

**Abstract**

**T. B. Oleshko,**  
**V. S. Yurchenko,**  
**T. M. Oleshko,**  
**V. Yu. Harbuzova,**  
Sumy State University, 2  
Rymkogo-Korsakova str, Sumy,  
40007 Ukraine

**STUDY OF ASSOCIATION OF C+70G POLYMORPHISM OF EDNRA GENE WITH BODY MASS INDEX IN PATIENTS WITH ISCHEMIC ATHEROTHROMBOTIC STROKE**

**Introduction.** Since endothelin-1 (EDN1) discovery by Japanese scientists led by Yanagisawa et al. in 1988 attention of scientists around the world is focused on its investigation. This is due to its high power vasoconstriction effect which is the highest then any known endogenous substances. EDN1 interaction with endothelin receptor type A (EDNRA) causes stable vasoconstriction and proliferation of smooth muscle cells and thus contributes to progression of endothelial dysfunction, which is the pathophysiological basis and predictor of ischemic stroke. It is known that the early stages of stroke are associated with increased levels of EDN1 and activated EDNRA smooth muscle cells of the brain causing vasospasm. Thus, EDNRA is one of the key points, which determines the development of cardiovascular disease and ischemic stroke in particular.

**Aim.** The aim of the present study was to determine the association of the *EDNRA* C+70G polymorphism with ischemic atherothrombotic stroke in subjects with different body mass index (BMI).

**Materials and methods.** The study group included 170 unrelated Ukrainian patients with a mean age of  $64.7 \pm 0.73$  years who had IAS. The control group consisted of 124 individuals with the absence of cardio-vascular pathologies. The main methods of research were the polymerase chain reaction method (PCR-RFLP) followed by analysis of restriction fragment length analysis when allocating of them by electrophoresis in agarose gel. Statistical analysis was examined by using SPSS-17 program. The differences were considered statistically significant with a P-value  $< 0.05$ .

**Results.** It was found that in patients with stroke ratio of homozygotes for the major allele (C/C), heterozygotes (C/G) and homozygotes for the minor allele (G/G) is 24.1 %, 57.6 % and 18.2 % and in the control group - 29.0 %, 50.0 % and 21.0 %, respectively. The differences between the frequency of these genotypes group of patients with stroke and control groups were not statistically significant ( $P = 0.426$ ). Each study group was divided into two subgroups according to BMI ( $< 25$  kg/m<sup>2</sup> and  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>). A statistically significant difference in the distribution of genotypes of control group patient with different levels of BMI was not found ( $\chi^2 = 0.334$ ;  $P = 0.846$ ). However, similar comparison of BMI  $< 25$  kg/m<sup>2</sup> and a BMI  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> patients with stroke confirmed this association ( $\chi^2 = 6.092$ ;  $P = 0.048$ ). Logistic regression found that patients with BMI  $< 25$  kg/m<sup>2</sup> which are carriers of heterozygous genotype had greater risk of stroke by almost 3.7 times ( $P = 0.049$ ; OR = 3.684), compared to those with homozygotes for the major allele.

**Conclusion.** There was no association between C+70G polymorphism of *EDNRA* gene and development of ischemic atherothrombotic

stroke. However, after taking into account such risk factors as BMI increased risk of stroke was found to be 3.7 times higher in the carriers of C/G genotype with BMI < 25 kg/m<sup>2</sup>.

**Keywords:** endothelin type A receptor, gene polymorphism, ischemic stroke.

**Corresponding author:** [t.oleshko@med.sumdu.edu.ua](mailto:t.oleshko@med.sumdu.edu.ua)

#### Резюме

Т. Б. Олешко,

В. С. Юрченко,

Т. М. Олешко,

В. Ю. Гарбузова,

Сумський державний університет, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, Україна, 40007

#### ДОСЛІДЖЕННЯ АСОЦІАЦІЇ С+70G ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА EDNRA З ІНДЕКСОМ МАСИ ТІЛА У ХВОРИХ З ІШЕМІЧНИМ АТЕРОТРОМБОТИЧНИМ ІНСУЛЬТОМ

Наведено результати визначення частоти алельних варіантів гена EDNRA у 170 хворих на ішемічний атеротромботичний інсульт (ІАТІ) і 124 осіб контрольної групи. Встановлено, що співвідношення гомозигот за основним алелем, гетерозигот і гомозигот за мінорним алелем за С+70G (rs5335) поліморфізмом 8 екзона гена EDNRA у хворих на ІАТІ становить 24,1 %, 57,6 % і 18,2 %, а в контрольній групі – відповідно 29,0 %, 50,0 % і 21,0 % (P = 0,426 за  $\chi^2$ -критерієм). Кожну з досліджуваних груп було поділено на дві підгрупи за показником ІМТ (< 25 кг/м<sup>2</sup> і  $\geq$  25 кг/м<sup>2</sup>). У осіб з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup>, що є носіями гетерозиготного генотипу ризик розвитку ІАТІ більший майже в 3,7 раза, порівняно з гомозиготами за основним алелем (P = 0,049; OR = 3,684).

**Ключові слова:** ендотеліновий рецептор типу А, поліморфізм генів, ішемічний інсульт.

#### Резюме

Т. Б. Олешко,

В. С. Юрченко,

Т. М. Олешко,

В. Ю. Гарбузова,

Сумський державний університет, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, Україна, 40007

#### ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИИ С+70G ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА EDNRA С ИНДЕКСОМ МАССЫ ТЕЛА У БОЛЬНЫХ С ИШЕМИЧЕСКИМ АТЕРОТРОМБОТИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

Приведены результаты определения частоты алельных вариантов гена EDNRA в 170 больных с ишемическим атеротромботическим инсультом (ИАТИ) и 124 лиц контрольной группы. Установлено, что соотношение гомозигот по соотношению гомозигот по основному алелю, гетерозигот и гомозигот по мінорному алелю по С+70G (rs5335) полиморфизму 8 экзона гена EDNRA у больных с ИАТИ составляет 24,1 %, 57,6 % и 18,2 %, а в контрольной группе – соответственно 29,0 %, 50,0 % и 21,0 % (P = 0,426 по  $\chi^2$ -критерию). Каждая из исследуемых групп были разделены на две подгруппы по показателю ИМТ (< 25 кг/м<sup>2</sup> и  $\geq$  25 кг/м<sup>2</sup>). У лиц с ИМТ < 25 кг/м<sup>2</sup>, что являются носителями гетерозиготного генотипа риск развития ИАТИ больше почти в 3,7 раза по сравнению с гомозиготами по основному алелю (P = 0,049; OR = 3,684).

**Ключевые слова:** рецептор эндотелина типа А, полиморфизм генов, ишемический инсульт.

**Автор, відповідальний за листування:** [t.oleshko@med.sumdu.edu.ua](mailto:t.oleshko@med.sumdu.edu.ua)

#### Вступ

З моменту відкриття японськими вченими на чолі з Yanagisawa et al. у 1988 році ендотеліну-1 (EDN1) [1] увага вчених всього світу прикута до його вивчення. Це пов'язано з великою потужністю його вазоконстрикторного ефекту, пере-

вершити який не в змозі жодна з відомих на сьогодні ендогенних речовин [2; 3; 4]. Крім цього для EDN1 також характерна прозапальна, мітогенна, проліферативна дія, стимуляція утворення вільних радикалів та активація тромбоцитів [5; 6]. Ендотелін-1 реалізує свої ефекти за допо-



могою взаємодії з специфічними рецепторами, які асоційовані з G-білком.

Патофізіологічною основою та предиктором розвитку ішемічного інсульту є ендотеліальна дисфункція (ЕД), яка проявляється дисбалансом у продукції та функціонуванні численних судинних чинників, що призводить до порушення гомеостазу судинної стінки [7; 15]. Одним з найважливіших серед них є EDN1. Взаємодія ендотеліну-1 з ендотеліновим рецептором типу А (EDNRA) викликає стійку вазоконстрикцію і проліферацію гладком'язевих клітин, а отже сприяє виникненню та прогресуванню ЕД [8; 16; 17]. Достовірно відомо, що на ранній стадії інсульту підвищується рівень EDN1, активуються EDNRA гладком'язевих клітин судин мозку, внаслідок чого виникає спазм судин [6]. Таким чином ендотеліновий рецептор типу А є однією з ключових ланок, від якої залежить розвиток серцево-судинних захворювань та ішемічного інсульту зокрема [6; 9; 10].

Враховуючи те, що функціонування ендотелінового рецептора типу А визначається структурними особливостями його гена, виникає припущення, що поліморфізм гена *EDNRA* може позначатись на функції білка. Останнім часом це питання набуло значної актуальності. Ген *EDNRA* локалізований на довгому плечі 4-ї хромосоми і складається з 8 екзонів та 7 інтронів. На сьогодні відомо понад три тисячі його поліморфних варіантів. Одним з найбільш досліджених є С+70G поліморфізм. Його суть полягає у трансверсії піримідину цитозину на пурин гуанін в 211 положенні восьмого екзону. Існують дані про зв'язок даного поліморфізму з розвитком ішемічного інсульту в інших популяціях [11]. В Україні такі дослідження не проводились. Враховуючи це було поставлено ціль вивчити асоціацію С+70G поліморфізму гена *EDNRA* з підвищеним індексом маси тіла, як важливим фактором ризику ішемічного атеротромботичного інсульту.

Представлену роботу виконано в рамках теми наукових досліджень з держбюджетним фінансуванням «Зв'язок алейного поліморфізму «генів ектопічної кальцифікації» з розвитком поширених серцево-судинних хвороб та їх ускладнень», № 0115U000688.

**Мета дослідження.** Дослідити асоціацію С+70G поліморфізму гена *EDNRA* з індексом маси тіла у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом.

**Матеріали і методи.** Для дослідження було використано венозну кров 170 хворих з ІАТІ (42,4 % жінок і 57,6 % чоловіків) віком від 40 до 85 років (середній вік – 64,7±0,73 роки), що перебували на диспансерному обліку в поліклінічному відділенні Сумської клінічної лікарні №5. Ішемічний характер інсульту встановлювався за даними анамнезу і клінічної картини хвороби, даних комп'ютерної томографії головного мозку. Визначення патогенетичного варіанту інсульту ґрунтувалось на критеріях TOAST [12; 13; 14], на підставі анамнестичних даних і особливостей клінічного перебігу хвороби, даних ультразвукової доплерографії магістральних артерій голови, ЕКГ.

Контрольна група складалася зі 124 пацієнтів, у яких відсутність серцево-судинної патології підтверджували шляхом збирання анамнестичних даних, реєстрації електрокардіограми, вимірювання артеріального тиску та проведення загальноприйнятих неврологічних досліджень. Контрольна група і група хворих з ІАТІ не відрізнялися за співвідношенням осіб різної статі ( $P = 0,294$  за  $\chi^2$ -критерієм), проте середній вік першої ( $76,7 \pm 0,93$  роки) був істотно вищим, ніж другої ( $P < 0,001$ ).

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

Визначення одонуклеотидного поліморфізму С+70G гена *EDNRA* (rs5335) проводили за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції (PCR) з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів при виділенні їх шляхом електрофорезу в агарозному гелі.

Для генотипування використовували венозну кров. ДНК з неї виділяли, використовуючи набори «Ізоген» (Росія). Ампліфікацію ділянки гена, що містить сайт С+70G поліморфізму, проводили за допомогою пари специфічних праймерів: прямого (sense) – 5' TAGAAGCACTCCTCGGTACTCC 3' і зворотного (antisense) – 5' TCGTAGATGTTGTGGGTGGATA 3'. Праймери було синтезовано фірмою “Metabion”



(Німеччина). PCR проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 («Applied Biosystems», США). Ампліфікація фрагмента, що містив досліджувану поліморфну ділянку, складалася з 35 циклів: денатурації – 94 °C (50 с), гібридизації праймерів – 60 °C (40 с) і елонгації – 72 °C (1 хв). Для рестрикційного аналізу використовували ендонуклеазу рестрикції *NmuCI* («Thermo Scientific», США). За умови

наявності в 211-й позиції восьмого екзона гена *EDNRA* цитозину, ампліфікат, який складався з 174 пар нуклеотидів (п.н.), розщеплювався рестриктазою *NmuCI* на два фрагменти – 116 і 58 пар нуклеотидів. При заміні цитозину на гуанін сайт рестрикції для *NmuCI* втрачався і утворювався один фрагмент розміром 174 пари нуклеотидів (рис. 1).

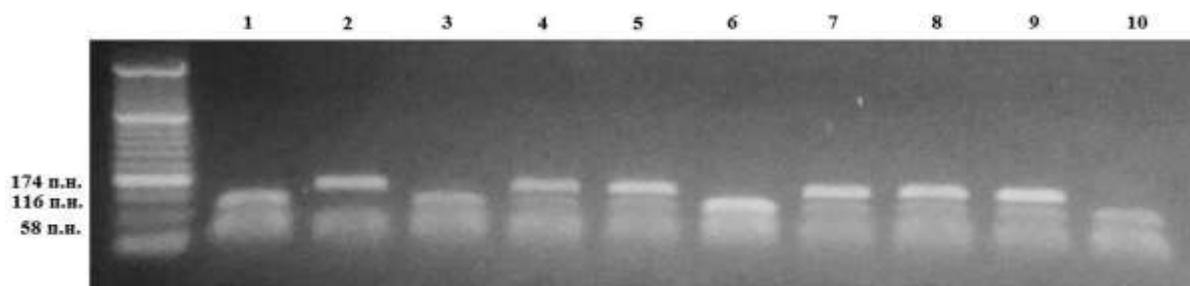


Рисунок 1 – Результати рестрикційного аналізу C+70G поліморфізму гена *EDNRA*: доріжки 1,3,6,10 відповідають C/C генотипу; 4,5,7,8,9 – C/G генотипу; 2 – G/G генотипу

Ампліфікати вивченого фрагмента гена *EDNRA* після рестрикції розділяли в 2,5 % агарозному гелі, що містив бромистий етидій. Горизонтальний електрофорез (0,1А; 140V) проводили протягом 25 хв. Візуалізацію ДНК після електрофорезу здійснювали за допомогою транслюмінатора («Біоком», Росія).

Статистичний аналіз проводили з використанням програми SPSS-17. При цьому достовірність відмінностей визначали за  $\chi^2$ -критерієм. Величини  $P < 0,05$  вважали статистично значимими.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Генотипування хворих з ІАТІ та осіб контроль-

ної групи за C+70G поліморфізмом гена *EDNRA* дало можливість встановити частоту, з якою зустрічаються окремі варіанти цього гена у осіб з нормальними та підвищеними показниками індексу маси тіла. Так, було встановлено, що у хворих з ІАТІ співвідношення гомозигот за основним алелем (C/C), гетерозигот (C/G) і гомозигот за мінорним алелем (G/G) складає 24,1 %, 57,6 % і 18,2 %, а в контрольній групі – відповідно 29,0 %, 50,0 % і 21,0 % (рис. 2). При цьому відмінності частоти зазначених генотипів між групою хворих з ІАТІ та контрольною групою були статистично недостовірними ( $P = 0,426$ ).

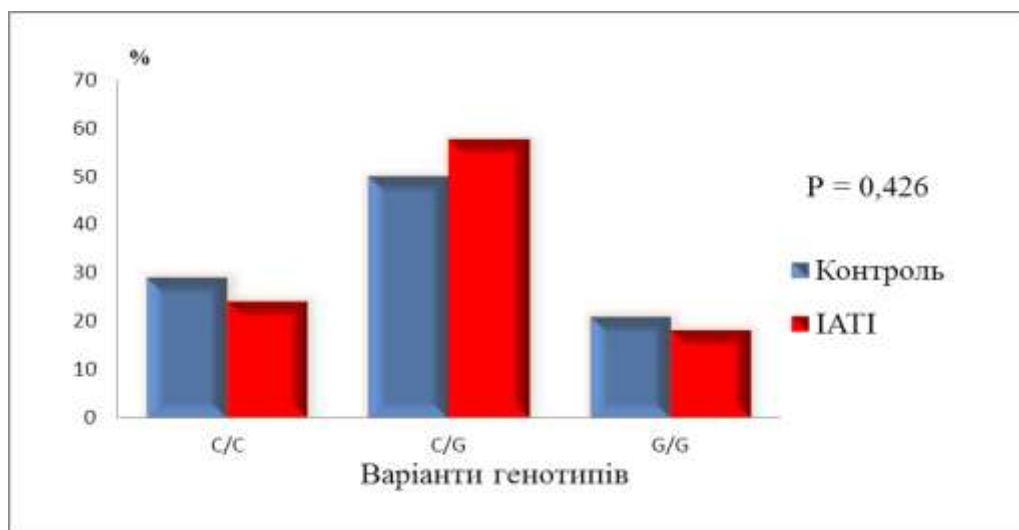


Рисунок 2 – Частота алельних варіантів гена *EDNRA* за поліморфізмом C+70G у хворих з ІАТІ і в контрольній групі. P – статистична значимість відмінності показників за  $\chi^2$ -критерієм Пірсона



Кожну з досліджуваних груп було поділено на дві підгрупи за показником ІМТ (< 25 кг/м<sup>2</sup> і ≥ 25кг/м<sup>2</sup>). При проведенні аналізу частоти С+70G поліморфних варіантів гена *EDNRA* у осіб, що мають різне значення ІМТ окремо в контрольній групі і у групі хворих з ІАТІ було отримано результати представлені в таблиці 1. У групах порівняння різниця у розподілі генотипів не була статистично достовірною як у осіб з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> ( $\chi^2 = 4,187$ ;  $P_1 = 0,123$ ) так і у осіб з ІМТ ≥ 25кг/м<sup>2</sup> ( $\chi^2 = 0,538$ ;  $P_1 = 0,764$ ).

Таблиця 1 – Розподіл генотипів за С+70G поліморфізмом гена *EDNRA* у контрольній групі і у групі хворих з ІАТІ залежно від величини ІМТ

Генотип	ІМТ < 25 кг/м <sup>2</sup> , n		ІМТ ≥ 25кг/м <sup>2</sup> , n	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
С/С	10	4	26	37
С/С	19	28	42	70
С/С	9	9	17	22
	$P_1 = 0,123$		$P_1 = 0,764$	
	$P_2 = 0,846$ ; $P_3 = 0,048$ ; $P_4 = 0,040$ ; $P_5 = 0,431$ ; $P_6 = 0,433$			

*Примітка:* n – кількість осіб,  $P_1$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ,  $P_2$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> та ІМТ ≥ 25кг/м<sup>2</sup> у контролі,  $P_3$  – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> та ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup> у групах з ІАТІ,  $P_4$  – значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> та ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup> з генотипом С/С у контрольній групі і групі з ІАТІ,  $P_5$  – значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> та ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup> з генотипом С/С у контрольній групі і групі з ІАТІ,  $P_6$  – значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> та ІМТ ≥ 25 кг/м<sup>2</sup> з генотипом G/G у контрольній групі і групі з ІАТІ

В результаті поділу осіб з нормальним та підвищеним ІМТ на підгрупи за генотипами досліджуваного поліморфізму гена *EDNRA* було отримано наступні дані (табл. 1). Серед носіїв С/С генотипу в контрольній групі було 10 (27,8 %) осіб з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> і 26 (72,2 %) осіб з ІМТ ≥ 25кг/м<sup>2</sup>, а у групі хворих з ІАТІ 4 (9,8 %) і 37 (90,2 %) відповідно. Статистичний аналіз

Серед осіб контрольної групи з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> 10 (26,3 %) мають С/С генотип, 19 (50,0 %) С/С генотип і 9 (23,7 %) G/G генотип, а осіб з ІМТ ≥ 25кг/м<sup>2</sup> відповідно 26 (30,6 %), 42 (49,4 %) і 17 (20,0 %). Статистично достовірної різниці у розподілі генотипів осіб контрольної групи з різними показниками ІМТ не виявлено ( $\chi^2 = 0,334$ ;  $P_2 = 0,846$ ). Проте при аналогічному порівнянні осіб з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> та ІМТ ≥ 25кг/м<sup>2</sup> у хворих з ІАТІ така асоціація підтвердилася ( $\chi^2 = 6,092$ ;  $P_3 = 0,048$ ).

отриманих даних дозволив встановити достовірну відмінність між зазначеними групами порівняння у носіїв С/С генотипу ( $\chi^2 = 4,185$ ;  $P_4 = 0,040$ ). Серед осіб з С/С генотипом у контролі 19 (31,1 %) осіб мали нормальний рівень ІМТ і 42 (68,9 %) підвищений, а серед хворих з інсультом їх кількість становила 28 (28,6 %) і 70 (71,4 %).

Таблиця 2 – Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за С+70G поліморфізмом гена *EDNRA* у осіб 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 <sup>2</sup>	С/С	1,034	0,662	3,879	0,049	3,684	1,006	13,487
	G/G	0,916	0,756	1,467	0,226	2,500	0,568	11,011
ІМТ ≥ 25 кг/м <sup>2</sup>	С/С	0,158	0,322	0,241	0,623	1,171	0,623	2,201
	G/G	0,095	0,412	0,053	0,818	0,909	0,406	2,039

*Примітка.* Порівняння проводиться відносно С/С генотипу; CR – коефіцієнт регресії; SE – стандартна похибка; WS – статистика Вальда; P – статистична значущість; OR – відношення ризику; CI – довірчий інтервал



Відмінності у частоті осіб з різним ІМТ за даним генотипом у групах порівняння не достовірні ( $\chi^2 = 0,120$ ;  $P_5 = 0,431$ ). Що стосується носіїв G/G генотипу, то в контрольній групі з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup> виявлено 9 (34,6 %) осіб і 17 (65,4 %) осіб з ІМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup>, а серед хворих з ІАТІ відповідно 9 (29,0 %) і 22 (71,0 %). Таким чином різниця частоти осіб у контрольній і дослідній групах, які є гомозиготами за мінорним алелем не є достовірною ( $\chi^2 = 0,204$ ;  $P_6 = 0,433$ ).

#### Висновки

Не виявлено зв'язку між C+70G поліморфізмом гена EDNRA і розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту. Проте після урахуван-

#### Перспективи подальших досліджень

Перспективи подальших досліджень полягають у продовженні вивчення асоціації факторів ризику ІАТІ з різними варіантами генотипу за C+70G поліморфізмом гена EDNRA. При цьому повинен враховуватися вплив генетичних

Використання методу логістичної регресії дозволило визначити ризик ішемічного атеротромботичного інсульту залежно від генотипу за C+70G поліморфізмом гена EDNRA у осіб нормальним і підвищеним ІМТ (табл. 2). У осіб з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup>, що є носіями гетерозиготного генотипу ризик розвитку ІАТІ більший майже в 3,7 раза ( $P = 0,049$ ;  $OR = 3,684$ ), порівняно з гомозиготами за основним алелем.

ня такого фактору ризику інсульту як індекс маси тіла виявлено збільшення ризику інсульту у 3,7 раза у носіїв C/G генотипу з ІМТ < 25 кг/м<sup>2</sup>.

чинників на фактори, що збільшують ризик розвитку ішемічних інсультів (артеріальна гіпертензія, куріння, порушення ліпопротеїнового складу плазми крові, зміни у системі гемостазу тощо).

#### References (список літератури)

1. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. [A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells]. *Nature*. 1988; 332(6163):411–415.
2. Sapira V, Cojocaru IM, Lilius G, Grigorian M, Cojocaru M. [Study of Endothelin-1 in Acute Ischemic Stroke]. *Rom. J. Intern. Med.* 2010; 48(4): 329–332.
3. Kohan DE, Rossi NF, Inscho EW, Pollock DM. [Regulation of Blood Pressure and Salt Homeostasis by Endothelin]. *Physiol. Rev.* 2011; 91:1–77.
4. Schneider MP, Boesen EI, Pollock DM. [Contrasting Actions of Endothelin ETA and ETB Receptors in Cardiovascular Disease]. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2007; 47: 731–759.
5. Böhm F, Pernow J. [The importance of endothelin-1 for vascular dysfunction in cardiovascular disease]. *Cardiovascular Research*. 2007; 76: 8–18.
6. Koyama Y. [Endothelin systems in the brain: involvement in pathophysiological responses of damaged nerve tissues]. *BioMolecular Concepts*. 2013; 4(4): 335–347.
7. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, Nishigaki I. [The Vascular Endothelium and Human Diseases]. *Int. J. Biol. Sci.* 2013; 9(10): 1057–1069.
8. Goraca A. [New views on the role of endothelin]. *Endocrine regulations*. 2002; 36: 161–167.
9. Masaki T, Sawamura T. [Endothelin end endothelial dysfunction]. *Proc. Jpn. Acad.* 2006; 82: 17–24.
10. Mazzuca MQ, Khalil RA. [Vascular endothelin receptor type B: structure, function and dysregulation in vascular disease]. *Biochem. Pharmacol.* 2012; 84(2): 147–162.
11. Zhang L, Sui R. [Effect of SNP Polymorphisms of EDN1, EDNRA, and EDNRB Gene on Ischemic Stroke]. *Cell Biochem. Biophys.* 2014; 70: 233–239.
12. Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE. [Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment]. *Stroke*. 1993; 24: 35–41.
13. Kim BJ, Kim JS. [Ischemic Stroke Subtype Classification: An Asian Viewpoint]. *Journal of Stroke*. 2014; 16(1): 8–17.
14. Kadojić D, Dikanović M, Bitunjac M, Vuletić V, Čengić L, Bijelić B. [Epidemiology of stroke]. *Periodicum Biologorum*. 2012; 114(3): 253–257.



15. Konopleva LF. [Endotelialnaya disfunktsiya v patogeneze serdechno-sosudistyih zabolovaniy i metodyi ee korrektsii]. *Therapia*. 2011; 3(56): 26–30.
16. Parida A, Nayak V. [Endothelins: Their Current Status and Future Prospects]. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 2013; 23(2): 94-97.
17. Plooy CS, Mels CMC, Huisman HW, Kruger R. [The Association of Endothelin-1 with Markers of Arterial Stiffness in Black South

African Women: The SABPA Study]. *Journal of Amino Acids*. 2015; 2015: 1–8. Article ID 481517.

(received 11.03.2017, published online 29.03.2017)

(одержано 11.03.2017, опубліковано 29.03.2017)

