

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

*На правах рукопису*

**Розуменко Інна Олександрівна**

616.13-004.6-092.18:575(043.3)

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

Спеціальність 14.03.04 – патологічна фізіологія

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Суми – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Сумському державному університеті МОН України.

**Науковий керівник** – доктор біологічних наук, професор  
**Гарбузова Вікторія Юріївна**,  
Сумський державний університет  
МОН України (м. Суми),  
професор кафедри фізіології і  
патофізіології з курсом медичної біології.

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор  
**Досенко Віктор Євгенович**,  
Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця  
НАН України (м. Київ),  
завідувач відділу загальної та молекулярної патофізіології;

доктор медичних наук, професор  
**Зябліцев Сергій Володимирович**,  
Український науково-практичний центр ендокринної  
хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин  
МОЗ України (м. Київ), завідувач відділу патофізіології,  
імунології та трансплантології.

Захист відбудеться «30» червня 2016 р. об 11.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 при Сумському державному університеті (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31).

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Сумського державного університету (40007, м. Суми, вул. Римського-Корсакова, 2).

Автореферат розісланий «\_\_» травня 2016 року.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради,  
кандидат медичних наук

О. С. Погорєлова

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**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 (Сагаловски С., Рихтер Т., 2012). В Європі від гострого інфаркту міокарда помирає кожний шостий чоловіка і кожна сьома жінка (Урсуляк Ю. В., 2015). Статистичні дані свідчать, що сьогодні Україна посідає перше місце серед країн Європи за рівнем смертності від серцево-судинних захворювань (ССЗ) (Державна служба статистики в Україні, 2012). За даними Державної служби статистики в Україні 65,8 % смертей припадає на ССЗ (Медико-демографічний атлас України, 2010), хворобами системи кровообігу страждають 25,9 млн осіб. За останні 25 років поширеність ССЗ серед населення країни зросла у 3 рази, а рівень смертності від них збільшився на 45 % (Лутай М. І., 2012).

Очевидно, що традиційні підходи у діагностиці та лікуванні ССЗ є неефективними. Тому зусилля світової наукової спільноти сьогодні спрямовані на пошук нових сучасних засобів прогнозування, профілактики, діагностики та лікування цих хвороб (Досенко В. Є., 2006; Сидорчук Л. П. та ін., 2009; Воронков Л. Г., Горовенко Н. Г. та ін., 2013). 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 ССЗ є атеросклеротичний процес (Ferrari R. et al., 2006). 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 (Пархоменко А. Н., 2000; Атаман О. В., 2016). 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. Доведено, що розвиток гострих коронарних подій із руйнуванням атеросклеротичної бляшки у 70–80 % випадків відбувається на тлі кальцифікації коронарних артерій (Schmermund A., 2002; Талаєва Т. В., 2014). На сьогодні показник кальцифікації коронарних судин є достовірною прогностичною передумовою розвитку кардіоваскулярних патологій і кардіальної смертності (Detrano R. et al., 2008; Polonsky T. S. et al., 2010).

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 (Towler D. A., 2005). Кількість PPi у судинній

стінці визначається дією 3 основних ферментів: два з яких – ENPP1 та ANKH – забезпечують підвищення концентрації PPI й захищають судинну стінку від кальцифікації, третій – TNAP – сприяє кальцифікації шляхом гідролізу PPI (Clement T. et al., 2014; Huesa C. et al., 2015; Ramaswamy J. et al., 2015; Zweifler L. E. et al., 2014; Du G. et al., 2016). Активність цих ферментів залежить від багатьох факторів, зокрема й від структури генів, що кодують відповідні білки.

Незважаючи на значну кількість праць, присвячених ролі алельного поліморфізму генів у розвитку атеросклерозу та його ускладнень, дані про значення антикальциногенних маркерів, серед яких PPI, 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* та 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 з 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/м<sup>2</sup>, носіїв мінорного алеля, гострий коронарний синдром виникає в 3,9 (K121Q поліморфізм гена *ENPP1*) та 3,1 (T134967G поліморфізм гена *ANKH*) раза частіше, ніж у гомозигот за основним алелем. Ризик розвитку ГКС у пацієнтів з ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup>, носіїв мінорного алеля за A69314G поліморфізмом гена *TNAP*, майже у 2,9 раза 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 раза 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 раза 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 з ГКС. У хворих з 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 ГКС 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 2014 р., 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 2015 р., Тернопіль); Республіканській науково-практичній конференції «Метаболічний синдром: інсулінорезистентність та інші категорії дисметаболізму» (10 квітня 2015 р., Ташкент); XIX з'їзді Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю, присвяченого 90-річчю від дня народження академіка П. Г. Костюка (24–26 травня 2015 р., Львів);

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

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали і методи дослідження.** Для досліджень використано венозну кров 118 хворих з ГКС (22 % жінок і 78 % чоловіків із середнім віком  $55,9 \pm 0,88$  роки) і 110 осіб контрольної групи (29 % жінок і 71 % чоловіків, середній вік –  $54,0 \pm 0,74$  роки). Відсутність захворювань з боку серцево-судинної системи в контрольній групі підтверджували за допомогою збору анамнезу, реєстрації електрокардіограми (ЕКГ), вимірювання артеріального тиску та дослідження біохімічних показників крові.

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 (Braunwald E. et al., 2000; Bertrand M. E. et al., 2002). Основним критерієм залучення пацієнтів до дослідження було виявлення ангінозного больового синдрому в стані спокою, що тривав від 10 до 30 хв протягом 24 годин до госпіталізації із змінами ЕКГ без навантаження (депресія сегмента «ST» 1 мм та більше або інверсія зубця «Т» 2 мм та більше щонайменше у двох суміжних відведеннях). У результаті обстеження діагноз нестабільної стенокардії було встановлено у 33,5 % пацієнтів, а діагноз гострого інфаркту міокарда – у 66,5 % пацієнтів.

До дослідження не були залучені пацієнти з хронічною серцевою недостатністю ІІ–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.

*Молекулярно-генетичні дослідження.* 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. Досліджувану кров набирали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,7 мл із калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти (11,7 мМ) як антикоагулянт («Sarstedt», Німеччина), заморожували та зберігали за температури  $-20$  °С. Виділення геномної ДНК проводили з використанням комерційного набору «Diatom DNA Prep 100» (ООО «Лабораторія «Ізоген», Росія).

Визначення алельного K121Q поліморфізму гена *ENPP1*, A69314G поліморфізму гена *TNAP* та T134967G поліморфізму гена *ANKH* проводили методом полімеразної ланцюгової реакції з подальшим аналізом довжини рестрикційних фрагментів (PCR-RFLP) (табл. 1) у термоциклері GeneAmp PCR System 2700 («Applied Biosystems», США). Для проведення PCR використовували пари специфічних праймерів («Metabion», Німеччина) і рестриктази («Thermo Scientific», США). Ампліфікати вивчених фрагментів досліджуваних генів розділяли в 2,5 %

агарозному гелі, що містив 10 мкг/мл бромистого етидію. Візуалізацію ДНК після електрофорезу здійснювали за допомогою транслюмінатора («Біоком», Росія).

Таблиця 1

## Умови проведення PCR і рестрикційного аналізу

Ген	Поліморфізм	Структура праймерів	Рестрик-таза	Фрагменти рестрикції, п.о.
<i>ENPP1</i>	K121Q rs1044498	П 5' CTGTGTTCACTTTGGACATGTTG 3' З 5' GACGCTGGAAGATACCAGGCTG 3'	Eco47I (AvaII)	238, 148, 90
<i>TNAP</i>	A69314G rs3200255	П 5' CCTAATTCTGGGCCACAAA 3' З 5' CCTTCCACCAGCAAGAAGAA 3'	BclI (NciI)	308, 185, 123
<i>ANKH</i>	T134967G rs187483	П 5' AACCTCTTCCTTTCTGCAGC 3' З 5' CCAGAATAACCCAGCAACA 3'	Hin6I (HinPII)	350, 235, 115

*Статистичні методи дослідження.* Статистичний аналіз 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, реалізованими у програмі SPSS-17. Перевірку різниці розподілу генотипів здійснювали за допомогою  $\chi^2$ -критерію Пірсона. Значення  $P < 0,05$  вважали статистично значущими. Визначення достовірності відмінностей між двома вибірками проводили за допомогою критерію Стьюдента (t). Відмінність вважали достовірною, якщо ймовірність випадкової різниці не перевищувала 0,05 ( $P < 0,05$ ). Для дослідження значущості відмінностей між середніми значеннями декількох груп даних використовували однофакторний дисперсійний аналіз із критерієм Фішера. Для прогнозування ризику розвитку гострого коронарного синдрому було використано метод логістичної регресії.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

**Вплив алельного поліморфізму K121Q гена *ENPP1* на розвиток гострого коронарного синдрому.** Розподіл генотипів K/K, K/Q і Q/Q у контролі становив 75,5; 24,5 і 0,0 %, а серед хворих з ГКС – 67,0; 30,5 і 2,5 % відповідно ( $\chi^2 = 2,002$ ;  $P = 0,157$ ). Отже, відмінності у розподілі K121Q поліморфних варіантів генотипу між хворими з ГКС та здоровими пацієнтами не виходили за межі статистичної значущості.

*Аналіз за показником індексу маси тіла.* Аналіз зв'язку K121Q поліморфізму з розвитком ГКС у контрольній групі та у хворих з ГКС залежно від величини ІМТ засвідчив, що в осіб зі збільшеним ІМТ не існує різниці у розподілі генотипів ( $\chi^2 = 0,187$ ;  $P = 0,665$ ). Проте серед пацієнтів з ІМТ  $< 25$  кг/м<sup>2</sup> виявлений зв'язок між K121Q поліморфізмом і розвитком ГКС. Так, співвідношення генотипів (K/K і K/Q + Q/Q) серед пацієнтів з ІМТ  $< 25$  кг/м<sup>2</sup> у контролі становило 81,2 і 18,8 %, а у хворих з ГКС – 52,4 і 47,6 % відповідно ( $\chi^2 = 5,014$ ;  $P = 0,025$ ). Методом логістичної регресії підтверджено, що ризик виникнення ГКС в осіб з ІМТ  $< 25$  кг/м<sup>2</sup>, носіїв



мінорного алеля, у 3,9 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем ( $P = 0,029$ ;  $OR = 3,939$ ).

Під час розподілу пацієнтів на дві підгрупи за варіантами генотипів (К/К і К/Q + Q/Q) виявився достовірний зв'язок між величиною ІМТ та розвитком ГКС у пацієнтів з К/К генотипом (табл. 2). Так, частота осіб з  $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$  та  $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$  у гомозигот за основним алелем серед групи контролю дорівнювала 31,3 і 68,7 %, а серед хворих з ГКС – 13,9 і 86,1 % відповідно ( $\chi^2 = 6,955$ ;  $P = 0,008$ ). В осіб з К/Q + Q/Q генотипом не виявлено достовірного зв'язку між величиною ІМТ та розвитком ГКС ( $\chi^2 = 0,102$ ;  $P = 0,750$ ).

Таблиця 2

**Частота осіб з нормальним і підвищеним ІМТ у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за К121Q поліморфізмом гена ENPP1**

Генотип	ІМТ	Контроль, n (%)	ГКС, n (%)
К/К	$ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$	26 (31,3 %)	11 (13,9 %)
	$ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$	57 (68,7 %)	68 (86,1 %)
$\chi^2 = 6,955$ ; $P = 0,008$			
К/Q + Q/Q	$ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$	6 (22,2 %)	10 (25,6 %)
	$ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$	21 (77,8 %)	29 (74,4 %)
$\chi^2 = 0,102$ ; $P = 0,750$			

Примітки. Тут і в інших таблицях. Подано частоту генотипу в абсолютних одиницях і відсотках.  $P$  – статистична значущість відмінностей між порівнюваними групами за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона

*Аналіз за фактом паління.* Було встановлено відмінність у підгрупах пацієнтів, утворених за окремими алельними варіантами гена ENPP1 (табл. 3). Серед осіб з К/К генотипом співвідношення тих, хто не палить, і курців у контролі становило 74,7 і 25,3 %, а у хворих з ГКС – 57,0 і 43,0 %. Отже, у гомозигот за основним алелем К/К встановлено достовірний зв'язок між фактом паління та розвитком ГКС ( $\chi^2 = 5,678$ ;  $P = 0,017$ ). У носіїв мінорного алеля одержано інші результати: в осіб з К/Q + Q/Q генотипом достовірного зв'язку між розвитком ГКС та палінням виявлено не було ( $\chi^2 = 3,062$ ;  $P = 0,080$ ).

Таблиця 3

**Частота осіб, які палять і не палять, у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за К121Q поліморфізмом гена ENPP1**

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

*Аналіз за показниками вмісту ліпідів у плазмі крові та коагуляції крові.* Установлено, що в осіб з генотипом К/К показники ХС-ЛПНЩ, індекс атерогенності та фібринолітична активність достовірно вищі, ніж у носіїв мінорного алеля (К/К + Q/Q). Так, у хворих з ГКС з різними варіантами генотипів (К/К і К/К + Q/Q) показник ХС-ЛПНЩ дорівнював ( $4,75 \pm 0,17$ ) ммоль/л проти ( $4,12 \pm 0,26$ ) ммоль/л ( $P = 0,039$ ); індекс атерогенності – ( $5,97 \pm 0,31$ ) проти ( $4,91 \pm 0,40$ ) ( $P = 0,046$ ); фібринолітична активність – ( $479,37 \pm 4,12$ ) сек проти ( $462,31 \pm 6,30$ ) сек ( $P = 0,022$ ) відповідно. Достовірної різниці в показниках загального ХС ( $P = 0,075$ ), ХС-ЛПДНЩ ( $P = 0,598$ ), ХС-ЛПВЩ ( $P = 0,062$ ), тригліцеридів ( $P = 0,598$ ) і фібриногену ( $P = 0,817$ ) у хворих з ГКС з різними поліморфними варіантами не виявлено.

Аналіз асоціації К121Q поліморфізму гена *ENPP1* виявив відсутність зв'язку дослідженого поліморфізму з розвитком ГКС з урахуванням таких факторів ризику як стать, артеріальна гіпертензія та цукровий діабет.

Таким чином, у результаті проведеного аналізу зв'язку К121Q поліморфізму гена *ENPP1* із розвитком ГКС та факторами його ризику встановлено, що вивчений поліморфізм не асоційований із виникненням ГКС. Проте доведений зв'язок К121Q поліморфних варіантів із деякими факторами ризику ГКС. Так, ризик виникнення захворювання в осіб з ІМТ  $< 25$  кг/м<sup>2</sup>, які є носіями мінорного алеля, у 3,9 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем. Доведений достовірний зв'язок між фактом паління та розвитком ГКС у пацієнтів з генотипом К/К. Виявлено асоціацію К121Q поліморфізму з порушеннями ліпопротеїнового обміну та коагуляції крові у хворих з ГКС.

**Зв'язок А69314G поліморфізму гена *TNAP* із розвитком гострого коронарного синдрому.** Результати генотипування за А69314G поліморфізмом гена *TNAP* дали можливість зробити висновок про наявність зв'язку між даним поліморфізмом і розвитком ГКС. Так, в осіб з ГКС співвідношення гомозигот за основним алелем А/А та носіїв мінорного алеля А/Г + Г/Г становило 69,5 і 30,5 %, тоді як у контролі ці показники дорівнювали 83,6 і 16,4 % відповідно ( $\chi^2 = 6,302$ ;  $P = 0,012$ ).

Методом логістичної регресії доведено, що ризик виникнення ГКС в осіб, які були носіями мінорного алеля А/Г + Г/Г, у 2,24 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем А/А ( $P = 0,013$ ; OR = 2,244).

*Аналіз за статтю.* Установлена відмінність у розподілі алельних варіантів за А69314G поліморфізмом у групах порівняння в осіб чоловічої статі. Так, чоловіків з різними варіантами генотипів (А/А і А/Г + Г/Г) серед хворих з ГКС було 69,6 і 30,4 %, а серед контролю – 83,3 і 16,7 % ( $\chi^2 = 4,372$ ;  $P = 0,037$ ). В осіб жіночої статі не виявлено достовірної відмінності між співвідношенням генотипів та розвитком ГКС ( $\chi^2 = 1,892$ ;  $P = 0,169$ ).

За допомогою методу логістичної регресії доведено, що ризик виникнення ГКС в осіб чоловічої статі носіїв мінорного алеля А/Г + Г/Г у 2,19 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем А/А.

*Аналіз за показником індексу маси тіла.* У пацієнтів з ІМТ  $< 25$  кг/м<sup>2</sup> не виявлено достовірного зв'язку між даним поліморфізмом і розвитком ГКС ( $\chi^2 = 0,027$ ;  $P = 0,869$ ). В осіб з ІМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup> спостерігались інші результати. Так,

розподіл пацієнтів з надмірною вагою з різними варіантами генотипів (A/A і A/G + G/G) у контрольній групі дорівнював 85,9 і 14,1 %, у хворих з ГКС – 68,0 і 32,0 % відповідно. Отже, в осіб з ІМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup> існує достовірний зв'язок A69314G поліморфізму із розвитком ГКС ( $\chi^2 = 7,558$ ; P = 0,006).

За допомогою методу логістичної регресії підтверджено, що ризик виникнення ГКС в осіб з ІМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup> з генотипом A/G + G/G, майже у 2,9 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем (P = 0,007; OR = 2,861).

Також було виявлено зв'язок між величиною ІМТ і розвитком ГКС у носіїв мінорного алеля (табл. 4). Так, осіб із A/G + G/G генотипом у контролі з ІМТ  $< 25$  кг/м<sup>2</sup> було 38,9 %, а з ІМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup> – 61,1 %, а у хворих з ГКС з різними величинами ІМТ – 13,9 і 86,1 % відповідно. Отже, у тих, хто мав надмірну вагу, ГКС розвивається достовірно частіше ( $\chi^2 = 4,339$ ; P = 0,037). В осіб з генотипом A/A не існує достовірного зв'язку між величиною ІМТ та ризиком виникнення ГКС ( $\chi^2 = 1,413$ ; P = 0,235).

Таблиця 4

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

Генотип	ІМТ	Контроль, n (%)	ГКС, n (%)
A/A	ІМТ $< 25$ кг/м <sup>2</sup>	25 (27,2 %)	16 (19,5 %)
	ІМТ $\geq 25$ кг/м <sup>2</sup>	67 (72,8 %)	66 (80,5 %)
$\chi^2 = 1,413$ ; P = 0,235			
A/G + G/G	ІМТ $< 25$ кг/м <sup>2</sup>	7 (38,9 %)	5 (13,9 %)
	ІМТ $\geq 25$ кг/м <sup>2</sup>	11 (61,1 %)	31 (86,1 %)
$\chi^2 = 4,339$ ; P = 0,037			

*Аналіз за фактом паління.* Частота генотипів за A69314G поліморфізмом гена TNAP серед тих, які не палять, достовірно не відрізнялась у практично здорових індивідуумів та хворих з ГКС ( $\chi^2 = 1,831$ ; P = 0,176). Серед курців співвідношення поліморфних варіантів (A/A і A/G + G/G) у контрольній групі становило 86,2 і 13,8 %, а серед хворих з ГКС – 64,8 і 35,2 % відповідно. Отже, у курців виявлено зв'язок між даним поліморфізмом гена TNAP та розвитком ГКС ( $\chi^2 = 4,310$ ; P = 0,038). Методом логістичної регресії встановлено, що ризик виникнення ГКС у курців – носіїв мінорного алеля – майже у 3,4 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем (P = 0,045; OR = 3,393).

Встановлено відмінність у підгрупах пацієнтів, утворених за окремими алельними варіантами A69314G поліморфізму (табл. 5). 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 відрізнялося від групи хворих з ГКС – 57,3 і 42,7 % ( $\chi^2 = 4,616$ ; P = 0,032). Серед носіїв мінорного алеля A/G + G/G у контролі виявлено 77,8 % тих, які не палять, і 22,2 % курців, що достовірно відрізнялося від групи хворих з ГКС – 47,2 % і 52,8 % відповідно ( $\chi^2 = 4,582$ ; 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.

Таблиця 5

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

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

Відсутність зв'язку між A69314G поліморфізмом гена *TNAP* та розвитком ГКС була встановлена при урахуванні таких факторів ризику, як артеріальна гіпертензія, гіперкоагуляція крові, цукровий діабет та дисліпідемія атерогенного характеру.

Отже, встановлено, що поліморфізм A69314G гена *TNAP* асоційований із розвитком ГКС: ризик виникнення ГКС у носіїв мінорного алеля у 2,24 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем. Установлено, що вплив A69314G поліморфізму на розвиток ГКС має статеві особливості: особи чоловічої статі з A/G + G/G генотипом 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  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup>, носіїв мінорного алеля, ризик виникнення ГКС у 2,9 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем. Курці з генотипом A/G + G/G мають у 3,4 раза вищий ризик ГКС, ніж пацієнти з A/A генотипом.

**Асоціація T134967G поліморфізму гена ANKH з виникненням гострого коронарного синдрому.** У результаті генотипування пацієнтів за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* одержано такі дані: співвідношення генотипів (T/T і T/G + G/G) у контролі становило 67,3 і 32,7 %, а у хворих з ГКС – 52,5 і 47,5 % відповідно. Отже, встановлено відмінність у розподілі генотипів серед осіб контрольної групи і хворих з ГКС ( $\chi^2 = 5,132; P = 0,023$ ).

Методом логістичної регресії підтверджено, що ризик виникнення ГКС в осіб, які були носіями мінорного алеля T/G + G/G, майже в 1,9 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем T/T ( $P = 0,024; OR = 1,857$ ).

*Аналіз за показником індексу маси тіла.* В осіб з ІМТ  $< 25$  кг/м<sup>2</sup> розподіл генотипів був таким: у контролі T/T – 65,6 %, T/G + G/G – 34,4 %; у хворих з ГКС – 38,1 і 61,9 % відповідно ( $\chi^2 = 3,878; P = 0,049$ ). У пацієнтів з ІМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup> достовірної різниці в розподілі генотипів за T134967G поліморфізмом серед контрольної групи і хворих з ГКС не виявлено ( $\chi^2 = 2,744; P = 0,098$ ). Методом логістичної регресії встановлено, що ризик виникнення ГКС в осіб з ІМТ  $< 25$  кг/м<sup>2</sup>, носіїв мінорного алеля, у 3,1 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем ( $P = 0,052; OR = 3,102$ ).

При розподілі пацієнтів на дві підгрупи – окремо за генотипами Т/Т і Т/Г + Г/Г – у гомозигот за основним алелем було виявлено достовірний зв'язок між величиною ІМТ та розвитком ГКС (табл. 6). Так, частота осіб з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> та ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup> з Т/Т генотипом у контрольній групі дорівнювала 28,4 і 71,6 %, а у хворих з ГКС – 12,9 і 87,1 % відповідно. Таким чином, в осіб з генотипом Т/Т з надмірною вагою ризик виникнення ГКС достовірно вищий, ніж в осіб з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> ( $\chi^2 = 4,816$ ;  $P = 0,028$ ). У носіїв мінорного алеля співвідношення осіб з нормальною та підвищеною величиною ІМТ у групах порівняння достовірно не відрізнялося ( $\chi^2 = 0,612$ ;  $P = 0,434$ ).

Таблиця 6

**Частота осіб з нормальним і підвищеним ІМТ у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за Т134967G поліморфізмом гена ANKH**

Генотип	ІМТ	Контроль, n (%)	ГКС, n (%)
Т/Т	ІМТ < 25 кг/м <sup>2</sup>	21 (28,4 %)	8 (12,9 %)
	ІМТ ≥ 25 кг/м <sup>2</sup>	53 (71,6 %)	54 (87,1 %)
$\chi^2 = 4,816$ ; $P = 0,028$			
Т/Г + Г/Г	ІМТ < 25 кг/м <sup>2</sup>	11 (30,6 %)	13 (23,2 %)
	ІМТ ≥ 25 кг/м <sup>2</sup>	25 (69,4 %)	43 (76,8 %)
$\chi^2 = 0,612$ ; $P = 0,434$			

*Аналіз за фактом паління.* Розподіл генотипів за Т134967G поліморфізмом у тих, які палять, і тих, які не палять, виявив таке. Серед курців частота Т134967G поліморфних варіантів у групах порівняння достовірно не відрізнялася ( $\chi^2 = 0,538$ ;  $P = 0,463$ ). Серед тих, які не палять, у контролі з генотипом Т/Т, було 69,1 %, а з генотипом Т/Г + Г/Г – 30,9 %. Розподіл алельних варіантів у хворих з ГКС, які не палять, становив 51,6 і 48,4 % відповідно. Отже, у тих, які не палять, виявлено асоціацію Т134967G поліморфізму з розвитком ГКС ( $\chi^2 = 4,658$ ;  $P = 0,031$ ).

Методом логістичної регресії підтверджено, що у тих, які не палять, носіїв мінорного алеля за Т134967G поліморфізмом, ризик виникнення ГКС у 2,1 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем Т/Т ( $P = 0,032$ ;  $OR = 2,104$ )

Установлено відмінність у підгрупах пацієнтів, утворених за окремими Т134967G алельними варіантами гена ANKH (табл. 7).

Таблиця 7

**Частота осіб, які палять і не палять, у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за Т134967G поліморфізмом гена ANKH**

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

У гомозигот за основним алелем Т/Т виявлено зв'язок між фактом паління і розвитком ГКС. Так, співвідношення тих, які не палять, і курців із Т/Т генотипом серед групи контролю становило 75,7 і 24,3 %, а серед хворих з ГКС – 53,2 і 46,8 % відповідно ( $\chi^2 = 7,518$ ;  $P = 0,006$ ). У носіїв мінорного алеля достовірної асоціації між розвитком ГКС і палінням не виявлено ( $\chi^2 = 1,826$ ;  $P = 0,177$ ).

*Вплив T134967G поліморфізму гена ANKH на ускладнення ГКС.* На відміну від інших досліджених поліморфізмів генів *ENPP1* і *TNAP*, встановлено різницю в розподілі генотипів за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* серед хворих з ГКС з ускладненнями (аритмія, серцева недостатність, тромбоемболія, розриви серця та його частин, кровотечі) та без ускладнень. Співвідношення гомозигот за основним алелем і носіїв мінорного алеля (Т/Т і Т/Г + Г/Г) у групі хворих з ГКС без ускладнень, становило 49,7 і 52,1 %, а тих, які мали ускладнення, – 70,8 і 29,2 % відповідно. Отже, виявлена достовірна відмінність у розподілі генотипів за T134967G поліморфізмом у хворих з ГКС з ускладненнями і без ускладнень: у гомозигот за основним алелем ускладнення ГКС траплялися частіше, ніж у носіїв мінорного алеля ( $\chi^2 = 4,042$ ;  $P = 0,044$ ).

Результати генотипування за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* свідчать про відсутність статистичної значущості між вивченим поліморфізмом та розвитком ГКС в осіб різної статі, у хворих з артеріальною гіпертензією, гіперкоагуляцією крові, цукровим діабетом та дисліпідемією атерогенного характеру.

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

Одним із провідних механізмів регуляції інтенсивності кальцифікації є контроль рівня неорганічного пірофосфату у позаклітинному середовищі. Зростання кількості P<sub>pi</sub> гальмує мінералізацію за рахунок цілої низки фізико-хімічних, клітинних та молекулярних механізмів. Пригнічення утворення P<sub>pi</sub>, що супроводжується збільшенням концентрації неорганічного фосфату, створює умови для відкладання солей кальцію. Баланс у системі P<sub>pi</sub>-P<sub>i</sub> забезпечується ферментами ENPP1, ANKH та TNAP. Генетичний поліморфізм цих білків, впливаючи на їх кількість і структуру, може бути пов'язаний з інтенсивністю кальцифікації у судинній стінці та її можливими наслідками (Рис. 1).

K121Q поліморфізм пов'язаний зі зміною амінокислотної послідовності у соматомедин-В-подібному домені ENPP1 і порушенням ферментативної функції білка. Ферментативна активність ENPP1 може змінюватися двома шляхами. Перший із них пов'язаний із пригніченням гідролізу АТФ до АДФ, що супроводжується зменшенням кількості P<sub>pi</sub>. Другий – призводить до посилення процесу розщеплення

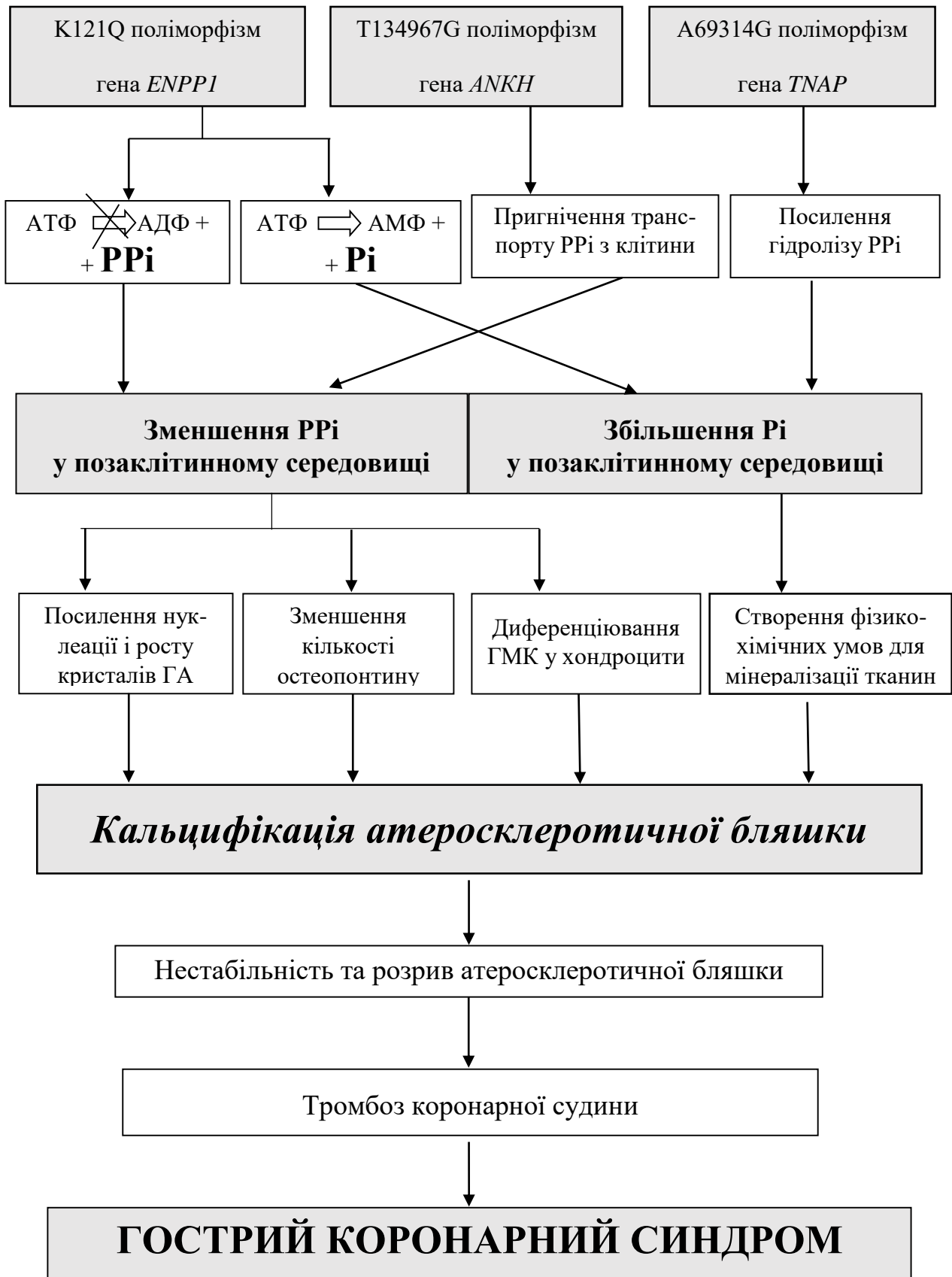


Рисунок 1 – Механізм впливу вивчених поліморфізмів генів *ENPP1*, *ANKH* і *TNAP* на розвиток ГКС

АТФ до цАМФ зі зростанням концентрації неорганічного фосфату (Pi). Обидві зміни порушують баланс у системі P<sub>PPi</sub>-P<sub>i</sub> у бік неорганічного фосфату, що створює умови для відкладання кальцію у судині.

T134967G 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 призводить до порушення транспорту P<sub>PPi</sub> з 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 дані про те, що зміна нуклеотидної послідовності мРНК впливає на швидкість надходження амінокислот у рибосоми. Ймовірно, заміна триплету CCA на CCG викликає у зрілій мРНК тканинної неспецифічної лужної фосфатази прискорення доставки амінокислот і трансляції білка. Зростання TNAP у позаклітинному середовищі посилює гідроліз P<sub>PPi</sub> з утворенням P<sub>i</sub>.

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.

Кальцифікація бляшки – один із відомих факторів її нестабільності, що значно підвищує ризик серцево-судинних захворювань (Becker C. R., 2002; Vlaha M., 2009). Доведено, що майже в 80 % випадків причиною ГКС є розрив звапнілої атеросклеротичної бляшки. Відомо, 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 інгібіторів та активаторів кальцифікації з інтенсивністю мінералізації атеросклеротичної бляшки та розвитком гострого коронарного синдрому.

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  $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$ , 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-ЛПНЩ ( $P = 0,039$ ) 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 рази вищий, ніж в осіб із A/A генотипом ( $P = 0,039$ ;  $OR = 2,187$ ). Встановлено асоціацію досліджуваного поліморфізму з надмірною вагою та палінням. Так, ризик виникнення ГКС у носіїв мінорного алеля A/G + G/G з  $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$  у 2,9 рази ( $P = 0,007$ ;  $OR = 2,861$ ), а у курців майже у 3,4 рази ( $P = 0,045$ ;  $OR = 3,393$ ) вищий, ніж у гомозигот за основним алелем A/A.

4. Установлено, що в осіб з T/G + G/G генотипом за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* з  $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$  гострий коронарний синдром виникає в 3,1 рази частіше, ніж у гомозигот за основним алелем T/T ( $P = 0,052$ ;  $OR = 3,102$ ). Доведено, що у носіїв мінорного алеля T/G + G/G, тих, які не палять, ризик виникнення ГКС в 2,1 рази вищий, ніж в осіб з T/T генотипом ( $P = 0,032$ ;  $OR = 2,104$ ).

5. Виявлена статистично достовірна різниця в розподілі генотипів за T134967G поліморфізмом гена *ANKH* у хворих, які перенесли ГКС без ускладнень, і тих, які мали ускладнення ( $P = 0,044$ ).

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. 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, Y. A. Ataman, A. V. Polonikov, A. V. Ataman // OnLine Journal of Biological Sciences. – 2014. – Vol. 14 (4). – P. 271–276. (Здобувачем здійснено молекулярно-генетичні дослідження, оформлення статті до друку).

2. 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, О. В. Атаман // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Т. 3, Вип. 4 (115). – С. 66–70. (Здобувач провів огляд літератури, статистичну обробку і аналіз матеріалу, проаналізував можливі механізми антикальциногенної дії ENPP1, підготував статтю до друку).

3. Розуменко І. О. Зв'язок K121Q поліморфізму гена ENPP1 з гострим коронарним синдромом в осіб різної статі / І. О. Розуменко // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. – 2014. – Т. 2, № 3. – Р. 38–44.

4. Розподіл алельних варіантів гена ANKH за T134967G поліморфізмом у хворих із гострим коронарним синдромом з нормальним та підвищеним артеріальним тиском / І. О. Розуменко, В. Ю. Гарбузова, О. В. Атаман, О. А. Обухова // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. – 2015. – Т. 3, № 2. – С. 354–359. (Здобувачем здійснено пошук і аналіз літературних джерел, підготовку матеріалу до друку).

5. Зв'язок T134967G поліморфізму гена ANKH із розвитком гострого коронарного синдрому в осіб з нормальними та підвищеними показниками індексу маси тіла / І. О. Розуменко, В. Ю. Гарбузова, О. В. Атаман, О. А. Обухова // Клінічна та експериментальна патологія. – 2015. – Т. XIV, № 2 (52). – С. 172–175. (Здобувачем здійснено статистичну обробку і аналіз матеріалу, оформлення статті до друку).

6. Розуменко І. О. Розподіл алельних варіантів за A69314G поліморфізмом гена *TNAP* у хворих на гострий коронарний синдром у курців і тих, що не курять / І. О. Розуменко, В. Ю. Гарбузова, О. В. Атаман // Буковинський медичний вісник. – 2016. – Т. 20, № 1 (77). – С. 137–140. (Здобувач провів огляд літератури, аналіз матеріалу, проаналізував можливі механізми прокальциногенної дії *TNAP*, підготував статтю до друку).

7. Асоціація A69314G поліморфізму гена *TNAP* с острым коронарным синдромом у лиц разного пола / І. А. Rozyumenko, V. Yu. Garbuzova, A. V. Ataman, O. A. Obukhova, I. A. Forkert // European Journal of Medicine. Series B. – 2015. – Vol. 2 (1). – Р. 44–53. (Здобувач провів огляд літератури, статистичну обробку і аналіз матеріалу, проаналізував можливі механізми прокальциногенної дії *TNAP*, підготував статтю до друку).

8. Розуменко І. О. Вплив поліморфізму гена ектонуклеотид пірофосфатази/фосфодіестерази I на антропометричні показники у пацієнтів із гострим коронарним синдромом / І. О. Розуменко, В. Ю. Гарбузова, Д. А. Прасол // Міжнародна науково-практична конференція «Стан та перспективи розвитку медицини в Україні». – Київ, 2014. – С. 46–48.

9. Гарбузова В. Ю. Асоціація K121Q поліморфізму гена ектонуклеотид пірофосфатази/фосфодіестерази I (ENPP1) з гострим коронарним синдромом в осіб жіночої і чоловічої статі / В. Ю. Гарбузова, І. О. Розуменко, Д. А. Прасол // Міжнародна науково-практична конференція «Актуальні питання сучасної медицини: наукові дискусії». – Харків, 2014. – С. 51–53.

10. Розуменко І. О. Частота алельних варіантів гена ENPP1 за поліморфізмом K121Q у хворих із гострим коронарним синдромом з нормальним і підвищеним

артеріальним тиском / І. О. Розуменко, В. Ю. Гарбузова, Д. А. Прасол // VII науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм. Здобутки клінічної і експериментальної медицини». – Тернопіль, 2014. – № 12 – С. 264.

11. Rozumenko I. A. The distribution of genotypes for the A69314G polymorphism TNAP gene in the control group and in patients with acute coronary syndrome / I. A. Rozumenko, I. A. Forkert, V. Yu. Garbuzova // Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної і практичної медицини». – Суми, 2015. – С. 210.

12. Rozumenko I. A. Association of allelic variants of the T134967G polymorphism gene ANKN in healthy individuals and in patients with acute coronary syndrome / I. A. Rozumenko, V. Yu. Garbuzova, S. A. Arpleev // Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони здоров'я». – Запоріжжя, 2015. – С. 63.

13. Розуменко І. О. Вплив K121Q поліморфізму гена ектонуклеотид пірофосфатаза/фосфодіестераза І на розвиток гострого коронарного синдрому у курців і тих, що не курять / І. О. Розуменко, Д. А. Прасол, В. Ю. Гарбузова // Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної і практичної медицини». – Суми, 2015. – С. 203.

14. Розуменко І. О. Вплив алельних варіантів за A69314G поліморфізмом гена тканиннонеспецифічна лужна фосфатаза (TNAP) на розвиток гострого коронарного синдрому в осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском / І. О. Розуменко, В. Ю. Гарбузова, І. О. Форкерт // Науково-практична конференція з міжнародною участю «14-е читання им В. В. Подвысоцкого». – Одеса, 2015. – С. 182–183.

15. Розуменко І. О. Вплив T134967G поліморфізму гена ANKN на розвиток гострого коронарного синдрому в осіб, що курять і не курять / І. О. Розуменко, В. Ю. Гарбузова, С. А. Амплеев // XIX Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених. – Тернопіль, 2015. – С. 301.

16. Розуменко И. А. Связь A69314G полиморфизма гена TNAP с развитием острого коронарного синдрома у лиц с нормальным и повышенным индексом массы тела / И. А. Розуменко, И. А. Форкерт // Республиканская научно-практическая конференция «Метаболический синдром: инсулинорезистентность и другие категории дисметаболизма». – Ташкент, 2015. – С. 108 – 109.

17. Розуменко І. О. Частота алельних варіантів за T134967G поліморфізмом гена ANKN у пацієнтів із різним індексом маси тіла хворих на гострий коронарний синдром / І. О. Розуменко, В. Ю. Гарбузова, Д. А. Прасол // Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної і практичної медицини». – Суми, 2015. – С. 204.

18. Розуменко І. О. Зв'язок T134967G поліморфізму гена ANKN із розвитком ГКС у осіб жіночої та чоловічої статі / І. О. Розуменко, С. М. Півень // Програма XIX з'їзду Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю, присвяченого 90-річчю від дня народження академіка П. Г. Костюка. – Львів, 2015. – С. 28.

## АНОТАЦІЯ

**Розуменко І. О. Зв'язок поліморфізму генів інгібіторів та активаторів ектопічної кальцифікації з механізмами розвитку гострого коронарного синдрому.** – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Сумський державний університет МОН України, Суми, 2016.

Дисертація присвячена виявленню впливу поліморфізму генів інгібіторів (К121Q гена *ENPP1* і Т134967G гена *ANKH*) та активаторів (А69314G гена *TNAP*) кальцифікації на розвиток гострого коронарного синдрому (ГКС). Виявлено, що існує зв'язок між ГКС і поліморфними варіантами генів *TNAP* (А69314G) і *ANKH* (Т134967G) в українській популяції. Ризик ГКС у носіїв мінорного алеля для А69314G поліморфізму в 2,2, а для Т134967G – у 1,9 раза вищий, ніж у гомозигот за основним алелем. З'ясовано, що ризик виникнення ГКС в осіб чоловічої статі носіїв мінорного алеля (А69314G поліморфізм гена *TNAP*) у 2,19 раза вищий, ніж у гомозигот з А/А генотипом. Доведено асоціацію досліджуваних поліморфізмів з деякими факторами ризику ГКС (ІМТ, паління, порушення ліпопротеїнового обміну та коагуляції крові).

**Ключові слова:** однонуклеотидний поліморфізм генів, гострий коронарний синдром, неорганічний пірофосфат, кальцифікація.

## АННОТАЦИЯ

**Розуменко И. А. Связь полиморфизма генов ингибиторов и активаторов эктопической кальцификации с механизмами развития острого коронарного синдрома.** – На правах рукописи.

Диссертация на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Сумский государственный университет МОН Украины, Сумы, 2016.

Диссертация посвящена выявлению влияния полиморфизма генов ингибиторов (К121Q гена *ENPP1* и Т134967G гена *ANKH*) и активаторов (А69314G гена *TNAP*) кальцификации на развитие острого коронарного синдрома (ОКС). Виявлено, что существует связь между ОКС и полиморфными вариантами генов *TNAP* (А69314G) и *ANKH* (Т134967G) в украинской популяции. Риск ОКС у носителей мінорного алеля для А69314G полиморфизма в 2,2, а для Т134967G – в 1,9 раза выше, чем у гомозигот по основному алелю. Установлено, что риск развития ОКС у лиц мужского пола носителей мінорного алеля (А69314G полиморфизм гена *TNAP*), в 2,19 раза выше, чем у гомозигот с А/А генотипом. Доказана ассоциация исследуемых полиморфизмов с некоторыми факторами риска ОКС (ИМТ, курение, нарушения липопротеинового обмена и коагуляции крови).

**Ключевые слова:** однонуклеотидный полиморфизм генов, острый коронарный синдром, неорганический пирофосфат, кальцификация.

## ABSTRACT

**Rozumenko I. O. Relation of the polymorphism of genes inhibitors and activators of ectopic calcification with the development mechanisms of acute coronary syndrome.** – Manuscript copyright.

Thesis for a Candidate Degree in Medicine, Speciality 14.03.04 – Pathophysiology. – Sumy State University, Ministry of Education and Science of Ukraine, Sumy, 2016.

Thesis is devoted to the revealing the influence of the polymorphism of genes inhibitors (K121Q of gene *ENPP1* and T134967G of gene *ANKH*) and activators (A69314G of gene *TNAP*) of calcification on the development of acute coronary syndrome.

It is established the frequency of the alleles and genotypes according to the K121Q polymorphism of gene *ENPP1*, T134967G polymorphism of gene *ANKH* and A69314G polymorphism of gene *TNAP* in the Ukrainian population.

It is revealed that there exists a connection between acute coronary syndrome and polymorphic variants of *TNAP* (A69314G) and *ANKH* (T134967G) genes. The risk of ACS in the carriers of minor allele for the A69314G polymorphism is 2,2 times and for the T134967G – 1,9 times higher than in the homozygous dominant allele.

It is found out that the influence of genetic factor on the development of cardiovascular abnormality has gender aspects. So, the risk of ACS appearing in the male carriers of minor allele (according to A69314G polymorphism of gene *TNAP*) is 2,19 times higher than in the homozygous A/A genotype.

It is examined the relation of the studied polymorphism to some risks factors of the acute coronary syndrome, they are: arterial hypertension, smoking, obesity, hypercoagulability, diabetes mellitus, dislipidemy of atherogenic character. The association of the studied polymorphisms with the BMI is proved. In the patients with the normal BMI, who are carriers of the minor allele, the acute coronary syndrome appears 3,9 times for the K121Q polymorphism of gene *ENPP1* and 3,1 times for the T134967G polymorphism of gene *ANKH* more often than in the homozygous dominant allele. The risk of the development of the ACS in the patients with the obesity ( $BMI \geq 25 \text{ кг/м}^2$ ), carriers of the minor allele A/G + G/G according to the A69314G polymorphism of gene *TNAP* is almost 2,9 times higher than in homozygous according to the main allele A/A. Among the patients with the  $BMI \geq 25 \text{ кг/м}^2$  with genotype K/K (K121Q polymorphism of gene *ENPP1*) acute coronary syndrome appears definitely more often than in the individuals with  $BMI < 25 \text{ кг/м}^2$ .

The connection of the studied polymorphism with such ACS risk factor as smoking is established. The risk of appearing of the ACS in the smokers carriers of the minor allele (A/G + G/G) according to the A69314G polymorphism of gene *TNAP* is 3,4 times higher than in the homozygous dominant allele. In the individuals with the T/G + G/G genotype according to T134967G polymorphism of gene *ANKH* comparing to those, who do not smoke, the risk of appearing ACS is 2,1 times higher than in the individuals with T/T genotype. In the individuals with K/K genotype (K121Q polymorphism of gene *ENPP1*) who smoke, ACS appears definitely more often.

Polymorphic variants of some studied genes are related to the lipoprotein metabolic imbalance and blood coagulation in the patient with ACS. In homozygous dominant

alleles (K121Q polymorphism of gene *ENPP1*) the index of fibrinolytic activity, the level of CH-LPLD and index of atherogenicity are definitely higher than in the carriers of other genotypes.

The influence of the T134967G polymorphism of gene *ANKH* on some characteristics of ACS is revealed. Statistically accurate difference about the distribution of genotypes according to the polymorphism in patients, who has suffered from the ACS without and with sequelae, is settled.

Thus, the allele polymorphism of genes inhibitors and activators of calcification is an important factor in hereditary susceptibility to the sclerotic arteria involvement and their sequelae, especially the acute coronary syndrome. Deepening of knowledge on the genetic constituent of the atherosclerotic process can become the new stage in the formation of modern methods of prognosis, prevention, diagnostication and pathogenetic treatment of atherosclerosis and its sequelae.

**Key words:** single nucleotide polymorphism of genes, acute coronary syndrome, inorganic pyrophosphate, calcification.

### ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ГКС – гострий коронарний синдром.

ІМТ – індекс маси тіла.

ССЗ – серцево-судинні захворювання.

ХС-ЛПНЩ – холестерин у складі ліпопротеїнів низької щільності.

АНКН – регулятор транспорту неорганічного пірофосфату.

ENPP1 – ектонуклеотид пірофосфатази/фосфодіестерази 1.

PPi – неорганічний пірофосфат.

TNAP – тканина неспецифічна лужна фосфатаза.