbfa 1 діє на остеобластоподібні клітини ендотелію [48] й активує експресію генів, що кодують білки кісткової/хрящової тканини: колагену типу I, остеокальцину, остеопонтину, матриксної металопротеази 1, кісткового сіалопротеїну, лужної фосфатази, RANKL (receptor activator of nuclear Factor kappa-B ligand), рецептора TGF- β (transforming growth factor - beta) [49].

Крім того, BMP-2 може активувати ще один важливий фактор транскрипції Dlx 5 (Distal-less 5), що сприяє утворенню регулятора транскрипції – фактора Osterix, якому належить важлива роль у диференціюванні остеобластоподібних клітин. Osterix активує експресію генів колагену типу I, остеокальцину, остеопонтину, остеонектину. За даними деяких авторів, Osterix може також активувати експресію Runx 2/Cbfa 1 [50, 51]. Дослідженнями К. А. Hruska et al. та К. Nakashima et al. доведено, що підвищення рівня лужної фосфатази в позаклітинному середовищі, пов'язане зі зростанням експресії Osterix, що створює додаткові умови для посилення кальцифікації [45, 52].

Згідно із сучасними уявленнями, необхідною умовою ініціації кальцифікації судинної стінки є порушення балансу між про- і антикальциногенними факторами. Останніми роками досягнуті значні успіхи у вивченні молекулярно-генетичних механізмів реалізації ролі цих чинників у звапнінні судин.

Важливе значення у регуляції судинної кальцифікації належить системі RANKL/RANK/OPG.

OPG (остеопротегерин) – білок, що продукується остеобластами і належить до сімейства TNF- α -рецепторів (receptor activator of nuclear factor kappa-B – RANK) [36, 53, 54]. OPG вважається розчинною формою, своєрідною «приманкою», рецептора активатора ядерного фактора каппа-B (receptor activator of nuclear factor kappa-B – RANK), саме тому він зв'язує та інгібує цитокіни сімейства TNF- α (RANKL), таким чином запобігаючи їх взаємодії із RANK клітин. Взаємодія RANKL із рецептором RANK клітин-прогеніторів кісткової тканини є важливою умовою їх диференціації в остеокласти. Збільшення у тканині вмісту OPG призводить до порушення цього процесу, зменшення утворення остеокластів у кістках, зростання інтенсивності мінералізації. У судинній стінці RANKL відіграє роль прокальциногенного цитокіну, значно посилюючи кальцифікацію її структур [54, 55]. Тому активація RANKL-рецепторів вважається необхідною умовою

кальцифікації атеросклеротичної бляшки [56]. OPG конкурентно зв'язує в судинах RANKL і тому чинить опосередкований інгібіторний вплив на кальцифікацію [57]. Імунореактивні OPG і RANKL виявляються у судинній стінці вже на ранніх етапах атеросклеротичних змін. У сформованих осередках кальцифікації OPG знаходиться по краях, а RANKL – у місцях відкладення кальцію [54]. За даними S. Jono et al., підвищений рівень OPG у сироватці крові корелює з наявністю й тяжкістю ураження коронарних артерій [58]. Показаний прямий зв'язок між рівнем OPG і серцево-судинною смертністю літніх жінок [59]. M. Schorpet et al. виявили OPG в неоінтимі навколо скупчення пінистих клітин і вогнищ кальцифікації, що були наявні приблизно в 15 % зразків атеросклеротичних бляшок із каротидних артерій і серцевих клапанів. [60]. Деякі автори не виключають позитивного впливу OPG на судинну стінку незалежно від RANKL за рахунок збільшення виживання ендотеліальних клітин, що сприяє захисту судинної стінки від пошкодження [61, 62].

Одним із важливих антикальциногенних факторів є матриксний Gla-білок – MGP. В артеріальній стінці MGP синтезується гладком'язовими клітинами (ГМК) медії та інтими, а в місцях атеросклеротичних уражень – і макрофагами [63]. Антикальциногенна активність білка виявляється лише після попереднього γ -карбоксілювання деяких залишків глютамінової кислоти за участі залежного від вітаміну К ферменту γ -глютамінкарбоксилази [64, 65]. Доведено, що у мишей із генетично зумовленим дефіцитом MGP активується ендохондральний механізм осифікації судин і розвивається масивна кальцифікація артерій [66]. Провідним механізмом антикальциногенної дії MGP є його здатність зв'язувати BMP-2, тим самим пригнічуючи диференціювання мезенхімних клітин у клітини остеогенної лінії [67]. За рахунок своїх хелаторних властивостей MGP може зв'язувати іони кальцію у середовищі, отже, зменшувати інтенсивність його відкладання та стабілізувати фібрили еластину [68, 69]. Наявність Gla-вмісних білків у судинній стінці було вперше доведено J. B. Lian et al. [70], які виділили амінокислоту Gla з лужних гідролізатів кальцифікованих атероматозних

бляшок аорти людини. У гідролізатах неуражених судин і в не ускладнених кальцинозом атеросклеротичних бляшках Gla не виявляли, що дало підстави для висновку про тісний зв'язок між Gla-вмісними білками та процесами ектопічної кальцифікації. Пізніше R. G Levy et al. [71] за допомогою EDTA- екстракції виділили з атеросклеротично змінених артерій білкову фракцію, що містить Gla. Низький рівень білків цієї фракції був характерний для жирових смужок і фіброзних бляшок, проте в кальцифікованих бляшках кількість їх була значною.

Серед чинників, що захищають судинну стінку від звапіння важливе значення має матриксний адгезивний білок – остеопонтин (OPN). Механізми його інгібіторної дії пов'язані зі здатністю пригнічувати ріст кристалів гідроксіапатиту за рахунок взаємодії з ними аргінін-гліцин-аспартат-послідовностей білка [33, 72], активацією остеокластоподібних клітин судинної стінки [33], ацидифікацією позаклітинного матриксу за рахунок активації ферменту карбоангідрази II [33, 73].

Експериментально доведено, що у тварин з поєднаним дефіцитом OPN і MGP кальцифікація аорти розвивається швидше та інтенсивніше, ніж за умови відсутності одного MGP [74].

Важливим інгібітором судинної кальцифікації є неорганічний пірофосфат – PPi. Існує 2 механізми генерування PPi у судинній стінці. Перший із них – внутрішньоклітинний – пов'язаний із мембранним транспортним білком ANKH, що переміщує утворений усередині клітин PPi у позаклітинне середовище [12, 13, 75]. Другий, на думку більшості авторів, основний, механізм – позаклітинний – здійснюється за участі ектоферменту ENPP1 (ectonucleotide pyrophosphatase/ phosphodiesterase 1), який розщеплює позаклітинні нуклеозидтрифосфати, зокрема АТФ, з утворенням PPi [12, 75]. PPi є фізіологічним субстратом для тканинної неспецифічної лужної фосфатази (tissue nonspecific alkaline phosphatase – TNAP), локалізованої в мембранах мінералізувальних матриксних везикул (MMVs) і кальцифікуючих судинних клітин (CVCs). Цей ектофермент, гідролізуючи PPi, створює

навколо високу концентрацію неорганічного фосфату (Pi), що істотно пришвидшує відкладення солей кальцію [12, 76, 77]. (рис. 1.2).

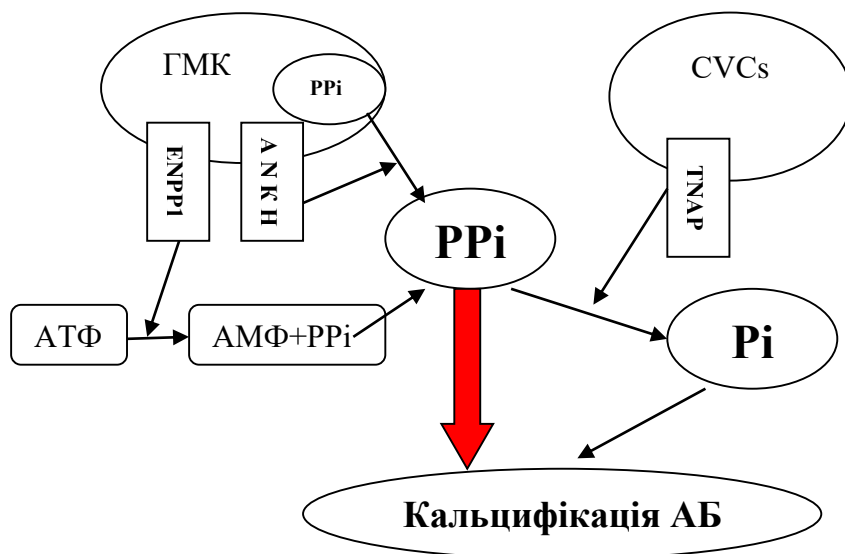


Рисунок 1.2 – Механізми генерування неорганічного пірофосфату (PPi) у судинній стінці. Стрілка чорного кольору – посилення процесів, стрілка червоного кольору – пригнічення процесів.

Ураховуючи це, можна стверджувати, що концентрація PPi в позаклітинному середовищі залежить від активності трьох ектоферментів: ENPP1, який генерує PPi, і TNAP [78], що його гідролізує, а також трансмембранного білка ANKH, який переміщує PPi у позаклітинний простір.

Провідним шляхом, завдяки якому PPi чинить інгібиторний вплив на кальцифікацію, є порушення нуклеації та ріст кристалів оксіапатиту. Крім того, PPi здатний пригнічувати трансдиференціювання судинних ГМК у хондроцити та посилювати утворення остеопонтину [12]. К. Johnson et al. зазначили, що PPi відіграє роль у стабілізації фенотипу ГМК. Судинні ГМК, не здатні генерувати PPi, зазнають остео/хондрогенної метаплазії [79].

Зменшення рівня PPi у позаклітинному просторі через зміну ферментативної активності ENPP1 або дефіцит ANKH, спричиняє масивну кальцифікацію артерій. Така кальцифікація розвивається у мишей (NPP1^{-/-} mice) та людей із генетично зумовленим дефіцитом *ENPP1*, що клінічно виявляється спадковою хворобою – дитячою «ідіопатичною» кальцифікацією

артерій [80, 81]. Також було доведено, що особи, які перебувають на хронічному гемодіалізі, мають знижений рівень у плазмі P_{Pi} і зазвичай артеріальну кальцифікацію [82].

Деякі науковці зазначають, що окиснені ЛПНЩ та окистероли мають здатність посилювати ферментативну активність TNAP у стінці судин [83, 84]. Це безпосередньо призводить до того, що TNAP вивільнює неорганічний фосфат (P_i) із органічних фосфоровмісних сполук та гідролізує P_{Pi}, що сприяє розвитку кальцифікації. Якщо компенсаторне збільшення активності *ENPP1* і *ANKH*-залежної секреції P_{Pi} не є адекватним підвищенню активності *TNAP*, розвивається кальцифікація судинної стінки.

Ураховуючи механізм регулювання P_{Pi} за участі білків *ENPP1*, *ANKH* і *TNAP*, подальші наші дослідження були спрямовані на вивчення асоціації поліморфізмів їх генів із розвитком гострого коронарного синдрому.

1.2. Роль генетичних чинників у механізмах звапніння судин

Доведена важлива роль генетичних чинників у розвитку кальцифікації судинної стінки. Тому вивчення поліморфізмів генів, що кодують білки-учасники (*ENPP1*, *ANKH* і *TNAP*) регуляції рівня позаклітинного неорганічного пірофосфату у тканинах, може мати важливе значення в розумінні механізмів патогенезу гострого коронарного синдрому.

Ектонуклеотид пірофосфатаза/фосфодіестераза 1 (*ENPP1*) є одним із членів сімейства нуклеотид пірофосфатази/фосфодіестерази, що складається з ізоферментів зі структурно спорідненими каталітичними доменами. Всі члени сімейства пронумеровані від *ENPP1* до *ENPP7* відповідно до порядкового

номера клонування. Лише три ферменти сімейства – ENPP1, ENPP2 і ENPP3 – здатні гідролізувати пірофосфатні та фосфодіестерні зв'язки [85].

ENPP1 – фермент, що має широку специфічність: проявляє свою пірофосфатазну активність шляхом розщеплення АТФ до АМФ із виділенням неорганічного пірофосфату (PPi), фосфодіестеразну активність – шляхом утворення АМФ із цАМФ [86, 87].

ENPP1 є гомодимерним трансмембранним білком, що міститься в плазматичних мембранах клітин і матричних везикулах. Білок ENPP1 людини складається з 925 амінокислотних залишків та має молекулярну масу приблизно 125 кДа [88, 89]. Протеїн зазнає посттрансляційної модифікації у вигляді аутофосфорилування як частини каталітичного циклу в активуванні пірофосфатази/фосфодіестерази 1, а також глікозилювання N-кінця.

Молекула білка ENPP1 складається з 5 частин: внутрішньоклітинного домену (із N-кінцевою спіраллю), двох соматомедин-B-подібних доменів і двох каталітичних позаклітинних доменів (фосфодіестеразоподібного і нуклеазоподібного) [85, 90, 91, 92, 93].

Внутрішньоклітинний домен містить аміногрупу і складається з 24–76 залишків. Більша частина домену знаходиться в мембрані, і лише незначна частина – у цитоплазмі. Це є специфічною особливістю 3 ферментів сімейства – ENPP1, ENPP2, ENPP3 – і відрізняє їх від інших членів, N-кінець яких розміщений поза клітиною [85, 94].

Два багатих на цистеїн соматомедин-B-подібних (SMB-1 і SMB-2) домени довжиною 40–50 амінокислотних залишків знаходяться між трансмембранним і каталітичним доменами. На думку Н. Zimmermann et al., таке розміщення SMB-доменів забезпечує стабілізацію молекули ENPP1 [95]. Свою каталітичну активність фермент виявляє у формі гомодимеру. Об'єднання відбувається за рахунок утворення дисульфідних містків між молекулами цистеїну SMB доменів двох мономерів ENPP1 [96, 97]. Необхідно зазначити, що досліджений K121Q поліморфізм міститься в домені SMB-2 білка ENPP1 [95]. Сьогодні не відомий можливий механізм зв'язку заміни

лізину (K) на глутамін (Q) у 121-му положенні молекули з каталітичною активністю ферменту.

Фосфодіестеразоподібний домен знаходиться між SMB-2 і нуклеазоподібним доменом і складається приблизно з 400 амінокислот. Фосфодіестеразна активність білка здійснюється шляхом утворення АМФ із цАМФ [90, 92].

Нуклеазоподібний домен містить карбоксильну групу, спрямовану в позаклітинне середовище. Довжина цього домена приблизно 250 амінокислот [96]. ENPP1 проявляє свою пірофосфатазну активність шляхом розщеплення АТФ до АМФ із виділенням неорганічного пірофосфату (PPi). С. Stefan et al. довели, що каталітичні домени ENPP1 мишей мають високу ідентичність із людськими ізоформами (до 60 % амінокислот) [85].

Ira D. Goldfine et al. зазначають, що каталітичні домени забезпечують розщеплення глюкозофосфатних, фосфосульфатних, пірофосфатних і фосфодіестеразних зв'язків [89]. Автори зазначають, що активний центр ферменту пірофосфатази і фосфодіестерази містить залишок треоніну-204. Каталітична активність ENPP1 залежить від двовалентних катіонів та оптимальна при рН 9–10 [98].

Реакція, що здійснюється каталітичними доменами, відбувається двома етапами. Перший полягає в утворенні зв'язку між каталітичним сайтом треонін-204 і фосфатною групою субстрату. На другому етапі відбувається регенерація сайту треонін-204 із використанням молекули води і вивільненням фосфорильованого продукту. В результаті реакції аденозинтрифосфат (АТФ) гідролізується в будь-якому випадку до аденозинмонофосфату (АМФ) і неорганічного пірофосфату (PPi) або аденозиндифосфату (АДФ) і неорганічного фосфату (Pi) [85, 90, 99].

Білок ENPP1 експресується в епітеліальних клітинах дихальних шляхів [100–102], печінки [48–50], нирках [17], судинах [17], відіграючи важливу роль у функціонуванні вищезазначених органів і тканин. Відомо, що ENPP1 є інгібітором інсулінових рецепторів. Взаємодіючи з α -субодиницею рецептора,

він пригнічує активність тирозинкінази, викликаючи інсулінорезистентність [105]. Miao-Pei Chen et al. зазначають, що рівень інсулінорезистентності залежить від активності ENPP1 [105].

Однією з найважливіших функцій ENPP1 є його антикальциногенна дія. Доведено, що ENPP1 є масивним інгібітором кальцифікації за рахунок його здатності підвищувати рівень неорганічного пірофосфату у позаклітинному середовищі [13, 15, 17, 18, 85, 99]. Крім того, відомо, що білок здатний зв'язуватися з кристалами гідроксіапатиту, попереджаючи їх подальший ріст [12]. Дослідженнями N. Côté et al. встановлено, що за рахунок значного зниження рівня позаклітинного АТФ ENPP1 пригнічує апоптоз клітин, чим обмежує залежну від апоптозу кальцифікацію [106].

Вперше ENPP1 було ідентифіковано Т. Takahashi et al. у 1970 році як поверхневий маркер плазматичних клітин (РС-1) із лімфоцитів мишей [107], у подальшому його ген клонували та секвенували від мишей [108] і людини із циклічної дезоксирибонуклейнової кислоти (цДНК) [109, 110].

Ген *ENPP1* міститься на довгому плечі 6 (6q22–23q) хромосоми, має 25 екзонів і 24 інтрони [80, 81].

Регуляцію експресії гена *ENPP1* контролює ціла низка регулювальних чинників, зокрема глюкокортикоїди [112], активатори протеїнкінази С [113], фактори росту фібробластів [114, 115], цитокіни (IL-1 β і TNF- α) [89, 114]. А. Abhishek і М. Doherty зазначають, що експресія гена *ENPP1* залежить від TGF- β (трансформуючого фактора росту- β), IGF1 (інсуліноподібного фактора росту 1), CILP (cartilage intermediate layer protein). За даними вчених, TGF- β і CILP підвищують експресію *ENPP1*, IGF1 та IL-1 β її зменшують [116].

На сьогодні відомо близько 2 тисяч однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) гена *ENPP1* людини. Найкраще дослідженими з яких є K121Q (rs1044498), IVSdelT-11 (rs1799774), A/G +1044TGA (rs7754561) [118–120].

Суть однонуклеотидного поліморфізму K121Q полягає у тому, що в 43213-й позиції гена *ENPP1* (4-й екзон) азотиста основа аденін заміщена на

цитозин, це призводить до заміни лізину (K) на глутамін (Q) у 121-му положенні молекули білка [111].

Більшість досліджень присвячена вивченню зв'язку K121Q поліморфізму гена *ENPP1* із розвитком цукрового діабету 2-го типу [105, 117, 121–126]. Доведено, що у носіїв мінорного алеля K/Q + Q/Q ризик виникнення розвитку цукрового діабету 2-го типу вищий, ніж у гомозигот за основним алелем. Така залежність доведена для більшості європейських [125, 126, 127], африканських [121] та азіатських [121, 128, 129] популяцій. Проте ряд учених не виявили такого зв'язку для мешканців Північної Індії [130], Ірану [131], Кореї [123], деяких країн Африки [121], Кавказу [132].

Низка досліджень присвячена вивченню зв'язку K121Q поліморфізму гена *ENPP1* у пацієнтів із цукровим діабетом 2-го типу, які мають ускладнення. К. L. Keen et al. довели зв'язок дослідженого генетичного чинника з розвитком діабетичної нефропатії в афроамериканців [124]. Denise Alves Sortica et al. виявили такий зв'язок у мешканців Америки [133], а С. С. Lin et al. – у Тайвані [134]. Доведений зв'язок поліморфізму K121Q із розвитком ожиріння у хворих на цукровий діабет 2-го типу у мешканців Марокко [122], Іспанії [135], Німеччини [136], Кавказу [119] і Данії [126]. А. Morandi et al. виявили зв'язок поліморфізму K121Q гена *ENPP1* із розвитком ожиріння у дітей із порушенням толерантності до глюкози у французькій популяції [137]. Було встановлено асоціацію поліморфних варіантів досліджуваного гена з ожирінням в Європі та Південній Африці [138, 139]. Проте К. Valli-Jaakola et al. у мешканців Фінляндії такого зв'язку не встановили [140]. S. Tanyolac et al. довели зв'язок K121Q поліморфізму з ожирінням у мешканців Туреччини чоловічої статі, тоді як у жінок цього зв'язку не було [141]. V. Stefanovic et al. у своїй праці зазначають, що існує асоціація K121Q поліморфізму в мешканців Сербії, хворих на цукровий діабет 2-го типу, поєднаний з ожирінням та уремією [142]. Stefani Huhn et al. виявили зв'язок K121Q поліморфних варіантів гена *ENPP1* у хворих на колоректальний

рак із супутнім цукровим діабетом 2-го типу в мешканців Чехії, в той час як у мешканців Германії такого зв'язку не встановили [143].

Т. Baba et al. в Японії, а Y. Shi et al. в Китаї не виявили достовірного зв'язку поліморфізму K121Q гена *ENPP1* у хворих жінок із полікістозом яєчників [144, 145]. Е. К. Suk et al., досліджуючи роль генетичних чинників у розвитку остеоартриту у мешканців Чуваської республіки Російської Федерації, довели зв'язок між K121Q поліморфізмом і цим захворюванням [146]. V. Levi-Litan et al. установили асоціацію цього поліморфізму гена *ENPP1* із розвитком гіпофосфатемічного рахіту в американців [147].

Що стосується вивчення асоціації K121Q поліморфізму гена *ENPP1* із розвитком серцево-судинних хвороб, то ця проблема на сьогодні малодосліджена. Так, J. E. Lee et al. у своїй праці засвідчують зв'язок поліморфізму K121Q із кальцифікацією дуги аорти у хворих на цукровий діабет 2-го типу мешканців Кореї. Вчені установили, що у хворих на ЦД 2-го типу, які були носіями мінорного алеля K/Q + Q/Q за K121Q поліморфізмом, ризик виникнення кальцифікації аортального клапана у 2 рази вищий, ніж у гомозигот за основним алелем K/K [148].

G. Lazarevic et al. установили зв'язок досліджуваного поліморфізму з розвитком ішемічної хвороби серця (ІХС) у хворих на цукровий діабет 2-го типу мешканців Сербії. Автори стверджують, що в осіб з генотипом K/Q + Q/Q за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* хворих на ЦД високий ризик виникнення ІХС [149].

О. G. Shaker і М. F. Ismail виявили асоціацію цього поліморфізму з інфарктом міокарда в єгипетській популяції. Вчені установили, що у носіїв мінорного алеля ризик виникнення інфаркту міокарда в 3 рази вищий, ніж у гомозигот за основним алелем [150].

P. Eller et al., вивчаючи механізми кальцифікації клапанів серця у хворих на термінальну стадію ниркової недостатності, з'ясували, що у пацієнтів із K/Q і Q/Q генотипами за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* звапніння аортального клапана спостерігається у 57 % випадках, а мітрального клапана – у 53 % [151].

G. Endler et al. довели, що у носіїв мінорного алеля K/Q + Q/Q мешканців Відня ризик виникнення інфаркту міокарда у 2,6 раза вищий, а в мешканців центральної Німеччини – у 4,5 раза вищий, ніж у осіб з K/K генотипом, за досліджуваним поліморфізмом гена *ENPP1* [152].

Проте D. J. Jeong et al., вивчаючи асоціацію K121Q поліморфізму гена *ENPP1* із розвитком кальцифікації коронарних артерій у хворих із ЦД 2-го типу в корейській популяції, у носіїв мінорного алеля K/Q + Q/Q не виявили достовірного зв'язку з цією патологією [78].

M. Moehlecke et al. також не встановили залежності між досліджуваним поліморфізмом гена *ENPP1* і розвитком ІХС у пацієнтів із цукровим діабетом мешканців Бразилії [153].

На сьогодні відомо, що геном людини кодує чотири гени лужної фосфатази. Їх назви відповідають чотирьом переважним місцям розподілу в тканинах. Тканинна неспецифічна лужна фосфатаза (*TNAP*) специфічно не виражена в будь-яких конкретних тканинах, саме тому вона називається тканинонеспецифічною, але доведена її висока експресія в печінці, кістках і нирках. Плацентарна лужна фосфатаза (placental alkaline phosphatase – *PLAP*), лужна фосфатаза в зародкових клітинах (germ cell alkaline phosphatase – *GCAP*) і кишкова лужна фосфатаза (intestinal alkaline phosphatase – *IAP*) виявляють більш обмежене поширення в тканинах [154, 155, 156].

Білок *TNAP* був відкритий у 1923 році Robert Robison, який довів, що цей ензим відіграє важливу роль у скелетній мінералізації за рахунок генерації неорганічного фосфату (P_i) в кристалах гідроксіапатиту [154, 157]. У 1932 році він припустив, що існує додатковий, ще на той час невідомий, фактор, який також регулює мінералізацію [157]. У 1984 році J. L. Meyer установив, що цим фактором виявився саме неорганічний пірофосфат (PP_i), який є фізіологічним субстратом для ферменту *TNAP* [158].

Провідною функцією *TNAP* є участь у мінералізації кісток [14, 15, 77, 160] шляхом вивільнення неорганічного фосфату (P_i) з органічних фосфоровмісних сполук. P_i – важливий субстрат для утворення кристалів

оксіапатиту. Основною реакцією, що каталізує TNAP, є гідроліз PPI [13, 14, 15, 76, 77, 159–161].

TNAP – гомодимерний білок із розміром дещо більше 50 кДа. Він складається із 507 амінокислотних залишків [156, 162]. Кожен мономер містить 479 залишків та чотири сайти зв'язування з іонами металів. Структура TNAP людини подібна до структури плацентарної лужної фосфатази [163–165]. У молекулах цих ферментів було виявлено чотири функціональні ділянки [166].

Каталітичний домен знаходиться в центрі білка. T. Suzuki et al. зазначають, що TNAP є переносником іонів цинку в клітину, тому кожен каталітичний сайт містить три іон-зв'язувальних ділянки: дві – для іонів цинку (Zn^{2+}) і одну – для магнію (Mg^{2+}), необхідні для каталітичної активності ферменту. Іони Zn^{2+} взаємодіють зі специфічними ділянками молекули білка і транспортуються у клітину [167, 168]. Автори встановили, що концентрація іонів Zn^{2+} у позаклітинному середовищі корелює з активністю ферменту TNAP, а отже, і з рівнем мінералізації.

N-кінцевий домен складається із 25 амінокислотних залишків і містить алостеричний центр та α -спіраль, що взаємодіє із сусіднім мономером, таким чином стабілізуючи молекулу димеру [95, 169].

Crown-домен містить 60 амінокислотних залишків та знаходиться поблизу інтерфейсу гомодимеру, створюючи умови для взаємодії між двома мономерами. Також цей домен містить ділянки для неконкурентного гальмування та алостеричної регуляції активності білка [168, 170, 171]. На цій ділянці відбувається зв'язування TNAP із колагеном [171].

Кальцій-зв'язувальний домен складається із 76 амінокислотних залишків і знаходиться у дистальних відділах димеру. Ця ділянка містить дві β -нитки, що пронизують β -пластину в центрі домену і дві α -спіралі, по одній із кожного боку β -пластини. Значення кальцій-зв'язувального сайту ще цілком не вивчене [166]. Проте Jose Luis Milla'n та Michael P. Whyte зазначають, що підвищення концентрації іонів Ca^{2+} у позаклітинному середовищі, призводить

до активації TNAP. Цей процес відбувається за рахунок того, що іони Ca^{2+} заміщують іони Mg^{2+} у каталітичному домені. При подальшому підвищенні позаклітинної концентрації іонів кальцію відбувається інактивація TNAP, оскільки іони Ca^{2+} конкурентно заміщують іони Zn^{2+} , що власне і пригнічує нормальне функціонування фермента [165, 172].

Відомим є той факт, що TNAP проявляє свою активність лише у гомодимерному стані, тому в молекулі білка існує інтерфейс, який містить у собі залишки основного і N-кінцевого доменів, зв'язуючи між собою два мономери TNAP [166, 171].

Усі лужні фосфатази людини проявляють широку субстратну специфічність. Вони каталізують гідроліз моноєфірів фосфорної кислоти, вивільнюючи фосфат, реакції трансфосфорилування за наявності високої концентрації акцепторів фосфату [168]. Лужна фосфатаза має найбільшу активність у середовищі з $\text{pH} > 9$, що характерне для поверхні остеокластів у кістковій тканині [173]. М. F. Noulaerts et al. указують на той факт, що при зменшенні pH до 7,4, ферментативна активність TNAP значно знижується [172].

TNAP бере участь у диференціюванні остеобластів, у процесі росту й розвитку скелета та ендохондрального скостеніння, мінералізації тканин [17, 77, 174, 175].

Ген *TNAP* знаходиться на короткому плечі 1-ї хромосоми [154, 176]. Це відрізняє його від сімейства лужних фосфатаз, оскільки гени трьох інших ферментів містяться в 2-ї хромосомі [154]. *TNAP* містить 12 екзонів та 11 інтронів [177]. Перші два екзони (Ia, Ib) є некодуючими.

Кожен екзон має свою власну послідовність промотору, і, таким чином, наявність екзонів Ia та Ib в мРНК є взаємовиключною. мРНК мають різні 5'-нетрансльовані послідовності, а одержані послідовності білка ідентичні [178, 179]. Транскрипція з верхнього промотору (1a) використовується у диференціюванні остеобластів, а з нижнього промотору (1b) – в печінці та

них. Одинадцять наступних екзонів трансльовані й формують 507 амінокислотних залишків *TNAP* [154].

Регуляція експресії гена *TNAP* здійснюється глюкокортикоїдами, вітаміном D, IL-1 β , IGF1, TGF β [116].

На сьогодні відомо близько 3500 тисяч однонуклеотидних поліморфізмів гена *TNAP* людини. Найбільш дослідженими з яких є A69314G (P292P) (rs3200255), T787C (rs3200254) і T1565C (rs34605986) [180–185].

Досліджуваний поліморфізм гена *TNAP* A69314G (rs3200255) міститься в 9-му екзоні. Суть алельного поліморфізму A69314G (P292P) полягає у тому, що в 69314-й позиції гена *TNAP* (9-й екзон) азотиста основа аденін заміщена на гуанін [185]. Це не викликає заміни проліну на будь-яку іншу амінокислоту у 292-му положенні молекули *TNAP*, так звана «мовчазна мутація».

У сучасній літературі найбільш дослідженим є зв'язок поліморфізмів гена *TNAP* із розвитком гіпофосфатазії, що виражається в порушенні обміну речовин кісток і характеризується дефектною мінералізацією скелета та біохімічною недостатністю активності ферменту тканиної неспецифічної лужної фосфатази [165, 166, 176, 181, 184, 185, 186]. К. Fedde et al. дослідили, що видалення *TNAP* у мишей призводить до моделі інфантильної гіпофосфатазії, це характерно для рахіту, остеомалаяції, спонтанних переломів кісток та підвищення рівня PPI [187].

За сучасними уявленнями, оптимальна кількість PPI у позаклітинному середовищі підтримується за рахунок збалансованої активності ENPP1 і *TNAP*. Пригнічення функції ENPP1 призводить до зниження рівня PPI, що є причиною мінералізації кісток і м'яких тканин. У свою чергу, втрата функції *TNAP* унеможлиблює генерацію PPI, в результаті чого підвищується кількість PPI. Це призводить до демінералізації кісткової тканини. Таким чином, ENPP1 і *TNAP* є найважливішими, безпосередньо антагоністичними регуляторами кісткової мінералізації за рахунок підтримки оптимального рівня PPI у позаклітинному середовищі [188, 189].

Цікавим є доведений L. Hesse et al. факт, що миші, позбавлені як *ENPP1*, так і *TNAP*, виявляють у сутності клінічні дані, що свідчать про нормальний рівень *ENPP1* [190].

Трансміембранний клітинний білок ANKH є регулятором транспорту неорганічного пірофосфату (PPi) із клітини в позаклітинне середовище, таким чином впливаючи на концентрацію позаклітинного PPi [18, 174, 191, 192].

ANKH експресується у суглобах, хрящах, серці, головному мозку, печінці, селезінці, легенях, м'язах і нирках. Білок ANKH міститься у мембрані багатьох клітин, включаючи хондроцити та остеобласти [193].

ANKH людини має молекулярну масу понад 54 кДа. Він складається з 492 амінокислотних залишків [15, 194, 195]. ANKH – білок, що містить від 7 до 12 трансміембранних доменів, кожен приблизно по 20 амінокислот у довжину, та має численні гідрофобні ділянки, сайти глікозилювання і фосфорилювання [192]. Внутрішньоклітинні та позаклітинні домени є топологічними, а трансміембранні – спіралеподібними.

Білок ANKH багато разів пронизує мембрану клітин, транспортуючи на різних ділянках не лише PPi, а й іони фосфату та неорганічного дифосфату в позаклітинне середовище [18, 174, 186]. Як відомо, основна функція зводиться до антикальциногенної дії шляхом підвищення рівня PPi у позаклітинному просторі, що призводить до інгібування відкладання кристалів гідроксиапатиту у кістці, суглобах і артеріальних судинах [197, 198].

К. А. Tomaszewski et al. у своїй праці зазначають, що підвищення експресії ANKH запобігає розвиткові кальцифікації м'яких тканин [199]. Проте А. Abhishek et al. у своїй роботі наголошують на суперечливості даних щодо протективної ролі ANKH у кальцифікації. Автори зазначають, що підвищення активності ANKH приводить до збільшення експресії білка Pit-1 (фосфат-натрій-залежний транспортний білок 1). Це, у свою чергу, сприяє підвищенню імпортування позаклітинного Pi у клітину. Ці процеси стимулюють активність TNAP, у результаті цього активується посилена генерація Pi із PPi, а отже, рівень останнього зменшується [116]. Також відомо,

що збільшення внутрішньоклітинної концентрації P_i сприяє виробленню TNAP [200, 201]. Цей механізм може бути скасований будь-яким збільшенням рівня позаклітинного PP_i за рахунок діяльності транспортної ANKH [202]. Крім того, білок ANKH може бути транспортером молекули АТФ у позаклітинне середовище, яка є субстратом для ENPP1 [203, 204].

Уперше роль *ANKH* була визначена на основі спонтанної мутації гена *ANK* у моделі прогресивного анкілозу на мишах у 1973 році [205].

Ген *ANKH* міститься на короткому плечі 5-ї (5p15.2–5p14.1) хромосоми, має 12 екзонів та 11 інтронів, розміщених справа наліво в напрямку транскрипції [197, 206–208].

Відомо, що ген *ANKH* експресується під час ендохондрального та інтрамембранозного розвитку кісткової тканини, сухожиль і поверхневого шару суглобового хряща, серця, головного мозку, печінки, селезінки, легень, м'язів і нирок. Експресія гена *ANKH* так само, як і експресія гена *ENPP1*, залежить від TGF- β , IGF1, IL-1 β , CILP [116, 209]. F. Cailotto et al. та A. Abhishek et al. у своїх дослідженнях зазначили, що експресія *ANKH* значно знижується за наявності IL-1 β [116, 210]. Деякі автори у своїх працях засвідчують, що на експресію *ANKH* впливають рівень насиченістю киснем, фосфат кальцію та гіпоксія [211–213].

На сьогодні відомо понад 7 тисяч однонуклеотидних поліморфізмів гена *ANKH*. Найбільш дослідженими з яких є: T134967G (rs187483) [214–216], 963GCA/GCG (rs2288474) та +8G > A (rs17251667) [214, 217].

Суть однонуклеотидного поліморфізму T134967G полягає у тому, що у 134 967-й позиції гена *ANKH* (8-й інтрон) азотиста основа тимін заміщена на гуанін [215, 216]. Відомим є той факт, що поліморфізми в інтронах не призводять до змін у послідовності азотистих основ у змістовній частині гена, але можуть бути порушення процесу сплайсингу мРНК, що в подальшому призведе до зміни функції білка та розвитку патологічних процесів і хвороб.

Найдослідженішим є зв'язок поліморфізмів гена *ANKH* із розвитком хондрокальцинозу [116, 208], анкілозивного спондилоартриту [214, 218–220],

кальцинозу [192], краніосиностозу, краніометафізарної дисплазії [194, 195, 221, 222], сімейної хвороби осадження кальцію пірофосфату дигідрату, [208], артрозу, прогресуючого анкілозу із супутньою кальцифікацією судин, спричиненою порушенням транспорту PPI [223]. Асоціацію поліморфізму гена *ANKK1* із хондрокальцинозом було виявлено у мешканців Британії [224], Франції [225], Аргентини [226] та Сполучених Штатів Америки [227]. I. Malkin et al. встановили залежність між поліморфізмом гена *ANKK1* та рівнем паратгормону у Чуваській популяції [197]. Y. Vistoropsky et al. та T. Kirsch et al. у своїх працях висунули гіпотезу, що поліморфізми в гені *ANKK1* впливають на розмір кістки, регулюючи експресію остеопротегерину та диференціацію остеобластів [191, 228].

Отже, поліморфізми генів *ENPP1*, *TNAP* і *ANKK1* можуть бути одним із чинників, що визначають кількість неорганічного пірофосфату в тканинах, їх антикальциногенний статус. Саме тому для з'ясування ролі генетичних факторів у розвитку ГКС нами були обрані ці гени.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Клінічна характеристика пацієнтів

У роботі використано венозну кров 118 хворих із ГКС і 110 осіб контрольної групи. Пацієнтів із ГКС було відібрано у кардіологічному відділенні Сумської міської клінічної лікарні № 1.

За допомогою клінічних, електрокардіографічних та біохімічних методів досліджень згідно з рекомендаціями експертів ВООЗ, а також відповідно до рекомендацій європейського та американського товариств кардіологів у обстежених хворих було встановлено діагноз гострого інфаркту міокарда та нестабільної стенокардії [229, 230]. У результаті обстеження діагноз нестабільної стенокардії було встановлено у 33,5 % пацієнтів, а діагноз гострого інфаркту міокарда – у 66,5 % пацієнтів.

Основним критерієм залучення пацієнтів до дослідження було виявлення ангінозного больового синдрому в стані спокою, що тривав від 10 до 30 хв упродовж 24 годин до госпіталізації зі змінами ЕКГ без навантаження (депресія сегмента «ST» 1 мм та більше або інверсія зубця «T» 2 мм та більше щонайменше у двох суміжних відведеннях).

До дослідження не залучувались пацієнти з хронічною серцевою недостатністю ІІБ–ІІІ ст., кардіогенним шоком, вираженою нирковою та печінковою недостатністю, бронхіальною астмою, травмою або великим хірургічним втручанням, гострими чи хронічними запальними процесами на стадії загострення, онкологічними та системними захворюваннями.

Відсутність захворювань із боку серцево-судинної системи у практично здорових індивідуумів підтверджували за допомогою збору анамнезу, реєстрації електрокардіограми (ЕКГ), вимірювання артеріального тиску та дослідження біохімічних показників крові.

Пацієнти контрольної групи та групи хворих із ГКС достовірно не відрізнялися за середнім віком: ($55,9 \pm 0,88$) року проти ($54,0 \pm 0,74$) року ($P = 0,103$), та статтю ($P > 0,05$) (табл. 2.1.1).

Таблиця 2.1.1 – Загальна клінічна характеристика пацієнтів із ГКС та осіб контрольної групи

<i>Показники</i>	<i>Хворі із ГКС (n = 118)</i>	<i>Контрольна група (n = 110)</i>	<i>P</i>
Вік, роки	$55,9 \pm 0,88$	$54,0 \pm 0,74$	0,103
Стать, ж/ч	26/92 (22 %/78 %)	32/78 (29%/71%)	$> 0,05^*$
Маса тіла, кг	$83,6 \pm 1,2$	$74,3 \pm 1,1$	$< 0,001$
Зріст, см	$171,6 \pm 0,67$	$165,7 \pm 0,97$	$< 0,001$
ІМТ, кг/м ²	$28,46 \pm 0,41$	$27,14 \pm 0,41$	0,022
АТ сист., мм рт. ст.	$140,8 \pm 1,7$	$124,6 \pm 1,0$	$< 0,001$
АТ діаст., мм рт. ст.	$89,5 \pm 0,9$	$80,2 \pm 0,7$	$< 0,001$
АТ пул., мм рт. ст.	$51,3 \pm 1,0$	$44,4 \pm 0,7$	$< 0,001$
АТ сер., мм рт. ст.	$106,6 \pm 1,1$	$95,0 \pm 0,7$	$< 0,001$
Глюкоза крові, ммоль/л	$7,9 \pm 0,24$	$5,25 \pm 0,07$	$< 0,001$

Примітка: n – кількість пацієнтів; ж – жінки; ч – чоловіки; ІМТ – індекс маси тіла; АТ сист. – систолічний артеріальний тиск; АТ діаст. – діастолічний артеріальний тиск; АТ пул. – артеріальний тиск пульсовий; АТ сер. – артеріальний тиск середній; P – статистична значущість відмінностей; * – за χ^2 -критерієм

Порівнянно з контрольною групою хворі з ГКС мали достовірно вищі показники маси тіла, зросту, індексу маси тіла (ІМТ), концентрації глюкози крові натще, усіх видів тиску.

Клінічну характеристику хворих із ГКС різної статі подано у табл. 2.1.2.

Таблиця 2.1.2 – Загальна клінічна характеристика хворих із гострим коронарним синдромом

Но- мер	Характеристика	Жінки (n = 26)	Чоловіки (n = 92)	P
1.	Вік, років	61,0 ± 1,47	54,5 ± 1,01	0,002
2.	Зріст, см	163 ± 1,1	174 ± 0,6	< 0,001
3.	Маса тіла, кг	83,6 ± 2,30	83,7 ± 1,41	0,979
4.	Індекс маси тіла, кг/м ²	31,5 ± 0,90	27,6 ± 0,42	< 0,001
5.	Надмірна вага	26 (100 %)	71 (77,2 %)	0,013
6.	Цукровий діабет	11 (42,3 %)	19 (20,7 %)	0,064
7.	Артеріальна гіпертензія	25 (96,2 %)	47 (51,1 %)	< 0,001
8.	Паління	3 (11,5 %)	51 (55,4 %)	< 0,001
9.	Глюкоза крові, ммоль/л	9,1 ± 0,65	7,6 ± 0,24	0,006
10.	Ліпідограма:			
	Загальний холестерин (ХС)	6,1 ± 0,32	6,5 ± 0,14	0,312
	ХС-ЛПНЩ	4,2 ± 0,34	4,6 ± 0,16	0,237
	ХС-ЛПДНЩ	0,88 ± 0,092	0,79 ± 0,038	0,284
	ХС-ЛПВЩ	1,04 ± 0,041	1,04 ± 0,025	0,863
	Тригліцериди	1,93 ± 0,2	1,72 ± 0,084	0,284
	Індекс атерогенності	5,29 ± 0,57	5,72 ± 0,29	0,477
11.	Коагулограма:			
	Протромбіновий час	10,4 ± 0,32	10,7 ± 0,18	0,509
	Протромбіновий індекс	95,4 ± 2,55	96,5 ± 1,47	0,715
	Тромбіновий час	18,0 ± 0,88	17,7 ± 0,48	0,807
	Фібриноген	3,34 ± 0,17	3,77 ± 0,13	0,051
	Фібринолітична активність	474 ± 7,9	474 ± 3,9	0,917

Примітка. P – значущість відмінностей між жіночою і чоловічою статтю; ХС-ЛПНЩ – холестерин у складі ліпопротеїнів низької щільності; ХС-ЛПДНЩ – холестерин у складі ліпопротеїнів дуже низької щільності; ХС-ЛПВЩ – холестерин у складі ліпопротеїнів високої щільності.

Аналізуючи одержані дані, можна бачити, що особи чоловічої статі хворіють на ГКС у більш ранньому віці, ніж особи жіночої статі: середній вік хворих із ГКС чоловіків становив ($54,5 \pm 1,01$) року, а у хворих із ГКС жінок – ($61,0 \pm 1,47$) року ($P = 0,002$). В осіб жіночої статі виявилися вищими величини ІМТ ($P < 0,001$), рівня глюкози натще ($P = 0,006$), серед жінок більшість страждали на артеріальну гіпертензію ($P < 0,001$) та ожиріння ($P = 0,013$).

За масою тіла ($P = 0,979$), захворюваністю на цукровий діабет (ЦД) ($P = 0,064$), рівнем ліпідів крові ($P > 0,05$) та показниками коагулограми ($P > 0,05$) не було виявлено статистично достовірних відмінностей між групами порівняння.

У таблиці 2.1.3 наведено дані про наявність факторів ризику у групі хворих із ГКС осіб жіночої і чоловічої статі.

Таблиця 2.1.3 – Дані про наявність факторів ризику в осіб жіночої і чоловічої статей, хворих із ГКС

Показник	Жінки (n = 26)	Чоловіки (n = 92)	χ^2 - критерій Пірсона	P
Ожиріння	13 (50,0)	27 (29,3)	3,859	0,049
Артеріальна гіпертензія	25 (96,2)	47 (51,1)	17,309	< 0,001
Цукровий діабет	11 (42,3)	19 (20,7)	5,014	0,025
Дисліпопротеїнемія	22 (84,6)	76 (82,6)	0,058	0,810
Гіперкоагуляція крові	6 (23,1)	16 (17,4)	0,432	0,511
Паління	3 (11,5)	51 (55,4)	15,737	< 0,001

Примітка: n – кількість пацієнтів; у дужках – %

Необхідно зазначити, що провідними факторами ризику як в осіб жіночої, так і в осіб чоловічої статі були дисліпопротеїнемія атерогенного характеру (ДАХ), яка спостерігалася відповідно у 84,6 і 82,6 % пацієнтів, та артеріальна гіпертензія (АГ), яка встановлена у 96,2 % жінок і 51,1 % чоловіків. Звертає на себе увагу той факт, що у хворих із ГКС осіб жіночої статі АГ зустрічалась достовірно частіше, ніж серед чоловіків ($P < 0,001$).

Статеві відмінності виявлені і в частоті таких факторів ризику, як ожиріння ($P = 0,049$), цукровий діабет ($P = 0,025$) і паління ($P < 0,001$). Так, співвідношення осіб із ГКС жіночої і чоловічої статі, що хворіли на цукровий діабет становило 42,3 та 20,7 % ($P = 0,025$), а пацієнтів з ожирінням відповідно 50,0 і 29,3 % ($P = 0,049$). Щодо паління, то серед осіб чоловічої статі курців було більше, ніж серед жінок: 55,4 % проти 11,5 % ($P < 0,001$).

Клінічну характеристику ГКС в осіб жіночої та чоловічої статей наведено у табл. 2.1.4. Порівняння різних клінічних варіантів перебігу ГКС між особами різних статей статистично значущих відмінностей не виявило.

Таблиця 2.1.4 – Клінічна характеристика ГКС в осіб жіночої та чоловічої статей

	<i>Жінки n (%)</i>	<i>Чоловіки n (%)</i>
<i>За ЕКГ-характеристиками</i>		
Нестабільна стенокардія	5 (19,2 %)	21 (22,8 %)
Не-Q-інфаркт міокарда	12 (46,2 %)	23 (25,0 %)
Q- та QS-інфаркт міокарда	9 (34,6 %)	48 (52,2 %)
$\chi^2 = 4,471; P = 0,107$		
<i>За клінічними проявами</i>		
Ангінозний	24 (92,3 %)	79 (85,9 %)
Астматичний	0	5 (5,4 %)
Абдомінальний	0	3 (3,3 %)
Аритмічний	2 (7,7 %)	3 (3,3 %)
Безбольовий	0	2 (2,2 %)
$\chi^2 = 3,862; P = 0,425$		
<i>За ускладненнями</i>		
Без ускладнень	20 (76,9 %)	74 (80,4 %)
Аритмії	2 (7,7 %)	4 (4,3 %)
Серцева недостатність	2 (7,7 %)	11 (12,0 %)
Тромбоемболії	0	2 (2,2 %)
Розрив серця чи його частин	1 (3,8 %)	1 (1,1 %)
Кровотечі	1 (3,8 %)	0
$\chi^2 = 5,826; P = 0,324$		

Примітка: n – кількість пацієнтів; у дужках – %

2.2. Методи досліджень

2.2.1. Молекулярно-генетичні методи дослідження

Для молекулярно-генетичних досліджень використовували венозну кров, яку набирали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,7 мл із калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти (11,7 мМ) як антикоагулянт («Sarstedt», Німеччина), заморожували та зберігали за температури – 20 °С. Забір крові для досліджень проводили кваліфікованими спеціалістами в клінічних умовах із дотриманням усіх правил медичної асептики та антисептики.

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

Виділення геномної ДНК проводили з використанням комерційного набору «Diatom DNA Prep 100» (ТОВ «Лабораторія «Ізоген», 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. 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 ЕкстраГенуTM 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.

Виділену ДНК використовували для вивчення алельного поліморфізму генів шляхом проведення полімеразної ланцюгової реакції (PCR) з наступною рестрикцією та детекцією продуктів ампліфікації та рестрикції шляхом електрофорезу в 2,5 % агарозному гелі, що містив що містив 10 мкг/мл бромистого етидію (0,13 А; 200 V; 25 хв).

Визначення K121Q поліморфізму 4-го екзона гена ENPP1 (rs1044498).

Ділянку гена, що містить сайт K121Q поліморфізму, ампліфікували за допомогою пари специфічних праймерів: прямого (sense) 5' CTGTGTTCACTTTGGACATGTTG 3' і зворотного (antisense) 5' GACGCTGGAAGATACCAGGCTG 3'. 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 («Thermo Scientific», США), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. PCR проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 («Applied Biosystems», США). Ампліфікація фрагменту 4-го екзона складалася із 33 циклів: денатурації – 94 °С (50 с), гібридизації праймерів – 64,5 °С (45 с) і елонгації – 72 °С (1 хв). Потім 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37°С упродовж 18 годин із 5 ОД рестриктази Eco47I (AvaII) («Thermo Scientific», США) у буфері R такого складу: 10 мМ трис-НСl (рН 8,5), 10 мМ хлориду магнію, 100 мМ хлориду калію та 0,1 мг/мл альбуміну. Якщо в 43213-й позиції гена *ENPP1* містився цитозин, ампліфікат, який складався із 238 пар основ, розщеплювався рестриктазою Eco47I на два фрагменти – 148 і 90 пар основ. У разі заміни цитозину на аденін сайт рестрикції для Eco47I втрачався та утворювався один фрагмент розміром 238 пар основ. (рис. 2.2.1).

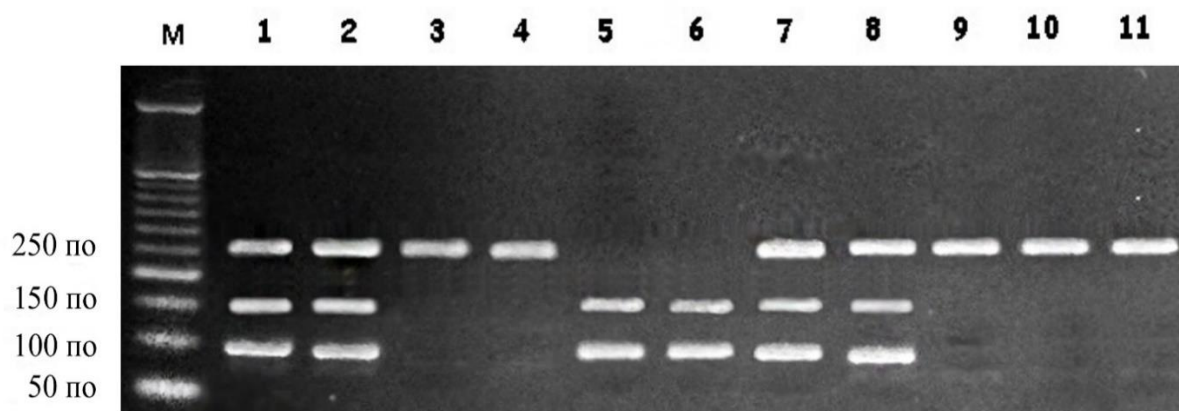


Рисунок 2.2.1 – Результати рестрикційного аналізу K121Q поліморфізму гена *ENPP1*. М – маркер молекулярної маси (по – пари нуклеїнових основ); доріжки 3,4,9,10,11 відповідають К/К-генотипу; доріжки 1,2,7,8 – К/Q-генотипу; 5,6 – Q/Q-генотипу.

Визначення А69314G поліморфізму 9-го екзона гена TNAP (rs3200255).

Ампліфікація ділянки гена *TNAP*, що містить А69314G поліморфізм, проводилася за допомогою пари специфічних праймерів: прямого (sense) 5' ССТААТТСТGGGСССАСААА 3' і зворотного (antisense) 5' ССТТССАССAGСАAGАAGАА 3'. Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містить 1 мкл 10-кратного PCR-буфера, 1,5 ммоль сульфату магнію, 200 мкм суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 20 рМ кожного із праймерів та 1,0 ОД Таq-полімерази («Thermo Scientific», США), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. PCR проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 ("Applied Biosystems", США). Ампліфікація фрагмента 9-го екзона складалася із 30 циклів: денатурації – 94 °С (50 с), гібридизації праймерів – 60,0 °С (45 с) та елонгації – 72 °С (1 хв). Потім 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37 °С упродовж 18 годин із 3 ОД рестриктази *VcnI* (*NciI*) («Thermo Scientific», США) у Tango-буфері такого складу: 10 мМ трис-НСl (рН 8,5), 10 мМ хлориду магнію, 100 мМ хлориду калію та 0,1 мг/мл альбуміну. Наявність у 69314-й позиції гена *TNAP* аденіну перешкоджає рестрикції, а при заміні аденіну на гуанін рестриктаза *VcnI* (*NciI*) розщеплює ампліфіковану ділянку (довжина – 308 пар основ) на два фрагменти: 185 і 123 пари основ (рис. 2.2.2).

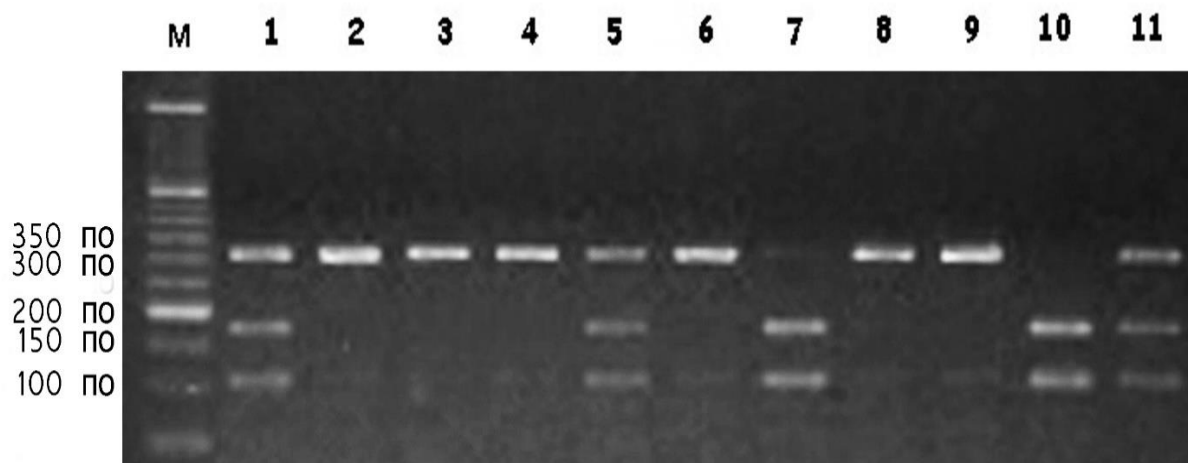


Рисунок 2.2.2 – Результати рестрикційного аналізу А69314G поліморфізму гена *TNAP*. М – маркер молекулярної маси (по – пари нуклеїнових основ); доріжки 2,3,4,6,8,9 відповідають А/А-генотипу; доріжки 1,5,11 – А/Г-генотипу; 7,10 – Г/Г-генотипу.

Визначення T134967G поліморфізму 8-го інтрона гена ANKH (rs187483).

Ампліфікацію ділянки гена, що містить сайт T134967G поліморфізму, проводили за допомогою пари специфічних праймерів: прямого (sense) 5' AACCTCTTCSTTTCTGCAGC 3' і зворотного (antisense) 5' CCAGAATAACCCCAGCAACA 3'. Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буфера, 1,5 мМ сульфату магнію, 200 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 10 пМ кожного з праймерів і 1,0 ОД Таq-полімерази («Thermo Scientific», США), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. PCR проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 ("Applied Biosystems", США). Ампліфікація фрагмента 8-го інтрону складалася з 33 циклів: денатурації – 94 °С (50 с), гібридизації праймерів – 64,5 °С (45 с) та елонгації – 72 °С (1 хв). Потім 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37 °С упродовж 18 годин із 3 ОД рестриктази *Hin*6I (*Hin*P1I) («Thermo Scientific», США) у Tango-буфері такого складу: 33 мМ трис-НСl (рН 7,9), 10 мМ хлориду магнію, 66 мМ хлориду калію та 0,1 мг/мл альбуміну. Наявність у 134967-й позиції гена *ANKH* тиміну перешкоджає рестрикції, а при заміні тиміну на гуанін рестриктаза *Hin*6I (*Hin*P1I) розщеплює ампліфіковану ділянку (довжина – 350 пар основ) на два фрагменти: 235 і 115 пар основ (рис. 2.2.3).

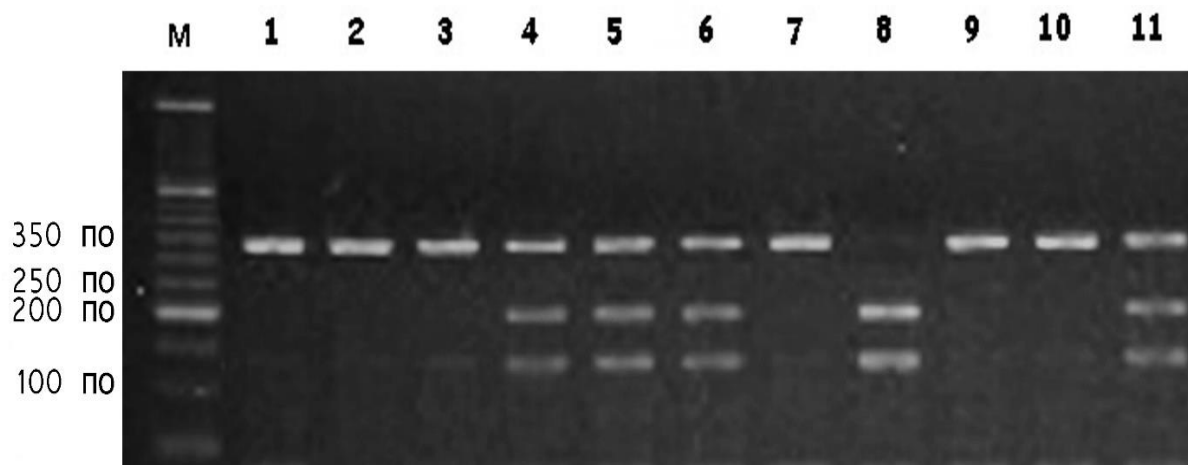


Рисунок 2.2.3 – Результати рестрикційного аналізу T134967G поліморфізму гена *ANKH*. М – маркер молекулярної маси (по - пари нуклеїнових основ); доріжки 1,2,3,7,9,10 відповідають Т/Т-генотипу; доріжки 4,5,6,11 – Т/Г-генотипу; 8 – Г/Г-генотипу.

2.2.2. Статистичні методи дослідження

Статистичний аналіз одержаних результатів проводили за допомогою використання програми SPSS-17. Перед перевіркою статистичних гіпотез відповідно до вимог ГОСТу 11.006-74 проведено аналіз нормальності розподілу величин у вибірках за допомогою критерію Колмогорова – Смирнова за алгоритмами, що реалізовані у програмі SPSS-17.

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

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 ймовірність відмінностей двох вибірок (P) [245]. Відмінність вважали достовірною, якщо ймовірність випадкової різниці не перевищувала 0,05 ($P < 0,05$).

Для дослідження значущості відмінностей між середніми значеннями декількох груп даних (групи з різними генотипами) використовували однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA – analysis of variance) із критерієм Фішера.

Прогнозування ризику розвитку ГКС, проводили за допомогою методу логістичної регресії.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Вплив алельного поліморфізму K121Q гена *ENPP1* на розвиток гострого коронарного синдрому

Серед однонуклеотидних поліморфізмів гена *ENPP1*, K121Q поліморфізм є одним з найбільш значимих. Заміна аденіну на цитозин у 43213- й позиції гена, що призводить до заміщення 121-ї амінокислоти лізин на глютамін у соматомедин-В-подібному домені білка, має доведений зв'язок з цілою низкою захворювань, у тому числі й серцево-судинних. Враховуючи роль *ENPP1* у продукції неорганічного пірофосфату (PPi), що є потужним антикальциногенним фактором, поліморфізми його гена можуть виступати важливим генетичним чинником у розвитку гострого коронарного синдрому.

Частоту трьох можливих поліморфних варіантів генотипу за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1*, а також перевірку відповідності розподілу основного (K) і мінорного (Q) алелів рівновазі Харді–Вайнберга подано у таблиці 3.1.1. Як впливає з наведених даних, частота K- і Q-алелів у контрольній групі та в групі хворих із ГКС не має статистично достовірних відхилень від очікуваних за генетично-популяційним законом величин ($P > 0,05$).

Оскільки в контрольній групі не виявлено жодного пацієнта з Q/Q генотипом, то для подальшого аналізу носіїв мінорного алеля K/Q + Q/Q було об'єднано в одну групу.

Таблиця 3.1.1 – Частота алельних варіантів і алелів за K121Q поліморфізмом гена ENPP1 у контрольній групі та у хворих із ГКС

	Контрольна група	Хворі із ГКС
Гомозиготи К/К, n (%)	83 (75,5 %)	79 (67,0 %)
Гетерозиготи К/Q, n (%)	27 (24,5 %)	36 (30,5 %)
Гомозиготи Q/Q, n (%)	0 (0 %)	3 (2,5 %)
К-алель	0,88	0,82
Q-алель	0,12	0,18
χ^2	2,15	0,22
P	> 0,050	> 0,050

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

На рисунку 3.1.1 подано результати аналізу частот окремих генотипів за поліморфізмом K121Q в осіб контрольної групи і у хворих із гострим коронарним синдромом.

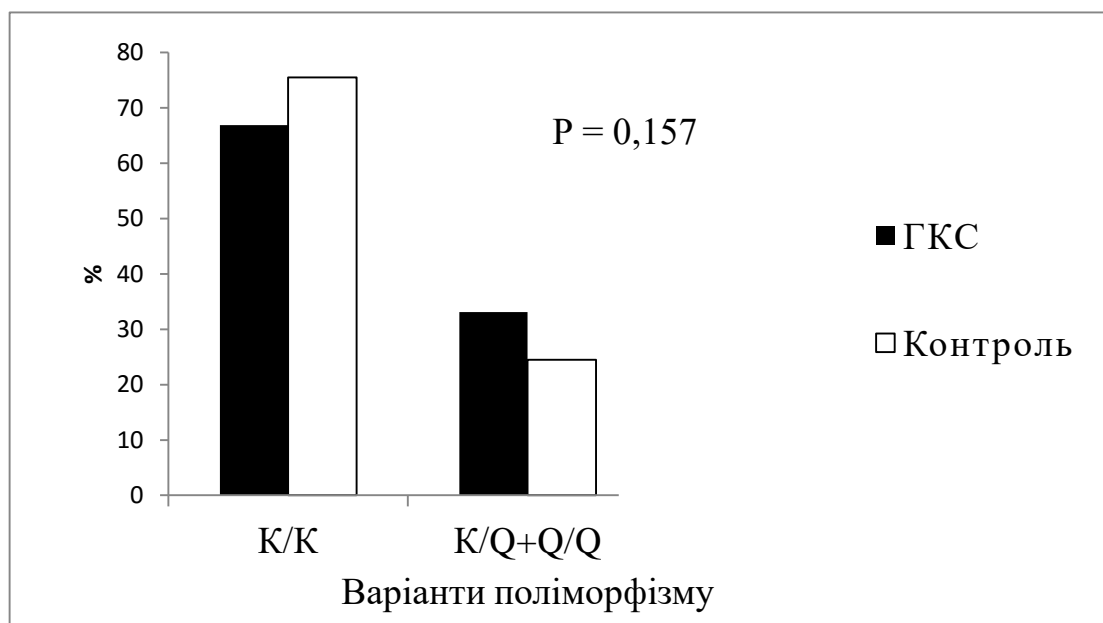


Рисунок 3.1.1 – Частота алельних варіантів гена ENPP1 за поліморфізмом K121Q у хворих із ГКС (чорні стовпчики) і в контрольній групі (білі стовпчики). P – статистична значущість відмінності показників за χ^2 -критерієм Пірсона

Можна бачити, що у пацієнтів із ГКС співвідношення гомозигот за основним алелем (K/K) та носіїв мінорного алеля (K/Q + Q/Q) становило 66,9 і 33,1 %, а в осіб контрольної групи – 75,5 і 24,5 % відповідно. Відмінності у розподілі різних варіантів генотипу між хворими із ГКС та здоровими пацієнтами не виходили за межі статистичної значущості ($\chi^2 = 2,002$; $P = 0,157$).

Аналіз за статтю. Розподіл алельних варіантів гена *ENPP1* за поліморфізмом K121Q у хворих із ГКС різної статі наведено в табл. 3.1.2. З одержаних результатів випливає, що серед хворих із ГКС співвідношення генотипів (K/K і K/Q + Q/Q) у осіб жіночої статі становило 65,4 і 34,6 %, а у чоловіків – 64,7 і 32,6 % відповідно. Отже, частота генотипів за досліджуваним поліморфізмом гена *ENPP1* у хворих із ГКС пацієнтів різної статі достовірно не відрізнялась ($\chi^2 = 0,037$; $P = 0,848$).

Таблиця 3.1.2 – Частота генотипів за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* у хворих із ГКС жінок і чоловіків

Генотип		Жінки	Чоловіки
K/K	n	17	62
		65,4 %	67,4 %
K/Q + Q/Q	n	9	30
		34,6 %	32,6 %
Разом	n	26	92
		100 %	100 %
$\chi^2 = 0,037$; $P = 0,848$			

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

Розподіл частот алельних варіантів поліморфізму K121Q за статтю у досліджуваних групах пацієнтів подано у табл. 3.1.3. З наведених даних бачимо, що розподіл K121Q поліморфних варіантів у жінок хворих із ГКС та

в контролі є недостовірним. Так, співвідношення генотипів (К/К і К/Q + Q/Q) в осіб контрольної групи становило 78,1 і 21,9 %, а серед хворих із ГКС – 65,4 і 34,6 % відповідно ($\chi^2 = 1,166$; $P = 0,280$). У чоловіків розподіл алельних варіантів К121Q поліморфізму також не відрізнявся під час порівняння хворих із ГКС та групи контролю. Частота генотипів за вивченим поліморфізмом у контрольній групі дорівнювала 74,4 і 25,6 %, а серед хворих із ГКС – 67,4 і 32,6 % відповідно. Отже, в осіб чоловічої статі також не виявлено достовірного зв'язку К121Q поліморфізму гена *ENPP1* з розвитком ГКС ($\chi^2 = 0,987$; $P = 0,320$).

Таблиця 3.1.3 – Зв'язок К121Q поліморфізму гена *ENPP1* із розвитком гострого коронарного синдрому (ГКС) в осіб жіночої та чоловічої статей

Стать	Генотип		Контроль	ГКС
Жінки	К/К	n	25	17
			78,1 %	65,4 %
	К/Q + Q/Q	n	7	9
			21,9 %	34,6 %
	Разом	n	32	26
			100 %	100 %
$\chi^2 = 1,166$; $P = 0,280$				
Чоловіки	К/К	n	58	62
			74,4 %	67,4 %
	К/Q + Q/Q	n	20	30
			25,6 %	32,6 %
	Разом	n	78	92
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,987$; $P = 0,320$				

Примітка. Див. табл. 3.1.2

У таблиці 3.1.4 подано дані генотипування за К121Q поліморфізмом у жінок і чоловіків – окремо у хворих із ГКС та пацієнтів, які не мали цієї недуги.

Таблиця 3.1.4 – Частота генотипів за K121Q поліморфізмом гена ENPP1 у жінок і чоловіків у контрольній групі та у хворих із ГКС

Групи пацієнтів	Генотип		Жінки	Чоловіки
Контрольна група	К/К	n	25	58
			78,1 %	74,4 %
	К/Q + Q/Q	n	7	20
			21,9 %	25,6 %
	Разом	n	32	78
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,174; P = 0,677$				
Хворі з ГКС	К/К	n	17	62
			65,4 %	67,4 %
	К/Q + Q/Q	n	9	30
			34,6 %	32,6 %
	Разом	n	26	92
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,037; P = 0,848$				

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Одержані результати свідчать про відсутність статистично значущих відмінностей між розподілом алельних варіантів за досліджуваним поліморфізмом в осіб жіночої та чоловічої статей у контрольній групі. Так, практично здорових жінок з К/К генотипом було 78,1 %, а з К/Q + Q/Q генотипом – 21,9 %. Серед чоловіків співвідношення алельних варіантів за досліджуваним поліморфізмом становило 74,4 і 25,6 % відповідно. Отже, в осіб контрольної групи не виявлено достовірної різниці в розподілі генотипів за K121Q поліморфізмом у пацієнтів різної статі ($\chi^2 = 0,174; P = 0,677$). У хворих із ГКС спостерігалися подібні результати. Серед хворих із ГКС різні

варіанти генотипів (K/K і K/Q + Q/Q) у осіб жіночої статі зустрічалися у 65,4 і 34,6 %, а у чоловіків – 67,4 і 32,6 % відповідно ($\chi^2 = 0,037$; $P = 0,848$).

Нарешті, ще один аналіз дає підстави для висновку про те, що немає зв'язку між статтю пацієнтів і розвитком ГКС залежно від генотипу за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* (табл. 3.1.5).

Таблиця 3.1.5 – Частота осіб жіночої і чоловічої статей у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1*

Генотип	Стать		Контроль	ГКС
K/K	Жінки	n	25	17
			30,1 %	21,5 %
	Чоловіки	n	58	62
			69,9 %	78,5 %
	Разом	n	83	79
			100 %	100 %
$\chi^2 = 1,559$; $P = 0,212$				
K/Q + Q/Q	Жінки	n	7	9
			25,9 %	23,1 %
	Чоловіки	n	20	30
			74,1 %	76,9 %
	Разом	n	27	39
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,071$; $P = 0,791$				

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Так, серед гомозигот за основним алелем (K/K) практично здорових осіб жіночої статі виявлено 30,1 %, а чоловіків – 69,9 %; хворих із ГКС жінок було 21,5 %, а чоловіків – 78,5 % ($\chi^2 = 1,559$; $P = 0,212$). Співвідношення осіб жіночої і чоловічої статі у носіїв мінорного алеля (K/Q + Q/Q) в групі контролю становило 25,9 і 74,1 %, а серед хворих із ГКС – 23,1 і 76,9 % відповідно

($\chi^2 = 0,071$; $P = 0,791$). Отже, не виявлено достовірного зв'язку між статтю досліджуваних індивідуумів та розвитком ГКС як у гомозигот за основним алелем К/К, так і в носіїв мінорного алеля К/К + К/К.

Аналіз за показником індексу маси тіла. Розподіл алельних варіантів гена *ENPP1* за поліморфізмом К121К у хворих із ГКС з нормальною та підвищеною величинами індексу маси тіла (ІМТ) подано в табл. 3.1.6. Із наведених результатів випливає, що у хворих із ГКС частота генотипів (К/К і К/К + К/К) в осіб з $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$ дорівнювала 52,4 і 47,6 %, а серед пацієнтів з $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$ – 70,1 і 29,9 % відповідно. Отже, не існує достовірної різниці у розподілі генотипів за досліджуваним поліморфізмом серед хворих із ГКС з різними величинами ІМТ ($\chi^2 = 2,450$; $P = 0,118$).

Таблиця 3.1.6 – Частота генотипів за К121К поліморфізмом гена *ENPP1* у хворих із ГКС з нормальною та підвищеною величинами ІМТ

Генотип		$ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$	$ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$
К/К	n	11	68
		52,4 %	70,1 %
К/К + К/К	n	10	29
		47,6 %	32,6 %
Разом	n	21	97
		100 %	100 %
$\chi^2 = 2,450$; $P = 0,118$			

Примітка. Див. табл. 3.1.2.

У таблиці 3.1.7 подано величини ІМТ у групах порівняння залежно від генотипу пацієнтів за К121К поліморфізмом гена *ENPP1*. Аналізуючи одержані дані, можна зробити висновок, що немає достовірної різниці у показниках ІМТ у осіб з різними варіантами генотипів (К/К і К/К + К/К) як у осіб контрольної групи ($P = 0,785$), так і у хворих із ГКС ($P = 0,593$). Під час проведення порівняння даних між контрольною групою та хворими із ГКС з

різними варіантами генотипів за досліджуваним поліморфізмом, одержано інші результати. Так, у гомозигот за основним алелем К/К, хворих із ГКС, показник ІМТ дорівнював $(28,61 \pm 0,50)$ кг/м², а у практично здорових осіб – $(27,08 \pm 0,48)$ кг/м². Отже, виявлено, що в осіб з генотипом К/К, хворих із ГКС, ІМТ достовірно вищий, ніж у здорових індивідуумів ($P = 0,029$). В осіб з генотипом К/Q + Q/Q, хворих із ГКС, ІМТ становив $(28,15 \pm 0,69)$ кг/м², а в контролі – $(27,34 \pm 0,75)$ кг/м². Таким чином, у носіїв мінорного алеля К/Q + Q/Q достовірної відмінності у величинах ІМТ серед хворих із ГКС та групою контролю виявлено не було ($P = 0,429$).

Таблиця 3.1.7 – Показники ІМТ в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за K121Q поліморфізмом гена ENPP1 (M ± m)

Показники		К/К	К/Q + Q/Q	F	P ₁
ІМТ, кг/м ²	Контроль	27,08 ± 0,48 (n = 83)	27,34 ± 0,75 (n = 27)	0,172	0,785
	ГКС	28,61 ± 0,50 (n = 79)	28,15 ± 0,69 (n = 39)	0,051	0,593
	P ₂	0,029	0,429		

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

Поділ кожної з двох груп – дослідної і контрольної – на дві підгрупи залежно від величини ІМТ (< 25 і ≥ 25 кг/м²) дав можливість проаналізувати вплив поліморфних варіантів гена ENPP1 на розвиток ГКС в осіб із нормальним та підвищеним значенням цього показника.

Як впливає з табл. 3.1.8, у пацієнтів з ІМТ < 25 кг/м² виявлено достовірну відмінність у розподілі генотипів за поліморфізмом K121Q серед осіб контрольної групи та хворих із ГКС. Пацієнтів з ІМТ < 25 кг/м² у контролі з К/К генотипом було 81,2 %, а з К/Q + Q/Q генотипом – 18,8 %. Співвідношення алельних варіантів у хворих із ГКС з ІМТ < 25 кг/м² становило 52,4 і 47,6 % відповідно ($\chi^2 = 5,014$; $P = 0,025$). Таким чином, у пацієнтів з ІМТ

$< 25 \text{ кг/м}^2$ існує достовірний зв'язок між K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* та розвитком ГКС: серед хворих із ГКС більше носіїв мінорного алеля (K/Q + Q/Q), ніж у контролі. У групі з $\text{ІМТ} \geq 25 \text{ кг/м}^2$ такого зв'язку з розвитком ГКС не встановлено. Так, осіб з $\text{ІМТ} \geq 25 \text{ кг/м}^2$ контрольної групи, гомозигот за основним алелем K/K виявлено 73,1 %, а носіїв мінорного алеля K/Q + Q/Q – 26,9 %. Співвідношення поліморфних варіантів в осіб з $\text{ІМТ} \geq 25 \text{ кг/м}^2$, хворих із ГКС, дорівнювало 70,1 і 29,9% відповідно ($\chi^2 = 0,187$; $P = 0,665$).

Таблиця 3.1.8 – Зв'язок K121Q поліморфізму гена *ENPP1* з розвитком ГКС в осіб із нормальним і збільшеним індексом маси тіла

	Генотип		Контроль	ГКС
ІМТ $< 25 \text{ кг/м}^2$	K/K	n	26	11
			81,2 %	52,4 %
	K/Q + Q/Q	n	6	10
			18,8 %	47,6 %
	Разом	n	32	21
			100 %	100 %
$\chi^2 = 5,014$; $P = 0,025$				
ІМТ $\geq 25 \text{ кг/м}^2$	K/K	n	57	68
			73,1 %	70,1 %
	K/Q + Q/Q	n	21	29
			26,9 %	29,9 %
	Разом	n	78	97
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,187$; $P = 0,665$				

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Застосування методу логістичної регресії дало можливість підтвердити висновок про те, що ризик виникнення ГКС в осіб з $\text{ІМТ} < 25 \text{ кг/м}^2$, носіїв

мінорного алеля K/Q + Q/Q, у 3,9 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем ($P = 0,029$) (табл. 3.1.9).

Таблиця 3.1.9 – Аналіз ризику ГКС залежно від генотипу за K121Q поліморфізмом гена ENPP1 в осіб із нормальним і підвищеним ІМТ

Показник	Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95 % СІ для OR нижній	95 % СІ для OR верхній
ІМТ < 25 кг/м ²	K/Q+Q/Q	1,371	0,629	4,746	0,029	3,939	1,148	13,524
ІМТ ≥ 25 кг/м ²	K/Q+Q/Q	0,146	0,338	0,187	0,665	1,158	0,597	2,246

Примітка. Порівняння проводилося щодо гомозигот за основним алелем (K/K); CR – коефіцієнт регресії; SE – стандартна похибка; WS – статистика Вальда; P – статистична значимість; OR - відношення ризику; СІ – довірчий інтервал.

Як у хворих із ГКС, так і в осіб контрольної групи не виявлено залежності між досліджуваним однонуклеотидним поліморфізмом і рівнем ІМТ (табл. 3.1.10). Частота генотипів (K/K і K/Q + Q/Q) у контрольній групі з ІМТ < 25 кг/м² становила 81,2 і 18,8 %, з ІМТ ≥ 25 кг/м² – 73,1 і 26,9 % відповідно. Таким чином, у контролі розподіл поліморфних варіантів гена ENPP1 за вивченим SNP достовірно не відрізнявся серед пацієнтів з нормальною і підвищеною величиною ІМТ ($\chi^2 = 0,818$; $P = 0,366$). Хворих із ГКС, які мали показник ІМТ < 25 кг/м², гомозигот за основним алелем K/K було 52,4 %, а носіїв мінорного алеля K/Q + Q/Q – 47,6 %. Частота алельних варіантів у пацієнтів із ГКС з ІМТ ≥ 25 кг/м² дорівнювала 70,1 і 29,9 % відповідно ($\chi^2 = 2,450$; $P = 0,118$). Отже, у хворих із ГКС також не виявлено достовірної відмінності в розподілі генотипів за K121Q поліморфізмом серед осіб з різними показниками ІМТ.

Таблиця 3.1.10 – Вплив поліморфних K121Q варіантів гена ENPP1 на індекс маси тіла (ІМТ) в осіб контрольної групи та у хворих із ГКС

Групи пацієнтів	Генотип		ІМТ < 25 кг/м ²	ІМТ ≥ 25 кг/м ²
Контрольна група	К/К	n	26	57
			81,2 %	73,1 %
	К/Q + Q/Q	n	6	21
			18,8 %	26,9 %
	Разом	n	32	78
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,818; P = 0,366$				
Хворі із ГКС	К/К	n	11	68
			52,4 %	70,1 %
	К/Q + Q/Q	n	10	29
			47,6 %	29,9 %
	Разом	n	21	97
			100 %	100 %
$\chi^2 = 2,450; P = 0,118$				

Примітка. Див. табл. 3.1.2

І нарешті, під час розподілу пацієнтів на підгрупи за генотипами виявився достовірний зв'язок між величиною ІМТ та розвитком ГКС у пацієнтів з К/К генотипом (табл. 3.1.11). Так, у гомозигот за основним алелем К/К співвідношення осіб з ІМТ < 25 кг/м² та ІМТ ≥ 25 кг/м² у групі контролю становило 31,3 і 68,7 %, а серед хворих із ГКС – 13,9 і 86,1 % відповідно. Таким чином, в осіб з К/К генотипом з ІМТ ≥ 25 кг/м² ризик виникнення ГКС достовірно вищий, ніж в осіб з ІМТ < 25 кг/м² ($\chi^2 = 6,955; P = 0,008$). Носіїв мінорного алеля К/Q + Q/Q контрольної групи з ІМТ < 25 кг/м² – 22,2 %, а з ІМТ ≥ 25 кг/м² – 77,8 %. Хворих із ГКС у цій підгрупі з різними величинами ІМТ було відповідно 25,6 і 74,4 %. Отже, в осіб із К/Q + Q/Q генотипом не

виявлено достовірного зв'язку між величиною ІМТ та розвитком ГКС ($\chi^2 = 0,102$; $P = 0,750$).

Таблиця 3.1.11 – Частота осіб з нормальним і підвищеним індексами маси тіла (ІМТ) у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за К121Q поліморфізмом гена *ENPP1*

Генотип	ІМТ		Контроль	ГКС
К/К	ІМТ < 25 кг/м ²	n	26	11
			31,3 %	13,9 %
	ІМТ ≥ 25 кг/м ²	n	57	68
			68,7 %	86,1 %
	Разом	n	83	79
			100 %	100 %
$\chi^2 = 6,955$; $P = 0,008$				
К/Q + Q/Q	ІМТ < 25 кг/м ²	n	6	10
			22,2 %	25,6 %
	ІМТ ≥ 25 кг/м ²	n	21	29
			77,8 %	74,4 %
	Разом	n	27	39
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,102$; $P = 0,750$				

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Аналіз за показниками артеріального тиску. Розподіл алельних варіантів гена *ENPP1* за поліморфізмом К121Q у хворих із ГКС з нормальною величиною артеріального тиску та артеріальною гіпертензією наведено в табл. 3.1.12. З одержаних результатів випливає, що не існує достовірної різниці у співвідношенні алельних варіантів за досліджуваним поліморфізмом серед хворих із ГКС з артеріальною гіпертензією та з нормальними показниками артеріального тиску ($\chi^2 = 0,102$; $P = 0,749$).

Таблиця 3.1.12 – Частота генотипів за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* у хворих із ГКС з нормальним тиском та артеріальною гіпертензією

Генотип		Артеріальна гіпертензія (-)	Артеріальна гіпертензія (+)
K/K	n	30	49
		65,2 %	68,1 %
K/Q + Q/Q	n	16	23
		34,8 %	31,9 %
Разом	n	46	72
		100 %	100 %
$\chi^2 = 0,102; P = 0,749$			

Примітка. Див. табл. 3.1.2

У таблиці 3.1.13 подано величини АТ сист., АТ діаст., АТ пул. та АТ сер. у практично здорових осіб і у хворих із ГКС залежно від варіантів генотипу за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1*.

В осіб контрольної групи з різними генотипами значення АТ сист. ($P = 0,184$), АТ діаст. ($P = 0,630$), АТ сер. ($P = 0,781$) достовірно не відрізнялись. Щодо хворих із ГКС, то отримано подібні результати: величини АТ сист. ($P = 0,560$), АТ діаст. ($P = 0,636$), АТ сер. ($P = 0,581$) у носіїв різних генотипів також не відрізнялись.

Серед вивчених видів тисків лише АТ пул. в групі контролю у носіїв мінорного алеля K/Q + Q/Q був достовірно вищим, ніж у гомозигот за основним алелем K/K, і становив ($47,2 \pm 1,6$) мм рт. ст. проти ($43,4 \pm 0,8$) мм рт. ст. ($P = 0,024$).

Аналіз між групами порівняння показав, що хворі з ГКС – гомозиготи за основним алелем (K/K) – мали достовірно вищі показники всіх видів тисків, ніж практично здорові особи.

Таблиця 3.1.13 – Показники артеріального тиску (АТ) у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за K121Q поліморфізмом гена ENPP1 ($M \pm m$)

Показники		K/K	K/Q + Q/Q	F	P ₁
АТ сист.	Контроль	123,9 ± 1,1 (83)	126,9 ± 2,0 (27)	0,261	0,184
	ГКС	140,0 ± 1,9 (79)	142,3 ± 3,3 (39)	4,772	0,560
	P ₂	< 0,001	0,001		
АТ діаст.	Контроль	80,4 ± 0,8	79,6 ± 1,4	0,590	0,630
	ГКС	89,2 ± 1,0	90,1 ± 1,8	0,054	0,636
	P ₂	< 0,001	< 0,001		
АТ пул.	Контроль	43,4 ± 0,8	47,2 ± 1,6	0,497	0,024
	ГКС	50,9 ± 1,1	52,1 ± 2,2	4,668	0,601
	P ₂	< 0,001	0,103		
АТ сер.	Контроль	94,9 ± 0,8	95,4 ± 1,5	0,017	0,781
	ГКС	106,1 ± 1,3	107,5 ± 2,1	1,350	0,581
	P ₂	< 0,001	< 0,001		

Примітка. Див. табл. 3.1.7.

Так, у хворих із ГКС з К/К генотипом показник АТ сист. дорівнював (123,9 ± 1,1) мм рт. ст. проти (140,0 ± 1,9) мм рт. ст. у контролі (P < 0,001); АТ діаст. (89,2 ± 1,0) мм рт. ст. проти (80,4 ± 0,8) мм рт. ст. (P < 0,001); АТ пул. (50,9 ± 1,1) мм рт. ст. проти (43,4 ± 0,8) мм рт. ст. (P < 0,001); АТ сер (106,1 ± 1,3) мм рт. ст. проти (94,9 ± 0,8) мм рт. ст. (P < 0,001).

У пацієнтів з генотипом К/Q + Q/Q за K121Q поліморфізмом гена ENPP1 спостерігалися подібні результати, за винятком пульсового АТ. У здорових індивідуумів і хворих із ГКС, які були носіями мінорного алеля, показники АТ пул. достовірно не відрізнялись і дорівнювали (47,2 ± 1,6) мм рт. ст. та (52,1 ± 2,2) мм рт. ст. відповідно (P = 0,103). В осіб з К/Q + Q/Q генотипом хворих із ГКС показник АТ сист. дорівнював (142,3 ± 3,3) мм рт. ст. проти (126,9 ± 2,0) мм рт. ст. у контролі (P = 0,001). Величина АТ діаст. у групах

порівняння ($90,1 \pm 1,8$) мм рт. ст. та ($79,6 \pm 1,4$) мм рт. ст. відповідно ($P < 0,001$). Показник АТ сер. становив ($107,5 \pm 2,1$) мм рт. ст. проти ($95,4 \pm 1,5$) мм рт. ст. ($P < 0,001$). Таким чином, виявлено, що у пацієнтів із ГКС носіїв мінорного алеля величини АТ сист., АТ діаст. і АТ сер. достовірно вищі, ніж у осіб контрольної групи.

Аналіз за фактом паління. Частоту генотипів за К121Q поліморфізмом гена *ENPP1* у хворих із ГКС тих, хто палить, і тих, хто не палить, подано в табл. 3.1.14.

Таблиця 3.1.14 – Частота генотипів за К121Q поліморфізмом гена *ENPP1* у хворих із ГКС курців і тих, хто не палить

Генотип		Паління (-)	Паління (+)
К/К	n	45	34
		70,3 %	63,0 %
К/Q + Q/Q	n	19	20
		29,7 %	37,0 %
Разом	n	64	54
		100 %	100 %
$\chi^2 = 0,715; P = 0,398$			

Примітка. Див. табл. 3.1.2.

Із наведених результатів випливає, що серед хворих із ГКС тих, хто не палить, осіб з К/К генотипом виявлено 70,3 %, а з К/Q + Q/Q генотипом – 29,7 %. Частота генотипів (К/К і К/Q + Q/Q) у хворих із ГКС курців становила 63,0 і 37,0 % відповідно. Таким чином, не існує достовірної різниці у співвідношенні генотипів за досліджуваним поліморфізмом у серед хворих із ГКС курців і тих, хто не палить ($\chi^2 = 0,715; P = 0,398$).

Розподіл генотипів за поліморфізмом К121Q гена *ENPP1* у курців і тих, хто не палить, подано в табл. 3.1.15.

Таблиця 3.1.15 – Зв'язок K121Q поліморфізму гена *ENPP1* з ГКС у курців і тих, хто не палить

	Генотип		Контроль	ГКС
Ті, хто не палить	К/К	n	62	45
			76,5 %	70,3 %
	К/Q + Q/Q	n	19	19
			23,5 %	29,7 %
	Разом	n	81	64
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,718; P = 0,397$				
Курці	К/К	n	21	34
			74,2 %	63,0 %
	К/Q + Q/Q	n	8	20
			27,6 %	37,0 %
	Разом	n	29	54
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,754; P = 0,385$				

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Розподіл поліморфних варіантів (К/К і К/Q + Q/Q) серед тих, хто не палить, у контролі становив 76,5 і 23,5 %, а серед хворих із ГКС – 70,3 і 29,7 % відповідно. У курців частота генотипів за досліджуваним поліморфізмом у контрольній групі дорівнювала 74,2 і 27,6 %, а серед хворих із ГКС – 63,0 і 37,0 % відповідно. Отже, як у тих, хто не палить ($\chi^2 = 0,718, P = 0,397$), так і у курців ($\chi^2 = 0,754, P = 0,385$) не виявлено статистично значущого зв'язку між поліморфними варіантами гена *ENPP1* та розвитком ГКС.

Не відрізнялася й частота генотипів за K121Q поліморфізмом у курців і тих, хто не палить, у кожній із груп порівняння: у контролі та у хворих із ГКС (табл. 3.1.16).

Таблиця 3.1.16 – Частота генотипів за K121Q поліморфізмом гена ENPP1 у курців і тих, хто не палить, у контрольній групі та у хворих із ГКС

Групи пацієнтів	Генотип		Паління (-)	Паління (+)
Контрольна група	К/К	n	62	21
			76,5 %	72,4 %
	К/Q + Q/Q	n	19	8
			23,5 %	27,6 %
	Разом	n	81	29
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,197; P = 0,657$				
Хворі із ГКС	К/К	n	45	34
			70,3 %	63,0 %
	К/Q + Q/Q	n	19	20
			29,7 %	37,0 %
	Разом	n	64	54
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,715; P = 0,398$				

Примітка. Див. табл. 3.1.2

У контрольній групі виявлено осіб, які не палять, з генотипом К/К 76,5 %, з генотипом К/Q + Q/Q – 23,5 %, а тих, хто палить відповідно 72,4 і 27,6 %. Порівняння отриманих даних свідчить про відсутність статистично значущих відмінностей у розподілі алельних варіантів за поліморфізмом К121Q між курцями і тими, хто не палить, у групі контролю ($\chi^2 = 0,197; P = 0,657$). Серед хворих із ГКС осіб, які не палять, з генотипом К/К було 70,3 %, з генотипом К/Q + Q/Q – 29,7 %, а курців 63,0 і 37,0 % відповідно. Отримані результати свідчать про те, що у хворих із ГКС відсутні статистично значущі відмінності між частотою генотипів за вивченим поліморфізмом серед курців і тих, хто не палить, ($\chi^2 = 0,715; P = 0,398$).

Проте встановлено відмінність у підгрупах пацієнтів, утворених за окремими алельними варіантами SNP (табл. 3.1.17).

Таблиця 3.1.17 – Частота осіб, які палять і не палять, у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за K121Q поліморфізмом гена ENPP1

Генотип			Контроль	ГКС
К/К	Паління (-)	n	62	45
			74,7 %	57,0 %
	Паління (+)	n	21	34
			25,3 %	43,0 %
	Разом	n	83	79
			100 %	100 %
$\chi^2 = 5,678; P = 0,017$				
К/Q + Q/Q	Паління (-)	n	19	19
			70,4 %	48,7 %
	Паління (+)	n	8	20
			29,6 %	51,3 %
	Разом	n	27	39
			100 %	100 %
$\chi^2 = 3,062; P = 0,080$				

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Серед гомозигот за основним алелем К/К співвідношення курців і тих, які не палять, у групі контролю становило 74,7 і 25,3 %, а у хворих із ГКС – 57,0 і 43,0 % відповідно. Таким чином, в осіб з К/К генотипом встановлено достовірний зв'язок між фактом паління та розвитком ГКС ($\chi^2 = 5,678; P = 0,017$). Серед носіїв мінорного алеля К/Q + Q/Q осіб, які не палять, і тих, які палять, у контролі було 70,4 і 29,6 %, а у хворих із ГКС 48,7 і 51,3 % відповідно. Отже, в осіб з К/Q + Q/Q генотипом достовірного зв'язку між розвитком ГКС та палінням не виявлено ($\chi^2 = 3,062; P = 0,080$).

Аналіз за наявністю ожиріння. Аналіз впливу поліморфних варіантів гена *ENPP1* на розвиток ГКС в осіб з ожирінням і без ожиріння виявив відсутність зв'язку між K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* та ожирінням у хворих із ГКС (табл. 3.1.18).

У пацієнтів із ГКС, які страждали на ожиріння, співвідношення гомозигот за основним алелем (K/K) і носіїв мінорного алеля (K/Q + Q/Q) становило 70,0 і 30,0 %, тоді як у пацієнтів без ожиріння ці показники дорівнювали 65,4 і 34,6 % відповідно. Відмінності у розподілі різних варіантів генотипів за досліджуваним однонуклеотидним поліморфізмом між хворими з ГКС з ожирінням і без ожиріння не виходили за межі статистичної значущості ($\chi^2 = 0,255$, $P = 0,614$).

Таблиця 3.1.18 – Вплив поліморфних K121Q варіантів гена ENPP1 на розвиток ГКС в осіб з ожирінням та без ожиріння

Генотип		Ожиріння (-)	Ожиріння (+)
K/K	<i>n</i>	51	28
		65,4 %	70,0 %
K/Q+ Q/Q	<i>n</i>	27	12
		34,6 %	30,0 %
Разом	<i>n</i>	78	40
		100 %	100 %
$\chi^2 = 0,255$; $P = 0,614$			

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Аналіз розподілу генотипів у хворих із гострим коронарним синдромом з різним ступенем ожиріння свідчить про відсутність зв'язку K121Q поліморфізму гена *ENPP1* з підвищенням маси тіла ($\chi^2 = 2,467$, $P = 0,481$) (табл. 3.1.19).

Таблиця 3.1.19 – Вплив поліморфних K121Q варіантів гена *ENPP1* на індекс маси тіла (ІМТ) залежно від ступеня ожиріння у хворих із ГКС

Генотип		Немає	I ст., ІМТ = 25–30	II ст., ІМТ = 30–40	III ст., ІМТ ≥ 40
K/K	n	11	40	26	2
		52,4 %	70,2 %	70,3 %	66,7 %
K/Q + Q/Q	n	10	17	11	1
		47,6 %	29,8 %	29,7 %	33,3 %
Разом	n	21	57	37	3
		100 %	100 %	100 %	100 %
$\chi^2 = 2,467; P = 0,481$					

Примітка. Див. табл. 3.1.2.

Аналіз за показниками вмісту ліпідів у плазмі крові. У таблиці 3.1.20 наведено дані про вміст загального холестеролу (ХС), холестеролу у складі ліпопротеїнів різної густини (ХС-ЛПНГ, ХС-ЛПДНГ і ХС-ЛПВГ), а також тригліцеридів у плазмі хворих із ГКС із різними варіантами генотипів (K/K і K/Q + Q/Q) за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1*. За наявності відомих концентрацій зазначених ліпідів було обчислено індекс атерогенності (ІА), збільшення якого понад 3 одиниці дає підставу говорити про так звану дисліпопротеїнемію атерогенного характеру (ДАХ) – основний із факторів ризику атеросклерозу та більшості його ускладнень (інфаркту міокарда, ішемічного інсульту).

З одержаних результатів можна стверджувати, що в осіб з генотипом K/K показники ХС-ЛПНЦ та індекс атерогенності достовірно вищі, ніж у носіїв мінорного алеля (K/Q + Q/Q). Так, у хворих із ГКС, гомозигот за основним алелем K/K, показник ХС-ЛПНЦ дорівнював ($4,75 \pm 0,17$) ммоль/л, а з генотипом K/Q + Q/Q – ($4,12 \pm 0,26$) ммоль/л ($P = 0,039$). Індекс атерогенності у хворих із ГКС з K/K генотипом становив ($5,97 \pm 0,31$), а в осіб з генотипом K/Q + Q/Q – ($4,91 \pm 0,40$) ммоль/л ($P = 0,046$). Достовірної різниці в показниках

загального ХС ($P = 0,075$), ХС-ЛПДНЩ ($P = 0,598$), ХС-ЛПВЩ ($P = 0,062$) і тригліцеридів ($P = 0,598$) у хворих із ГКС з різними поліморфними варіантами виявлено не було.

Таблиця 3.1.20 – Вміст ліпідів плазми крові у хворих із ГКС залежно від варіантів генотипу за K121Q поліморфізмом гена ENPP1 ($M \pm m$)

Показники	K/K (n = 79)	K/Q + Q/Q (n = 39)	F	P
Загальний ХС	6,55 ± 0,16	6,05 ± 0,24	1,078	0,075
ХС-ЛПНЩ	4,75 ± 0,17	4,12 ± 0,26	0,222	0,039
ХС-ЛПДНЩ	0,79 ± 0,04	0,83 ± 0,06	0,018	0,598
ХС-ЛПВЩ	1,01 ± 0,03	1,10 ± 0,04	0,162	0,062
Тригліцериди	1,74 ± 0,96	1,83 ± 0,14	0,018	0,598
Індекс атерогенності	5,97 ± 0,31	4,91 ± 0,40	0,924	0,046

Примітка. Усі показники, крім індексу атерогенності, ммоль/л; n – кількість пацієнтів

Поділ пацієнтів на дві підгрупи залежно від величини індексу атерогенності (ІА) (≤ 3 і > 3) дав можливість оцінити вплив генотипу за K121Q поліморфізмом гена ENPP1 на розвиток ДАХ у хворих із ГКС (табл. 3.1.21).

Таблиця 3.1.21 – Частота генотипів за K121Q поліморфізмом гена ENPP1 у хворих із ГКС із різними величинами індексу атерогенності (ІА)

Генотип		ІА ≤ 3	ІА > 3
K/K	n	11	68
		55,0 %	69,4 %
K/Q + Q/Q	n	9	30
		45,0 %	30,6 %
Разом	n	20	98
		100 %	100 %
$\chi^2 = 1,554; P = 0,213$			

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Серед хворих із ГКС, у яких $IA \leq 3$, осіб з К/К генотипом було 55,0 %, а носіїв мінорного алеля К/Q + Q/Q – 45,0 %. Частота алельних варіантів (К/К і К/Q + Q/Q) за досліджуваним поліморфізмом гена *ENPP1* у хворих із ГКС з $IA > 3$ становила 69,4 і 30,6 % відповідно. Проведений аналіз не виявив статистично значущої асоціації цього варіанта SNP із ДАХ ($\chi^2 = 1,554$; $P = 0,213$).

Аналіз за показниками коагуляції крові. Стан процесів згортання крові у хворих із ГКС оцінювали за загальноприйнятими показниками, до яких належать протромбіновий час (ПТЧ) і протромбіновий індекс (ПТІ), тромбіновий час (ТЧ), вміст фібриногену у плазмі крові, інтенсивність спонтанного фібринолізу. Із наведених результатів у табл. 3.1.22 випливає, що середня величина жодного з цих показників, окрім показника фібринолітичної активності, не залежала від генетичного чинника, який був предметом нашого аналізу.

Таблиця 3.1.22 – Деякі показники коагуляції крові у хворих із ГКС залежно від варіантів генотипу за К121Q поліморфізмом гена *ENPP1* ($M \pm m$)

Показники	К/К (n = 79)	К/Q+Q/Q (n = 39)	F	P
Протромбіновий час, с	10,43 ± 0,18	11,01 ± 0,31	5,014	0,112
Тромбіновий час, с	17,28 ± 0,48	18,85 ± 0,80	1,257	0,077
Фібриноген, г/л	3,69 ± 0,13	3,64 ± 0,20	0,002	0,817
Фібринолітична активність, с	479,37 ± 4,12	462,31 ± 6,30	1,028	0,022

Примітка: n – кількість пацієнтів

Відмінності між значеннями ПТЧ ($P = 0,122$), ТЧ ($P = 0,077$) і фібриногену ($P = 0,817$) у гомозигот за основним алелем (К/К) і носіїв мінорного алеля (К/Q + Q/Q) виявились статистично не достовірними. Що стосується фібринолітичної активності, то одержані дещо інші результати: у хворих із ГКС з генотипом К/К цей показник дорівнював ($479,37 \pm 4,12$) с, а в

осіб з генотипом K/Q + Q/Q – (462,31 ± 6,30) с. Отже, у хворих із ГКС, гомозигот за основним алелем K/K, показник фібринолітичної активності достовірно вищий, ніж у носіїв мінорного алеля (P = 0,022).

Поділ хворих із ГКС на дві підгрупи за наявністю та відсутністю функціональних і біохімічних ознак гіперкоагуляції крові (ГКК) (схильними до пришвидшеного згортання крові вважали пацієнтів, у яких ПТЧ був < 9 сек, а ПТІ > 110 %) не виявив будь-якого впливу досліджуваного генетичного маркера на ризик розвитку гіперкоагуляційного синдрому ($\chi^2 = 0,019$; P = 0,892) (табл. 3.1.23). Так, серед хворих із ГКС із наявністю ознак ГКК гомозигот за основним алелем K/K було 68,2 %, а носіїв мінорного алеля K/Q + Q/Q – 31,8 %. Розподіл генотипів (K/K і K/Q + Q/Q) за вивченим K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* у хворих із ГКС без ознак ГКК становив 66,7 і 33,3 % відповідно.

Таблиця 3.1.23 – Зв'язок K121Q поліморфізму гена *ENPP1* з гіперкоагуляцією крові (ГКК) у хворих із ГКС

		ГКК (-)	ГКК (+)
K/K	n	64	15
		66,7 %	68,2 %
K/Q + Q/Q	n	32	7
		33,3 %	31,8 %
Разом	n	96	22
		100 %	100 %
$\chi^2 = 0,019$; P = 0,892			

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Аналіз за наявністю цукрового діабету. Визначення концентрації глюкози натще показало, що величини цього показника у гомозигот за основним алелем K/K та у носіїв мінорного алеля K/Q + Q/Q достовірно не відрізнялися між собою як у хворих із ГКС (P = 0,688), так і у практично здорових осіб (P = 0,154) (табл. 3.1.24). Інші результати було одержано, коли

аналіз проводився між групами порівняння. Хворі з ГКС – гомозиготи за основним алелем (K/K) – мали достовірно вищий показник концентрації глюкози крові, що дорівнював ($8,0 \pm 0,32$) ммоль/л проти ($5,3 \pm 0,09$) ммоль/л в осіб контрольної групи ($P < 0,001$). У носіїв мінорного алеля (K/Q + Q/Q) хворих із ГКС, величина глюкози крові становила ($7,8 \pm 0,37$) ммоль/л проти ($5,1 \pm 0,14$) ммоль/л у практично здорових індивідуумів ($P < 0,001$).

Таблиця 3.1.24 – Показники глюкози крові у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за K121Q поліморфізмом гена ENPP1 (M ± m)

Показники		K/K	K/Q + Q/Q	F	P
Глюкоза крові, ммоль/л	Контроль	$5,3 \pm 0,09$ (n = 83)	$5,1 \pm 0,14$ (n = 27)	0,343	0,154
	ГКС	$8,0 \pm 0,32$ (n = 79)	$7,8 \pm 0,37$ (n = 39)	1,956	0,688
	P ₂	< 0,001	< 0,001		

Примітка. Див. табл. 3.1.5

У пацієнтів із ГКС не виявлено залежності між генотипом за K121Q поліморфізмом гена ENPP1 і розвитком цукрового діабету ($\chi^2 = 1,717$; $P = 0,190$) (табл. 3.1.25).

Таблиця 3.1.25 – Зв'язок K121Q поліморфізму гена ENPP1 з цукровим діабетом (ЦД) у хворих із ГКС

		ЦД (-)	ЦД (+)
K/K	n	56	23
		63,6 %	76,7 %
K/Q + Q/Q	n	32	7
		36,4 %	23,3 %
Разом	n	88	30
		100 %	100 %
$\chi^2 = 1,717$; $P = 0,190$			

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Хворих із ГКС, які не страждали на цукровий діабет, з К/К генотипом було 63,6 %, а з К/Q + Q/Q – 36,4 %. Розподіл алельних варіантів (К/К і К/Q + Q/Q) у хворих із ГКС, які страждали на ЦД, становив 76,7 і 23,3 % відповідно.

Вплив SNP на основні характеристики ГКС

За клінічними проявами у хворих із ГКС виділяють ангінозний та інші варіанти гострого коронарного синдрому, до яких відносять астматичну, абдомінальну, аритмічну та безбольову форми. Розподіл алельних варіантів К121Q поліморфізму гена *ENPP1* у хворих із ГКС з ангінозною та іншими клінічними формами наведений на рис. 3.1.2.

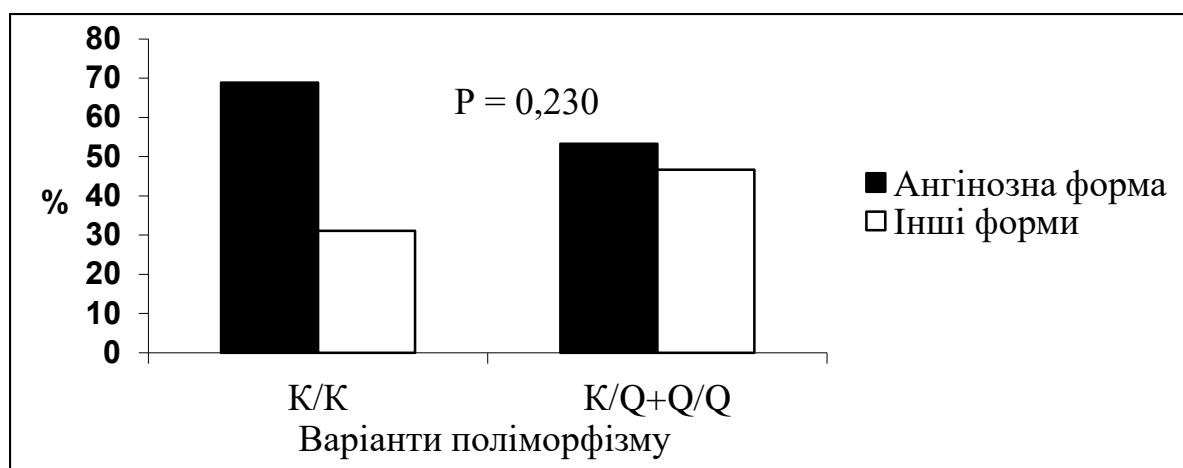


Рисунок 3.1.2 – Частота алельних варіантів гена *ENPP1* за поліморфізмом К121Q у хворих із ГКС з ангінозною формою (чорні стовпчики) та іншими формами (білі стовпчики). P – статистична значущість відмінності показників за χ^2 -критерієм Пірсона

Так, серед пацієнтів з ангінозною формою ГКС співвідношення різних генотипів (К/К і К/Q + Q/Q) становило 68,9 та 31,1 %, а серед осіб з іншими формами ГКС – 53,3 та 46,7 % відповідно. Статистично достовірної різниці в розподілі алельних варіантів у досліджуваних групах виявлено не було ($\chi^2 = 1,440$; P = 0,230).

Під час більш поглибленого аналізу впливу К121Q поліморфізму на варіанти клінічного перебігу у хворих із гострим коронарним синдромом (ангінозний, астматичний, абдомінальний, аритмічний та безбольовий) нами

встановлено відсутність достовірної асоціації досліджуваного генетичного маркера з видами клінічного перебігу ГКС ($\chi^2 = 4,453$; $P = 0,348$) (табл. 3.1.26).

Таблиця 3.1.26 – Вплив поліморфних K121Q варіантів гена *ENPP1* на варіанти клінічного перебігу у хворих із ГКС

Варіанти клінічного перебігу						
Генотип		Ангі- нозний	Астма- тичний	Абдомі- нальний	Аритміч- ний	Безбольо- вий
К/К	n	71	2	1	3	2
		68,9 %	40,0 %	33,3 %	60,0 %	100,0 %
К/Q + Q/Q	n	32	3	2	2	0
		31,1 %	60,0 %	66,7 %	40,0 %	0 %
Разом	n	103	5	3	5	2
		100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
$\chi^2 = 4,453$; $P = 0,348$						

Примітка. Див. табл. 3.1.2

До клінічних проявів гострого коронарного синдрому відносять нестабільну стенокардію, не-Q-інфаркт міокарда, Q- та QS-інфаркти міокарда. Одержані результати свідчать, що розподіл алельних варіантів за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* у групах пацієнтів, утворених за цією клінічною ознакою, статистично достовірно не відрізняється (рис. 3.1.3).

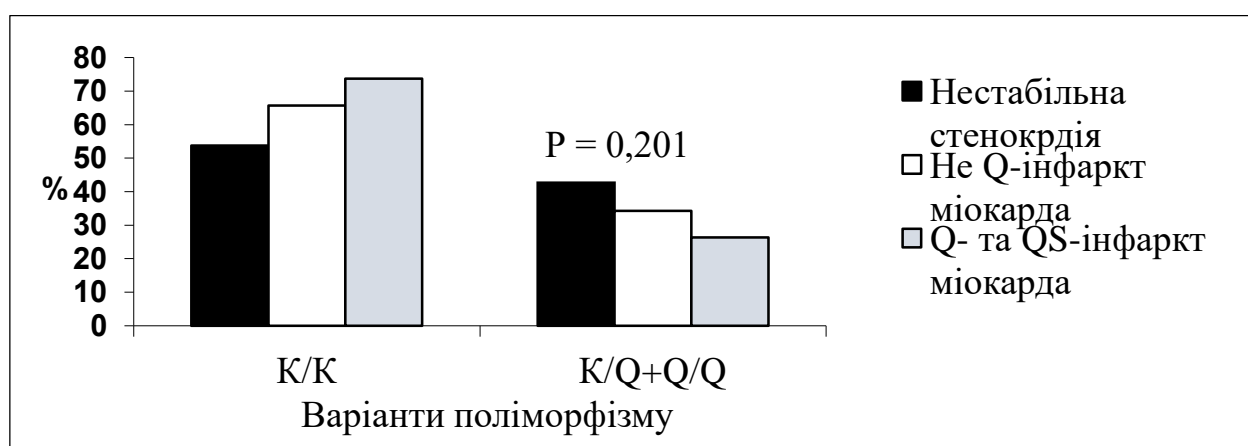


Рисунок 3.1.3 – Частота алельних варіантів гена *ENPP1* за поліморфізмом K121Q у хворих із нестабільною стенокардією (чорні стовпчики), не- Q- інфарктом міокарда (білі стовпчики), Q- та QS-інфарктами міокарда (сині стовпчики). P – статистична значимість відмінності показників за χ^2 - критерієм Пірсона

Співвідношення генотипів за K121Q поліморфізмом (K/K і K/Q + Q/Q) у пацієнтів із нестабільною стенокардією становило 53,8 і 46,2 %, у хворих із не-Q-інфарктом міокарда відповідні показники дорівнювали 65,7 і 34,3 %, а з Q- та QS-інфарктами – 73,7 і 26,3 %. Отже, відмінності у розподілі поліморфних варіантів за досліджуваним поліморфізмом серед пацієнтів із різними формами ГКС виявилися статистично недостовірними ($\chi^2 = 3,210$, $P = 0,201$).

І нарешті, ми дослідили зв'язок між генотипом хворих за K121Q поліморфізмом та розвитком ускладнень ГКС, до яких належать аритмії, серцева недостатність, тромбоемболії, розриви серця та його частин, кровотечі (табл. 3.1.27).

Таблиця 3.1.27 – Частота генотипів за K121Q поліморфізмом гена ENPP1 у хворих із ГКС з ускладненнями та без ускладнень

Генотип		Ускладнення (-)	Ускладнення (+)
K/K	n	63	16
		67,0 %	66,7 %
K/Q + Q/Q	n	31	8
		33,0 %	33,3 %
Разом	n	94	24
		100 %	100 %
$\chi^2 = 0,001$; $P = 0,974$			

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Співвідношення гомозигот за основним алелем і носіїв мінорного алеля (K/K і K/Q + Q/Q) у групах пацієнтів, що перенесли ГКС без ускладнень становило 67,0 і 33,0%, а тих, які мали ускладнення – 66,7 і 33,3 % відповідно і достовірно не відрізнялося ($\chi^2 = 0,001$; $P = 0,974$).

Під час детального аналізу впливу поліморфних K121Q варіантів гена ENPP1 на ускладнення у хворих із ГКС (аритмії, серцева недостатність,

тромбоемболії, розриви серця та його частин, кровотечі) достовірного зв'язку також не виявлено ($\chi^2 = 3,477$; $P = 0,627$) (табл. 3.1.28).

Таблиця 3.1.28 – Вплив поліморфних K121Q варіантів гена *ENPP1* на ускладнення у хворих із ГКС

Ускладнення							
Генотип		Немає	Аритмії	Серцева недостатність, в т.ч. шок	Тромбоемболії	Розрив серця та його частин	Кровотечі
К/К	n	63	4	7	2	2	1
		67,0 %	66,7%	53,8 %	100 %	100 %	100,0 %
К/Q + Q/Q	n	31	2	6	0	0	0
		33,0 %	33,3%	46,2 %	0 %	0 %	0 %
Разом	n	94	6	13	2	2	1
		100 %	100%	100 %	100 %	100 %	100 %
$\chi^2 = 3,477$; $P = 0,627$							

Примітка. Див. табл. 3.1.2

Таким чином, у результаті проведеного аналізу зв'язку K121Q поліморфізму гена *ENPP1* із розвитком ГКС та факторами його ризику встановлено, що вивчений поліморфізм не асоційований із виникненням ГКС. Проте доведений зв'язок K121Q поліморфних варіантів з деякими факторами ризику ГКС. Так, ризик виникнення захворювання в осіб з ІМТ < 25 кг/м², які є носіями мінорного алеля (К/Q + Q/Q), у 3,9 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем (К/К). Доведений достовірний зв'язок між фактом паління та розвитком ГКС у пацієнтів з генотипом К/К. Виявлено асоціацію K121Q поліморфізму з порушеннями ліпопротеїнового обміну та коагуляції крові у хворих із гострим коронарним синдромом: у гомозигот за основним алелем К/К фібринолітична активність, концентрація ХС-ЛПНЩ та індекс атерогенності достовірно вищі, ніж у осіб з іншими генотипами.

1.2. Зв'язок А69314G поліморфізму гена *TNAP* із розвитком гострого коронарного синдрому

На сьогодні відомо близько 3500 одонуклеотидних поліморфізмів гена *TNAP*. Поліморфізм А69314G є «мовчазною» мутацією: заміна аденіну на гуанін у 9-му екзоні не призводить до заміни проліну на будь-яку іншу амінокислоту в 292-му положенні молекули білка. *TNAP* є одним із прокальциногенних факторів, який за рахунок розщеплення молекули неорганічного пірофосфату (PPi) збільшує концентрацію неорганічного фосфату (Pi) в позаклітинному просторі, створюючи умови для посилення процесів мінералізації в тканинах. Враховуючи це, генетичні поліморфізми гена *TNAP* можуть бути асоційовані з розвитком кальцифікації у судинній стінці.

Частоту трьох можливих поліморфних варіантів генотипу, а також перевірку відповідності розподілу основного (А) і мінорного (G) алелів рівновазі Харді – Вайнберга подано в табл. 3.2.1.

Таблиця 3.2.1 – Частота алельних варіантів і алелів за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* у контрольній групі та у хворих із ГКС

	<i>Контрольна група</i>	<i>Хворі із ГКС</i>
Гомозиготи А/А, n (%)	92 (83,6)	82 (69,5)
Гетерозиготи А/G, n (%)	16 (14,6)	30 (25,4)
Гомозиготи G/G, n (%)	2 (1,8)	6 (5,1)
А-алель	0,91	0,82
G-алель	0,09	0,18
χ^2	1,58	2,03
P	> 0,05	> 0,05

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

Як впливає з наведених даних, розподіл А- і G-алелів у контрольній групі і у хворих із ГКС не має статистично достовірних відхилень від очікуваних за генетично-популяційним законом величин ($P > 0,05$).

Оскільки в групах порівняння виявлена незначна кількість осіб гомозигот за мінорним алелем G/G, то для подальшого аналізу носіїв мінорного алеля було об'єднано в одну групу A/G + G/G.

На рисунку 3.2.1 наведено результати аналізу частот окремих генотипів за поліморфізмом A69314G у пацієнтів контрольної групи та у хворих із гострим коронарним синдромом. В осіб із ГКС співвідношення гомозигот за основним алелем (A/A) та носіїв мінорного алеля (A/G + G/G) становило 69,5 і 30,5 %, тоді як у контрольній групі ці показники дорівнювали 83,6 і 16,4 % відповідно. Отже, існує статистична відмінність у розподілі різних варіантів генотипів за A69314G поліморфізмом гена *TNAP* серед хворих із ГКС та здорових осіб ($\chi^2 = 6,302$, $P = 0,012$).

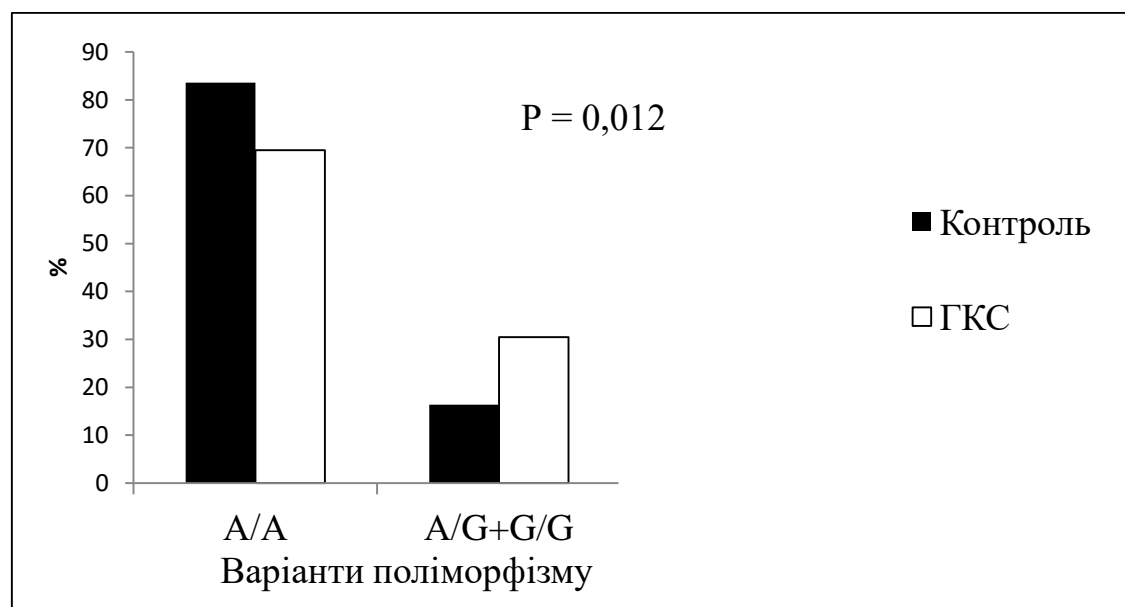


Рисунок 3.2.1 – Частота алельних варіантів гена *TNAP* за поліморфізмом A69314G у хворих із ГКС (білі стовпчики) і в контрольній групі (чорні стовпчики). P – статистична значущість відмінності показників за χ^2 -критерієм Пірсона

Методом логістичної регресії було підтверджено цей висновок: ризик виникнення ГКС в осіб, які були носіями мінорного алеля A/G + G/G, у 2,24 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем A/A (табл. 3.2.2).

Таблиця 3.2.2 – Аналіз ризику ГКС залежно від генотипу за А69314G поліморфізмом гена TNAP

Показник	Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
ГКС	A/G + G/G	0,808	0,326	6,139	0,013	2,244	1,184	4,253

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 алельних варіантів гена TNAP за поліморфізмом А69314G у хворих із ГКС різної статі наведено в табл. 3.2.3. З одержаних результатів випливає, що серед хворих із ГКС жінок з А/А генотипом було 69,2 %, а з А/Г + Г/Г генотипом – 30,8 %. Частота генотипів (А/А і А/Г + Г/Г) у хворих із ГКС чоловіків становила 69,6 і 30,4 % відповідно. Отже, не існує достовірної різниці у співвідношенні генотипів за досліджуваним поліморфізмом у хворих із ГКС різної статі ($\chi^2 = 0,001$; P = 0,974).

Таблиця 3.2.3 – Частота генотипів за А69314G поліморфізмом гена TNAP у хворих із ГКС жінок та чоловіків

Генотип		Жінки	Чоловіки
А/А	n	18	64
		69,2 %	69,6 %
А/Г + Г/Г	n	8	28
		30,8 %	30,4 %
Разом	n	26	92
		100 %	100 %
$\chi^2 = 0,001$; P = 0,974			

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

Розподіл алельних варіантів за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* за статтю у досліджуваних групах пацієнтів наведено в табл. 3.2.4.

Таблиця 3.2.4 – Зв'язок А69314G поліморфізму гена *TNAP* із розвитком ГКС в осіб жіночої та чоловічої статей

Стать	Генотип		Контроль	ГКС
Жінки	А/А	n	27	18
			84,4 %	69,2 %
	А/Г + Г/Г	n	5	8
			15,6 %	30,8 %
	Разом	n	32	26
			100 %	100 %
$\chi^2 = 1,892; P = 0,169$				
Чоловіки	А/А	n	65	64
			83,3 %	69,6 %
	А/Г + Г/Г	n	13	28
			16,7 %	30,4 %
	Разом	n	78	92
			100 %	100 %
$\chi^2 = 4,372; P = 0,037$				

Примітка. Див. табл. 3.2.3.

Як випливає з наведених даних, в осіб жіночої статі не виявлено достовірної відмінності між співвідношенням алельних варіантів (А/А і А/Г + Г/Г) даного поліморфізму серед практично здорових осіб та хворих із ГКС. Так, серед хворих із ГКС жінок з генотипом А/А було 69,2 %, а з генотипом А/Г + Г/Г – 30,8 %. В осіб жіночої статі контрольної групи співвідношення генотипів за вивченим поліморфізмом становило: 84,4 і 15,6 % відповідно і не відрізнялося від групи хворих ($\chi^2 = 1,892; P = 0,169$). Розподіл генотипів (А/А і А/Г + Г/Г) серед хворих із ГКС осіб чоловічої статі становив 69,6 і 30,4 %, а у контролі – 83,3 і 16,7 % відповідно. Показник *P*, розрахований

за χ^2 -критерієм Пірсона дорівнював 0,037, що свідчить про існування різниці у розподілі генотипів за A69314G поліморфізмом серед здорових і хворих із ГКС чоловіків.

Застосування методу логістичної регресії дало можливість підтвердити цей висновок (табл. 3.2.5). У результаті проведених розрахунків було встановлено, що ризик виникнення ГКС в осіб чоловічої статі з A/G + G/G генотипом у 2,19 раза вищий, ніж у гомозигот з A/A генотипом.

Таблиця 3.2.5 – Аналіз ризику ГКС залежно від генотипу за A69314G поліморфізмом гена TNAP в осіб різної статі

Показник	Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
Чоловіки	A/G +G/G	0,783	0,379	4,265	0,039	2,187	1,041	4,598
Жінки	A/G +G/G	0,875	0,646	1,835	0,175	2,400	0,676	8,517

Примітка. Дивись табл. 3.2.2

У таблиці 3.2.6 подано результати генотипування за A69314G поліморфізмом гена TNAP у жінок і чоловіків – окремо у хворих із ГКС та у пацієнтів контрольної групи. Із отриманих результатів можна бачити, що серед осіб контрольної групи жінок з A/A генотипом було 84,8 %, а з A/G + G/G генотипом – 15,6 %. Розподіл алельних варіантів серед практично здорових осіб чоловічої статі становив 83,3 і 16,7 % відповідно. Таким чином, у контрольній групі не було виявлено достовірного зв'язку між поліморфними варіантами досліджуваного гена та статтю пацієнтів ($\chi^2 = 0,018$; P = 0,893). Серед хворих із ГКС спостерігалися подібні результати. Так, пацієнтів із ГКС жіночої статі, гомозигот за основним алелем (A/A), було 69,2 %, а носіїв мінорного алеля (A/G + G/G) – 30,8 %. Розподіл алельних варіантів у хворих із ГКС чоловіків був 69,6 і 30,4 %. Отже, у пацієнтів із ГКС також не виявлено достовірної відмінності в розподілі генотипів за A69314G поліморфізмом гена TNAP в осіб різної статі ($\chi^2 = 0,001$; P = 0,947).

Таблиця 3.2.6 – Частота генотипів за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* у жінок і чоловіків у контрольній групі та у хворих із ГКС

Групи пацієнтів	Генотип		Жінки	Чоловіки
Контрольна група	A/A	n	27	65
			84,8 %	83,3 %
	A/G + G/G	n	5	13
			15,6 %	16,7 %
	Разом	n	32	78
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,018; P = 0,893$				
Хворі з ГКС	A/A	n	18	64
			69,2 %	69,6 %
	A/G+G/G	n	8	28
			30,8 %	30,4 %
	Разом	n	26	92
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,001; P = 0,947$				

Примітка. Див. табл. 3.2.3

Нарешті, ще один аналіз дає підстави для висновку про те, що немає зв'язку між статтю пацієнтів та розвитком ГКС залежно від генотипу за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* (табл. 3.2.7). Так, серед гомозигот за основним алелем (A/A) у контролі жінок було 29,3 %, а чоловіків – 70,7 %. Співвідношення осіб жіночої та чоловічої статей у хворих із ГКС з A/A генотипом становило 22,0 і 78,0 %. Отже, у гомозигот за основним алелем не виявлено достовірного зв'язку між статтю досліджуваних індивідуумів та розвитком ГКС ($\chi^2 = 1,237; P = 0,266$). У носіїв мінорного алеля (A/G + G/G) спостерігаються подібні результати: осіб контрольної групи жіночої статі було 27,8 %, а чоловічої – 72,2 %. Серед хворих із ГКС жінок – 22,2 %, а чоловіків

– 77,8 %. Таким чином, в осіб з генотипом A/G + G/G не виявлено достовірного зв'язку між статтю пацієнтів та розвитком ГКС ($\chi^2 = 0,203$; P = 0,653).

Таблиця 3.2.7 – Частота осіб різної статі у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за A69314G поліморфізмом гена TNAP

Генотип	Стать		Контроль	ГКС
A/A	Жінки	n	27	18
			29,3 %	22,0 %
	Чоловіки	n	65	64
			70,7 %	78,0 %
	Разом	n	92	82
			100 %	100 %
$\chi^2 = 1,237$; P = 0,266				
A/G + G/G	Жінки	n	5	8
			27,8 %	22,2 %
	Чоловіки	n	13	28
			72,2 %	77,8 %
	Разом	n	18	36
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,203$; P = 0,653				

Примітка. Див. табл. 3.2.3

Аналіз за показником індексу маси тіла. Розподіл алельних варіантів гена TNAP за поліморфізмом A69314G у хворих із ГКС з нормальною та підвищеною величиною ІМТ подано в табл. 3.2.8. Співвідношення генотипів A/A і A/G + G/G у групі хворих із ГКС з нормальним ІМТ становило 76,2 і 23,8 %. В осіб з підвищеною величиною ІМТ (≥ 25 кг/м²) воно дорівнювало 68,0 і 32,0 % відповідно. Достовірної різниці у розподілі генотипів за досліджуваним поліморфізмом серед хворих із ГКС з різними величинами ІМТ не виявлено ($\chi^2 = 0,541$; P = 0,462).

Таблиця 3.2.8 – Частота генотипів за А69314G поліморфізмом гена TNAP у хворих із ГКС із нормальною та підвищеною величинами ІМТ

Генотип		<i>IMT</i> < 25 кг/м ²	<i>IMT</i> ≥ 25 кг/м ²
A/A	n	16	66
		76,2 %	68,0 %
A/G + G/G	n	5	31
		23,8 %	32,0 %
Разом	n	21	97
		100 %	100 %
$\chi^2 = 0,541; P = 0,462$			

Примітка. Див. табл. 3.2.3.

У таблиці 3.2.9 наведено величини ІМТ у групах порівняння залежно від генотипу пацієнтів за А69314G поліморфізмом гена TNAP.

Таблиця 3.2.9 – Показники ІМТ у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за А69314G поліморфізмом гена TNAP (M ± m)

Показник		A/A	A/G + G/G	F	P ₁
ІМТ, кг/м ²	Контроль	27,22 ± 0,44 (n = 92)	26,72 ± 1,08 (n = 18)	0,449	0,650
	ГКС	28,42 ± 0,49 (n = 82)	28,55 ± 0,72 (n = 36)	0,004	0,882
	P ₂	0,069	0,156		

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

Аналізуючи одержані дані, можна зробити висновок, що не існує достовірної різниці між величинами ІМТ в осіб з різними варіантами генотипів (A/A і A/G + G/G) як у осіб контрольної групи (P = 0,650), так і у хворих із ГКС (P = 0,882). Під час порівняння показника ІМТ у пацієнтів контрольної групи

та хворих із ГКС носіїв різних генотипів, достовірної різниці також не виявлено. Так, в осіб з А/А генотипом, хворих із ГКС, величина ІМТ дорівнювала $(28,42 \pm 0,49)$ кг/м², а у практично здорових індивідумів – $(27,22 \pm 0,44)$ кг/м² ($P = 0,069$). В осіб з генотипом А/Г + Г/Г, хворих із ГКС, ІМТ становив $(28,55 \pm 0,72)$ кг/м², а у контролі – $(26,72 \pm 1,08)$ кг/м² ($P = 0,156$).

Поділ кожної із двох груп – дослідної і контрольної – на дві підгрупи залежно від величини ІМТ (< 25 і ≥ 25 кг/м²) дав можливість проаналізувати вплив поліморфних варіантів гена *TNAP* на розвиток ГКС в осіб з нормальною і підвищеною величиною цього показника.

Як впливає з табл. 3.2.10, у пацієнтів з ІМТ < 25 кг/м² не виявлено достовірного зв'язку між різними варіантами генотипів за поліморфізмом А69314G досліджуваного гена і розвитком ГКС ($\chi^2 = 0,027$; $P = 0,869$).

Таблиця 3.2.10 – Зв'язок А69314G поліморфізму гена *TNAP* із розвитком ГКС в осіб із нормальним і збільшеним індексами маси тіла

	Генотип		Контроль	ГКС
ІМТ < 25 кг/м ²	А/А	n	25	16
			78,1 %	76,2 %
	А/Г + Г/Г	n	7	5
			21,9 %	23,8 %
	Разом	n	32	21
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,027$; $P = 0,869$				
ІМТ ≥ 25 кг/м ²	А/А	n	67	66
			85,9 %	68,0 %
	А/Г + Г/Г	n	11	31
			14,1 %	32,0 %
	Разом	n	78	97
			100 %	100 %
$\chi^2 = 7,558$; $P = 0,006$				

Примітка. Див. табл. 3.2.3

Так, співвідношення генотипів (A/A і A/G + G/G) у контрольній групі становило 78,1 і 21,9 %, а серед хворих із ГКС – 76,2 і 23,8 %. У пацієнтів з ІМТ ≥ 25 кг/м² отримано протилежні результати. Серед практично здорових осіб з надмірною вагою розподіл генотипів за досліджуваним поліморфізмом дорівнював 85,9 і 14,1 %, а у групі хворих із ГКС – 68,0 і 32,0% відповідно. Отже, в осіб з ІМТ ≥ 25 кг/м², існує достовірний зв'язок A69314G поліморфізму гена *TNAP* із розвитком ГКС ($\chi^2 = 7,558$; P = 0,006).

За допомогою методу логістичної регресії було підтверджено цей висновок. У результаті проведених розрахунків виявлено, що ризик виникнення ГКС в осіб з ІМТ ≥ 25 кг/м², носіїв мінорного алеля A/G + G/G, майже у 2,9 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем A/A (табл. 3.2.11).

Таблиця 3.2.11 – Аналіз ризику ГКС залежно від генотипу за A69314G поліморфізмом гена *TNAP* в осіб із нормальним і підвищеним ІМТ

Показник	Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
ІМТ < 25 кг/м ²	A/G +G/G	0,110	0,667	0,027	0,869	1,116	0,302	4,128
ІМТ \geq 25 кг/м ²	A/G +G/G	1,051	0,391	7,210	0,007	2,861	1,328	6,162

Примітка. Див. табл. 3.2.2

Як у хворих із ГКС, так і в контролі, не було залежності між досліджуваним SNP і рівнем ІМТ (табл. 3.2.12). У контрольній групі осіб з ІМТ < 25 кг/м² з A/A генотипом було 78,1 %, а з A/G + G/G генотипом – 21,9 %. Співвідношення поліморфних варіантів у здорових індивідуумів з ІМТ ≥ 25 кг/м² дорівнювало 85,9 і 14,1 % відповідно. Таким чином, у осіб контрольної групи не виявлено достовірного зв'язку між розподілом алельних варіантів за A69314G поліморфізмом гена *TNAP* і величиною ІМТ ($\chi^2 = 1,002$; P = 0,317). Частота алельних варіантів (A/A і A/G + G/G) у пацієнтів із ГКС з ІМТ < 25 кг/м² дорівнювала 76,2 і 23,8 %, а з ІМТ ≥ 25 кг/м² – 68,0 і 32,0 % відповідно. Отже, серед хворих із ГКС також не виявлено достовірного зв'язку

між А69314G поліморфними варіантами гена *TNAP* і величиною ІМТ ($\chi^2 = 0,541$; $P = 0,462$).

Таблиця 3.2.12 – Вплив поліморфних А69314G варіантів гена *TNAP* на ІМТ в осіб контрольної групи та у хворих із ГКС

Групи пацієнтів	Генотип		ІМТ < 25 кг/м ²	ІМТ ≥ 25 кг/м ²
Контрольна група	А/А	n	25	67
			78,1 %	85,9 %
	А/Г + Г/Г	n	7	11
			21,9 %	14,1 %
	Разом	n	32	78
			100 %	100 %
$\chi^2 = 1,002$; $P = 0,317$				
Хворі з ГКС	А/А	n	16	66
			76,2 %	68,0 %
	А/Г+Г/Г	n	5	31
			23,8 %	32,0 %
	Разом	n	21	97
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,541$; $P = 0,462$				

Примітка. Див. табл. 3.2.3

При розподілі пацієнтів з різними варіантами генотипів (А/А і А/Г + Г/Г) отримано такі результати (табл. 3.2.13). Серед гомозигот за основним алелем співвідношення осіб з ІМТ < 25 кг/м² та ІМТ ≥ 25 кг/м² в контролі становило 27,2 і 72,8 %, а у хворих із ГКС – 19,5 і 80,5 % відповідно. Таким чином, у осіб з генотипом А/А не існує достовірного зв'язку між величиною ІМТ і ризиком виникнення ГКС ($\chi^2 = 1,413$; $P = 0,235$). У носіїв мінорного алеля А/Г + Г/Г було одержано дещо інші дані. Так, осіб із цим генотипом у контролі з ІМТ < 25 кг/м² було 38,9 %, а з ІМТ ≥ 25 кг/м² – 61,1 %.

Пацієнтів з генотипом A/G + G/G, хворих із ГКС, з різними величинами ІМТ було відповідно 13,9 і 86,1 %. Отже, в осіб з A/G + G/G генотипом виявлено достовірний зв'язок між ІМТ і розвитком ГКС: у пацієнтів з ІМТ ≥ 25 кг/м², ГКС розвивається достовірно частіше ($\chi^2 = 4,339$; P = 0,037).

Таблиця 3.2.13 – Частота осіб із нормальним і підвищеним ІМТ у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за A69314G поліморфізмом гена TNAP

Генотип	ІМТ		Контроль	ГКС
A/A	ІМТ < 25 кг/м ²	n	25	16
			27,2 %	19,5 %
	ІМТ ≥ 25 кг/м ²	n	67	66
			72,8 %	80,5 %
	Разом	n	92	82
			100 %	100 %
$\chi^2 = 1,413$; P = 0,235				
A/G + G/G	ІМТ < 25 кг/м ²	n	7	5
			38,9 %	13,9 %
	ІМТ ≥ 25 кг/м ²	n	11	31
			61,1 %	86,1 %
	Разом	n	18	36
			100 %	100 %
$\chi^2 = 4,339$; P = 0,037				

Примітка. Див. табл. 3.2.3

Аналіз за показниками артеріального тиску. Частоту алельних варіантів гена TNAP за поліморфізмом A69314G у хворих із ГКС з нормальною величиною артеріального тиску та артеріальною гіпертензією подано в табл. 3.2.14. З одержаних результатів бачимо, що у хворих із ГКС, які мали нормальні значення артеріального тиску, співвідношення генотипів A/A і A/G + G/G становило 73,9 і 26,1 %, а пацієнтів з АГ – 66,7 і 33,3 % відповідно.

Отже, не існує достовірної різниці у розподілі алельних варіантів за вивченим поліморфізмом у хворих із ГКС з артеріальною гіпертензією та пацієнтів з нормальними показниками артеріального тиску ($\chi^2 = 0,695$; $P = 0,404$).

Таблиця 3.2.14 – Частота генотипів за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* у хворих із ГКС з нормальним тиском та артеріальною гіпертензією

Генотип		Артеріальна гіпертензія (-)	Артеріальна гіпертензія (+)
А/А	n	34	48
		73,9 %	66,7 %
А/Г + Г/Г	n	12	24
		26,1 %	33,3 %
Разом	n	46	72
		100 %	100 %
$\chi^2 = 0,695$; $P = 0,404$			

Примітка: див. табл. 3.2.3

У таблиці 3.2.15 наведено показники АТ сист., АТ діаст., АТ пул. та АТ сер. у осіб контрольної групи і хворих із ГКС залежно від варіантів генотипу за А69314G поліморфізмом гена *TNAP*. Аналізуючи одержані дані, можна зробити висновок, що у практично здорових осіб з різними варіантами генотипів (А/А і А/Г + Г/Г) не існує достовірної різниці в показниках АТ сист. ($P = 0,490$), АТ діаст. ($P = 0,467$), АТ пул. ($P = 0,436$) і АТ сер. ($P = 0,436$). У пацієнтів із ГКС значення АТ сист. ($P = 0,774$), АТ діаст. ($P = 0,641$), АТ пул. ($P = 0,962$) і АТ сер. ($P = 0,690$) також достовірно не відрізнялися незалежно від генотипів за досліджуваним поліморфізмом.

Інші результати одержані, коли аналіз проводився між групами порівняння. У носіїв всіх генотипів різні види артеріального тиску були достовірно вищими у хворих із ГКС. Так, у гомозигот за основним алелем А/А хворих із ГКС АТ сист. дорівнював ($140,5 \pm 2,0$) проти ($124,3 \pm 1,1$) мм рт. ст.

у контролі ($P < 0,001$); АТ діаст. ($89,2 \pm 1,1$) мм рт. ст. проти ($80,0 \pm 0,8$) мм рт. ст.; АТ пул. ($51,3 \pm 1,3$) мм рт. ст. проти ($44,3 \pm 0,8$) мм рт. ст. ($P < 0,001$); АТ сер. ($106,3 \pm 1,4$) мм рт. ст. проти ($94,8 \pm 0,8$) мм рт. ст. відповідно ($P < 0,001$).

Таблиця 3.2.15 – Показники артеріального тиску (АТ) у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* ($M \pm m$)

Показники		A/A	A/G + G/G	F	P ₁
АТ сист.	Контроль	124,3 ± 1,1 (92)	126,1 ± 2,2 (18)	0,944	0,490
	ГКС	140,5 ± 2,0 (82)	141,5 ± 2,9 (36)	1,107	0,774
	P ₂	< 0,001	0,001		
АТ діаст.	Контроль	80,0 ± 0,8	81,4 ± 1,8	0,109	0,467
	ГКС	89,2 ± 1,1	90,1 ± 1,6	0,091	0,641
	P ₂	< 0,001	0,002		
АТ пул.	Контроль	44,3 ± 0,8	44,7 ± 2,1	0,517	0,436
	ГКС	51,3 ± 1,3	51,4 ± 1,7	0,878	0,962
	P ₂	< 0,001	0,022		
АТ сер.	Контроль	94,8 ± 0,8	96,3 ± 1,7	0,517	0,436
	ГКС	106,3 ± 1,4	107,3 ± 1,9	0,627	0,690
	P ₂	< 0,001	0,001		

Примітка. Див. табл. 3.2.9

У носіїв мінорного алеля A/G + G/G за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* спостерігалися подібні результати: АТ сист. у хворих із ГКС становив ($141,5 \pm 2,9$) мм рт. ст., тоді як у контролі – ($126,1 \pm 2,2$) мм рт. ст. ($P = 0,001$). Величина АТ діаст. у групах порівняння дорівнювала ($90,1 \pm 1,6$) і ($81,4 \pm 1,8$) мм рт. ст. відповідно ($P = 0,002$). У здорових осіб і хворих із ГКС показники АТ пул. становили ($51,4 \pm 1,7$) і ($44,7 \pm 2,1$) мм рт. ст. ($P = 0,022$), а

величина АТ сер. – $(107,3 \pm 1,9)$ мм рт. ст. проти $(96,3 \pm 1,7)$ мм рт. ст. відповідно ($P = 0,001$).

Аналіз за фактом паління. Частоту генотипів за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* у хворих із ГКС тих, які палять, і тих, які не палять, подано в табл. 3.2.16. Із наведених результатів випливає, що серед хворих із ГКС тих, які не палять, з А/А генотипом було 73,4 %, а з А/Г + Г/Г генотипом – 26,6 %. Частота генотипів (А/А і А/Г + Г/Г) у хворих із ГКС курців становила 64,8 і 35,2 % відповідно. Таким чином, не існує достовірної різниці у співвідношенні генотипів за досліджуваним поліморфізмом серед хворих із ГКС курців і тих, які не палять ($\chi^2 = 1,027$; $P = 0,311$).

Таблиця 3.2.16 – Частота генотипів за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* у хворих із ГКС курців і тих, які не палять

Генотип		Не палять	Палять
А/А	п	47	35
		73,4 %	64,8 %
А/Г + Г/Г	п	17	19
		26,6 %	35,2 %
Разом	п	64	54
		100 %	100 %
$\chi^2 = 1,027$; $P = 0,311$			

Примітка. Див. табл. 3.2.2.

Розподіл генотипів за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* у курців і тих, які не палять, подано в табл. 3.2.17. Серед тих, які не палять, – осіб контрольної групи з А/А генотипом – 82,7 %, а з А/Г + Г/Г генотипом – 17,3 %, серед хворих із ГКС – 73,4 і 26,6 % відповідно. Таким чином, в осіб, які не палять, не виявлено достовірного зв'язку між А69314G поліморфізмом і розвитком ГКС ($\chi^2 = 1,831$; $P = 0,176$). Серед курців практично здорових осіб – гомозигот за основним алелем А/А – виявлено 86,2 %, а з генотипом А/Г+ Г/Г – 13,8 %.

У хворих із ГКС співвідношення поліморфних варіантів становило 64,8 і 35,2 % відповідно. Отже, у курців було виявлено достовірний зв'язок між досліджуваним поліморфізмом і розвитком ГКС ($\chi^2 = 4,310$; $P = 0,038$).

Таблиця 3.2.17 – Зв'язок A69314G поліморфізму гена TNAP із розвитком ГКС у курців і тих, які не палять

	Генотип		Контроль	ГКС
Ті, які не палять	A/A	n	67	47
			82,7 %	73,4 %
	A/G + G/G	n	14	17
			17,3 %	26,6 %
	Разом	n	81	64
			100 %	100 %
$\chi^2 = 1,831$; $P = 0,176$				
Курці	A/A	n	25	35
			86,2 %	64,8 %
	A/G + G/G	n	4	19
			13,8 %	35,2 %
	Разом	n	29	54
			100 %	100 %
$\chi^2 = 4,310$; $P = 0,038$				

Примітка. Див. табл. 3.2.3

Застосування методу логістичної регресії дало можливість підтвердити цей висновок (табл. 3.2.18).

Таблиця 3.2.18 – Аналіз ризику ГКС залежно від генотипу за A69314G поліморфізмом гена TNAP в осіб, які палять і не палять

Показник	Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
Не палять	A/G +G/G	0,549	0,408	1,809	0,179	1,731	0,778	3,851
Палять	A/G +G/G	1,222	0,609	4,021	0,045	3,393	1,026	11,199

Примітка. Див. табл. 3.2.2

У результаті проведених розрахунків було встановлено, що ризик виникнення ГКС у курців – носіїв мінорного алеля (A/G + G/G) – майже у 3,4 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем A/A.

Не відрізнялася частота генотипів за A69314G поліморфізмом гена *TNAP* у курців і тих, які не палять, у кожній з груп порівняння: у контролі та у хворих із ГКС (табл. 3.2.19).

Таблиця 3.2.19 – Частота генотипів за A69314G поліморфізмом гена *TNAP* у курців і тих, які не палять, у контрольній групі та у хворих із ГКС

Групи пацієнтів	Генотип		Паління (-)	Паління (+)
Контрольна група	A/A	n	67	25
			82,7 %	86,2 %
	A/G + G/G	n	14	4
			17,3 %	13,8 %
	Разом	n	81	29
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,190; P = 0,663$				
Хворі із ГКС	A/A	n	47	35
			73,4 %	64,8 %
	A/G + G/G	n	17	19
			26,6 %	35,2 %
	Разом	n	64	54
			100 %	100 %
$\chi^2 = 1,027; P = 0,311$				

Примітка. Див. табл. 3.2.3

У контрольній групі осіб, які не палять, з генотипом A/A було 82,7 %, з генотипом A/G + G/G – 17,3 %; а тих, які палять, з різними варіантами генотипів (A/A і A/G + G/G) – 86,2 і 13,8 % відповідно. Одержані дані свідчать про відсутність статистично значущих відмінностей у розподілі алельних

варіантів поліморфізму A69314G між особами, які палять, і особами, які не палять у контрольній групі ($\chi^2 = 0,190$; $P = 0,663$). Серед хворих із ГКС – тих, які не палять – з генотипом A/A було 73,4 %, з генотипом A/G + G/G – 26,6 %; а курців – 64,8 і 35,2 % відповідно. Одержані результати свідчать про відсутність статистично значущих відмінностей у розподілі генотипів між курцями і тими, які не палять, у групі хворих із ГКС ($\chi^2 = 1,027$; $P = 0,311$).

Але встановлено відмінність у підгрупах пацієнтів, утворених за окремими алельними варіантами SNP (табл. 3.2.20).

Таблиця 3.2.20 – Частота осіб, які палять і не палять, у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за A69314G поліморфізмом гена TNAP

Генотип			Контроль	ГКС
A/A	Паління (-)	n	67	47
			72,8 %	57,3 %
	Паління (+)	n	25	35
			27,2 %	42,7 %
	Разом	n	92	82
			100 %	100 %
$\chi^2 = 4,616$; $P = 0,032$				
A/G + G/G	Паління (-)	n	14	17
			77,8 %	47,2 %
	Паління (+)	n	4	19
			22,2 %	52,8 %
	Разом	n	18	36
			100 %	100 %
$\chi^2 = 4,582$; $P = 0,032$				

Примітка. Див. табл. 3.2.3

Серед гомозигот за основним алелем A/A співвідношення осіб, які не палять, і тих, які палять, у контрольній групі становило 72,8 і 27,2 % і

достовірно відрізнялось від групи хворих із ГКС – 57,3 і 42,7 % відповідно ($\chi^2 = 4,616$; $P = 0,032$). У носіїв мінорного алеля у контролі виявлено 77,8 % тих, які не палять, і 22,2 % курців, що достовірно відрізнялось від групи хворих із ГКС, у якій тих, які не палять, було 47,2 %, а курців – 52,8 % ($\chi^2 = 4,582$; $P = 0,032$). Таким чином, незалежно від генотипу існує достовірний зв'язок між палінням і розвитком ГКС: у тих, які палять, ГКС виникає достовірно частіше.

Аналіз за наявності ожиріння. Під час аналізу впливу поліморфних варіантів гена *TNAP* на розвиток ГКС у пацієнтів з ожирінням і без ожиріння не було виявлено зв'язку між А69314G поліморфізмом гена *TNAP* і ожирінням у хворих із ГКС (табл. 3.2.21). Серед пацієнтів із ГКС, які мають ожиріння, гомозигот за основним алелем (А/А) було 65,0 %, а носіїв мінорного алеля (А/Г + Г/Г) – 35,0 %, а серед хворих із ГКС без ожиріння – 71,8 і 28,2 % відповідно. Таким чином, відмінності у розподілі різних варіантів генотипу між хворими із ГКС з ожирінням і без ожиріння не виходили за межі статистичної значущості ($\chi^2 = 0,576$; $P = 0,448$).

Таблиця 3.2.21 – Вплив поліморфних А69314G варіантів гена *TNAP* на ожиріння у хворих на ГКС

Генотип		Ожиріння (+)	Ожиріння (–)
А/А	<i>n</i>	26	56
		65,0%	71,8%
А/Г+Г/Г	<i>n</i>	14	22
		35,0%	28,2%
Разом	<i>n</i>	40	78
		100%	100%
$\chi^2 = 0,576$; $P = 0,448$			

Примітка. Див. табл. 3.2.3

Під час аналізу впливу алельних варіантів за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* на ІМТ залежно від ступеня ожиріння у хворих із ГКС достовірно статистичної значущості виявлено не було ($\chi^2 = 2,467$, $P = 0,481$) (табл. 3.2.22).

Таблиця 3.2.22 – Вплив поліморфних А69314G варіантів гена *TNAP* на ІМТ залежно від ступеня ожиріння у хворих із ГКС

Генотип		Нема	I ст., ІМТ = 25–30	II ст., ІМТ = 30–40	III ст., ІМТ ≥ 40
A/A	n	16	40	23	3
		76,2 %	70,2 %	62,2 %	100 %
A/G + G/G	n	5	17	14	0
		23,8 %	29,8 %	37,8 %	0 %
Разом	n	21	57	37	3
		100 %	100 %	100 %	100 %
$\chi^2 = 2,712; P = 0,438$					

Примітка. Див. табл. 3.2.3.

Аналіз за показниками вмісту ліпідів у плазмі крові. У таблиці 3.2.23 наведено дані про індекс атерогенності (ІА), вміст загального холестеролу (ХС), холестеролу у складі ліпопротеїнів різної густини (ХС-ЛПНЩ, ХС-ЛПДНЩ і ХС-ЛПВЩ), тригліцеридів у плазмі крові хворих із ГКС з різними варіантами генотипів (A/A і A/G + G/G).

Таблиця 3.2.23 – Вміст ліпідів плазми крові у хворих із ГКС залежно від варіантів генотипу за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* (M ± m)

Показники	A/A (n = 82)	A/G + G/G (n = 36)	F	P
Загальний ХС	6,52 ± 0,14	6,05 ± 0,24	3,662	0,137
ХС-ЛПНЩ	4,68 ± 0,15	4,22 ± 0,31	3,290	0,136
ХС-ЛПДНЩ	0,80 ± 0,04	0,82 ± 0,07	0,347	0,739
ХС-ЛПВЩ	1,04 ± 0,03	1,05 ± 0,04	0,502	0,859
Тригліцериди	1,75 ± 0,93	1,81 ± 0,15	0,347	0,739
Індекс атерогенності	5,78 ± 0,30	5,27 ± 0,46	0,050	0,351

Примітка. Усі показники, крім індексу атерогенності, ммоль/л; n – кількість пацієнтів

Одержані результати свідчать про те, що у пацієнтів з різними А69314G поліморфними варіантами гена *TNAP* не виявлено достовірної різниці у показниках загального ХС ($P = 0,137$), ХС-ЛПНЩ ($P = 0,136$), ХС-ЛПДНЩ ($P = 0,739$), ХС-ЛПВЩ ($P = 0,859$), тригліцеридів ($P = 0,739$), а також у величині індексу атерогенності ($P = 0,351$).

При поділ пацієнтів на дві підгрупи залежно від величини ІА (≤ 3 і > 3) було оцінено вплив генотипу за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* на розвиток ДАХ у хворих із ГКС (табл. 3.2.24).

Таблиця 3.2.24 – Частота генотипів за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* у хворих із ГКС із різними величинами індексу атерогенності

Генотип		$IA \leq 3$	$IA > 3$
А/А	n	12	70
		60,0 %	71,4 %
А/Г + Г/Г	n	8	28
		40,0 %	28,6 %
Разом	n	20	98
		100 %	100 %
$\chi^2 = 1,023; P = 0,312$			

Примітка. Див. табл. 3.2.3

Серед хворих із ГКС – тих, які мали $IA \leq 3$, – виявлено 60,0 % осіб з А/А генотипом, та 40,0 % з А/Г + Г/Г генотипом. Розподіл алельних варіантів у хворих із ГКС, які мали $IA > 3$, становив 71,4 і 28,6 % відповідно. Отже, проведений аналіз не виявив статистично значущої асоціації даного варіанта SNP із розвитком ДАХ у хворих із ГКС ($\chi^2 = 1,023; P = 0,312$).

Аналіз за показниками коагуляції крові. Як впливає із табл. 3.2.25, середня величина жодного з показників коагуляції крові не залежала від А69314G поліморфізму гена *TNAP*. Отже, достовірної відмінності між значеннями ПТЧ ($P = 0,898$), ТЧ ($P = 0,902$), фібриногену ($P = 0,590$) і

фібринолітичної активності ($P = 0,124$) у гомозигот за основним алелем (A/A) і носіїв мінорного алеля (A/G + G/G) виявлено не було.

Таблиця 3.2.25 – Деякі показники коагуляції крові у хворих із ГКС залежно від варіантів генотипу за A69314G поліморфізмом гена TNAP (M ± m)

Показники	A/A (n = 82)	A/G + G/G (n = 36)	F	P
Протромбіновий час, с	10,61 ± 0,19	10,65 ± 0,27	1,576	0,898
Тромбіновий час, с	17,83 ± 0,46	17,72 ± 0,91	0,932	0,902
Фібриноген, г/л	3,63 ± 0,14	3,76 ± 0,18	2,004	0,590
Фібринолітична активність, с	477,32 ± 4,21	465,56 ± 6,27	0,182	0,124

Примітка: n – кількість пацієнтів

Поділ хворих із ГКС на дві підгрупи за наявності і відсутності функціональних і біохімічних ознак ГКК не виявив жодного впливу досліджуваного поліморфізму гена TNAP на ризик розвитку гіперкоагуляційного синдрому (табл. 3.2.26).

Таблиця 3.2.26 – Зв'язок A69314G поліморфізму гена TNAP із гіперкоагуляцією крові (ГКК) у хворих із ГКС

		ГКК (-)	ГКК (+)
A/A	n	66	16
		68,8 %	72,7 %
A/G + G/G	n	30	6
		31,2 %	27,3 %
Разом	n	96	22
		100 %	100 %
$\chi^2 = 0,134; P = 0,715$			

Примітка. Див. табл. 3.2.3.

Серед хворих із ГКС, у яких були відсутні ознаки ГКК, гомозигот за основним алелем A/A було 68,8 %, а носіїв мінорного алеля A/G + G/G –

31,2 %. Розподіл різних генотипів серед пацієнтів із ГКС з ознаками ГКС становив 72,7 і 27,3 %. Отже, не виявлено асоціації A69314G поліморфізму із синдромом гіперкоагуляції крові у хворих із ГКС ($\chi^2 = 0,134$; $P = 0,715$).

Аналіз за наявності цукрового діабету. Визначення концентрації глюкози натще як у осіб контрольної групи ($P = 0,916$), так і у хворих із ГКС ($P = 0,163$), показало, що величина цього показника не відрізняється у гомозигот з A/A генотипом і носіїв мінорного алеля A/G + G/G (табл. 3.3.27).

Таблиця 3.2.27 – Показники глюкози крові в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за A69314G поліморфізмом гена TNAP (M ± m)

Показники		A/A	A/G + G/G	F	P
Глюкоза крові, ммоль/л	Контроль	5,3 ± 0,08 (n = 92)	5,2 ± 0,17 (n = 18)	0,007	0,916
	ГКС	8,1 ± 0,32 (n = 82)	7,4 ± 0,28 (n = 36)	4,634	0,163
	P ₂	< 0,001	< 0,001		

Примітка. Див. табл. 3.2.7

Інші результати одержано, коли аналіз проводився між групами порівняння. Хворі із ГКС незалежно від генотипу мали достовірно вищий показник концентрації глюкози крові: носії A/A генотипу – (8,1 ± 0,32) ммоль/л проти (5,3 ± 0,08) ммоль/л у осіб контрольної групи ($P < 0,001$), носії мінорного алеля (A/G + G/G) – (7,4 ± 0,28) ммоль/л проти (5,2 ± 0,17) ммоль/л у практично здорових індивідуумів ($P < 0,001$).

У пацієнтів із ГКС не виявлено залежності між генотипом за A69314G поліморфізмом гена TNAP і розвитком цукрового діабету (табл. 3.2.28). Серед хворих із ГКС, які не страждали на цукровий діабет, – осіб із A/A генотипом – 67,0 %, а з A/G + G/G генотипом – 33,0 %. Розподіл алельних варіантів досліджуваного гена серед хворих із ГКС, що страждали на ЦД, становив 76,7 і 23,3 % відповідно. Отже, у хворих із ГКС не виявлено

достовірного зв'язку між поліморфними А69314G варіантами гена *TNAP* і розвитком цукрового діабету ($\chi^2 = 0,977$; $P = 0,323$).

Таблиця 3.2.28 – Зв'язок А69314G поліморфізму гена *TNAP* із цукровим діабетом (ЦД) у хворих із ГКС

		ЦД (-)	ЦД (+)
A/A	n	59	23
		67,0 %	76,7 %
A/G + G/G	n	29	7
		33,0 %	23,3 %
Разом	n	88	30
		100 %	100 %
$\chi^2 = 0,977$; $P = 0,323$			

Примітка. Див. табл. 3.2.3.

Вплив SNP на основні характеристики ГКС

Розподіл різних алельних варіантів А69314G поліморфізму гена *TNAP* у хворих із ГКС з ангінозною та іншими формами клінічних проявів наведений на рис. 3.2.2.

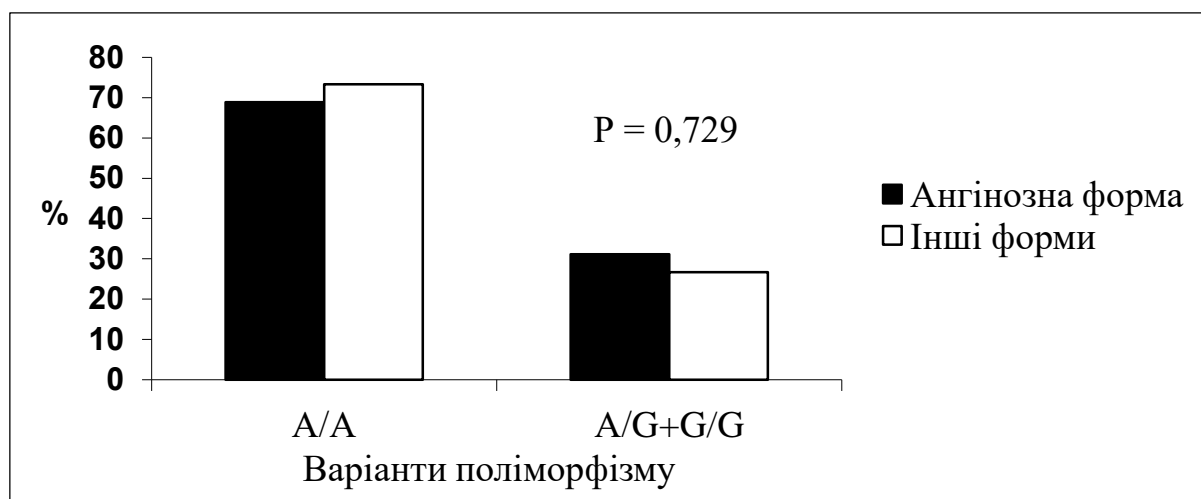


Рисунок 3.2.2 – Частота алельних варіантів гена *TNAP* за поліморфізмом А69314G у хворих із ГКС з ангінозною формою (чорні стовпчики) та іншими формами (білі стовпчики). P – статистична значущість відмінності показників за χ^2 -критерієм Пірсона

Серед пацієнтів з ангінозною формою ГКС співвідношення генотипів А/А і А/Г + Г/Г становило 68,9 та 31,1 %, а серед осіб з іншими формами ГКС – 73,3 та 26,7 % відповідно. Статистично достовірної різниці у розподілі алельних варіантів у досліджуваних групах не виявлено ($\chi^2 = 0,120$; $P = 0,729$).

Під час детального аналізу впливу А69314G поліморфізму на варіанти клінічного перебігу у хворих із ГКС (ангінозний, астматичний, абдомінальний, аритмічний та безбольовий) статистичної значущості виявлено не було ($\chi^2 = 3,264$; $P = 0,515$) (табл. 3.2.28).

Таблиця 3.2.28 – Вплив поліморфних А69314G варіантів гена *TNAP* на варіанти клінічного перебігу у хворих із ГКС

Генотип		Варіанти клінічного перебігу				
		Ангінозний	Астматичний	Абдомінальний	Аритмічний	Безбольовий
А/А	n	71	4	1	4	2
		68,9 %	80,0 %	33,3 %	80,0 %	100,0 %
А/Г + Г/Г	n	32	1	2	1	0
		31,1 %	20,0 %	66,7 %	20,0 %	0 %
Разом	n	103	5	3	5	2
		100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
$\chi^2 = 3,264$; $P = 0,515$						

Примітка. Див. табл. 3.2.3.

Щодо аналізу за клінічними проявами гострого коронарного синдрому, то розподіл алельних варіантів за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* у групах пацієнтів статистично достовірно не відрізняється ($\chi^2 = 4,015$; $P = 0,134$) (рис. 3.2.3). Співвідношення алельних варіантів гена *TNAP* за поліморфізмом А69314G (А/А і А/Г + Г/Г) у пацієнтів із нестабільною стенокардією становило 53,8 і 46,2 %, у хворих з не-Q-інфарктом міокарда відповідні показники дорівнювали 71,4 і 28,6 %, а з Q- та QS-інфарктами – 75,4 і 24,6 %.

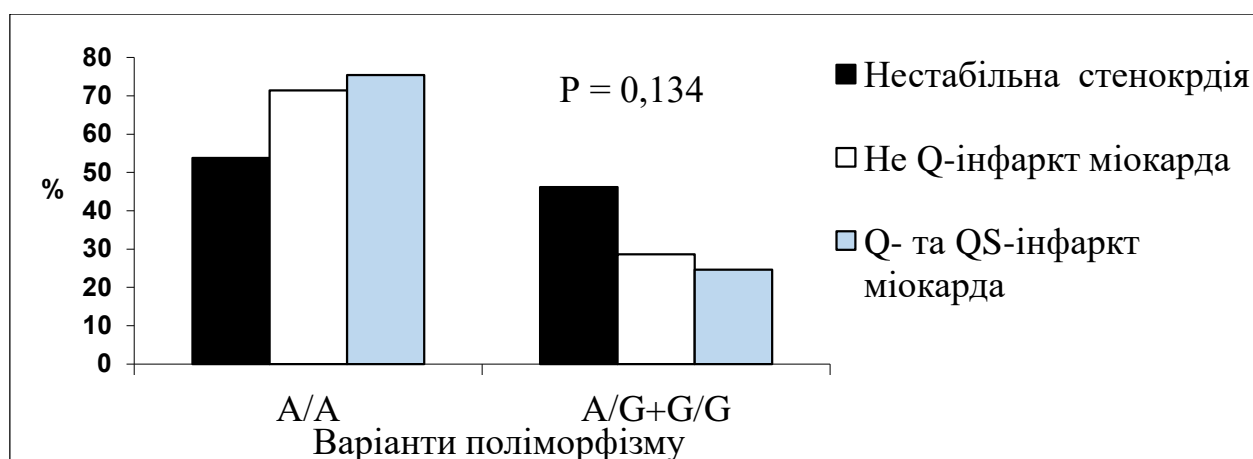


Рисунок 3.2.3 – Частота алельних варіантів гена *TNAP* за поліморфізмом A69314G у хворих із нестабільною стенокардією (чорні стовпчики), не- Q- інфарктом міокарда (білі стовпчики), Q- та QS-інфарктами міокарда (сині стовпчики). P – статистична значущість відмінності показників за χ^2 - критерієм Пірсона

І нарешті, ми дослідили асоціацію між генотипом хворих за даним SNP і розвитком ускладнень (табл. 3.2.30). Співвідношення гомозигот за основним алелем і носіїв мінорного алеля (A/A і A/G + G/G) у групах пацієнтів, із ГКС без ускладнень, було 68,1 і 31,9 %, а тих, що мали ускладнення – 75,0; 25,0 % відповідно і достовірно не відрізнялося ($\chi^2 = 0,431$; P = 0,511).

Таблиця 3.2.30 – Частота генотипів за A69314G поліморфізмом гена *TNAP* у хворих із ГКС з ускладненнями і без ускладнень

Генотип		Ускладнення (-)	Ускладнення (+)
A/A	n	64	18
		68,1 %	75,0 %
A/G + G/G	n	30	6
		31,9 %	25,0 %
Разом	n	94	24
		100 %	100 %
$\chi^2 = 0,431$; P = 0,511			

Примітка. Див. табл. 3.2.3.

Аналіз впливу A69314G поліморфних варіантів гена *TNAP* на різні ускладнення у хворих із ГКС (аритмії, серцева недостатність, тромбоемболії,

розриви серця та його частин, кровотечі) свідчить, що у хворих із ГКС з різними клінічними варіантами ускладнень не було виявлено достовірної відмінності у розподілі генотипів A/A і A/G + G/G за досліджуваним поліморфізмом ($\chi^2 = 5,027$; P = 0,413) (табл. 3.2.31).

Таблиця 3.2.31 – Вплив поліморфних A69314G варіантів гена TNAP на ускладнення у хворих із ГКС

Ускладнення							
Генотип		Немає	Аритмії	Серцева недостатність, в т.ч. шок	Тромбоемболії	Розрив серця та його частин	Кровотечі
A/A	n	64	4	11	1	2	0
		68,1%	66,7%	84,6%	50,0%	100%	0%
A/G + G/G	n	30	2	2	1	0	1
		31,9%	33,3%	15,4%	50,0%	0%	100%
Разом	n	94	6	13	2	2	1
		100%	100%	100%	100%	100%	100%
$\chi^2 = 5,027$; P = 0,413							

Примітка. Див. табл. 3.2.3.

Таким чином, встановлено, що поліморфізм A69314G гена TNAP асоційований із розвитком ГКС: ризик виникнення ГКС у носіїв мінорного алеля A/G + G/G у 2,24 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем A/A. Встановлено, що вплив A69314G поліморфізму на розвиток ГКС має статеві особливості: особи чоловічої статі, які є носіями мінорного алеля, у 2,19 раза частіше хворіють на ГКС, ніж особи з A/A генотипом. Серед вивчених факторів ризику доведений вплив ІМТ та паління на розвиток ГКС у пацієнтів з різними A69314G поліморфними варіантами гена TNAP. В осіб з ІМТ ≥ 25 кг/м², які є носіями мінорного алеля, ризик виникнення ГКС майже у 2,9 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем. Курці з генотипом A/G + G/G мають майже у 3,4 раза вищий ризик розвитку ГКС, ніж пацієнти з A/A генотипом.

3.3. Асоціація T134967G поліморфізму гена *ANKH* з виникненням гострого коронарного синдрому

Важливим джерелом неорганічного пірофосфату (PPi) у позаклітинному середовищі є внутрішньоклітинна рідина. Надходження PPi у позаклітинний простір забезпечується регулятором транспорту PPi білком ANKH. Однонуклеотидний поліморфізм T134967G у 8-му інтроні гена *ANKH*, який призводить до заміни тиміну на гуанін, доведено асоційований з розвитком цілої низки патологічних станів і хвороб.

Частоту генотипів і алелів за T134967G поліморфізмом гена *ANKH*, а також перевірку відповідності розподілу основного (T) і мінорного (G) алелів рівновазі Харді – Вайнберга подано у таблиці 3.3.1.

Таблиця 3.3.1 – Частота алельних варіантів і алелів за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* у контрольній групі та у хворих із ГКС

	<i>Контрольна група</i>	<i>Хворі з ГКС</i>
Гомозиготи T/T, n (%)	74 (67,3)	62 (52,5)
Гетерозиготи T/G, n (%)	32 (29,1)	50 (42,4)
Гомозиготи G/G, n (%)	4 (3,6)	6 (5,1)
T-алель	0,82	0,74
G-алель	0,18	0,26
χ^2	0,05	1,04
P	> 0,05	> 0,05

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

Із наведених даних можна побачити, що розподіл T- і G-алелів у контролі та у групі хворих із ГКС не має статистично достовірних

відмінностей від очікуваних за генетично-популяційним законом величин ($P > 0,05$).

У таблиці 3.3.2 подано результати аналізу частот окремих генотипів за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* у практично здорових осіб і у хворих із ГКС. У пацієнтів контрольної групи співвідношення гомозигот за основним алелем T/T, гетерозигот T/G і гомозигот за мінорним алелем G/G становило 67,3; 29,1 і 3,6 %. У хворих із ГКС відповідні показники дорівнювали 52,5; 42,4 і 5,1 %. Отже, не було виявлено достовірної різниці у розподілі різних варіантів генотипів між хворими із ГКС і особами контрольної групи ($\chi^2 = 5,136$; $P = 0,077$).

Таблиця 3.3.2 – В'язок T134967G поліморфізму гена *ANKH* із розвитком ГКС

		<i>Контроль</i>	<i>ГКС</i>
T/T	n	74	62
		67,3 %	52,5 %
T/G	n	32	50
		29,1 %	42,4 %
G/G	n	4	6
		3,6 %	5,1 %
Разом	n	110	118
		100 %	100 %
$\chi^2 = 5,136$; $P = 0,077$			

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

При об'єднанні носіїв мінорного алеля T/G + G/G в одну групу було одержано дещо інші результати (рис. 3.3.1). Співвідношення генотипів (T/T і T/G + G/G) за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* в осіб контрольної групи становило 67,3 і 32,7 %, а серед хворих із ГКС – 52,5 і 47,5 % відповідно

($\chi^2 = 5,132$; $P = 0,023$). Таким чином, виявлено достовірну відмінність у розподілі генотипів серед осіб контрольної групи і хворих із ГКС.

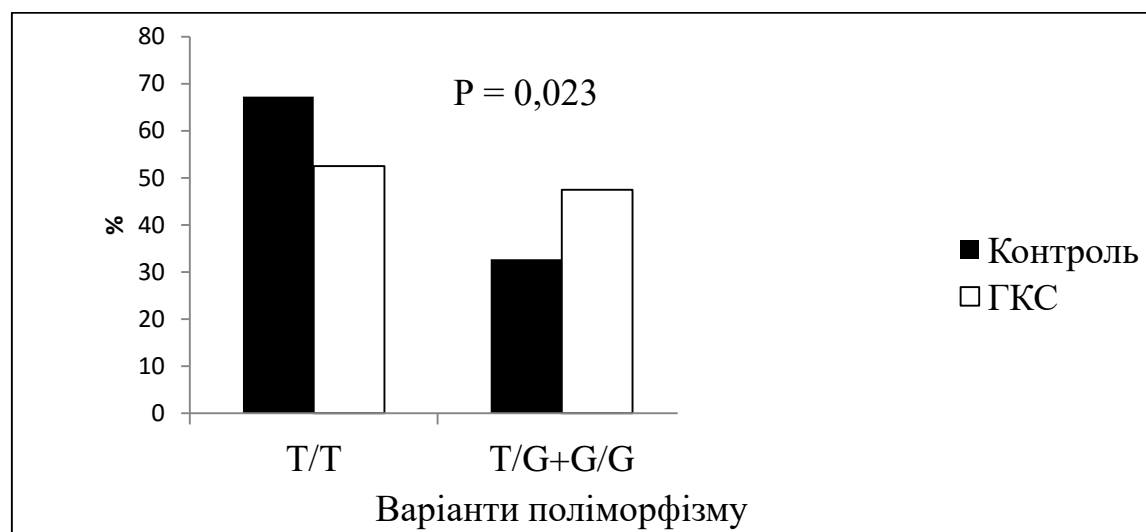


Рисунок 3.3.1 – Частота алельних варіантів гена *ANKH* за поліморфізмом T134967G у хворих із ГКС (білі стовпчики) і в контрольній групі (чорні стовпчики). P – статистична значимість відмінності показників за χ^2 -критерієм Пірсона

Застосування методу логістичної регресії підтвердило цей висновок: ризик виникнення ГКС в осіб – носіїв мінорного алеля T/G + G/G – майже в 1,9 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем T/T (табл. 3.3.3).

Таблиця 3.3.3 – Аналіз ризику ГКС залежно від генотипу за T134967G поліморфізмом гена *ANKH*

Показник	Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
ГКС	T/G +G/G	0,619	0,274	5,086	0,024	1,857	1,084	3,179

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

Аналіз за статтю. Розподіл алельних варіантів гена *ANKH* за поліморфізмом T134967G у хворих із ГКС різної статі наведено в табл. 3.3.4. Із одержаних результатів випливає, що серед хворих із ГКС жінок з T/T генотипом – 57,7 %, а з T/G + G/G генотипом – 42,3 %. Частота генотипів

T/T і T/G + G/G у хворих із ГКС чоловіків становила 51,1 і 48,9 % відповідно. Отже, не існує достовірної різниці у співвідношенні генотипів за досліджуваним поліморфізмом у хворих із ГКС пацієнтів різної статі ($\chi^2 = 0,355$; P = 0,551).

Таблиця 3.3.4 – Частота генотипів за T134967G поліморфізмом гена ANKH у хворих із ГКС жінок та чоловіків

Генотип		Жінки	Чоловіки
T/T	n	15	47
		57,7 %	51,1 %
T/G + G/G	n	11	45
		42,3 %	48,9 %
Разом	n	26	92
		100 %	100 %
$\chi^2 = 0,355$; P = 0,551			

Примітка. Див. табл. 3.3.2

У таблиці 3.3.5 наведено результати розподілу алельних варіантів за T134967G поліморфізмом гена ANKH у групах порівняння в осіб різної статі. Як випливає з наведених даних, у жінок не існує достовірної різниці у розподілі генотипів (T/T і T/G + G/G) досліджуваного поліморфізму серед хворих із ГКС та групи контролю. Так, співвідношення генотипів у практично здорових жінок становило 75,0 і 25,0 %, а серед хворих із ГКС – 57,7 і 42,3 % відповідно ($\chi^2 = 1,951$; P = 0,163). У чоловіків розподіл алельних варіантів T134967G поліморфізму також достовірно не відрізнявся, якщо порівнювати хворих із ГКС та практично здорових індивідуумів. Частота алельних варіантів у осіб чоловічої статі в контролі дорівнювала 64,1 і 35,9 %, а серед хворих із ГКС – 51,1 і 48,9 % відповідно ($\chi^2 = 2,919$; P = 0,088).

Таблиця 3.3.5 – Зв'язок Т134967G поліморфізму гена *ANKK1* із розвитком ГКС у осіб жіночої і чоловічої статей

Стать	Генотип		Контроль	ГКС
Жінки	Т/Т	n	24	15
			75,0 %	57,7 %
	Т/G + G/G	n	8	11
			25,0 %	42,3 %
	Разом	n	32	26
			100 %	100 %
$\chi^2 = 1,951; P = 0,163$				
Чоловіки	Т/Т	n	50	47
			64,1 %	51,1 %
	Т/G + G/G	n	28	45
			35,9 %	48,9 %
	Разом	n	78	92
			100 %	100 %
$\chi^2 = 2,919; P = 0,088$				

Примітка. Див. табл. 3.3.2

У таблиці 3.3.6 наведено результати генотипування за Т134967G поліморфізмом у жінок і чоловіків – окремо у хворих із ГКС і у пацієнтів контрольної групи. У практично здорових осіб жіночої статі співвідношення генотипів Т/Т і Т/G + G/G становило 75,0 і 25,0 %, а у чоловіків – 64,1 і 35,9 % відповідно. Отже, в осіб контрольної групи не виявлено зв'язку між Т134967G поліморфізмом і статтю пацієнтів ($\chi^2 = 1,224; P = 0,269$). Серед хворих із ГКС жінок з генотипом Т/Т було 57,7 %, а з генотипом Т/G + G/G – 42,3 %; чоловіків гомозигот за основним алелем Т/Т – 51,1 %, а носіїв мінорного алеля Т/G + G/G – 48,9 %. Із одержаних даних бачимо, що у хворих із ГКС частота генотипів за Т134967G поліморфізмом гена *ANKK1* в осіб різної статі достовірно не відрізнялася ($\chi^2 = 0,355; P = 0,551$).

Таблиця 3.3.6 – Частота генотипів за T134967G поліморфізмом гена *ANKK1* у жінок і чоловіків у контрольній групі та у хворих із ГКС

Групи пацієнтів	Генотип		Жінки	Чоловіки
Контрольна група	T/T	n	24	50
			75,0 %	64,1 %
	T/G + G/G	n	8	28
			25,0 %	35,9 %
	Разом	n	32	78
			100 %	100 %
$\chi^2 = 1,224; P = 0,269$				
Хворі із ГКС	T/T	n	15	47
			57,7 %	51,1 %
	T/G + G/G	n	11	45
			42,3 %	48,9 %
	Разом	n	26	92
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,355; P = 0,551$				

Примітка. Див. табл. 3.3.2

Також ще один аналіз дозволив зробити висновок, що немає достовірного зв'язку між статтю досліджуваних осіб і розвитком ГКС залежно від варіантів генотипів за T134967G поліморфізмом гена *ANKK1* (табл. 3.3.7). Так, співвідношення осіб жіночої і чоловічої статей серед гомозигот за основним алелем T/T контрольної групи становило 32,4 і 67,6 %, а серед хворих із ГКС – 24,2 і 75,8 % відповідно. Таким чином, у осіб з T/T генотипом не виявлено зв'язку між статтю пацієнтів і розвитком ГКС ($\chi^2 = 1,120; P = 0,290$). Серед носіїв мінорного алеля T/G + G/G практично здорових жінок було 22,2 %, а чоловіків – 77,8 %. Кількість хворих із ГКС осіб жіночої статі дорівнювала 19,6 %, а чоловічої – 80,4 %. Отже, у носіїв мінорного алеля

(T/G + G/G) достовірного зв'язку між статтю досліджуваних індивідуумів і розвитком ГКС також виявлено не було ($\chi^2 = 0,089$; $P = 0,765$).

Таблиця 3.3.7 – Частота осіб жіночої і чоловічої статей у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за T134967G поліморфізмом гена ANKH

Генотип	Стать		Контроль	ГКС
T/T	Жінки	n	24	15
			32,4 %	24,2 %
	Чоловіки	n	50	47
			67,6 %	75,8 %
	Разом	n	74	62
			100 %	100 %
$\chi^2 = 1,120$; $P = 0,290$				
T/G + G/G	Жінки	n	8	11
			22,2 %	19,6 %
	Чоловіки	n	28	45
			77,8 %	80,4 %
	Разом	n	36	56
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,089$; $P = 0,765$				

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

Аналіз за показником індексу маси тіла. Розподіл алельних варіантів гена ANKH за поліморфізмом T134967G у хворих із ГКС з нормальною та підвищеною величинами ІМТ подано в табл. 3.3.8. Частота генотипів (T/T і T/G + G/G) серед хворих із ГКС у осіб з нормальним показником ІМТ ($< 25 \text{ кг/м}^2$) становила 38,1 і 61,9 %, а серед хворих з надмірною вагою ($\text{ІМТ} \geq 25 \text{ кг/м}^2$) – 55,7 і 44,3 % відповідно. Отже, не існує достовірної різниці

у співвідношенні генотипів за досліджуваним поліморфізмом серед хворих із ГКС з різними величинами ІМТ ($\chi^2 = 2,138$; $P = 0,144$).

Таблиця 3.3.8 – Частота генотипів за T134967G поліморфізмом гена ANKH у хворих із ГКС з нормальною та підвищеною величинами ІМТ

Генотип		ІМТ < 25 кг/м ²	ІМТ ≥ 25 кг/м ²
Т/Т	n	8	54
		38,1 %	55,7 %
Т/Г + Г/Г	n	13	43
		61,9 %	44,3 %
Разом	n	21	97
		100 %	100 %
$\chi^2 = 2,138$; $P = 0,144$			

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

У табл. 3.3.9 наведено показники ІМТ у групах порівняння залежно від генотипу пацієнтів за T134967G поліморфізмом гена ANKH. Із одержаних даних бачимо, що немає достовірної різниці у величинах ІМТ у осіб з різними генотипами (Т/Т і Т/Г + Г/Г) як у контрольній групі ($P = 0,729$), так і у хворих із ГКС ($P = 0,471$). При порівнянні величин ІМТ між контрольною групою і хворими із ГКС з різними варіантами генотипів одержано дещо інші результати. Так, у гомозигот за основним алелем Т/Т, хворих із ГКС, показник ІМТ дорівнював ($28,74 \pm 0,52$) кг/м², а у практично здорових осіб з цим генотипом – ($27,27 \pm 0,48$) кг/м². Отже, виявлено, що в осіб з генотипом Т/Т, хворих із ГКС, ІМТ достовірно вищий, ніж у практично здорових індивідуумів ($P = 0,040$). У носіїв мінорного алеля Т/Г + Г/Г достовірної відмінності у показниках ІМТ серед хворих із ГКС і тих, які не мали цієї недуги, виявлено не було. В осіб з генотипом Т/Г + Г/Г, хворих із ГКС, ІМТ дорівнював ($28,15 \pm 0,63$) кг/м², а у контролі – ($26,94 \pm 0,74$) кг/м² ($P = 0,222$).

Таблиця 3.3.9 – Показники індексу маси тіла (ІМТ) у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за T134967G поліморфізмом гена ANKH (M ± m)

Показники		T/T	T/G + G/G	F	P ₁
ІМТ, кг/м ²	Контроль	27,27 ± 0,48 (n = 74)	26,94 ± 0,74 (n = 36)	0,351	0,729
	ГКС	28,74 ± 0,52 (n = 62)	28,15 ± 0,63 (n = 56)	0,931	0,471
	P ₂	0,040	0,222		

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

Поділ кожної з двох груп – дослідної і контрольної – на дві підгрупи залежно від величини ІМТ (< 25 і ≥ 25 кг/м²) дав можливість проаналізувати вплив поліморфних варіантів гена ANKH на розвиток ГКС у осіб з нормальним і підвищеним рівнем цього показника.

Із таблиці 3.3.10 можна бачити, що серед пацієнтів з ІМТ < 25 кг/м² виявлено достовірний зв'язок T134967G поліморфізму гена ANKH і розвитком ГКС. Співвідношення алельних варіантів (T/T і T/G + G/G) у осіб з ІМТ < 25 кг/м² у контрольній групі становило 65,6 і 34,4 %, а серед хворих із ГКС – 38,1 і 61,9 % відповідно. Таким чином, у осіб з нормальною величиною ІМТ носіїв мінорного алеля, ГКС виникає частіше, ніж у гомозигот за основним алелем ($\chi^2 = 3,878$; P = 0,049). Розподіл генотипів за досліджуваним поліморфізмом у осіб з ІМТ ≥ 25 кг/м² у контролі дорівнював 67,9 і 32,1 %, а у хворих із ГКС – 55,7 і 44,3 % відповідно. Отже, у пацієнтів з ІМТ ≥ 25 кг/м² достовірного зв'язку T134967G поліморфізму гена ANKH із розвитком ГКС виявлено не було ($\chi^2 = 2,744$; P = 0,098).

Таблиця 3.3.10 – Зв'язок T134967G поліморфізму гена ANKH із розвитком гострого коронарного синдрому (ГКС) в осіб із нормальним і збільшеним індексом маси тіла

	Генотип		Контроль	ГКС
ІМТ < 25 кг/м ²	T/T	n	21	8
			65,6 %	38,1 %
	T/G + G/G	n	11	13
			34,4 %	61,9 %
	Разом	n	32	21
			100 %	100 %
$\chi^2 = 3,878; P = 0,049$				
ІМТ ≥ 25 кг/м ²	T/T	n	53	54
			67,9 %	55,7 %
	T/G + G/G	n	25	43
			32,1 %	44,3 %
	Разом	n	78	97
			100 %	100 %
$\chi^2 = 2,744; P = 0,098$				

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

Методом логістичної регресії встановлено, що ризик виникнення ГКС у осіб з ІМТ < 25 кг/м², які були носіями мінорного алеля A/G + G/G, у 3,1 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем A/A (табл. 3.3.11).

Таблиця 3.3.11 – Аналіз ризику ГКС залежно від генотипу за T134967G поліморфізмом гена ANKH в осіб із нормальною і підвищеною величинами ІМТ

Показник	Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
ІМТ < 25 кг/м ²	T/G +G/G	1,132	0,583	3,765	0,052	3,102	0,989	9,735
ІМТ ≥ 25 кг/м ²	T/G +G/G	0,542	0,317	2,724	0,099	1,688	0,907	3,144

Примітка. Див. табл. 3.3.3.

У таблиці 3.3.12 наведений розподіл генотипів за T134967G поліморфізмом гена *ANKK1* у групах порівняння.

Таблиця 3.3.12 – Вплив поліморфних T134967G варіантів гена *ANKK1* на індекс маси тіла (ІМТ) у осіб контрольної групи та у хворих із ГКС

Групи пацієнтів	Генотип		ІМТ < 25 кг/м ²	ІМТ ≥ 25 кг/м ²
Контрольна група	Т/Т	n	21	53
			65,6 %	67,9 %
	Т/Г + Г/Г	n	11	25
			34,4 %	32,1 %
	Разом	n	32	78
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,056; P = 0,814$				
Хворі із ГКС	Т/Т	n	8	54
			38,1 %	55,7 %
	Т/Г + Г/Г	n	13	43
			61,9 %	44,3 %
	Разом	n	21	97
			100 %	100 %
$\chi^2 = 2,138; P = 0,144$				

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

Співвідношення алельних варіантів (Т/Т і Т/Г + Г/Г) у групі практично здорових осіб з ІМТ < 25 кг/м² становило 65,6 і 34,4 %, а з ІМТ ≥ 25 кг/м² – 67,9 і 32,1 % відповідно. Отже, розподіл генотипів у осіб контрольної групи з різними величинами ІМТ достовірно не відрізнявся ($\chi^2 = 0,056; P = 0,814$). Частота генотипів серед хворих із ГКС з ІМТ < 25 кг/м² дорівнювала 38,1 і 61,9 %, а серед пацієнтів з ІМТ ≥ 25 кг/м² – 55,7 і 44,3 % відповідно. Таким чином, у хворих із ГКС також не виявлено достовірного зв'язку між

величиною індексу маси тіла та вивченим T134967G поліморфізмом гена *ANKK1* ($\chi^2 = 2,138$; $P = 0,144$).

І нарешті, при розподілі пацієнтів на дві підгрупи – окремо за генотипами T/T і T/G + G/G – було виявлено достовірний зв'язок між величиною ІМТ і розвитком ГКС у групі осіб з T/T генотипом (табл. 3.3.12).

Таблиця 3.3.12 – Частота осіб із нормальним і підвищеним індексами маси тіла (ІМТ) у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за T134967G поліморфізмом гена *ANKK1*

Генотип	ІМТ		Контроль	ГКС
T/T	ІМТ < 25 кг/м ²	n	21	8
			28,4 %	12,9 %
	ІМТ ≥ 25 кг/м ²	n	53	54
			71,6 %	87,1 %
	Разом	n	74	62
			100 %	100 %
$\chi^2 = 4,816$; $P = 0,028$				
T/G + G/G	ІМТ < 25 кг/м ²	n	11	13
			30,6 %	23,2 %
	ІМТ ≥ 25 кг/м ²	n	25	43
			69,4 %	76,8 %
	Разом	n	36	56
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,612$; $P = 0,434$				

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

Так, гомозигот за основним алелем T/T у контрольній групі з ІМТ < 25 кг/м² було 28,4 %, а з ІМТ ≥ 25 кг/м² – 71,6 %. У хворих із ГКС дане співвідношення становило 12,9 і 87,1 % відповідно. Таким чином, гомозиготи за основним алелем T/T з ІМТ ≥ 25 кг/м² більш схильні до розвитку ГКС ($\chi^2 = 4,816$; $P = 0,028$). У носіїв мінорного алеля T/G + G/G достовірного зв'язку

між розвитком ГКС і величиною ІМТ не виявлено. Частота осіб з ІМТ < 25 кг/м² і ІМТ ≥ 25 кг/м² серед осіб з генотипом T/G + G/G у контрольній групі дорівнювала 30,6 і 64,9 %, а у хворих із ГКС – 23,2 і 76,8 % відповідно ($\chi^2 = 0,612$; P = 0,434).

Аналіз за показниками артеріального тиску. Частоту алельних варіантів за T134967G поліморфізмом гена *ANKK1* у хворих із ГКС з нормальною величиною артеріального тиску та артеріальною гіпертензією подано в табл. 3.3.14. Аналізуючи одержані результати, можна побачити, що не існує достовірної різниці у розподілі алельних варіантів за досліджуваним поліморфізмом у хворих із ГКС з артеріальною гіпертензією та пацієнтів з нормальними показниками тиску. Так, розподіл алельних варіантів (T/T і T/G + G/G) серед пацієнтів із ГКС, які мали нормальні величини АТ становив 52,2 і 47,8 %, а серед хворих з підвищеними показниками АТ – 52,8 і 47,2 % відповідно ($\chi^2 = 0,004$; P = 0,949).

Таблиця 3.3.14 – Частота генотипів за T134967G поліморфізмом гена *ANKK1* у хворих із ГКС із нормальним тиском та артеріальною гіпертензією

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

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

У таблиці 3.3.15 наведено показники АТ сист., АТ діаст., АТ пул. та АТ сер. у практично здорових осіб і у хворих із ГКС залежно від варіантів генотипу за T134967G поліморфізмом гена *ANKK1*. Із одержаних даних випливає, що в осіб з різними варіантами генотипів (T/T і T/G + G/G) як у контрольній групі, так і у хворих із ГКС, значення АТ сист., АТ діаст., АТ пул. і АТ сер. достовірно не відрізнялися.

Таблиця 3.3.15 – Показники артеріального тиску (АТ) у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за T134967G поліморфізмом гена *ANKK1* (M ± m)

Показники		T/T	T/G + G/G	F	P ₁
АТ сист.	Контроль	124,3 ± 1,2 (n = 74)	125,3 ± 1,6 (n = 36)	1,450	0,623
	ГКС	140,5 ± 2,3 (n = 62)	141,2 ± 2,4 (n = 56)	0,051	0,839
	P ₂	< 0,001	< 0,001		
АТ діаст.	Контроль	79,3 ± 0,8	82,1 ± 1,3	0,869	0,065
	ГКС	90,0 ± 1,4	88,9 ± 1,2	0,375	0,561
	P ₂	< 0,001	0,001		
АТ пул.	Контроль	44,9 ± 0,9	43,2 ± 1,2	0,076	0,265
	ГКС	50,5 ± 1,4	52,2 ± 1,6	0,377	0,407
	P ₂	0,001	0,001		
АТ сер.	Контроль	94,3 ± 0,9	96,5 ± 1,2	0,039	0,159
	ГКС	106,8 ± 1,6	106,3 ± 1,5	0,107	0,827
	P ₂	< 0,001	< 0,001		

Примітка. Див. табл. 3.3.9.

Інші результати були одержані, коли аналіз проводився між групами порівняння. У хворих із ГКС не залежно від генотипу за досліджуваним поліморфізмом всі види тисків були достовірно вищими. Так, у хворих із ГКС – гомозигот за основним алелем T/T – АТ сист. дорівнював (140,5 ± 2,3) мм рт. ст. проти (124,3 ± 1,2) мм рт. ст. у здорових осіб (P < 0,001); АТ діаст.

(90,0 ± 1,4) мм рт. ст. проти (79,3 ± 0,8) мм рт. ст. (P < 0,001); АТ пул. (50,5 ± 1,4) мм рт. ст. проти (44,9 ± 0,9) мм рт. ст. (P = 0,001); АТ сер. (106,8 ± 1,6) мм рт. ст. проти (94,3 ± 0,9) мм рт. ст. (P < 0,001).

У пацієнтів з генотипом Т/Г + Г/Г за Т134967G поліморфізмом гена *ANKK1* спостерігалися подібні результати. У носіїв мінорного алеля величина АТ сист. дорівнювала (141,2 ± 2,4) мм рт. ст. у хворих із ГКС проти (125,3 ± 1,6) мм рт. ст. у контрольній групі відповідно (P < 0,001); АТ діаст. (88,9 ± 1,2) мм рт. ст. проти (82,1 ± 1,3) мм рт. ст. (P = 0,001); АТ пул. (52,2 ± 1,6) мм рт. ст. проти (43,2 ± 1,2) мм рт. ст. (P = 0,001); АТ сер. (106,3 ± 1,5) мм рт. ст. проти (96,5 ± 1,2) мм рт. ст. (P < 0,001).

Аналіз за фактом паління. Частоту генотипів за Т134967G поліморфізмом гена *ANKK1* у хворих із ГКС, тих, які палять, і тих, які не палять, подано в табл. 3.3.16.

Таблиця 3.3.16 – Частота генотипів за Т134967G поліморфізмом гена *ANKK1* у хворих із ГКС тих, які палять, і тих, які не палять

<i>Генотип</i>		<i>Не палять</i>	<i>Палять</i>
Т/Т	n	33	29
		51,6 %	53,7 %
Т/Г + Г/Г	n	31	25
		48,4 %	46,3 %
Разом	n	64	54
		100 %	100 %
$\chi^2 = 0,054; P = 0,816$			

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

Із наведених результатів випливає, що серед хворих із ГКС, тих, які не палять, з Т/Т генотипом виявлено 51,6 %, а з Т/Г + Г/Г генотипом – 48,4 %. Частота генотипів Т/Т і Т/Г + Г/Г у хворих із ГКС курців становила 53,7 і 46,3 % відповідно. Таким чином, не існує достовірної різниці у співвідношенні

генотипів за досліджуваним поліморфізмом серед хворих із ГКС курців і тих, які не палять ($\chi^2 = 0,054$; $P = 0,816$).

Частота генотипів за T134967G поліморфізмом гена *ANKK1* у тих, які палять, і тих, які не палять, подано в табл. 3.3.17. Розподіл алельних варіантів (T/T і T/G + G/G) серед тих, які не палять, в групі контролю становив 69,1 і 30,9 %, а серед хворих із ГКС – 51,6 і 48,4 % відповідно. Отже, у тих пацієнтів, які не палять, було виявлено достовірний зв'язок T134967G поліморфізму із розвитком ГКС ($\chi^2 = 4,658$; $P = 0,031$). У курців контрольної групи частота генотипів за T134967G поліморфізмом становила 62,1 і 37,9 %. Серед тих, які палять, хворих із ГКС, гомозигот за основним алелем T/T було 53,7 %, а з T/G + G/G генотипом – 46,3 %. Таким чином, у курців, не виявлено статистично значущого зв'язку між вивченим поліморфізмом гена *ANKK1* і розвитком ГКС ($\chi^2 = 0,538$; $P = 0,463$).

Таблиця 3.3.17 – Зв'язок T134967G поліморфізму гена *ANKK1* з розвитком ГКС у тих, які палять, і тих, які не палять

	Генотип		Контроль	ГКС
Ті, які не палять	T/T	n	56	33
			69,1 %	51,6 %
	T/G + G/G	n	25	31
			30,9 %	48,4 %
	Разом	n	81	64
			100 %	100 %
$\chi^2 = 4,658$; $P = 0,031$				
Курці	T/T	n	18	29
			62,1 %	53,7 %
	T/G + G/G	n	11	25
			37,9 %	46,3 %
	Разом	n	29	54
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,538$; $P = 0,463$				

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

При застосуванні методу логістичної регресії виявлено, що у носіїв мінорного алеля T/G + G/G за T134967G поліморфізмом гена *ANKK1* тих, які не палять, ризик виникнення ГКС у 2,1 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем T/T (табл. 3.3.18).

Таблиця 3.3.18 – Аналіз ризику ГКС залежно від генотипу за T134967G поліморфізмом гена *ANKK1* в осіб, які не палять і тих, які палять

Показник	Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
Не палять	T/G + G/G	0,744	0,347	4,596	0,032	2,104	1,066	4,154
Палять	T/G + G/G	0,344	0,470	0,536	0,464	1,411	0,561	3,544

Примітка. Див. табл. 3.3.3

Частота генотипів за T134967G поліморфізмом гена *ANKK1* у тих, які палять, і тих, які не палять, у кожній з груп порівняння: у контролі та у хворих із ГКС достовірно не відрізнялася (табл. 3.3.19). Серед осіб контрольної групи виявлено тих, які не палять, з T/T генотипом 69,1 %, з T/G + G/G генотипом – 30,9 %, а курців із різними варіантами генотипів 62,1 і 37,9 % відповідно. Порівняння одержаних величин свідчить про відсутність статистично значущих відмінностей у розподілі алельних варіантів досліджуваного T134967G поліморфізму між особами, які палять і не палять, у контрольній групі ($\chi^2 = 0,484$; $P = 0,486$). Серед хворих із ГКС тих, які не палять, гомозигот за основним алелем T/T, було 51,6 %, носіїв мінорного алеля T/G + G/G – 48,4 %. Частота поліморфних T134967G варіантів у хворих із ГКС курців становила 53,7 і 46,3 % відповідно. Отже, серед пацієнтів із ГКС одержані результати свідчать про відсутність статистично значущих відмінностей у розподілі частот генотипів за T134967G поліморфізмом гена *ANKK1* у тих, які палять, і тих, які не палять ($\chi^2 = 0,054$; $P = 0,816$).

Таблиця 3.3.19 – Частота генотипів за T134967G поліморфізмом гена ANKH у тих, які палять, і тих, які не палять, у контрольній групі та у хворих із ГКС

Групи пацієнтів	Генотип		Паління (-)	Паління (+)
Контрольна група	T/T	n	56	18
			69,1 %	62,1 %
	T/G + G/G	n	25	11
			30,9 %	37,9 %
	Разом	n	81	29
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,484; P = 0,486$				
Хворі з ГКС	T/T	n	33	29
			51,6 %	53,7 %
	T/G + G/G	n	31	25
			48,4 %	46,3 %
	Разом	n	64	54
			100 %	100 %
$\chi^2 = 0,054; P = 0,816$				

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

Але ми встановили відмінність у підгрупах пацієнтів, утворених за окремими алельними варіантами SNP (табл. 3.3.20). У гомозигот за основним алелем T/T виявлено достовірний зв'язок між фактом паління і розвитком ГКС. Серед гомозигот за основним алелем T/T частота осіб, які палять і не палять, у контролі дорівнювала 75,7 і 24,3 %, а серед хворих із ГКС – 53,2 і 46,8 % відповідно ($\chi^2 = 7,518; P = 0,006$). У пацієнтів з генотипом T/G + G/G спостерігались дещо інші результати. Серед носіїв мінорного алеля осіб контрольної групи тих, які не палять, було 69,4 %, а тих, які палять – 30,6 %, серед хворих із ГКС, які не мали цієї шкідливої звички – 55,4 %, а курців – 44,6 % відповідно. Таким чином, у носіїв мінорного алеля T/G + G/G

достовірної асоціації між розвитком ГКС і фактом паління виявлено не було ($\chi^2 = 1,826$; $P = 0,177$).

Таблиця 3.3.20 – Частота осіб, які палять і не палять, у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за T134967G поліморфізмом гена ANKH

Генотип			Контроль	ГКС
T/T	Паління (-)	n	56	33
			75,7 %	53,2 %
	Паління (+)	n	18	29
			24,3 %	46,8 %
	Разом	n	74	62
			100 %	100 %
$\chi^2 = 7,518$; $P = 0,006$				
T/G + G/G	Паління (-)	n	25	31
			69,4 %	55,4 %
	Паління (+)	n	11	25
			30,6 %	44,6 %
	Разом	n	36	56
			100 %	100 %
$\chi^2 = 1,826$; $P = 0,177$				

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

Аналіз за наявності ожиріння. Під час аналізу впливу T134967G поліморфізму гена ANKH на розвиток ГКС у осіб з ожирінням і без ожиріння було виявлено відсутність зв'язку між досліджуваним поліморфізмом і ожирінням у хворих із ГКС (табл. 3.3.21). У пацієнтів із ГКС, які страждали на ожиріння, співвідношення осіб з генотипом T/T і носіїв мінорного алеля T/G + G/G становило 52,5 і 47,5 %, у той час як у пацієнтів без ожиріння ці показники дорівнювали 52,6 і 47,4 % відповідно. Відмінності у розподілі поліморфних варіантів генотипу між хворими із ГКС з ожирінням і

без ожиріння не виходили за межі статистичної значущості ($\chi^2 = 0,001$, $P = 0,995$).

Таблиця 3.3.21 – Вплив поліморфних T134967G варіантів гена ANKH на ожиріння у хворих із ГКС

Генотип		Ожиріння (+)	Ожиріння (-)
T/T	<i>n</i>	21	41
		52,5 %	52,6 %
T/G+G/G	<i>n</i>	19	37
		47,5 %	47,4 %
Разом	<i>n</i>	40	78
		100 %	100 %
$\chi^2 = 0,001$; $P = 0,995$			

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

Аналіз розподілу генотипів у хворих із ГКС з різним ступенем ожиріння свідчить про відсутність зв'язку T134967G поліморфізму гена ANKH з підвищенням маси тіла ($\chi^2 = 2,674$; $P = 0,445$) (табл. 3.3.22).

Таблиця 3.3.22 – Вплив T134967G поліморфізму гена ANKH на ІМТ залежно від ступеня ожиріння у хворих із ГКС

Генотип		Нема	I ст., ІМТ = 25-30	II ст., ІМТ = 30-40	III ст., ІМТ ≥ 40
T/T	<i>n</i>	8	33	19	2
		38,1 %	57,9 %	51,4 %	66,7 %
T/G + G/G	<i>n</i>	13	24	18	1
		61,9 %	42,1 %	48,6 %	33,3 %
Разом	<i>n</i>	21	57	37	3
		100 %	100 %	100 %	100 %
$\chi^2 = 2,674$; $P = 0,445$					

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

Аналіз за показниками вмісту ліпідів у плазмі крові. Дані про ліпідний спектр плазми крові хворих із ГКС з різними генотипами за T134967G поліморфізмом (T/T і T/G + G/G) подано у табл. 3.3.23. Із наведеної таблиці можна побачити, що показники загального ХС ($P = 0,804$), ХС-ЛПНЩ ($P = 0,973$), ХС-ЛПДНЩ ($P = 0,850$), ХС-ЛПВЩ ($P = 0,095$), тригліцеридів ($P = 0,850$) та ІА ($P = 0,395$) у хворих із ГКС з різними генотипами (T/T і T/G + G/G) достовірно не відрізнялися.

Таблиця 3.3.23 – Вміст ліпідів плазми крові у хворих із ГКС залежно від варіантів генотипу за T134967G поліморфізмом гена ANKH ($M \pm m$)

Показники	T/T (n = 62)	T/G + G/G (n = 56)	F	P
Загальний ХС	6,35 ± 0,20	6,42 ± 0,18	1,949	0,804
ХС-ЛПНЩ	4,53 ± 0,21	4,54 ± 0,19	1,042	0,973
ХС-ЛПДНЩ	0,81 ± 0,05	0,80 ± 0,05	0,076	0,850
ХС-ЛПВЩ	1,01 ± 0,03	1,08 ± 0,03	0,451	0,095
Тригліцериди	1,79 ± 0,11	1,76 ± 0,12	0,076	0,850
Індекс атерогенності	5,82 ± 0,36	5,40 ± 0,34	3,473	0,395

Примітка. Усі показники, крім індексу атерогенності, ммоль/л; n – кількість пацієнтів

Поділ пацієнтів на дві підгрупи залежно від показника індексу атерогенності (≤ 3 і > 3) дав можливість оцінити вплив генотипу за T134967G поліморфізмом гена ANKH на розвиток ДАХ у хворих із ГКС (табл. 3.3.24).

Проведений аналіз не виявив статистично значущої асоціації даного варіанту SNP із ДАХ. Так, розподіл генотипів у хворих із ГКС, які мали ІА ≤ 3 , становив 55,0 і 45,0 %, а серед пацієнтів ІА > 3 – 52,0 і 48,0 % відповідно ($\chi^2 = 0,058$; $P = 0,809$).

Таблиця 3.3.24 – Частота генотипів за T134967G поліморфізмом гена ANKH у хворих із ГКС із різними величинами індексу атерогенності (ІА)

Генотип		$IA \leq 3$	$IA > 3$
T/T	n	11	51
		55,0 %	52,0 %
T/G + G/G	n	9	47
		45,0 %	48,0 %
Разом	n	20	98
		100 %	100 %
$\chi^2 = 0,058; P = 0,809$			

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

Аналіз за показниками коагуляції крові. Як випливає з табл. 3.3.25, середня величина показників коагуляції не залежала від розподілу алелів за T134967G поліморфізмом гена ANKH. Відмінностей між значеннями ПТЧ ($P = 0,379$), ТЧ ($P = 0,448$), фібриногену ($P = 0,635$) і фібринолітичної активності ($P = 0,688$) серед хворих із ГКС з різними поліморфними варіантами виявлено не було.

Таблиця 3.3.25 – Деякі показники коагуляції крові у хворих із ГКС залежно від варіантів генотипу за T134967G поліморфізмом гена ANKH ($M \pm m$)

Показники	T/T (n = 62)	T/G + G/G (n = 56)	F	P
Протромбіновий час, с	10,76 ± 0,22	10,47 ± 0,23	0,004	0,379
Тромбіновий час, с	18,10 ± 0,65	17,46 ± 0,52	3,152	0,448
Фібриноген, г/л	3,62 ± 0,14	3,73 ± 0,17	2,547	0,635
Фібринолітична активність, с	475,08 ± 4,61	472,23 ± 5,42	0,625	0,688

Примітка: n – кількість пацієнтів

Поділ хворих із ГКС на дві підгрупи за наявності і відсутності функціональних і біохімічних ознак ГКК не виявив достовірного впливу досліджуваного генетичного маркера на розвиток гіперкоагуляційного синдрому (табл. 3.3.26). Так, співвідношення алелів (Т/Т і Т/Г + Г/Г) за досліджуваним поліморфізмом серед осіб хворих із ГКС, які не страждали на гіперкоагуляцію крові, становило 55,2 і 44,8 %, а серед осіб з ГКК – 40,9 і 59,1 % відповідно ($\chi^2 = 1,468$; $P = 0,226$).

Таблиця 3.3.26 – Зв'язок Т134967G поліморфізму гена ANKH із гіперкоагуляцією крові (ГКК) у хворих із ГКС

		ГКК (-)	ГКК (+)
Т/Т	n	53	9
		55,2%	40,9%
Т/Г + Г/Г	n	43	13
		44,8%	59,1%
Разом	n	96	22
		100%	100%
$\chi^2 = 1,468$; $P = 0,226$			

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

Аналіз за наявністю цукрового діабету. Визначення концентрації глюкози крові натще у досліджуваних пацієнтів виявило, що як особи контрольної групи ($P = 0,993$), так і хворі із ГКС ($P = 0,051$), не відрізняються між собою за цим показником незалежно від генотипу (Т/Т і Т/Г + Г/Г) за Т134967G поліморфізмом гена ANKH (табл. 3.3.27). Слід зазначити, що серед хворих із ГКС різниця концентрації глюкози крові натще у носіїв мінорного алеля Т/Г + Г/Г та осіб з Т/Т генотипом ($(8,4 \pm 0,40)$ ммоль/л проти $(7,4 \pm 0,28)$ ммоль/л) була близька до рівня статистичної значущості ($P = 0,051$).

Таблиця 3.3.27 – Показники глюкози крові в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за T134967G поліморфізмом гена ANKH (M ± m)

Показники		T/T	T/G + G/G	F	P ₁
Глюкоза крові, ммоль/л	Контроль	5,3 ± 0,09 (n = 74)	5,3 ± 0,13 (n = 36)	0,032	0,993
	ГКС	7,4 ± 0,28 (n = 62)	8,4 ± 0,40 (n = 56)	4,174	0,051
	P ₂	< 0,001	< 0,001		

Примітка. Див. табл. 3.3.9.

Встановлено, що незалежно від генотипу, у хворих із ГКС величина глюкози крові достовірно вища, ніж у осіб контрольної групи. У носіїв T/T генотипу цей показник становив (7,4 ± 0,28) ммоль/л проти (5,3 ± 0,09) ммоль/л (P < 0,001), а у пацієнтів з T/G + G/G генотипом – (8,4 ± 0,40) ммоль/л проти (5,3 ± 0,13) ммоль/л (P < 0,001).

У пацієнтів із ГКС не виявлено достовірної асоціації T134967G поліморфізму гена ANKH з розвитком цукрового діабету (табл. 3.3.28). Розподіл поліморфних варіантів (T/T і T/G + G/G) серед хворих із ГКС, які не мали цукрового діабету, становив 56,8 і 43,2 %, а серед тих, які страждали на ЦД – 40,0 і 60,0 % відповідно ($\chi^2 = 2,538$; P = 0,111).

Таблиця 3.3.28 – Зв'язок T134967G поліморфізму гена ANKH з цукровим діабетом (ЦД) у хворих із ГКС

		ЦД (-)	ЦД (+)
T/T	n	50	12
		56,8 %	40,0 %
T/G + G/G	n	38	18
		43,2 %	60,0 %
Разом	n	88	30
		100 %	100 %
$\chi^2 = 2,538$; P = 0,111			

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

Вплив SNP на основні характеристики ГКС

Розподіл різних алельних варіантів T134967G поліморфізму гена *ANKH* у хворих з ангінозною формою ГКС та іншими формами наведений на рис. 3.3.3. Так, серед пацієнтів з ангінозною формою ГКС співвідношення різних варіантів генотипів (T/T і T/G + G/G) становило 52,4 та 47,6 %, а серед осіб з іншими формами ГКС – 53,3 та 46,7 % відповідно. Статистично достовірної різниці у розподілі алельних варіантів у досліджуваних групах виявлено не було ($\chi^2 = 0,004$, $P = 0,948$).

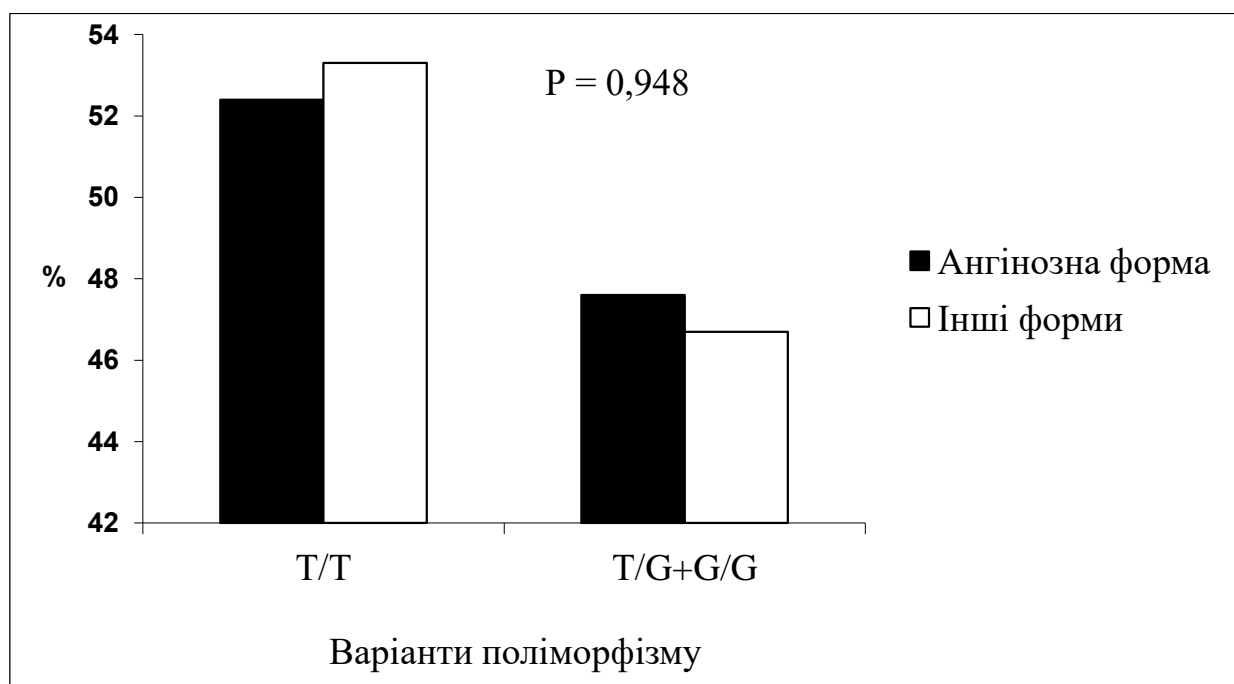


Рисунок 3.3.2 – Частота алельних варіантів гена *ANKH* за поліморфізмом T134967G у хворих із ГКС з ангінозною формою (чорні стовпчики) та іншими формами (білі стовпчики). P – статистична значущість відмінності показників за χ^2 -критерієм Пірсона.

Під час поглибленого аналізу впливу поліморфних T134967G варіантів гена *ANKH* на варіанти клінічного перебігу у хворих із ГКС (ангінозний, астматичний, абдомінальний, аритмічний та безбольовий варіанти) достовірного зв'язку в розподілі генотипів виявлено не було ($\chi^2 = 4,282$; $P = 0,369$) (табл. 3.3.29).

Таблиця 3.3.29 – Вплив алельних варіантів T134967G поліморфізму гена *ANKH* на варіанти клінічного перебігу у хворих із ГКС

Варіанти клінічного перебігу						
Генотип		Ангі- нозний	Астма- тичний	Абдомі- нальний	Аритміч- ний	Безбольо- вий
T/T	n	54	2	2	4	0
		52,4 %	40,0 %	66,7 %	80,0 %	0 %
T/G+G/G	n	49	3	1	1	2
		47,6 %	60,0 %	33,3 %	20,0 %	100,0 %
Разом	n	103	5	3	5	2
		100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
$\chi^2 = 4,282; P = 0,369$						

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

Аналіз зв'язку T134967G поліморфізму гена *ANKH* з клінічними проявами ГКС свідчить, що розподіл алельних варіантів за вивченим поліморфізмом у групах пацієнтів, статистично достовірно не відрізняється (рис. 3.3.3).

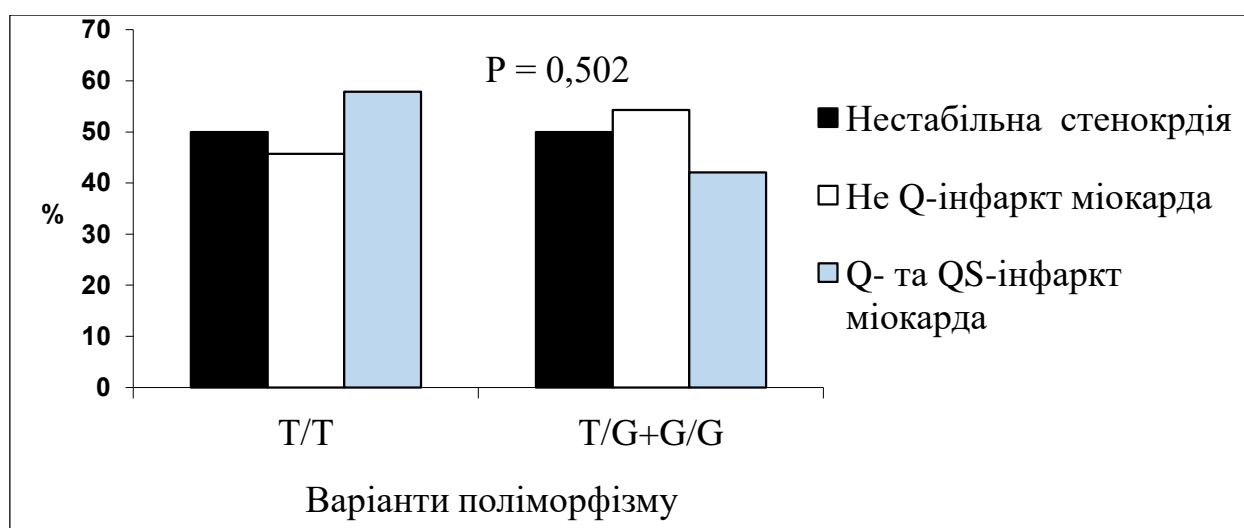


Рисунок 3.3.3 – Частота алельних варіантів гена *ANKH* за поліморфізмом T134967G у хворих із нестабільною стенокардією (чорні стовпчики), не-Q-інфарктом міокарда (білі стовпчики), Q- та QS-інфарктами міокарда (сині стовпчики). P – статистична значущість відмінності показників за χ^2 -критерієм Пірсона

Співвідношення алельних варіантів гена *ANKH* за поліморфізмом T134967G (T/T і T/G + G/G) у пацієнтів з нестабільною стенокардією становило 50,0 і 50,0 %, у хворих з не-Q-інфарктом міокарда відповідні показники дорівнювали 45,7 і 54,3 %, а з Q- та QS-інфарктами – 57,9 і 42,1 % відповідно ($\chi^2 = 1,377$; P = 0,502).

І нарешті, досліджено зв'язок між генотипом хворих за T134967G поліморфізмом і розвитком ускладнень ГКС, до яких відносять аритмії, серцеву недостатність, тромбоемболії, розриви серця та його частин, кровотечі (табл. 3.3.30). Співвідношення гомозигот за основним алелем і носіїв мінорного алеля T/T і T/G + G/G у групах пацієнтів, які перенесли ГКС без ускладнень, становило 49,7 і 52,1 %, а тих, які мали ускладнення, – 70,8 і 29,2 % відповідно. Отже, виявлена статистично достовірна різниця в розподілі генотипів за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* у хворих із ГКС з ускладненнями і без ускладнень: у гомозигот з T/T генотипом ускладнення ГКС траплялися достовірно частіше, ніж у носіїв мінорного алеля T/G + G/G ($\chi^2 = 4,042$; P = 0,044).

Таблиця 3.3.30 – Частота генотипів за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* у хворих із ГКС з ускладненнями і без ускладнень

Генотип		Ускладнення (-)	Ускладнення (+)
T/T	n	45	17
		49,7 %	70,8 %
T/G + G/G	n	49	7
		52,1 %	29,2 %
Разом	n	94	24
		100 %	100 %
$\chi^2 = 4,042$; P = 0,044			

Примітка. Див. табл. 3.3.2

Під час детального аналізу не виявлено впливу поліморфних T134967G варіантів гена *ANKH* на тип ускладнення у хворих із ГКС (аритмії,

серцева недостатність, тромбоемболії, розриви серця та його частин, кровотечі) ($\chi^2 = 5,315$; $P = 0,379$) (табл. 3.3.31).

Таблиця 3.3.31 – Вплив поліморфних T134967G варіантів гена ANKH на ускладнення у хворих із ГКС

Генотип		Ускладнення					
		Немає	Аритмії	Серцева недостатність, у т.ч. шок	Тромбоемболії	Розрив серця та його частин	Кровотечі
Т/Т	n	45	4	10	1	1	1
		47,9%	66,7%	76,9%	50,0%	50,0%	100,0%
Т/G+G/G	n	49	2	3	1	1	0
		52,1%	33,3%	23,1%	50,0%	50,0%	0%
Разом	n	94	6	13	2	2	1
		100%	100%	100%	100%	100%	100%
$\chi^2 = 5,315$; $P = 0,379$							

Примітка. Див. табл. 3.3.2.

Таким чином, існує асоціація поліморфізму T134967G гена *ANKH* із розвитком ГКС: у носіїв мінорного алеля T/G + G/G за вивченим поліморфізмом частота виникнення ГКС в 1,9 раза вища, ніж у гомозигот за основним алелем T/T. Серед вивчених факторів ризику доведений вплив ІМТ та паління на розвиток ГКС у пацієнтів з різними T134967G поліморфними варіантами гена *ANKH*. Серед пацієнтів з ІМТ < 25 кг/м², носіїв мінорного алеля, ГКС виникає в 3,1 раза частіше, ніж у гомозигот за основним алелем. В осіб з T/G + G/G генотипом, тих, які не палять, ГКС розвивається в 2,1 раза частіше, ніж в осіб з T/T генотипом. У процесі аналізу була виявлена асоціація з деякими характеристиками ГКС. Зокрема, встановлена статистично достовірна різниця в розподілі генотипів за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* у хворих із ГКС з ускладненнями і без ускладнень: у гомозигот з T/T генотипом ускладнення траплялися достовірно частіше, ніж в осіб з T/G + G/G генотипом.

РОЗДІЛ 4

ОБГОВОРЕННЯ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

У 90 % пацієнтів із серцево–судинними захворюваннями виявляють ознаки кальцифікації артеріальних судин [7, 8]. Зростання вмісту кальцію у стінках вінцевих артерій людей віком понад 50 років має важливе прогностичне значення щодо розвитку тяжких серцево-судинних недуг та їх ускладнень [9–11]. Кальцифікація бляшки – один із відомих факторів її нестабільності, що значно підвищує ризик серцево-судинних захворювань [11, 25]. Доведено, що майже в 70 % випадків причиною ГКС є розрив звапнілої атеросклеротичної бляшки.

За сучасними уявленнями інтенсивність кальцифікації визначається співвідношенням між про- і антикальциногенними факторами. Одним із потужних чинників, які захищають судинну стінку від звапніння, є неорганічний пірофосфат (PPi) [12, 13, 15–17, 75]. Пригнічення кальцифікації судинної стінки PPi здійснює шляхом порушення нуклеації і подальшого росту кристалів гідроксіапатиту, пригнічення трансдиференціювання судинних ГМК у хондроцити, а також посилення синтезу остеопонтину.

На сьогодні відомо, що генерація неорганічного пірофосфату у позаклітинному середовищі забезпечується діяльністю трьох ферментів, а саме: ектонуклеотид пірофосфатазою/фосфодіестеразою 1 (ENPP1), тканинною неспецифічною лужною фосфатазою (TNAP) і транспортним трансмембранним білком (ANKH). Активність зазначених протеїнів може залежати від багатьох факторів, зокрема й від структури генів, що кодують білкові продукти.

Враховуючи роль зазначених ферментів у регулюванні рівня позаклітинного PPi – основного антикальциногенного фактора, метою

дисертаційної роботи стало вивчення зв'язку між розвитком ГКС і поліморфізмами генів *ENPP1*, *TNAP* і *ANKH*.

Відомо, що розподіл алельних варіантів генів має расові і популяційні особливості. Ми встановили співвідношення генотипів для досліджуваних поліморфізмів генів *ENPP1*, *TNAP* і *ANKH* серед практично здорових осіб.

Так, для K121Q поліморфізму гена *ENPP1* розподіл алельних варіантів K/K, K/Q і Q/Q становив 75,5; 24,5 і 0,0 %. Частота мінорного алеля дорівнювала 0,123. Подібні результати одержані в працях інших учених для різних популяцій. Так, Miao-Pei Chen et al. вивчили розподіл алельних варіантів гена *ENPP1* за поліморфізмом K121Q у китайській популяції [105]. Автори встановили, що співвідношення гомозигот за основним алелем K/K, гетерозигот K/Q і гомозигот за мінорним алелем Q/Q серед практично здорових осіб становило 81,4; 17,9 і 0,8 %. Частота мінорного алеля дорівнювала 0,097 і достовірно не відрізнялася від групи українських пацієнтів ($P > 0,05$). У дослідженнях D. Meure et al. було виявлено частоту генотипів K/K, K/Q і Q/Q у французькій популяції, яка становила 70,7; 25,5 і 2,8 % [117]. Частота мінорного алеля дорівнювала 0,155 і також статистично не відрізнялася від української популяції ($P > 0,05$). У праці A. Pizzuti et al. одержано дещо інші результати. Так, автори встановили, що розподіл генотипів за поліморфізмом K121Q гена *ENPP1* у мешканців Сицилії був таким: K/K – 66,2 %, K/Q – 32,2 % і Q/Q – 1,6 % [128]. Частота мінорного алеля дорівнювала 0,178 і була достовірно більшою, ніж у мешканців України ($P < 0,01$).

Щодо A69314G поліморфізму гена *TNAP*, то нами встановлено співвідношення гомозигот за основним алелем A/A, гетерозигот A/G і гомозигот за мінорним алелем G/G серед здорових осіб, яке становило 83,6; 14,6 і 1,8 %. Частота мінорного алеля дорівнювала 0,09. На жаль, робіт щодо розподілу генотипів за A69314G поліморфізмом гена *TNAP* обмаль. У дослідженнях, проведених іншими авторами, отримано суперечливі результати. Так, Mareike Dabisch-Ruthe досліджував розподіл поліморфних

A69314G варіантів гена *TNAP* у мешканців Німеччини [232]. За його результатами співвідношення генотипів за даним поліморфізмом (A/A, A/G і G/G) у практично здорових осіб становило 98; 1 і 1% відповідно [232]. Частота мінорного алеля дорівнювала 0,03, що достовірно відрізняється від групи українських пацієнтів ($P < 0,01$). У дослідженнях P. S. Henthorn et al. осіб Північної Америки із A/A генотипом було 69 %, а з A/G + G/G генотипом – 31 %. Таким чином, частота мінорного алеля у північно-американській популяції дорівнювала 0,31 і також відрізнялася від української ($P < 0,05$). [180]. M. Goseki-Sone et al. виявили, що частота генотипів A/A і A/G + G/G в осіб японської популяції становила 50,3 і 49,7 % [233]. Таким чином, при розподілі алельних варіантів за досліджуванним поліморфізмом гена *TNAP* серед мешканців України і Японії також виявлено достовірну відмінність ($P < 0,01$). Привертає до себе увагу той факт, що при порівнянні розподілу генотипів за A69314G поліморфізмом окремо між мешканцями Німеччини, Північної Америки і Японії також було виявлено достовірну відмінність ($P < 0,01$).

Аналізуючи частоту алельних варіантів за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* у групі контролю, ми дослідили співвідношення генотипів T/T і T/G + G/G, яке становило 67,3 і 32,7 %. Частота мінорного алеля дорівнювала 0,182. Подібні дані було одержано у результатах інших авторів для різних популяцій. Так, A. E. Timms et al. виявили розподіл генотипів T/T, T/G і G/G за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* серед мешканців Нью-Йорка, який становив 66,3 і 33,7 % [215]. Частота мінорного алеля дорівнювала 0,288 і достовірно не відрізнялася від групи українських пацієнтів ($P > 0,05$). Y. Zhang et al. у своїй праці виявили, що гомозигот за основним алелем T/T, гетерозигот T/G та носіїв мінорного алеля G/G за T134967G поліморфізмом у мешканців Великобританії було 66,30; 29,24 і 4,46 % відповідно. Достовірної відмінності у розподілі поліморфних T134967G варіантів гена *ANKH* серед українців і британців виявлено не було ($P > 0,05$) [216].

Наступним етапом роботи було визначення асоціації між поліморфізмами генів інгібіторів та активаторів ектопічної кальцифікації (K121Q поліморфізм гена *ENPP1*, A69314G поліморфізм гена *TNAP* і T134967G поліморфізм гена *ANKH*) та розвитком ГКС.

Співвідношення генотипів K/K, K/Q і Q/Q за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* у хворих із ГКС становило 67,0; 30,5 і 2,5 %. При порівнянні отриманих результатів із даними розподілу генотипів у групі контролю зроблений висновок про те, що досліджуваний поліморфізм гена *ENPP1* не асоційований із розвитком ГКС. Протилежні дані одержано при порівнянні розподілів генотипів за A69314G поліморфізмом гена *TNAP* серед хворих із ГКС та практично здорових осіб. Співвідношення генотипів A/A, A/G і G/G у хворих із ГКС становило 69,5; 25,4 і 5,1 %, що достовірно відрізнялося від групи здорових осіб. Достовірність висновку збільшувалася при об'єднанні носіїв мінорного алеля A/G + G/G в одну підгрупу. Розподіл генотипів за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* (T/T і T/G + G/G) серед хворих із ГКС становив 52,5 і 47,5 %. Порівнюючи ці результати із контрольною групою, зроблений висновок про те, що носії мінорного алеля T/G + G/G більш схильні до розвитку ГКС.

Таким чином, серед вивчених поліморфізмів встановлена асоціація A69314G поліморфізму гена *TNAP* і T134967G поліморфізму гена *ANKH* з розвитком гострого коронарного синдрому. Носії мінорного алеля за обома дослідженими поліморфізмами більш схильні до розвитку ГКС.

Що стосується інших популяцій, то M. Moehlecke et al., досліджуючи зв'язок K121Q поліморфізму гена *ENPP1* з ІХС у хворих на цукровий діабет у бразильській популяції, також не виявили зв'язку даного генетичного чинника із хворобою [153]. Розподіл алельних варіантів гена *ENPP1* за поліморфізмом K121Q (K/K, K/Q і Q/Q) у групі хворих на ЦД із ІХС був 60,8; 34,4 і 4,8 %, а у хворих без ІХС – 64,0; 32,7 і 3,3 % відповідно ($P = 0,574$).

G. Lazarevic et al. установили, що на відміну від бразильців, мешканці Сербії носії мінорного алеля мають високий ризик розвитку ІХС у поєднанні

із ЦД 2-го типу. Пацієнти із генотипами K/Q і Q/Q на 78 % частіше хворіють на ІХС [235]. I. Tasic et al. у своїй праці одержали схожі результати. Так, автори визначили розподіл генотипів K/K і K/Q + Q/Q серед хворих із ІХС у мешканців Сербії, який становив 71,25 і 28,75 %. проти 82,0 і 18,0 % у контролі, що достовірно відрізнявся ($P < 0,05$) [234]. Отже, науковцями була встановлена асоціація між K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* і розвитком ІХС у сербській популяції. V. Stefanovic і S. Antic підтвердили, що носійство Q- алеля є фактором ризику розвитку інфаркту міокарда в Сербії незалежно від будь яких інших факторів ризику [142].

O. G. Shaker et al. установили, що в єгипетській популяції хворі носії мінорного алеля (K/Q і Q/Q) за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* мають у 3 рази вищий ризик розвитку інфаркту міокарда, ніж особи з K/K генотипом ($P = 0,004$) [150].

G. Endler et al. довели, що в осіб з K/Q і Q/Q генотипами, мешканців Відня ризик виникнення інфаркту міокарда у 2,6 рази вищий, а в мешканців центральної Німеччини – у 4,5 рази вищий, ніж у пацієнтів з K/K генотипом, за досліджуванним поліморфізмом гена *ENPP1* [152].

J. E. Lee et al. довели достовірний зв'язок між K121Q поліморфізмом і кальцифікацією аорти у хворих на цукровий діабет 2-го типу мешканців Кореї [148]. Так, серед хворих із кальцифікацією аорти осіб з K/K генотипом було 76,2 %, із K/Q + Q/Q генотипом – 23,8 %. Розподіл генотипів (K/K і K/Q + Q/Q), які не страждали на кальцифікацію аорти, становив 86,5 і 13,5 % відповідно ($P = 0,036$). Таким чином, за даними J. E. Lee et al. у корейській популяції серед хворих із ЦД існує зв'язок між кальцифікацією аорти і K121Q поліморфізмом гена *ENPP1*. Протилежні результати щодо мешканців Кореї одержали D. J. Jeong et al. Автори не виявили асоціації K121Q поліморфізму із кальцифікацією коронарних судин у хворих на ЦД 2-го типу ($P = 0,858$) [78].

P. Eller et al., вивчаючи вплив K121Q поліморфізму гена *ENPP1* на розвиток кальцифікації периферичних артерій в австрійців отримали такі результати [236]. Розподіл генотипів (K/K, K/Q і Q/Q) за цим поліморфізмом

серед практично здорових осіб становив 73,5; 24,8 і 1,7 %, а серед пацієнтів із кальцифікацією периферичних артерій – 74,5; 23,8 і 1,7 % відповідно. Таким чином, відмінностей у розподілі генотипів за досліджуваним поліморфізмом гена *ENPP1* серед здорових пацієнтів та осіб із захворюванням периферичних артерій в австрійській популяції автори не виявили ($P = 0,747$). В іншій праці P. Eller et al. виявили, що у хворих із термінальною стадією ниркової недостатності, що супроводжується зниженням рівня позаклітинного PPI, які є носіями мінорного алеля (K/Q + Q/Q), ризик виникнення кальцифікації коронарних судин достовірно вищий, ніж у осіб з K/K генотипом ($P = 0,033$) [151]. Проте достовірного зв'язку K121Q поліморфізму із розвитком кальцифікації висхідної ($P = 0,367$) та нисхідної ($P = 0,345$) частин аорти, аортального ($P = 0,624$) чи мітрального ($P = 0,683$) клапанів науковцями виявлено не було.

Що стосується розподілу генотипів за A69314G поліморфізмом гена *TNAP* і T134967G поліморфізмом гена *ANKH* серед хворих із серцево-судинною патологією в інших популяціях, то такі дані відсутні.

Як відомо, до основних факторів ризику як атеросклерозу, так і гострого коронарного синдрому відносять похилий вік, чоловічу стать, артеріальну гіпертензію, підвищення величини ІМТ > 25 кг/м² та ожиріння, паління, гіперліпідемію, гіперглікемію та цукровий діабет 2-го типу [237–239].

Чоловіча стать є немодифікованим фактором ризику серцево-судинних подій. Доведено, що у чоловіків у віці 35–70 років ризик виникнення ГКС вищий у 2–3 рази, ніж у жінок [240]. Співвідношення смертності від ССЗ серед осіб чоловічої і жіночої статей віком до 50 років становить 5 до 1. У віці до 70 років це співвідношення значно зменшується і становить 1,5 до 1. Беручи до уваги, що чоловіча стать є доведеним фактором ризику ГКС, одним із наших завдань стало вивчення асоціації досліджених поліморфізмів із розвитком ГКС в осіб різної статі.

Нами встановлено, що не існує достовірного зв'язку між однонуклеотидними K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* і

T134967G поліморфізмом гена *ANKH* і розвитком ГКС в осіб різної статі. Проте одержано дані про статеві особливості асоціації A69314G поліморфізму гена *TNAP* із ГКС. У роботі встановлено, що носії мінорного алеля A/G + G/G чоловічої статі мають в 2,19 раза вищий ризик розвитку ГКС, ніж особи з A/A генотипом ($P = 0,039$).

Вивчаючи розподіл генотипів за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* у австрійській популяції G. Endler et al. виявили, що незалежно від віку пацієнтів особи чоловічої статі – носії мінорного алеля K/Q + Q/Q –страждають на інфаркт міокарда частіше, ніж особи жіночої статі ($P < 0,001$) [152]. Подібні дані автори одержали і серед мешканців Центральної Німеччини, які перенесли інфаркт міокарда: чоловіки з K/Q + Q/Q генотипом хворіють на ІМ частіше, ніж жінки ($P < 0,001$).

Одним із важливих факторів ризику ГКС є артеріальна гіпертензія. Частота розвитку серцево-судинних подій прямопропорційно залежить від збільшення рівня як систолічного, так і діастолічного артеріального тиску. Відомо, що підвищення артеріального тиску систолічного на 2 мм рт. ст. пов'язане зі збільшенням ризику розвитку ГКС на 10 %, а при підвищенні діастолічного артеріального тиску на 7 мм рт. ст. порівняно з нормою збільшується ризик розвитку серцево-судинних захворювань на 27 %. Виявлено, що зниження артеріального тиску на 5–6 мм рт. ст. зменшує ризик розвитку ішемічної хвороби серця на 15 % і на 42 % – ризик смерті від неї.

У дослідженнях, які ми провели було з'ясовано, що в практично здорових осіб контрольної групи, які мали різні генотипи за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1*, показники АТ сист., АТ діаст. і АТ сер. достовірно не відрізнялися. Проте, величина АТ пул. у практично здорових носіїв мінорного алеля K/Q + Q/Q була достовірно вищою, ніж у гомозигот за основним алелем K/K ($P = 0,024$). У хворих із ГКС величини всіх видів АТ достовірно не відрізнялись у носіїв різних генотипів. P. Eller et al., досліджуючи значення артеріального тиску у практично здорових осіб із різними варіантами генотипів за поліморфізмом K121Q гена *ENPP1* в

австрійській популяції встановили, що значення АТ сист. і АТ діаст. достовірно не відрізнялись [151]. Інші результати отримали S. Vassì et al. у носіїв різних генотипів за поліморфізмом K121Q гена *ENPP1* при дослідженні величин тисків у здорових мешканців Італії [241]. Так, у осіб з різними варіантами генотипів (K/K, K/Q і Q/Q) показники АТ сист. і АТ діаст. достовірно не відрізнялись. Значення АТ сист. дорівнювало відповідно: $(125,7 \pm 0,4)$, $(126,7 \pm 0,6)$ і $(131,0 \pm 1,9)$ мм рт. ст. ($P = 0,017$), а АТ пул. $(45,1 \pm 0,3)$ мм рт. ст., $(46,3 \pm 0,4)$ мм рт. ст. і $(49,5 \pm 1,4)$ мм рт. ст. ($P = 0,001$). Отже, у практично здорових осіб італійської популяції з Q/Q генотипом величини АТ сист. і АТ пул. достовірно вищі, ніж у гомозигот за основним алелем. Різниця у значеннях АТ діаст. серед представників різних генотипів автори не виявили.

Щодо порівняння величин тисків у носіїв різних генотипів у групі контролю та серед хворих із ГКС, то у пацієнтів із ГКС – гомозигот за основним алелем – показники всіх видів тисків були достовірно вищими, ніж у практично здорових осіб. У носіїв мінорного алеля K/Q + Q/Q, хворих із ГКС, спостерігались схожі результати, крім АТ пул.: у пацієнтів із ГКС і здорових індивідуумів його значення достовірно не відрізнялися. Отже, одержані дані підтверджують той факт, що артеріальна гіпертензія є доведеним фактором ризику розвитку ГКС незалежно від генотипів за вивченим поліморфізмом гена *ENPP1*.

Щодо інших популяцій, то S. Vassì et al. при поділі італійських пацієнтів на групи залежно від місця проживання та наявності супутніх хвороб (ожиріння, артеріальна гіпертензія) отримали такі дані [241]. У мешканців Calabria, які хворіли на артертеріальну гіпертензію, на відміну від популяції у цілому, жоден із вивчених видів тисків достовірно не відрізнявся в осіб із різними генотипами (K/K, K/Q і Q/Q) за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1*. Так само у пацієнтів Sicily з інсулінорезистентністю, які не мали ожиріння, показники АТ сист., АТ діаст. і АТ пул. в осіб із різними варіантами генотипів достовірно не відрізнялися. Дещо інші дані автори одержали щодо мешканців

Sicily з інсулінорезистентністю, які мають ожиріння. Показник АТ пул. у цих хворих з генотипом К/К становив $(43,8 \pm 0,4)$ мм рт. ст., К/Q – $(44,6 \pm 0,7)$ мм рт. ст., Q/Q – $(49,3 \pm 2,3)$ мм рт. ст. ($P = 0,026$). Отже, автори встановили, що у гомозигот за мінорним алелем у цій групі пацієнтів величина АТ пул. достовірно вища, ніж у гомозигот за основним алелем. Значення АТ сист. і АТ діаст. у досліджуваних хворих із різними генотипами достовірно не відрізнялись. Щодо мешканців Gargano, то автори виявили, що у групах порівняння в осіб з К/К генотипом показники АТ сист. ($P = 0,012$) і АТ пул. ($P < 0,001$) були вищими, ніж у носіїв мінорного алеля К/Q + Q/Q. Величина АТ діаст. за їх даними достовірно не відрізнялася.

J. E. Lee et al. у своїх дослідженнях установили, що у хворих із кальцифікацією судини мешканців Кореї величина АТ сист. достовірно вища, ніж у практично здорових індивідуумів і становила $(128,4 \pm 15,1)$ мм рт. ст. проти $(121,5 \pm 13,2)$ мм рт. ст. ($P < 0,001$) [148]. Достовірної різниці у величинах АТ діаст. у групах порівняння авторами виявлено не було ($P = 0,645$).

Що стосується розподілу генотипів за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* та Т134967G поліморфізмом гена *ANKH*, то незалежно від генотипів усі види тисків у пацієнтів, які страждали на ГКС, були достовірно вищими, ніж у практично здорових осіб.

Провідними факторами ризику розвитку серцево-судинних захворювань є підвищений показник ІМТ > 25 кг/м² та ожиріння. Доведено, що при ІМТ 25–29 кг/м² (ожиріння 1 ступеня) ризик виникнення ГКС на 70 % вищий, ніж в осіб з нормальною вагою тіла. При підвищені величини ІМТ понад 30 кг/м² (ожиріння 2 ступеня) ризик зростає в 3 рази. Також відомо, що збільшення маси тіла на 5–8 кг супроводжується збільшенням ризику інфаркту міокарда і смерті від коронарної хвороби серця на 25 %.

Аналізуючи розподіл алельних варіантів гена *ENPP1* ми виявили, що поліморфізм К121Q був асоційований із гострим коронарним синдромом лише у пацієнтів з нормальною величиною ІМТ: ризик виникнення ГКС в осіб

з нормальною масою тіла носіїв мінорного алеля у 3,9 раза більший, ніж у гомозигот за основним алелем. Отримані дані доводять той факт, що розвиток ГКС асоційований саме з носійством Q алеля, незалежно від значення ІМТ.

Інші дані було одержано в праці N. Matsuoka et al. У своїх дослідженнях учені встановили, що K121Q поліморфізм гена *ENPP1* асоційований зі збільшенням ІМТ у кавказців і в афроамериканців [132].

Щодо зв'язку A69314G поліморфізму гена *TNAP* з величиною ІМТ у хворих із ГКС, то у результаті наших досліджень встановлено, що в осіб з $ІМТ \geq 25$ кг/м² носіїв мінорного алеля (A/G + G/G) за A69314G поліморфізмом гена *TNAP* ризик виникнення ГКС майже в 2,9 раза вищий, ніж у осіб з нормальною величиною ІМТ. Під час аналізу асоціації величини ІМТ із T134967G поліморфізмом гена *ANKK1* серед хворих із ГКС доведено, що в осіб з $ІМТ \leq 25$ кг/м², які мали T/G + G/G генотип за T134967G поліморфізмом гена *ANKK1* ризик виникнення ГКС в 3,1 раза вищий, ніж у пацієнтів з T/T генотипом ($P = 0,052$).

Щодо надмірної ваги, то ми не виявили асоціації досліджуваних SNP з ГКС у хворих з нормальною та підвищеною величиною ІМТ. А. Morandi et al. для мешканців Італії одержали подібні результати. Достовірного зв'язку між K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* та ожирінням в італійській популяції не виявлено ($P > 0,05$) [137]. Н. J. Seo et al. також не знайшли асоціації між розподілом генотипів за K121Q поліморфізмом і ожирінням ($P = 0,81$) у мешканців Кореї [123]. Також не виявлено зв'язку між досліджуваним поліморфізмом і ожирінням у мешканців Данії [126], Іспанії [135], Європи (Польщі та Скандинавії) [120], Франції [242], Марокко [122] та Бельгії [243]. Проте Tanyolac S. et al. у мешканців Турції встановили асоціацію K121Q поліморфізму гена *ENPP1* із розвитком ожиріння у чоловіків, хворих на ЦД 2-го типу ($P = 0,048$) [141].

Неменш важливим модифікованим фактором ризику розвитку серцево-судинних захворювань є паління. Відомо, що паління підвищує ризик серцевих захворювань у 1,5 раза. Саме куріння вважається причиною кожної

5-ої смерті пацієнтів старше 35 років [244]. У тих, які палять, підвищений ризик не лише ГКС, а й ішемічного інсульту, аневризми аорти, захворювання периферичних артерій і смерті від цих хвороб. Доведено, що у пацієнтів, які кидають палити, рівень смертності від ССЗ через 3 роки досягає рівня смертності у тих, які не палять; ризик розвитку первинного інфаркту міокарда знижується майже на 65 %, а повторного — на 30 % [3].

Аналізуючи розподіл алельних варіантів за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* серед курців і тих, які не палять, ми виявили, що в осіб з К/К генотипом тих, які палять, ГКС розвивається достовірно частіше, ніж у тих, які не палять. При дослідженні A69314G поліморфізму гена *TNAP* було виявлено, що у тих осіб, які палять, носіїв мінорного алеля (A/G + G/G), ризик виникнення ГКС майже у 3,4 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем A/A. Що стосується впливу паління на розвиток ГКС у пацієнтів з T134967G поліморфізмом гена *ANKH*, то у носіїв мінорного алеля T/G + G/G тих, які не палять, ризик виникнення ГКС у 2,1 раза вищий, ніж у тих, які палять. Крім того, доведено, що у гомозигот за основним алелем T/T існує асоціація між палінням і розвитком ГКС.

Не менш значущим модифікованим фактором ризику коронарних подій є порушення ліпідного обміну, яке може проявлятися підвищенням рівня тригліцеридів, холестерину ЛПНЩ, загального холестерину, зниженням вмісту холестерину ЛПВЩ. Доведено, що зниження рівня ХС-ЛПНЩ в крові на 10 % призводить до зниження смертності від ССЗ на 45 %. Крім того, підвищення концентрації ХС-ЛПВЩ на 0,03 ммоль/л пов'язане зі зниженням ризику ССЗ на 3 %.

Під час аналізу впливу поліморфізму K121Q гена *ENPP1* на показники ліпідного профілю одержано цікаві результати. Так, носії мінорного алеля, хворі із ГКС, мали достовірно нижчі показники ХС-ЛПНЩ і фібринолітичної активності, ніж гомозиготи за основним алелем ($P = 0,039$). Тим не менш, важко стверджувати, чи мають ці відмінності будь яке значення в патогенезі ГКС. Величини загального холестеролу, інших класів ліпопротеїдів і

тригліцеридів достовірно не відрізнялись у хворих із ГКС з різними варіантами генотипів. А. Pizutti et al. у своїй роботі виявили, що у носів мінорного алеля K/Q + Q/Q за поліморфізмом K121Q гена *ENPP* у китайській популяції показники холестеролу достовірно вищі, ніж у осіб з K/K генотипом ($P = 0,040$) [128].

При вивченні величин загального ХС, ХС-ЛПНЩ, ХС-ЛПДНЩ, ХС-ЛПВЩ, тригліцеридів та індексу атерогенності у пацієнтів із ГКС із різними поліморфними варіантами як за A69314G поліморфізмом гена *TNAP*, так і за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* достовірної відмінності виявлено не було.

Гіперглікемія та цукровий діабет є не менш важливими факторами ризику ССЗ. Відомо, що у хворих на ЦД 2-го типу достовірність розвитку ССЗ, незалежно від наявності будь-яких інших факторів ризику, підвищується в 10 разів, ніж у здорових осіб.

У дослідженнях, які ми провели, було доведено, що хворі із ГКС незалежно від генотипів за досліджуваними поліморфізмами мали достовірно вищі величини глюкози крові натще, ніж особи контрольної групи, що підтверджує безпосередню причетність гіперглікемії до факторів ризику ГКС. Проте у пацієнтів із ГКС зв'язку між вивченими SNP генів *ENPP1*, *TNAP* і *ANKH* і розвитком ЦД виявлено не було.

Е. S. Stolerman et al. виявили наявність зв'язку між розподілом алельних варіантів за поліморфізмом K121Q і гіперглікемією у мешканців Бостона, США ($P = 0,01$) [118]. Що стосується асоціації між K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* і розвитком цукрового діабету в пацієнтів із ГКС, то, як і в наших дослідженнях, такої залежності встановлено не було ($P = 0,190$). J. E. Lee et al. встановили, що у мешканців Кореї носіїв мінорного алеля K/Q + Q/Q за K121Q поліморфізмом гена *ENPP1* ризик захворювання цукровим діабетом 2-го типу в 2,88 рази вищий, ніж у осіб з K/K генотипом ($P = 0,001$) [148].

I. Tasic et al. довели, що у носіїв мінорного алеля K/Q + Q/Q – мешканців Сербії – ризик виникнення метаболічного синдрому у пацієнтів із ІХС у 5,5 раза вищий, ніж у осіб з K/K генотипом [234].

Кальцифікація кровоносних судин є поширеним патологічним процесом, що має як самостійне значення (склероз Менкеберга), так і ускладнює розвиток атеросклеротичних бляшок, сприяючи їх нестабільності. З огляду на це вивчення чинників, що мають стосунок до механізмів кальцифікації, викликає сьогодні підвищений інтерес, про що свідчить велика кількість публікацій, присвячених цій проблемі.

Одним із провідних механізмів регуляції інтенсивності кальцифікації є контроль рівня неорганічного пірофосфату у позаклітинному середовищі. Зростання кількості PPI гальмує мінералізацію за рахунок цілої низки фізико-хімічних, клітинних та молекулярних механізмів. Пригнічення утворення PPI, яке супроводжується збільшенням концентрації неорганічного фосфату, створює умови для відкладання солей кальцію. Баланс у системі PPI-Pi забезпечується ферментами ENPP1, ANKH та TNAP. Генетичний поліморфізм цих білків впливаючи на їх кількість і структуру може бути пов'язаний із інтенсивністю кальцифікації у судинній стінці та її можливими наслідками.

K121Q поліморфізм пов'язаний зі зміною амінокислотної послідовності у соматомедин-В-подібному домені ENPP1 і порушенням ферментативної функції білка. Ферментативна активність ENPP1 може змінюватись двома шляхами. Перший з них пов'язаний із пригніченням гідролізу АТФ до АДФ, що супроводжується зменшенням кількості неорганічного пірофосфату. Другий призводить до посилення процесу розщеплення АТФ до цАМФ зі зростанням концентрації неорганічного фосфату. Обидві зміни порушують баланс у системі PPI-Pi у бік неорганічного фосфату, що створює умови для відкладання солей кальцію у судині.

Поліморфізм гена *ANKH* відбувається у 8-му інтроні на його межі з 8-м екзоном. Заміна тиміну на гуанін ймовірно призводить до зміни рамки зчитування і порушення процесу сплайсингу мРНК. Наслідком цих процесів

як правило є порушення структури білка або зменшення кількості білкових молекул. У нашому випадку неповноцінність ANKH, чи недостатня його кількість, призведуть до порушення транспорту PPI із клітини у позаклітинне середовище і посилення кальцифікації судини.

A69314G поліморфізм гена *TNAP* є «мовчазною» мутацією: заміна аденіну на гуанін не впливає на амінокислотну послідовність білка-фермента. Однак є дане про те, що зміна нуклеотидної послідовності мРНК впливає на швидкість доставки амінокислот у рибосоми. Вірогідно, заміна триплету CCA на CCG викликає у зрілій мРНК тканинної неспецифічної лужної фосфатази прискорення доставки амінокислот, а значить трансляція білка відбувається швидше і його кількість збільшується. Зростання *TNAP* у позаклітинному середовищі посилює гідроліз PPI з утворенням Pi. Наслідком збільшення кількості неорганічного фосфату у тканинах кровоносних судин є створення сприятливих фізико-хімічних умов для відкладання солей кальцію. Зменшення концентрації неорганічного пірофосфату посилює нуклеацію і ріст кристалів гідроксіапатиту, сприяє диференціації ГМК судин у хондроцити, викликає зменшення кількості остеопонтину. Як наслідок, посилюється кальцифікація атеросклеротичної бляшки (рис. 4.1).

Багатьма дослідженнями доведений зв'язок між звапнінням нестабільних атеросклеротичних бляшок вінцевих артерій та розвитком ГКС. Поліморфізми генів активаторів та інгібіторів кальцифікації впливаючи на баланс про- та антикальциногенних факторів, фізично-хімічні умови середовища судинної стінки, шляхи диференціації судинних ГМК, можуть бути причетними до процесів розвитку нестабільності бляшки, її розриву, виникнення тромбозу, фіналом яких є гострий коронарний синдром. Літературні дані про асоціацію кальцифікації бляшки з розвитком ускладнень атеросклерозу суперечливі. Є інформація про те, що незначний ступінь кальцифікації пов'язаний з ГКС, тоді як значне звапніння асоціюється з хронічною серцевою недостатністю. Враховуючи це у подальших роботах цікаво було б дослідити ступінь кореляції генотипу за поліморфізмами генів



Рисунок 4.1. – Механізм впливу вивчених поліморфізмів генів *ENPP1*, *ANKH* і *TNAP* на розвиток ГКС

інгібіторів та активаторів кальцифікації з інтенсивністю мінералізації атеросклеротичної бляшки та розвитком ГКС.

Таким чином, алельний поліморфізм генів інгібіторів та активаторів кальцифікації є важливим чинником спадкової схильності до склеротичних уражень артеріальних судин та їх ускладнень, зокрема гострого коронарного синдрому. Поглиблення знань про генетичну складову атеросклеротичного процесу може стати новим етапом у формуванні сучасних методів прогнозування, профілактики, діагностування і патогенетичного лікування атеросклерозу і його ускладнень.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено науково й теоретично обґрунтоване узагальнення результатів дослідження і нове науково-практичне вирішення актуального патофізіологічного завдання – з'ясування зв'язку поліморфізму генів інгібіторів (K121Q поліморфізму гена *ENPP1* і T134967G поліморфізму гена *ANKH*) та активаторів (A69314G поліморфізму гена *TNAP*) ектопічної кальцифікації з механізмами розвитку гострого коронарного синдрому.

1. Алельний поліморфізм генів інгібіторів та активаторів ектопічної кальцифікації є важливим чинником спадкової схильності до розвитку склеротичних уражень артеріальних судин та їх ускладнень. Існує зв'язок між гострим коронарним синдромом та поліморфними варіантами генів *TNAP* (A69314G) і *ANKH* (T134967G). Ризик ГКС у носіїв мінорного алеля для A69314G поліморфізму у 2,2 ($P = 0,013$; OR = 2,244), а для T134967G – у 1,9 ($P = 0,024$; OR = 1,857) рази вищий, ніж у гомозигот за основним алелем.

2. У пацієнтів з різними K121Q поліморфними варіантами гена *ENPP1* доведений вплив ІМТ та паління на розвиток ГКС. Установлено, що в осіб з ІМТ < 25 кг/м², носіїв мінорного алеля K/Q + Q/Q гострий коронарний синдром виникає в 3,9 рази ($P = 0,029$; OR = 3,939) частіше, ніж у гомозигот за основним алелем K/K. Серед пацієнтів з генотипом K/K установлений зв'язок розвитку ГКС із надмірною вагою ($P = 0,008$). У гомозигот за основним алелем K/K, тих, які палять, ГКС виникає достовірно частіше, ніж у тих, які не палять ($P = 0,017$). Поліморфні K121Q варіанти асоційовані із порушеннями ліпопротеїнового обміну та коагуляції крові у хворих з ГКС. В осіб з K/K генотипом показники фібринолітичної активності ($P = 0,022$), рівень ХС-ЛПНЦ ($P = 0,039$) та індекс атерогенності ($P = 0,046$) достовірно вищі, ніж у носіїв інших генотипів.

3. Доведено, що вплив A69314G поліморфізму гена *TNAP* на розвиток гострого коронарного синдрому має статеві особливості. Ризик виникнення ГКС в осіб чоловічої статі з A/G + G/G генотипом за A69314G поліморфізмом

гена *TNAP* у 2,19 раза вищий, ніж в осіб із А/А генотипом ($P = 0,039$; $OR = 2,187$). Встановлено асоціацію досліджуваного поліморфізму з надмірною вагою та палінням. Так, ризик виникнення ГКС у носіїв мінорного алеля А/Г + Г/Г з $IMT \geq 25$ кг/м² у 2,9 раза ($P = 0,007$; $OR = 2,861$), а у курців майже у 3,4 раза ($P = 0,045$; $OR = 3,393$) вищий, ніж у гомозигот за основним алелем А/А.

4. Установлено, що в осіб з Т/Г + Г/Г генотипом за Т134967G поліморфізмом гена *ANKH* з $IMT < 25$ кг/м² гострий коронарний синдром виникає в 3,1 раза частіше, ніж у гомозигот за основним алелем Т/Т ($P = 0,052$; $OR = 3,102$). Доведено, що у носіїв мінорного алеля Т/Г + Г/Г, тих, які не палять, ризик виникнення ГКС в 2,1 раза вищий, ніж в осіб з Т/Т генотипом ($P = 0,032$; $OR = 2,104$).

5. Виявлена статистично достовірна різниця в розподілі генотипів за Т134967G поліморфізмом гена *ANKH* у хворих, які перенесли ГКС без ускладнень, і тих, які мали ускладнення ($P = 0,044$).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Медико-демографічний атлас України: екологічні передумови міжрегіональних варіацій захворюваності та смертності населення, 2008 рік / В. П. Войтенко, А. В. Пісарук, Н. М. Кошель та ін. – К. : Фенікс, 2010. – Вип. 11. – 40 с.
2. Лутай М. И. Улучшение прогноза у больных со стенокардией: модификация образа жизни, фармакотерапия / М. И. Лутай, А. Ф. Лысенко // Укр. мед. часопис. – 2012. – № 1 (87). – С. 45–50.
3. Ischemic Heart Disease. 130 Questions & Answers / R. Ferrari, M. Lettino, C. Seconi et al. – 2-nd Edition. – Paris : Fransa Servier, 2006. – 305 p.
4. Пархоменко А. Н. Новые аспекты патогенеза и лечения больных с нестабильной стенокардией и мелкоочаговым инфарктом миокарда / А. Н. Пархоменко, Я. М. Лутай // Український медичний часопис. – 2000. – № 4. – С. 17–26.
5. Атаман О. В. Патолофізіологія : підручник : в 2 т. Т. 2. Патолофізіологія органів і систем / О. В. Атаман. – Вінниця : Нова книга, 2016. – 444 с.
6. Multimarker approach to risk stratification in non–ST elevation acute coronary syndromes / M. S. Sabatine, D. A. Morrow, J. A. de Lemos et al. // Circulation. – 2002. – Vol.105. – P. 1760–1763.
7. Schmermund A. Unstable Coronary Plaque and Its Relation to Coronary Calcium / A. Schmermund, R. Erbel // Circulation. – 2001. – Vol. 104. – P. 1682–1687.
8. Талаева Т. В. Сосудистая кальцификация: реальность и гипотезы / Т. В. Талаева, В. В. Братусь // Здоров'я України. Кардіологія. Наука – практиці. – 2014, лютий. – С. 56–60.
9. Coronary Calcium as a Predictor of Coronary Events in Four Racial or Ethnic Groups / R. Detrano, A. D. Guerci, J. J. Carr et al. // The New England Journal of Medicine. – 2008. – Vol. 358. – P. 1336–1345.

10. Coronary Artery Calcium Score and Risk Classification for Coronary Heart Disease Prediction / T. S. Polonsky, R. L. McClelland, N. W. Jorgensen et al. // *Journal of the American Medical Association*. – 2010. – Vol. 303, № 16. – P. 1610–1616.
11. Absence of Coronary Artery Calcification and All-Cause Mortality / M. Blaha, M. J. Budoff, L. J. Shaw et al. // *Cardiovascular imaging*. – 2009. – Vol. 2, № 6. – P. 692–700.
12. Towler D. A. Inorganic Pyrophosphate. A Paracrine Regulator of Vascular Calcification and Smooth Muscle Phenotype / D. A. Towler // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2005. – Vol. 25. – P. 651–654.
13. Identification of new microRNAs targeting genes regulating the Pi/PPi balance in chondrocytes / T. Clement, V. Salone, B. Charpentier et al. // *Bio-medical materials and engineering*. – 2014. – Vol. 24. – P. 3–16.
14. The functional co-operativity of tissue-nonspecific alkaline phosphatase (TNAP) and PHOSPHO1 during initiation of skeletal mineralization / C. Huesa, D. Houston, T. Kiffer-Moreira et al. // *Biochemistry and biophysics reports*. – 2015. – Vol. 4. – P. 196–201.
15. Renal calcium stones: insights from the control of bone mineralization / S. H. Moochhala, J. A. Sayer, G. Carr, N. L. Simmons // *Exp. Physiol*. – 2007. – Vol. 93, №1. – P. 43–49.
16. Inhibition of osteoblast mineralization by phosphorylated phage-derived apatite-specific peptide / J. Ramaswamy, H. K. Nam, H. Ramaraju et al. // *Biomaterials*. – 2015. – Vol. 73. – P. 120–130.
17. Counter-regulatory phosphatases TNAP and NPP1 temporally regulate tooth root cementogenesis / L. E. Zweifler, M. K. Patel, F. H. Nociti et al. // *International Journal of Oral Science*. – 2014. – Vol. 1. – P. 1–15.
18. Abnormal Mechanical Loading Induces Cartilage Degeneration by Accelerating Meniscus Hypertrophy and Mineralization After ACL Injuries In Vivo / G. Du, H. Zhan, D. Ding et al. // *Am. J. Sports Med*. – 2016. – DOI : 10.1177/0363546515621285.

19. Alexopoulos N. Calcification in atherosclerosis / N. Alexopoulos, P. Raggi // *Nat. Rev. Cardiol.* – 2009. – Vol. 6. – P. 681–688.
20. Coronary calcification identifies the vulnerable patient rather than the vulnerable Plaque / A. Mauriello, F. Servadei, G. B. Zoccai et al. // *Atherosclerosis.* – 2013. – Vol. 229, № 1. – P. 124–129.
21. Aortic stenosis, atherosclerosis and skeletal bone: is there a common link with calcification and inflammation? / M. Dweck, J. H. Khaw, G. K. Sng et al. // *Eur Heart J.* – 2013. – Vol. 34 (21). – P. 1567–1574.
22. Лутай М. И. Атеросклероз: современный взгляд на патогенез / М. И. Лутай // *Український кардіологічний журнал.* – 2004. – № 1. – С. 22–34.
23. Coronary calcium: the good, the bad and the uncertain / T. M. Doherty, R. C. Detrano, S. L. Mautner et al. // *Am. Heart J.* – 1999. – Vol. 137 (5). – P. 806–814.
24. Терновой С. К. Неинвазивная диагностика атеросклероза и кальциноза коронарных артерий / С. К. Терновой, В. Е. Синицин, Н. В. Гагарина. – М. : Атмосфера, 2003. – С. 144.
25. Becker C. R. Assessment of coronary arteries with CT / C. R. Becker // *Radiol Clin N Am.* – 2002. – Vol. 40. – P. 773–782.
26. Otsuka F. Do vulnerable and ruptured plaques hide in heavily calcified arteries? / F. Otsuka, A. V. Finn, R. Virmani // *Atherosclerosis.* – 2013. – Vol. 229 (1). – P. 34–37.
27. Севергина Л. О. Морфогенез нестабильной атеросклеротической бляшки и ее роль в развитии острого коронарного синдрома / Л. О. Севергина // *Архив патологии.* – 2005. – № 3. – С. 51–54.
28. Некроз и кальцификация коронарных артерий при хронической форме ишемической болезни сердца / В. С. Жданов, С. П. Веселова, И. П. Дробкова и др. // *Терапевт. архив.* – 2010. – Т. 82, № 12. – С. 16–18.
29. Гагарина Н. В. Кальциноз коронарных артерий: методы диагностики, клинические результаты, практическая значимость / Н. В. Гагарина,

- В. Е. Синицин, С. К. Терновой // Медицинская визуализация. – 2000. – № 3. – С. 23–28.
30. Calcified carotid atherosclerotic plaque is associated less with ischemic symptoms than is noncalcified plaque on MDCT / K. R. Nandalur, E. Baskurt, K. D. Hagspiel et al. // *Am. J. Roentgenol.* – 2005. – Vol. 184 (1). – P. 295–298.
31. Multidetector row CT of the brain and carotid artery: a correlative analysis / L. Saba, R. Montisci, R. Sanfilippo, G. Mallarini // *Clin. Radiol.* – 2009. – Vol. 64. – P. 767–778.
32. Лутай М. И. Кальциноз венечных артерий, аорты, клапанов сердца и ишемическая болезнь сердца: патофизиология, взаимосвязь, прогноз, стратификация риска Часть 2. Кальциноз венечных артерий: диагностика, интерпретация данных, взаимосвязь с другими диагностическими методами выявления ишемической болезни сердца / М. И. Лутай, И. П. Голикова // *Український кардіологічний журнал.* – 2015. – № 1. – С. 92–102.
33. Abedin M. Vascular calcification: mechanisms and clinical ramifications / M. Abedin, Y. Tintut, L. Demer // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2004. – Vol. 24. – P. 1161–1170.
34. Особенности кальциноза коронарного и некоронарного сосудистого русла у больных мультифокальным атеросклерозом / А. Н. Коков, В. Л. Масенко, Е. Б. Малюта и др. // *Радиология. Практика.* – 2013. – № 1. – С. 29–36.
35. Механизмы формирования кальцификации артерий / Ф. Т. Агеев, И. В. Баринаова, Е. М. Середенина и др. // *Кардиологический вестник.* – 2012. – Т.7, № 2. – С. 57–63.
36. Inflammation and the Osteogenic Regulation of Vascular Calcification: A Review & Perspective / J.-S. Shao, S.-L. Cheng, J. Sadhu, D. A. Towler // *Hypertension.* – 2010. – Vol. 55, № 3. – P. 579–592.
37. Vattikuti R. Osteogenic regulation of vascular calcification: an early perspective / R. Vattikuti, D. A. Towler // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2004. – Vol. 286 (5). – P. 686–696.

38. Demer L. L. Vascular calcification. Pathobiology of a multifaceted disease / L. L. Demer, Y. Tintut // *Circulation*. – 2008. – Vol. 117. – P. 2938–2948.
39. Calcification in atherosclerosis: Bone biology and chronic inflammation at the arterial crossroads / T. M. Doherty, K. Asotra, L. A. Fitzpatrick et al. // *PNAS*. – 2003. – Vol. 100 (20). – P. 11201–11206.
40. Jednacz E. Atherosclerosis in Juvenile Idiopathic Arthritis / E. Jednacz, L. Rutkowska-Sak // *Mediators of Inflammation Volume*. – 2012. – Vol. 2012. – P. 1–5.
41. O'Brien K. D. Pathogenesis of Calcific Aortic Valve Disease A Disease Process Comes of Age (and a Good Deal More) / K. D. O'Brien // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2006. – Vol. 26. – P. 1721–1728.
42. Inflammatory regulation of extracellular matrix remodeling in calcific aortic valve stenosis / J. J. Kaden, C. E. Dempfle, R. Grobholz et al. // *Cardiovasc Pathol*. – 2005. – Vol. 14. – P. 80–87.
43. Fuster V. Early identification of atherosclerotic disease by noninvasive imaging / V. Fuster, F. Lois, M. Franco // *Nat. Rev. Cardiol*. – 2010. – Vol. 7. – P. 327–333.
44. Аронов Д. М. Некоторые аспекты патогенеза атеросклероза / Д. М. Аронов, В. П. Лупанов // *Атеросклероз и дислипидемии*. – 2011. – № 1. – С. 48–56.
45. Hruska K. A. Bone Morphogenetic Proteins in Vascular Calcification / K. A. Hruska, S. Mathew, G. Saab // *Circ. Res*. – 2005. – Vol. 97. – P. 105–114.
46. Karsenty G. Minireview: Transcriptional Control of Osteoblast Differentiation / G. Karsenty // *Endocrinology*. – 2001. – Vol. 142 (7). – P. 2731–2733.
47. Transgenic Overexpression of Tissue-Nonspecific Alkaline Phosphatase (TNAP) in Vascular Endothelium Results in Generalized Arterial Calcification / A. Y. Savinov, M. Salehi, M. C. Yadav et al. // *J. Am. Heart. Assoc*. – 2015. – Vol. 4. – DOI : 10.1161/JAHA.115.002499.
48. Шишкова В. Н. Клиническая взаимосвязь остеопороза и атеросклероза / В. Н. Шишкова // *Фарматека. Остеопороз*. – 2012. – № 1 (12). – С. 17–21.

49. Komari T. Regulation of osteoblast differentiation by RUNX 2 / T. Komari // Osteoimmunology. – 2010. – Vol. 658, № 1. – P. 43–49.
50. Chen G. TGF- β and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation / G. Chen, C. Deng, Y. P. Li // Int. J. Biol. Sci. – 2012. – Vol. 8, № 2. – P. 272–288.
51. Камилов Ф. Х. Клеточно-молекулярные механизмы ремоделирования костной ткани и ее регуляция / Ф. Х. Камилов, Е. Р. Фаршатова, Д. А. Еникеев // Fundamental research. – 2014. – № 7 (4). – С. 836–842.
52. The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation / K. Nakashima, X. Zhou, G. Kunkel et al. // Cell. – 2002. – Vol. 108. – P. 17–29.
53. Osteoprotegerin as a Predictor of Coronary Artery Disease and Cardiovascular Mortality and Morbidity Shreenidhi / M. Venuraju, A. Yerramasu, R. Corder et al. // J. Am. Coll. Cardiol. – 2010. – Vol. 55 (19). – P. 2049–2061.
54. Ярославцева М. В. Система остеопротегерин (OPG) – лиганд рецептора-активатора ядерного фактора каппа-В (RANKL) при диабетической нейроостеоартропатии и облитерирующем атеросклерозе артерий нижних конечностей / М. В. Ярославцева, И. Н. Ульянова, Г. Р. Галстян // Сахарный диабет. – 2007. – № 2. – С. 24–27.
55. Osteoprotegerin Inhibits Vascular Calcification Without Affecting Atherosclerosis in *ldlr*^(-/-) Mice / S. Morony, Y. Tintut, Z. Zhang et al. // Circulation. – 2008. – Vol. 117. – P. 411–420.
56. Sage A. P. Regulatory mechanisms in vascular calcification / A. P. Sage, J. Tintut, L. L. Demer // Nat. Rev. Cardiol. – 2010. – Vol. 7 (9). – P. 528–536.
57. Decreased BMD and limb deformities in mice carrying mutations in both *Lrp5* and *p6* / S. L. Holmen, T. A. Giambardi, C. R. Zylstra et al. // J. Bone Miner. Res. – 2004. – Vol. 19. – P. 2033–2040.
58. Serum osteoprotegerin levels are associated with the presence and severity of coronary artery disease / S. Jono, Y. Ikari, A. Shioi et al. // Circulation. – 2002. – Vol. 106 (10). – P. 1192–1194.

59. Browner W. S. Associations of serum osteoprotegerin levels with diabetes, stroke, bone density, fractures, and mortality in elderly women / W. S. Browner, L. Y. Lui, S. R. Cummings // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2001. – Vol. 86 (2). – P. 631–637.
60. Localization of osteoprotegerin, tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, and receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand in Monckebergs sclerosis and atherosclerosis / M. Schoppet, N. Al-Fakhri, F. Franke et al. // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* – 2004. – Vol. 89, № 8. – P. 4104–4112.
61. Osteoprotegerin is an alpha vbeta 3-induced, NF-kappa B-dependent survival factor for endothelial cells / U. M. Malyankar, M. Scatena, K. L. Suchland et al. // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275 (28). – P. 20959–20962.
62. Schoppet M. RANK ligand and osteoprotegerin: paracrine regulators of bone metabolism and vascular function / M. Schoppet, K. T. Preissner, L. C. Hofbauer // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2002. – Vol. 22 (4). – P. 549–553.
63. Expression of mineralization-regulating proteins in association with human vascular calcification / C. M. Shanahan, D. Proudfoot, K. L. Tyson et al. // *Z. Kardiol.* – 2000. – Vol. 89, № 2. – P. 63–68.
64. Characterization of vitamin K-dependent carboxylase mutations that cause bleeding and non-bleeding disorders / J. K. Tie, J. D. Carneiro, D. Y. Jin et al. // *Blood.* – 2016. – Jan 12. – DOI : <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2015-10-677633>.
65. Schurgers L. J. Matrix Gla-protein: The calcification inhibitor in need of vitamin K / L. J. Schurgers, E. C. M. Cranenburg, C. Vermeer // *Thromb. Haemost.* – 2008. – Vol. 100. – P. 593–603.
66. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein / G. Luo, P. Ducy, M. D. McKee et al. // *Nature.* – 1997. – Vol. 686 (6). – P. 78–81.

67. Matrix GLA Protein Modulates Differentiation Induced by Bone Morphogenetic Protein-2 in C3H10T1/2 Cells / K. Bostrom, D. Tsao, S. Shen et al. // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276, No. 17. – P. 14044–14052.
68. Effect of vitamin K2 on progression of atherosclerosis and vascular calcification in nondialyzed patients with chronic kidney disease stages 3–5 / I. Kurnatowska, P. Grzelak, A. Masajtis-Zagajewska et al. // *Polskie archiwum medycyny wewnetrznej.* – 2015. – Vol. 125 (9). – P. 631–640.
69. Novel Conformation-Specific Antibodies Against Matrix γ -Carboxyglutamic Acid (Gla) Protein Undercarboxylated Matrix Gla Protein as Marker for Vascular Calcification / L. J. Schurgers, K. J. F. Teunissen, H. J. Marjo et al. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2005. – Vol. 25. – P. 1629–1633.
70. The presence of γ -carboxyglutamic acid in the proteins associated with ectopic calcification / J. B. Lian, M. Skinner, M. J. Glimcher et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1976. – Vol. 73. – P. 349–356.
71. Levy R. J. Carboxyglutamic acid (Gla) containing proteins of human calcified atherosclerotic plaque solubilized by EDTA / R. J. Levy, S. L. Howard, L. J. Oshry // *Atherosclerosis.* – 1986. – Vol. 59. – P.155–160.
72. Scatena M. Osteopontin A Multifunctional Molecule Regulating Chronic Inflammation and Vascular Disease / M. Scatena, L. Liaw, C. M. Giachelli // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2007. – Vol. 27. – P. 2302–2309.
73. Osteopontin inhibits mineral deposition and promotes regression of ectopic calcification / S. A. Steitz, M. Y. Speer, M. D. McKee et al. // *Am. J. Pathol.* – 2002. – Vol. 161. – P. 2035–2046.
74. Inactivation of the osteopontin gene enhances vascular calcification of matrix Gla protein-deficient mice: evidence for osteopontin as an inducible inhibitor of vascular calcification in vivo / M. Y. Speer, M. D. McKee, R. E. Guldberg et al. // *J. Exp. Med.* – 2002. – Vol. 196. – P. 1047–1055.
75. Linked deficiencies in extracellular PP(i) and osteopontin mediate pathologic calcification associated with defective PC-1 and ANK expression / K. Johnson,

- J. Goding, D. Van Etten et al. // *J. Bone Miner. Res.* – 2003. – Vol. 18 (6). – P. 994–1004.
76. Zhang Y. Investigation of the role of ENPP1 and TNAP genes in chondrocalcinosis / Y. Zhang, M. A. Brown, C. Peach // *Rheumatology.* – 2007. – Vol. 46. – P. 586–589.
77. Orimo H. The mechanism of mineralization and the role of alkaline phosphatase in health and disease / H. Orimo // *J. Nippon. Med. Sch.* – 2010. – Vol. 77. – P. 4–12.
78. ENPP1 K121Q Genotype Not Associated with Coronary Artery Calcification in Korean Patients with Type 2 Diabetes Mellitus / D. J. Jeong, D. G. Lee, H. J. Kim et al. // *Korean Diabetes J.* – 2010. – Vol. 34. – P. 320–326.
79. Chondrogenesis mediated by PPI depletion promotes spontaneous aortic calcification in NPP1^{-/-} mice / K. Johnson, M. Polewski, van D. Etten et al. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2005. – Vol. 25. – P. 686–691.
80. Loss-of-function ENPP1 mutations cause both generalized arterial calcification of infancy and autosomal-recessive hypophosphatemic rickets / B. Lorenz-Depiereux, D. Schnabel, D. Tiosano et al. // *The American Journal of Human Genetics.* – 2010. – Vol. 86. – P. 267–272.
81. The Mutational Spectrum of ENPP1 as Arising After the Analysis of 23 Unrelated Patients with Generalized Arterial Calcification of Infancy (GACI) / N. Ruf, B. Uhlenberg, R. Terkeltaub et al. // *Mutation in Brief.* – 2005. – Vol. 768. – P. 1–7.
82. Vascular calcifications, vertebral fractures and mortality in haemodialysis patients / M. Rodriguez-Garcia, C. Gomez-Alonso, M. Naves-Diaz et al. // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2009. – Vol. 24. – P. 239–246.
83. Martinet W. Apoptosis in atherosclerosis: focus on oxidized lipids and inflammation / W. Martinet, M. M. Kockx // *Curr. Opin. Lipidol.* – 2001. – Vol. 12. – P. 535–541.

84. Oxysterols regulate differentiation of mesenchymal stem cells: pro-bone and anti-fat / H. T. Kha, B. Basseri, D. Shouhed et al. // *J. Bone Miner. Res.* – 2004. – Vol. 19. – P. 830–840.
85. Stefan C. Modulation of purinergic signaling by NNP-type ectophosphodiesterases / C. Stefan, S. Jansen, M. Bollen // *Purinergic. Signal.* – 2006. – Vol. 2. – P. 361–370.
86. Goding J. W. Physiological and pathophysiological functions of the ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family / J. W. Goding, B. Grobden, H. Slegers // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease.* – 2003. – Vol. 1638, № 1. – P. 1–19.
87. Johnson K. Inorganic pyrophosphate (PPI) in pathologic calcification of articular cartilage / K. Johnson, R. Terkeltaub // *Front Biosci.* – 2005. – Vol. 10. – P. 988–997.
88. Belli S. I. Biochemical characterization of human PC-1, an enzyme possessing alkaline phosphodiesterase I and nucleotide pyrophosphatase activities / S. I. Belli, J. W. Goding // *Eur. J. Biochem.* – 1994. – Vol. 226. – P. 433–443.
89. The role of membrane glycoprotein plasma cell antigen 1/ectonucleotide pyrophosphatase phosphodiesterase 1 in the pathogenesis of insulin resistance and related abnormalities / I. D. Goldfine, B. A. Maddux, J. F. Youngren et al. // *Endocrine Reviews.* – 2008. – Vol. 29, № 1. – P. 62–75.
90. Stefan C. NPP-type ectophosphodiesterases: unity in diversity / C. Stefan, S. Jansen, M. Bollen // *Trends in Biochemical Sciences.* – 2005. – Vol. 30 (10). – P. 542–550.
91. Ecto-phosphodiesterase / pyrophosphatase of lymphocytes and non-lymphoid cells: structure and function of the PC-1 family / J. W. Goding, R. Terkeltaub, M. Maurice et al. // *Immunotogoi Reviews.* – 1998. – Vol. 161. – P. 11–26.
92. Biochemical and molecular characterization of a novel choline-specific glycerophosphodiester phosphodiesterase belonging to the nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family / H. Sakagami, J. Aoki, Y. Natori et al. // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280. – P. 23084–23093.

93. Generalized arterial calcification of infancy and pseudoxanthoma elasticum can be caused by mutations in either ENPP1 or ABCC6 / Y. Nitschke, G. Baujat, U. Botschen et al. // *The American Journal of Human Genetics*. – 2012. – Vol. 90. – P. 25–39.
94. Differential detergent resistance of the apical and basolateral NPPases: relationship with polarized targeting / J. L. Delaunay, M. Breton, J. W. Goding et al. // *J. Cell Sci*. – 2007. – Vol. 120. – P. 1009–1016.
95. Zimmermann H. Extracellular metabolism of ATP and other nucleotides / H. Zimmermann // *Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol*. – 2000. – Vol. 362. – P. 299–309.
96. Gijsbers R. Functional characterization of the non-catalytic ectodomains of the nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase NPP1 / R. Gijsbers, H. Ceulemans, M. Bollen // *Biochem. J*. – 2003. – Vol. 371. – P. 321–330.
97. Nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterases on the move / M. Bollen, R. Gijsbers, H. Ceulemans, C. Stefan // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol*. – 2000. – Vol. 35. – P. 393–432.
98. Biochemical analysis of ectonucleotide pyrophosphatase phosphodiesterase activity in brain membranes indicates involvement of NPP1 isoenzyme in extracellular hydrolysis of diadenosine polyphosphates in central nervous system / A. C. Asensio, C. R. Rodríguez-Ferrera, A. Castañeyra-Perdomo et al. // *Neurochem. Int*. – 2007. – Vol. 50. – P. 581–590.
99. Zimmermann H. Cellular function and molecular structure of ectonucleotidases / H. Zimmermann, M. Zebisch, N. Sträter // *Purinergic Signalling*. – 2012. – Vol. 8. – P. 437–502.
100. Picher M. Metabolism of P2 receptor agonists in human airways – implications for mucociliary clearance and cystic fibrosis / M. Picher, L. H. Burch, R. C. Boucher // *J. Biol. Chem*. – 2004. – Vol. 279. – P. 20234–20241.

101. Picher M. Biochemical evidence for an ectoalkaline phosphodiesterase I in human airways / M. Picher, R. C. Boucher // *Amer. J. Respir. Cell Molec. Biol.* – 2000. – Vol. 23. – P. 255–261.
102. Nucleotide release provides a mechanism for airway surface liquid homeostasis / E. R. Lazarowski, R. Tarran, B. R. Grubb et al. // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279. – P. 36855–36864.
103. Expression and localization of ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase I-1 (E-NPP1/PC-1) and -3 (E-NPP3/CD203c/PD-Ibeta/B10/gp130(RB13-6)) in inflammatory and neoplastic bile duct diseases / Y. Yano, Y. Hayashi, K. Sano et al. // *Cancer Lett.* – 2004. – Vol. 207. – P. 139–147.
104. Extracellular ATP activates c-Jun N-terminal kinase signaling and cell cycle progression in hepatocytes / S. Thevananther, H. Sun, D. Li et al. // *Hepatology.* – 2004. – Vol. 39. – P. 393–402.
105. ENPP1 K121Q polymorphism is not related to type 2 diabetes mellitus, features of metabolic syndrome, and diabetic cardiovascular complications in a Chinese population / M. P. Chen, F. M. Chung, D. M. Chang et al. // *The Review of Diabetic Studies.* – 2006. – Vol. 3, № 1. – P. 21–30.
106. ATP acts as a survival signal and prevents the mineralization of aortic valve / N. Côté, D. E. Hussein, A. Pépin et al. // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology.* – 2012. – Vol. 52. – P. 1191–1202.
107. Takahashi T. Surface alloantigens of plasma cells / T. Takahashi, L. J. Old, E. A. Boyse // *J. Exp. Med.* – 1970. – Vol. 131. – P. 1325–1341.
108. Van Driel I. R. Plasma cell membrane glycoprotein PC-1. Primary structure deduced from cDNA clones / I. R. van Driel, J. W. Goding // *J. Biol. Chem.* – 1987. – Vol. 262. – P. 4882–4887.
109. Plasma cell membrane glycoprotein PC-1. cDNA cloning of the human molecule, amino acid sequence, and chromosomal location / M. F. Buckley, K. A. Loveland, W. J. McKinstry, O. M. Garson // *J. Biol. Chem.* – 1990. – Vol. 265. – P. 17506–17511.

110. The plasma cell membrane glycoprotein, PC- 1, is a threonine-specific protein kinase stimulated by acidic fibroblast growth factor / Y. Oda, M.-D. Kuo, S. S. Huang, J. S. Huang // *J. Biol. Chem.* – 1991. – Vol. 266, № 25. – P. 16791–16795.
111. Association between the ENPP1 K121Q polymorphism and risk of diabetic kidney disease: a systematic review and meta-analysis / D. A. Sortica, M. P. Buffon, B. M. Souza et al. // *PLoS ONE.* – 2015. – Vol. 10, № 3. – P. 1–13.
112. Glucocorticoid hormones increase the activity of plasma membrane alkaline phosphodiesterase I in rat hepatoma cells / G. G. Rousseau, A. Amar-Costesec, M. Verhaegen, D. K. Granner // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1980. – Vol. 77, № 2. – P. 1005–1009.
113. Expression of the nucleoside triphosphate pyrophosphohydrolase PC-1 is induced by basic fibroblast growth factor (bFGF) and modulated by activation of the protein kinase A and C pathways in osteoblast-like osteosarcoma cells / J. L. Solan, L. J. Deftos, J. W. Goding, R. A. Terkeltaub // *J. Bone Miner. Res.* – 1996. – Vol. 11. – P. 183–192.
114. Interleukin 1 β suppresses transforming growth factor-induced inorganic pyrophosphate (PPi) production and expression of the PPi-generating enzyme PC-1 in human chondrocytes / M. Lotz, F. Rosen, G. McCabe et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1995. – Vol. 92. – P. 10364–10368.
115. Regulation of purified hepatic PC-1 (phosphodiesterase-I/nucleotide pyrophosphatase) by threonine auto(de)phosphorylation and by binding of acidic fibroblast growth factor / M. Uriarte, W. Stalmans, S. Hickman, M. Bollen // *Biochem. J.* – 1995. – Vol. 306. – P. 271–277.
116. Abhishek A. Pathophysiology of articular chondrocalcinosis – role of ANKH / A. Abhishek, M. Doherty // *Nat. Rev. Rheumatol.* – 2011. – Vol. 7. – P. 96–104.
117. ENPP1 K121Q polymorphism and obesity, hyperglycaemia and type 2 diabetes in the prospective DESIR Study / D. Meyre, N. Bouatia-Naji, V. Vatin et al. // *Diabetologia.* – 2007. – Vol. 50. – P. 2090–2096.

118. Haplotype structure of the ENPP1 gene and nominal association of the K121Q missense single nucleotide polymorphism with glycemic traits in the Framingham Heart Study / E. S. Stolerman, A. K. Manning, J. B. McAteer et al. // *Diabetes*. – 2008. – Vol. 57. – P. 1971–1977.
119. No evidence of association of ENPP1 variants with type 2 diabetes or obesity in a study of 8,089 U. K. Caucasians / M. N. Weedon, B. Shields G. Hitman et al. // *Diabetes*. – 2006. – Vol. 55. – P. 3175–3179.
120. Common variants in the ENPP1 gene are not reproducibly associated with diabetes or obesity / H. N. Lyon, J. C. Florez, T. Bersaglieri et al. // *Diabetes*. – 2006. – Vol. 55. – P. 3180–3184.
121. Association of the ENPP1 K121Q polymorphism with susceptibility to type 2 diabetes in different populations: evidence based on 40 studies / S. T. Tang, X. R. Shen, H. Q. Tang et al. // *Endocr. J.* – 2014. – Vol. 61, № 11. – P.1093–1103.
122. Association of the *ENPP1* K121Q polymorphism with type 2 diabetes and obesity in the Moroccan population / Y. El Achhab, D. Meyre, N. Bouatia-Naji et al. // *Diabetes Metab.* – 2009. – Vol. 35, № 1. – P. 37–42.
123. Seo H. J. The K121Q polymorphism in ENPP1 (PC-1) is not associated with type 2 diabetes or obesity in Korean male workers / H. J. Seo, S. G. Kim, O. J. Kwon // *J. Korean Med. Sci.* – 2008. – Vol. 23, № 3. – P. 459–464.
124. Association of the distal region of the ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 gene with type 2 diabetes in an African-American population enriched for nephropathy / K. L. Keene, J. C. Mychaleckyj, S. G. Smith et al. // *Diabetes*. – 2008. – Vol. 57. – P. 1057–1062.
125. The ENPP1 K121Q polymorphism is associated with type 2 diabetes in European populations / J. B. McAteer, S. Prudente, S. Bacci et al. // *Diabetes*. – 2008. – Vol. 57. – P. 1125–1130.
126. Studies of the relationship between the ENPP1 K121Q polymorphism and type 2 diabetes, insulin resistance and obesity in 7,333 Danish white subjects /

- N. Grarup, S. A. Urhammer, J. Ek et al. // *Diabetologia*. – 2006. – Vol. 49. – P. 2097–2104.
127. A polymorphism (K121Q) of the human glycoprotein PC-1 gene coding region is strongly associated with insulin resistance / A. Pizzuti, L. Frittitta, A. Argiolas et al. // *Diabetes*. – 1998. – Vol. 48. – P. 1881–1884.
128. Li Y. Y. ENPP1 K121Q polymorphism and type 2 diabetes mellitus in the Chinese population: a meta-analysis including 11 855 subjects / Y. Y. Li // *Metabolism. Clinical and Experimental*. – 2012. – Vol. 61. – P. 625–633.
129. Wang C. H. Evaluation of the ENPP1 and PLIN single nucleotide polymorphisms with type 2 diabetes in a Taiwanese population: evidence for replication and gene-gene interaction / C. H. Wang, W. S. Ke, E. Lin // *Journal of Investigative Medicine*. – 2012. – Vol. 60, № 8. – P. 1169–1173.
130. ENPP1/PC-1 K121Q polymorphism and genetic susceptibility to type 2 diabetes in North Indians / J. S. Bhatti, G. K. Bhatti, S. S. Mastana et al. // *Mol. Cell Biochem*. – 2010. – Vol. 345. – P. 249–257.
131. The ENPP1 K121Q polymorphism is not associated with type 2 diabetes and related metabolic traits in an Iranian population / H. Saberi, N. Mohammadtaghvaei, S. Gulkho et al. // *Mol Cell Biochem*. – 2011. – Vol. 350. – P. 113–118.
132. Association of K121Q polymorphism in ENPP1 (PC-1) with BMI in Caucasian and African-American adults / N. Matsuoka, A. Patki, H. K. Tiwari et al. // *International Journal of Obesity*. – 2006. – Vol. 30. – P. 233–237.
133. The role of ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 in diabetic nephropathy / D. A. Sortica, D. Crispim, G. P. Zaffari et al. // *Arq. Bras. Endocrinol. Metab*. – 2011. – Vol. 55 (9). – P. 677–685.
134. Lin C. C. Ectonucleotide Pyrophosphatase/Phosphodiesterase 1 K173Q polymorphism is associated with diabetic nephropathy in the Taiwanese population / C. C. Lin, C. T. Wu, L. S. H. Wu // *Genetic testing and molecular biomarkers*. – 2011. – Vol. 15, № 4. – P. 239–242.

135. Association of ENPP1 (PC-1) K121Q polymorphism with obesity-related parameters in subjects with metabolic syndrome / J. L. González-Sánchez, C. Zabena, M. T. Martínez-Larrad et al. // *Clin. Endocrinol.* – 2008. – Vol. 68, № 5. – P. 724–729.
136. ENPP1 variants and haplotypes predispose to early onset obesity and impaired Gglucose and insulin metabolism in German obese children / Y. Böttcher, A. Körner, T. Reinehr et al. // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* – 2006. – Vol. 91, № 12. – P. 4948–4952.
137. The Q121 variant of ENPP1 may protect from childhood overweight/obesity in the Italian population / A. Morandi, L. Pinelli, A. Petrone et al. // *Obesity.* – 2009. – Vol. 17, № 1. – P. 202–206.
138. ENPP1/PC-1 gene K121Q polymorphism is associated with obesity in European adult populations: evidence from a meta-analysis involving 24324 subjects / R. Q. Wang, D. H. Zhou, B. Xi et al. // *Biomed. Environ. Sci.* – 2011. – Vol. 24, № 2. – P. 200–206.
139. Association of genetic variation in ENPP1 with obesity-related phenotypes / C. P. Jenkinson, D. K. Coletta, M. Flechtner-Mors et al. // *Obesity.* – 2008. – Vol. 16. – P. 1708–1713.
140. Further evidence for the role of ENPP1 in obesity: association with morbid obesity in Finns / K. Valli-Jaakola, E. Suviolahti, C. Schalin-Jäntti et al. // *Obesity.* – 2008. – Vol. 16. – P. 2113–2119.
141. Gender differences in the relationship of ENPP1/PC-1 variants to obesity in a Turkish population / S. Tanyolaç, R. W. Mahley, U. Hodoglugil, I. D. Goldfine // *Obesity.* – 2008. – Vol. 16. – P. 2468–2471.
142. Stefanović V. Plasma cell membrane glycoprotein 1 (PC-1): a marker of insulin resistance in obesity, uremia and diabetes mellitus / V. Stefanović, S. Antić // *Clinical Laboratory.* – 2004. – Vol. 50. – P. 271–278.
143. Shared ancestral susceptibility to colorectal cancer and other nutrition related diseases / S. Huhn, M. Bevier, A. Rudolph et al. // *BMC Medical Genetics.* – 2012. – Vol. 13 (94). – P. 1–12.

144. Polycystic ovary syndrome is associated with genetic polymorphism in the insulin signaling gene IRS-1 but not ENPP1 in a Japanese population / T. Baba, T. Endo, F. Sata et al. // *Life Sciences*. – 2007. – Vol. 81. – P. 850–854.
145. Association of the polymorphism of codon 121 in the ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 gene with polycystic ovary syndrome in Chinese women / Y. Shi, X. Sun, Z. Chen et al. // *Saudi Medical Journal*. – 2008. – Vol. 29, № 8. – P. 1119–1123.
146. Association of ENPP1 gene polymorphisms with hand osteoarthritis in a Chuvasha population / E. K. Suk, I. Malkin, S. Dahm et al. // *Arthritis Research & Therapy*. – 2005. – Vol. 7. – P. 1082–1090.
147. Autosomal-recessive hypophosphatemic rickets is associated with an inactivation mutation in the ENPP1 gene / V. Levy-Litan, E. Hershkovitz, L. Avizov et al. // *The American Journal of Human Genetics*. – 2010. – Vol. 86. – P. 273–278.
148. Impact of ENPP1 and MMP3 gene polymorphisms on aortic calcification in patients with type 2 diabetes in a Korean population / J. E. Lee, Y. K. Choi, H. A. Seo et al. // *Diabetes research and clinical practice*. – 2010. – Vol. 88. – P. 87–96.
149. Lazarevic G. PC-1 (ENPP1) K121Q polymorphism in overweight and obese type 2 diabetic coronary heart disease patients / G. Lazarevic, M. Milojkovic, I. Tasic // *Acta Cardiologica*. – 2008. – Vol. 63, № 3. – P. 323–330.
150. Shaker O. G. Association of genetic variants of MTHFR, ENPP1, and ADIPOQ with myocardial infarction in Egyptian patients / O. G. Shaker, M. F. Ismail // *Cell Biochem. Biophys*. – 2014. – Vol. 69. – P. 265–274.
151. Impact of ENPP1 genotype on arterial calcification in patients with end-stage renal failure / P. Eller, K. Hochegger, G. M. Feuchtner et al. // *Nephrol. Dial. Transplant*. – 2008. – Vol. 23. – P. 321–327.
152. The K121Q polymorphism in the plasma cell membrane glycoprotein 1 gene predisposes to early myocardial infarction / G. Endler, C. Mannhalter, H. Sunder-Plassmann et al. // *J. Mol. Med*. – 2002. – Vol. 80. – P. 791–795.

153. ENPP1 K121Q polymorphism and ischemic heart disease in diabetic patients / M. Moehlecke, C. K. Kramer, C. B. Leitão et al. // *Arq. Bras. Cardiol.* – 2010. – Vol. 94, № 2. – P. 157–161.
154. Whyte M. P. Physiological role of alkaline phosphatase explored in hypophosphatasia / M. P. Whyte // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2010. – Vol. 1192. – P. 190–200.
155. The canine alkaline phosphatases: a review of the isoenzymes in serum, analytical methods and their diagnostic application / M. Syakalima, M. Takiguchi, J. Yasuda, A. Hashimoto // *Japanese Journal of Veterinary Research.* – 1998. – Vol. 46, № 1. – P. 3–11.
156. Le Du M. H. Structural evidence of functional divergence in human alkaline phosphatases / M. H. Le Du, J. L. Milla'n // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277, № 51. – P. 49808–49814.
157. Robison R. The significance of phosphoric esters in metabolism / R. Robison. – New York : New York University Press, 1932. – P. 1883.
158. Meyer J. L. Can biological calcification occur in the presence of pyrophosphate? / J. L. Meyer // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1984. – Vol. 231. – P. 1–8.
159. Hsu H. H. Calcification of isolated matrix vesicles and reconstituted vesicles from fetal bovine cartilage / H. H. Hsu, H. C. Anderson // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1978. – Vol. 75. – P. 3805–3808.
160. Tissue-nonspecific alkaline phosphatase and plasma cell membrane glycoprotein-1 are central antagonistic regulators of bone mineralization / L. Hesse, K. A. Johnson, H. C. Anderson et al. // *PNAS.* – 2002. – Vol. 99, № 14. – P. 9445–9449.
161. Role of bone-type tissue-nonspecific alkaline phosphatase and PHOSPO1 in vascular calcification / Y. V. Bobryshev, A. N. Orekhov, I. Sobenin, A. D. Chistiakov // *Current Pharmaceutical Design.* – 2014. – Vol. 20 (37). – P. 5821–5828.

162. Severe hypophosphatasia: characterization of fifteen novel mutations in the ALPL gene / M. Spentchian, Y. Merrien, M. Herasse et al. // *Human mutation. Mutation in Brief.* – 2003. – Vol. 630. – P. 1–5.
163. Crystal structure of alkaline phosphatase from human placenta at 1.8 Å resolution / M. H. Le Du, T. Stigbrand, M. J. Taussig et al. // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276. – P. 9158–9165.
164. Structural evidence for a functional role of human tissue nonspecific alkaline phosphatase in bone mineralization / E. Mornet, E. Stura, A. S. Lia-Baldini et al. // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276. – P. 31171–31178.
165. Milla'n J. L. Alkaline phosphatase and hypophosphatasia / J. L. Milla'n, M. P. Whyte // *Calcif. Tissue Int.* – 2015. – DOI : 10.1007/s00223-015-0079-1.
166. Mornet E. Hypophosphatasia / E. Mornet // *Best Practice & Research Clinical Rheumatology.* – 2008. – Vol. 22, № 1. – P. 113–127.
167. Two different zinc transport complexes of cation diffusion facilitator proteins localized in the secretory pathway operate to activate alkaline phosphatases in vertebrate cells / T. Suzuki, K. Ishihara, H. Migaki et al. // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280. – P. 30956–30962.
168. Milla'n J. L. Alkaline Phosphatases Structure, substrate specificity and functional relatedness to other members of a large superfamily of enzymes / J. L. Milla'n // *Purinergic Signalling.* – 2006. – Vol. 2. – P. 335–341.
169. Mammalian alkaline phosphatase catalysis requires active site structure stabilization via the N-terminal amino acid microenvironment / M. F. Hoylaerts, L. Ding, S. Narisawa et al. // *Biochemistry.* – 2006. – Vol. 45. – P. 9756–9766.
170. Residues determining the binding specificity of uncompetitive inhibitors to tissue-nonspecific alkaline phosphatase / A. Kozlenkov, M. H. Le Du, P. Cuniasse et al. // *Journal of Bone and Mineral Research.* – 2004. – Vol. 19. – P. 1862–1872.
171. Bossi M. Modifications in a flexible surface loop modulate the isozyme-specific properties of mammalian alkaline phosphatases / M. Bossi,

- M. F. Hoylaerts, J. L. Millan // *J. Biol. Chem.* – 1993. – Vol. 268. – P. 25409–25416.
172. Functional significance of calcium binding to Tissue-nonspecific alkaline phosphatase / M. F. Hoylaerts, S. Van kerckhoven, T. Kiffer-Moreira et al. // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10 (3). – P. 1–20.
173. Kaunitz J. D. TNAP, TrAP, ecto-purinergic signaling, and bone remodeling / J. D. Kaunitz, D. T. Yamaguchi // *J. Cell Biochem.* – 2008. – Vol. 105. – P. 655–662.
174. Revisiting spatial distribution and biochemical composition of calcium-containing crystals in human osteoarthritic articular cartilage / C. Nguyen, D. Bazin, M. Daudon et al. // *Arthritis Research & Therapy.* – 2013. – Vol. 15. – P. 1–12.
175. Autocrine ATP release coupled to extracellular pyrophosphate accumulation in vascular smooth muscle cells / D. A. Prosdocimo, D. C. Douglas, A. M. Romani et al. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2009. – Vol. 296. – P. 828–839.
176. Perinatal hypophosphatasia caused by uniparental isodisomy / A. Watanabe, S. Satoh, A. Fujita et al. // *Bone.* – 2014. – Vol. 60. – P. 93–97.
177. Novel ALPL genetic alteration associated with an odontohypophosphatasia phenotype / L. Martinsa, T. L. Rodriguesa, M. M. Ribeiro et al. // *Bone.* – 2013. – Vol. 56, № 2. – P. 1–22.
178. Kishi F. Nucleotide sequence of the human liver-type alkaline phosphatase cDNA / F. Kishi, S. Matsuura, T. Kajii // *Nucleic Acids Res.* – 1989. – Vol. 17, № 5. – P. 2129.
179. Sequence divergence of 5' extremities in rat liver alkaline phosphatase mRNAs / Y. Toh, M. Yamamoto, H. Endo et al. // *J. Biochem.* – 1989. – Vol. 105. – P. 61–65.
180. Different missense mutations at the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene locus in autosomal recessively inherited forms of mild and severe

- hypophosphatasia / P. S. Henthorn, M. Raducha, K. N. Fedde et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1992. – Vol. 89. – P. 9924–9928.
181. Henthorn P. S. Missense mutations of the Tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene in hypophosphatasia / P. S. Henthorn, M. P. Whyte // *Clinical Chemistry.* – 1992. – Vol. 38, № 12. – P. 2501–2505.
182. Associations between serum bone-specific alkaline phosphatase activity, biochemical parameters, and functional polymorphisms of the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene in a Japanese population / N. Sogabe, R Tanabe, M Haraikawa // *Asia. Pac. J. Clin. Nutr.* – 2013. – Vol. 22 (1). – P. 160–165.
183. Molecular effects of the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene polymorphism (787T > C) associated with bone mineral density / N. Sogabe, K. Oda, H. Nakamura et al. // *Biomedical Research.* – 2008. – Vol. 29, № 4. – P. 213–219.
184. Mornet E. Hypophosphatasia: the mutations in the Tissue nonspecific alkaline phosphatase gene / E. Mornet // *Human mutation.* – 2000. – Vol. 15. – P. 309–315.
185. Dabisch-Ruthe M. Charakterisierung des pyrophosphatmetabolismus bei pseudoxanthoma elasticum / M. Dabisch-Ruthe // *Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften. Fakultät für Chemie Universität Bielefeld.* – 2014. – 2014, Februar. – 96 p.
186. Hypophosphatasia-associated deficiencies in mineralization and gene expression in cultured dental pulp cells obtained from human teeth / T. L. Rodrigues, B. L. Foster, K. G. Silverio et al. // *JOE.* – 2012. – Vol. 38, № 7. – P. 907–912.
187. Alkaline phosphatase knock-out mice recapitulate the metabolic and skeletal defects of infantile hypophosphatasia / K. Fedde, L. Blair, J. Silverstein et al. // *J Bone Miner Res.* – 1999. – Vol. 14. – P. 2015–2026.
188. Sustained osteomalacia of long bones despite major improvement in other hypophosphatasia-related mineral deficits in tissue nonspecific alkaline phosphatase/nucleotide pyrophosphatase phosphodiesterase 1 double-deficient

- mice / H. C. Anderson, D. Harmey, N. P. Camacho et al. // *Am. J. Pathol.* – 2005. – Vol. 166. – P. 1711–1720.
189. Narisawa S. Genetically modified mice for studying TNAP function / S. Narisawa // *Subcellular Biochemistry.* – 2015. – Vol. 76. – P. 45–57.
190. Tissue-nonspecific alkaline phosphatase and plasma cell membrane glycoprotein-1 are central antagonistic regulators of bone mineralization / L. Hessle, K. A. Johnson, H. C. Anderson et al. // *PNAS.* – 2002. – Vol. 99 (14). – P. 9445–9449.
191. Osteoprotegerin plasma levels are strongly associated with polymorphisms in human homologue of the mouse progressive ankylosis (ANKH) gene / Y. Vistoropsky, I. Malkin, E. Kobylansky, G. Livshits // *Annals of Human Genetics.* – 2007. – Vol. 71. – P. 302–307.
192. Ho A. M. Role of the mouse ank gene in control of tissue calcification and arthritis / A. M. Ho, M. D. Johnson, D. M. Kingsle // *Science.* – 2000. – Vol. 289. – P. 265–270.
193. Reginato A. J. Happy ending? The Ankh gene of calcium pyrophosphate deposition disease (CPDD) and craniometaphyseal dysplasia / A. J. Reginato // *Reumatología.* – 2003. – Vol. 19, № 2. – P. 93–96.
194. Autosomal dominant craniometaphyseal dysplasia is caused by mutations in the transmembrane protein ANK / E. Reichenberger, V. Tiziani, S. Watanabe et al. // *Am. J. Hum. Genet.* – 2001. – Vol. 68, № 6. – P. 1321–1326.
195. Heterozygous mutations in ANKH, the human ortholog of the mouse progressive ankylosis gene, result in craniometaphyseal dysplasia / P. Nurnberg, H. Thiele, D. Chandler et al. // *Nat. Genet.* – 2001. – Vol. 28, № 1. – P. 37–41.
196. Craniometaphyseal dysplasia: A case report / L. Lamazza, A. Messina, F. D'Ambrosio et al. // *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* – 2009. – Vol. 107. – P. 23–27.
197. Association of ANKH gene polymorphisms with radiographic hand bone size and geometry in a Chuvasha population / I. Malkin, S. Dahmb, A. Sukc et al. // *Bone.* – 2005. – Vol. 36. – P. 365–373.

198. Increased risk of temporomandibular joint closed lock: a case-control study of ANKH polymorphisms / B. Huang, K. Takahashi, T. Sakata et al. // PLoS ONE. – 2011. – Vol. 6, № 10. – P. 1–7.
199. Degeneration and calcification of the cervical endplate is connected with decreased expression of ANK, ENPP-1, OPN and TGF- β 1 in the intervertebral disc / K. A. Tomaszewski, D. Adamek, A. Pasternak et al. // Pol. J. Pathol. – 2014. – Vol. 65, № 3. – P. 210–217.
200. Role of the progressive ankylosis gene (Ank) in cartilage mineralization / W. Wang, J. Xu, B. Du et al. // Mol Cell Biol. – 2005. – Vol. 25. – P. 312–323.
201. P5L mutation in Ank results in an increase in extracellular inorganic pyrophosphate during proliferation and nonmineralizing hypertrophy in stably transduced ATDC5 cells / R. Zaka, D. Stokes, A. S. Dion et al. // Arthritis Res. Ther. – 2006. – Vol. 8, № 6. – P. 1–13.
202. Phosphodiesterase activity of alkaline phosphatase in ATP-initiated Ca²⁺ and phosphate deposition in isolated chicken matrix vesicles / L. Zhang, M. Balcerzak, J. Radisson et al. // J Biol Chem. – 2005. – Vol. 280. – P. 37289–37296.
203. Parallel regulation of extracellular ATP and inorganic pyrophosphate: roles of growth factors, transduction modulators, and ANK / J. C. Costello, A. K. Rosenthal, I. V. Kurup et al. // Connect. Tissue Res. – 2011. – Vol. 52. – P. 139–146.
204. Defective extracellular pyrophosphate metabolism promotes vascular calcification in a mouse model of Hutchinson-Gilford progeria syndrome that is ameliorated on pyrophosphate treatment / R. Villa-Bellosta, J. Rivera-Torres, F. G. Osorio et al. // Circulation. – 2013. – Vol. 127. – P. 2442–2451.
205. Sweet H. O. Progressive ankylosis, a new skeletal mutation in the mouse / H. O. Sweet, M. C. Green // J. Hered. – 1981. – Vol. 72, № 2. – P. 87–93.
206. Investigating ANKH and ENPP1 in Slovakian families with chondrocalcinosis / A. R. Couto, Y. Zhang, A. Timms et al. // Rheumatol. Int. – 2012. – Vol. 32. – P. 2745–2751.

207. Maternal mosaicism of an ANKH mutation in a family with craniometaphyseal dysplasia / T. Kato, H. Matsumoto, A. Chida et al. // *Pediatrics International*. – 2013. – Vol. 55. – P. 254–256.
208. Mutations in ANKH cause chondrocalcinosis / A. Pendleton, M. D. Johnson, A. Hughes et al. // *The American Journal of Human Genetics*. – 2002. – Vol. 71. – P. 933–940.
209. Investigating conversion of endplate chondrocytes induced by intermittent cyclic mechanical unconfined compression in three-dimensional cultures / H. G. Xu, W. Zhang, Q. Zheng et al. // *European Journal of Histochemistry*. – 2014. – Vol. 58. – P. 207–212.
210. The Inorganic Pyrophosphate Transporter ANK Preserves the Differentiated Phenotype of Articular Chondrocyte / F. Cailotto, S. Sebillaud, P. Netter et al. // *J. Biol. Chem.* – 2010. – Vol. 285, № 14. – P. 10572–10582.
211. Oxygen tension regulates the expression of ANK (progressive ankylosis) in an HIF-1–dependent manner in growth plate chondrocytes / R. Zaka, A. S. Dion, A. Kusnierz et al. // *J. Bone Miner. Res.* – 2009. – Vol. 24. – P. 1869–1878.
212. Hypoxia-inducible factor regulation of ANK expression in nucleus pulposus cells / R. Skubutyte, D. Markova, T. A. Freeman et al. // *Arthritis & Rheumatism*. – 2009. – Vol. 62, № 9. – P. 2707–2715.
213. Williams C. J. The role of ANKH in pathologic mineralization of cartilage / C. J. Williams // *Curr Opin Rheumatol*. – 2015. – Vol. 27. – PMID : 26599446.
214. Korecmaz C. ANKH and renal stone formation in ankylosing spondylitis / C. Korcmaz, J. A. Sayer // *The journal of rheumatology*. – 2012. – Vol. 39, № 8. – P. 1756.
215. Investigation of the role of ANKH in ankylosing spondylitis / A. E. Timms, Y. Zhang, L. Bradbury et al. // *Arthritis & Rheumatism*. – 2003. – Vol. 48, № 10. – P. 2898–2902.
216. Association of sporadic chondrocalcinosis with a –4-Basepair G-to-A transition in the 5-untranslated region of ANKH that promotes enhanced expression of ANKH protein and excess generation of extracellular inorganic

- pyrophosphate / Y. Zhang, K. Johnson, R. Graham et al. // *Arthritis & Rheumatism*. – 2005. – Vol. 52, № 4. – P. 1110–1117.
217. Contribution of the putative genetic factors and ANKH gene polymorphisms to variation of circulating calciotropic molecules, PTH and BGP / Y. Vistorovsky, M. Keter, I. Malkin et al. // *Human Molecular Genetics*. – 2007. – Vol. 16, № 10. – P. 1233–1240.
218. ANKH variants associated with ankylosing spondylitis: gender differences / H. W. Tsui, R. D. Inman, A. D. Paterson et al. // *Arthritis Research & Therapy*. – 2005. – Vol. 7. – P. 513–525.
219. Association of mineralization-related genes TNAP and ANKH polymorphisms with ankylosing spondylitis in the Chinese Han population / Z. Liu, Y. Cui, X. Zhou et al. // *BioScience Trends*. – 2013. – Vol. 7, № 2. – P. 89–92.
220. ANKH and susceptibility to and severity of ankylosing spondylitis / F. M. Pimentel-Santos, D. Ligerio, M. Matos et al. // *The Journal of Rheumatology*. – 2012. – Vol. 39, № 1. – P. 131–134.
221. Autosomal recessive mental retardation, deafness, ankylosis, and mild hypophosphatemia associated with a novel ANKH mutation in a consanguineous family / E. Morava, J. Kuhnisch, J. M. Drijvers et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2011. – Vol. 96, № 1. – P. 189–198.
222. Two novel large ANKH deletion mutations in sporadic cases with craniometaphyseal dysplasia / E. H. Dutra, I. P. Chen, T. L. McGregor et al. // *Clin Genet*. – 2012. – Vol. 81, № 1. – P. 93–95.
223. Activation of nuclear factor-kappa B accelerates vascular calcification by inhibiting progressive ankylosis protein homolog expression / G. Zhao, M. J. Xu, M. M. Zhao et al. // *Kidney Int*. – 2012. – Vol. 82, № 1. – P. 34–44.
224. Mutations in the human ANKH gene are associated with Adult Onset Chondrocalcinosis due to calcium pyrophosphate crystal deposition / A. Pendleton, M. D. Johnson, A. Hughes et al. // *J. Human Genet*. – 2002. – Vol. 71. – P. 933–940.

225. Williams C. J. Familial calcium pyrophosphate dihydrate deposition disease and the ANKH gene / C. J. Williams // *Curr. Opin. Rheumatol.* – 2003. – Vol. 15. – P. 326–331.
226. Autosomal dominant familial calcium pyrophosphate dihy (CPPDD) is caused by mutation in the transmembrane protein Ank / C. Williams, Y. Zhang, A. Timms et al. // *J. Human Genet.* – 2002. – Vol. 71. – P. 985–991.
227. Ryan L. M. Metabolism of extracellular pyrophosphate / L. M. Ryan, A. K. Rosenthal // *Curr Opin Rheumatol.* – 2003. – Vol. 15. – P. 311–314.
228. Kirsch T. Progressive ankylosis gene (ank) regulates osteoblast differentiation / T. Kirsch, H. J. Kim, J. A. Winkles // *Cells Tissues Organs.* – 2009. – Vol. 189. – P. 158–162.
229. Braunwald E. ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non ST-elevation myocardial infarction: executive summary and recommendations. A report of the american college of cardiology / E. Braunwald, E. M. Antman, J. W. Beasley et al. // *Circulation.* – 2000. – Vol. 102. – P. 1193–1209.
230. Bertrand M. E. Management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation / M. E. Bertrand, M. L. Simoons, K. A. Fox et al. // *Eur Heart J.* – 2002. – Vol 23. – P. 1809–1840.
231. Expanding the decrease in the U.S. deaths from coronary disease, 1980–2000 / E. S. Ford, U. A. Ajani, J. B. Croft et al. // *The N. Engl. J. Med.* – 2007. – Vol. 356. – P. 2388–2398.
232. Pyrophosphates as a major inhibitor of matrix calcification in Pseudoxanthoma elasticum / M. Dabisch-Ruth, P. Kuzaj, C. Götting et al. // *Journal of Dermatological Science.* – 2014. – Vol. 75, №2. – P. 109–120.
233. Functional analysis of the single nucleotide polymorphism (787T>C) in the Tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene associated with BMD / M. Goseki-Sone, N. Sogabe, M. Fukushi-Irie et al // *J. Bone Miner. Res.* – 2005. – Vol. 20. – P. 773–782.

234. The association of PC-1 (ENPP1) K121Q polymorphism with metabolic syndrome in patients with coronary heart disease / I. Tasic, M. Milojkovic, R. Sunder-Plassmann et al. // *Clinica Chimica Acta*. – 2007. – Vol. 377. – P. 237–242.
235. PC-1 (ENPP1) K121Q polymorphism in overweight and obese type 2 diabetic coronary heart disease patients / G. Lazarevic, M. Milojkovic, I. Tasic et al. // *Acta Cardiologica*. – 2008. – Vol. 63, № 3. – P. 323–330.
236. The K121Q polymorphism of ENPP1 and peripheral arterial disease / P. Eller, W. Schgoer, T. Mueller et al. // *Heart Vessels*. – 2008. – Vol. 23. – P. 104–107.
237. Association of atherosclerosis with dyslipidemia and co-morbid conditions: A descriptive study / R. Garg, S. Aggarwal, R. Kumar, G. Sharma // *J. Nat. Sci. Biol. Med.* – 2015. – Vol. 6 (1). – P. 163–168.
238. The pathogenesis of atherosclerosis / P. Libby, D. L. Kasper, E. Braunwald et al. // *Harrison's Principles of Internal Medicine*. – 16th ed. – New York : McGraw-Hill. – 2005. – P. 1425–1430.
239. Dyslipidemia / R. L. Talbert, J. T. Diprio, G. C. Yee et al. // *Pharmacotherapy – A Pathophysiological Approach*. – 8th ed. – New York : McGraw-Hill. – 2008. – P. 365–388.
240. Нейфельд И. В. Факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний женщин / И. В. Нейфельд, А. И. Жирняков, И. Н. Скупова // *Бюллетень медицинских интернет-конференций*. – 2012. – Т. 2, № 12. – С. 994–996.
241. ENPP1 Q121 variant, increased pulse pressure and reduced insulin signaling, and nitric oxide synthase activity in endothelial cells / S. Bacci, R. Paola, C. Menzaghi et al. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2009. – Vol. 29. – P. 1678–1683.
242. The genetic susceptibility to type 2 diabetes may be modulated by obesity status: implications for association studies / S. Cauchi, K. T. Nead, H. Choquet et al. // *BMC Med. Genet.* – 2008. – Vol. 45. – P. 1–9.

243. Possible role for ENPP1 polymorphism in obesity but not for INSIG2 and PLIN variants / A. Peeters, S. Beckers, A. Verrijken et al. // *Endocrine*. – 2009. – Vol. 36. – P. 103–109.
244. Кваша О. О. Рекомендації з профілактики і лікування тютюнопаління / О. О. Кваша, І. М. Горбась, І. П. Смирнова // *Здоров'я України*. – 2010. – № 2 (231). – С. 34–36.
245. Зайцев В. М. Прикладная медицинская статистика / В. М. Зайцев, В. Г. Лифляндский, В. И. Маринкин. – М. : Фолиант, 2006. – 432 с.

Додаток А

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи Вишого державного навчального закладу України
 медична стоматологічна академія України, заслужений діяч науки і техніки України, доктор медичних наук, професор
 І.П. Кайдашев
 2015 р.



АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: Зв'язок генів інгібіторів та активаторів ектопічної кальцифікації з механізмами розвитку гострого коронарного синдрому
2. Установа-розробник: Сумський державний університет, медичний інститут, кафедра фізіології і патофізіології з курсом медичної біології, аспірант І.О. Розуменко
3. Джерело інформації:
 Розуменко І.О. Зв'язок K121Q поліморфізму гена ENPP1 з гострим коронарним синдромом в осіб різної статі / І.О. Розуменко // J. Clin. Exp. Med. Res. - 2014. - Т. 2, № 3 (1). - С.38-44.
 Розуменко І.О. Зв'язок K121Q поліморфізму гена ENPP1 з гострим коронарним синдромом в осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском / І.О. Розуменко, Д.А. Прасол, В.Ю. Гарбузова та ін. // Вісник проблем біології і медицини. - 2014. - Т. 3 (№115). - С. 66-70.
 Rozumenko I.A. K121Q Polymorphism of the ENPP1 Gene is Related to Acute Coronary Syndrome in Ukrainian Patients with Normal but not Enhanced Body Mass Index / I.A. Rozumenko, V.Y. Garbusova, Yu.A. Ataman [et al.] // OnLine Journal of Biological Sciences. - 2014. - Vol. 14 (4). - P. 271-276.
4. Базова установа, яка проводить впровадження: ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», кафедра патофізіології.
5. Термін впровадження: січень 2015 - травень 2015 р.
6. Форма впровадження: матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри - лекційному курсі і практичних заняттях за темою «Серцева недостатність, механізми компенсації та декомпенсації. Порушення коронарного кровообігу».
7. Зауваження та пропозиції: не вносилися

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

В.О. Костенко

Додаток Б

ЗАТВЕРДЖУЮ



Проректор з науково-педагогічної
роботи Вінницького національного
медичного університету ім. М.І. Пирогова

проф. Ю.Й. Гумінський

» _____ 2015 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Зв'язок генів інгібіторів та активаторів ектопічної кальцифікації з механізмами розвитку гострого коронарного синдрому
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет, медичний інститут, кафедра фізіології і патофізіології з курсом медичної біології, аспірант І.О. Розуменко
3. **Джерело інформації:**
 - Розуменко І.О. Зв'язок K121Q поліморфізму гена ENPP1 з гострим коронарним синдромом в осіб різної статі / І.О. Розуменко // J. Clin. Exp. Med. Res. – 2014. – Т. 2, № 3 (1). – С.38-44.
 - Розуменко І.О. Зв'язок K121Q поліморфізму гена ENPP1 з гострим коронарним синдромом в осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском / І.О. Розуменко, Д.А. Прасол, В.Ю. Гарбузова та ін. // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Т. 3 (№115). – С. 66-70.
 - Rozumenko I.A. K121Q Polymorphism of the ENPP1 Gene is Related to Acute Coronary Syndrome in Ukrainian Patients with Normal but not Enhanced Body Mass Index / I.A. Rozumenko, V.Y. Garbusova, Yu.A. Ataman et al. // OnLine Journal of Biological Sciences. – 2014. – Vol. 14 (4). – P. 271-276.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра патологічної фізіології
5. **Термін впровадження:** січень 2015 – травень 2015 р.
6. **Форма впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі і практичних заняттях
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри патологічної фізіології,
д. мед. наук, професор

Рикало Н.А.

Додаток В

ЗАТВЕРДЖУЮ
Перший проректор Сумського
державного університету
В.Д. Карпуша
« » 2015 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Зв'язок генів інгібіторів та активаторів ектопічної кальцифікації з механізмами розвитку гострого коронарного синдрому

2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет, медичний інститут, кафедра фізіології і патофізіології з курсом медичної біології, аспірант І.О. Розуменко

3. **Джерело інформації:**

- Розуменко І.О. Зв'язок K121Q поліморфізму гена ENPP1 з гострим коронарним синдромом в осіб різної статі / І.О. Розуменко // J. Clin. Exp. Med. Res. – 2014. – Т. 2, № 3 (1). – С.38-44.
- Розуменко І.О. Зв'язок K121Q поліморфізму гена ENPP1 з гострим коронарним синдромом в осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском / І.О. Розуменко, Д.А. Прасол, В.Ю. Гарбузова та ін. // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Т. 3 (№115). – С. 66-70.
- Rozumenko I.A. K121Q Polymorphism of the ENPP1 Gene is Related to Acute Coronary Syndrome in Ukrainian Patients with Normal but not Enhanced Body Mass Index / I.A. Rozumenko, V.Y. Garbusova, Yu.A. Ataman et al. // OnLine Journal of Biological Sciences. – 2014. – Vol. 14 (4). – P. 271-276.

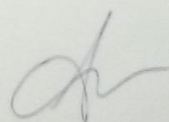
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Сумський державний університет, медичний інститут, сімейної медицини з курсами пропедевтики внутрішніх хвороб та ендокринології

5. **Термін впровадження:** січень 2015 – травень 2015 р.

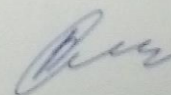
6. **Форма впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі і практичних заняттях

7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися

Відповідальний за впровадження:
доцент кафедри сімейної медицини з
курсами пропедевтики внутрішніх хвороб
та ендокринології,
д. мед. наук, доцент



Атаман Ю.О.



Додаток Г

ЗАТВЕРДЖУЮ
Проректор з науково-педагогічної роботи
Тернопільського державного медичного
університету ім. І.Я. Горбачевського
А.Г. Шульгай
« » 2015 р.

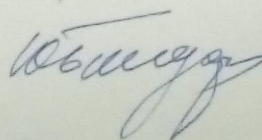
АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Зв'язок генів інгібіторів та активаторів ектопічної кальцифікації з механізмами розвитку гострого коронарного синдрому
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет, медичний інститут, кафедра фізіології і патофізіології з курсом медичної біології, аспірант І.О. Розуменко
3. **Джерело інформації:**
 - Розуменко І.О. Зв'язок K121Q поліморфізму гена ENPP1 з гострим коронарним синдромом в осіб різної статі / І.О. Розуменко // J. Clin. Exp. Med. Res. – 2014. – Т. 2, № 3 (1). – С.38-44.
 - Розуменко І.О. Зв'язок K121Q поліморфізму гена ENPP1 з гострим коронарним синдромом в осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском / І.О. Розуменко, Д.А. Прасол, В.Ю. Гарбузова та ін. // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Т. 3 (№115). – С. 66-70.
 - Rozumenko I.A. K121Q Polymorphism of the ENPP1 Gene is Related to Acute Coronary Syndrome in Ukrainian Patients with Normal but not Enhanced Body Mass Index / I.A. Rozumenko, V.Y. Garbusova, Yu.A. Ataman et al. // OnLine Journal of Biological Sciences. – 2014. – Vol. 14 (4). – P. 271-276.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології
5. **Термін впровадження:** січень 2015 – травень 2015 р.
6. **Форма впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі і практичних заняттях
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри патологічної фізіології,

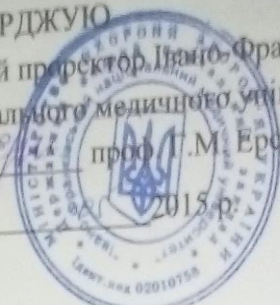
д. мед. наук, професор



Бондаренко Ю.І.

Додаток Д

ЗАТВЕРДЖУЮ
 Перший проректор Івано-Франківського
 національного медичного університету
 проф. Л.М. Заяць
 «14» _____ 2015 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: Зв'язок генів інгібіторів та активаторів ектопічної кальцифікації з механізмами розвитку гострого коронарного синдрому

2. Установа-розробник: Сумський державний університет, медичний інститут, кафедра фізіології і патофізіології з курсом медичної біології, аспірант І.О. Розуменко

3. Джерело інформації:

- Розуменко І.О. Зв'язок K121Q поліморфізму гена ENPP1 з гострим коронарним синдромом в осіб різної статі / І.О. Розуменко // J. Clin. Exp. Med. Res. – 2014. – Т. 2, № 3 (1). – С.38-44.
- Розуменко І.О. Зв'язок K121Q поліморфізму гена ENPP1 з гострим коронарним синдромом в осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском / І.О. Розуменко, Д.А. Прасол, В.Ю. Гарбузова та ін. // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Т. 3 (№115). – С. 66-70.
- Rozumenko I.A. K121Q Polymorphism of the ENPP1 Gene is Related to Acute Coronary Syndrome in Ukrainian Patients with Normal but not Enhanced Body Mass Index / I.A. Rozumenko, V.Y. Garbusova, Yu.A. Ataman et al. // OnLine Journal of Biological Sciences. – 2014. – Vol. 14 (4). – P. 271-276.


4. Базова установа, яка проводить впровадження: Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра патологічної фізіології

5. Термін впровадження: січень 2015 – травень 2015 р.

6. Форма впровадження: матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі і практичних заняттях

7. Зауваження та пропозиції: не вносилися

Відповідальний за впровадження:
 завідувач кафедри патологічної фізіології,
 д. мед. наук, професор



Заяць Л.М.

Додаток Е

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової та лікувальної роботи

ДЗ «Дніпропетровська медична академія
МОЗ України», д.мед.н., професор

В. Й. Мамчур

2015 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Зв'язок генів інгібіторів та активаторів ектопічної кальцифікації з механізмами розвитку гострого коронарного синдрому
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет, медичний інститут, кафедра фізіології і патофізіології з курсом медичної біології, аспірант І.О. Розуменко
3. **Джерело інформації:**
 - Розуменко І.О. Зв'язок K121Q поліморфізму гена ENPP1 з гострим коронарним синдромом в осіб різної статі / І.О. Розуменко // J. Clin. Exp. Med. Res. – 2014. – Т. 2, № 3 (1). – С.38-44.
 - Розуменко І.О. Зв'язок K121Q поліморфізму гена ENPP1 з гострим коронарним синдромом в осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском / І.О. Розуменко, Д.А. Прасол, В.Ю. Гарбузова та ін. // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Т. 3 (№115). – С. 66-70.
 - Rozumenko I.A. K121Q Polymorphism of the ENPP1 Gene is Related to Acute Coronary Syndrome in Ukrainian Patients with Normal but not Enhanced Body Mass Index / I.A. Rozumenko, V.Y. Garbusova, Yu.A. Ataman et al. // OnLine Journal of Biological Sciences. – 2014. – Vol. 14 (4). – P. 271-276.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», кафедра патологічної фізіології.
5. **Термін впровадження:** січень 2015 – травень 2015 р.
6. **Форма впровадження:** матеріали використовуються в науково-педагогічному процесі кафедри.
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

в.о. Зав. кафедрою патологічної фізіології,
д.мед.н., професор

Сілкина Ю. В.