

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

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

Олешко Тетяна Богданівна

УДК 616.831-005.4-005.1:575.113.2:616-018.74(043.5)

ДИСЕРТАЦІЯ

**ЗВ'ЯЗОК ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ ЕНДОТЕЛІНУ ТА
ЕНДОТЕЛІНОВОГО РЕЦЕПТОРА З МЕХАНІЗМАМИ ОСНОВНИХ
ПРОЯВІВ ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ**

Спеціальність 14.03.04 – патологічна фізіологія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____Олешко Т. Б.

Науковий керівник (консультант) – Гарбузова Вікторія Юріївна, професор,
доктор біологічних наук

Суми – 2018

АНОТАЦІЯ

Олешко Т. Б. Зв'язок поліморфізму генів ендотеліну та ендотелінового рецептора з механізмами основних проявів ішемічного інсульту. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.03.04 «патологічна фізіологія». – Сумський державний університет, Суми, 2018.

Актуальність теми

Судинні захворювання головного мозку є однією з найбільш важливих і складних проблем клінічної медицини, що обумовлено їх значною поширеністю, високою інвалідністю та смертністю. У структурі судинних захворювань головного мозку саме ішемічний інсульт є однією з найпоширеніших клінічних форм гострого порушення мозкового кровообігу. У патогенезі ішемічного ураження головного мозку важливу роль відіграє порушення функції ендотелію. Серед вазоактивних речовин, які продукують клітини ендотелію, важливими є оксид азоту та ендотелін-1 (EDN1). Порушення рівноваги між синтезом цих двох факторів є ознакою ендотеліальної дисфункції (ЕД). Достовірно відомо, що ЕД є ранньою патофізіологічною ознакою і предиктором судинної патології та ішемічного інсульту. Розвитку ЕД в найбільшій мірі сприяє ендотелін-1 – біологічно активний пептид ендотеліального походження, що є одним із найважливіших регуляторів функціонального стану ендотелію та одним із найпотужніших ендогенних вазоконстрикторів, відомих на сьогодні.

Ендотелін-1 реалізує свої ефекти за допомогою взаємодії зі специфічним рецептором типу А (EDNRA), асоційованим із G-білком. У результаті їх взаємодії виникають стійка вазоконстрикція та проліферація гладких міоцитів, а

отже, це сприяє виникненню та прогресуванню ЕД. На сьогодні з'ясовано, що на ранній стадії інсульту підвищується рівень EDN1, активуються EDNRA гладком'язових клітин судин мозку, внаслідок чого виникає спазм судин. Таким чином, ендотелін-1 та ендотеліновий рецептор типу А є одними з ключових факторів, що визначають розвиток серцево-судинних захворювань, у тому числі ішемічного інсульту.

Функціонування ендотеліну-1 та ендотелінового рецептора типу А, безумовно, визначається структурними особливостями їх генів. Тому дослідження ролі одонуклеотидних поліморфізмів генів *EDN1* і *EDNRA* у розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту має велике значення.

Характеристика клінічного матеріалу

Для дослідження була використана венозна кров 170 хворих з ІАТІ (42,4 % жінок і 57,6 % чоловіків) віком від 40 до 85 років (середній вік $(64,7 \pm 0,73)$ року). Ішемічний характер інсульту встановлювався за даними анамнезу та клінічної картини хвороби, результатами КТ-дослідження головного мозку. Патогенетичний варіант інсульту визначали відповідно до критеріїв TOAST на підставі даних анамнезу, особливостей клінічного перебігу хвороби, результатів ультразвукової доплерографії магістральних артерій голови та ЕКГ. Пацієнти з лакунарним, кардіоемболічним ішемічним інсультом та ішемічним інсультом нез'ясованої етіології виключались із дослідної групи.

Групу контролю становили 124 особи, в яких відсутність гострої серцево-судинної патології підтверджували шляхом збирання анамнестичних даних, реєстрації електрокардіограми, вимірювання артеріального тиску та проведення загальноприйнятого неврологічного огляду.

Роботу виконано відповідно до принципів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження», Наказу МОЗ України № 690 (від 23.09.2009 р.) та схвалено Комісією з біоетики Медичного інституту Сумського державного університету. Перед залученням до дослідження всі учасники дали письмову інформовану згоду.

Методи дослідження

Основним методом для проведення генотипування була полімеразна ланцюгова реакція з подальшим аналізом довжини рестрикційних фрагментів (PCR-RFLP).

Полімеразну ланцюгову реакцію проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 ("Applied Biosystems", США). Використовували праймери, синтезовані фірмою "Metabion" (Німеччина). Для рестрикційного аналізу 6 мкл продукту ампліфікації інкубували з відповідною рестриктазою: 2 ОД *Sac81* – Lys198Asn-поліморфізм (у буфері G такого складу: 10 мМ трис-НСІ (рН 7,5), 10 мМ хлориду магнію, 50 мМ хлориду натрію і 0,1 мг/мл альбуміну); 3 ОД *NtuCl* – С+70G-поліморфізм (у буфері R такого складу: 10 мМ трис-НСІ (рН 8,5), 10 мМ MgCl₂, 100 мМ КСІ, і 0,1 мг/мл альбуміну). Ампліфікати після рестрикції розділяли в 2,5 % агарозному гелі, що містив 10 мкг/мл бромистого етидію. Горизонтальний електрофорез проводили у камері Helicon (0,13 А; 160 V; 35 хв – Lys198Asn поліморфізм; 0,1 А; 140 V; 25 хв – С+70G поліморфізм). Візуалізацію ДНК після електрофорезу здійснювали за допомогою транслюмінатора («Біоком», Росія). Наявність у 5665-й позиції гена *EDN1* гуаніну призводила до розщеплення ампліфікату, який складався з 262 пар основ, рестриктазою *Sac81* на два фрагменти – 189 і 73 пари основ. При заміні гуаніну на тимін сайт рестрикції для *Sac81* втрачався і утворювався один фрагмент розміром 262 пари основ. Якщо в 211-й позиції 8-го екзона гена *EDNRA* містився цитозин, ампліфікат, який складався з 174 пар нуклеотидів, розщеплювався рестриктазою *NtuCl* на два фрагменти – 116 і 58 пар нуклеотидів. У разі заміни цитозину на гуанін сайт рестрикції для *NtuCl* втрачався і утворювався один фрагмент розміром 174 пари нуклеотидів.

Статистичне опрацювання одержаних результатів здійснювали за допомогою програми SPSS-17.0. Перевірку різниці розподілу генотипів здійснювали за допомогою χ^2 -критерію Пірсона. Значення $P < 0,05$ вважали статистично достовірними. Значущість відмінностей між середніми значеннями декількох груп даних визначали використовуючи однофакторний дисперсійний

аналіз із критерієм Фішера. Для визначення достовірності відмінностей між двома вибірками використовували критерій Стюдента (t). Прогнозування ризику розвитку ІАТІ, проводили за допомогою методу логістичної регресії. Для виявлення та характеристики міжгенних взаємодій використовували метод MDR (multifactor dimensionality reduction).

Результати власних досліджень

Визначені частоти мінорних алелів за поліморфними варіантами генів *EDN1* і *EDNRA* в осіб без ішемічного інсульту знаходяться у відповідності до більшості європейських популяцій і становлять 0,2 для Lys198Asn-поліморфізму і 0,46 для C+70G-поліморфного сайту. Існує достовірна різниця у розподілі алельних варіантів між групою хворих з ІАТІ та особами групи контролю за поліморфізмом Lys198Asn гена *EDN1* ($P = 0,008$), проте дані співвідношення варіантів генотипів у групах порівняння за C+70G-поліморфізмом гена *EDNRA* істотно не відрізняються ($P = 0,426$).

Однонуклеотидний поліморфізм гена *EDN1* є самостійним незалежним фактором ризику розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту – у гомозигот за мінорним алелем ймовірність настання ІАТІ значущо вища, ніж у гомозигот за основним алелем ($OR_{\text{попр}} = 8,059$; $P_{\text{попр}} = 0,001$).

Вплив поліморфного сайту гена *EDN1* на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту має статеві особливості. Ризик розвитку інсульту вищий у жінок, які є носіями мінорного Asn-алеля, ніж у носіїв основного Lys-алеля ($OR = 2,800$; $P = 0,009$) та у чоловіків - гомозигот за мінорним алелем, порівняно з гомозиготами за основним алелем ($OR = 3,534$; $P = 0,034$).

Установлено, що ризик розвитку ІАТІ більший у гомозигот за мінорним алелем (Asn/Asn) з $IMT \geq 25 \text{ кг/м}^2$, ніж у гомозигот за основним алелем ($OR = 4,583$; $P = 0,020$); у гетерозигот C/G з $IMT < 25 \text{ кг/м}^2$, ніж у носіїв C/C-генотипу ($OR = 3,684$; $P = 0,049$); у пацієнтів з артеріальною гіпертензією – носіїв гетерозиготного Lys/Asn-генотипу ($OR = 1,951$; $P = 0,034$) і у гомозигот за мінорним алелем (Asn/Asn) ($OR = 4,107$; $P = 0,033$) порівняно з гомозиготами за

основним алелем; у носіїв Asn/Asn-генотипу, які не курять порівняно з носіями Lys/Lys-генотипу (OR = 3,379; P = 0,041).

Установлено залежність характеристик ІАТІ від Lys198Asn- і C+70G-поліморфних варіантів генів *EDN1* та *EDNRA*. Для носіїв Asn/Asn-генотипу з ІМТ < 25 кг/м² характерне частіше одночасне ураження передньої, середньої, задньої мозкових та артерій вертебробазиллярного басейну (P = 0,002). Виявлено асоціацію G/G-генотипу з переважним ушкодженням вертебральних та базиллярних артерій у осіб із нормальним артеріальним тиском (P = 0,050). Клінічний перебіг ІАТІ середньої тяжкості спостерігається частіше у гомозигот за мінорним алелем G/G з ІМТ ≥ 25 кг/м² (P = 0,020). У осіб з артеріальною гіпертензією та в осіб, що не курять і є носіями Asn/Asn-генотипу ІАТІ, частіше має тяжкий перебіг (P = 0,024 і P = 0,023 відповідно).

Аналіз поєднаного впливу поліморфних сайтів генів ендотелінового шляху та інших відомих факторів ризику атеросклерозу на розвиток ІАТІ дав можливість створити класифікаційну модель, що включає поліморфний сайт Lys198Asn гена *EDN1* та артеріальну гіпертензію (прогностична значущість 62 % за методом MDR, P = 0,043). Поєднання в однієї особи АГ та носійства мінорного Asn-алеля є значущим предиктором підвищеного ризику розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту.

Ключові слова: ішемічний інсульт, поліморфізм гена, ендотелін-1, рецептор до ендотеліну типу А, EDN1, EDNRA.

ANNOTATION

Oleshko T. B. Relationship between polymorphism of endothelin and endothelin receptor genes with the mechanisms of the main manifestations of ischemic stroke. – Qualifying scientific work on the rights of manuscripts.

Dissertation for the degree of a Candidate of Medical Sciences (Doctor of Philosophy) in specialty 14.03.04 'Pathological Physiology'. – Sumy State University, Sumy, 2018.

Relevance of the Topic

The vascular diseases of the brain are one of the most important and complex problems of clinical medicine, due to their significant prevalence, high disability and mortality. In the structure of vascular diseases of the brain, the ischemic stroke itself is one of the most common clinical forms of acute disorder of cerebral circulation. In the pathogenesis of ischemic lesion of the brain the disturbance of endothelium function plays an important role. Among the vasoactive substances that produce endothelial cells, nitric oxide and endothelin-1 (EDN1) are important. The violation of the balance between the synthesis of these two factors is a sign of endothelial dysfunction (ED). It is known that ED is an early pathophysiological sign and a predictor of vascular pathology and ischemic stroke. Endothelin-1, a biologically active peptide of endothelial origin, one of the most important regulators of the functional state of the endothelium and one of the most powerful endogenous vasoconstrictors known today, contributes to the development of ED.

Endothelin-1 realizes its effects by interacting with a specific type-A receptor (EDNRA) that is associated with the G-protein. As a result of their interaction, there is a persistent vasoconstriction and proliferation of smooth myocytes, and therefore it contributes to the onset and progression of ED. It has now been found that at the early stage of the stroke the level of EDN1 increases, EDNRA of the smooth muscle cells of

the brain vessels is activated, resulting in vascular spasm. Thus, endothelin-1 and endothelin receptor of type A are among the key determinants of cardiovascular disease, including ischemic stroke.

The function of endothelin-1 and endothelin receptor of type A is definitely determined by the structural features of their genes. Therefore, the role of single nucleotide polymorphisms of *EDNI* and *EDNRA* genes in the development of ischemic atherothrombotic stroke is of great importance.

Characteristics of the Clinical Material

Venous blood of 170 patients with IAS (42.4 % of women and 57.6 % of men) aged 40 to 85 years (mean age of (64.7 ± 0.73) years) was used for the study. The ischemic nature of the stroke was established on the basis of anamnesis and clinical picture of the disease, the results of CT-study of the brain. The pathogenetic variant of the stroke was determined according to the TOAST criteria based on the anamnesis data, the clinical course of the disease, the results of the ultrasound doppler of the major arteries of the head, and the ECG. Patients with lacunar, cardioembolic ischemic stroke and ischemic stroke of unclear etiology were excluded from the experimental group.

The control group comprised 124 people, in which the absence of acute cardiovascular disease was confirmed by collecting anamnestic data, recording an electrocardiogram, measuring blood pressure, and conducting a common neurological review.

The work was performed in accordance with the principles of the Helsinki Declaration of the World Medical Association “Ethical Principles of Medical Research with the Involvement of a Human being as a Research Object”, Order No. 690 of the Ministry of Health of Ukraine (dated September 23, 2009) and approved by the Bioethics Commission of the Medical Institute of Sumy State University. Prior to engaging in the study, all participants provided written informed consent.

Study Methods

The main method for genotyping was the polymerase chain reaction followed by the analysis of the restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP).

Polymerase chain reaction was carried out in the GeneAmp PCR System 2700 (Applied Biosystems, USA) thermocycler. The primers synthesized by Metabion (Germany) were used. For restriction analysis, 6 µl of the amplification product was incubated with the appropriate restriction enzyme: 2 OD *Cac81* – Lys198Asn-polymorphism (in buffer G of this composition: 10 mM Tris-HCl (pH 7.5), 10 mM magnesium chloride, 50 mM sodium chloride and 0.1 mg/ml albumin); 3 OD *NmuCl* – C + 70G-polymorphism (in buffer R composed of: 10 mM Tris-HCl (pH 8.5), 10 mM MgCl₂, 100 mM KCl and 0.1 mg/ml albumin). The amplifications after restriction were separated into 2.5% agarose gel containing 10 µg/ml ethidium bromide. Horizontal electrophoresis was performed in a Helicon chamber (0.13 A; 160 V; 35 min – Lys198Asn-polymorphism; 0.1 A; 140 V; 25 minutes – C+70G-polymorphism). DNA visualization after electrophoresis was carried out using transilluminator (Biocom, Russia). The presence of guanine *EDN1* gene at position 5665 resulted in the splitting of the amplification, consisting of 262 base pairs, with restriction enzymes *Cac81* into two fragments – 189 and 73 base pairs. When the guanine was replaced by thymine, the site of restriction for *Cac81* was lost and a fragment measuring 262 base pairs was formed. If in the 211st position of the eighth exon of the *EDNRA* gene contained cytosine, an amplification consisting of 174 pairs of nucleotides was split with restriction enzymes *NmuCl* into two fragments – 116 and 58 pairs of nucleotides. In case of cytosine replacement with guanine, the restriction site for *NmuCl* was lost and a fragment of 174 pairs of nucleotides was formed.

Statistical analysis of the results was carried out using the SPSS-17.0 software. The difference in the genotype distribution was checked using the χ^2 -Pearson criterion. Values $P < 0.05$ were considered statistically significant. The significance of the differences between the mean values of several data groups was determined using a one-factor dispersion analysis with Fisher's criterion. Student's criterion (t) was used to determine the validity of the differences between the two samples. Prediction of the risk of IAS development was carried out using the logistic regression method. The MDR method (multifactor dimensionality reduction) was used to detect and characterize intergenic interactions.

Results of Own Research

The determined rates of minor alleles for polymorphic variants of the *EDNI* and *EDNRA* genes in persons without ischemic stroke are in accordance with most European populations and are 0.2 for Lys198Asn-polymorphism and 0.46 for the C+70G polymorph site. There is a significant difference in the distribution of allelic variants between the group of patients with IAS and the individuals in the control group for Lys198Asn of the *EDNI* gene ($P = 0.008$), but the relationship between variants of genotypes in the comparison groups on C+70G-polymorphism of the *EDNRA* gene does not differ substantially ($P = 0.426$).

The single nucleotide polymorphism of the *EDNI* gene is an independent risk factor for the development of ischemic atherothrombotic stroke – in the homozygote for the minor allele, the probability of the onset of IAS is significantly higher than that of the homozygote for the main allele ($OR_{\text{correc}} = 8.059$; $P_{\text{correc}} = 0.001$).

The influence of the polymorphic site of the *EDNI* gene on the development of ischemic atherothrombotic stroke has sexual characteristics. The risk of stroke is higher in women who are carriers of the minor Asn-allele than in the carriers of the main Lys-allele ($OR = 2.800$; $P = 0.009$), and in males – the homozygote in the minor allele compared to homozygotes in the main allele ($OR = 3.534$; $P = 0.034$).

It was found that the risk of IAS development is greater in the homozygote for the minor allele (Asn/Asn) with $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$ than in the homozygote for the main allele ($OR = 4.583$; $P = 0.020$); in heterozygote C/G with $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$ than in C/C genotype carriers ($OR = 3.684$; $P = 0.049$); in patients with arterial hypertension – carriers of the heterozygous Lys/Asn genotype ($OR = 1.951$; $P = 0.034$) and homozygote in the minor allele (Asn/Asn) ($OR = 4.107$; $P = 0.033$) compared to homozygotes in the main allele; in the Asn/Asn carriers that do not smoke compared to Lys/Lys genotype carriers ($OR = 3.379$; $P = 0.041$).

Dependence of IAS characteristics from Lys198Asn- and C+70G-polymorphic variants of *EDNI* and *EDNRA* genes was established. For carriers of the Asn/Asn genotype with $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$, simultaneous damage to the anterior, middle, posterior brain arteries and arteries of the vertebrobasilar basin is more frequent characteristic

($P = 0.002$). The association of the G/G-genotype with the predominant damage of vertebral and basilar arteries in persons with normal arterial pressure ($P = 0.050$) was revealed. The clinical course of moderate severity IAS is more frequent in the homozygote for the minor G/G-allele with $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ($P = 0.020$). In persons with arterial hypertension and non-smokers who are carriers of the Asn/Asn genotype, IAS is more likely to be severe ($P = 0.024$ and $P = 0.023$ respectively).

Analysis of the combined effect of polymorphic sites of endothelin route genes and other known risk factors for atherosclerosis on the IAS development allowed to create a classification model including the polymorphic site of Lys198Asn of the *EDN1* gene and arterial hypertension (prognostic significance 62 % by MDR method, $P = 0.043$). The combination of hypertension and carriage of minor Asn-allele in one person is a significant predictor of an increased risk of ischemic atherothrombotic stroke.

Key words: ischemic stroke, gene polymorphism, endothelin-1, endothelin type A receptor, EDN1, EDNRA.

Список публікацій здобувача

1. Роль однонуклеотидного поліморфізму С+70G гена рецептора ендотеліну-А в розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту / Т. Б. Олешко и др. // *Wiadomości Lekarskie*. 2017. Т. LXX. № 4. С. 725–730.
2. Олешко Т. Б., Свириденко Д. Ю., Гарбузова В. Ю. Аналіз зв'язку Lys198Asn поліморфних варіантів гена ендотеліну-1 (EDN-1) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі // *Клінічна та експериментальна патологія*. 2016. Т. XV. № 1 (55). С. 99–103.
3. Статеві особливості С+70G поліморфних варіантів гена EDNRA з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту / Т. Б. Олешко та ін. // *Клінічна та експериментальна патологія*. 2017. Т. XVI. № 1 (59). С. 105–109.
4. Олешко Т. Б., Свириденко Д. Ю., Гарбузова В. Ю. Особливості асоціації Lys198Asn поліморфізму гена EDN-1 з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту залежно від індексу маси тіла // *Актуальні проблеми сучасної медицини : вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2016. Т. 16. № 2 (54). С. 152–156.
5. Дослідження асоціації С+70G поліморфізму гена EDNRA з індексом маси тіла у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом / Т. Б. Олешко та ін. // *Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень*. 2017. № 5 (1). С. 737–743.
6. Олешко Т. Б., Гарбузова В. Ю., Атаман О. В. Зв'язок Lys198Asn поліморфізму гена ендотеліну-1 з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб із нормальним та підвищеним артеріальним тиском // *Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень*. 2015. Т. 3. № 4. С. 464–469.
7. Олешко Т. Б., Свириденко Д. Ю., Гарбузова В. Ю. Асоціація С+70G алельних варіантів гена EDNRA з ішемічним атеротромботичним інсультом у осіб з артеріальною гіпертензією та нормальним артеріальним тиском // *Актуальні проблеми сучасної медицини: вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2017. Т. 17. Вип. 3 (59). С. 149–152.

8. Олешко Т. Б., Свириденко Д. Ю., Гарбузова В. Ю. Розподіл алельних варіантів за Lys198Asn поліморфізмом гена ендотеліну-1 у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом у курців та осіб, які не палять // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. 2016. Vol. 4 (2). С. 335–340.
9. Пат. на корисну модель. 118841. Спосіб прогнозування розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту / Олешко Т. Б., Гарбузова В. Ю., Дубовик Є. І., Атаман О. В.; заявник і патентовласник Сумський держ. ун-т; заявл. 27.03.2017; опубл. 28.08.17, бюл. № 16.
10. Oleshko T. Frequency of allelic variants Lys198Asn polymorphism of endothelin- 1 (EDN-1) gene in the Ukrainian population // 8th International Student Medical Congress in Kosice. Faculty of Medicine, Pavol Josef Safaric University, Kosice, 2016, 22–24 June. P. 156.
11. Association Lys198Asn polymorphism of EDN1 gene with some risk factors of ischemic atherothrombotic stroke / T. Oleshko et al. // 27th European Students' Conference. Germany, Berlin, 2016, 28th September – 1st of October. P. 259.
12. Analysis of association Lys198Asn polymorphism of EDN1 gene with risk factors of ischemic atherothrombotic stroke in the ukrainian population / T. B. Oleshko et al. // IV Eurasian congress of cardiologists. Yerevan, Armenia, 2016, 10–11 October. P. 46.
13. Oleshko T., Obukhova O., Harbuzova V. Association of Lys198Asn polymorphism of endothelin-1 gene with ischemic atherothrombotic stroke // Scientific-practical conference devoted to the 100th anniversary of V. Y. Axundov. Republic of Azerbaijan, Baku, 2016, 26 June. P. 174.
14. Олешко Т. Б., Юрченко В. С., Гарбузова В. Ю. Ассоциация C+70G полиморфизма гена EDNRA с ожирением у больных с ишемическим атеротромботическим инсультом // Республиканская научно-практическая конференция «Метаболический синдром и другие категории дисметаболизма в различных областях медицины». Ташкент, Узбекистан, 2017, 13 апреля. С. 111–112.

15. Олешко Т. Б., Гарбузова В. Ю. Асоціація Lys198Asn поліморфних варіантів гена ендотеліну-1 (EDN-1) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі // Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні наукові дослідження та розробки: теоретична цінність та практичні результати». Братислава, 15–18 березня 2016 року. С. 97–98.
16. Олешко Т. Б., Свириденко Д. Ю., Гарбузова В. Ю. Асоціація Lys198Asn поліморфних варіантів гена ендотеліну-1 (EDN-1) з деякими факторами ризику ішемічного атеротромботичного інсульту // VII Національний конгрес патофізіологів України з міжнародною участю «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції». НФаУ, Харків, 5–7 жовтня 2016 року. С. 174.
17. Олешко Т. Б., Свириденко Д. Ю., Олешко Т. М., Юрченко В. С. Вивчення асоціації C+70G поліморфізму гена EDNRA з артеріальною гіпертензією у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом // Науково-практична конференція з міжнародною участю «XVI читання ім. В. В. Підвисоцького». Одеса, Україна (18–19 травня 2017 р.). С. 255.
18. Олешко Т. Б. Вивчення асоціації Lys198Asn поліморфізму гена EDN-1 з ішемічним атеротромботичним інсультом (ІАТІ) залежно від індексу маси тіла // XX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених. Тернопіль, 25–27 квітня 2016 року. С. 274.
19. Олешко Т. Б., Свириденко Д. Ю., Юрченко В. С., Гарбузова В. Ю. Вивчення зв'язку Lys198Asn поліморфізму гена ендотеліну-1 з артеріальною гіпертензією у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом // IV Міжнародна науково-практична конференція студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини», Суми, 21–22 квітня 2016 року. Суми : СумДУ, 2016. С. 163–164.
20. Олешко Т. Б., Юрченко В. С., Свириденко Д. Ю. Розподіл алельних варіантів гена EDNRA за C+70G поліморфізмом у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом залежно від величини індексу маси тіла // V Міжнародна науково-практична конференція студентів та молодих

вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини», Суми, 20–21 квітня 2017 року. Суми : СумДУ, 2017. С. 446–447.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	18
ВСТУП.....	20

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сучасні уявлення про патогенез ішемічного інсульту.....	27
1.2. Роль ендотеліальної дисфункції в розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту.....	32
1.3. Функціональне значення ендотеліну-1 та рецепторів до ендотеліну типу А.....	37

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Характеристика клінічного матеріалу.....	44
2.2. Молекулярно-генетичні дослідження.....	50
2.3. Методи статистичного аналізу	54

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Вплив алельних поліморфізмів Lys198Asn гена <i>EDNI</i> і C+70G гена <i>EDNRA</i> на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту.....	55
3.2. Асоціація Lys198Asn-поліморфізму гена <i>EDNI</i> і C+70G-поліморфного варіанта гена <i>EDNRA</i> з ішемічним атеротромботичним інсультом у осіб з різними факторами ризику.....	59
3.3. Вплив Lys198Asn- і C+70G-алельних поліморфізмів генів <i>EDNI</i> та <i>EDNRA</i> на основні характеристики ішемічного атеротромботичного інсульту.....	87
3.4. Поєднаний вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів <i>EDNI</i> та <i>EDNRA</i> на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту.....	94

РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

ДОСЛІДЖЕННЯ.....	101
ВИСНОВКИ.....	115
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	117
ДОДАТКИ.....	144

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- АГ – артеріальна гіпертензія.
- АТ – артеріальний тиск.
- АТ_{діаст} – діастолічний артеріальний тиск.
- АТ_{пульс} – пульсовий артеріальний тиск.
- АТ_{серед} – середній артеріальний тиск.
- АТ_{сист} – систолічний артеріальний тиск.
- АТФ – аденозинтрифосфат.
- ВББ – вертебробазиллярний басейн.
- ГЕБ – гематоенцефалічний бар'єр.
- ГМК – гладком'язові клітини.
- ДАХ – дисліпідемія атерогенного характеру.
- ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота.
- ЕД – ендотеліальна дисфункція.
- ЕКГ – електрокардіограма.
- ІАТІ – ішемічний атеротромботичний інсульт.
- ІМТ – індекс маси тіла.
- КТ – комп'ютерна томографія.
- МРТ – магнітно-резонансна томографія.
- НАТ – нормальний артеріальний тиск.
- ПрепроEDN1 – препроендотелін-1.
- ПроEDN1 – проендотелін-1.
- ЦВЗ – цереброваскулярні захворювання.
- А – аденін.
- bigEDN1 – Big-ендотелін-1.
- С – цитозин.
- СІ – довірчий інтервал.
- EDN1 – ендотелін-1.
- EDNRA – рецептор до ендотеліну типу А.

EDNRB – рецептор до ендотеліну типу В.

G – гуанін.

MDR – зменшення багатофакторної розмірності.

NMDA – N-метил-D-аспартат.

NO – оксид азоту.

NOS – синтаза оксиду азоту.

OR – відношення шансів.

PCR – полімеразна ланцюгова реакція.

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

SNP – однонуклеотидний поліморфізм.

T – тимін.

ВСТУП

Актуальність теми

Судинні захворювання головного мозку є однією з найбільш важливих і складних проблем клінічної медицини, що обумовлено їх значною поширеністю, високою інвалідністю та смертністю.

У структурі судинних захворювань головного мозку саме ішемічний інсульт є однією з найпоширеніших клінічних форм гострого порушення мозкового кровообігу. За даними міжнародних мультицентрових досліджень, співвідношення ішемічних і геморагічних інсультів становить 80–90 % та 10–20 % відповідно [1, 2, 3, 4]. Тому серед хворих із наслідками порушення мозкового кровообігу і вираженим ступенем інвалідності переважають особи, які перенесли його ішемічний варіант [5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12].

В Україні кожного року діагностується 3 млн випадків цереброваскулярних захворювань (ЦВЗ) [13]. Захворюваність на мозковий інсульт у нашій країні істотно перевищує аналогічні показники в розвинених країнах світу і становить 31 % у нозологічній структурі всіх форм цереброваскулярних хвороб. Частота виникнення інсульту в Україні, за даними різних авторів, варіює від 110 до 130 тис. випадків упродовж року [14, 15, 16, 17, 18]. Кожні 5 хвилин в однієї особи в нашій країні розвивається інсульт і кожні 12 хвилин один із хворих помирає від інсульту. Статистичні дані свідчать, що 30–40 % пацієнтів з інсультом в Україні помирають упродовж одного місяця і близько половини – впродовж одного року, 20–40 % стають інвалідами, і лише менше 20 % повертаються до повноцінного життя [19]. Аналіз динаміки захворюваності на інсульт в Україні за останні 10 років свідчить про несприятливу тенденцію до її зростання, що набула значної інтенсивності за останні 2 роки [20, 21]. Близько 10 % інсультів виникає в осіб, молодших за 50 років [22].

Невпинне зростання кількості хворих із цереброваскулярними захворюваннями вимагає покращень існуючих методик діагностики,

попередження розвитку та лікування цієї патології. Існують численні докази генетичної залежності цілого ряду механізмів, причетних до уражень кровоносних судин, що призводять до мультифакторіальних захворювань. Тому вивчення впливу генетичних факторів на розвиток найпоширеніших цереброваскулярних хвороб є однією з найактуальніших проблем теоретичної та практичної медицини.

У патогенезі ішемічного ураження головного мозку важливу роль відіграє порушення функції ендотелію [23, 24]. Ендотеліальна дисфункція (ЕД) визначається як дисбаланс між продукцією вазоконстрикторних, протромботичних, проліферативних факторів, з одного боку, та вазодилатуючих, ангіопротективних та антипроліферативних факторів, з іншого, що призводить до порушень гомеостазу судинної стінки [25, 26]. Серед вазоактивних речовин, які продукують клітини ендотелію, важливими є оксид азоту та ендотелін-1 (EDN1). Порушення рівноваги між синтезом цих двох факторів є ознакою ЕД [27]. ЕД вважається раннім маркером атеросклерозу, що передує ангіографічним або ультразвуковим доказам атеросклеротичного процесу [28]. Відомо, що сироваткова концентрація EDN1 корелює з інтенсивністю набряку мозку в пацієнтів з ішемічним інсультом [29]. ЕД є ранньою патофізіологічною ознакою і предиктором судинної патології та ішемічного інсульту [30, 31]. У пацієнтів із гострим ішемічним інсультом доведено наявність дисфункції ендотелію протягом перших 24 годин після госпіталізації, яка прогресивно збільшується впродовж першого тижня госпіталізації [32].

Розвитку ЕД в найбільшій мірі сприяє ендотелін-1 – біологічно активний пептид ендотеліального походження, що є одним із найважливіших регуляторів функціонального стану ендотелію та одним із найпотужніших ендогенних вазоконстрикторів, відомих на сьогодні [33, 34, 35, 36, 37, 38]. Крім судинозвужувального, для EDN1 також характерні прозапальний, мітогенний та проліферативний ефекти, стимуляція утворення вільних радикалів та активація тромбоцитів [5, 13, 14, 19]. На основі цих біологічних ефектів ендотелін-1 залучений як важливий фактор у розвитку судинної дисфункції та серцево-

судинних захворювань. Доведено, що рівень EDN1 підвищується у хворих в гострому періоді ішемічного інсульту [39].

Ендотелін-1 реалізує свої ефекти за допомогою взаємодії зі специфічним рецептором типу А (EDNRA), асоційованим з G-білком. У результаті їх взаємодії виникають стійка вазоконстрикція та проліферація гладких міоцитів а, отже, це сприяє виникненню і прогресуванню ЕД [38, 40, 41]. На сьогодні з'ясовано, що на ранній стадії інсульту підвищується рівень EDN1, активуються EDNRA гладком'язових клітин судин мозку, внаслідок чого виникає спазм судин [42]. Таким чином, ендотелін-1 та ендотеліновий рецептор типу А є одними з ключових факторів, від яких залежить розвиток багатьох серцево-судинних захворювань та ішемічного інсульту зокрема [36, 42, 43].

Функціонування ендотеліну-1 та ендотелінового рецептора типу А, безумовно, визначається структурними особливостями їх генів. Тому дослідження ролі одонуклеотидних поліморфізмів генів *EDN1* і *EDNRA* у розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту має велике теоретичне й практичне значення.

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) та «Зв'язок алельного поліморфізму генів ектопічної кальцифікації з розвитком поширених серцево-судинних хвороб та їх ускладнень» (номер державної реєстрації 0115U000688).

Мета дослідження. Встановлення асоціації одонуклеотидних поліморфізмів Lys198Asn гена *EDN1* та C+70G гена *EDNRA* з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту, а також аналіз впливу поліморфних варіантів досліджуваних генів на виникнення ішемії головного мозку в пацієнтів з найпоширенішими факторами ризику.

Для реалізації мети було визначено такі завдання:

1. Дослідити частоту однонуклеотидного поліморфізму Lys198Asn гена *EDN1* у хворих з ІАТІ та в осіб без ознак порушень мозкового кровообігу.
2. Визначити частоту генотипів за С+70G-поліморфізмом гена *EDNRA* у хворих з ІАТІ та осіб групи порівняння.
3. Дослідити асоціацію поліморфізмів Lys198Asn гена *EDN1* та С+70G гена *EDNRA* з виникненням ІАТІ у пацієнтів із різними факторами ризику (стать, артеріальна гіпертензія, паління, надмірна маса тіла).
4. Вивчити вплив поліморфних варіантів генів *EDN1* та *EDNRA* на основні характеристики ІАТІ.
5. З'ясувати комплексний вплив поліморфізмів Lys198Asn та С+70G на розвиток ІАТІ.

Об'єкт дослідження – поліморфізм генів *EDN1* та *EDNRA*.

Предмет дослідження – участь досліджуваних генетичних чинників (однонуклеотидних поліморфізмів генів *EDN1* та *EDNRA*) у розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту.

Методи дослідження: клінічні методи дослідження, що підтверджують наявність ІАТІ, 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 однонуклеотидних поліморфізмів генів (полімеразна ланцюгова реакція з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів (PCR-RFLP)), статистичні методи обробки цифрових даних та аналізу одержаних результатів.

Наукова новизна одержаних результатів.

Установлено розподіл генотипів та частоту алелів за поліморфізмами Lys198Asn гена *EDN1* та С+70G гена *EDNRA* у практично здорових осіб та хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом серед представників української популяції. Виявлено відмінність у співвідношенні генотипів за

Lys198Asn-поліморфним варіантом гена *EDN1* між хворими з ІАТІ та особами контрольної групи. Доведено, що у гомозигот за мінорним алелем Lys198Asn-поліморфізму ризик розвитку ІАТІ більший у 4 рази, порівняно з гомозиготами за основним алелем. Проте С+70G-алельний варіант гена *EDNRA* з ризиком розвитку цього захворювання не асоційований.

Виявлено, що вплив вивчених генетичних чинників на розвиток цереброваскулярної патології має статеві особливості. Ризик виникнення ІАТІ в осіб жіночої статі з Lys/Asn-генотипом (поліморфізм гена *EDN1*) більший у 2,6 рази, а в чоловіків, що є носіями Asn/Asn-генотипу, – у 3,5 рази, ніж у пацієнтів із Lys/Lys-генотипом.

Уперше проаналізовано вплив поліморфних варіантів генів *EDN1* та *EDNRA* на розвиток ІАТІ у пацієнтів із різними факторами ризику. Встановлено, що в осіб з ІМТ ≥ 25 кг/м², гомозигот за мінорним алелем Lys198Asn-поліморфізму, ІАТІ виникає у 4,6 рази частіше, ніж у гомозигот за основним алелем. Ризик розвитку ІАТІ у пацієнтів з ІМТ < 25 кг/м², носіїв гетерозиготного (С/Г) генотипу за С+70G-поліморфізмом, більший у 3,7 рази порівняно з гомозиготами за основним алелем. Для носіїв гетерозиготного Lys/Asn-генотипу, що страждають на артеріальну гіпертензію, ризик виникнення інсульту більший майже вдвічі, а в гомозигот за мінорним алелем (Asn/Asn) ризик збільшується в 4,1 рази порівняно з носіями Lys/Lys-генотипу. Для носіїв Asn/Asn-генотипу, які не є курцями, виявлене підвищення ризику розвитку ІАТІ у 3,4 рази.

Практичне значення одержаних результатів.

Результати, одержані в дисертаційній роботі, розширюють та поглиблюють наукові відомості про роль таких генетичних чинників, як одонуклеотидні поліморфізми генів, причетних до розвитку ендотеліальної дисфункції і таких її наслідків, як ішемічний атеротромботичний інсульт.

Дослідження даних про зв'язок Lys198Asn-поліморфного сайту гена *EDN1* та С+70G-поліморфізму гена *EDNRA* з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту можуть застосовуватися для прогнозування

ймовірності виникнення цього захворювання у пацієнтів із факторами ризику ендотеліальної дисфункції. Виявлення генетичної схильності до ІАТІ дозволить своєчасно проводити заходи профілактики та застосовувати індивідуальний підхід до вибору методів лікування у випадку розвитку недуги.

Результати наукових досліджень, викладених у дисертації, впроваджено у науково-дослідну роботу і навчальний процес на кафедрах патофізіології Національного фармацевтичного університету МОЗ України, Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, Івано-Франківського національного медичного університету, Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, на кафедрі фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету МОН України.

Особистий внесок здобувача.

Автором особисто проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз наукової літератури за темою дисертації, сформульовано мету і завдання роботи, розроблено та обгрунтовано план досліджень. Молекулярно-генетичні дослідження проведено дисертантом у науковій лабораторії молекулярно-генетичних досліджень СумДУ (науковий керівник – проф. О. В. Атаман, завідувач лабораторії – проф. В. Ю. Гарбузова). Автором статистично опрацьовано та проаналізовано одержані результати, написано всі розділи дисертаційної роботи та сформульовано висновки, а також підготовлено матеріали до публікації.

Апробація результатів дисертації.

Основні положення дисертації представлено та обговорено на 8th International Student Medical Congress in Kosice, Slovakia (22–24 June 2016); 27th European Students' Conference "Facing Antimicrobial Resistance – Research Revolution wanted", Berlin, Germany (September 28 – October 1 2016); 4th International Scientific Conference of Students and Young Scientists "Topical Issues of Clinical and Theoretical Medicine", Sumy, Ukraine (21–22 April 2016); IV Eurasian congress of cardiologists, Yerevan, Armenia (10–11 October 2016); Scientific-practical conference devoted to the 100th anniversary of V. Y. Axundov,

Republic of Azerbaijan, Baku (26 June 2016); 5th International Scientific Conference of Students and Young Scientists “Topical Issues of Clinical and Theoretical Medicine”, Sumy, Ukraine (20–21 April 2017); VII Національному конгресі патофізіологів України за міжнародної участі: «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції», м. Харків (5–7 жовтня 2016 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні наукові дослідження та розробки: теоретична цінність та практичні результати», Братислава, Словаччина (15–18 березня 2016 р.); XX Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених, Тернопіль, Україна (25–27 квітня 2016 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю «XVI читання ім. В. В. Підвисоцького», Одеса, Україна (18–19 травня 2017 р.); Республіканській науково-практичній конференції «Метаболический синдром и другие категории дисметаболизма в различных областях медицины», Ташкент, Узбекистан (13 квітня 2017 р.).

Публікації.

За матеріалами дисертації опубліковано 20 наукових праць, з яких 8 статей (1 – у зарубіжному виданні, що обліковується наукометричною базою Scopus, 7 – у фахових виданнях, що входять до переліку ВАК України), 11 тез доповідей у матеріалах конгресів та конференцій, 1 патент на корисну модель. Дві наукові праці опубліковано за одноосібної участі автора.

Обсяг і структура дисертації.

Дисертаційну роботу викладено на 164 сторінках (основний обсяг становить 116 сторінок). Вона складається із вступу, чотирьох розділів: огляд літератури, матеріали та методи дослідження, результати власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, а також висновків та додатків. Список використаної літератури містить 261 джерело (90 – кирилицею, 171 – латиницею). У роботі наведено 13 рисунків, 33 таблиці, 16 додатків.

РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сучасні уявлення про патогенез ішемічного інсульту

Інсульт – це гостре порушення мозкового кровообігу, що спричинює ушкодження тканин мозку і розлади його функцій. У структурі мозкових інсультів виділяють три основні типи: ішемічний (інфаркт мозку), геморагічний (крововилив у мозок) та субарахноїдальний (прорив крові у підпаутинний простір і шлуночкову систему головного мозку) крововилив [9]. Найбільш поширеним серед них є ішемічний варіант [1, 3].

Проведення аналізу поняття «ішемічний інсульт» дозволяє виділити два підходи в розумінні його сутності – патогенетичний та клінічний. Із патогенетичної точки зору ішемічний інсульт – це гіпоксичне ураження ділянки паренхіми мозку, спричинене погіршенням кровотоку в ній, зменшенням перфузії та, як наслідок, порушенням метаболічних процесів і функціональної активності нейронів. Клінічно ішемічний інсульт – це синдром, що характеризується швидко виникаючими скаргами та/чи симптомами втрати вогнищевих мозкових та інколи загальнономозкових функцій, що зберігаються до 24 годин і більше або призводять до смерті пацієнтів унаслідок судинних порушень [6, 8, 12].

Важливим досягненням у галузі ангіоневрології є створення сучасної концепції гетерогенності ішемічного інсульту, що визначає різноманітність структурних уражень головного мозку та його клінічних проявів. Згідно з цією концепцією розрізняють такі патогенетичні підтипи ішемічного ушкодження мозку: атеротромботичний, кардіоеMBOLІчний, лакунарний, гемодинамічний і гемореологічний [18, 44, 45].

Однією з основних причин виникнення ішемічних інсультів є тромбоз церебральних артерій: до 50 % гострих порушень мозкового кровообігу за

ішемічним типом є тромботичним або емболічним ускладненням атеросклеротичного процесу в артеріях великого та середнього калібру. Відомо, що процес тромбоутворення залежить від низки факторів: гемодинамічних, стану судинно-тромбоцитарного і плазмового компонентів системи гемостазу, стадії розвитку атеросклеротичної бляшки [46, 47].

Серед усіх випадків атеротромботичних уражень можна виділити два види: ураження макросудин з утворенням територіальних інфарктів (70 %) та ураження мікросудин із формуванням дрібних інфарктів (30 %). Частіше за все при гемісферних інфарктах головного мозку уражається басейн середньої (50–75 % випадків), рідше – передньої і задньої (20 та 10 % відповідно) мозкових артерій. Стенози інтракраніальних артерій є причиною 5–10 % інсультів, причому переважають ураження каротидного басейну, проксимальних ділянок середньої мозкової та основної артерій [48, 49, 50, 51, 52]. Відомо, що кожен хвилину через сонні артерії протікає 600–800 мл крові, а через хребцеві – близько 200 мл, тому частота мозкових інфарктів у передній циркуляції (каротидному басейні) в 3–4 рази вища, ніж у задній (вертебробазиллярному басейні) [53, 54].

Головний мозок, маса якого в дорослої людини становить лише 2 % від загальної маси тіла, за 1 хвилину отримує 750–850 мл крові, майже 20 % усього кисню, що потрапляє в організм, і приблизно стільки ж глюкози [55]. У фізіологічних умовах за 1 хв кожні 100 г тканини головного мозку отримують 55–60 мл крові, споживають 3–5 мл кисню [56, 57]. Постійне надходження кисню та глюкози необхідне для збереження енергетичного субстрату мозку, функціонування нейронів та підтримання їх інтегративної функції. Церебральний кровотік строго регулюється за рахунок багатьох скоординованих механізмів, зокрема регіональних і сегментарних змін судинного тонуусу та особливості міжклітинних взаємодій, що забезпечується переважно ендотелієм кровоносних судин [55].

Ураховуючи високу чутливість головного мозку до рівня енергетичного постачання, що забезпечується адекватним рівнем перфузії, однією із сучасних концепцій, що проливає світло на патогенез ішемічного інсульту, є концепція

порогового ішемічного кровотоку. Згідно з її положеннями первинна реакція виникає при зменшенні мозкового кровотоку нижче ніж 55 мл/100 г речовини мозку за 1 хв і проявляється гальмуванням синтезу білка. Зменшення мозкового кровообігу нижче ніж 35 мл/100 г/хв стимулює анаеробний гліколіз, нижче від 20 мл/100г/хв викликає надлишкове вивільнення збуджувальних нейротрансмітерів, запускає порушення енергетичного обміну. Виділяють верхній ішемічний поріг, або поріг втрати електричної функції, з кровотоком менше ніж 20 мл/100 г речовини мозку за 1 хв, нижче від якого порушуються функції нейронів: припиняється електрична активність у клітинах кори, зменшується амплітуда викликаних потенціалів із ділянки фокальної ішемії, порушується синаптична передача. Критичним порогом для необоротного пошкодження нейронів вважають зниження мозкового кровообігу менше ніж 10 мл/100 г за 1 хв. Такий ступінь ішемії розглядають як нижній ішемічний поріг енергетичного ураження, або поріг втрати клітинного іонного гомеостазу. Відбувається різке метаболічне порушення в епіцентрі ішемії: аноксична деполаризація клітинних мембран, розвивається цитотоксичний (обмінний) набряк мозку. Внаслідок цього виникають необоротні ушкодження нейронів і клітин нейроглії — некроз, апоптоз [56, 57, 58].

Другою не менш важливою концепцією патогенезу ішемічного інсульту є концепція ішемічної напівтіні. Згідно з даною концепцією зона церебральної ішемії не є однорідною. Ділянка мозку з найбільш вираженим зниженням мозкового кровообігу (менше ніж 10 мл/100г/хв) – «ядро» мозкового інфаркту, зазнає структурних порушень, які набувають необоротного характеру за рахунок некрозу дуже швидко (впродовж перших 6–8 хв). Ця зона дістала назву «ядерної» зони ішемії. Упродовж декількох годин «ядро» інсульту оточене ішемізованою, але живою тканиною (з рівнем кровотоку до 20мл/100г/хв) – це зона «ішемічної напівтіні», або пенумбри. Для клітин цієї зони ще властиві активні метаболічні процеси, а її межі поширюються від ядерної зони до периферичної, що оточує вогнище, тканини. Порушення функції нейронів у зоні пенумбри мають оборотний характер. Хоча клітини перебувають у стані ризику функціональних

порушень, рівень кровотоку знаходиться між двома порогамі і відповідає «мізерній» перфузії. Тобто, відновивши мозковий кровотік, у зоні пенумбри можна запобігти «доформуванню» вогнища некрозу та зменшити неврологічний дефіцит. Якщо це не вдається зробити, клітини ішемічної напівтіні гинуть за механізмом апоптозу, а зона інфаркту розширюється [5, 56, 58, 59, 60, 61].

Таким чином, процес формування ділянки інфаркту мозку є динамічним та відображає каскад циркуляторно-метаболічних порушень, що може тривати декілька годин і завершується через 1–2 доби після появи перших проявів ішемічного інсульту. Остаточний розмір зони інфаркту визначається ступенем і тривалістю локальної гіперперфузії тканини мозку, що змінюється з плином часу. Уже через 3–6 годин після виникнення перших симптомів інсульту формується стійкий структурно-морфологічний дефект. Цей період одержав назву «терапевтичного вікна», адже відновлення кровопостачання ішемізованої ділянки мозку впродовж нього дозволить призупинити процес формування і, отже, мінімізувати розміри зони інфаркту. Якщо кровотік не відновлюється, то впродовж наступних 24–48 годин продовжуються формування і збільшення осередку інфаркту залежно від ступеня зниження мозкового кровотоку [5, 14, 30, 62, 63].

Протягом перших шести годин після виникнення інфаркту мозку основні патогенетичні механізми загибелі нейронів у зоні ішемічної напівтіні пов'язані з виснаженням клітинних енергетичних ресурсів, надмірним накопиченням збудливих амінокислот та виникненням ексайтотоксичності, утворенням активних форм кисню з розвитком оксидантного стресу, функціональними змінами гематоенцефалічного бар'єра (ГЕБ) та його складової – ендотелію церебральних судин, реакцією стрес-реалізуючої імунонейроендокринної системи на ушкодження тканини головного мозку [58, 64].

Раптове зменшення перфузії головного мозку призводить до значного обмеження надходження в мозкову тканину основних енергетичних субстратів — кисню та глюкози. При ішемії мозку вміст кисню в крові недостатній для аеробного окиснення глюкози, тому запускається анаеробний механізм її

розщеплення, який лише частково компенсує енергетичні потреби мозку. Внаслідок цього рівень АТФ зменшується у 19 разів порівняно з аеробним окисненням такої самої кількості глюкози. Енергетичний дефіцит є причиною порушення функції Na/K-насоса. Погіршення активного іонного транспорту призводить до пасивного відтоку K^+ із клітин та притоку Ca^{2+} до клітин, внаслідок чого відбуваються деполяризація клітинних мембран та збільшення надходження Ca^{2+} до клітин через специфічні потенціал-залежні канали [58, 65].

Гостра ішемія зумовлює надмірне утворення нейронами глутамату. Доведено, що в період наростання ішемії головного мозку ступінь вираженості деструктивних змін корелює з його вмістом [16]. Глутамат у значній кількості спричиняє перезбудження постсинаптичних рецепторів, що отримало назву глутаматної ексайтотоксичності [58, 66, 67, 68, 69]. Внаслідок зв'язування глутамату з NMDA-рецепторами відбуваються «шокове» відкриття кальцієвих каналів та масивний приток Ca^{2+} до клітин [70]. Ca^{2+} в цитоплазмі спричиняє контрактуру фібрилярних структур та пошкодження мітохондрій, що, у свою чергу, підвищує рівень цитохрому С. Унаслідок цього відбуваються активація каспази і, як наслідок, загибель клітини за механізмом апоптозу. Також Ca^{2+} сприяє активації протеаз, фосфоліпаз (активує фосфоліпазу A_2 , що виявляє детергентну дію на мембрану клітини), NO-синтази [71]. Це призводить до зростання рівня оксиду азоту та вільних радикалів, розвитку оксидантного стресу та загибелі клітин.

Іноді реперфузія призводить до більшого тканинного пошкодження, ніж її відсутність. При реперфузії ішемізованих ділянок головного мозку кисень, що з'являється в тканинах, вступає в реакцію з проміжними компонентами дихального ланцюга з утворенням супероксид-аніона, тобто відбувається підвищене утворення активних форм кисню при реоксигенації мозку – «кисневий парадокс» [56, 58, 72].

При гострій церебральній ішемії важливе значення має загибель нейронів унаслідок пошкодження вільними радикалами. Одним із неспецифічних механізмів активації вільнорадикального окиснення в мозку є підвищена

продукція оксиду азоту шляхом стимуляції індукцибельної NO-синтази. Проте фізіологічно значущий NO зв'язується супероксид-аніоном кисню, що також утворюється ендотелієм судин. Це призводить до пригнічення вазодилатації та утворення пероксинітриту (ONOO'). Під впливом цієї високотоксичної сполуки ендотеліальна NOS-синтаза втрачає здатність переносити електрони до L- аргініну для утворення NO і замість цього переносить їх до молекулярного кисню, що призводить до утворення супероксид-аніона. Внаслідок цього формується «зачароване коло», в якому кількість вільних радикалів постійно збільшується, що сприяє ушкодженню клітин [14, 73].

Таким чином, розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАТІ), який є мультифакторіальним захворюванням, обумовлений взаємодією генетичних чинників та факторів зовнішнього середовища [74–79]. Патогенетичний ланцюг механізмів ІАТІ умовно можна поділити на два періоди. До першого відносять розвиток атеросклеротичного ураження судин головного мозку і тромботичних ускладнень у ділянці ерозованої бляшки. Для другого періоду характерна поява комплексу реакцій тканин головного мозку у відповідь на припинення або значне послаблення надходження до них артеріальної крові [80–82]. Оскільки патофізіологічним підґрунтям процесів, властивих для обох періодів, є ендотеліальна дисфункція, вважається, що їй належить провідна роль у патогенезі даного захворювання [23, 24, 83]. Враховуючи це, виникає необхідність подальшого детального вивчення механізмів, що можуть впливати на виникнення чи прогресування ЕД.

1.2. Роль ендотеліальної дисфункції у розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту

Ендотелій судин не просто селективний бар'єр між кров'ю й тканинами, а складна метаболічна система, активно функціонуючий орган та найбільша в організмі залоза внутрішньої секреції [23, 66, 84].

Основними функціями ендотелію є: бар'єрна (відокремлення крові від власне тканини судинної стінки), транспортна (забезпечення дифузії, фільтрації та мікровезикулярного транспорту), метаболічна (участь у процесах обміну речовин та енергії), підтримання тромборезистентності (синтез сполук, що забезпечують антитромбогенні механізми та процеси гемостазу при порушенні цілісності ендотеліального шару), взаємодія з іншими типами клітин (із гладкими міоцитами й макрофагами судинної стінки, форменими елементами крові), регуляція судинного тонуусу (гемодинамічні чинники, біологічно активні речовини, гормони, фармакологічні агенти впливають на стан скорочення гладких м'язів судинної стінки не прямо, а опосередковано – через ендотеліальні клітини, які вивільнюють, залежно від характеру стимулу, вазодилататорні або вазоконстрикторні речовини) [85].

Серед факторів, що можуть стимулювати клітини ендотелію, важливою є зміна швидкості кровотоку, а саме збільшення напруги зсуву, причиною якої може бути підвищення артеріального тиску. Також вагомий вплив на ендотеліоцити здійснює підвищення концентрації циркулюючих або «внутрішньостінкових» нейрогормонів, таких як, наприклад, вазопресин, катехоламіни, ацетилхолін, брадикінін, аденозин, гістамін. Крім того, фактори, що виділяються тромбоцитами при їх активації (серотонін, АДФ, тромбін). За нормальних умов, у відповідь на стимуляцію, ендотелій реагує посиленням синтезу речовин, що сприяють розслабленню гладком'язових клітин судинної стінки, насамперед NO, а також простагліцину, ендотеліального фактора гіперполяризації та ін. [30].

Ендотеліальна дисфункція (ЕД) – це дисбаланс між продукцією вазодилатуючих, антипроліферативних, ангіопротекторних факторів (оксид азоту, простагліцин, тканинний активатор плазміногену та ін.), з одного боку, і вазоконстрикторних, протромботичних, проліферативних, прозапальних субстанцій (ендотелін, тромбоксан A₂, супероксиданіон, інгібітор тканинного активатора плазміногену, цитокіни та ін.), з іншого [50, 73, 86, 87, 88, 89, 90, 91].

Основними причинами дисфункції ендотелію сьогодні вважають гемодинамічні фактори, зокрема пристінкова напруга зсуву, гіперхолестеринемію, гіпергомоцистеїнемію, асиметричний диметиларгінін, гіперглікемію, вільнорадикальне пошкодження ендотелію, екзогенні та ендогенні інтоксикації, а також вікові зміни [26, 31, 88].

Розвиток ЕД залежить від впливу судинних факторів ризику і відображає ступінь їх пошкоджувальної дії. За умов збереження фізіологічних функцій і компенсаторних механізмів ендотелію дія факторів ризику не призводить до судинного пошкодження. Тобто саме порушення метаболізму судинного ендотелію є раннім предиктором несприятливих наслідків при більшості форм серцево-судинних захворювань. Існують дані, що підтверджують значну поширеність ЕД серед осіб похилого віку за відсутності інших факторів ризику чи судинних захворювань. Таким чином, ендотеліальну дисфункцію розглядають як перший прояв старіння у здорових людей і вагому причину підвищення ймовірності виникнення серцево-судинних захворювань та ішемічного інсульту зокрема [31, 92].

Фактори ризику судинних захворювань рано чи пізно порушують баланс ендотеліальних судинних агентів, що в подальшому реалізується в ініціюванні та прогресуванні патологічних змін судин, в тому числі церебральних [50]. Провокуючи ангіоспазм чи тромбоз судин, ЕД може бути самостійною причиною порушення кровообігу. З іншого боку, такі порушення регіонарного кровообігу, як ішемія, можуть призводити до ендотеліальної дисфункції [93].

Ендотеліальна дисфункція проходить декілька фаз. Перша з яких – компенсації. Для неї характерне підвищення секреторної активності ендотеліоцитів в умовах зростаючих вимог до судинної системи. Наступною є фаза субкомпенсації. Її особливістю є зворотні порушення бар'єрної функції ендотелію, підвищення проникності для моноцитів, прозапальних цитокінів, ендотеліну та ін. Під час останньої фази – декомпенсації – спостерігається структурно-метаболічне виснаження ендотелію, що призводить до

функціонального згасання, загибелі та десквамації клітин, пригнічення їх регенерації [30, 58].

Фізіологічне функціонування ендотелію відрізняється безперервною базальною секрецією оксиду азоту (NO), що підтримує тонус судин. Вважається, що порушення концентрації оксиду азоту відіграє важливу роль у механізмах ініціації та прогресування ендотеліальної дисфункції. Внаслідок активації ендотеліальної NO-синтази відбувається секреція оксиду азоту на фізіологічному рівні, здійснюється цитопротективний вплив на організм. Це супроводжується вазодилатацією, зниженням клітинної проліферації, зменшенням адгезії та агрегації тромбоцитів. При активації нейрональної та індукцйбельної NO-синтази відбувається гіперпродукція оксиду азоту. У високих концентраціях NO здійснює пряму цитотоксичну й імуногенну дію, обумовлену його здатністю в реакції з супероксидним радикалом продукувати пероксинітрит, який спричиняє мутації та пошкодження ДНК, в результаті чого виникає апоптоз і некроз клітин [44, 58, 94, 95].

Відомо, що активність ферменту NO-синтази, що забезпечує синтез оксиду азоту – одного з основних медіаторів функції ендотелію, знижується з віком. Серед осіб віком понад 75 років рівень NO в крові у 3–4 рази нижчий, ніж у осіб 25–30-річного віку. Тому вважається, що зниження активності синтезу NO є одним із механізмів старіння організму [96].

Основним проявом ендотеліальної дисфункції є порушення рівноваги між вазодилатацією і вазоконстрикцією [97, 98]. Баланс у системі вазорегуляції забезпечується фізіологічними антагоністами: оксидом азоту та ендотеліном-1 (EDN1). Порушення цього балансу є основною причиною спазму судин [86]. Спостерігаються зменшення біодоступності оксиду азоту, яка здійснюється за рахунок інактивації ендотеліальної NO-синтази, і відповідно зниження синтезу NO, а також підвищення швидкості деградації уже синтезованого NO. Крім того, підвищується продукція ендотеліальними клітинами ендотеліну-1 та інших вазоконстрикторних субстанцій. Такі метаболічні зміни призводять до тяжкого ушкодження ендотелію, порушення його цілісності та появи ділянок,

позбавлених ендотеліального покриття, внаслідок чого вазоактивні речовини безпосередньо взаємодіють із гладком'язовими клітинами судинної стінки, викликаючи їх скорочення. На думку деяких учених, саме ці обставини є вирішальними у розвитку ендотеліальної дисфункції під впливом таких факторів ризику, як артеріальна гіпертензія, куріння, цукровий діабет та інші [30, 88].

Серед показників ендотеліальної функції, дослідження яких вагоме при різних захворюваннях, в тому числі цереброваскулярних, одним із найважливіших є вивчення продукції ендотеліну-1. Підвищена концентрація EDN1 у плазмі крові вважається маркером гострого церебрального інфаркту [99, 100, 101, 102]. У хворих з ішемічним інсультом на 1-шу добу захворювання підвищується вміст EDN1 у плазмі крові, а його рівень зростає при погіршенні стану хворих, що свідчить про прогресування судинних розладів [14, 103].

Установлено, що в гострому періоді ішемічного інсульту відзначається зниження рівня стабільного метаболіту оксиду азоту – NO₂, що свідчить про важливу роль ендотелійзалежних механізмів у патогенезі інсульту і розвиток ендотеліальної дисфункції [44]. Дослідження інших учених довели, що розвиток ішемічного інсульту супроводжується зміною вазореактивності, яка опосередковується експресією ендотеліального вазодилататора – оксиду азоту і потужного вазоконстриктора – ендотеліну-1 із значною перевагою останнього, що є причиною ендотеліальної дисфункції [104]. Крім того, доведено фундаментальну роль ЕД у механізмах, що сприяють розвитку атеросклеротичного ураження судин [55, 105]. Порушення структури та функціонування ендотелію, а також запалення впливають на прогресування атеросклеротичного процесу [88, 106]. Експерименти підтвердили, що вираженість порушень ендотелійзалежної вазодилатації плечової артерії відображає ступінь атеросклеротичного ураження коронарних і сонних артерій [99].

Вважається, що дисфункція ендотелію є найбільш ранньою подією в ініціюванні судинних захворювань, проте продовжує відігравати ключову роль і впродовж усього часу захворювання. Функціональні зміни ендотеліальних судин

мозку сприяють зниженню рівня кровотоку (гіперперфузії), порушенню відповіді на судинорозширювальні стимули та подальшому пошкодженню клітин. Навіть незначне, але тривале зниження мозкового кровотоку, що ще не спричиняє ішемії, має вагомні функціональні наслідки [55].

Таким чином, дисфункція ендотелію відіграє провідну роль у патогенезі ішемічного інсульту. Тому вивчення молекулярно-генетичних механізмів функціонування вазодилататорних та вазоконстрикторних агентів є актуальним питанням сьогодення та, можливо, однією з найперспективніших можливостей запобігання даної судинної патології.

1.3. Функціональне значення ендотеліну-1 та рецепторів до ендотеліну типу А

З моменту відкриття японськими вченими на чолі з *M. Yanagisawa* у 1988 році ендотеліну-1 (EDN1) [107] увага вчених усього світу прикута до вивчення його фізіологічної ролі та значення в патологічних процесах. Це пов'язано з великою потужністю його вазоконстрикторного ефекту, перевершити який не в змозі жодна з відомих на сьогодні ендогенних речовин [35, 102, 106, 108, 109, 110]. У зв'язку з цим ендотелін-1 вважається одним із найважливіших регуляторів функціонального стану ендотелію та важливим фактором, що сприяє розвитку ендотеліальної дисфункції [33, 34, 36, 37].

Ендотелін-1 – біологічно активний біциклічний поліпептид ендотеліального походження, що складається з комбінації 21 амінокислоти з двома дисульфідними зв'язками Cys₁-Cys₁₅ і Cys₃-Cys₁₁ (рис. 1.3.1).

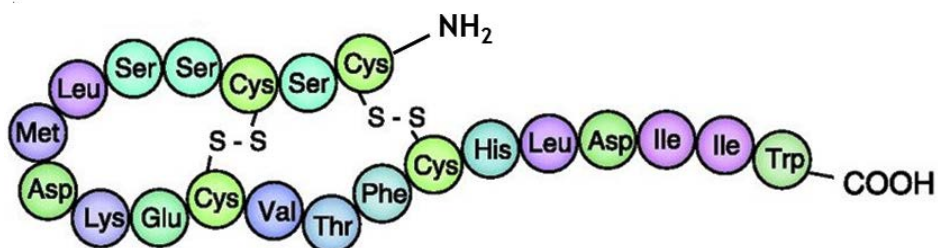


Рисунок 1.3.1 – Схематичне зображення молекули ендотеліну-1 за D. E. Kohan (2011). S-S – дисульфідні зв'язки

Молекулярна маса даного білка становить 24,2 кДа, ізоелектрична точка – 5,64. Існує три ізоформи ендотелінів: ендотелін-1, ендотелін-2 та ендотелін-3 [111, 112]. Кількість амінокислот в усіх ендотелінів однакова, проте їх послідовність має деякі відмінності. Ендотелін-2 відрізняється від EDN1 лише двома амінокислотами, тоді як ендотелін-3 відрізняється шістьма амінокислотами [42, 113], серед яких EDN1 є найбільш активним, крім того, настільки потужним, що його вазоконстрикторний потенціал у 10 разів вищий ніж у ангіотензину II [66, 114]. Посттрансляційна модифікація ендотеліну-1 відбувається шляхом обмеженого протеолізу (рис. 1.3.2).

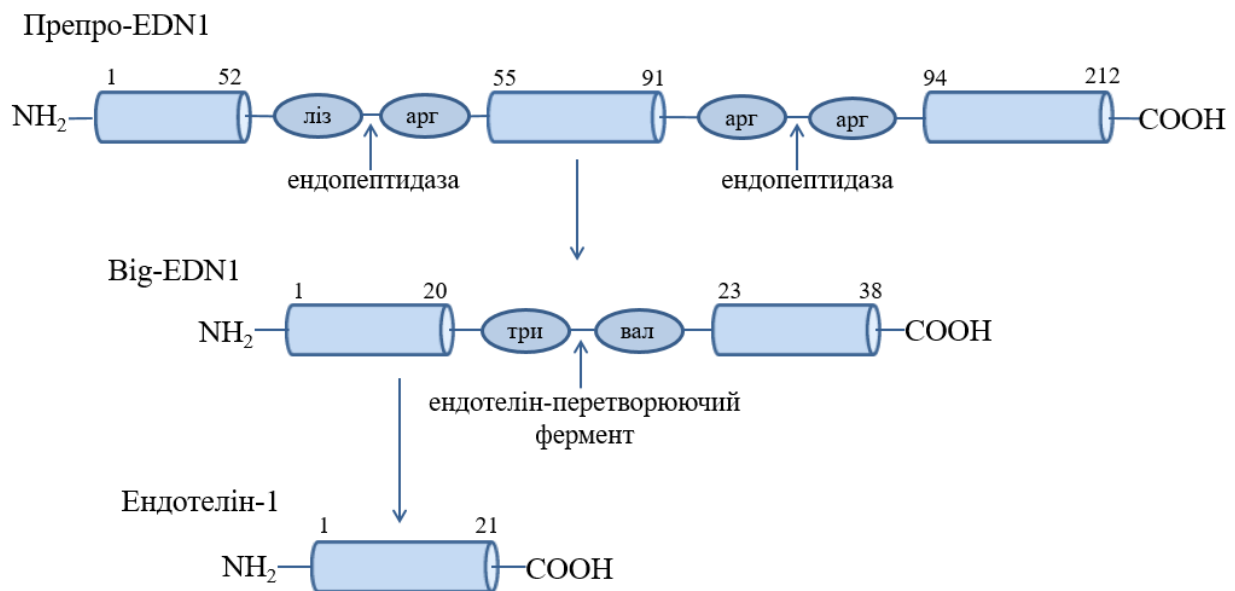


Рисунок 1.3.2 – Посттрансляційна модифікація EDN1

Попередником EDN1 є неактивний препро-EDN1, що складається з 212 амінокислот. Під дією специфічної ендопептидази від препро-ендотеліну відщеплюється фрагмент із 38 амінокислот, що має назву big-EDN1. Big-ендотелін розщеплюється під впливом ендотелінперетворюючого ферменту і утворюється EDN1 [42, 43, 115, 116, 117, 118].

За фізіологічних умов спрацьовує механізм авторегуляції між вазодилататорами і вазоконстрикторами: EDN1 синтезується в дуже низьких дозах, що за механізмом негативного зворотного зв'язку стимулює синтез NO. У здорових людей концентрація EDN1 в крові становить 0,03–0,3 пмоль/мл.

Основна кількість ендотеліну-1 продукується ендотелієм судин, але він також синтезується астроцитами, гепатоцитами, гладком'язовими клітинами аорти, епітеліальними клітинами нирок, клітинами бронхіальних залоз та ендометрію [84].

Клітини ендотелію є основним джерелом EDN1, що робить цей пептид досить всюдисущим, а його конститутивне вивільнення з ендотелію може відігравати важливу роль у забезпеченні базального судинного тону. Крім того, для клітин гладкої мускулатури судин і дихальних шляхів та легеневих епітеліальних клітин характерна продукція EDN1 у прозапальних станах [110].

До факторів, що стимулюють продукцію EDN1 клітинами ендотелію, відносять: механічну стимуляцію ендотелію (напруга зсуву), тромбін, іони кальцію, епінефрин, ангіотензин II, вазопресин, допамін, еритропоетин, цитокіни (ІЛ-1, ІЛ-1 β , ІЛ-5), фактори росту (фібробластичний, епідермальний, інсуліноподібний), ендотоксини, ліпіди (ліпопротеїни низької та високої щільності), стрес. Речовини, що інгібують синтез EDN1, – оксид азоту, цГМФ, передсердний натрійуретичний пептид, простагліцилін, брадікінін, естрогени [38, 41, 119, 120].

На думку деяких учених, EDN1 не депонується внутрішньоклітинно, за нормальних умов синтезується в низьких дозах і майже весь інактивується в легенях [66, 121]. Проте інші дослідники повідомляють про накопичення ендотеліну-1 у спеціальних регуляторних гранулах – тільцях Вейбеля-Паладе, чим і пояснюють швидке зростання його концентрації у плазмі крові у відповідь на подразнювальні чинники. Гіпоксія, стрес, тромбін, зміна напруги зсуву є тими факторами, що стимулюють екзоцитоз EDN1 із цих гранул [35, 122].

Через механізми, опосередковані G-білками, EDN1 індукує активацію фосфоліпази C та збільшення внутрішньоклітинної концентрації кальцію. Внаслідок цього виникають скорочення гладких м'язів судин, а також активація коагулянтів (тромбоутворення) [42, 66].

Крім судинозвужувального, для ендотеліну-1 також характерні прозапальний, мітогенний та проліферативний ефекти, стимуляція утворення

вільних радикалів та активація тромбоцитів [5, 14, 19, 37, 42, 123]. Підтверджено важливий внесок ендотеліну-1 у механізми виникнення атеросклеротичного процесу [124, 125], а саме у формуванні, прогресуванні та дестабілізації атеросклеротичної бляшки [33, 83, 106, 126]. Гіперхолестеринемія може призводити до розвитку ЕД, унаслідок чого підвищується рівень EDN1, який, у свою чергу, стимулює фактори росту, посилює адгезію нейтрофілів і тромбоцитів, сприяючи росту атеросклеротичної бляшки й тромбозу [38]. Посилення експресії ендотеліну-1 виявлено у клінічних дослідженнях та експериментальних моделях атеросклерозу, причому його рівень корелює з тяжкістю даного патологічного процесу [120]. На основі цих біологічних ефектів ендотелін-1 залучений як важливий фактор у розвитку судинної дисфункції та серцево-судинних захворювань.

Ендотелін-1 здійснює свій вплив через активацію специфічних рецепторів: EDNRA- і EDNRB-рецепторів. Підтверджено високий рівень їх експресії у головному мозку [127, 128]. Обидва рецептори ендотеліну-1 належать до сім'ї трансмембранних протеїнів, асоційованих із G-білком. Більшою афінністю до EDN1 володіють EDNRA-рецептори [43]. Вони знаходяться в гладком'язових клітинах і відсутні в ендотеліальних клітинах. Взаємодія ендотеліну-1 з EDNRA-рецепторами викликає стійку вазоконстрикцію і проліферацію гладком'язових клітин. Більша частина EDNRB-рецепторів розміщена в мембрані ендотеліальних клітин, хоча є і в гладком'язових клітинах. Стимуляція EDNRB-рецепторів сприяє утворенню оксиду азоту і простагліцину, які викликають розширення судин, у той час як частина EDNRB-рецепторів, розміщених на гладком'язових клітинах, сприяють вазоконстрикції. Таким чином, кінцевий ефект ендотеліну-1 визначається локалізацією рецепторів і балансом між EDNRA- і EDNRB-рецепторами [37, 42, 110, 129, 130].

Взаємодія EDN1 з EDNRA-рецепторами призводить до активації фосфоліпази C із подальшим гідролізом фосфатидилінозитол-4,5-бісфосфату в інозитолтрифосфат (ІТФ) і діацилгліцерол (ДАГ). ІТФ сприяє виділенню Ca^{2+} з ендоплазматичного ретикулума, відкриттю вольтаж-залежних Ca^{2+} -каналів

клітинної мембрани, внаслідок чого зростає цитозольна концентрація кальцію [131, 132].

У здорових судинах продукція EDN1 мала, і біодоступність NO зберігається. Це означає, що баланс ефектів сприяє вазорелаксації шляхом активації цГМФ. При дисфункції ендотелію спостерігається підвищена експресія EDN1 у клітинах гладких міоцитів судин і макрофагів. Ендотелін-1 пригнічує експресію NO-синтази, тим самим знижуючи продукцію оксиду азоту. Також збільшується експресія EDNRB-рецепторів на поверхні гладком'язових клітин, що опосередковують вазоконстрикцію. Як EDNRA-, так і EDNRB-рецептори, розміщені на гладких міоцитах, можуть взаємодіяти із супероксид-аніоном із подальшим утворенням пероксинітриту, що також зменшує біологічну активність NO. Таким чином, у сукупності баланс ефектів зміщується в бік вазоконстрикції, запалення та оксидантного стресу й прогресування ендотеліальної дисфункції [37].

Ендотеліновий рецептор типу А, як уже згадувалось, є трансмембранним білком, асоційованим із G-протеїном, з молекулярною масою 48 772 Да, що складається з 427 амінокислот. Білок містить сім трансмембранних доменів, з'єднаних разом трьома позаклітинними і трьома внутрішньоклітинними петлями з позаклітинним N-кінцем та внутрішньоклітинним C-кінцем [35, 119, 133].

Взаємодія ендотеліну-1 з ендотеліновим рецептором типу А відіграє важливу роль у виникненні та прогресуванні ЕД [38, 40, 41, 134]. Достовірно відомо, що на ранній стадії інсульту підвищується рівень EDN1, активуються EDNRA гладком'язових клітин судин мозку, внаслідок чого виникає спазм судин [42]. Таким чином, ендотелін-1 та ендотеліновий рецептор типу А є одними з ключових ланок, від яких залежить розвиток багатьох серцево-судинних захворювань та ішемічного інсульту зокрема [36, 42, 43].

Доведено, що EDN1 причетний до судинозвужувального ефекту кровоносних судин головного мозку, таким чином, впливає на регіональний кровообіг і церебральну мікроциркуляцію, що підтверджується в експериментах

на хоріоїдному сплетенні мозку кроликів і великих церебральних артеріях котів. Вплив на судини мозку залежить від концентрації ендотеліну-1 і триває від 2 до 24 годин. Крім того, ендотелін-опосередкована вазоконстрикція поглиблювала ішемічний ефект уже існуючого церебрального пошкодження і була пов'язана зі збільшенням концентрації EDN1 у тканині головного мозку та плазмі крові [102]. Також відомо, що рівень EDN1 підвищується у хворих в гострому періоді ішемічного інсульту [39]. За даними *O. Moldes et al.* ендотелін-1 залучений до порушення функціонування гематоенцефалічного бар'єра. У пацієнтів із гострим ішемічним інсультом і високим рівнем ендотеліну-1 у плазмі крові спостерігали розвиток тяжкого набряку мозку. Це дає підстави вважати EDN1 біологічним маркером ризику розвитку набряку після ішемічного інсульту [29].

Враховуючи те, що функціонування EDN1 та ендотелінового рецептора типу А визначається структурними особливостями їх генів, тому необхідність їх вивчення не викликає сумнівів.

Ген ендотеліну-1 (*EDN1*) міститься на короткому плечі шостої хромосоми (6p24-p23), складається з 5 екзонів, 4 інтронів, а також спеціальних ділянок зв'язування субстратів, що регулюють експресію ендотеліну [35, 44, 135, 136]. Окрім стандартних ТАТА, СААТ боксів, промотор містить сайти зв'язування для AP1 (активуючий протеїн-1-модулятор транскрипції), HIF1 (гіпоксією індукований фактор 1), що робить свій внесок у регулювання EDN1 гіпоксією, NFAT (ядерний фактор активованих Т-клітин), NF-κB (ядерний фактор капа-В) [42, 137].

Згідно з даними National Center for Biotechnology Information (NCBI) відомо понад п'ять тисяч однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) гена *EDN1*. Відомо, що алельні варіанти гена ендотеліну-1 залучені до механізмів розвитку та прогресування багатьох патологічних процесів і хвороб. На сьогодні вивчено асоціацію поліморфізмів гена *EDN1* з артеріальною гіпертензією [138, 139, 140], легеневою гіпертензією [141], гострим коронарним синдромом [142, 143], серцевою недостатністю [144], інфарктом міокарда [145] субарахноїдальним крововиливом, пов'язаним з аневризмою [146] та ішемічним інсультом [147].

Ген рецептора до ендотеліну типу А (*EDNRA*) локалізований на довгому плечі 4-ї хромосоми (4q31.22) і складається з промоторної ділянки, 8 екзонів та 7 інтронів [131, 148, 149]. Ген *EDNRA* охоплює 63,97 тисячі пар нуклеотидів геномної ДНК [127].

На сьогодні досліджено більше ніж сім тисяч однонуклеотидних поліморфізмів гена *EDNRA* в людини (NCBI), і їх подальше вивчення триває. Доведено важливу роль гена *EDNRA* та його алельних варіантів у механізмах виникнення багатьох мультифакторіальних захворювань, а саме легеневої гіпертензії [150], мігрені та головного болю напруги [151, 152, 153], інтракраніальних аневризм [154], а також атеротромботичного церебрального інфаркту [155].

Серед відомих поліморфізмів найбільш клінічно значущими є Lys198Asn (rs5370) поліморфізм гена *EDN1* і C+70G (rs5335) поліморфний сайт гена *EDNRA*. Враховуючи роль ендотеліну-1 та його рецептора типу А в патогенетичних механізмах розвитку ендотеліальної дисфункції та ішемічного атеротромботичного інсульту та можливий вплив поліморфних сайтів на експресію й функціональні властивості білка, дослідження даних генетичних маркерів набуває значної актуальності.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Характеристика клінічного матеріалу

Для проведення досліджень було використано венозну кров 170 хворих з ІАТІ, які перебували на диспансерному обліку в поліклінічному відділенні Сумської клінічної лікарні № 5, і 124 осіб контрольної групи, у яких відсутність цереброваскулярних захворювань підтверджували шляхом аналізу анамнестичних даних, оцінки неврологічного статусу, реєстрації ЕКГ і вимірювання артеріального тиску. Наявність виражених когнітивних порушень та психічних захворювань, онкологічних захворювань, цукрового діабету, тяжких захворювань печінки та нирок, вираженої серцевої недостатності, порушення ритму серця та провідності слугували критеріями виключення із контрольної групи.

Стосовно групи хворих з ІАТІ критерієм включення було підтвердження ішемічного характеру інсульту, що здійснювалося за допомогою даних анамнезу, неврологічної симптоматики та результатами нейровізуалізації методом комп'ютерної томографії (КТ) головного мозку. Патогенетичний варіант інсульту визначали відповідно до критеріїв TOAST [1, 156, 157] на підставі анамнезу і особливостей клінічного перебігу хвороби, даних ультразвукової доплерографії магістральних артерій голови, електрокардіограми та КТ або магнітно-резонансної томографії (МРТ) головного мозку. Згідно з цими критеріями виділяють п'ять основних підтипів ішемічних інсультів: атеротромботичний, кардіоеMBOLІчний, лакунарний, інсульт унаслідок рідкісних причин та інсульт невстановленої етіології. Атеротромботичний інсульт підтверджували за наявності характерної клінічної симптоматики, вогнища ураження мозку діаметром більше ніж 1,5 см на КТ або МРТ, стенозу або оклюзії мозкових артерій на 50 % просвіту і більше, що пов'язано з атеросклеротичними проявами, та за умови виключення кардіогенної емболії [156].

Серед хворих з ІАТІ було 42,4 % жінок і 57,6 % чоловіків віком від 40 до 85 років (середній вік становив $(64,7 \pm 0,73)$ року), а в групі контролю 36,3 % жінок і 63,7 % чоловіків (середній вік – $(76,7 \pm 0,93)$ року). Досліджувані групи не відрізнялися за співвідношенням осіб різної статі ($P = 0,294$), проте середній вік першої ($(76,7 \pm 0,93)$ року) був істотно вищим, ніж другої ($P < 0,001$). Дана відмінність підвищувала надійність контрольної групи, адже ймовірність розвитку ІАТІ в майбутньому в цих осіб знижувалася.

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

Порівняльна клінічна характеристика пацієнтів з інсультом та осіб контрольної групи представлена в таблиці 2.1.1.

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

<i>Показник</i>	<i>Група хворих з ІАТІ (n = 170)</i>	<i>Контрольна група (n = 124)</i>	<i>P</i>
Вік, років	$64,7 \pm 0,73$	$76,7 \pm 0,93$	$< 0,001$
Стать, ж/ч	72/98	45/79	0,294*
Маса тіла (ж), кг	$77,6 \pm 1,42$	$69,8 \pm 1,8$	0,001
Маса тіла (ч), кг	$82,6 \pm 1,33$	$75,7 \pm 1,77$	0,002
Зріст (ж), см	$163,6 \pm 0,65$	$156,1 \pm 1,26$	$< 0,001$
Зріст (ч), см	$172,9 \pm 0,76$	$167,2 \pm 0,96$	$< 0,001$
ІМТ (ж), кг/м ²	$29,0 \pm 0,54$	$28,7 \pm 0,77$	0,744
ІМТ (ч), кг/м ²	$27,6 \pm 0,41$	$27,0 \pm 0,55$	0,355
Глюкоза крові, ммоль/л	$5,92 \pm 0,12$	$5,29 \pm 0,06$	$< 0,001$

Примітка: n – кількість пацієнтів; ж – жінки; ч – чоловіки; P – статистична значущість відмінностей; * – за χ^2 -критерієм Пірсона

Хворі з ІАТІ мали істотно вищі показники зросту, маси тіла, концентрації глюкози крові натще порівняно з особами контрольної групи. Проте відмінності між групами за індексом маси тіла були статистично не достовірними як в осіб жіночої, так і чоловічої статі ($P > 0,05$).

Порівняння представників жіночої і чоловічої статей, які були хворі на ІАТІ, дало наступні результати (табл. 2.1.2). Статистично достовірних відмінностей за віком, масою тіла та ІМТ не було виявлено. Показники усіх видів артеріального тиску (систоличного, діастолічного, пульсового та середнього) у групах порівняння також не відрізнялися.

Таблиця 2.1.2 – Загальна клінічна характеристика пацієнтів з ІАТІ

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

Примітка: n – кількість пацієнтів; P – статистична значущість відмінностей між порівнюваними групами за χ^2 -критерієм Пірсона

Наявність найбільш поширених факторів ризику в групі хворих з ІАТІ відображено в таблиці 2.1.3. Провідне місце серед наведених факторів ризику посідала артеріальна гіпертензія, яку виявляли у 75,3 % пацієнтів (81,9 % жінок і 70,4 % чоловіків). Порушення ліпопротеїнового складу та гіперкоагуляція крові теж посідали важливе місце і становили 58,6 % (58,8 % жінок і 58,4 % чоловіків) та 53,5 % (62,5 % жінок і 46,9 % чоловіків) відповідно. Порівняння показників, що характеризують ожиріння, цукровий діабет і куріння, дозволило встановити істотні статеві відмінності. Надмірну вагу виявляли частіше у жінок: 43,1 % проти 28,6 % у чоловіків ($P = 0,05$). Серед хворих з ІАТІ 17,6 % мали цукровий

діабет, який також спостерігали частіше в осіб жіночої статі ($P = 0,031$). Проте така шкідлива звичка, як куріння, більш поширеною виявилась у чоловіків, ніж у жінок (42,9 % проти 11,1 %, $P < 0,001$).

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

Показники	Жінки (n = 72)	Чоловіки (n = 98)	Загалом (n = 170)
Ожиріння	31 (43,1)	28 (28,6)	59 (34,7)
	$\chi^2 = 3,843; P = 0,050$		
Артеріальна гіпертензія	59 (81,9)	69 (70,4)	128 (75,3)
	$\chi^2 = 2,969; P = 0,085$		
Цукровий діабет	18 (25,0)	12 (12,2)	30 (17,6)
	$\chi^2 = 4,647; P = 0,031$		
Дисліпопротеїнемія [#]	40 (58,8)	52 (58,4)	92 (58,6)
	$\chi^2 = 0,002; P = 0,960$		
Гіперкоагуляція крові	45 (62,5)	46 (46,9)	91 (53,5)
	$\chi^2 = 2,969; P = 0,085$		
Куріння	8 (11,1)	42 (42,9)	50 (29,4)
	$\chi^2 = 20,15; P < 0,001$		

Примітка: n – кількість пацієнтів; у дужках – %; P – статистична значущість відмінностей між порівнюваними групами за χ^2 -критерієм Пірсона; # – для цього показника: n = 68 (жінки); n = 89 (чоловіки); n = 157 (загалом);

У таблиці 2.1.4 наведено характеристику інсульту залежно від ступеня тяжкості ІАТІ, повторності інсульту, його локалізації за артеріальним басейном та наявних неврологічних проявів у пацієнтів жіночої та чоловічої статей.

За тяжкістю клінічного перебігу ІАТІ може бути легкого, середнього і тяжкого ступенів. Ступінь тяжкості визначали під час госпіталізації. При легкому ступені перебігу ІАТІ спостерігали слабовиражену неврологічну симптоматику, яка повністю відновлювалася протягом трьох тижнів. Перебіг середнього ступеня тяжкості супроводжувався наявністю осередків

неврологічної симптоматики без симптомів набряку мозку чи порушення свідомості.

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

	<i>Жінки, n (%)</i>	<i>Чоловіки, n (%)</i>	<i>Загалом, n (%)</i>
<i>За тяжкістю</i>			
Легкий	26 (36,1)	29 (29,6)	55 (32,4)
Середньої тяжкості	25 (34,7)	41 (41,8)	66 (38,8)
Тяжкий	21 (29,2)	28 (28,6)	49 (28,8)
$\chi^2 = 1,091; P = 0,579$			
<i>За повторністю</i>			
Первинний	51 (70,8)	54 (55,1)	105 (61,8)
Вторинний	21 (29,2)	44 (44,9)	65 (38,2)
$\chi^2 = 4,349; P = 0,037$			
<i>За артеріальним басейном</i>			
Передня, середня, задня мозкові артерії	62 (86,1)	70 (71,4)	132 (77,6)
Вертебральні та базиллярна артерії	7 (9,7)	17 (17,3)	24 (14,1)
Поєднаний	3 (4,2)	11 (11,3)	14 (8,3)
$\chi^2 = 5,372; P = 0,068$			
<i>За неврологічними проявами</i>			
Сенсорні порушення	10 (13,9)	18 (18,4)	28 (16,5)
Рухові порушення	0	4 (4,0)	4 (2,4)
Сенсорно-рухові порушення	62 (86,1)	76 (77,6)	138 (81,1)
$\chi^2 = 3,819; P = 0,148$			

Примітка: n – кількість пацієнтів; у дужках – %; P – статистична значущість відмінностей між порівнюваними групами за χ^2 -критерієм Пірсона

Тяжкий ступінь інсульту призводив до появи виражених загально мозкових симптомів із пригніченням свідомості, ознаками набряку мозку, значним осередковим дефектом, вегетативними і трофічними порушеннями.

У 32,4 % хворих з інсультом було виявлено легкий ступінь перебігу. Середній ступінь тяжкості й тяжкий діагностували у 38,8 і 28,8 % пацієнтів відповідно. Під час порівняння розподілу осіб різної статі залежно від ступеня тяжкості ІАТІ статистично значущих відмінностей не було ($\chi^2 = 1,091$; $P = 0,579$).

Щодо повторності інсульту, у 38,2 % хворих розвивався повторний інсульт. Проаналізувавши отримані дані за статтю, виявили, що вторинний ІАТІ частіше виникав у чоловіків, ніж у жінок (44,9 % проти 29,2 %; $P = 0,037$).

Різноманітність клінічних проявів ІАТІ пов'язано з ураженням певних церебральних артерій чи артеріальних басейнів. Так, розвиток інфаркту мозку в ділянці передньої, середніх і задньої мозкових артерій може призводити до розвитку парезу нижньої кінцівки або геміпарезу з переважним ураженням ноги на протилежному боці, геміплегії, геміанестезії, геміанопсії на протилежному щодо вогнища боці тіла та зорових розладів (гомонімна геміанопсія зі збереженням макулярного зору або квадрантна геміанопсія). При ушкодженні вертебральних і базилярної артерій спостерігаються втрата свідомості, окорухові порушення внаслідок ураження III, IV, VI пар черепних нервів, розвиток тризму, тетрапарезу або тетраплегії, порушення м'язового тону (короткочасна децеребраційна ригідність, горметонічні судоми, що змінюються м'язовою гіпо- і атонією). Серед представників дослідної групи 77,6 % мали ураження передньої, середніх і задньої мозкових артерій; 14,1 % – ураження у вертебро-базиллярному басейні і 8,3 % хворих мали поєднаний варіант ураження. Різниця у розподілі осіб різної статі залежно від артеріального басейну виявлено не було ($\chi^2 = 5,372$; $P = 0,068$).

Прояви неврологічного дефіциту залежать від ураженого артеріального басейну. Можлива поява сенсорних порушень, рухових розладів або, що відбувається найчастіше, сенсорних неврологічних проявів. Наявність сенсорних порушень виявили у 16,5 % хворих на ІАТІ, у 2,4 % хворих – лише рухові розлади, а поєднання рухових і сенсорних неврологічних проявів було у 81,1 % хворих. Порівняння розподілу осіб різної статі залежно від неврологічних проявів достовірної різниці не дало ($\chi^2 = 3,819$; $P = 0,148$).

2.2. Молекулярно-генетичні дослідження

Матеріалом для дослідження була венозна кров, забір якої проводили кваліфіковані спеціалісти в клінічних умовах із дотриманням правил медичної асептики і антисептики. Кров хворих з ІАТІ та осіб контрольної групи набирали у моновети об'ємом 2,7 мл із калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти («Sarstedt», Німеччина) у якості антикоагулянта, заморожували та зберігали за температури $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Основним методом для проведення генотипування була полімеразна ланцюгова реакція з подальшим аналізом довжини рестрикційних фрагментів (PCR-RFLP).

Виділення ДНК із лейкоцитів венозної крові

ДНК виділяли за допомогою набору DIAtom DNA Prep 200 («Isogene», Росія) з використанням протоколу, запропонованого комерційним набором.

Протокол виділення ДНК:

1. Цільну венозну кров (100 мкл) внести у пробірку об'ємом 1,5 мл.
2. Додати 400 мкл лізуючого реагенту і перемішати вміст пробірок за допомогою обертання (10 разів).
3. Пробірки з сумішшю термостатувати 5 хвилин за температури $65\text{ }^{\circ}\text{C}$.
4. Суміш осадити шляхом центрифугування пробірок при 5 000 об/хв протягом 10 с.
5. Додати до суміші 20 мкл ретельно змішаної на вортексі суспензії сорбенту *NucleoSTM*.
6. Пробірки помістити на ротатор і перемішувати 10 хв.
7. Центрифугувати пробірки впродовж 10 с при 5 000 об/хв.
8. Видалити супернатант за допомогою помпи, не зачіпаючи осаду.
9. У пробірку з осадом додати 200 мкл лізуючого реагента та ретельно перемішати до гомогенного стану на вортексі.
10. Додати в пробірку 1 мл сольового буфера, перемішати обертанням 10 разів.
11. Центрифугувати 10 с при 5 000 об/хв, видалити супернатант, не зачіпаючи осаду, за допомогою помпи.

12. У пробірку додати 1 мл сольового буфера, перемішати вміст до гомогенного стану.
13. Центрифугувати пробірки протягом 10 с при 5 000 об/хв, видалити супернатант, не зачіпаючи осаду, за допомогою помпи.
14. Повторно виконати пункти 12 і 13 протоколу.
15. Осад пробірок висушити за температури 65 °С упродовж 5 хвилин.
16. У пробірку з осадом внести 50 мкл ЕкстраГену™, забір якого від загальної кількості здійснювати при постійному помішуванні.
17. Суспензувати вміст до однорідного стану на вортексі 10 с.
18. Термостатувати пробірки 5 хв за температури 65 °С.
19. Суспензувати вміст пробірок на вортексі, центрифугувати протягом 1 хв при 10 000 об/хв.
20. Перенести супернатант із ДНК у мікропробірки, зберігати за температури – 20 °С.

Проведення PCR-RFLP

Полімеразну ланцюгову реакцію проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 ("Applied Biosystems", США). Склад реакційної суміші для проведення ампліфікації наведено в таблиці 2.2.1.

Таблиця 2.2.1 – Склад реакційної суміші для проведення ампліфікації

<i>Реакційна суміш</i>	<i>Lys198Asn-поліморфізм гена EDN1</i>	<i>C+70G-поліморфізм гена EDNRA</i>
ДНК	0,75 мкл	0,75 мкл
5×PCR buffer blue	5 мкл	5 мкл
10×dNTP-mix	2,5 мкл	2,5 мкл
DreamTag™ DNA Polymerase	0,15 мкл	0,15 мкл
Праймер Fwd	0,15 мкл	0,1 мкл
Праймер Rev	0,15 мкл	0,1 мкл
dH ₂ O	16,3 мкл	16,4 мкл
Разом	25 мкл	25 мкл

Примітка: dNTP-mix – суміш нуклеотидів; Fwd – прямий праймер; Rev – зворотний праймер; dH₂O – деіонізована вода

Ампліфікацію проводили впродовж 35 циклів. Режими ампліфікації ділянок ДНК, що містять досліджувані поліморфізми, та нуклеотидна послідовність праймерів (“Metabion”, Німеччина) наведені в таблиці 2.2.2.

Таблиця 2.2.2 – Режими ампліфікації

Полі-морфізм	Прай-мер	Нуклеотидна послідовність	Ампліфікація		
			D (t, час)	H (t, час)	E (t, час)
<i>Lys198Asn</i>	Fwd	5' TCTTGCTTTATTAGGTCGGAGACC 3'	94 °C, 60 с	61 °C, 60 с	72 °C, 45 с
	Rev	5' TTTGAACGAGGACGCTGGTC 3'			
<i>C+70G</i>	Fwd	5' TAGAAGCACTCCTCGGTACTCC 3'	94 °C, 50 с	60 °C, 40 с	72 °C, 60 с
	Rev	5' TCGTAGATGTTGTGGGTGGATA 3'.			

Примітка: Fwd – прямий праймер; Rev – зворотний праймер; D – денатурація; H – гібридизація праймерів; E – елонгація

Для рестрикційного аналізу 6 мкл продукту ампліфікації інкубували з відповідною рестриктазою: 2 ОД *Sac81* – *Lys198Asn*-поліморфізм (у буфері G такого складу: 10 мМ трис-НСl (рН 7,5), 10 мМ хлориду магнію, 50 мМ хлориду натрію і 0,1 мг/мл альбуміну); 3 ОД *NtuCl* – *C+70G*-поліморфізм (у буфері R такого складу: 10 мМ трис-НСl (рН 8,5), 10 мМ MgCl₂, 100 мМ KCl, і 0,1 мг/мл альбуміну) (табл. 2.2.3).

Таблиця 2.2.3 – Рестрикційний аналіз за *Lys198Asn*-поліморфізмом гена *EDN1* та *C+70G*-поліморфізмом гена *EDNRA*

Поліморфізм	Ендонуклеаза рестрикції	Сайт рестрикції	Температура інкубації, час
<i>Lys198Asn</i>	<i>Sac81</i>	5'...GCN↓NGC...3' 5'...CGN↑NCG...3'	37 °C, 18 год
<i>C+70G</i>	<i>NtuCl</i>	5'...↓GTSAC...3' 3'...CASTG↑...5'	37 °C, 20 год

Ампліфікати після рестрикції розділяли в 2,5 % агарозному гелі, що містив 10 мкг/мл бромистого етидію. Горизонтальний електрофорез проводили в камері Helicon (0,13 А; 160 V; 35 хв – *Lys198Asn*-поліморфізм; 0,1 А; 140 V; 25 хв –

C+70G-поліморфізм). Візуалізацію ДНК після електрофорезу здійснювали за допомогою транслюмінатора («Біоком», Росія).

Інтерпретація результатів PCR-RFLP

Lys198Asn-поліморфізм гена EDN1. Наявність у 5665-й позиції гена *EDN1* гуаніну призводила до розщеплення ампліфікату, що складався з 262 пар основ, рестриктазою *Cac81* на два фрагменти – 189 і 73 пари основ. При заміні гуаніну на тимін сайт рестрикції для *Cac81* втрачався і утворювався один фрагмент розміром 262 пари основ (рис. 2.2.1).

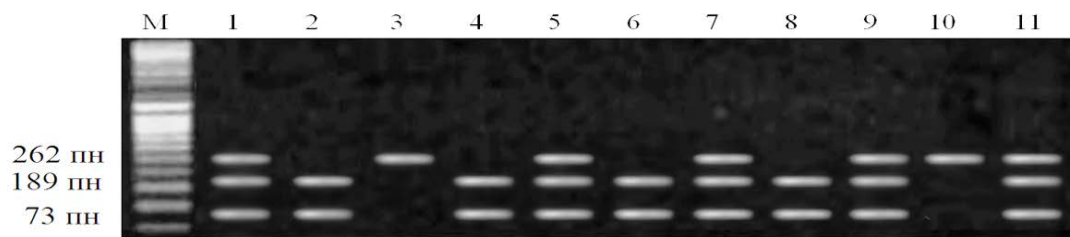


Рисунок 2.2.1 – Результати рестрикційного аналізу *Lys198Asn-поліморфізму* гена *EDN1*: М – маркер молекулярної маси; пн – пари нуклеотидів; доріжки 2, 4, 6, 8 – відповідають *Lys/Lys-генотипу*; доріжки 1, 5, 7, 9, 11 – *Lys/Asn-генотипу*; 3, 10 – *Asn/Asn-генотипу*

C+70G-поліморфізм гена EDNRA. Якщо в 211-й позиції 8-го екзона гена *EDNRA* містився цитозин, ампліфікат, що складався із 174 пар нуклеотидів, розщеплювався рестриктазою *NtuC1* на два фрагменти – 116 і 58 пар нуклеотидів. У разі заміни цитозину на гуанін сайт рестрикції для *NtuC1* втрачався і утворювався один фрагмент розміром 174 пари нуклеотидів (рис. 2.2.2).

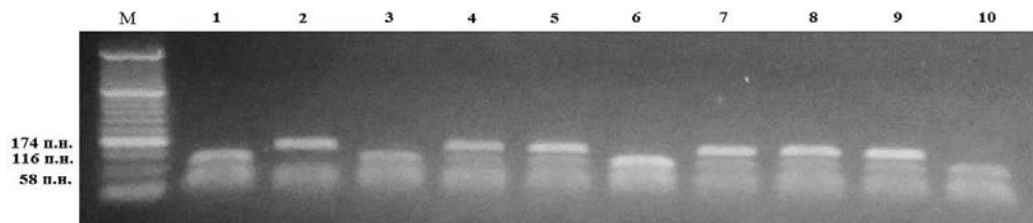


Рисунок 2.2.2 – Результати рестрикційного аналізу *C+70G-поліморфізму* гена *EDNRA*: М – маркер молекулярної маси; пн – пари нуклеотидів; доріжки 1, 3, 6, 10 відповідають *C/C-генотипу*; 4, 5, 7, 8, 9 – *C/G-генотипу*; 2 – *G/G-генотипу*

2.3. Методи статистичного аналізу

Статистичне опрацювання одержаних результатів здійснювали за допомогою програми SPSS-17.0. Відповідно до вимог ГОСТ 11.006-74 перед перевіркою статистичних гіпотез був проведений аналіз нормальності розподілу величин у вибірках за допомогою критерію Колмогорова – Смирнова за алгоритмами, реалізованими у програмі SPSS-17.0.

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

Значущість відмінностей між середніми значеннями декількох груп даних (групи з різними генотипами) визначали використовуючи однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA – analysis of variance) із критерієм Фішера [128].

Для визначення достовірності відмінностей між двома вибірками використовували критерій Стьюдента (t). Ймовірність відмінностей двох вибірок (P) визначали на основі величини t й кількості ступенів вільності ($1 = n_1 + n_2 - 2$) за таблицею розподілу Стьюдента. Відмінність вважали достовірною, якщо ймовірність випадкової різниці не перевищувала 0,05 ($P < 0,05$) [129].

Для встановлення ризику розвитку ІАТІ розраховували відношення шансів (OR) та 95 % довірчий інтервал (CI) для доміантної, рецесивної, наддоміантної та адитивної моделей успадкування. Такі фактори ризику ІАТІ, як вік, стать, ІМТ, АГ та куріння були застосовані як коваріанти під час мультиваріабельного логістичного регресійного аналізу.

Моделювання міжлокусних взаємодій реалізовували за допомогою методу скорочення багатофакторної розмірності (MDR). Усі тести були двосторонніми, значення $P < 0,05$ вважали статистично значущими.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Вплив алельних поліморфізмів Lys198Asn гена *EDN1* і C+70G гена *EDNRA* на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту

З'ясування ролі генетичного фактора у розвитку поширених мультифакторіальних захворювань належить до основних завдань сучасної медицини. Важливим методом, що використовується для виявлення спадкової схильності до тих чи інших хвороб, є аналіз однонуклеотидного поліморфізму генів.

Lys198Asn (rs5370) поліморфізм гена *EDN1* являє собою заміну пурину гуаніну (G) на піримідин тимін (T) у 5665-му положенні гена, що відображається на 61-му нуклеотиді 5-го екзона і призводить до амінокислотної заміни лізину на аспарагін у 198-му кодоні білка [158]. Відомо, що наявність мінорного алеля за даним поліморфним сайтом асоційована з більш високим рівнем ендотеліну-1 у плазмі крові [159, 160, 161], а генотип Lys/Lys асоційований з його найменшим рівнем [162]. Експериментально встановлено, що однакова концентрація ендотеліну-1 потенціювала фенілефрин-індуковану вазоконстрикцію сильніше у носіїв мінорного алеля [163].

Суть алельного поліморфізму C+70G (rs5335) полягає в трансверсії піримідину цитозину (C) на пурин гуанін (G) в 211-му положенні восьмого екзона, що відповідає 3'-нетрансльованій ділянці гена *EDNRA* [158, 164]. Точкова заміна нуклеотидів може змінювати хімічну структуру ДНК, але її значення залишається невивченим. Існує припущення, що ефект даного поліморфного варіанта є кількісним, а не якісним: впливає на рівень експресії гена *EDNRA* у відповідь на ті чи інші регуляторні впливи і не призводить до заміни амінокислоти у структурі білка [158, 165]; 3'-нетрансльована ділянка бере участь у посттрансляційних регуляторних механізмах. Генетична мінливість у даній

ділянці може мати значний вплив на стабільність мРНК і таким чином – на загальну кількість функціонуючих рецепторів [161, 165].

Частоту алелів і трьох можливих поліморфних варіантів генотипу за Lys198Asn-поліморфізмом гена *EDN1* та C+70G-поліморфізмом гена *EDNRA*, а також перевірку відповідності розподілу основного і мінорного алелів рівновазі Харді – Вайнберга наведено у таблиці 3.1.1.

Таблиця 3.1.1 – Частота алельних варіантів і алелів за Lys198Asn- і C+70G-поліморфними варіантами генів *EDN1* і *EDNRA* у контрольній групі та у хворих з ІАТІ

Lys198Asn-поліморфізм		
	<i>Контрольна група</i>	<i>Хворі з ІАТІ</i>
Гомозиготи Lys/Lys, n (%)	79 (63,7)	82 (48,2)
Гетерозиготи Lys/Asn, n (%)	40 (32,3)	67 (39,4)
Гомозиготи Asn/Asn, n (%)	5 (4,0)	21 (12,4)
Lys-алель	0,8	0,68
Asn-алель	0,2	0,32
χ^2	0	1,54
P	> 0,05	> 0,05
C+70G-поліморфізм		
	<i>Контрольна група</i>	<i>Хворі з ІАТІ</i>
Гомозиготи C/C, n (%)	36 (29,0)	41 (24,1)
Гетерозиготи C/G, n (%)	62 (50,0)	98 (57,6)
Гомозиготи G/G, n (%)	26 (21,0)	31 (18,2)
C-алель	0,54	0,53
G-алель	0,46	0,47
χ^2	0,01	4,19
P	> 0,05	< 0,05

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

Проведений аналіз дозволив установити відсутність статистично достовірних відхилень у розподілі алелів за Lys198Asn-поліморфізмом серед хворих з ІАТІ та в осіб контрольної групи від очікуваних за генетично-популяційним законом величин (P > 0,05). Стосовно C+70G-поліморфізму гена

EDNRA частоти С- і G-алелів у контрольній групі відповідали рівновазі Харді – Вайнберга ($P > 0,05$), чого не можна сказати про групу хворих з ІАТІ ($P < 0,05$).

Результати розподілу генотипів у пацієнтів з ішемічним атеротромботичним інсультом та у осіб контрольної групи за Lys198Asn- і С+70G- поліморфізмами генів *EDN1* та *EDNRA* наведені на рисунку 3.1.1.

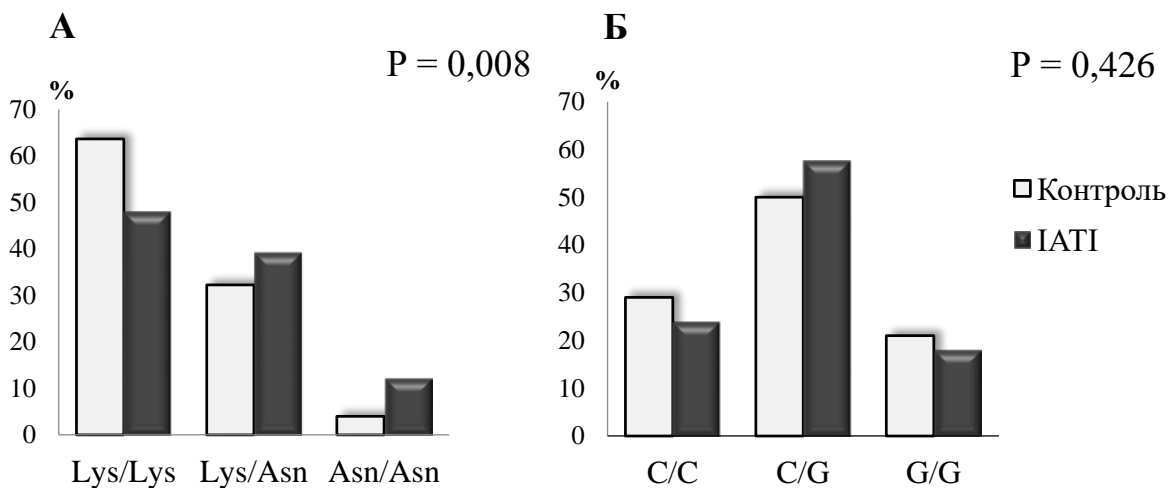


Рисунок 3.1.1 – Частота алельних варіантів гена *EDN1* за поліморфізмом Lys198Asn (А) і поліморфізмом С+70G гена *EDNRA* (Б) у хворих з ІАТІ (чорні стовпчики) і в контрольній групі (білі стовпчики). P – статистична значущість відмінності показників за χ^2 -критерієм Пірсона

Виявлено, що у хворих з ІАТІ співвідношення гомозигот за основним алелем (Lys/Lys), гетерозигот (Lys/Asn) і гомозигот за мінорним алелем (Asn/Asn) становить 48,2; 39,4 і 12,4 %, а в контрольній групі – відповідно 63,7; 32,3 і 4,0 %. При цьому відмінності частоти зазначених генотипів між групою хворих з ІАТІ та контрольною групою були статистично достовірними ($\chi^2 = 9,757$; $P = 0,008$) [166, 167].

Співвідношення гомозигот за основним алелем C/C поліморфізму гена *EDNRA*, гетерозигот C/G і гомозигот за «патологічним» алелем G/G в основній групі становило 24,1; 57,6 і 18,2 %, а в контрольній – 29,0; 50,0 і 21,0 % відповідно (рис. 3.1.1 Б). Під час аналізу статистично достовірних відмінностей у розподілі різних варіантів генотипу між хворими з ІАТІ і особами контрольної групи за С+70G-поліморфізмом не виявлено ($\chi^2 = 1,708$; $P = 0,426$). Таким чином, не існує зв'язку між вивченим генетичним чинником і розвитком ІАТІ.

У таблиці 3.1.2 наведені результати аналізу асоціації поліморфних варіантів Lys198Asn (ген *EDNI*) і C+70G (ген *EDNRA*) із розвитком ІАТІ з урахуванням різних моделей успадкування.

Таблиця 3.1.2 – Аналіз асоціації Lys198Asn- і C+70G-поліморфних варіантів генів *EDNI* та *EDNRA* із розвитком ІАТІ з урахуванням різних моделей успадкування

Ген	SNP	Модель	P	OR (95 % CI)
<i>EDNI</i>	Lys198Asn	Домінантна	0,009	1,884 (1,173–3,026)
		Рецесивна	0,018	3,354 (1,228–9,160)
		Наддомінантна	0,209	1,366 (0,840–2,221)
		Адитивна ^a	0,060	1,614 (0,980–2,657)
			0,007	4,046 (1,455–11,256)
<i>EDNRA</i>	C+70G	Домінантна	0,344	1,287 (0,763–2,172)
		Рецесивна	0,559	0,841 (0,470–1,504)
		Наддомінантна	0,194	1,361 (0,855–2,167)
		Адитивна	0,242	1,388 (0,801–2,403)
			0,896	1,047 (0,527–2,081)

SNP – однонуклеотидний поліморфізм; CI – довірчий інтервал; OR – відношення шансів.

^a Верхній рядок в адитивній моделі містить результати порівняння між Аа- та АА-генотипами, нижній рядок – між аа- та АА-генотипами

Використання методу логістичної регресії дозволило встановити збільшення ризику розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту при наявності Lys198Asn-поліморфізму гена *EDNI*. У осіб, що є гомозиготами за мінорним алелем, ймовірність виникнення ІАТІ більша у 4 рази, порівняно з гомозиготами за основним алелем (P = 0,07; OR = 4,046) [168].

3.2. Асоціація Lys198Asn-поліморфізму гена *EDN1* і C+70G-поліморфного варіанта гена *EDNRA* з ішемічним атеротромботичним інсультом у осіб з різними факторами ризику

Ішемічний атеротромботичний інсульт є мультифакторіальним захворюванням, у розвитку якого важливу роль відіграють статеві відмінності, артеріальна гіпертензія, надлишкова маса тіла та куріння.

Аналіз за статтю. Розподіл частот алельних варіантів Lys198Asn-поліморфізму гена *EDN1* та C+70G-поліморфізму гена *EDNRA* за статтю в осіб контрольної групи і хворих з ІАТІ подано в табл. 3.2.1.

Таблиця 3.2.1 – Асоціація Lys198Asn- і C+70G-алельних поліморфізмів генів *EDN1* та *EDNRA* з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі

Lys198Asn-поліморфізм				
<i>Генотип</i>	<i>Жінки</i>		<i>Чоловіки</i>	
	<i>Контроль</i>	<i>IATІ</i>	<i>Контроль</i>	<i>IATІ</i>
Lys/Lys	30 (66,7 %)	30 (41,7 %)	49 (62,0 %)	52 (53,1 %)
Lys/Asn	14 (31,1 %)	36 (50,0 %)	26 (32,9 %)	31 (31,6 %)
Asn/Asn	1 (2,2 %)	6 (8,3 %)	4 (5,1 %)	15 (15,3 %)
Разом	45 (100 %)	72 (100 %)	79 (100 %)	98 (100 %)
χ^2	7,416		4,913	
P	0,025		0,086	
C+70G-поліморфізм				
<i>Генотип</i>	<i>Жінки</i>		<i>Чоловіки</i>	
	<i>Контроль</i>	<i>IATІ</i>	<i>Контроль</i>	<i>IATІ</i>
C/C	13 (28,9 %)	19 (26,4 %)	23 (29,1 %)	22 (22,4 %)
C/G	22 (48,9 %)	36 (50,0 %)	40 (50,6 %)	62 (63,3 %)
G/G	10 (22,2 %)	17 (23,6 %)	16 (20,3 %)	14 (14,3 %)
Разом	45 (100 %)	72 (100 %)	79 (100 %)	98 (100 %)
χ^2	0,093		2,894	
P	0,954		0,235	

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

Серед жінок контрольної групи частота генотипів Lys/Lys, Lys/Asn, Asn/Asn становила 66,7; 31,1; 2,2 %, а серед хворих з ІАТІ жіночої статі – 41,7; 50,0; 8,3 % відповідно. Показник P, розрахований за χ^2 -критерієм Пірсона, дорівнював 0,025, що свідчить про наявність статистично значущих відмінностей. Достовірної різниці у розподілі генотипів у представників контрольної та дослідної груп серед осіб чоловічої статі не виявлено.

Під час вивчення статевих відмінностей у співвідношенні алельних варіантів за C+70G-поліморфізмом гена *EDNRA* було встановлено, що не існує достовірної різниці у розподілі генотипів серед хворих на ІАТІ та практично здорових осіб як жіночої ($\chi^2 = 0,093$; P = 0,954), так і чоловічої ($\chi^2 = 2,894$, P = 0,235) статей.

У таблиці 3.2.2 представлено порівняльні дані про частоту варіантів Lys198Asn-поліморфізму гена ендотеліну-1 у жінок і чоловіків контрольної групи і групи хворих з ІАТІ. Серед хворих з ІАТІ осіб жіночої статі з генотипом Lys/Lys було 41,7 %, Lys/Asn – 50,0 %, Asn/Asn – 8,3 %, а осіб чоловічої статі з різними генотипами – 53,1; 31,6; 15,3 % відповідно. Одержані результати свідчать про статистично значущу відмінність у розподілі генотипів між особами різної статі у хворих з ІАТІ ($\chi^2 = 6,304$; P = 0,043). Серед представників контрольної групи співвідношення осіб чоловічої і жіночої статей за генотипами гена *EDN1* достовірно не відрізнялося ($\chi^2 = 0,700$; P = 0,705) [169].

За результатами порівняння частот варіантів C+70G-поліморфізму в осіб різної статі окремо в контрольній групі та у хворих з ІАТІ (табл. 3.2.2) було встановлено відсутність статистично значущої різниці в розподілі алельних варіантів даного поліморфізму між чоловіками та жінками як у контрольній групі ($\chi^2 = 0,071$; P = 0,965), так і в групі хворих з ІАТІ ($\chi^2 = 3,514$; P = 0,173) [170].

Завдяки проведеному аналізу розподілу частот ішемічних інсультів у жінок і чоловіків із різними варіантами генотипу за Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмами генів ендотеліну-1 та ендотелінового рецептора типу А одержали результати, наведені в таблиці 3.2.3.

Таблиця 3.2.2 – Частота генотипів за Lys198Asn-поліморфізмом гена EDN1 та C+70G-поліморфізмом гена EDNRA у жінок і чоловіків контрольної групи і хворих з ІАТІ

Lys198Asn-поліморфізм				
<i>Генотип</i>	<i>Контроль</i>		<i>ІАТІ</i>	
	<i>Жінки</i>	<i>Чоловіки</i>	<i>Жінки</i>	<i>Чоловіки</i>
Lys/Lys	30 (66,7 %)	49 (62,0 %)	30 (41,7 %)	52 (53,1 %)
Lys/Asn	14 (31,1 %)	26 (32,9 %)	36 (50,0 %)	31 (31,6 %)
Asn/Asn	1 (2,2 %)	4 (5,1 %)	6 (8,3 %)	15 (15,3 %)
Разом	45 (100 %)	79 (100 %)	72 (100 %)	98 (100 %)
χ^2	0,700		6,304	
P	0,705		0,043	
C+70G-поліморфізм				
<i>Генотип</i>	<i>Контроль</i>		<i>ІАТІ</i>	
	<i>Жінки</i>	<i>Чоловіки</i>	<i>Жінки</i>	<i>Чоловіки</i>
C/C	13 (28,9 %)	23 (29,1 %)	19 (26,4 %)	22 (22,4 %)
C/G	22 (48,9 %)	40 (50,6 %)	36 (50,0 %)	62 (63,3 %)
G/G	10 (22,2 %)	16 (20,3 %)	17 (23,6 %)	14 (14,3 %)
Разом	45 (100 %)	79 (100 %)	72 (100 %)	98 (100 %)
χ^2	0,071		3,514	
P	0,965		0,173	

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

Серед осіб із генотипом Lys/Asn у групі контролю було 35,0 % жінок та 65,0 % чоловіків, тоді як серед хворих з ІАТІ – 53,7 % жінок і 46,3 % чоловіків. Аналізуючи наведені дані, можна зробити висновок, що в носіїв Lys/Asn-генотипу відмінність частоти осіб жіночої і чоловічої статей серед хворих з ІАТІ та особами контрольної групи є статистично значущою ($\chi^2 = 3,530$; P = 0,046).

Таблиця 3.2.3 – Частота ішемічних інсультів у жінок і чоловіків із різними варіантами генотипу за Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмами генів EDN1 та EDNRA

Lys198Asn-поліморфізм			
<i>Генотип</i>	<i>Стать</i>	<i>Контроль</i>	<i>IATI</i>
Lys/Lys	Жінки	30 (38,0 %)	30 (36,6 %)
	Чоловіки	49 (62,0 %)	52 (63,4 %)
	Разом	79 (100 %)	82 (100 %)
$\chi^2 = 0,033; P = 0,492$			
Lys/Asn	Жінки	14 (35,0 %)	36 (53,7 %)
	Чоловіки	26 (65,0 %)	31 (46,3 %)
	Разом	40 (100 %)	67 (100 %)
$\chi^2 = 3,530; P = 0,046$			
Asn/Asn	Жінки	1 (20,0 %)	6 (28,6 %)
	Чоловіки	4 (80,0 %)	15 (71,4 %)
	Разом	5 (100 %)	21 (100 %)
$\chi^2 = 0,151; P = 0,589$			
C+70G-поліморфізм			
<i>Генотип</i>	<i>Стать</i>	<i>Контроль</i>	<i>IATI</i>
C/C	Жінки	13 (36,1 %)	19 (46,3 %)
	Чоловіки	23 (63,9 %)	22 (53,7 %)
	Разом	36 (100 %)	41 (100 %)
$\chi^2 = 0,826; P = 0,249$			
C/G	Жінки	22 (35,5 %)	36 (36,7 %)
	Чоловіки	40 (64,5 %)	62 (63,3 %)
	Разом	62 (100 %)	98 (100 %)
$\chi^2 = 0,026; P = 0,505$			
G/G	Жінки	10 (38,5 %)	17 (54,8 %)
	Чоловіки	16 (61,5 %)	14 (45,2 %)
	Разом	26 (100 %)	31 (100 %)
$\chi^2 = 1,521; P = 0,167$			

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

У таблиці 3.2.4 наведені результати аналізу асоціації поліморфних варіантів Lys198Asn (ген *EDNI*) та C+70G (ген *EDNRA*) з розвитком ІАТІ в осіб різної статі з урахуванням різних моделей успадкування.

Таблиця 3.2.4 – Аналіз асоціації поліморфних варіантів Lys198Asn (ген *EDNI*) та C+70G (ген *EDNRA*) з розвитком ІАТІ в осіб різної статі з урахуванням різних моделей успадкування

Lys198Asn-поліморфізм			
<i>Стать</i>	<i>Модель</i>	<i>P</i>	<i>OR (95 % CI)</i>
Жінки	Домінантна	0,009	2,800 (1,287–6,090)
	Рецесивна	0,207	4,000 (0,465–34,377)
	Наддомінантна	0,046	2,214 (1,013–4,841)
	Адитивна ^a	0,020	2,571 (1,157–5,713)
		0,107	6,000 (0,681–52,900)
Чоловіки	Домінантна	0,232	1,445 (0,790–2,641)
	Рецесивна	0,037	3,389 (1,077–10,662)
	Наддомінантна	0,856	0,943 (0,501–1,777)
	Адитивна	0,726	1,124 (0,586–2,155)
		0,034	3,534 (1,097–11,385)
C+70G-поліморфізм			
Жінки	Домінантна	0,768	1,133 (0,494–2,601)
	Рецесивна	0,862	1,082 (0,445–2,631)
	Наддомінантна	0,907	1,045 (0,496–2,202)
	Адитивна	0,802	1,120 (0,463–2,706)
		0,778	1,163 (0,406–3,332)
Чоловіки	Домінантна	0,312	1,419 (0,720–2,797)
	Рецесивна	0,295	0,656 (0,298–1,443)
	Наддомінантна	0,092	1,679 (0,919–3,068)
	Адитивна	0,181	1,620 (0,799–3,286)
		0,850	0,915 (0,363–2,308)

SNP – однонуклеотидний поліморфізм; CI – довірчий інтервал; OR – відношення шансів.

^a Верхній рядок в адитивній моделі містить результати порівняння між Аа- та АА-генотипами, нижній рядок – між аа- та АА-генотипами

Виявлено, що у жінок із Lys/Asn-генотипом ризик розвитку інсульту більший у 2,6 раза ($P = 0,020$; $OR = 2,571$) [171]. Крім того, показано, що для носіїв гомозиготного Asn/Asn-генотипу серед чоловіків ризик виникнення ІАТІ підвищується в 3,5 раза ($P = 0,034$; $OR = 3,534$) [172].

Не виявлено достовірних відмінностей щодо частоти осіб чоловічої та жіночої статей, поділених на підгрупи за генотипами C+70G-поліморфізму.

Аналіз за антропометричними даними. У пацієнтів з ІАТІ та представників контрольної групи з різними варіантами генотипу за Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмами генів *EDN1* і *EDNRA* було вивчено такі антропометричні показники, як зріст (см), масу тіла (кг) та розрахований на їх основі індекс маси тіла (ІМТ).

Згідно з результатами проведеного аналізу зв'язку поліморфізмів генів *EDN1* і *EDNRA* з показниками зросту, маси тіла та ІМТ у осіб контрольної групи та пацієнтів з ішемічним інсультом різниці встановлено не було (табл. 3.2.5).

При порівнянні антропометричних показників у контрольній групі і у групі хворих з ІАТІ окремо за генотипами алельного поліморфізму Lys198Asn гена ендотеліну-1 було одержано наступні дані. Серед носіїв Lys/Lys-генотипу було виявлено достовірно вищі показники зросту ($(169,18 \pm 0,91)$ см проти $(163,44 \pm 1,09)$ см ($P < 0,001$)) та маси тіла ($(80,68 \pm 1,20)$ кг проти $(72,96 \pm 1,47)$ кг ($P < 0,001$)) у осіб з ішемічним атеротромботичним інсультом. Проте показники ІМТ у групах порівняння з Lys/Lys-генотипом не відрізнялися ($P = 0,217$), що можна пояснити пропорційністю відхилень параметрів зросту та маси тіла. Гетерозиготи Lys/Asn, хворі на ІАТІ, також мали більш високий зріст ($(168,30 \pm 0,99)$ см проти $(162,68 \pm 1,72)$ см ($P = 0,003$)), ніж особи контрольної групи з таким самим генотипом. Показники маси тіла та ІМТ не відрізнялись у осіб контрольної і дослідної груп з Lys/Asn-генотипом ($P = 0,128$; $P = 0,968$ відповідно). Щодо гомозигот за мінорним алелем (Asn/Asn) порівняння показників зросту, маси тіла та ІМТ не дало достовірних відмінностей між представниками досліджуваних груп ($P = 0,207$; $P = 0,347$; $P = 0,722$ відповідно).

Таблиця 3.2.5 – Антропометричні показники у хворих з ІАТІ та осіб контрольної групи залежно від варіантів генотипу за Lys198Asn-поліморфізмом гена EDN1 і C+70G-поліморфізмом гена EDNRA (M ± m)

Lys198Asn-поліморфізм						
		Lys/Lys	Lys/Asn	Asn/Asn	F	P ₁
Зріст, см	Контроль	163,44±1,09 (79)	162,68±1,72 (40)	164,75±2,43 (4)	0,124	0,883
	ІАТІ	169,18±0,91 (82)	168,30±0,99 (67)	170,05±1,70 (21)	0,439	0,645
	P ₂	<0,001	0,003	0,207		
Маса тіла, кг	Контроль	72,96±1,47	74,58±2,84	75,50±5,12	0,193	0,825
	ІАТІ	80,68±1,20	79,45±1,77	83,10±3,28	0,653	0,522
	P ₂	<0,001	0,128	0,347		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	27,38±0,54	28,10±0,88	27,79±1,68	0,275	0,760
	ІАТІ	28,24±0,44	28,06±0,56	28,71±1,06	0,182	0,834
	P ₂	0,217	0,968	0,722		
C+70G-поліморфізм						
		C/C	C/G	G/G	F	P ₁
Зріст, см	Контроль	164,69±1,55 (36)	162,74±1,32 (61)	162,38±2,01 (26)	0,550	0,578
	ІАТІ	168,54±1,22 (41)	169,42±0,87 (98)	167,97±1,26 (31)	0,441	0,644
	P ₂	0,052	<0,001	0,018		
Маса тіла, кг	Контроль	76,25±2,96	72,46±1,66	72,46±2,74	0,844	0,432
	ІАТІ	82,00±1,93	80,34±1,35	79,00±2,21	0,491	0,613
	P ₂	0,100	<0,001	0,066		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	28,02±0,87	27,41±0,60	27,61±1,09	0,169	0,845
	ІАТІ	28,88±0,63	28,01±0,45	28,04±0,79	0,616	0,542
	P ₂	0,418	0,419	0,746		

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

Аналіз антропометричних показників у контрольній групі та у хворих з ІАТІ із різними генотипами за C+70G-поліморфізмом гена EDNRA дозволив виявити наступні закономірності.

У носіїв гетерозиготного генотипу, хворих на ішемічний атеротромботичний інсульт, показники зросту були достовірно вищими, ніж в осіб контрольної групи ($(169,42 \pm 0,87)$ см проти $(162,74 \pm 1,32)$ см ($P < 0,001$)), як і в носіїв G/G-генотипу ($(167,97 \pm 1,26)$ см проти $(162,38 \pm 2,01)$ см ($P = 0,018$)), в той час як у гомозигот за основним алелем дана відмінність була близькою до статистичної значущості ($P = 0,052$). Стосовно маси тіла значущість відмінностей між групами порівняння підтвердилася лише для носіїв C/G-генотипу ($(80,34 \pm 1,35)$ кг проти $(72,46 \pm 1,66)$ кг ($P < 0,001$)). При порівнянні показників ІМТ у хворих з інсультом та осіб контрольної групи у представників жодного з генотипів достовірної різниці не було виявлено.

Дослідження зв'язку антропометричних показників із Lys198Asn-поліморфізмом гена *EDN1* у осіб різної статі показало відсутність істотної залежності зросту, маси тіла, ІМТ від генотипу за цим поліморфізмом як у жінок, так і в чоловіків контрольної та дослідної груп (табл. 3.2.6).

Аналіз даних показників між групами, утвореними за генотипами досліджуваного поліморфізму, дозволив отримати наступні результати. У жінок з ІАТІ, що є гомозиготами за основним алелем, показники зросту ($(163,50 \pm 1,15)$ см проти $(156,13 \pm 1,35)$ см ($P < 0,001$)) і маси тіла ($(77,57 \pm 2,19)$ кг проти $(69,43 \pm 2,28)$ кг ($P = 0,013$)) достовірно вищі, ніж у жінок без цереброваскулярних захворювань.

У осіб чоловічої статі з Lys/Lys-генотипом спостерігалась подібна тенденція: у хворих з інсультом були більші показники зросту ($(172,46 \pm 1,03)$ см проти $(167,92 \pm 1,18)$ см ($P = 0,005$)) і маси тіла ($(82,48 \pm 1,36)$ кг проти $(75,12 \pm 1,87)$ кг ($P = 0,002$)). Проте і у жінок, і в чоловіків відмінності показників ІМТ статистично не підтвердилися ($P = 0,668$; $P = 0,197$ відповідно).

Серед носіїв гетерозиготного генотипу різниця антропометричних показників у жінок і чоловіків також мала аналогічний характер. Як в осіб жіночої, так і чоловічої статі з Lys/Asn-генотипом достовірної асоціації між показниками маси тіла та ІМТ не виявлено ($P = 0,081$; $P = 0,778$ відповідно для жінок і $P = 0,271$; $P = 0,832$ – для чоловіків).

Таблиця 3.2.6 – Показники зросту, маси тіла та ІМТ в осіб жіночої і чоловічої статей у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за Lys198Asn-поліморфізмом гена EDN1 (M±m)

		Lys/Lys	Lys/Asn	Asn/Asn	F	P ₁
<i>Жінки</i>						
<i>Зріст, см</i>	<i>Контроль</i>	156,13±1,35 (30)	155,86±2,79 (14)	(0)	0,010	0,920
	<i>IAT1</i>	163,50±1,15 (30)	163,64±0,83 (36)	163,83±1,99 (6)	0,011	0,989
	<i>P₂</i>	<0,001	<0,001			
<i>Маса тіла, кг</i>	<i>Контроль</i>	69,43±2,28	70,43±2,99	(0)	0,065	0,800
	<i>IAT1</i>	77,57±2,19	76,97±1,97	81,67±6,09	0,384	0,683
	<i>P₂</i>	0,013	0,081			
<i>ІМТ, кг/м²</i>	<i>Контроль</i>	28,52±0,92	29,20±1,42	(0)	0,167	0,685
	<i>IAT1</i>	29,06±0,85	28,78±0,74	30,44±2,22	0,334	0,718
	<i>P₂</i>	0,668	0,778			
<i>Чоловіки</i>						
<i>Зріст, см</i>	<i>Контроль</i>	167,92±1,18 (49)	166,35±1,85 (26)	164,75±2,43 (4)	0,465	0,630
	<i>IAT1</i>	172,46±1,03 (52)	173,71±1,39 (31)	172,53±1,91 (15)	0,285	0,753
	<i>P₂</i>	0,005	0,002	0,065		
<i>Маса тіла, кг</i>	<i>Контроль</i>	75,12±1,87	76,81±4,04	75,50±5,12	0,096	0,909
	<i>IAT1</i>	82,48±1,36	82,32±3,02	83,67±4,01	0,057	0,945
	<i>P₂</i>	0,002	0,271	0,338		
<i>ІМТ, кг/м²</i>	<i>Контроль</i>	26,69±0,65	27,52±1,11	27,79±1,68	0,292	0,747
	<i>IAT1</i>	27,74±0,49	27,23±0,83	28,02±1,19	0,255	0,775
	<i>P₂</i>	0,197	0,832	0,927		

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

Серед жінок контрольної групи не було виявлено Asn/Asn-генотипу, що унеможливило порівняння з дослідною групою. Чоловіки, що є гомозиготами за

мінорним алелем, як і група в цілому, не відрізнялися за зростом, масою тіла та ІМТ у досліджуваних групах.

Щодо порівняння між досліджуваними групами у чоловіків і жінок за С+70G-поліморфним варіантом гена *EDNRA*, то виявлено певні відмінності (табл. 3.2.7).

Таблиця 3.2.7 – Показники зросту, маси тіла та ІМТ в осіб жіночої і чоловічої статей в групах порівняння залежно від варіантів генотипу С+70G-поліморфізмом гена *EDNRA* (M±m)

		C/C	C/G	G/G	F	P ₁
<i>Жінки</i>						
Зріст, см	Контроль	155,85±1,72(13)	157,43±2,32(21)	153,40±1,30(10)	0,787	0,462
	IATІ	164,11±1,21(19)	162,97±0,99(36)	164,35±1,17(17)	0,468	0,628
	P ₂	<0,001	0,014	<0,001		
Маса тіла, кг	Контроль	73,46±3,10	67,52±2,30	69,60±4,89	0,991	0,380
	IATІ	79,37±2,55	76,08±1,99	78,88±3,28	0,579	0,563
	P ₂	0,151	0,009	0,115		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	30,13±0,91	27,47±1,14	29,56±2,03	1,290	0,286
	IATІ	29,46±0,88	28,73±0,81	29,20±1,19	0,170	0,844
	P ₂	0,611	0,362	0,871		
<i>Чоловіки</i>						
Зріст, см	Контроль	169,70±1,38(23)	165,53±1,44(40)	168,00±2,19(16)	1,878	0,160
	IATІ	172,36±1,65(22)	173,16±0,97(62)	172,36±1,82(14)	0,128	0,880
	P ₂	0,221	<0,001	0,143		
Маса тіла, кг	Контроль	77,83±4,31	75,05±2,13	74,25±3,29	0,380	0,736
	IATІ	84,27±2,80	82,81±1,73	79,14±2,98	0,664	0,517
	P ₂	0,221	0,006	0,285		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	26,83±1,19	27,38±0,70	26,38±1,19	0,258	0,774
	IATІ	28,38±0,90	27,60±0,52	26,63±0,88	0,809	0,449
	P ₂	0,308	0,798	0,870		

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

Так, у хворих на ІАТІ жінок із С/С- і G/G-генотипами зріст ($P < 0,001$ – для С/С-генотипу; $P < 0,001$ – для G/G-генотипу), а з генотипом С/G зріст ($(162,97 \pm 0,99)$ см проти $(157,43 \pm 2,32)$ см ($P = 0,014$)) і маса тіла ($(76,08 \pm 1,99)$ кг проти $(67,52 \pm 2,30)$ кг ($P = 0,009$)) були значно більшими, ніж в осіб контрольної групи з відповідним генотипом. Це не впливало на ІМТ, що можна пояснити пропорційністю відхилень показників зросту і маси тіла.

У свою чергу, чоловіки-гетерозиготи (С/G) з ішемічним атеротромботичним інсультом мали статистично значущі відмінності за показниками зросту ($(173,16 \pm 0,97)$ см проти $(165,53 \pm 1,44)$ см ($P < 0,001$)) та маси тіла ($(82,81 \pm 1,73)$ кг проти $(75,05 \pm 2,13)$ кг ($P = 0,006$)). Гомозиготи чоловічої статі як за основним (С/С) так і за мінорним алелем таких відмінностей не мали. Різниця між хворими на ІАТІ та практично здоровими чоловіками за ІМТ не була достовірною у жодному з можливих генотипів за С+70G-поліморфізмом гена *EDNRA*.

На наступному етапі аналізу представників дослідної і контрольної груп було поділено на дві підгрупи за показником ІМТ (< 25 кг/м² і ≥ 25 кг/м²).

Як впливає з результатів дослідження, наведених у таблиці 3.2.8, при порівнянні розподілу генотипів за Lys198Asn-алельними варіантами гена ендотеліну-1 серед хворих з ІАТІ та осіб контрольної групи з ІМТ < 25 кг/м² не було встановлено статистично значущої відмінності ($\chi^2 = 4,222$; $P = 0,121$). Співвідношення генотипів у осіб з ІМТ ≥ 25 кг/м² контрольної групи Lys/Lys, Lys/Asn, Asn/Asn становило 64,7; 31,8; 3,5 %, а серед пацієнтів з ІАТІ – 49,6; 38,0; 12,4 % відповідно. Таким чином, у осіб з ІМТ ≥ 25 кг/м² виявлено достовірну різницю у розподілі генотипів у групах порівняння за Lys198Asn-поліморфізмом ($\chi^2 = 7,202$; $P = 0,027$) [173].

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 встановлено відсутність статистично достовірної різниці розподілу генотипів як у осіб з ІМТ < 25 кг/м² ($\chi^2 = 4,187$; $P = 0,123$), так і в осіб з ІМТ ≥ 25 кг/м² ($\chi^2 = 0,538$; $P = 0,764$) [174].

Таблиця 3.2.8 – Асоціація алельного поліморфізму Lys198Asn гена EDN1 і поліморфізму C+70G гена EDNRA з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб з різним ІМТ

Lys198Asn-поліморфізм				
<i>Генотип</i>	ІМТ < 25 кг/м ²		ІМТ ≥ 25кг/м ²	
	<i>Контроль</i>	<i>IATI</i>	<i>Контроль</i>	<i>IATI</i>
Lys/Lys	24 (63,2)	18 (43,9)	55 (64,7)	64 (49,6)
Lys/Asn	13 (34,2)	18 (43,9)	27 (31,8)	49 (38,0)
Asn/Asn	1 (2,6)	5 (12,2)	3 (3,5)	16 (12,4)
Разом	38 (100)	41 (100)	85 (100)	129 (100)
χ^2	4,222		7,202	
P	0,121		0,027	
C+70G-поліморфізм				
<i>Генотип</i>	ІМТ < 25 кг/м ²		ІМТ ≥ 25кг/м ²	
	<i>Контроль</i>	<i>IATI</i>	<i>Контроль</i>	<i>IATI</i>
C/C	10 (26,3)	4 (9,8)	26 (30,6)	37 (28,7)
C/G	19 (50,0)	28 (68,3)	42 (49,4)	70 (54,3)
G/G	9 (23,7)	9 (22,0)	17 (20,0)	22 (17,1)
Разом	38 (100)	41 (100)	85 (100)	129 (100)
χ^2	4,187		0,538	
P	0,123		0,764	

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

Розподіл алельних варіантів гена *EDN1* за Lys198Asn-поліморфізмом у хворих з IATI та осіб групи контролю з нормальними і підвищеними величинами індексу маси тіла наведено у таблиці 3.2.9.

Виявлено, що не існує достовірної різниці у розподілі генотипів за Lys198Asn-поліморфізмом серед хворих з IATI з різними величинами ІМТ ($\chi^2 = 0,488$; P = 0,784). Стосовно практично здорових осіб такий зв'язок теж статистично не підтвердився ($\chi^2 = 0,123$; P = 0,940).

Таблиця 3.2.9 – Розподіл генотипів за Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмами генів EDN1 та EDNRA в осіб з різним ІМТ у контрольній групі і групі хворих з ІАТІ

Lys198Asn-поліморфізм				
<i>Генотип</i>	<i>Контроль</i>		<i>ІАТІ</i>	
	<i>ІМТ < 25 кг/м²</i>	<i>ІМТ ≥ 25 кг/м²</i>	<i>ІМТ < 25 кг/м²</i>	<i>ІМТ ≥ 25 кг/м²</i>
Lys/Lys	24 (63,2)	55 (64,7)	18 (43,9)	64 (49,6)
Lys/Asn	13 (34,2)	27 (31,8)	18 (43,9)	49 (38,0)
Asn/Asn	1 (2,6)	3 (3,5)	5 (12,2)	16 (12,4)
Разом	38 (100)	85 (100)	41 (100)	129 (100)
χ^2	0,123		0,488	
P	0,940		0,784	
C+70G-поліморфізм				
<i>Генотип</i>	<i>Контроль</i>		<i>ІАТІ</i>	
	<i>ІМТ < 25 кг/м²</i>	<i>ІМТ ≥ 25 кг/м²</i>	<i>ІМТ < 25 кг/м²</i>	<i>ІМТ ≥ 25 кг/м²</i>
C/C	10 (26,3)	26 (30,6)	4 (9,8)	37 (28,7)
C/G	19 (50,0)	42 (49,4)	28 (68,3)	70 (54,3)
G/G	9 (23,7)	17 (20,0)	9 (22,0)	22 (17,1)
Разом	38 (100)	85 (100)	41 (100)	129 (100)
χ^2	0,334		6,092	
P	0,846		0,048	

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

Достовірної різниці у розподілі генотипів за C+70G-поліморфізмом гена EDNRA серед осіб контрольної групи з різними показниками ІМТ не виявлено ($\chi^2 = 0,334$; P = 0,846). Серед хворих з ІАТІ співвідношення гомозигот за основним алелем C/C, гетерозигот C/G і гомозигот за «патологічним» алелем G/G у осіб з ІМТ < 25 кг/м² становило 9,8; 68,3 і 22,0 %, а з ІМТ ≥ 25кг/м² – 28,7; 54,3 і 17,1 % відповідно. Під час аналізу виявлено статистично достовірні відмінності у розподілі генотипів серед хворих на ІАТІ з різним ІМТ. Показник P, визначений за χ^2 -критерієм Пірсона, дорівнював 0,048 [175].

У таблиці 3.2.10 наведена частота осіб з різним ІМТ у контрольній групі та групі хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом за варіантами генотипів Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів.

Таблиця 3.2.10 – Частота осіб з різними величинами ІМТ у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмами генів EDN1 та EDNRA

Lys198Asn-поліморфізм			
<i>Генотип</i>	<i>ІМТ</i>	<i>Контроль, n (%)</i>	<i>IATI, n (%)</i>
Lys/Lys	< 25 кг/м ²	24 (30,4)	18 (22,0)
	≥ 25кг/м ²	55 (69,6)	64 (78,0)
	Разом	79 (100)	82 (100)
$\chi^2 = 1,482; P = 0,150$			
Lys/Asn	< 25 кг/м ²	13 (32,5)	18 (26,9)
	≥ 25кг/м ²	27 (67,5)	49 (73,1)
	Разом	40 (100)	67 (100)
$\chi^2 = 0,386; P = 0,342$			
Asn/Asn	< 25 кг/м ²	1 (25,0)	5 (23,8)
	≥ 25кг/м ²	3 (75,0)	16 (76,2)
	Разом	4 (100)	21 (100)
$\chi^2 = 0,003; P = 0,694$			
C+70G-поліморфізм			
<i>Генотип</i>	<i>ІМТ</i>	<i>Контроль, n (%)</i>	<i>IATI, n (%)</i>
C/C	< 25 кг/м ²	10 (27,8)	4 (9,8)
	≥ 25кг/м ²	26 (72,2)	37 (90,2)
	Разом	36 (100)	41 (100)
$\chi^2 = 4,185; P = 0,040$			
C/G	< 25 кг/м ²	19 (31,1)	28 (28,6)
	≥ 25кг/м ²	42 (68,9)	70 (71,4)
	Разом	61 (100)	98 (100)
$\chi^2 = 0,120; P = 0,431$			
G/G	< 25 кг/м ²	9 (34,6)	9 (29,0)
	≥ 25кг/м ²	17 (65,4)	22 (71,0)
	Разом	26 (100)	31 (100)
$\chi^2 = 0,204; P = 0,433$			

Примітка. Див. табл. 3.2.3

При порівнянні осіб двох досліджуваних груп з ІМТ < 25 кг/м² та ІМТ ≥ 25кг/м², які є носіями Lys/Lys-генотипу, статистично значимих відмінностей не було виявлено (P = 0,150). Такі ж результати були отримані і для носіїв Lys/Asn- (P = 0,342) та Asn/Asn-генотипів (P = 0,694).

Щодо C+70G-поліморфізму, то серед носіїв C/C-генотипу в контрольній групі було 10 (27,8 %) осіб з ІМТ < 25 кг/м² і 26 (72,2 %) осіб з ІМТ ≥ 25 кг/м², а у групі хворих з ІАТІ 4 (9,8 %) і 37 (90,2 %) відповідно. Статистичний аналіз отриманих даних дозволив установити достовірну відмінність між зазначеними групами порівняння у носіїв C/C-генотипу ($\chi^2 = 4,185$; P = 0,040). Відмінності у частоті осіб з різним ІМТ у досліджуваних групах за C+70G-поліморфізмом не були достовірні як у носіїв C/G-генотипу ($\chi^2 = 0,120$; P = 0,431), так і у осіб, які є гомозиготами за мінорним алелем ($\chi^2 = 0,204$; P = 0,433).

Застосування методу логістичної регресії дало можливість виявити вплив генотипів за Lys198Asn- і C+70G-алельними варіантами генів *EDN1* та *EDNRA* на розвиток ІАТІ у осіб з нормальним і підвищеним ІМТ (табл. 3.2.11).

Таблиця 3.2.11 – Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмами генів *EDN1* та *EDNRA* у осіб з різним ІМТ

Полі-морфізм	Показник	Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95 % CI для OR
Lys198Asn	ІМТ < 25 кг/м ²	Lys/Asn	0,613	0,479	1,636	0,201	1,846	0,722–4,723
		Asn/Asn	1,897	1,139	2,774	0,096	6,667	0,715–62,143
	ІМТ ≥ 25 кг/м ²	Lys/Asn	0,444	0,302	2,165	0,141	1,560	0,863–2,819
		Asn/Asn	1,522	0,655	5,395	0,020	4,583	1,268–16,562
C+70G	ІМТ < 25 кг/м ²	C/G	1,304	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 ²	C/G	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: CR – коефіцієнт регресії; SE – стандартна похибка; WS – статистика Вальда; P – статистична значущість; OR – відношення ризику; CI – довірчий інтервал; порівняння проводиться відносно Lys/Lys- та C/C-генотипів

Встановлено, що у осіб з $IMT \geq 25 \text{ кг/м}^2$, гомозигот за мінорним алелем Lys198Asn-поліморфізму гена ендотеліну-1, ризик розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту більший у 4,6 раза порівняно з гомозиготами за основним алелем ($P = 0,020$; $OR = 4,583$) [176].

Наявність C+70G-поліморфізму гена *EDNRA* теж здійснює свій вплив на ризик розвитку ІАТІ. У осіб з $IMT < 25 \text{ кг/м}^2$, що є носіями гетерозиготного генотипу (C/G), ризик розвитку ІАТІ більший майже в 3,7 раза ($P = 0,049$; $OR = 3,684$), ніж у гомозигот за основним алелем.

Аналіз за наявністю ожиріння. Здійснення розподілу алельних варіантів гена *EDN1* за поліморфізмом Lys198Asn у хворих з ІАТІ і у представників контрольної групи з ожирінням та без нього дозволило отримати наступні дані (табл. 3.2.12).

У хворих з інсультом без ожиріння частота гомозигот за основним алелем, гетерозигот та гомозигот за мінорним алелем становила 49,5; 39,6 і 10,8 %, а у контрольній групі – 66,3; 30,4 і 3,3 % відповідно. Показник P , розрахований за χ^2 -критерієм Пірсона, дорівнював 0,023, що свідчить про наявність достовірної різниці у співвідношенні генотипів груп порівняння.

Статистично значущої відмінності у розподілі генотипів між досліджуваними групами без ожиріння за Lys198Asn-поліморфізмом гена *EDN1* не виявлено ($\chi^2 = 3,262$; $P = 0,196$).

Під час аналізу частоти варіантів C+70G-поліморфізму гена *EDNRA* у хворих з ІАТІ та осіб контрольної групи з ожирінням ($\chi^2 = 0,264$; $P = 0,876$) та без нього ($\chi^2 = 2,189$; $P = 0,335$) достовірної різниці теж не було виявлено.

Як зазначено у таблиці 3.2.13, порівняння частоти генотипів за поліморфізмом гена ендотеліну-1 серед осіб контролю без ожиріння та з ожирінням не дало достовірних результатів ($\chi^2 = 0,700$; $P = 0,705$).

Проте у хворих з ІАТІ було виявлено достовірну різницю у розподілі Lys198Asn-алельних варіантів у осіб без ожиріння і з ожирінням. Співвідношення гомозигот за основним алелем, гетерозигот і гомозигот за

мінорним алелем у осіб без ожиріння становило 41,7; 50,0 і 8,3 %, а у осіб з ожирінням – 53,1; 31,6 і 15,3 % відповідно ($\chi^2 = 6,304$; $P = 0,043$).

Таблиця 3.2.12 – Асоціація Lys198Asn-алельного поліморфізму гена EDN1 і C+70G-поліморфізму гена EDNRA з ішемічним атеротромботичним інсультом залежно від наявності ожиріння

Lys198Asn-поліморфізм				
<i>Генотип</i>	<i>Ожиріння (-)</i>		<i>Ожиріння (+)</i>	
	<i>Контроль</i>	<i>IATI</i>	<i>Контроль</i>	<i>IATI</i>
Lys/Lys	61 (66,3 %)	55 (49,5 %)	18 (58,1 %)	27 (45,8 %)
Lys/Asn	28 (30,4 %)	44 (39,6 %)	12 (38,7 %)	23 (39,0 %)
Asn/Asn	3 (3,3 %)	12 (10,8 %)	1 (3,2 %)	9 (15,3 %)
Разом	92 (100 %)	111 (100 %)	31 (100 %)	59 (100 %)
χ^2	7,554		3,262	
P	0,023		0,196	
C+70G-поліморфізм				
<i>Генотип</i>	<i>Ожиріння (-)</i>		<i>Ожиріння (+)</i>	
	<i>Контроль</i>	<i>IATI</i>	<i>Контроль</i>	<i>IATI</i>
C/C	26 (28,3 %)	25 (22,5 %)	10 (32,3 %)	16 (27,1 %)
C/G	46 (50,0 %)	67 (60,4 %)	15 (48,4 %)	31 (52,5 %)
G/G	20 (21,7 %)	19 (17,1 %)	6 (19,4 %)	12 (20,3 %)
Разом	92 (100 %)	111 (100 %)	31 (100 %)	59 (100 %)
χ^2	2,189		0,264	
P	0,335		0,876	

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

Під час проведення порівняння даних між особами з ожирінням і без ожиріння за C+70G-поліморфізмом як у контрольній групі, так і у представників дослідної групи одержано результати, що статистично не підтвердилися ($\chi^2 = 0,201$; $P = 0,904$ і $\chi^2 = 0,965$; $P = 0,617$ відповідно).

Таблиця 3.2.13 – Частота генотипів за Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмами генів EDN1 та EDNRA у хворих з ІАТІ і осіб групи контролю залежно від наявності ожиріння

Lys198Asn-поліморфізм				
<i>Генотип</i>	<i>Контроль</i>		<i>ІАТІ</i>	
	<i>Ожиріння (-)</i>	<i>Ожиріння (+)</i>	<i>Ожиріння (-)</i>	<i>Ожиріння (+)</i>
Lys/Lys	30 (66,7 %)	49 (62,0 %)	30 (41,7 %)	52 (53,1 %)
Lys/Asn	14 (31,1 %)	26 (32,9 %)	36 (50,0 %)	31 (31,6 %)
Asn/Asn	1 (2,2 %)	4 (5,1 %)	6 (8,3 %)	15 (15,3 %)
Разом	45 (100 %)	79 (100 %)	72 (100 %)	98 (100 %)
χ^2	0,700		6,304	
P	0,705		0,043	
C+70G-поліморфізм				
<i>Генотип</i>	<i>Контроль</i>		<i>ІАТІ</i>	
	<i>Ожиріння (-)</i>	<i>Ожиріння (+)</i>	<i>Ожиріння (-)</i>	<i>Ожиріння (+)</i>
C/C	26 (28,3 %)	10 (32,3 %)	25 (22,5 %)	16 (27,1 %)
C/G	46 (50,0 %)	15 (48,4 %)	67 (60,4 %)	31 (52,5 %)
G/G	20 (21,7 %)	6 (19,4 %)	19 (17,1 %)	12 (20,3 %)
Разом	92 (100 %)	31 (100 %)	111 (100 %)	59 (100 %)
χ^2	0,201		0,965	
P	0,904		0,617	

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

Результати розподілу осіб контрольної групи та групи осіб з ішемічним атеротромботичним інсультом залежно від наявності ожиріння за генотипами Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів наведені у таблиці 3.2.14.

При порівнянні осіб двох досліджуваних груп з ожирінням та без ожиріння, які є носіями Lys/Lys-генотипу, статистично значущих відмінностей не було виявлено ($\chi^2 = 2,055$; P = 0,104). Такі ж результати були одержані і для носіїв Lys/Asn- ($\chi^2 = 0,213$; P = 0,404) та Asn/Asn-генотипів ($\chi^2 = 0,446$; P = 0,468).

Таблиця 3.2.14 – Частота осіб контрольної групи і хворих з ІАТІ за варіантами генотипів Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів EDN1 та EDNRA залежно від наявності ожиріння

Lys198Asn-поліморфізм			
<i>Генотип</i>	<i>Показник</i>	<i>Контроль, n (%)</i>	<i>ІАТІ, n (%)</i>
Lys/Lys	Ожиріння (-)	61 (77,2)	55 (67,1)
	Ожиріння (+)	18 (22,8)	27 (32,9)
	Разом	79 (100)	82 (100)
$\chi^2 = 2,055; P = 0,104$			
Lys/Asn	Ожиріння (-)	28 (70,0)	44 (65,7)
	Ожиріння (+)	12 (30,0)	23 (34,3)
	Разом	40 (100)	67 (100)
$\chi^2 = 0,213; P = 0,404$			
Asn/Asn	Ожиріння (-)	3 (75,0)	12 (57,1)
	Ожиріння (+)	1 (25,0)	9 (42,9)
	Разом	4 (100)	21 (100)
$\chi^2 = 0,446; P = 0,468$			
C+70G-поліморфізм			
<i>Генотип</i>	<i>Показник</i>	<i>Контроль, n (%)</i>	<i>ІАТІ, n (%)</i>
C/C	Ожиріння (-)	26 (72,2)	25 (61,0)
	Ожиріння (+)	10 (27,8)	16 (39,0)
	Разом	36 (100)	41 (100)
$\chi^2 = 1,084; P = 0,212$			
C/G	Ожиріння (-)	46 (75,4)	67 (68,4)
	Ожиріння (+)	15 (24,6)	31 (31,6)
	Разом	61 (100)	98 (100)
$\chi^2 = 0,907; P = 0,221$			
G/G	Ожиріння (-)	20 (76,9)	19 (61,3)
	Ожиріння (+)	6 (23,1)	12 (38,7)
	Разом	26 (100)	31 (100)
$\chi^2 = 1,599; P = 0,164$			

Примітка: n – кількість осіб; P – статистична значущість відмінностей між порівнюваними групами за χ^2 -критерієм Пірсона

Статистичний аналіз отриманих даних розподілу генотипів за C+70G-поліморфізмом дозволив установити відсутність достовірних відмінностей між зазначеними групами порівняння у носіїв усіх можливих генотипів (C/C-генотип – $\chi^2 = 1,084$; P = 0,212; C/G-генотип – $\chi^2 = 0,907$; P = 0,221; G/G-генотип – $\chi^2 = 1,599$; P = 0,164).

За допомогою методу логістичної регресії виявлено збільшення ризику розвитку ІАТІ у осіб без ожиріння залежно від генотипу за Lys198Asn-поліморфізмом гена *EDN1* (табл. 3.2.15).

Таблиця 3.2.15 – Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за Lys198Asn- поліморфізмом гена *EDN1* у осіб без ожиріння

Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95 % CI для OR
Lys/Asn	0,556	0,305	3,318	0,069	1,743	0,959–3,169
Asn/Asn	1,490	0,672	4,919	0,027	4,436	1,189–16,551

Примітка: CR – коефіцієнт регресії; SE – стандартна похибка; WS – статистика Вальда; P – статистична значущість; OR – відношення ризику; CI – довірчий інтервал; порівняння проводиться відносно Lys/Lys-генотипу

Установлено, що у осіб, які не мають ожиріння і є гомозиготами за мінорним алелем, ризик виникнення ішемічного атеротромботичного інсульту більший у 4,4 раза (P = 0,027; OR = 4,436), ніж у гомозигот за основним алелем [177]. Аналіз одержаних результатів свідчить про істотний вплив Asn/Asn-генотипу за поліморфізмом гена *EDN1* на розвиток ІАТІ незалежно від наявності ожиріння.

Аналіз за наявністю артеріальної гіпертензії. Дані про середні величини АТ_{сист}, АТ_{діаст}, АТ_{пульс} та АТ_{серед} у хворих з ІАТІ залежно від генотипу за Lys198Asn- і C+70G- поліморфізмами генів *EDN1* та *EDNRA* наведені в таблиці 3.2.16.

На основі проведеного однофакторного дисперсійного аналізу у хворих з ІАТІ було виявлено статистично достовірну відмінність показників АТ_{діаст} у носіїв різних генотипів за Lys198Asn- поліморфізмом ((93,23 ± 1,59) мм рт. ст. для Lys/Lys-генотипу, (98,96 ± 2,05) мм рт. ст. для Lys/Asn-генотипу і

($92,14 \pm 3,17$) мм рт. ст. для Asn/Asn-генотипу; $P = 0,049$). Також відрізнявся $AT_{\text{серед}}$ ($116,36 \pm 2,04$) мм рт. ст. для Lys/Lys-генотипу, ($123,66 \pm 2,29$) мм рт. ст. для Lys/Asn-генотипу і ($116,27 \pm 3,53$) мм рт. ст. для Asn/Asn-генотипу; $P = 0,042$) у осіб з різними генотипами за Lys198Asn-поліморфним варіантом гена *EDN1*. Носії С+70G-алельних варіантів гена *EDNRA*, які перенесли ІАТІ, не мали статистично значущих відмінностей між показниками усіх видів артеріального тиску [178].

Таблиця 3.2.16 – Показники артеріального тиску у групі хворих з ІАТІ залежно від варіантів генотипу за Lys198Asn- і С+70G-поліморфними варіантами генів *EDN1* та *EDNRA* ($M \pm m$)

Lys198Asn-поліморфізм					
	Lys/Lys	Lys/Asn	Asn/Asn	F	P
$AT_{\text{сист}}$	$162,62 \pm 3,26$ (82)	$173,06 \pm 3,60$ (67)	$164,52 \pm 5,32$ (21)	2,484	0,086
$AT_{\text{діаст}}$	$93,23 \pm 1,59$	$98,96 \pm 2,05$	$92,14 \pm 3,17$	3,070	0,049
$AT_{\text{пульс}}$	$69,39 \pm 2,18$	$74,10 \pm 2,92$	$72,38 \pm 4,08$	0,913	0,403
$AT_{\text{серед}}$	$116,36 \pm 2,04$	$123,66 \pm 2,29$	$116,27 \pm 3,53$	3,234	0,042
С+70G-поліморфізм					
	C/C	C/G	G/G	F	P
$AT_{\text{сист}}$	$165,85 \pm 4,23$ (41)	$167,91 \pm 2,96$ (98)	$165,48 \pm 5,79$ (31)	0,120	0,887
$AT_{\text{діаст}}$	$96,46 \pm 1,99$	$95,82 \pm 1,62$	$92,42 \pm 3,17$	0,694	0,501
$AT_{\text{пульс}}$	$69,39 \pm 3,08$	$72,09 \pm 2,09$	$73,06 \pm 4,60$	0,316	0,730
$AT_{\text{серед}}$	$119,59 \pm 2,55$	$119,85 \pm 1,92$	$116,77 \pm 3,63$	0,331	0,719

Примітка: F – критерій Фішера; P – значущість відмінностей між генотипами за даними однофакторного дисперсійного аналізу. У дужках – кількість пацієнтів

Нами було проаналізовано відмінність середніх величин $AT_{\text{сист}}$, $AT_{\text{діаст}}$, $AT_{\text{пульс}}$ та $AT_{\text{серед}}$ у хворих з ІАТІ залежно від генотипу за Lys198Asn- і С+70G-поліморфізмами генів *EDN1* та *EDNRA* з урахуванням статевих відмінностей. У таблиці 3.2.17 представлено дані такого аналізу у жінок.

Таблиця 3.2.17 – Показники артеріального тиску серед жінок з ІАГІ залежно від варіантів генотипу за Lys198Asn- і C+70G-поліморфними варіантами генів *EDN1* та *EDNRA* (M ± m)

Lys198Asn-поліморфізм					
	Lys/Lys	Lys/Asn	Asn/Asn	F	P
АТ _{сист}	174,33±5,79 (30)	172,36±5,10 (36)	165,00±9,57 (6)	0,234	0,792
АТ _{діаст}	96,83±2,58	100,83±2,71	96,67±5,58	0,631	0,535
АТ _{пульс}	77,50±4,07	71,53±3,68	68,33±7,03	0,813	0,448
АТ _{серед}	122,67±3,45	124,68±3,25	119,44±6,35	0,234	0,792
C+70G-поліморфізм					
	C/C	C/G	G/G	F	P
АТ _{сист}	169,47±6,28 (19)	173,19±5,21 (36)	174,71±7,96 (17)	0,146	0,865
АТ _{діаст}	98,68±2,65	99,86±2,82	96,76±3,71	0,237	0,789
АТ _{пульс}	70,79±4,93	73,33±3,64	77,94±5,51	0,490	0,615
АТ _{серед}	122,28±3,52	124,31±3,38	122,75±4,85	0,084	0,920

Примітка: F – критерій Фішера; P – значущість відмінностей між генотипами за даними однофакторного дисперсійного аналізу. У дужках – кількість пацієнтів

Серед хворих жінок із різними генотипами за Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмами генів *EDN1* та *EDNRA* значення АТ_{сист}, АТ_{діаст}, АТ_{пульс}, АТ_{серед} достовірно не відрізнялися.

У таблиці 3.2.18 наведено дані аналізу середніх показників АТ_{сист}, АТ_{діаст}, АТ_{пульс} та АТ_{серед} у чоловіків хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом залежно від генотипу за Lys198Asn- і C+70G- поліморфізмами генів *EDN1* та *EDNRA*.

Використання методу однофакторного дисперсійного аналізу дозволило виявити статистично значущу відмінність значень АТ_{сист} у носіїв різних генотипів ((155,87 ± 3,63) мм рт. ст. для Lys/Lys-генотипу, (173,87 ± 5,14) мм рт. ст. для Lys/Asn-генотипу і (164,33 ± 6,60) мм рт. ст. для Asn/Asn-генотипу; P = 0,015), АТ_{пульс} ((64,71 ± 2,30) мм рт. ст. для Lys/Lys-генотипу, (77,10 ± 4,66) мм рт. ст. для Lys/Asn-генотипу і (74,00 ± 5,05) мм рт. ст. для

Asn/Asn-генотипу; $P = 0,023$), у чоловіків, що є носіями різних генотипів за Lys198Asn-поліморфізмом гена ендотеліну-1, не отримано достовірних асоціацій у показниках АТ за С+70G-поліморфізмом.

Таблиця 3.2.18 – Показники артеріального тиску серед чоловіків з ІАТІ залежно від варіантів генотипу за Lys198Asn- і С+70G-поліморфними варіантами генів EDN1 та EDNRA (M ± m)

Lys198Asn-поліморфізм					
	Lys/Lys	Lys/Asn	Asn/Asn	F	P
АТ _{сист}	155,87±3,63 (52)	173,87±5,14 (31)	164,33±6,60 (15)	4,386	0,015
АТ _{діаст}	91,15±1,98	96,77±3,12	90,33±3,86	1,522	0,224
АТ _{пульс}	64,71±2,30	77,10±4,66	74,00±5,05	3,913	0,023
АТ _{серед}	112,72±2,42	122,47±3,23	115,00±4,33	3,050	0,052
С+70G-поліморфізм					
	C/C	C/G	G/G	F	P
АТ _{сист}	162,73±5,78 (22)	164,84±3,54 (62)	154,29±7,68 (14)	0,820	0,443
АТ _{діаст}	94,55±2,92	93,47±1,92	87,14±5,18	1,135	0,326
АТ _{пульс}	68,18±3,93	71,37±2,56	67,14±7,59	0,339	0,713
АТ _{серед}	117,27±3,66	117,26±2,27	109,52±4,98	1,128	0,328

Примітка: F – критерій Фішера; P – значущість відмінностей між генотипами за даними однофакторного дисперсійного аналізу. У дужках – кількість пацієнтів

Вивчення розподілу трьох можливих варіантів генотипу за Lys198Asn- і С+70G-поліморфізмами генів EDN1 та EDNRA у пацієнтів з артеріальною гіпертензією та в осіб із нормальним АТ у групі хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом дозволило отримати дані, наведені у таблиці 3.2.19.

Серед хворих на ІАТІ співвідношення генотипів Lys/Lys, Lys/Asn та Asn/Asn у осіб із нормальним артеріальним тиском становило 61,9; 23,8 і 14,3 %, а у осіб з АГ – 43,8; 44,5 і 11,7 % відповідно і було близьким до достовірного ($\chi^2 = 5,775$; $P = 0,056$) [179]. Стосовно С+70G-поліморфізму, то розподіл генотипів серед осіб із нормальним артеріальним тиском та осіб з підвищеним

АТ показав відсутність статистично значущих відмінностей ($\chi^2 = 0,482$; $P = 0,786$) [180].

Таблиця 3.2.19 – Частота генотипів за Lys198Asn-поліморфізмом гена EDN1 та C+70G-поліморфізмом гена EDNRA у хворих з ІАТІ з різними показниками артеріального тиску

Lys198Asn-поліморфізм		
<i>Генотип</i>	<i>НАТ</i>	<i>АГ</i>
Lys/Lys	26 (61,9 %)	56 (43,8 %)
Lys/Asn	10 (23,8 %)	57 (44,5 %)
Asn/Asn	6 (14,3 %)	15 (11,7 %)
Разом	42 (100 %)	128 (100 %)
χ^2	5,775	
P	0,056	
C+70G-поліморфізм		
<i>Генотип</i>	<i>НАТ</i>	<i>АГ</i>
C/C	9 (21,4 %)	32 (25,0 %)
C/G	24 (57,1 %)	74 (57,8 %)
G/G	9 (21,4 %)	22 (17,2 %)
Разом	42 (100 %)	128 (100 %)
χ^2	0,482	
P	0,786	

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

За даними логістичної регресії (табл. 3.2.20), виявлено збільшення ризику розвитку ІАТІ у пацієнтів з артеріальною гіпертензією, які є носіями Lys198Asn-поліморфного варіанта гена *EDN1*. Для носіїв гетерозиготного Lys/Asn-генотипу ризик виникнення інсульту збільшений майже вдвічі ($P = 0,034$; $OR = 1,951$), а у гомозигот за мінорним алелем (Asn/Asn) ризик збільшується в 4,1 раза ($P = 0,033$; $OR = 4,107$) порівняно з гомозиготами за основним алелем [181].

Таблиця 3.2.20 – Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за Lys198Asn-поліморфізмом гена EDN1 у осіб з артеріальною гіпертензією

Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95 % CI для OR
Lys/Asn	0,668	0,314	4,520	0,034	1,951	1,054–3,612
Asn/Asn	1,413	0,663	4,540	0,033	4,107	1,120–15,063

Примітка: CR – коефіцієнт регресії; SE – стандартна похибка; WS – статистика Вальда; P – статистична значущість; OR – відношення ризику; CI – довірчий інтервал; порівняння проводиться відносно Lys/Lys-генотипу

Аналіз за фактом куріння. Порівняння частоти різних генотипів за Lys198Asn- і C+70G-поліморфними локусами генів EDN1 та EDNRA серед курців та осіб, що не курять, у групі контролю і у групі хворих з ІАТІ продемонстровано в таблиці 3.2.21.

Таблиця 3.2.21 – Асоціація Lys198Asn- і C+70G-алельних варіантів генів EDN1 та EDNRA з ішемічним атеротромботичним інсультом у курців і осіб, що не курять

Lys198Asn-поліморфізм				
Генотип	Куріння (-)		Куріння (+)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
Lys/Lys	56 (60,2%)	58 (48,3%)	23 (74,2%)	24 (48,0%)
Lys/Asn	33 (35,5%)	48 (40,0%)	7 (22,6%)	19 (38,0%)
Asn/Asn	4 (4,3%)	14 (11,7%)	1 (3,2%)	7 (14,0%)
Разом	93 (100%)	120 (100%)	31 (100%)	50 (100%)
χ^2	5,027		5,929	
P	0,081		0,052	
C+70G-поліморфізм				
Генотип	Куріння (-)		Куріння (+)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
C/C	28 (30,1 %)	32 (26,7 %)	8 (25,8 %)	9 (18,0 %)
C/G	45 (48,4 %)	66 (55,0 %)	17 (54,8 %)	32 (64,0 %)
G/G	20 (21,5 %)	22 (18,3 %)	6 (19,4 %)	9 (18,0 %)
Разом	93 (100 %)	120 (100 %)	31 (100 %)	150 (100 %)
χ^2	0,927		0,840	
P	0,629		0,657	

Примітка. Див. табл. 3.2.19

Різниця у розподілі генотипів за Lys198Asn-поліморфізмом між групами порівняння серед осіб, які не курять, виявлено не було ($\chi^2 = 5,027$; $P = 0,081$). Серед курців співвідношення гомозигот за основним алелем (Lys/Lys), гетерозигот (Lys/Asn) і гомозигот за мінорним алелем (Asn/Asn) у групі контролю становило 74,2; 22,6 і 3,2 %, а у хворих з ІАТІ – 48,0; 38,0 і 14,0 % відповідно ($\chi^2 = 5,929$; $P = 0,052$). Таким чином, у курців було виявлено близьку до рівня статистичної значущості відмінність між пацієнтами з ІАТІ та особами контрольної групи [182].

Частота різних варіантів C+70G-поліморфізму у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом та пацієнтів контрольної групи істотно не відрізнялась як серед курців ($\chi^2 = 0,840$; $P = 0,657$), так і серед осіб, що не курять ($\chi^2 = 0,927$; $P = 0,629$).

У таблиці 3.2.22 представлено порівняльні дані про співвідношення генотипів за Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмами генів *EDN1* та *EDNRA* у курців та осіб, що не курять у контрольній групі і групі хворих з ІАТІ.

Розподіл трьох можливих алельних варіантів гена ендотеліну-1 не відрізнявся ні в представників контрольної групи ($\chi^2 = 1,980$; $P = 0,372$), ні серед хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом ($\chi^2 = 0,192$; $P = 0,908$) [183].

Серед представників контрольної групи розподіл генотипів за C+70G-поліморфізмом гена *EDNRA* у курців та у осіб, що не курять, не був статистично значущим. Показник P , визначений за χ^2 -критерієм Пірсона, дорівнював 0,822. У хворих на ІАТІ було виявлено подібну тенденцію, яка проявлялась у відсутності достовірного зв'язку між розподілом генотипів у курців та осіб, що не курять ($\chi^2 = 1,597$; $P = 0,450$).

Вивчення розподілу частот осіб, які не курять, і курців у досліджуваних групах окремо за Lys198Asn- і C+70G-генотипами дозволило отримати наступні результати (табл. 3.2.23).

Частота осіб, які не курять, і курців у контрольній групі та у групі хворих з ІАТІ достовірно не відрізнялась у представників різних генотипів за Lys198Asn-поліморфним варіантом гена ендотеліну-1.

Таблиця 3.2.22 – Частота генотипів за Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмами генів EDN1 та EDNRA у курців і тих, що не курять серед хворих з ІАТІ і осіб контрольної групи

Lys198Asn-поліморфізм				
<i>Генотип</i>	<i>Контроль</i>		<i>ІАТІ</i>	
	<i>Куріння (-)</i>	<i>Куріння (+)</i>	<i>Куріння (-)</i>	<i>Куріння (+)</i>
Lys/Lys	56 (60,2 %)	23 (74,2 %)	58 (48,3 %)	24 (48,0 %)
Lys/Asn	33 (35,5 %)	7 (22,6 %)	48 (40,0 %)	19 (38,0 %)
Asn/Asn	4 (4,3 %)	1 (3,2 %)	14 (11,7 %)	7 (14,0 %)
Разом	93 (100 %)	31 (100 %)	120 (100 %)	50 (100 %)
χ^2	1,980		0,192	
P	0,372		0,908	
C+70G-поліморфізм				
<i>Генотип</i>	<i>Контроль</i>		<i>ІАТІ</i>	
	<i>Куріння (-)</i>	<i>Куріння (+)</i>	<i>Куріння (-)</i>	<i>Куріння (+)</i>
C/C	28 (30,1 %)	8 (25,8 %)	32 (26,7 %)	9 (18,0 %)
C/G	45 (48,4 %)	17 (54,8 %)	66 (55,0 %)	32 (64,0 %)
G/G	20 (21,5 %)	6 (19,4 %)	22 (18,3 %)	9 (18,0 %)
Разом	93 (100 %)	31 (100 %)	120 (100 %)	50 (100 %)
χ^2	0,393		1,597	
P	0,822		0,450	

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

Стосовно C+70G-поліморфізму гена EDNRA, то достовірної різниці між курцями і особами, що не курять, у досліджуваних групах не було виявлено серед носіїв жодних з можливих генотипів (C/C-генотип – $\chi^2 = 0,001$; P = 0,596; C/G- генотип – $\chi^2 = 0,490$; P = 0,302; G/G-генотип – $\chi^2 = 0,259$; P = 0,420).

Таблиця 3.2.23 – Частота осіб, які не курять, і курців серед хворих з ІАТІ та осіб контрольної групи залежно від варіантів генотипу за Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмами генів EDN1 та EDNRA

Lys198Asn-поліморфізм			
<i>Генотип</i>	<i>Показник</i>	<i>Контроль</i>	<i>ІАТІ</i>
Lys/Lys	<i>Куріння (-)</i>	56 (70,9 %)	58 (70,7 %)
	<i>Куріння (+)</i>	23 (29,1 %)	24 (29,3 %)
	Разом	79 (100 %)	82 (100 %)
$\chi^2 = 0,001; P = 0,560$			
Lys/Asn	<i>Куріння (-)</i>	33 (82,5 %)	48 (71,6 %)
	<i>Куріння (+)</i>	7 (17,5 %)	19 (28,4 %)
	Разом	40 (100 %)	67 (100 %)
$\chi^2 = 1,605; P = 0,150$			
Asn/Asn	<i>Куріння (-)</i>	4 (80,0 %)	14 (66,7 %)
	<i>Куріння (+)</i>	1 (20,0 %)	7 (33,3 %)
	Разом	5 (100 %)	21 (100 %)
$\chi^2 = 0,337; P = 0,502$			
C+70G-поліморфізм			
<i>Генотип</i>	<i>Показник</i>	<i>Контроль</i>	<i>ІАТІ</i>
C/C	<i>Куріння (-)</i>	28 (77,8 %)	32 (78,0 %)
	<i>Куріння (+)</i>	8 (22,2 %)	9 (22,0 %)
	Разом	36 (100 %)	41 (100 %)
$\chi^2 = 0,001; P = 0,596$			
C/G	<i>Куріння (-)</i>	45 (72,6 %)	66 (67,3 %)
	<i>Куріння (+)</i>	17 (27,4 %)	32 (32,7 %)
	Разом	62 (100 %)	98 (100 %)
$\chi^2 = 0,490; P = 0,302$			
G/G	<i>Куріння (-)</i>	20 (76,9 %)	22 (71,0 %)
	<i>Куріння (+)</i>	6 (23,1 %)	9 (29,0 %)
	Разом	26 (100 %)	31 (100 %)
$\chi^2 = 0,259; P = 0,420$			

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

Проте регресійний аналіз продемонстрував збільшення ризику розвитку ІАТІ серед осіб, що не курять і є носіями Lys198Asn-поліморфного варіанта гена ендотеліну-1 (табл. 3.2.24).

Таблиця 3.2.24 – Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за Lys198Asn-поліморфізмом гена EDN1 у курців і осіб, що не курять

	Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95 % CI для OR
Куріння (-)	Lys/Asn	0,340	0,294	1,337	0,247	1,404	0,790–2,497
	Asn/Asn	1,218	0,597	4,159	0,041	3,379	1,049–10,891
Куріння (+)	Lys/Asn	0,956	0,530	3,256	0,071	2,601	0,921–7,347
	Asn/Asn	1,903	1,108	2,950	0,086	6,708	0,764–58,868

Примітка: CR – коефіцієнт регресії; SE – стандартна похибка; WS – статистика Вальда; P – статистична значущість; OR – відношення ризику; CI – довірчий інтервал; порівняння проводиться відносно Lys/Lys-генотипу

У носіїв Asn/Asn-генотипу, які не курять, виявлено підвищення ризику виникнення ІАТІ у 3,4 раза (P = 0,041; OR = 3,379). Проте у курців ризик розвитку інсульту був статистично не достовірним [184]. Це свідчить про те, що куріння є вагомим фактором ризику цереброваскулярної патології, який реалізується незалежно від генотипу пацієнтів за Lys198Asn-поліморфізмом.

3.3. Вплив Lys198Asn- і C+70G-алельних поліморфізмів генів EDN1 та EDNRA на основні характеристики ішемічного атеротромботичного інсульту

Враховуючи те, що вплив генетичного фактора, а саме одонуклеотидних поліморфізмів генів ендотеліну-1 та рецептора до ендотеліну типу А, може здійснювати вагомий вплив на виникнення ішемічного атеротромботичного інсульту, дослідження їх впливу на основні характеристики інсульту має велике значення.

Розвиток ІАТІ може бути пов'язаний з ураженнями: 1) передньої, середніх і задньої мозкової артерії; 2) вертебральних і базилярної артерій, а також

3) поєднані варіанти, коли уражаються кілька артерій із вище наведених двох груп. Отримані результати свідчать, що немає залежності між генотипом пацієнтів за поліморфізмами, що вивчалися, з одного боку, і ділянками артеріального басейну, атеротромботичні зміни яких призводять до ІАТІ, – з іншого (табл. 3.3.1). Дана закономірність зберігається й після урахування статевих відмінностей (додаток 1) та факту куріння (додаток 2).

Таблиця 3.3.1 – Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфних варіантів генів EDN1 і EDNRA на розвиток варіантів ІАТІ за артеріальним басейном, що зазнає уражень

Lys198Asn-поліморфізм			
<i>Генотип</i>	<i>Передня, середня, задня мозкові артерії</i>	<i>Вертебральні та базилярна артерії</i>	<i>Поєднані варіанти</i>
Lys/Lys	65 (49,2 %)	10 (41,7 %)	7 (50,0 %)
Lys/Asn	53 (40,2 %)	10 (41,7 %)	4 (28,6 %)
Asn/Asn	14 (10,6 %)	4 (16,7 %)	3 (21,4 %)
<i>Разом</i>	132 (100 %)	24 (100 %)	14 (100 %)
$\chi^2 = 2,339; P = 0,674$			
C+70G-поліморфізм			
<i>Генотип</i>	<i>Передня, середня, задня мозкові артерії</i>	<i>Вертебральні та базилярна артерії</i>	<i>Поєднані варіанти</i>
C/C	30 (22,7 %)	10 (41,7 %)	1 (7,1 %)
C/G	77 (58,3 %)	10 (41,7 %)	11 (78,6 %)
G/G	25 (18,9 %)	4 (16,7 %)	2 (14,3 %)
<i>Разом</i>	132 (100 %)	24 (100 %)	14 (100 %)
$\chi^2 = 7,168; P = 0,127$			

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

Дещо відмінні результати такої залежності вдалося виявити при розподілі хворих з ІАТІ на підгрупи залежно від ІМТ (додаток 3). У осіб з ІМТ < 25 кг/м² співвідношення гомозигот за основним алелем (Lys/Lys), гетерозигот (Lys/Asn) і гомозигот за мінорним алелем (Asn/Asn) з ураженням передньої, середньої, задньої мозкових артерій становило 46,9; 46,9 і 6,3 %, з ураженням

вертебральних та базилярної артерій 40,0; 60,0 і 0 %, а у пацієнтів з поєднаним варіантом – 25,0; 0 і 75,0 % відповідно. Отже, виявлено статистично значущу асоціацію Lys198Asn-поліморфізму з артеріальним басейном ІАТІ в осіб з ІМТ < 25 кг/м² ($\chi^2 = 16,998$; P = 0,002). У осіб з ІМТ \geq 25 кг/м² частота алельних варіантів за даним поліморфним варіантом не була статистично значущою ($\chi^2 = 2,853$; P = 0,583). Щодо поліморфізму гена *EDNRA* достовірних відмінностей не отримано як серед осіб з ІМТ < 25 кг/м² ($\chi^2 = 6,179$; P = 0,186), так і серед осіб з ІМТ \geq 25 кг/м² ($\chi^2 = 4,528$; P = 0,339).

Вплив артеріальної гіпертензії на асоціацію Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів *EDN1* і *EDNRA* з артеріальним басейном, що зазнає уражень, представлені в додатку 4. Аналізуючи отримані дані для поліморфного сайту гена *EDN1* можна зробити висновок, що АГ не впливає на цю асоціацію. Співвідношення гомозигот за основним алелем, гетерозигот і гомозигот за мінорним алелем C+70G-поліморфізму гена *EDNRA* у осіб без АГ з ураженням передньої, середньої і задньої мозкових артерій становило відповідно 13,8; 65,5; 20,7 %, вертебральних та базилярної артерій – 50,0; 12,5; 37,5 % та поєднаних варіантів – 20,0; 80,0; 0 % ($\chi^2 = 9,488$; P = 0,050). Таким чином, виявлено достовірні відмінності у розподілі генотипів за C+70G-поліморфним сайтом з артеріальним басейном, що зазнає уражень, у осіб з нормальним артеріальним тиском. У пацієнтів з артеріальною гіпертензією даний розподіл достовірних результатів не дав ($\chi^2 = 5,261$; P = 0,262).

За тяжкістю клінічного перебігу виділяють ІАТІ: легкого, середньої тяжкості і тяжкого ступенів. Проведений аналіз засвідчив відсутність асоціації досліджуваних одонуклеотидних поліморфізмів з тяжкістю перебігу ІАТІ (табл. 3.3.2). Її також не було виявлено з урахуванням такого фактора ризику як стать (додаток 5).

У додатку 6 наведено залежність між розподілом варіантів генотипу і тяжкістю клінічного перебігу ІАТІ у підгрупах хворих, утворених на підставі ІМТ. Розподіл генотипів за Lys198Asn-поліморфізмом гена ендотеліну-1 істотно

не відрізнявся у осіб з різним ступенем тяжкості інсульту як з $IMT < 25 \text{ кг/м}^2$ ($\chi^2 = 3,392$; $P = 0,495$), так і з $IMT \geq 25 \text{ кг/м}^2$ ($\chi^2 = 5,091$; $P = 0,278$).

Таблиця 3.3.2 – Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфних варіантів генів EDN1 і EDNRA на тяжкість клінічного перебігу ІАТІ

Lys198Asn-поліморфізм			
<i>Генотип</i>	<i>Легкий</i>	<i>Середньої тяжкості</i>	<i>Тяжкий</i>
Lys/Lys	33 (60,0 %)	31 (47,0 %)	18 (36,7 %)
Lys/Asn	15 (27,3 %)	29 (43,9 %)	23 (45,6 %)
Asn/Asn	7 (12,7 %)	6 (9,1 %)	8 (16,3 %)
<i>Разом</i>	55 (100 %)	66 (100 %)	49 (100 %)
$\chi^2 = 7,249$; $P = 0,123$			
C+70G-поліморфізм			
<i>Генотип</i>	<i>Легкий</i>	<i>Середньої тяжкості</i>	<i>Тяжкий</i>
C/C	17 (30,9 %)	10 (15,2 %)	14 (28,6 %)
C/G	32 (58,2 %)	43 (65,2 %)	23 (46,9 %)
G/G	6 (10,9 %)	13 (19,7 %)	12 (24,5 %)
<i>Разом</i>	55 (100 %)	66 (100 %)	49 (100 %)
$\chi^2 = 8,024$; $P = 0,091$			

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

У осіб з $IMT \geq 25 \text{ кг/м}^2$ співвідношення гомозигот за основним алелем (C/C), гетерозигот (C/G) і гомозигот за «патологічним» (G/G) алелем C+70G-поліморфізму гена *EDNRA* залежно від ступеня тяжкості перебігу становило відповідно: легкий ступінь – 40,5; 52,4; 7,1 %; середньої тяжкості – 14,0; 64,0; 22,0 %; тяжкий ступінь – 35,1; 43,2; 21,6 % ($\chi^2 = 11,650$; $P = 0,020$). Таким чином, встановлено статистично значущу відмінність у розподілі генотипів за поліморфізмом гена *EDNRA* залежно від тяжкості клінічного перебігу ІАТІ у осіб з підвищеним ІМТ. У пацієнтів з $IMT < 25 \text{ кг/м}^2$ відмінність у розподілі генотипів була статистично не достовірною ($\chi^2 = 4,303$; $P = 0,367$).

Урахування артеріальної гіпертензії, як вагомого фактора ризику ІАТІ при дослідженні впливу Lys198Asn- і C+70G-поліморфних варіантів генів *EDN1* і *EDNRA* на тяжкість клінічного перебігу мозкового інсульту дозволило отримати наступні результати (додаток 7). У осіб з нормальним артеріальним тиском зв'язок між Lys198Asn-поліморфним варіантом і ступенем тяжкості ІАТІ відсутній ($\chi^2 = 3,577$; $P = 0,466$). Серед осіб з АГ, які перенесли ІАТІ різного ступеня тяжкості, розподіл генотипів мав такий вигляд: легкий – Lys/Lys – 58,5 %, Lys/Asn – 31,7 % і Asn/Asn – 9,8 %; середньої тяжкості – 44,0; 50,0 і 6,0 %; тяжкий – 27,0; 51,4 і 21,6 % відповідно ($\chi^2 = 11,278$; $P = 0,024$). Таким чином у гомозигот за мінорним алелем з артеріальною гіпертензією тяжкий перебіг ІАТІ зустрічався частіше, ніж легкий чи середньої тяжкості.

Вивчення асоціації C+70G-поліморфізму гена *EDNRA* зі ступенем тяжкості перебігу ІАТІ не дало статистично достовірних результатів як у осіб з нормальним артеріальним тиском ($\chi^2 = 5,493$; $P = 0,240$), так і у пацієнтів з АГ ($\chi^2 = 7,230$; $P = 0,124$).

Також не виявлено зв'язку між C+70G-поліморфізмом та тяжкістю клінічного перебігу ІАТІ у курців ($\chi^2 = 2,637$; $P = 0,620$) та осіб, що не курять ($\chi^2 = 7,930$; $P = 0,094$) (додаток 8). Стосовно Lys198Asn-алельного варіанта гена *EDN1*, то виявлено деякі відмінності. Серед тих, що не мають звички курити, співвідношення генотипів (Lys/Lys, Lys/Asn, Asn/Asn) з легким клінічним перебігом становило відповідно 65,9; 24,4; 9,8 %, середньої тяжкості – 46,8; 44,7; 8,5 % та з тяжким – 28,1; 53,1; 18,8 % ($\chi^2 = 11,369$; $P = 0,023$). Отже, виявлено достовірну асоціацію поліморфізму гена ендотеліну-1 з ступенем тяжкості ІАТІ у осіб, що не курять. Проте у курців результати даної асоціації не були достовірними ($\chi^2 = 1,078$; $P = 0,898$). Це свідчить про те, що куріння є настільки вагомим фактором ризику, при якому вплив генетичних факторів на тяжкість клінічного перебігу ІАТІ не є суттєвим і може маскувати залежність між досліджуваним поліморфізмом та інсультом.

Як випливає з результатів досліджень, представлених у таблиці 3.3.3, ні Lys198Asn-поліморфізм гена *EDN1*, ні C+70G-поліморфізм гена *EDNRA* не

впливає на частоту повторних випадків ішемічного атеротромботичного інсульту [185].

Таблиця 3.3.3 – Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфних варіантів генів EDN1 і EDNRA на частоту повторних випадків ІАТІ

Lys198Asn-поліморфізм		
<i>Генотип</i>	<i>Первинний</i>	<i>Повторний</i>
Lys/Lys	48 (45,7 %)	34 (52,3 %)
Lys/Asn	44 (41,9 %)	23 (35,4 %)
Asn/Asn	13 (12,4 %)	8 (12,3 %)
<i>Разом</i>	105 (100 %)	65 (100 %)
$\chi^2 = 0,795; P = 0,672$		
C+70G-поліморфізм		
<i>Генотип</i>	<i>Первинний</i>	<i>Повторний</i>
C/C	31 (29,5 %)	10 (15,4 %)
C/G	55 (52,4 %)	43 (66,2 %)
G/G	19 (18,1 %)	12 (18,5 %)
<i>Разом</i>	105 (100 %)	65 (100 %)
$\chi^2 = 4,652; P = 0,098$		

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

Наявність у хворих таких вагомих факторів ризику як стать (додаток 9), ІМТ (додаток 10), артеріальна гіпертензія (додаток 11) та куріння (додаток 12) на повторюваність інсульту не впливали.

Також було досліджено асоціацію генотипів хворих за Lys198Asn і C+70G поліморфізмами генів *EDN1* і *EDNRA* з неврологічними проявами ІАТІ. За результатами проведеного аналізу виявлено відсутність залежності характеристики неврологічної картини ІАТІ від даних поліморфних сайтів (табл. 3.3.4).

Таблиця 3.3.4 – Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфних варіантів генів EDN1 і EDNRA на розвиток варіантів ІАТІ за клінічними проявами

Lys198Asn-поліморфізм			
<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення</i>	<i>Сенсорні порушення</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення</i>
Lys/Lys	2 (50,0 %)	9 (32,1 %)	71 (51,4 %)
Lys/Asn	2 (50,0 %)	16 (57,1 %)	49 (35,5 %)
Asn/Asn	0	3 (10,7 %)	18 (13,0%)
<i>Разом</i>	4 (100 %)	28 (100 %)	138 (100 %)
$\chi^2 = 5,291; P = 0,259$			
C+70G-поліморфізм			
<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення</i>	<i>Сенсорні порушення</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення</i>
C/C	1 (25,0 %)	9 (32,1 %)	31 (22,5 %)
C/G	1 (25,0 %)	14 (50,0 %)	83 (60,1 %)
G/G	2 (50,0 %)	5 (17,9 %)	24 (17,4 %)
<i>Разом</i>	4 (100 %)	28 (100 %)	138 (100 %)
$\chi^2 = 4,348; P = 0,361$			

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

У свою чергу, урахування статевих особливостей (додаток 13), величини ІМТ (додаток 14), наявності підвищеного артеріального тиску (додаток 15) та факту куріння (додаток 16) істотних змін не внесло ($P > 0,05$).

Таким чином, Lys198Asn- і C+70G-поліморфні сайти генів *EDN1* та *EDNRA* впливають на характеристики ішемічного атеротромботичного інсульту. Виявлено асоціацію Lys198Asn-поліморфізму з артеріальним басейном, атеротромботичні зміни якого призводять до розвитку ІАТІ, у осіб з ІМТ < 25 кг/м². Також даний поліморфізм гена *EDN1* впливає на ступінь тяжкості ІАТІ у осіб з артеріальною гіпертензією та у осіб, що не курять. Щодо C+70G-поліморфізму, встановлено асоціацію з артеріальним басейном, що зазнає уражень у осіб з нормальним артеріальним тиском. Крім того, алельний варіант гена *EDNRA* впливає на тяжкість клінічного перебігу ІАТІ у осіб з ІМТ ≥ 25 кг/м².

3.4. Поєднаний вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів *EDN1* та *EDNRA* на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту

На рисунку 3.4.1 відображена комбінація генотипів за Lys198Asn- і C+70G-локусами досліджуваних генів системи ендотеліну. Наведена класифікаційна модель мала прогностичну здатність 59 % на навчальній (Training Balanced Accuracy) і 59 % – на тестованій вибірці (Testing Balanced Accuracy) з крос-перевірною здатністю 10/10 (Crossvalidation Consistency). Чутливість зазначеної моделі становила 40 %, а специфічність – 77 %. Виявлено, що співпадіння гомозиготи за мінорним алелем Lys198Asn поліморфізму та одного із трьох можливих генотипів за C+70G-сайтом асоціюється із високим ризиком розвитку ІАТІ. При цьому збіг гетерозигот за двома сайтами також призводить до значного збільшення ризику розвитку ішемічного інсульту.

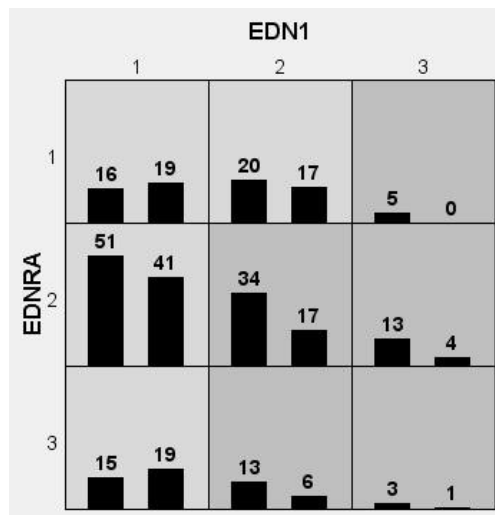


Рисунок 3.4.1 – Комбінації алельних варіантів за локусами Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмами генів *EDN1* та *EDNRA*, що пов'язані з високим та низьким значенням ризику настання ішемічного інсульту. Лівий стовпчик у межах кожної комірки відображає кількість випадків інсульту, правий – кількість контролю. Темно-сірі комірки відповідають високому ризику, а світло-сірі – низькому ризику розвитку ІАТІ

Також методом MDR встановлено, що найбільша частка ентропії щодо статусу «інсульт – контроль» була пов'язана з поліморфним сайтом гена *EDN1* і складала 2,53 %, тоді як C+70G-локус гена *EDNRA* обумовлював 0,42 % ентропії (рис. 3.4.2).



Рисунок 3.4.2 – Графік кластерного аналізу результатів моделювання взаємодії між локусами Lys198Asn гена *EDN1* та C+70G гена *EDNRA* при ІАТІ. Синім кольором позначений нейтралізуючий ефект

Разом із цим аналіз міжлокусних взаємодій виявив слабкий нейтралізуючий ефект між досліджуваними SNP генів ендотелінового шляху (-0,46 %). Результати застосування пермутаційних тестів не виявили статистичної значущості для вказаної двокомпонентної моделі ($P = 0,320$).

З метою більш детального дослідження поєднаного впливу вивчених у наведеній роботі поліморфних сайтів генів системи ендотеліну на розвиток ІАТІ нами був реалізований аналіз за допомогою методу MDR серед осіб різної статі. Було встановлено, що у жінок двокомпонентна модель мала Training Balanced Accuracy 63 %, а її прогностична здатність на тренуваній вибірці (Testing Balanced Accuracy) склала 60 % із крос-перевірною здатністю 10/10. Чутливість вказаної моделі становила 53 %, а специфічність – 67 %. На рисунку 3.4.3 показано, що у разі збігу гетерозиготного генотипу або гомозиготного за мінорним алелем генотипу за поліморфним сайтом гена *EDN1* із будь-яким алельним варіантом за вивченим локусом гена *EDNRA* ризик настання ІАТІ у жінок зростає.

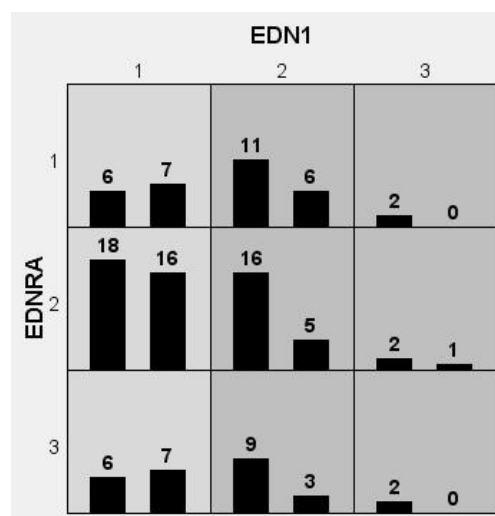


Рисунок 3.4.3 – Комбінації алельних варіантів за Lys198Asn- і C+70G-локусами генів *EDN1* та *EDNRA*, що пов'язані з високим та низьким значенням ризику настання ішемічного інсульту в осіб жіночої статі. Пояснення див. на рис. 3.4.1

Також було з'ясовано, що найбільший незалежний ефект стосовно статусу «випадок – контроль» в осіб жіночої статі був пов'язаний із Lys198Asn-поліморфізмом гена *EDN1* (4,74 %) (рис. 3.4.4). Картина результатів аналізу міжлокусних взаємодій була схожою до такої в загальній групі. Між двома досліджуваними SNP спостерігався слабкий нейтралізуючий ефект (-0,47 %). Після проведення рандомізованих тестів було встановлено, що зазначена двокомпонентна модель не перетинає межі статистичної значущості ($P = 0,515$).



Рисунок 3.4.4 – Графік кластерного аналізу результатів моделювання взаємодії між Lys198Asn- і C+70G-локусами генів *EDN1* та *EDNRA* при ІАТІ у жінок. Синім кольором позначений нейтралізуючий ефект

Аналіз поєднаного впливу досліджуваних у роботі поліморфних варіантів генів ендотелінової системи на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту за допомогою методу MDR показав, що серед осіб чоловічої статі двокомпонентна модель мала меншу прогностичну силу порівняно із жінками та становила на тренуванні вибірці 49 %. Чутливість та специфічність такої моделі були низькими і склали 50 та 48 % відповідно. Варіанти комбінацій генотипів за сайтами Lys198Asn та C+70G, що асоційовані із високим та низьким ризиком розвитку ІАТІ, представлені на рисунку 3.4.5.

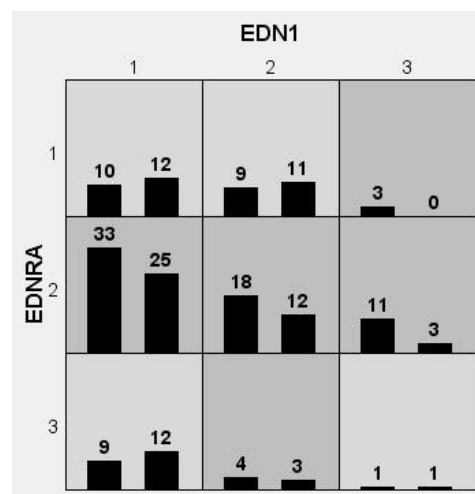


Рисунок 3.4.5 – Комбінації алельних варіантів за Lys198Asn- і C+70G-локусами генів *EDN1* та *EDNRA*, що пов'язані з високим та низьким значенням ризику настання ішемічного інсульту у осіб чоловічої статі. Пояснення див. на рис. 3.4.1

Також було виявлено, що найбільша частка ентропії припадала на поліморфний сайт Lys198Asn (2,15 %), тоді як відповідна доля C+70G-сайта склала 1,18 % (рис. 3.4.6). Поряд із цим показники нейтралізуючого ефекту були вищими, ніж у загальній групі та окремо в осіб жіночої статі, і становили -1,37 %. Статистична значущість цієї моделі у чоловіків за результатами пермутаційних тестів підтверджена не була ($P = 0,936$).

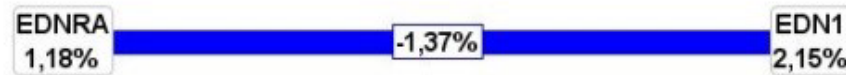


Рисунок 3.4.6 – Графік кластерного аналізу результатів моделювання взаємодії між Lys198Asn- і C+70G-локусами генів *EDN1* та *EDNRA* при ІАТІ у чоловіків. Синім кольором позначений нейтралізуючий ефект

Зважаючи на те, що ІАТІ є мультифакторіальною патологією, останнім етапом даної роботи став аналіз поєднаного впливу як генетичної варіабельності, так й інших незалежних факторів ризику атеросклерозу на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту. У таблиці 3.4.1 наведені результати застосування мультиваріабельної логістичної регресії для аналізу впливу Lys198Asn- і C+70G-поліморфних варіантів на розвиток ішемічного інсульту в умовах поправки на інші коваріанти, що характеризують дані про стать, вік, ІМТ пацієнтів, наявність або відсутність в них АГ та звички курити. У рамках домінантної моделі встановлено, що ризик настання ІАТІ у носіїв мінорного алеля за Lys198Asn-локусом гена *EDN1* (генотипи Lys/Asn і Asn/Asn) був у 2,2 раза ($P_{\text{попр}} = 0,009$; $OR_{\text{попр}} = 2,194$) вищий, ніж у гомозигот за основним алелем (генотип Lys/Lys). Також було з'ясовано, що після поправки на коваріати ризик розвитку інфаркту головного мозку у гомозигот за Asn-алелем за досліджуваним поліморфним сайтом гена *EDN1* був у 6,7 раза вищий ($P_{\text{попр}} = 0,002$; $OR_{\text{попр}} = 6,779$), ніж у носіїв основного Lys-алеля. Ці дані були підтверджені і результатами аналізу в рамках адитивної моделі успадкування, де показано, що ризик настання ІАТІ у носіїв Asn/Asn-генотипу був у 8,1 раза ($P_{\text{попр}} = 0,001$; $OR_{\text{попр}} = 8,059$) вищий, ніж у гомозигот Lys/Lys.

Таблиця 3.4.1 – Аналіз впливу поліморфних варіантів Lys198Asn та C+70G генів *EDN1* та *EDNRA* на розвитком ІАТІ з урахуванням інших факторів ризику атеросклерозу в рамках чотирьох моделей успадкування

Ген	SNP	Модель	P _{попр}	OR _{попр} (95 % CI)
<i>EDN1</i>	Lys198Asn	Домінантна	0,009	2,194 (1,214–3,964)
		Рецесивна	0,002	6,779 (1,976–23,256)
		Наддомінантна	0,433	1,276 (0,694–2,347)
		Адитивна ^a	0,131	1,628 (0,865–3,065)
			0,001	8,059 (2,295–28,302)
<i>EDNRA</i>	C+70G	Домінантна	0,273	1,431 (0,754–2,717)
		Рецесивна	0,702	1,148 (0,567–2,738)
		Наддомінантна	0,506	1,213 (0,687–2,141)
		Адитивна	0,304	1,424 (0,726–2,792)
			0,383	1,450 (0,629–3,343)

Примітка: SNP – однонуклеотидний поліморфізм; 95 % CI – 95 % довірчий інтервал; P_{попр} – значення P після поправки на вік, стать, звичку палити, ІМТ та АГ; OR_{попр} – відношення шансів після поправки на коваріати.

^a Верхній рядок в адитивній моделі містить результати порівняння між Аа- та АА-генотипами, нижній рядок – між аа- та АА-генотипами

Щодо поліморфного локусу C+70G гена *EDNRA*, то статистично значущого зв'язку його генотипів із розвитком ішемічного інсульту після поправки на інші фактори ризику атеросклерозу виявлено не було в рамках жодної моделі успадкування ($P > 0,05$). Слід зауважити, що достовірний зв'язок Lys198Asn-сайта гена *EDN1* із підвищеним ризиком настання ІАТІ в рамках домінантної, рецесивної та адитивної моделей успадкування був виявлений як до (табл. 3.1.2.), так і після поправки на інші фактори ризику атеросклерозу, що свідчить про те, що цей локус може бути самостійним незалежним фактором ризику ішемічного інсульту та його генетичним маркером.

Після цього був реалізований аналіз поєднаного впливу як поліморфних сайтів генів *EDN1* та *EDNRA*, так і інших факторів ризику атеросклерозу на розвиток інфаркту головного мозку за допомогою методу MDR.

Серед усіх можливих моделей найбільшу прогностичну здатність на тестованій вибірці мала двокомпонентна, що включала поліморфний локус Lys198Asn гена *EDN1* та артеріальну гіпертензію (Testing Balanced Accuracy – 62 %, Crossvalidation Consistency – 10/10, чутливість – 56 %, специфічність – 77 %) (рис. 3.4.7).

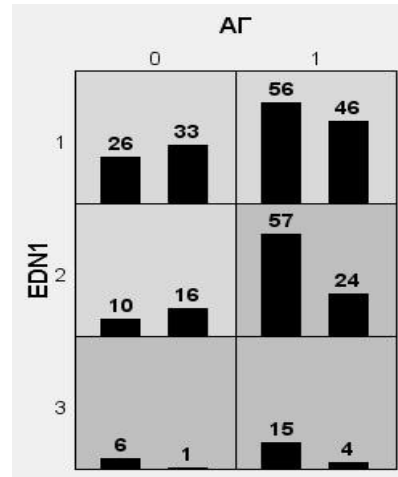


Рисунок 3.4.7 – Комбінації генотипів за Lys198Asn-сайтом гена *EDN1* та артеріальної гіпертензії, що пов'язані з високим та низьким ризиком настання ІАГ. Пояснення див. на рис. 3.4.1

Комбінація носійства мінорного алеля за Lys198Asn-сайтом гена *EDN1* та артеріальної гіпертензії є предиктором підвищеного ризику настання ІАГ. Результати пермутаційних тестів продемонстрували, що вказана модель досягає рівня статистичної значущості ($P = 0,043$).

Кластерний аналіз показав, що найбільша частка ентропії серед усіх факторів належала поліморфному локусу Lys198Asn (2,53 %) та артеріальній гіпертензії (1,98 %) (рис. 3.4.8).

Картина міжфакторної взаємодії характеризувалася слабкою синергією статі із Lys198Asn-сайтом (0,38 %), С+70G-локусом (0,28 %) та АГ (0,37 %). При цьому між двома досліджуваними поліморфізмами (-0,46 %) та окремо між кожним з них і АГ відзначався нейтралізуючий ефект (-0,56 % – для сайту Lys198Asn; -0,30 % – для локусу С+70G).

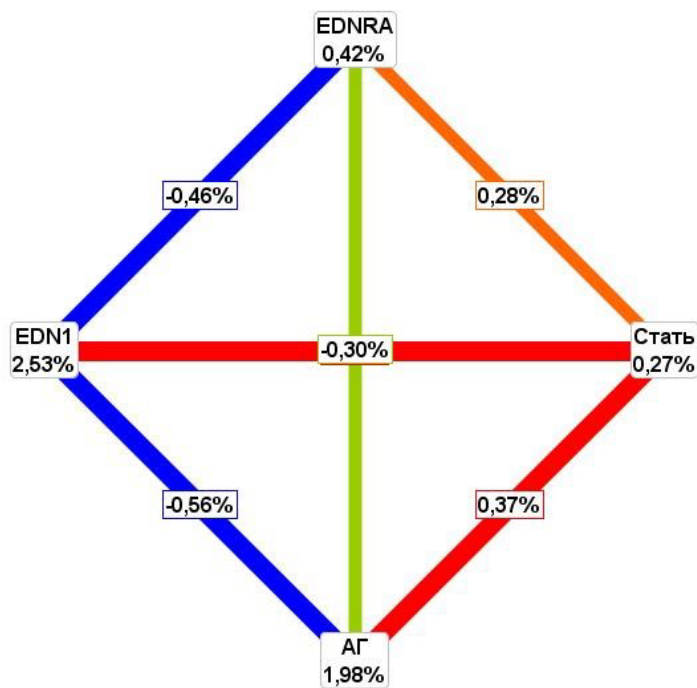


Рисунок 3.4.8 – Графік кластерного аналізу результатів моделювання міжфакторної взаємодії методом MDR при ІАТІ. Червоним та оранжевим позначена синергічна взаємодія, синім та зеленим – нейтралізуючий ефект

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Ішемічний інсульт є однією із найпоширеніших форм цереброваскулярних порушень та займає лідируючі позиції у захворюваності і смертності населення усього світу, тому становить важливу медико-соціальну проблему.

Доведено, що одну з ключових ролей у механізмах розвитку ішемічного інсульту відіграє дисфункція ендотелію, тому це питання останнім часом набуло великого значення, активно досліджується вченими усього світу, а його актуальність з роками не вщухає [50, 51, 54]. Ендотеліальна дисфункція визначається як дисбаланс у системі продукції та функціонування численних судинних чинників, які призводять до порушень гомеостазу судинної стінки [23, 26, 88, 97]. Провокуючи тромбоз чи ангіоспазм, ЕД може бути первинною причиною порушень кровообігу. З іншого боку, такі регіональні порушення кровообігу, як ішемія, можуть викликати розвиток ЕД [50, 51].

Важливим регулятором метаболізму судинної стінки є ендотелін-1 [87]. Взаємодіючи зі специфічними ендотеліновими рецепторами типу А EDN1 реалізує свій потужний судинозвужувальний ефект, також сприяє проліферації клітин, адгезії, фіброзу, стимуляції утворення вільних радикалів і тромбозу, що свідчить не лише про вплив на кров'яний тиск, а й про ключову роль у прогресуванні ендотеліальних порушень [37, 149, 42, 131, 186].

Функціонування білка залежить від структурних особливостей гена, що його кодує. Враховуючи це, важливого значення в останні роки набуло дослідження впливу однонуклеотидних поліморфізмів на функціональну активність білків.

Метою проведеного дослідження стало вивчення асоціації Lys198Asn- і C+70G-алельних поліморфізмів генів *EDN1* та *EDNRA* з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту у пацієнтів із різними факторами його ризику.

Враховуючи те, що розподіл генотипів має расові та популяційні особливості, першим етапом аналізу було вивчення співвідношення поліморфних варіантів генів *EDN1* та *EDNRA* серед осіб групи контролю.

Для Lys198Asn-поліморфізму гена *EDN1* розподіл гомозигот за основним алелем (Lys/Lys), гетерозигот (Lys/Asn) і гомозигот за мінорним алелем (Asn/Asn) серед осіб контрольної групи становив 63,7; 32,3 і 4,0 % відповідно. Частота основного (Lys) алеля становила 0,8, а мінорного (Asn) – 0,2. Г. О. Палагнюк та співавт., досліджуючи розподіл генотипів за даним поліморфізмом у жителів Подільського регіону України, з'ясували, що частота мінорного алеля серед обстежених осіб дорівнювала 0,202 [187], що збігається з нашими даними. Подібні результати було отримано в працях інших вчених для різних популяцій. А. *Maver et al.* вивчали розподіл алельних варіантів гена *EDN1* за Lys198Asn-поліморфним сайтом серед населення Словенії [188]. Згідно з отриманими даними, співвідношення гомозигот за основним алелем (Lys/Lys), гетерозигот (Lys/Asn) і гомозигот за мінорним алелем (Asn/Asn) серед практично здорових осіб дорівнювало 62,1; 34,2 і 3,7 % відповідно. Частота мінорного алеля становила 0,21 та істотно не відрізнялася від групи контролю української популяції ($P > 0,05$). Вченими на чолі з *S. P. Gampfrieder* було досліджено частоту генотипів Lys/Lys, Lys/Asn і Asn/Asn в австрійській популяції, яка становила 63,8; 30,5 і 5,7 % [189]. Частота мінорного алеля дорівнювала 0,21 і також не мала статистичних відмінностей з українською популяцією. Такі ж результати було отримано *G. Okan et al.* для мешканців Туреччини, розподіл генотипів серед яких був таким: Lys/Lys – 61,2 %, Lys/Asn – 34,9 % і Asn/Asn – 3,9 %. Мінорний алель зустрічався з частотою 0,21 [190]. Визначення частоти мінорного алеля за Lys198Asn-поліморфізмом гена *EDN1* у німецькій популяції, за даними різних дослідників, становив 0,22 [191] і 0,23 [192], що співставляється з великим популяційним дослідженням ЕСТІМ (0,23) [193]. Стосовно інших європейських країн, то в Іспанії Asn-варіант має частоту 0,31 [194], в Греції – 0,237 [156], в Італії – 0,22 [195], в Нідерландах – 0,22 [197], в Угорщині – 0,23 [198], а в Чехії – 0,17 [199]. Схожі результати було отримано для жителів США:

частота мінорного алеля дорівнювала 0,24 [200]. За даними *G. Zhu et al.*, мінорний алель за Lys198Asn-поліморфним варіантом серед жителів Англії та Норвегії зустрічається з частотою 0,219 і 0,159 відповідно [201]. У дослідженнях *T. J. Thakur et al.* було виявлено частоту, з якою виявляється даний «мутантний» алель у практично здорових осіб Республіки Малі, що становить 0,17 [202]. Роботи, проведені в країнах Азії, продемонстрували дещо відмінні результати. У Китаї мінорний алель зустрічається з частотою 0,29 [203], у Японії – 0,31 [204], у Індії – 0,28 [160], Тайвані – 0,37 [205], Кореї – 0,276 [206].

Щодо C+70G-поліморфізму гена *EDNRA*, то завдяки проведеному генотипуванню осіб контрольної групи, нами встановлено співвідношення гомозигот за основним алелем (C/C), гетерозигот (C/G) і гомозигот за мінорним алелем (G/G), яке становило 29,0; 50,0 і 21,0 % відповідно. Частота, з якою зустрічався «патологічний» G-алель, становила 0,46, при цьому частота мажорного C-алеля склала 0,54. Подібне дослідження, виконане в Турції, дозволило виявити частоту генотипів C/C, C/G і G/G, яка становила 31,9; 45,4 і 22,7 % відповідно [207]. Мінорний алель має частоту 0,45, що істотно не відрізнялася від українських практично здорових осіб контрольної групи ($P > 0,05$). Розподіл генотипів за C+70G-поліморфним сайтом гена *EDNRA* вивчали також і серед населення Мехіко. *B. Buentello-Volante et al.* у своїй праці виявили, що гомозигот за основним алелем C/C, гетерозигот C/G та носіїв мінорного алеля G/G було 28,0; 46,0 і 26,0 % відповідно [208]. Даний розподіл не мав достовірних відмінностей від української популяції ($P > 0,05$). За результатами проведених досліджень встановлено, що серед населення Німеччини частота мінорного G-алеля становить 0,37 [209], Японії – 0,489 [210], Португалії – 0,57 [211]. Групою дослідників на чолі з *V. Havasi* було вивчено популяційно-специфічні відмінності алельного розподілу за C+70G-поліморфізмом і встановлено, що частота C-алеля в іспанців становить 0,43, а у жителів Туреччини – 0,52 [212]. Згідно з даними *X. Jin et al.* мінорним алелем у китайській популяції є G-алель, частота якого дорівнює 0,46, а основний C-алель зустрічається у цій популяції з частотою 0,54 [213]. Проте зовсім протилежні дані

було отримано *W. L. Ma et al.*: серед населення Китаю частота «дикого» С-алеля дорівнювала 0,43, а мінорного G – 0,57 [214]. Результати вивчення подібного розподілу, одержані *V. Martínez-Barquero et al.*, свідчать, що в Іспанії мінорним також є С-алель, частота якого становить 0,499 [215]. У жителів Нової Зеландії частота мінорного С-алеля дорівнювала 0,43 [149].

Таким чином, проаналізувавши дані про частоту алелів за однонуклеотидними поліморфізмами Lys198Asn і С+70G генів *EDN1* та *EDNRA* у практично здорових осіб Північно-Східного регіону України показано, що вони співставляються з такими у більшості європейських популяцій.

Lys198Asn-поліморфний варіант гена *EDN1* відіграє важливу роль у розвитку ендотеліальної дисфункції і залучений у патогенезі цілого ряду серцево-судинних [200, 216–218] і, зокрема, цереброваскулярних захворювань [219–221], а також схильності до легеневої гіпертензії [222, 223], бронхообструктивних станів [224–226], автоімунних [227–229] та онкологічних захворювань [214, 230].

Тому наступним етапом виконаної роботи було вивчення розподілу генотипів та алелів за поліморфними локусами генів ендотеліну-1 та рецептора до ендотеліну типу А у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом. Встановлено, що співвідношення гомозигот за основним алелем (Lys/Lys), гетерозигот (Lys/Asn) і гомозигот за мінорним алелем (Asn/Asn) за Lys198Asn поліморфізмом у цій групі становило 48,2; 34,4 і 12,4 % відповідно. Розподіл С/С, С/Г і Г/Г генотипів за С+70G-поліморфним локусом у хворих з ІАТІ склав 21,1; 57,6 і 18,2 %. Порівняння одержаних даних із результатами генотипування осіб групи контролю показало, що існує достовірна асоціація між розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту та Lys198Asn-алельними варіантами гена *EDN1*, що робить даний генетичний фактор важливим предиктором розвитку дисфункції ендотелію та серцево-судинних захворювань. Цей висновок підтверджується тим, що у гомозигот за мінорним алелем Lys198Asn-поліморфного сайту гена ендотеліну-1 ризик розвитку ІАТІ вищий у 4 рази, ніж

у гомозигот за основним алелем. Стосовно C+70G-поліморфізму восьмого екзона гена *EDNRA*, то істотного зв'язку з даним захворюванням не виявлено.

Стосовно інших популяцій, то у праці *O. Aslan et al.* було вивчено вплив Lys198Asn-поліморфізму гена *EDN1* на розвиток ішемічного інсульту у турецькій популяції. За результатами дослідження, розподіл генотипів (Lys/Lys, Lys/Asn, Asn/Asn) у осіб групи контролю становив 52,0; 38,8 і 9,2 %, а у хворих з інсультом – 48,4; 32,2 і 8,4 % відповідно. Частота мінорного алеля у контрольній групі становила 0,286, а у дослідній – 0,300. Таким чином, достовірних асоціацій між даним поліморфним сайтом і ймовірністю виникнення інсульту серед населення Туреччини не виявлено, а урахування таких факторів ризику, як куріння, вживання алкоголю, наявність артеріальної гіпертензії та цукрового діабету, істотних змін до результатів не внесли [231]. *М. П. Топузова* досліджувала зв'язок поліморфізму Lys198Asn гена *EDN1* з розвитком церебрального інфаркту у росіян. Достовірної асоціації не було виявлено, а також встановлено відсутність залежності досліджуваного поліморфізму і ступеня тяжкості неврологічного дефіциту в гострому періоді інсульту [39].

Японські дослідники на чолі з *S. Yamaguchi* припустили, що вплив генних поліморфізмів, пов'язаних з атеротромботичним церебральним інфарктом, може відрізнятися у жінок і чоловіків, а також залежно від наявності чи відсутності традиційних факторів ризику атеросклеротичного процесу судин. За даними мультиваріабельного логістичного регресійного аналізу з поправкою на вік, ІМТ, куріння, артеріальну гіпертензію, гіперхолестеринемію та цукровий діабет, було з'ясовано, що Lys198Asn-поліморфізм гена *EDN1* має істотну асоціацію з ішемічним атеротромботичним інсультом у жінок. Проте у чоловіків такого зв'язку не було знайдено [155]. Такі статеві відмінності автори пов'язують з меншим ризиком атеросклерозу у віковому аспекті серед жінок, а також із різницею концентрації статевих гормонів. Враховуючи те, що естрогени сприятливо впливають на метаболізм судинної стінки та її вазомоторну функцію за рахунок продукції оксиду азоту та простагландину I₂, а також інгібують

вивільнення ендотеліну-1 ендотеліальними клітинами судин, це попереджає розвиток ендотеліальної дисфункції та має протективну дію у плані виникнення цереброваскулярних захворювань.

У нашому дослідженні результати асоціації Lys198Asn- і C+70G-поліморфних локусів генів *EDNI* та *EDNRA* теж мали статеві особливості. Виявлено, що частота різних варіантів за Lys198Asn-поліморфізмом у хворих з ІАТІ та осіб контрольної групи достовірно відрізнялася серед жінок, хоча істотного зв'язку у розподілі генотипів осіб досліджуваних груп серед чоловіків не виявлено. Проте використання методу логістичної регресії внесло деякі корективи в одержані результати. У жінок з Lys/Asn-генотипом ризик виникнення інсульту більший у 2,6 раза, а у чоловіків з Asn/Asn-генотипом – у 3,5 раза, порівняно з носіями Lys/Lys-генотипу. Вивчення статевих відмінностей у розподілі генотипів за C+70G-поліморфізмом гена *EDNRA* дозволило отримати наступні дані. З'ясовано, що не існує статистично значущої різниці у розподілі генотипів серед хворих на ІАТІ та практично здорових осіб як жіночої, так і чоловічої статі.

У китайській популяції також було вивчено особливості асоціації Lys198Asn-поліморфізму гена *EDNI* та C+70G-поліморфізму гена *EDNRA* з розвитком ішемічного інсульту. *L. Zhang et al.* повідомляють, що суттєвої різниці між контрольною і дослідною групами за обома генетичними маркерами не було встановлено, проте, розподіливши досліджувані групи за статтю, було отримано результати, які істотно відрізнялися. У чоловіків, що є носіями Asn-алеля, ризик розвитку інсульту більший у 1,49 раза ($P = 0,048$; $OR = 1,49$) порівняно з носіями Lys/Lys-генотипу. Це дозволяє носійство мінорного алеля за Lys198Asn-поліморфним варіантом вважати фактором ризику ішемічного інсульту у китайських чоловіків. Стосовно C+70G-алельного варіанта гена *EDNRA*, то виявлено, що ризик захворіти інсультом у чоловіків із C/C-генотипом був значно нижчим ($P = 0,016$; $OR = 0,52$), ніж у носіїв інших генотипів. Жіноча стать у даному дослідженні істотних кореляцій між вивченими поліморфізмами і ризиком виникнення ішемічного інсульту не показала [147].

На сьогодні відомо, що ендотелін-1 відіграє важливе значення у метаболізмі судинної стінки і причетний до розвитку дисфункції ендотелію та атеросклеротичного процесу як одного з її проявів. Враховуючи те, що товщина інтими-медії сонних артерій є ознакою субклінічного атеросклерозу, то *T. C. Li et al.* займалися вивченням взаємозв'язку даного показника з розподілом генотипів за Lys198Asn-поліморфізмом гена *EDN1*. Було виявлено, що у жінок, які є гомозиготами за мінорним алелем, середнє значення товщини інтими-медії цибулини сонної артерії достовірно вищі, ніж у носіїв основного алеля [205], що ще раз підкреслює важливу роль цього поліморфного сайту у розвитку ендотеліальної дисфункції.

Одним із факторів ризику інсульту є мігрень, але механізм, за допомогою якого ці порушення пов'язані, залишається нез'ясованим. Як повідомлялось в дослідженні *C. L. Chang et al.*, жінки з обтяженим сімейним анамнезом із приводу мігрени мають більший ризик розвитку ішемічного інсульту, незалежно від того, чи вони особисто страждають від мігрени [232]. У роботі *L. R. MacClellan et al.* проводили оцінку впливу на розвиток мігрени та ішемічного інсульту поліморфізмів генів, що регулюють функції ендотелію, в тому числі і Lys198Asn-поліморфізму гена *EDN1*. Для цього було обстежено 297 жінок з ішемічним інсультом і 422 жінки без інсульту, що проживали в США. За результатами проведеного дослідження, істотного зв'язку між розподілом алельних варіантів за поліморфізмом п'ятого екзона гена ендотеліну-1 і виникненням мігрени та ішемічного інсульту не виявлено [233]. *C. Lemos et al.* вивчали асоціацію C+70G-поліморфізму гена *EDNRA* і розвитком мігрени без аури у португальській популяції. Автори не виявили закономірностей, які б пов'язували цей генетичний маркер із мігренню. Проте гаплотипний аналіз трьох поліморфних сайтів гена *EDNRA*, одним з яких був C+70G-поліморфізм, засвідчив істотний зв'язок у групі пацієнтів, що страждають від мігрени без аури [211]. Відомо, що рецептори до ендотеліну типу А відіграють важливу роль у фізіології судин головного мозку [154]. Тому зрозумілим є інтерес до вивчення їх значення у механізмах виникнення цереброваскулярних захворювань. Так, китайськими

дослідниками, на чолі з *L. Li* було проведено дослідження з пошуку зв'язку C+70G-поліморфного локуса з інтракраніальною аневризмою, але не знайдено достовірних доказів [234].

В одному з досліджень показано, що підвищення рівня ендотеліну-1 у цереброспінальній рідині має безпосередній зв'язок із вазоспазмом, який підтверджується ангиографічно [235]. В якості продовження дослідження даного питання *M. Gallek et al.* вирішили вивчити вплив генотипів за Lys198Asn-поліморфізмом на розвиток спазму церебральних судин і отримали достовірну асоціацію між даним генетичним фактором і станом кровоносних судин мозку [219].

Згідно із сучасними уявленнями в патогенезі виникнення і прогресування багатьох серцево-судинних захворювань одну з провідних ролей відіграє ендотеліальна дисфункція [88]. Зважаючи на це італійські вчені дослідили роль Lys198Asn-поліморфного локусу у розвитку серцевої недостатності. За результатами *G. Colombo et al.*, поліморфізм гена *EDN1* достовірно асоційований з розвитком даної недуги ($P = 0,005$), а носійство Asn/Asn-генотипу призводить до збільшення ймовірності виникнення серцевої недостатності у 4,3 раза [196]. Цей поліморфізм був асоційований з іншими патологічними станами, розвиток яких залежить від судинної реактивності. До них відносять легенеvu гіпертензію [222], спазм коронарних судин [236], ішемічну хворобу серця [217], есенціальну гіпертрофію лівого шлуночка [185], прееклампсію [160], діабетичну ретинопатію [203]. Достовірний зв'язок був встановлений між Lys198Asn-поліморфізмом і виникненням ішемічної оптичної невротії у японській популяції [204]. Також, за даними *G. Pare' et al.*, амінокислотна заміна лізину на аспарагін у кодоні 198 ендотеліну-1 пов'язана з ішемічною хворобою серця та підвищеним рівнем ліпопротеїдів високої щільності [238]. Вивчення розподілу генотипів за даним поліморфним сайтом у хворих із нефротичним синдромом та дітей контрольної групи дозволило встановити статистично значущу відмінність. Крім того, плазмова концентрація ендотеліну-1 була істотно вищою у дослідній групі порівняно із здоровими дітьми [239]. Щодо C+70G-

поліморфізму гена *EDNRA*, то виявлено достовірний зв'язок між розподілом його алельних варіантів у жителів Польщі та Мехіко і розвитком глаукоми [148, 208].

Важливим фактором ризику серцево-судинних захворювань та ішемічного атеротромботичного інсульту зокрема є надлишкова маса тіла. Збільшений індекс маси тіла та ожиріння пов'язані з підвищенням ендотеліно-опосередкованої вазоконстрикції, що сприяє ендотеліальній дисфункції і може відігравати провідну роль у розвитку артеріальної гіпертензії та інсульту [109]. Існують відомості, що підвищення ІМТ на кожні п'ять одиниць корелює зі збільшенням рівня смертності від серцево-судинних подій на 34 % у чоловіків і на 29 % у жінок [240]. У дослідженні Community Hypertension Evaluation Clinic Study, в якому обстежено більше ніж 1 мільйон осіб, було встановлено, що ймовірність розвитку АГ в осіб віком 40–64 роки з надлишковою масою тіла на 50 % вища, ніж у осіб із нормальною масою тіла [241].

У виконаних нами дослідженнях показано, що в осіб з $IMT \geq 25 \text{ кг/м}^2$, що є гомозиготами за мінорним Asn-алелем, ризик розвитку ІАТІ більший у 4,6 раза, ніж у гомозигот за основним алелем.

Логістичний регресійний аналіз також засвідчив, що особи з $IMT < 25 \text{ кг/м}^2$ із гетерозиготним генотипом за C+70G-поліморфним локусом гена *EDNRA* у 3,7 раза більш схильні до виникнення ІАТІ, ніж гомозиготи за «диким» алелем.

Група дослідників, *A. Baráth et al.*, вивчали зв'язок між Lys198Asn-поліморфізмом гена *EDN1* та ІМТ серед мешканців Угорщини. Було виявлено достовірні відмінності між співвідношенням варіантів генотипів за даним поліморфним маркером у носіїв гетерозиготного (Lys/Asn) генотипу з артеріальною гіпертензією і нормальною масою тіла, а також у гіпертоніків, які страждають ожирінням [198]. *Е. Г. Зарубина* зробила висновок про те, що Lys198Asn-алельний варіант асоційований із підвищеним артеріальним тиском, особливо у осіб з надлишковою масою тіла [242]. За результатами досліджень *J. J. Jin et al.* виявлено наявність істотного зв'язку між співвідношенням

генотипів за Lys198Asn-поліморфізмом 5-го екзона гена ендотеліну-1 та ІМТ серед гіпертензивних пацієнтів японської популяції ($P = 0,027$). З'ясовано, що носії «мутантного» алеля були більш схильні до надмірної маси тіла, ніж гомозиготи за основним алелем [243]. Ураховуючи вагомий сукупний вплив ожиріння та гіпертонії на розвиток багатьох серцево-судинних, і зокрема цереброваскулярних захворювань, на думку авторів, носії мінорного алеля повинні бути залучені до методів, спрямованих на зниження маси тіла. За даними *T. Asai et al.*, у осіб з $ІМТ \geq 25$ кг/м² встановлено асоціацію Lys198Asn-поліморфізму з величиною артеріального тиску. Носії мінорного алеля з $ІМТ \geq 25$ кг/м² мають більшу схильність до розвитку артеріальної гіпертензії, порівняно з носіями Lys/Lys-генотипу [244].

Беззаперечно, одним із найважливіших модифікованих факторів ризику ендотеліальної дисфункції та таких її наслідків, як ішемічний атеротромботичний інсульт, є артеріальна гіпертензія. Артеріальна гіпертензія виявляється у 20–30 % дорослого населення планети та є пріоритетною проблемою охорони здоров'я двадцять першого століття [245, 246]. У всьому світі більше ніж 50 % всіх інсультів спричинені підвищенням артеріального тиску незалежно від віку та статі [247]. На сьогодні відомо, що існує пряма залежність між частотою виникнення інсульту і ступенем підвищення артеріального тиску. Зокрема доведено, що тривале підвищення діастолічного артеріального тиску на 5 мм. рт. ст. пов'язане зі збільшенням ймовірності виникнення коронарних подій на 21 %, а мозкового інсульту – на 34 % [248].

Вивчаючи співвідношення можливих генотипів за Lys198Asn-поліморфізмом гена *EDN1* серед осіб без АГ у групі контролю та у хворих з ІАГІ, нами не було встановлено статистично значущих відмінностей. Однак у пацієнтів з артеріальною гіпертензією розподіл генотипів у досліджуваних групах істотно відрізнявся. У пацієнтів з АГ, що є носіями гетерозиготного генотипу, ризик виникнення інсульту більший майже вдвічі, а в гомозигот за мінорним алелем (Asn/Asn) ризик збільшується у 4,1 раза.

Стосовно С+70G-поліморфного варіанта гена *EDNRA*, то отримані дані свідчать про відсутність прямого зв'язку даного поліморфізму з розвитком артеріальної гіпертензії.

Подібні дослідження описано у роботах інших вчених для різних популяцій. Так, *A. U. Joldasbecova* вивчала роль Lys198Asn-поліморфізму гена ендотеліну-1 у розвитку артеріальної гіпертензії у казахській популяції. Результати розподілу генотипів за цим поліморфізмом гена *EDN1* серед пацієнтів з АГ і здорових осіб засвідчили, що генотип Asn/Asn у 6 разів частіше зустрічався серед пацієнтів з артеріальною гіпертензією, ніж в осіб контрольної групи ($P = 0,012$). Таким чином, учена зробила висновок, що поліморфізм гена *EDN1* впливає на розвиток АГ [249]. Інша група вчених *T. Rankinen et al.* вивчала вплив Lys198Asn-поліморфізму гена *EDN1* на артеріальний тиск залежно від рівня фізичної активності і спостерігали достовірну асоціацію. В осіб із низьким рівнем фізичної активності, які є гомозиготами за мінорним алелем, ризик розвитку АГ більший майже вдвічі ($P = 0,0003$), проте такого зв'язку не встановлено у фізично активних і тренуваних осіб [186]. У праці *V. Adámková et al.* підтверджено асоціацію даного поліморфного сайту з функцією ендотелію та розвитком артеріальної гіпертензії [250]. В іншому дослідженні виявлено залежність ризику виникнення підвищеного артеріального тиску та коронарного синдрому від генотипів за Lys198Asn-поліморфним варіантом гена ендотеліну-1 [136]. *L. O. Minushkina et al.* знайдено зв'язок між Lys198Asn-поліморфізмом і ризиком виникнення лівошлуночкової гіпертрофії у хворих з АГ, що проживають в Якутії [251]. Вчені на чолі з *S. Wiltshire* вивчали зв'язок поліморфізму п'ятого екзона гена *EDN1* з механізмами розвитку артеріальної гіпертензії, рівнем ліпопротеїдів, метаболічним синдромом і серцево-судинними захворюваннями та не одержали жодних достовірних результатів [252]. За даними інших авторів, Asn-алель і Asn/Asn-генотип за Lys198Asn-поліморфізмом гена *EDN1* є маркером підвищеного ризику розвитку артеріальної гіпертензії [253]. Дослідження щодо С+70G-поліморфізму гена *EDNRA* нечисленні, що пов'язано з нещодавним пристальним вивченням. Роль

рецепторів до ендотеліну типу А у розвитку артеріальної гіпертензії підтверджується тим фактом, що їх експресія значно збільшується в артеріях пацієнтів із підвищеним артеріальним тиском [254]. *T. Rahman et al.* встановлено зв'язок між С+70G-поліморфним варіантом і рівнем систолічного, діастолічного та середнього артеріального тиску у носіїв мінорного алеля. У носіїв С-алеля зменшується експресія рецепторів до ендотеліну типу А, що корелює з нижчими показниками АТ. Серед осіб, що є носіями мінорного алеля, ризик розвитку гіпертонії більший у 1,19 раза, порівняно з гомозиготами за основним алелем [131].

Важливим фактором ризику серцево-судинних захворювань, і інсульту зокрема, є куріння [255]. Згідно з *M. Girot et al.* четверта частина всіх інсультів безпосередньо пов'язана з курінням [256]. За даними різних досліджень, ризик розвитку інсульту у курців збільшується в 2–4 рази, поступаючись за значенням лише миготливій аритмії і артеріальній гіпертензії. Причому в курців найбільший ризик розвитку саме ішемічного атеротромботичного інсульту [257]. У патогенезі ІАТІ провідну роль відіграє ендотеліальна дисфункція, а найбільш значущим екзогенним фактором, що сприяє її формуванню, є куріння [255].

Внаслідок порівняння частоти можливих генотипів за Lys198Asn-поліморфізмом гена *EDN1* і С+70G-поліморфізмом гена *EDNRA* у курців та осіб, що не курять, серед представників контрольної групи та хворих з ІАТІ було отримано наступні результати. У курців розподіл генотипів за Lys198Asn-поліморфізмом показав близьку до рівня статистичної значущості відмінність між пацієнтами досліджуваних груп, натомість серед осіб без цієї згубної звички достовірної різниці виявлено не було. При проведенні аналізу співвідношення генотипів за С+70G-поліморфізмом як у курців, так і у осіб, що не курять, не виявлено значущого зв'язку між хворими з ІАТІ та групою контролю. Використання методів регресійного аналізу підтвердило асоціацію лише Lys198Asn-поліморфізму гена *EDN1* з фактом куріння. Носії Asn/Asn-генотипу, які не курять, мають більший ризик розвитку ІАТІ у 3,4 раза, ніж носії Lys/Lys-генотипу. Однак у курців дана асоціація не підтвердилася. Це свідчить про те,

що куріння, будучи вагомою причиною розвитку ендотеліальної дисфункції та таких її наслідків, як цереброваскулярні захворювання, реалізує свої руйнівні ефекти незалежно від генотипу пацієнтів за Lys198Asn-поліморфізмом гена *EDN1*.

Дослідження впливу одонуклеотидних поліморфних варіантів Lys198Asn і C+70G на основні клінічні характеристики ішемічного атеротромботичного інсульту дозволило отримати ряд закономірностей. Виявлено залежність між артеріальними басейнами, атеротромботичні зміни яких призводять до ІАТІ, та Lys198Asn-поліморфізмом залежно від індексу маси тіла. Для носіїв Asn/Asn-генотипу, у яких ІМТ < 25 кг/м², характерно частіше одночасне ураження передньої, середньої, задньої мозкових та артерій вертебро-базиллярного басейну (P = 0,002). Стосовно C+70G-поліморфізму встановлено залежність локалізації ІАТІ за артеріальним басейном в осіб із нормальним артеріальним тиском: G/G-генотип асоційований із переважним ушкодженням вертебральних та базиллярних артерій (P = 0,050). Також поліморфізм гена *EDNRA* підтвердив вплив на тяжкість клінічного перебігу ІАТІ в осіб із ІМТ ≥ 25 кг/м². Достовірно відомо, що перебіг середньої тяжкості у гомозигот за мінорним алелем спостерігається частіше (P = 0,020). В осіб з артеріальною гіпертензією, які є носіями Asn/Asn-генотипу за Lys198Asn-поліморфізмом, ІАТІ частіше має тяжкий перебіг (P = 0,024). Так само впливає носійство Asn/Asn-генотипу на осіб, що не курять (P = 0,023). Жоден із вивчених нами поліморфізмів істотно не впливав на частоту повторних випадків та варіації клінічних проявів ІАТІ, навіть після урахування статевих особливостей, величини ІМТ, наявності артеріальної гіпертензії та факту куріння.

Одним із пріоритетних завдань клінічної та експериментальної медицини є детальне вивчення причин, механізмів розвитку, пошук кращих шляхів запобігання та лікування з метою зниження захворюваності та смертності від серцево-судинних захворювань та ішемічного атеротромботичного інсульту зокрема. У зв'язку з цим зросло зацікавлення у дослідженні патогенетичних ланок та провідних механізмів у виникненні ішемічного інсульту.

Патофізіологічним підґрунтям ІАТІ є дисфункція ендотелію, що характеризується зсувом у балансі вазорегуляції у бік констрикції, активації прозапальних та протромботичних властивостей судинної стінки [26]. Велика кількість вчених погоджуються з думкою, про залежність від генетичних факторів цілого ряду механізмів, причетних до уражень кровоносних судин [258, 259, 260, 261]. Враховуючи важливу роль ендотеліну-1 у розвитку ендотеліальної дисфункції та механізм реалізації своїх ефектів при взаємодії з ендотеліновим рецептором типу А, необхідно дослідити суть одонуклеотидних замін генів *EDN1* і *EDNRA* на зміни у функціонуванні білків, які вони кодують.

Таким чином, алельний поліморфізм генів, що відіграють неабияку роль у виникненні і прогресуванні ендотеліальної дисфункції є важливим чинником спадкової схильності до багатьох судинних захворювань, зокрема ішемічного атеротромботичного інсульту. Поглиблення знань про генетичну складову у розвитку ІАТІ дасть можливість заздалегідь попередити його виникнення шляхом прогнозування та покращити методи лікувальної тактики завдяки використанню індивідуального підходу.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення отриманих результатів дослідження, а також вирішення актуального наукового завдання, що полягає у з'ясуванні асоціації поліморфних сайтів Lys198Asn гена *EDN1* і C+70G гена *EDNRA* з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту в осіб з різними факторами його ризику.

1. Визначені частоти мінорних алелів за поліморфними варіантами генів *EDN1* і *EDNRA* в осіб без ішемічного інсульту знаходяться у відповідності до більшості європейських популяцій і становлять 0,2 для Lys198Asn-поліморфізму і 0,46 для C+70G-поліморфного сайту. Існує достовірна різниця у розподілі алельних варіантів між групою хворих з ІАТІ та особами групи контролю за поліморфізмом Lys198Asn гена *EDN1* ($P = 0,008$), проте дані співвідношення варіантів генотипів у групах порівняння за C+70G-поліморфізмом гена *EDNRA* істотно не відрізняються ($P = 0,426$).

2. Однонуклеотидний поліморфізм гена *EDN1* є самостійним незалежним фактором ризику розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту – у гомозигот за мінорним алелем ймовірність настання ІАТІ значущо вища, ніж у гомозигот за основним алелем ($OR_{\text{попр}} = 8,059$; $P_{\text{попр}} = 0,001$).

3. Вплив поліморфного сайту гена *EDN1* на розвиток ішемічного атеротромботичного інсульту має статеві особливості. Ризик розвитку інсульту вищий у жінок, що є носіями мінорного Asn-алеля, ніж у носіїв основного Lys-алеля ($OR = 2,800$; $P = 0,009$), та у чоловіків – гомозигот за мінорним алелем, порівняно з гомозиготами за основним алелем ($OR = 3,534$; $P = 0,034$).

4. Установлено, що ризик розвитку ІАТІ більший у гомозигот за мінорним алелем (Asn/Asn) з $IMT \geq 25 \text{ кг/м}^2$, ніж у гомозигот за основним алелем ($OR = 4,583$; $P = 0,020$); у гетерозигот C/G з $IMT < 25 \text{ кг/м}^2$, ніж у носіїв C/C-генотипу ($OR = 3,684$; $P = 0,049$); у пацієнтів з артеріальною гіпертензією – носіїв гетерозиготного Lys/Asn-генотипу ($OR = 1,951$; $P = 0,034$) і у гомозигот за мінорним алелем (Asn/Asn) ($OR = 4,107$; $P = 0,033$) порівняно з гомозиготами за

основним алелем; у носіїв *Asn/Asn*-генотипу, які не курять, порівняно з носіями *Lys/Lys*-генотипу ($OR = 3,379$; $P = 0,041$).

5. Установлено залежність характеристик ІАТІ від *Lys198Asn*- і *C+70G*-поліморфних варіантів генів *EDNI* та *EDNRA*. Для носіїв *Asn/Asn*-генотипу з $IMT < 25$ $кг/м^2$ характерно частіше одночасне ураження передньої, середньої, задньої мозкових артерій та артерій вертебробазиллярного басейну ($P = 0,002$). Виявлено асоціацію *G/G*-генотипу з переважним ушкодженням вертебральних та базиллярних артерій в осіб із нормальним артеріальним тиском ($P = 0,050$). Клінічний перебіг ІАТІ середньої тяжкості спостерігається частіше у гомозигот за мінорним алелем *G/G* з $IMT \geq 25$ $кг/м^2$ ($P = 0,020$). В осіб з артеріальною гіпертензією та у осіб, що не курять, і є носіями *Asn/Asn*-генотипу ІАТІ частіше має тяжкий перебіг ($P = 0,024$ і $P = 0,023$ відповідно).

6. Аналіз поєднаного впливу поліморфних сайтів генів ендотелінового шляху та інших відомих факторів ризику атеросклерозу на розвиток ІАТІ дав можливість створити класифікаційну модель, що включає поліморфний сайт *Lys198Asn* гена *EDNI* та артеріальну гіпертензію (прогностична значущість 62 % за методом MDR, $P = 0,043$). Поєднання в однієї особи АГ та носійства мінорного *Asn*-алеля є значущим предиктором підвищеного ризику розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Epidemiology of stroke / D. Kadojic et al. // *Periodicum Biologorum*. 2012. Vol. 114 (3). P. 253–257.
2. Endothelial Progenitor Cells: Therapeutic Perspective for Ischemic Stroke / Y. H. Zhao et al. // *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 2013. Vol. 19. P. 67–75.
3. Associations between incident ischemic stroke events and stroke and cardiovascular disease-related genome-wide association studies single nucleotide polymorphisms in the population architecture using genomics and epidemiology study / C. L. Carty et al. // *Circ Cardiovasc Genet*. 2012. Vol. 5. P. 210–216.
4. Rasulova K. A. Preliminary findings of Tashkent hospital based study of risk factors for different ischemic stroke subtypes // *European Medical, Health and Pharmaceutical Journal*. 2014. Vol. 7 (2). P. 26–33.
5. Зозуля І. С., Мошенська О. П. Гострий період ішемічного інсульту: сучасний погляд на проблему // *Український медичний часопис*. 2009. № 4. С. 67–73.
6. Soler E. P., Ruiz V. C. Epidemiology and risk factors of cerebral ischemia and ischemic heart diseases: similarities and differences // *Current Cardiology Reviews*. 2010. Vol. 6. P. 138–149.
7. Ischemic stroke incidence in Santa Coloma de Gramenet (ISISCOG), Spain. A community-based study / M. T. Alzamora et al. // *BMC Neurology* 2008. Vol. 8 (5). P. 1–8.
8. Ершов В. И., Чепасов В. И. Гетерогенность ишемического инсульта с позиции математического моделирования // *Вестник ОГУ*. 2011. № 1 (120). С. 152–156.
9. Исмагилов М. Ф. Ишемический мозговой инсульт: терминология, эпидемиология, принципы диагностики, патогенетические подтипы, терапия острого периода заболевания // *Неврологический вестник*. 2005. Т. XXXVII. № 1-2. С. 67–76.

10. Бугрова С. Г. Реабилитация больных, перенесших инсульт, в условиях городской поликлиники // Международный неврологический журнал. 2011. № 3 (41). С. 471.
11. Фадеев П. А. Инсульт Москва: ООО «Издательство Оникс»; ООО «Издательство «Мир и Образование», 2008. 160 с.
12. Зозуля І. С., Цимбалюк В. І., Зозуля А. І. Інсульт: стратегія і тактика надання медичної допомоги // Укр. мед. часопис. 2012. № 5 (91). ІХ/Х. С. 36–39.
13. Саєнко Я. А., Коваленко А. В., Маньковський Б. М. Стан екстра- та інтракраніального кровообігу у хворих на цукровий діабет 1 типу // Український неврологічний журнал. 2013. № 2. С. 39–42.
14. Завгородняя А. Н., Малахов В. А. Эндотелиальные механизмы патогенеза цереброваскулярной патологии // Український медичний часопис. 2006. № 2 (52). ІІІ/ІV. С 32–39.
15. Тяглый С. В. Эндоваскулярные методы в лечении и профилактике цереброваскулярной патологии // Запорожский медицинский журнал. 2014. № 6 (87). С. 58–61.
16. Коценко Ю. И., Статинова Е. А. Особенности терапии ишемического инсульта, обусловленного аномалиями церебральных артерий, у лиц молодого возраста // Український неврологічний журнал. 2012. № 4. С. 117–121.
17. Статинова Е. А., Коценко Ю. И. Аномалии интрацеребральных и прецеребральных артерий и их роль в развитии ишемического инсульта у пациентов молодого возраста // Международный медицинский журнал. 2014. № 3. С. 17–20.
18. Мищенко Т. С., Овсянникова Н. В., Лебединец В. В. Факторы риска и клинические особенности у больных с различными подтипами ишемического инсульта // Международный медицинский журнал. 2011. № 3. С. 27–32.
19. Чуйко Н. Я. Церебральні судини при ішемічному інсульті у хворих на метаболічний синдром // Морфологія. 2013. Т. VII, № 2. С. 79–83.

20. Зозуля А. І., Зозуля І. С. Основні завдання покращення надання медичної допомоги при церебральному інсульті // Український медичний часопис. 2014. № 4 (102). VII/VIII. С. 114–118.
21. Ревенько І. Л. Епідеміологія інсульту в Україні // Запорозький медичний журнал. 2010. Т. 12. № 3. С. 42–47.
22. Janssen A. W. M., de Leeuw F. E., Janssen M. C. H. Risk factors for ischemic stroke and transient ischemic attack in patients under age 50 // J Thromb Thrombolysis. 2011. Vol. 31. P. 85–91.
23. The vascular endothelium and human diseases / P. Rajendran et al. // International Journal of Biological Sciences. 2013. Vol. 9 (10). P. 1057–1069.
24. Endothelial dysfunction and procoagulant activity in acute ischemic stroke / A. Blum et al. // Journal of Vascular and Interventional Neurology. 2012. Vol. 4 (1). P. 33–39.
25. Avogaro A., Albiero M., Menegazzo L., Endothelial dysfunction in diabetes // Diabetes Care. 2011. Vol. 34. (2). P. 285–290.
26. Шишкин А. Н., Лындина М. Л. Эндотелиальная дисфункция и артериальная гипертензия // Артериальная гипертензия. 2008. Т. 14, № 4. С. 315–319.
27. Majumder K., Wu J. Molecular targets of antihypertensive peptides: understanding the mechanisms of action based on the pathophysiology of hypertension // Int. J. Mol. Sci. 2015. Vol. 16. P. 256–283.
28. Davignon J., Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis // Circulation. 2004. Vol. 109. P. 27–32.
29. High serum levels of endothelin-1 predict severe cerebral edema in patients with acute ischemic stroke treated with t-PA. / O. Moldes et al. // Stroke. 2008. Vol. 39. P. 2006–2010.
30. Головченко Ю. И., Трещинская М.А. Современные представления о физиологии и патологии эндотелия сосудов головного мозга // Український хіміотерапевтичний журнал. 2008. № 1–2 (22). С. 22–28.
31. Мостбауер Г.В. Сосудистое старение: механизмы развития и модификация // Therapia. 2012. № 9 (72). С. 42–47.

32. Свиридова Н. К. Як знизити ризик виникнення інсульту після транзиторної ішемічної атаки? // Східно-Європейський неврологічний журнал. 2015. № 4 (04). С. 53–59.
33. Genetic determinants of cardiovascular disease: the renin-angiotensin-aldosterone system, paraoxonases, endothelin-1, nitric oxide synthase and adrenergic receptors / A. Gluba et al. // *in vivo*. 2009. Vol. 23: P. 797–812.
34. Genome-wide association study on plasma levels of midregional-proadrenomedullin and C-terminal-pro-endothelin-1 / N. Verweij et al. // *Hypertension*. 2013. Vol. 61. P. 602–608.
35. Regulation of blood pressure and salt homeostasis by endothelin / D. E. Kohan et al. // *Physiol. Rev.* 2011. Vol. 91. P. 1–77.
36. Mazzuca M. Q., Khalil R. A. Vascular endothelin receptor type B: structure, function and dysregulation in vascular disease // *Biochem. Pharmacol.* 2012. Vol. 84 (2). P. 147–162.
37. Böhm F., Pernow J. The importance of endothelin-1 for vascular dysfunction in cardiovascular disease // *Cardiovascular Research*. 2007. Vol. 76. P. 8–18.
38. Parida A., Nayak V. Endothelins: their current status and future prospects // *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 2013. Vol. 23 (2). P. 94–97.
39. Дисфункция эндотелия у больных с лакунарным инсультом / М. П. Топузова // *Лечение и профилактика*. 2013. № 3 (7). С. 37-45.
40. The Association of endothelin-1 with markers of arterial stiffness in black south african women: The SABPA Study / C. S. du Plooy et al. // *Journal of Amino Acids*. 2015. Vol. 2015. 1–8.
41. Goraca A. New views on the role of endothelin (minireview) // *Endocr Regul.* 2002. Vol. 36 (4). P. 161–167.
42. Koyama Y. Endothelin systems in the brain: involvement in pathophysiological responses of damaged nerve tissues // *BioMolecular Concepts*. 2013. Vol. 4 (4). P. 335–347.
43. Masaki T., Sawamura T. Endothelin end endothelial dysfunction // *Proc. Jpn. Acad.* 2006. Ser. B. Vol. 82. P. 17–24.

44. Расулова Х. А. Некоторые молекулярные механизмы развития ишемического инсульта // Международный медицинский журнал. 2013. № 3. С. 22–29.
45. Інсульт: різновиди, фактори ризику, фізична реабілітація / Б. Мицкан та ін. // Лікувальна фізична культура, спортивна медицина й фізична реабілітація. 2012. № 3 (19). С 295–302.
46. Орадова А. Ш., Сапаргалиева А. Д. Молекулярные маркеры развития ишемического инсульта / Вестник КазНМУ. 2014. № 4. С. 250–253.
47. Пизова Н. В. Тромбофилии: генетические полиморфизмы и сосудистые катастрофы. М.: ИМА-ПРЕСС. 2013. 248 с.
48. Яворская В. А., Бондарь О. Б., Фломин Ю. В. Как в клинической практике отличить атеросклеротический и кардиоэмболический инсульт? // Международный медицинский журнал. 2008. № 1. С. 39–48.
49. Віничук С. М. Мозковий інсульт: сучасний погляд на проблему та стратегію лікування // Мистецтво лікування. 2004. № 5. С. 8–15.
50. Волошин П. В., Малахов В. А., Завгородняя А. Н. Эндотелиальная дисфункция при цереброваскулярной патологии : навч. пособ. Харьков, 2006. 92 с.
51. Волошин П. В., Малахов В. А., Завгородняя А. Н. Эндотелиальная дисфункция у больных с церебральным ишемическим инсультом : пол, возраст, тяжесть заболевания, новые возможности медикаментозной коррекции // Міжнародний неврологічний журнал. 2007. № 2 (12). С. 15–20.
52. Hankey G.J. Antiplatelet therapy for stroke prevention // Curr Atheroscler Rep. 2007. Vol. 9 (4). P. 312–318.
53. Сейн Д. С., Тул Дж. Ф. Сосудистые заболевания головного мозга: руководство для врачей / пер. с англ. под ред. акад. РАМН Е. И. Гусева, проф. А. Б. Гехт. 6-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2007. С. 347–361.
54. Щепанкевич Л. А., Пилипенко П. И. Ишемический инсульт: оценка параметров сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза в остром периоде заболевания // Вестн. неврол., психиатр. и нейрохирург. 2011. № 1. С. 11–13.

55. Faraci F. M. Protecting against vascular disease in brain // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011. Vol. 300. P. 1566–1582.
56. Віничук С. М., Прокопів М. М. Гострий ішемічний інсульт. Київ : Наукова думка, 2006. 159 с.
57. Яхно Н. Н., Штульман Д. Р. Болезни нервной системы: руководство для врачей: В 2-х т. Т. 1. 2-е изд., перераб и доп. М.: Медицина, 2001. 744 с.
58. Ішемічний інсульт. Обрані сторінки патогенезу та лікування : монографія / В. О. Малахов и др. Харків : ТОВ «ЕДЕНА», 2010. 154 с.
59. Stroke / G. A. Donnan et al. // *Lancet*. 2008. Vol. 371. P. 1612–1620.
60. Мошенська О. П. Фатальний ішемічний інсульт: особливості найгострішого періоду // *Укр. мед. часопис*. 2011. № 1 (81). I/II. С. 95–100.
61. Макаренко О. М., Чорна С. І. Морфологічно-структурні зміни в клітинах цереброкортексу, що розвиваються при інсульті у гострий віддалений період захворювання // *Актуальні проблеми сучасної медицини. Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2012. № 12 (4). С. 219–221.
62. Головченко Ю. И., Трещинская М. А. Патогенетические особенности локальной регуляции мозгового кровообращения при эндотелиальной дисфункции // *Материалы XIII Международной конференции «Актуальные направления в неврологии»*. – Судак, 2011.
63. Гусев Е. И. Проблема инсульта в России // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2003. № 9. С. 3–7.
64. Патогенетичні ланки ішемічного інсульту / В. О. Малахов та ін. // *Новости медицины и фармации*. 2011. № 360 (тематический номер «Неврология»).
65. Jander S., Schroeter M., Saleh A. Imaging Inflammation in Acute brain ischemia // *Stroke*. 2007. № 38. P. 642–645.
66. Эндотелий. Функция и дисфункция / З. А. Лупинская и др. Бишкек : КРСУ, 2008. 373 с.
67. Moskowitz M., Lo E. H., Iadecola C. The science of stroke: mechanisms in search of treatments. // *Neuron*. 2010. Vol. 67 (2). P. 181–198.

68. Prentice H., J. P. Modi, Wu J.-Y. Mechanisms of Neuronal Protection against Excitotoxicity, Endoplasmic Reticulum Stress, and Mitochondrial Dysfunction in Stroke and Neurodegenerative Diseases // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity Oxid Med Cell Longev*. 2015. Article ID 964518.
69. Majid A. Neuroprotection in stroke: past, present, and future // *ISRN Neurol*. 2014. Article ID 515716. DOI: 10.1155/2014/515716.
70. Коррекция когнитивных нарушений у больных с сосудистыми церебральными расстройствами / В. А. Яворская и др. // *Международный медицинский журнал*. 2012. № 4. С.16–21.
71. Атаман О. В. Патолофізіологія : в 2 т. Т 1. Загальна патологія : підручник для студ. вищ. мед. навч. заклад. Вінниця : Нова книга, 2012. 592 с.
72. Systemic inflammation impairs tissue reperfusion through endothelin-dependent mechanisms in cerebral ischemia / K. N. Murray et al. // *Stroke*. 2014. Vol. 45. P. 3412–3419.
73. Проблема оксиду азоту в неврології: монографія / В. О. Малахов та ін. Суми : Видавництво СумДПУ ім. А. С. Макаренка. 2009. 242 с.
74. DeBette S., Seshadri S. Genetics of atherothrombotic and lacunar stroke // *Circ. Cardiovasc. Genet*. 2009. Vol. 2 (2). P. 191–198.
75. Detailed Analysis of Gene Polymorphisms Associated with Ischemic Stroke in South Asians / S. Yadav et al. // *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8 (3). e57305.
76. Guo J., Liu A., Su D. Genetics of stroke // *Acta Pharmacologica Sinica*. 2010. Vol. 31. P. 1055–1064.
77. Identification of genetic contribution to ischemic stroke by screening of single nucleotide polymorphisms in stroke patients by using a case control study design / A. Kumar et al. // *BMC Neurology*. 2013. Vol. 13 (136). 8 p.
78. Large arterial occlusive strokes as a medical emergency: need to accurately predict clot location / P. Vanacker et al. // *Eur J Emerg Med*. 2016. Vol. 12 (2). P. 1234–1241.

79. Prevalence of intracranial large artery stenosis and occlusion in patients with acute ischaemic stroke or TIA / A. Mattioni et al. // *Neurol Sci.* 2014. Vol. 35 (3). P. 349–355.
80. Comparison of Risk Factor between Lacunar Stroke and Large Artery Atherosclerosis Stroke: A Cross-Sectional Study in China / P. Lvi et al. // *PLoS ONE.* 2016. Vol. 11 (3). e0149605.
81. Derdeyn C. P. Mechanisms of Ischemic Stroke Secondary to Large Artery Atherosclerotic Disease // *Neuroimag. Clin. N. Am.* 2007. Vol. 17. P. 303–311.
82. Rothwell P. M. Atherothrombosis and ischaemic stroke // *BMJ.* 2007. Vol. 334 (7590). P. 379–380.
83. Степанова Ю. И., Гончар И. А. Эндотелин-зависимые эффекты при цереброваскулярной патологии ишемического генеза // *Медицинские новости.* 2013. №10. С.12–18.
84. Физиологические функции сосудистого эндотелия / А. Х. Каде и др. // *Фундаментальные исследования.* 2011. № 11. С. 611–617.
85. Атаман О. В. Венозна стінка: загальнотеоретичні й експериментальні аспекти. Суми : Видавництво СумДУ ; Ангіо, 2001. – 248 с.
86. Курьшева Н. И., Царегородцева М. А. Роль дисфункции эндотелия в патогенезе глаукомы // *Глаукома.* 2011. № 1. С. 58–63.
87. Амбросова Т. Н. Эндотелиальная дисфункция при гипертонической болезни // *Международный медицинский журнал.* 2013. № 4. С. 16–21.
88. Коноплева Л. Ф. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний и методы ее коррекции // *Therapia.* 2011. № 3 (56). С. 26–30.
89. From endothelial dysfunction to atherosclerosis / S. Sitia et al. // *Autoimmun.Rev.* 2010. Vol. 9. № 12. P. 830–834.
90. Медведев Н. В., Горшунова Н. К. Эндотелиальная и миокардиальная дисфункция как маркеры ускоренного старения кардиоваскулярной системы на фоне артериальной гипертензии и эндогенного воспаления при старении // *Кровообіг та гемостаз.* 2012. № 1 (2). С.141–145.

91. Кенжаев М. Л., Ганиев У. Ш., Холов Г. А. Патогенетический механизм эндотелиальной дисфункции в зависимости от вида острого коронарного синдрома // *International journal of applied and fundamental research*. 2015. № 4. С. 53–55.
92. Патогенетически обоснованный подход к превентивной терапии при цереброваскулярной патологии / М. А. Трещинская и др. // *Укр. мед. часопис*. 2014. № 4 (102). VII/VIII. С.77–81.
93. Бокерия Л. А., Таскина В. Ю. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе расстройств мозгового кровообращения при фибрилляции предсердий // *Клиническая физиология кровообращения*. 2013. № 3. С. 46–56.
94. Бабушкина А. В. L-аргинин с точки зрения доказательной медицины // *Укр. мед. часопис*. 2009. № 6 (74). XI/XII. С. 43–48.
95. Кравченко Н. А., Ярмыш Н. В. Регуляция экспрессии эндотелиальной NO-синтазы и дисфункция сосудистого эндотелия при сердечно-сосудистой патологии // *Цитология и генетика*. 2008. № 4. С. 69–79.
96. Трещинская М. А. Теоретические и практические аспекты применения L-аргинина с целью профилактики цереброваскулярной патологии // *Укр. мед. часопис*. 2011. № 5 (85). IX/X. С. 97–109.
97. Кузьминова Н. В., Серкова В. К. Функциональное состояние сосудистого эндотелия у больных гипертонической болезнью // *Український терапевтичний журнал*. 2008. № 2. С. 21–27.
98. Endothelial function and oxidative stress in cardio-vascular diseases / Y. Higashi et al. // *Circ. J*. 2009. Vol. 73 (3). P. 411–418.
99. Серкова В. К., Побережна Г. В. Інструментальні і біохімічні показники функції судинного ендотелію у пацієнтів з різними клінічними варіантами перебігу ішемічної хвороби серця // *Кровообіг та гемостаз*. 2010. № 3. С. 42–47.
100. Завгородняя А. Н. Структурные особенности сосудистого эндотелия при острых церебральных ишемиях // *Международный медицинский журнал*. 2013. № 2. С. 21–24.

101. Баланс маркеров регуляции сосудистого тонуса и фибриногена в прогнозе развития геморрагической трансформации и летального исхода в остром периоде ишемического инсульта / О. В. Лянг и др. // Клиническая медицина. 2012. № 8. С. 55–60.
102. Study of Endothelin-1 in Acute Ischemic Stroke / V. Sapira et al. // Rom. J. Intern. Med. 2010. Vol. 48 (4). P. 329–332.
103. Measurements of endothelin-1, C-reactive protein and fibrinogen plasma levels in patients with acute ischemic stroke/ S. Giannopoulos et al. // Neurological Research. 2008. Vol. 30. P. 727–730.
104. Завгородняя А. Н. Структурные особенности сосудистого эндотелия при острых церебральных ишемиях // Международный медицинский журнал. 2013. № 2. С. 21–24.
105. Correlation of Serum endothelial dysfunction markers with ct angiographic findings in ischemic stroke / N. Varyani et al.// Asian pacific journal of tropical disease. 2012. P. 11–15.
106. Endothelin-1 gene polymorphism in preoperative myocardial infarction with /or without coronary artery bypass graft / S. Senol et al.// Int. J. Hum. Genet. 2014. Vol. 14 (3, 4). P. 183–187.
107. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells / M. Yanagisawa et al. // Nature. 1988. Vol. 332 (6163). P 411–415.
108. Contrasting Actions of Endothelin ETA and ETB Receptors in Cardiovascular Disease / M. P. Schneider et al. // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2007. Vol. 47. P. 731–759.
109. Enhanced endothelin-1 system activity with overweight and obesity / B. R. Weil et al. // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2011. Vol. 301. P. 689–695.
110. Zhang Y., Edvinsson L., Xu C. Up-Regulation of Endothelin Receptors Induced by Cigarette Smoke – Involvement of MAPK in Vascular and Airway Hyper-Reactivity // The Scientific World Journal. 2010. Vol. 10. P. 2157–2166.

111. Holzhauser L., Zolty R. Endothelin receptor polymorphisms in the cardiovascular system: potential implications for therapy and screening // Heart. Fail. Rev. 2014 Vol. 19 (6). P. 743–758.
112. Elevated level of plasma endothelin-1 in patients with atrial septal defect / M. Komar et al. // Cardiovasc. Ultrasound. 2014. Vol. 6. P. 12–31.
113. Maguire J. J., Davenport A. P. Endothelin@25 – new agonists, antagonists, inhibitors and emerging research frontiers: IUPHAR Review 12 // Br. J. Pharmacol. 2014. Vol. 171 (24). P. 5555–5572.
114. Susanti E. Endothelin 1 gene in preeclampsia and normal pregnancy // Jurnal Penelitian Universitas Jambi Seri Sains. 2011. Vol. 13 (1). P. 01–08.
115. Rullman E., Gustafsson T., Ahlborg G. The impact of the endothelin type A receptor on regional endothelin-1 turnover, in particular renal endothelin-1 release, in humans // J. Appl. Physiol. 2010. Vol. 108 (6). P. 1625–1630.
116. Endothelin-1 and its role in the pathogenesis of infectious diseases / B. D. Freeman et al. // Life Sciences. 2014. Vol. 118 (2). P. 110–119.
117. Plasma C-terminal pro-endothelin-1 is associated with left ventricular mass index and aortic root diameter in African-American adults with hypertension / M. A. Al-Omari et al. // J. Hum. Hypertens. 2011. Vol. 25 (2). P. 106–113.
118. Lekontseva O., Chakrabarti S., Davidge S. T. Endothelin in the female vasculature: a role in aging // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2010. Vol. 298. P. R509–R516.
119. Macitentan for the treatment of pulmonary arterial hypertension/ C. A. Kholdani et al. // Vascular Health and Risk Management. 2014. Vol.10. P. 665–673.
120. Значение повышения продукции эндотелина при инфаркте миокарда / М. Г. Шурыгин и др.// Фундаментальные исследования. 2015. № 1. С. 1281–1287.
121. Попов Е. В. Эндотелины: происхождение, физиологические эффекты и возможная роль в патологии // Туберкулез и болезни легких. 2010. № 5. С. 3–13.

122. Endothelin-1 gene regulation / L. R. Stow et al. // *The FASEB Journal*. 2011. Vol. 25. P. 16–28.
123. Яковлева О. О., Клекот О. О., Маслоїд Т. М. Легенева гіпертензія: сучасні стратегії та перспективи лікування. Частина 2 / *Рациональная фармакотерапия*. 2013. № 4 (29). С. 42–46.
124. Changes in biomechanical properties of the coronary artery wall contribute to maintained contractile responses to endothelin-1 in atherosclerosis / C. Y. Ooi et al. // *Life Sciences*. 2014 Vol. 118. P. 424–429.
125. High plasma levels of endothelin-1 enhance the predictive value of preclinical atherosclerosis for future cerebrovascular and cardiovascular events: a 20-year prospective study / G. Novo et al. // *J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown)*. 2014. Vol. 15 (9). P. 696–701.
126. Selective and mixed endothelin receptor antagonism in cardiovascular disease / N. Dhaun et al. // *TRENDS in Pharmacological Sciences*. Vol. 28. №11. P. 573–579.
127. Genetic association study of Endothelin-1 and its receptors EDNRA and EDNRB in migraine with aura / P. Tikka-Kleemola et al. // *Cephalalgia*. 2009 Vol. 29 (11). P. 1224–1231.
128. Physiology of Microglia / H. Kettenmann et al. // *Physiol Rev*. 2011. Vol. 91. P. 461–553.
129. Endothelin-1 concentrations in the internal jugular and azygous veins in multiple sclerosis patients: the results of a pilot study / M. Simka et al. // *Phlebological Review*. 2014. Vol. 22 (1). P. 18–23.
130. Endothelin and Its Suspected Role in the Pathogenesis and Possible Treatment of Glaucoma / Y. Z. Shoshani et al. // *Current Eye Research*. 2012. Vol. 37 (1). P. 1–11.
131. Common genetic variation in the type A endothelin-1 receptor is associated with ambulatory blood pressure: a family study / T. Rahman et al. // *Journal of Human Hypertension*. 2008. Vol. 22. P. 282–288.

132. Lilyasari O. Hipertensi Dengan Obesitas: Adakah Peran Endotelin-1? // *J. Kardiol. Ind.* 2007. Vol. 28. P. 460–475.
133. Reichetzeder C., Tsuprykov O., Hoher B. Endothelin receptor antagonists in clinical research — lessons learned from preclinical and clinical kidney studies // *Life Sciences*. 2014. Vol. 118. P. 141–148.
134. Nguyen A., Thorin-Trescases N., Thorin E. Working under pressure: coronary arteries and the endothelin system // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2010. Vol. 298. P. R1188–R1194.
135. Influences of genetic variation of endothelin-1 gene on effects of 16-week combined exercise on clinical and physical parameters in middle-aged women / J. Lee et al. // *Medicina (Kaunas)*. 2013. Vol. 49 (4). P. 170–176.
136. Impact of endothelin-1 Lys198Asn polymorphism on coronary artery disease and endorgan damage in hypertensives / A. F. Popov et al. // *Coronary Artery Disease*. 2008. Vol. 19 (7). P. 429–434.
137. Pernow J., Shemyakin A., Böhm F. New perspectives on endothelin-1 in atherosclerosis and diabetes mellitus // *Life Sciences*. 2012. Vol. 91. P. 507–516.
138. The association of an adenine insertion variant in the 5'UTR of the endothelin-1 gene with hypertension and orthostatic hypotension / X. H. Fan et al. // *Arch. Med. Sci.* 2012. Vol. 8 (2). P. 219–226.
139. Association of endothelin-1 gene polymorphisms with essential hypertension in a Chinese population / Z. Fang et al. // *Genet. Mol Res.* 2017. Vol. 16(3).
140. The impact of endothelin-1 genetic analysis and job strain on ambulatory blood pressure / S. W. Tobe et al. // *Journal of Psychosomatic Research*. 2011. Vol. 71. P. 97–101.
141. Emad I., Abeer K., Nermin Z. The role of the biomarker and the genetic polymorphism of endothelin-1 in pulmonary arterial hypertension among Egyptians // *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*. 2012. Vol. 61. P. 495–500.

142. The -974C>A (rs3087459) gene polymorphism in the endothelin gene (EDN1) is associated with risk of developing acute coronary syndrome in Mexican patients / G. Vargas-Alarcon et al. // *Gene*. 2014. Vol. 542 (2). P. 258–262.
143. Ahmed M., Rghigh A. Polymorphism in Endothelin-1 Gene: An Overview // *Curr. Clin. Pharmacol.* 2016. Vol. 11 (3). P. 191–210.
144. Kitsios G., Zintzaras E. Genetic variation associated with ischemic heart failure: a HuGE review and meta-analysis // *Am. J. Epidemiol.* 2007. Vol. 166 (6). P. 619–633.
145. Lack of association between endothelin-1 gene variants and myocardial infarction / M. Palacín et al. // *J. Atheroscler. Thromb.* 2009. Vol. 16 (4). P. 388–395.
146. Endothelin polymorphisms as a risk factor for cerebral aneurysm rebleeding following aneurysmal subarachnoid hemorrhage / P. M. Foreman et al. // *Clin. Neurol. Neurosurg.* 2017. Vol. 157. P. 65–69.
147. Zhang L., Sui R. Effect of SNP Polymorphisms of EDN1, EDNRA, and EDNRB Gene on Ischemic Stroke // *Cell. Biochem. Biophys.* 2014. Vol. 70. P. 233–239.
148. Plasma endothelin-1 and single nucleotide polymorphisms of endothelin-1 and endothelin type A receptor genes as risk factors for normal tension glaucoma / E. Kosior-Jarecka et al. // *Molecular Vision.* 2016. Vol. 22. P. 1256–1266.
149. Association between endothelin type A receptor haplotypes and mortality in coronary heart disease / K. L. Ellis et al. // *Personalized Medicine.* 2012. Vol. 9 (3). P. 341–349.
150. Analysis of endothelin-1 and endothelin-1 receptor A gene polymorphisms in patients with pulmonary arterial hypertension / P. Calabrò et al. // *Intern. Emerg. Med.* 2012. Vol. 7 (5). P. 425–30.
151. Miao J., Wang F., Fang Y. Association of 231G>A polymorphism of endothelin type A receptor gene with migraine: a meta-analysis // *J. Neurol. Sci.* 2012. Vol. 323 (1–2). P. 232–235.
152. Endothelin receptor A –231G>A polymorphism: no linkage to primary pediatric headache / V. Lisi et al. // *Headache.* 2006. Vol. 46. P. 486–91.

153. Joshi G., Pradhan S., Mittal B. Vascular gene polymorphisms (EDNRA –231G>A and APOE HhaI) and risk for migraine // DNA Cell Biol. 2011. Vol. 30. P. 577–584.
154. Common variant near the endothelin receptor type A (EDNRA) gene is associated with intracranial aneurysm risk / K. Yasuno et al. // PNAS. 2011. Vol. 108 (49). P. 19707–19712.
155. Genetic risk for atherothrombotic cerebral infarction in individuals stratified by sex or conventional risk factors for atherosclerosis / S. Yamaguchi et al. // International Journal of Molecular Medicine. 2006. Vol. 18. P. 871–883.
156. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment / H. P. Adams et al. // Stroke. 1993. Vol. 24. P. 35–41.
157. Appelros P., Stegmayr B., Terént A. Sex Differences in stroke epidemiology // A Systematic Review Stroke. 2009. Vol. 40. P. 1082–1090.
158. Risk factors in normal-tension glaucoma and high-tension glaucoma in relation to polymorphisms of endothelin-1 gene and endothelin-1 receptor type A gene / D. Wróbel-Dudzinska et al. // Journal of Ophthalmology. 2015. P. 1-12.
159. Palahniuk H. O. Ratio of endothelin-1 and c-type natriuretic peptide concentrations in men with hypertensive disease of different severity. the regulatory role of polymorphism of the endothelin-1 gene // Galician Medical Journal. 2016. Vol. 23 (3). DOI: 10.21802/gmj.2016.3.48.
160. Maternal EDN1 G5665T polymorphism influences circulating endothelin-1 levels and plays a role in determination of preeclampsia phenotype / P. K. Aggarwal et al. // Journal of Hypertension. 2009. Vol. 27 (10). P. 2044–2050.
161. G-231A and G+70C polymorphisms of endothelin receptor type-A gene could affect the psoriasis area and severity index score and endothelin 1 levels / G. Okan et al. // E-Ijd Basic Research. 2015. Vol. 60 (2). P. 211.

162. Пахомя Н. С., Урясьев О. М., Шаханов А. В. Роль полиморфизмов некоторых генов в реализации артериальной гипертензии // *Земский Врач*. 2014. № 3–4 (24). С. 21–24.
163. Genetic polymorphisms in Endothelin-1 as predictors for long-term survival and the cardiac index in patients undergoing on- pump cardiac surgery / A. Mansur et al. // *PLOS ONE*. 2015. Vol. 10 (6). P. 1–10.
164. Genetic polymorphisms in endothelin-receptor-subtype-a-gene as susceptibility factor for obstructive sleep apnea syndrome / D. Buck et al. // *Sleep Medicine*. 2010. Vol. 11. P. 213–217.
165. EDNRA variants associate with smooth muscle mRNA levels, cell proliferation rates, and cystic fibrosis pulmonary disease severity / R. Darrah et al. // *Physiol. Genomics*. 2010. Vol. 41. P. 71–77.
166. Oleshko T. Frequency of allelic variants Lys198Asn polymorphism of endothelin - 1 (EDN-1) gene in the Ukrainian population // 8th International Student Medical Congress in Kosice. Faculty of Medicine, Pavol Josef Safaric University, Kosice, 22–24 June 2016. P. 156.
167. Oleshko T., Obukhova O., Harbuzova V. Association of Lys198Asn polymorphism of endothelin-1 gene with ischemic atherothrombotic stroke. // Scientific-practical conference devoted to the 100th anniversary of V. Y. Axundov. Republic of Azerbaijan, Baku, 26 June 2016. P. 174.
168. Пат. на корисну модель. 118841. Спосіб прогнозування розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту / Олешко Т. Б., Гарбузова В. Ю., Дубовик Є. І., Атаман О. В.; заявник і патентовласник Сумський держ. ун-т; заявл. 27.03.2017; опубл. 28.08.17, бюл. № 16.
169. Олешко Т. Б., Свириденко Д. Ю., Гарбузова В. Ю. Аналіз зв'язку Lys198Asn поліморфних варіантів гена ендотеліну-1 (EDN-1) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі // *Клінічна та експериментальна патологія*. 2016. Т. 15. № 1 (55). С. 99–103.

170. Статеві особливості C+70G поліморфних варіантів гена EDNRA з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту / Т. Б. Олешко та ін. // Клінічна та експериментальна патологія. 2017. Т. XVI. № 1 (59). С. 105–109.
171. Олешко Т. Б., Гарбузова В. Ю. Асоціація Lys198Asn поліморфних варіантів гена ендотеліну-1 (EDN-1) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі // Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні наукові дослідження та розробки: теоретична цінність та практичні результати», Братислава, 15–18 березня 2016 року. С. 97–98.
172. Association Lys198Asn polymorphism of EDN1 gene with some risk factors of ischemic atherothrombotic stroke / T. Oleshko et al. // 27th European Students' Conference, Germany, Berlin, 28th September - 1st of October 2016. P. 259.
173. Олешко Т. Б., Свириденко Д. Ю., Гарбузова В. Ю. Особливості асоціації Lys198Asn поліморфізму гена EDN-1 з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту залежно від індексу маси тіла // Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2016. Т. 16, № 2 (54). С. 152–156.
174. Дослідження асоціації C+70G поліморфізму гена EDNRA з індексом маси тіла у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом / Т. Б. Олешко та ін. // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. 2017. № 5 (1). С. 737–743.
175. Олешко Т. Б., Юрченко В. С., Свириденко Д. Ю. Розподіл алельних варіантів гена EDNRA за C+70G поліморфізмом у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом залежно від величини індексу маси тіла // V Міжнародна науково-практична конференція студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини», Сумський державний університет, Суми, 20–21 квітня 2017 року. С. 446–447.
176. Олешко Т. Б. Вивчення асоціації Lys198Asn поліморфізму гена EDN-1 з ішемічним атеротромботичним інсультом (ІАТІ) залежно від індексу маси тіла // XX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, Тернопіль, 25–27 квітня 2016 року. С. 274.

177. Олешко Т. Б., Юрченко В. С., Гарбузова В. Ю. Ассоциация C+70G полиморфизма гена EDNRA с ожирением у больных с ишемическим атеротромботическим инсультом // Республиканская научно-практическая конференция «Метаболический синдром и другие категории дисметаболизма в различных областях медицины», Ташкент, Узбекистан, 13 апреля 2017. С. 111–112.
178. Олешко Т. Б., Свириденко Д. Ю., Олешко Т. М., Юрченко В. С. Вивчення асоціації C+70G поліморфізму гена EDNRA з артеріальною гіпертензією у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом // Науково-практична конференція з міжнародною участю «XVI читання ім. В. В. Підвисоцького», Одеса, Україна, 18-19 травня 2017 р. С. 255.
179. Олешко Т. Б., Гарбузова В. Ю., Атаман О. В. Зв'язок Lys198Asn поліморфізму гена ендотеліну-1 з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб із нормальним та підвищеним артеріальним тиском // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. 2015. Т. 3, № 4. С. 464–469.
180. Олешко Т. Б., Свириденко Д. Ю., Гарбузова В. Ю. Асоціація C+70G алельних варіантів гена EDNRA з ішемічним атеротромботичним інсультом у осіб з артеріальною гіпертензією та нормальним артеріальним тиском // Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2017. Т. 17, вип. 3 (59). С. 149–152.
181. Олешко Т. Б., Свириденко Д. Ю., Юрченко В. С., Гарбузова В. Ю. Вивчення зв'язку Lys198Asn поліморфізму гена ендотеліну-1 з артеріальною гіпертензією у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом. // IV Міжнародна науково-практична конференція студентів та молодих вчених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини», том 1. Сумський державний університет, Суми, 21–22 квітня 2016 року. С. 163–164.
182. Олешко Т. Б., Свириденко Д. Ю., Гарбузова В. Ю. Розподіл алельних варіантів за Lys198Asn поліморфізмом гена ендотеліну-1 у хворих з

- ішемічним атеротромботичним інсультом у курців та осіб, які не палять // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. 2016. Vol. 4 (2). С. 335–340.
183. Analysis of association Lys198Asn polymorphism of EDN1 gene with risk factors of ischemic atherothrombotic stroke in the ukrainian population / T. B. Oleshko et al. // IV Eurasian congress of cardiologists, Yerevan, Armenia, 10–11 October 2016. P. 46.
184. Олешко Т. Б., Свириденко Д. Ю., Гарбузова В. Ю. Асоціація Lys198Asn поліморфних варіантів гена ендотеліну-1 (EDN-1) з деякими факторами ризику ішемічного атеротромботичного інсульту // VII Національний конгрес патологіологів України з міжнародною участю «Патологіологія і фармація: шляхи інтеграції», НФаУ, Харків, 5–7 жовтня 2016 року. С. 174.
185. Роль однонуклеотидного поліморфізма C+70G гена рецептора ендотеліна-А в розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту / Т. Б. Олешко и др. // Wiadomości Lekarskie. 2017. Т. LXX, № 4. С. 725–730.
186. Effect of endothelin 1 genotype on blood pressure is dependent on physical activity or fitness levels / T. Rankinen et al. // Hypertension. 2007. Vol. 50. P. 1120–1125.
187. Палагнюк Г. О., Жебель В. М. Спадково обумовлені особливості плазмової концентрації ендотеліну-1 у чоловіків із гіпертонічною хворобою та хронічною серцевою недостатністю // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2016. № 3 (22). С. 80–86.
188. Lack of association of immune-response-gene polymorphisms with susceptibility to sarcoidosis in Slovenian patients / A. Maver et al. // Genetics and Molecular Research. 2010. Vol. 9 (1). P. 58–68.
189. Endothelin-1 genetic polymorphism as predictive marker for bevacizumab in metastatic breast cancer / S. P. Gampenrieder et al. // The Pharmacogenomics Journal. 2016. P. 1–7. DOI:10.1038/tpj.2016.25.

190. G-231A and G+70C polymorphisms of endothelin receptor type-A gene could affect the psoriasis area and severity index score and endothelin 1 levels / G. Okan et al. // *E-Ijd Basic Research*. 2015. Vol. 60 (2). P. 211.
191. A polymorphism in the endothelin-A receptor gene predicts survival in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy / S.-M. Herrmann et al. // *European Heart Journal*. 2001. Vol. 22. P. 1948–1953.
192. Endothelin-1 gene variant Lys198Asn and plasma endothelin level in obstructive sleep apnea / K. Diefenbach et al. // *Cardiology*. 2009. Vol. 112. P. 62–68.
193. The Lys198Asn polymorphism in the endothelin-1 gene is associated with blood pressure in overweight people / L. Tiret et al. // *Hypertension*. 1999. Vol. 33 (5). P. 1169–1174.
194. Estudio del polimorfismo K198N en el gen EDN1 en pacientes afectados de hipertensión arterial pulmonar (K198N polymorphism in the EDN1 gene in patients with pulmonary arterial hypertension) / G. Pousada et al. // *Med. Clin. (Barc)*. 2015. Vol. 144 (8). P. 348–352.
195. Polymorphisms of genes related to endothelial cells are associated with primary biliary cirrhosis patients of Cretan origin / A. Mantaka et al. // *Human Immunology*. 2012. Vol. 73. P. 829–835.
196. ET-1 Lys198Asn and ET A receptor H323H polymorphisms in heart failure / M. G. Colombo et al. // *Cardiology*. 2006. Vol. 105. P. 246–252.
197. Role of the endothelin-1 gene locus for renal impairment in the general nondiabetic population / S. J. Pinto-Sietsma et al. // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003. Vol. 14. P. 2596–2602.
198. Endothelin-1 gene and endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in adolescents with juvenile and obesity-associated hypertension / A. Baráth et al. // *Acta. Physiol. Hung.* 2007. Vol. 94 (1-2). P. 49–66.
199. The influence of three endothelin-1 polymorphisms on the progression of IgA nephropathy / D. Maixnerová et al. // *Folia Biologica (Praha)*. 2007. Vol. 53. P. 27–32.

200. Pharmacogenetic effect of an endothelin-1 haplotype on response to bucindolol therapy in chronic heart failure / M. R. G. Taylor et al. // *Pharmacogenetics and Genomics*. 2009. Vol. 19 (1). P. 35–42.
201. Polymorphisms in the endothelin-1 (EDN1) are associated with asthma in two populations / G. Zhu et al. // *Genes and Immunity*. 2008. Vol. 9. P. 23–29.
202. Endothelin-1 but not endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism is associated with sickle cell disease in Africa / T. J. Thakur et al. // *Gene Regulation and Systems Biology*. 2014. Vol. 8. P. 119–126.
203. EDN1 Lys198Asn is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes / H. Li et al. // *Molecular Vision*. 2008. Vol. 14. P. 1698–1704.
204. Genetic polymorphisms associated with endothelial function in nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy / T. Sakai et al. // *Molecular Vision*. 2013. Vol. 19. P. 213–219.
205. Associations of EDNRA and EDN1 polymorphisms with carotid intima media thickness through interactions with gender, regular exercise, and obesity in subjects in Taiwan: Taichung Community Health Study (TCHS) / T. C. Li et al. // *BioMedicine*. 2015. Vol. 5 (2). P. 8–14.
206. The association between endothelin-1 gene polymorphisms and susceptibility to vitiligo in a Korean population / H. J. Kim et al. // *Experimental Dermatology*. 2007. Vol. 16. P. 561–566.
207. The evaluation of endothelin-1 and endothelin receptor type a gene polymorphisms in patients with vitiligo / I. Bingül et al. // *Indian journal dermatologi*. 2016. Vol. 61 (1). P. 118.
208. Association study of multiple gene polymorphisms with the risk of adult-onset primary open-angle glaucoma in a Mexican population / B. Buentello-Volante et al. // *Experimental Eye Research*. 2013. Vol. P. 59–64.
209. Genetic polymorphisms in endothelin-receptor-subtype-a-gene as susceptibility factor for obstructive sleep apnea syndrome / D. Buck et al. // *Sleep Medicine*. 2010. Vol. 11. P. 213–217.

210. Association between glaucoma and gene polymorphism of endothelin type A receptor / K. Ishikawa et al. // *Molecular Vision*. 2005. Vol. 11. P. 431–437.
211. A role for endothelin receptor type A in migraine without aura susceptibility? A study in Portuguese patients / C. Lemos et al. // *European Journal of Neurology*. 2011. Vol. 18. P. 649–655.
212. Association of cystic fibrosis genetic modifiers with congenital bilateral absence of the vas deferens / V. Havasi et al. // *Fertility and Sterility*. 2010. Vol. 94 (6). P. 2122–2127.
213. Association between genetic polymorphisms of EDNRA gene and high altitude polycythemia in Tibetans at the Qinghai-Tibetan Plateau / X. Jin et al. // *Natl. Med. J. China*. 2015. Vol. 95 (18). P. 1382–1385.
214. Impact of polymorphisms in angiogenesis-related genes on clinical outcomes of radiotherapy in patients with nasopharyngeal carcinoma / W. L. Ma et al. // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2017. Vol. 44 (5). P. 539–548.
215. Polymorphisms in endothelin system genes, arsenic levels and obesity risk / V. Martínez-Barquero et al. // *Plos One*. 2015. Vol. 10 (3). DOI: 10.1371/journal.pone.0118471.
216. The endothelin-1 G5665T polymorphism impacts transplant-free survival for single ventricle patients / P. M. Kirshbom et al. // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. Vol. 136. № 1. P. 117–122.
217. Полиморфизм генов эндотелиальной NO-синтазы, эндотелина-1 и параоксоназы-1 как фактор риска кардиального синдрома Х у женщин / В. С. Феоктистова и др. // *Проблемы женского здоровья*. 2012. № 3 (7). С. 24–29.
218. Ягода А. В., Жданов Ю. С., Гладких Н. Н. Роль полиморфизма некоторых генов-кандидатов в контроле эндотелиальной функции у пациентов с сердечными микроаномалиями // *Медицинский вестник северного кавказа*. 2008. № 2. С. 26–29.

219. Endothelin-1 gene polymorphisms influence cerebrospinal fluid endothelin-1 levels following aneurysmal subarachnoid hemorrhage / M. Gallek et al. // *Biol. Res. Nurs.* 2015. Vol. 17 (2). P. 185–190.
220. Polymorphisms in genes of the endothelin system and cerebral small-vessel disease / K. Gormley et al. // *Stroke.* 2005. Vol. 36(8). P. 1656–1660.
221. Endothelin-1 and endothelin receptor gene variants and their association with negative outcomes following aneurysmal subarachnoid hemorrhage / M. Gallek et al. // *Biological Research for Nursing.* 2012. Vol. 15 (4). P. 390–397.
222. Endothelin-1 and endothelial nitric oxide polymorphisms in idiopathic pulmonary arterial hypertension / S. Vadapalli et al. // *Int. J. Mol. Epidemiol. Genet.* 2010. Vol. 1 (3). P. 208–213.
223. Núñez M., Valverde D., Balóira A. Estudio del polimorfismo (G/T) K198N del gen de la endotelina-1 en pacientes con Hipertensión Arterial Pulmonar (HAP) idiopática y asociada // *Revista española de hipertensión pulmonary.* 2012. Vol. 2 (1). P. 70–74.
224. Decline in FEV1 related to genetic polymorphisms (+138insA/delA and Lys198Asn) of the endothelin-1 gene in COPD. A pilot study / A. Kaparianos et al. // *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* 2010. Vol. 14. P. 705–719.
225. Positive association between two polymorphic sites (D134 insA/delA and G198T) of the endothelin-1 gene and chronic obstructive pulmonary disease. A case-control study / F. Sampsonas et al. // *Respiratory Medicine.* 2010. Vol. 104. P. 114–120.
226. Association of ET-1 gene polymorphisms with COPD phenotypes in a Caucasian population / A. Kaparianos et al. // *Monaldi. Arch. Chest. Dis.* 2011. Vol. 75 (2). P. 126–131.
227. Polymorphisms of endothelin 1 (G5665T and T-1370G) and endothelin receptor type A (C+70G and G-231A) in Graves' disease / A. F. Aydın et al. // *International Immunopharmacology.* 2014. Vol. 18. P. 198–202.

228. Endothelin axis polymorphisms in patients with scleroderma / C. Fonseca et al. // *Arthritis & Rheumatism*. 2006. Vol. 54 (9). P. 3034–3042.
229. The evaluation of endothelin 1 (EDN1) and endothelin receptor type A (EDNRA) gene polymorphisms in Hashimoto's thyroiditis / A. F. Aydin et al. // *International Immunopharmacology*. 2014. Vol. 21. P. 181–185.
230. Polymorphisms in the endothelin-1 and endothelin a receptor genes and survival in patients with locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma / Y.-F. Wen et al. // *Clin. Cancer. Res*. 2011. Vol. 17. P. 2451–2458.
231. Endothelin-1 Lys198Asn and rs10478694 polymorphism in ischemic stroke / O. Aslan et al. // *Biomedical Research*. 2017. Vol. 28 (2). P. 750–754.
232. Migraine and stroke in young women: case-control study / C. L. Chang et al. // *BMJ*. 1999. Vol. 318. P. 13–18.
233. Relation of candidate genes that encode for endothelial function to migraine and stroke: the stroke prevention in young women study / L. R. MacClellan et al. // *Stroke*. 2009. Vol. 40. P. 550–557.
234. Correlation between endothelin receptor type A gene polymorphism and sporadic intracranial aneurysms / L. Li et al. // *J. South. Med. Univ*. 2014. Vol. 34 (1). P. 60–64.
235. Role of endothelin-1 in human aneurysmal subarachnoid hemorrhage: associations with vasospasm and delayed cerebral ischemia / B. P. Thampatty et al. // *Neurocrit. Care*. 2011. Vol. 15 (1). P. 19–27.
236. Study of plasma endothelin-1 gene polymorphisms in patients with coronary artery spasm / Z. Jing et al. // *Chinese Circulation Journal*. 2011. Vol. 26 (3). P. 194–197.
237. Screening of the endothelin1 gene (EDN1) in a cohort of patients with essential left ventricular hypertrophy / M. G. Castro et al. // *Annals of Human Genetics*. 2007. Vol. 71. P. 601–610.
238. Genetic analysis of 103 candidate genes for coronary artery disease and associated phenotypes in a founder population reveals a new association between endothelin-

- 1 and high-density lipoprotein cholesterol / G. Pare et al. // *Am. J. Hum. Genet.* 2007. Vol. 80. P. 673–682.
239. Association of endothelin-1 gene polymorphisms with the clinical phenotype in primary nephrotic syndrome of children / F. Yang et al. // *Life Sciences.* 2014. Vol. 118. P. 446–450.
240. Шпагина О. В., Бондаренко И. З. Парадокс ожирения – еще один взгляд на проблему сердечно-сосудистых заболеваний // *Ожирение и метаболизм.* 2013. № 4. С. 3–9.
241. Фадеев Г. Д., Гриднев А. Е. Ожирение и риск сердечно-сосудистых заболеваний // *Ліки України.* 2009. № 7 (133). С. 55–64.
242. Зарубина Е. Г. Роль генетической предрасположенности в развитии сердечно-сосудистой патологии у лиц молодого возраста с нарушением режима труда и отдыха // *Фундаментальные исследования.* 2013. № 11. С. 51–55.
243. Association of endothelin-1 gene variant with hypertension / J. J. Jin et al. // *Hypertension.* 2003. Vol. 41. P. 163–167.
244. Endothelin-1 gene variant associates with blood pressure in obese Japanese subjects the Ohasama study / T. Asai et al. // *Hypertension.* 2001. Vol. 38. P. 1321–1324.
245. Benjafeld A. V., Katyk K., Morris B. J. Association of EDNRA, but not WNK4 or FKBP1B, polymorphisms with essential hypertension // *Clin Genet.* 2003. Vol. 64. P. 433–438.
246. Blood pressure and hypertension are associated with 7 loci in the Japanese population / F. Takeuchi et al. // *Circulation.* 2010. Vol. 121. P. 2302–2309.
247. Lawes C. M., Hoorn S. V., Rodgers A. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001 // *Lancet.* 2008. Vol. 371. P. 1513–1518.
248. Genetics of hypertension and cardiovascular disease and their interconnected pathways: lessons from large studies / A. T. Kraja et al. // *Curr. Hypertens. Rep.* 2011. Vol. 13 (1). P. 46–54.

249. Joldasbecova A. U. candidate-genes of cardiovascular diseases in Kazakh population // *Eur. Asian. Journal of BioMedicine*. 2008. Vol. 1 (3). P. 28–30.
250. Genetic determination of an endothelial function and the size of the heart sections in juvenile hypertensives / V. Adámková et al. // *J. Appl. Biomed*. 2006. Vol. 4. P. 59–65.
251. Angiotensin converting enzyme, NO-synthase, and endothelin-1 genes and left ventricular hypertrophy in natives of Yakutia with hypertensive disease / L. O. Minushkina et al. // *Kardiologiya*. 2005. Vol. 45 (1). P. 41–44.
252. Investigating the association between K198N coding polymorphism in EDN1 and hypertension, lipoprotein levels, the metabolic syndrome and cardiovascular disease / S. Wiltshire et al. // *Hum Genet*. 2008. Vol. 123. P. 307–313.
253. Dzholdasbekova A. U., Gaipov A. E. The association between polymorphism of Lys198Asn of endothelin-1 gene and arterial hypertension risk in Kazakh people // *Eur. J. Gen. Med*. 2010. Vol. 7 (2). P. 187–191.
254. Genome-wide association study for intracranial aneurysm in the Japanese population identifies three candidate susceptible loci and a functional genetic variant at EDNRA / S. K. Low et al. // *Human Molecular Genetics*. 2012. Vol. 21 (9). P. 2102–2110.
255. Роль дисфункции эндотелия в патогенезе атеросклероза / Ю. П. Никитин и др. // *Научно-практический журнал*. 2011. № 7. С. 160–169.
256. Girot M. Smoking and stroke // *Presse. Med*. 2009. Vol. 38 (7-8). P. 1120–1125.
257. Неверовский Д. В. Курение и ишемический инсульт // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2010. № 2 (4). С. 42–47.
258. Торшин И. Ю., Громова О. А., Никонов А. А. Гены и цереброваскулярная патология (гены и нуклеотидные полиморфизмы при отдельных видах физиологических сдвигов и патологических процессов) // *Журнал неврологии и психиатрии*. 2009. № 5. С. 77–85.
259. Genetic variance in nitric oxide synthase and endothelin genes among children with and without endothelial dysfunction / S. Chatsuriyawong et al. // *Journal of Translational Medicine*. 2013. Vol. 11 (227). P. 1–14.

260. Variation in genes in the endothelin pathway and endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilation in an elderly population / L. Lind et al. // *Acta Physiol.* 2013. Vol. 208. P. 88–94.
261. К вопросу о генетических механизмах развития сосудистых заболеваний мозга / В. П. Иванов и др. // *Ученые записки : электронный научный журнал Курского государственного университета.* 2010. № 2. С. 47–52.

Додаток 1

Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів EDN1 і EDNRA на розвиток варіантів ІАТІ за артеріальним басейном в осіб жіночої та чоловічої статей

Lys198Asn-поліморфізм				
	<i>Генотип</i>	<i>Передня, середня, задня мозкові артерії</i>	<i>Вертебральні та базилярна артерії</i>	<i>Поєднані варіанти</i>
Жінки	Lys/Lys	27 (43,5 %)	3 (42,9 %)	0
	Lys/Asn	30 (48,4 %)	4 (57,1 %)	2 (66,7 %)
	Asn/Asn	5 (8,1 %)	0	1 (33,3 %)
	<i>Разом</i>	62 (100 %)	7 (100 %)	3 (100 %)
	$\chi^2 = 4,414; P = 0,353$			
Чоловіки	Lys/Lys	38 (54,3 %)	7 (41,2 %)	7 (63,6 %)
	Lys/Asn	23 (32,9 %)	6 (35,3 %)	2 (18,2 %)
	Asn/Asn	9 (12,9 %)	4 (23,5 %)	2 (18,2 %)
	<i>Разом</i>	70 (100 %)	17 (100 %)	11 (100 %)
	$\chi^2 = 2,523; P = 0,640$			
C+70G-поліморфізм				
	<i>Генотип</i>	<i>Передня, середня, задня мозкові артерії</i>	<i>Вертебральні та базилярна артерії</i>	<i>Поєднані варіанти</i>
Жінки	C/C	15 (24,2 %)	4 (57,1 %)	0
	C/G	32 (51,6 %)	2 (28,6 %)	2 (66,7 %)
	G/G	15 (24,2 %)	1 (14,3 %)	1 (33,3 %)
	<i>Разом</i>	62 (100 %)	7 (100 %)	3 (100 %)
	$\chi^2 = 4,642; P = 0,326$			
Чоловіки	C/C	15 (21,4 %)	6 (35,3 %)	1 (9,1 %)
	C/G	45 (64,3 %)	8 (47,1 %)	9 (81,8 %)
	G/G	10 (14,3 %)	3 (17,6 %)	1 (9,1 %)
	<i>Разом</i>	70 (100 %)	17 (100 %)	11 (100 %)
	$\chi^2 = 3,814; P = 0,432$			

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

Додаток 2

Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів EDN1 і EDNRA на розвиток варіантів ІАТІ за артеріальним басейном у курців і осіб, що не курять

Lys198Asn-поліморфізм				
Куріння (-)	<i>Генотип</i>	<i>Передня, середня, задня мозкові артерії</i>	<i>Вертебральні та базиллярна артерії</i>	<i>Поєднані варіанти</i>
	Lys/Lys	48 (49,5 %)	6 (37,5 %)	4 (57,1 %)
	Lys/Asn	39 (40,2 %)	7 (43,8 %)	2 (28,6 %)
	Asn/Asn	10 (10,3 %)	3 (18,8 %)	1 (14,3 %)
	<i>Разом</i>	97 (100 %)	16 (100 %)	7 (100 %)
$\chi^2 = 1,696; P = 0,791$				
Куріння (+)	<i>Генотип</i>	<i>Передня, середня, задня мозкові артерії</i>	<i>Вертебральні та базиллярна артерії</i>	<i>Поєднані варіанти</i>
	Lys/Lys	17 (48,6 %)	4 (50,0 %)	3 (42,9 %)
	Lys/Asn	14 (40,0 %)	3 (37,5 %)	2 (28,6 %)
	Asn/Asn	4 (11,4 %)	1 (12,5 %)	2 (28,6 %)
	<i>Разом</i>	35 (100 %)	8 (100 %)	7 (100 %)
$\chi^2 = 1,489; P = 0,829$				
C+70G-поліморфізм				
Куріння (-)	<i>Генотип</i>	<i>Передня, середня, задня мозкові артерії</i>	<i>Вертебральні та базиллярна артерії</i>	<i>Поєднані варіанти</i>
	C/C	25 (25,8 %)	7 (43,8 %)	0
	C/G	53 (54,6 %)	7 (43,8 %)	6 (85,7 %)
	G/G	19 (19,6 %)	2 (12,5 %)	1 (14,3 %)
	<i>Разом</i>	97 (100 %)	16 (100 %)	7 (100 %)
$\chi^2 = 5,661; P = 0,226$				
Куріння (+)	<i>Генотип</i>	<i>Передня, середня, задня мозкові артерії</i>	<i>Вертебральні та базиллярна артерії</i>	<i>Поєднані варіанти</i>
	C/C	5 (14,3 %)	3 (37,5 %)	1 (14,3 %)
	C/G	24 (68,6 %)	3 (37,5 %)	5 (71,4 %)
	G/G	6 (17,1 %)	2 (25,0 %)	1 (14,3 %)
	<i>Разом</i>	35 (100 %)	8 (100 %)	7 (100 %)
$\chi^2 = 3,350; P = 0,501$				

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

Додаток 3

Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів EDN1 і EDNRA на розвиток варіантів ІАТІ за артеріальним басейном в осіб з різним ІМТ

Lys198Asn-поліморфізм				
ІМТ < 25 кг/м ²	Генотип	Передня, середня, задня мозкові артерії	Вертебральні та базиллярна артерії	Поєднані варіанти
	Lys/Lys	15 (46,9 %)	2 (40,0 %)	1 (25,0 %)
	Lys/Asn	15 (46,9 %)	3 (60,0 %)	0
	Asn/Asn	2 (6,3 %)	0	3 (75,0 %)
	Разом	32 (100 %)	5 (100 %)	4 (100 %)
$\chi^2 = 16,998; P = 0,002$				
ІМТ ≥ 25 кг/м ²	Генотип	Передня, середня, задня мозкові артерії	Вертебральні та базиллярна артерії	Поєднані варіанти
	Lys/Lys	50 (50,0 %)	8 (42,1 %)	6 (60,0 %)
	Lys/Asn	38 (38,0 %)	7 (36,8 %)	4 (40,0 %)
	Asn/Asn	12 (12,0 %)	4 (21,1 %)	0
	Разом	100 (100 %)	19 (100 %)	10 (100 %)
$\chi^2 = 2,853; P = 0,583$				
C+70G-поліморфізм				
ІМТ < 25 кг/м ²	Генотип	Передня, середня, задня мозкові артерії	Вертебральні та базиллярна артерії	Поєднані варіанти
	C/C	2 (6,3 %)	2 (40,0 %)	0
	C/G	23 (71,9 %)	2 (40,0 %)	3 (75,0 %)
	G/G	7 (21,9 %)	1 (20,0 %)	1 (25,0 %)
	Разом	32 (100 %)	5 (100 %)	4 (100 %)
$\chi^2 = 6,179; P = 0,186$				
ІМТ ≥ 25 кг/м ²	Генотип	Передня, середня, задня мозкові артерії	Вертебральні та базиллярна артерії	Поєднані варіанти
	C/C	28 (28,0 %)	8 (42,1 %)	1 (10,0 %)
	C/G	54 (54,0 %)	8 (42,1 %)	8 (80,0 %)
	G/G	18 (18,0 %)	3 (15,8 %)	1 (10,0 %)
	Разом	100 (100 %)	19 (100 %)	10 (100 %)
$\chi^2 = 4,528; P = 0,339$				

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

Додаток 4

Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів EDN1 і EDNRA на розвиток варіантів ІАТІ за артеріальним басейном в осіб з нормальним і підвищеним АТ

Lys198Asn-поліморфізм				
НАТ	<i>Генотип</i>	<i>Передня, середня, задня мозкові артерії</i>	<i>Вертебральні та базиллярна артерії</i>	<i>Поєднані варіанти</i>
	Lys/Lys	18 (62,1 %)	5 (62,5 %)	3 (60,0 %)
	Lys/Asn	6 (20,7 %)	3 (37,5 %)	1 (20,0 %)
	Asn/Asn	5 (17,2 %)	0	1 (20,0 %)
	<i>Разом</i>	29 (100 %)	8 (100 %)	5 (100 %)
$\chi^2 = 2,217; P = 0,696$				
АГ	<i>Генотип</i>	<i>Передня, середня, задня мозкові артерії</i>	<i>Вертебральні та базиллярна артерії</i>	<i>Поєднані варіанти</i>
	Lys/Lys	47 (45,6 %)	5 (31,3 %)	4 (44,4 %)
	Lys/Asn	47 (45,6 %)	7 (43,8 %)	3 (33,3 %)
	Asn/Asn	9 (8,7 %)	4 (25,0 %)	2 (22,2 %)
	<i>Разом</i>	103 (100 %)	16 (100 %)	9 (100 %)
$\chi^2 = 4,976; P = 0,290$				
C+70G-поліморфізм				
НАТ	<i>Генотип</i>	<i>Передня, середня, задня мозкові артерії</i>	<i>Вертебральні та базиллярна артерії</i>	<i>Поєднані варіанти</i>
	C/C	4 (13,8 %)	4 (50,0 %)	1 (20,0 %)
	C/G	19 (65,5 %)	1 (12,5 %)	4 (80,0 %)
	G/G	6 (20,7 %)	3 (37,5 %)	0
	<i>Разом</i>	29 (100 %)	8 (100 %)	5 (100 %)
$\chi^2 = 9,488; P = 0,050$				
АГ	<i>Генотип</i>	<i>Передня, середня, задня мозкові артерії</i>	<i>Вертебральні та базиллярна артерії</i>	<i>Поєднані варіанти</i>
	C/C	26 (25,2 %)	6 (37,5 %)	0
	C/G	58 (56,3 %)	9 (56,3 %)	7 (77,8 %)
	G/G	19 (18,4 %)	1 (6,3 %)	2 (22,2 %)
	<i>Разом</i>	103 (100 %)	16 (100 %)	9 (100 %)
$\chi^2 = 5,261; P = 0,262$				

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

Додаток 5

Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів EDN1 і EDNRA на тяжкість клінічного перебігу ІАТІ в осіб жіночої та чоловічої статей

Lys198Asn-поліморфізм				
Жінки	<i>Генотип</i>	<i>Легкий</i>	<i>Середньої тяжкості</i>	<i>Тяжкий</i>
	Lys/Lys	14 (53,8 %)	8 (32,0 %)	8 (38,1 %)
	Lys/Asn	10 (38,5 %)	14 (56,0 %)	12 (57,1 %)
	Asn/Asn	2 (7,7 %)	3 (12,0 %)	1 (4,8 %)
	<i>Разом</i>	26 (100 %)	25 (100 %)	21 (100 %)
$\chi^2 = 3,375; P = 0,497$				
Чоловіки	<i>Генотип</i>	<i>Легкий</i>	<i>Середньої тяжкості</i>	<i>Тяжкий</i>
	Lys/Lys	19 (65,5 %)	23 (56,1 %)	10 (35,7 %)
	Lys/Asn	5 (17,2 %)	15 (36,6 %)	11 (39,3 %)
	Asn/Asn	5 (17,2 %)	3 (7,3 %)	7 (25,0 %)
	<i>Разом</i>	29 (100 %)	41 (100 %)	28 (100 %)
$\chi^2 = 8,742; P = 0,068$				
C+70G-поліморфізм				
Жінки	<i>Генотип</i>	<i>Легкий</i>	<i>Середньої тяжкості</i>	<i>Тяжкий</i>
	C/C	11 (42,3 %)	3 (12,0 %)	5 (23,8 %)
	C/G	11 (42,3 %)	14 (56,0 %)	11 (52,4 %)
	G/G	4 (15,4 %)	8 (32,0 %)	5 (23,8 %)
	<i>Разом</i>	26 (100 %)	25 (100 %)	21 (100 %)
$\chi^2 = 6,513; P = 0,164$				
Чоловіки	<i>Генотип</i>	<i>Легкий</i>	<i>Середньої тяжкості</i>	<i>Тяжкий</i>
	C/C	6 (20,7 %)	7 (17,1 %)	9 (32,1 %)
	C/G	21 (72,4 %)	29 (70,7 %)	12 (42,9 %)
	G/G	2 (6,9 %)	5 (12,2 %)	7 (25,0 %)
	<i>Разом</i>	29 (100 %)	41 (100 %)	28 (100 %)
$\chi^2 = 7,812; P = 0,099$				

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

Додаток 6

Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів EDN1 і EDNRA на тяжкість клінічного перебігу ІАГІ в осіб з різним ІМТ

Lys198Asn-поліморфізм				
	<i>Генотип</i>	<i>Легкий</i>	<i>Середньої тяжкості</i>	<i>Тяжкий</i>
ІМТ < 25 кг/м ²	Lys/Lys	8 (61,5 %)	7 (43,8 %)	3 (25,0 %)
	Lys/Asn	4 (30,8 %)	7 (43,8 %)	7 (58,3 %)
	Asn/Asn	1 (7,7 %)	2 (12,5 %)	2 (16,7 %)
	<i>Разом</i>	13 (100 %)	16 (100 %)	12 (100 %)
	$\chi^2 = 3,392; P = 0,495$			
ІМТ ≥ 25 кг/м ²	Lys/Lys	25 (59,5 %)	24 (48,0 %)	15 (40,5 %)
	Lys/Asn	11 (26,2 %)	22 (44,0 %)	16 (43,2 %)
	Asn/Asn	6 (14,3 %)	4 (8,0 %)	6 (16,2 %)
	<i>Разом</i>	42 (100 %)	50 (100 %)	37 (100 %)
	$\chi^2 = 5,091; P = 0,278$			
C+70G-поліморфізм				
	<i>Генотип</i>	<i>Легкий</i>	<i>Середньої тяжкості</i>	<i>Тяжкий</i>
ІМТ < 25 кг/м ²	C/C	0	3 (18,8 %)	1 (8,3 %)
	C/G	10 (76,9 %)	11 (68,8 %)	7 (58,3 %)
	G/G	3 (23,1 %)	2 (12,5 %)	4 (33,3 %)
	<i>Разом</i>	13 (100 %)	16 (100 %)	12 (100 %)
	$\chi^2 = 4,303; P = 0,367$			
ІМТ ≥ 25 кг/м ²	C/C	17 (40,5 %)	7 (14,0 %)	13 (35,1 %)
	C/G	22 (52,4 %)	32 (64,0 %)	16 (43,2 %)
	G/G	3 (7,1 %)	11 (22,0 %)	8 (21,6 %)
	<i>Разом</i>	42 (100 %)	50 (100 %)	37 (100 %)
	$\chi^2 = 11,650; P = 0,020$			

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

Додаток 7

Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів EDN1 і EDNRA на тяжкість клінічного перебігу ІАТІ у осіб з нормальним і підвищеним АТ

Lys198Asn-поліморфізм				
	<i>Генотип</i>	<i>Легкий</i>	<i>Середньої тяжкості</i>	<i>Тяжкий</i>
НАТ	Lys/Lys	9 (64,3 %)	9 (56,3 %)	8 (66,7 %)
	Lys/Asn	2 (14,3 %)	4 (25,0 %)	4 (33,3 %)
	Asn/Asn	3 (21,4 %)	3 (18,8 %)	0
	<i>Разом</i>	14 (100 %)	16 (100 %)	12 (100 %)
	$\chi^2 = 3,577; P = 0,466$			
АГ	<i>Генотип</i>	<i>Легкий</i>	<i>Середньої тяжкості</i>	<i>Тяжкий</i>
	Lys/Lys	24 (58,5 %)	22 (44,0 %)	10 (27,0 %)
	Lys/Asn	13 (31,7 %)	25 (50,0 %)	19 (51,4 %)
	Asn/Asn	4 (9,8 %)	3 (6,0 %)	8 (21,6 %)
	<i>Разом</i>	41 (100 %)	50 (100 %)	37 (100 %)
$\chi^2 = 11,278; P = 0,024$				
C+70G-поліморфізм				
	<i>Генотип</i>	<i>Легкий</i>	<i>Середньої тяжкості</i>	<i>Тяжкий</i>
НАТ	C/C	2 (14,3 %)	2 (12,5 %)	5 (41,7 %)
	C/G	10 (71,4 %)	10 (62,5 %)	4 (33,3 %)
	G/G	2 (14,3 %)	4 (25,0 %)	3 (25,0 %)
	<i>Разом</i>	14 (100 %)	16 (100 %)	12 (100 %)
	$\chi^2 = 5,493; P = 0,240$			
АГ	<i>Генотип</i>	<i>Легкий</i>	<i>Середньої тяжкості</i>	<i>Тяжкий</i>
	C/C	15 (36,6 %)	8 (16,0 %)	9 (24,3 %)
	C/G	22 (53,7 %)	33 (66,0 %)	19 (51,4 %)
	G/G	4 (9,8 %)	9 (18,0 %)	9 (24,3 %)
	<i>Разом</i>	41 (100 %)	50 (100 %)	37 (100 %)
$\chi^2 = 7,230; P = 0,124$				

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

Додаток 8

Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів EDN1 і EDNRA на тяжкість клінічного перебігу ІАТІ у курців і осіб, що не курять

Lys198Asn-поліморфізм				
Куріння (-)	Генотип	Легкий	Середньої тяжкості	Тяжкий
	Lys/Lys	27 (65,9 %)	22 (46,8 %)	9 (28,1 %)
	Lys/Asn	10 (24,4 %)	21 (44,7 %)	17 (53,1 %)
	Asn/Asn	4 (9,8 %)	4 (8,5 %)	6 (18,8 %)
	Разом	41 (100 %)	47 (100 %)	32 (100 %)
$\chi^2 = 11,369$; P = 0,023				
Куріння (+)	Генотип	Легкий	Середньої тяжкості	Тяжкий
	Lys/Lys	6 (42,9 %)	9 (47,4 %)	9 (52,9 %)
	Lys/Asn	5 (35,7 %)	8 (42,1 %)	6 (35,3 %)
	Asn/Asn	3 (21,4 %)	2 (10,5 %)	2 (11,8 %)
	Разом	14 (100 %)	19 (100 %)	17 (100 %)
$\chi^2 = 1,078$; P = 0,898				
C+70G-поліморфізм				
Куріння (-)	Генотип	Легкий	Середньої тяжкості	Тяжкий
	C/C	15 (36,6 %)	8 (17,0 %)	9 (28,1 %)
	C/G	22 (53,7 %)	30 (63,8 %)	14 (43,8 %)
	G/G	4 (9,8 %)	9 (19,1 %)	9 (28,1 %)
	Разом	41 (100 %)	47 (100 %)	32 (100 %)
$\chi^2 = 7,930$; P = 0,094				
Куріння (+)	Генотип	Легкий	Середньої тяжкості	Тяжкий
	C/C	2 (14,3 %)	2 (10,5 %)	5 (29,4 %)
	C/G	10 (71,4 %)	13 (68,4 %)	9 (52,9 %)
	G/G	2 (14,3 %)	4 (21,1 %)	3 (17,6 %)
	Разом	14 (100 %)	19 (100 %)	17 (100 %)
$\chi^2 = 2,637$; P = 0,620				

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

Додаток 9

Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів *EDN1* і *EDNRA* на частоту повторних випадків ІАТІ в осіб жіночої та чоловічої статей

Lys198Asn-поліморфізм			
Жінки	<i>Генотип</i>	<i>Первинний</i>	<i>Повторний</i>
	Lys/Lys	21 (41,2 %)	9 (42,9 %)
	Lys/Asn	26 (51,0 %)	10 (47,6 %)
	Asn/Asn	4 (7,8 %)	2 (9,5 %)
	<i>Разом</i>	51 (100 %)	21 (100 %)
$\chi^2 = 0,094; P = 0,954$			
Чоловіки	<i>Генотип</i>	<i>Первинний</i>	<i>Повторний</i>
	Lys/Lys	27 (50,0 %)	25 (56,8 %)
	Lys/Asn	18 (33,3 %)	13 (29,5 %)
	Asn/Asn	9 (16,7 %)	6 (13,6 %)
	<i>Разом</i>	54 (100 %)	44 (100 %)
$\chi^2 = 0,468; P = 0,791$			
C+70G-поліморфізм			
Жінки	<i>Генотип</i>	<i>Первинний</i>	<i>Повторний</i>
	C/C	16 (31,4 %)	3 (14,3 %)
	C/G	23 (45,1 %)	13 (61,9 %)
	G/G	12 (23,5 %)	5 (23,8 %)
	<i>Разом</i>	51 (100 %)	21 (100 %)
$\chi^2 = 2,487; P = 0,288$			
Чоловіки	<i>Генотип</i>	<i>Первинний</i>	<i>Повторний</i>
	C/C	15 (27,8 %)	7 (15,9 %)
	C/G	32 (59,3 %)	30 (68,2 %)
	G/G	7 (13,0 %)	7 (15,9 %)
	<i>Разом</i>	54 (100 %)	44 (100 %)
$\chi^2 = 1,974; P = 0,373$			

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

Додаток 10

Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів EDN1 і EDNRA на частоту повторних випадків ІАТІ в осіб з різним ІМТ

Lys198Asn-поліморфізм			
ІМТ < 25 кг/м ²	<i>Генотип</i>	<i>Первинний</i>	<i>Повторний</i>
	Lys/Lys	10 (40,0 %)	8 (50,0 %)
	Lys/Asn	13 (52,0 %)	5 (31,3 %)
	Asn/Asn	2 (8,0 %)	3 (18,8 %)
	<i>Разом</i>	25 (100 %)	16 (100 %)
$\chi^2 = 2,104; P = 0,349$			
ІМТ ≥ 25 кг/м ²	<i>Генотип</i>	<i>Первинний</i>	<i>Повторний</i>
	Lys/Lys	38 (47,5 %)	26 (53,1 %)
	Lys/Asn	31 (38,8 %)	18 (36,7 %)
	Asn/Asn	11 (13,8 %)	5 (10,2 %)
	<i>Разом</i>	80 (100 %)	49 (100 %)
$\chi^2 = 0,530; P = 0,767$			
C+70G-поліморфізм			
ІМТ < 25 кг/м ²	<i>Генотип</i>	<i>Первинний</i>	<i>Повторний</i>
	C/C	4 (16,0 %)	0
	C/G	17 (68,0 %)	11 (68,8 %)
	G/G	4 (16,0 %)	5 (31,3 %)
	<i>Разом</i>	25 (100 %)	16 (100 %)
$\chi^2 = 3,594; P = 0,166$			
ІМТ ≥ 25 кг/м ²	<i>Генотип</i>	<i>Первинний</i>	<i>Повторний</i>
	C/C	27 (33,8 %)	10 (20,4 %)
	C/G	38 (47,5 %)	32 (65,3 %)
	G/G	15 (18,8 %)	7 (14,3 %)
	<i>Разом</i>	80 (100 %)	49 (100 %)
$\chi^2 = 4,017; P = 0,134$			

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

Додаток 11

Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів *EDN1* і *EDNRA* на частоту повторних випадків ІАТІ в осіб з нормальним і підвищеним АТ

Lys198Asn-поліморфізм			
	<i>Генотип</i>	<i>Первинний</i>	<i>Повторний</i>
НАТ	Lys/Lys	14 (53,8 %)	12 (75,0 %)
	Lys/Asn	7 (26,9 %)	3 (18,8 %)
	Asn/Asn	5 (19,2 %)	1 (6,3 %)
	<i>Разом</i>	26 (100 %)	16 (100 %)
	$\chi^2 = 2,162; P = 0,339$		
АГ	Lys/Lys	34 (43,0 %)	22 (44,9 %)
	Lys/Asn	37 (46,8 %)	20 (40,8 %)
	Asn/Asn	8 (10,1 %)	7 (14,3 %)
	<i>Разом</i>	79 (100 %)	49 (100 %)
	$\chi^2 = 0,716; P = 0,699$		
C+70G-поліморфізм			
	<i>Генотип</i>	<i>Первинний</i>	<i>Повторний</i>
НАТ	C/C	6 (23,1 %)	3 (18,8 %)
	C/G	15 (57,7 %)	9 (56,3 %)
	G/G	5 (19,2 %)	4 (25,0 %)
	<i>Разом</i>	26 (100 %)	16 (100 %)
	$\chi^2 = 0,244; P = 0,885$		
АГ	C/C	25 (31,6 %)	7 (14,3 %)
	C/G	40 (50,6 %)	34 (69,4 %)
	G/G	14 (17,7 %)	8 (16,3 %)
	<i>Разом</i>	79 (100 %)	49 (100 %)
	$\chi^2 = 5,520; P = 0,063$		

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

Додаток 12

Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів EDN1 і EDNRA на частоту повторних випадків ІАТІ у курців і осіб, що не курять

Lys198Asn-поліморфізм			
Куріння (-)	<i>Генотип</i>	<i>Первинний</i>	<i>Повторний</i>
	Lys/Lys	36 (45,0 %)	22 (55,0 %)
	Lys/Asn	35 (43,8 %)	13 (32,5 %)
	Asn/Asn	9 (11,3 %)	5 (12,5 %)
	<i>Разом</i>	80 (100 %)	40 (100 %)
$\chi^2 = 1,431; P = 0,489$			
Куріння (+)	<i>Генотип</i>	<i>Первинний</i>	<i>Повторний</i>
	Lys/Lys	12 (48,0 %)	12 (48,0 %)
	Lys/Asn	9 (36,0 %)	10 (40,0 %)
	Asn/Asn	4 (16,0 %)	3 (12,0 %)
	<i>Разом</i>	25 (100 %)	25 (100 %)
$\chi^2 = 0,195; P = 0,907$			
C+70G-поліморфізм			
Куріння (-)	<i>Генотип</i>	<i>Первинний</i>	<i>Повторний</i>
	C/C	25 (31,3 %)	7 (17,5 %)
	C/G	40 (50,0 %)	26 (65,0 %)
	G/G	15 (18,8 %)	7 (17,5 %)
	<i>Разом</i>	80 (100 %)	40 (100 %)
$\chi^2 = 3,004; P = 0,223$			
Куріння (+)	<i>Генотип</i>	<i>Первинний</i>	<i>Повторний</i>
	C/C	6 (24,0 %)	3 (12,0 %)
	C/G	15 (60,0 %)	17 (68,0 %)
	G/G	4 (16,0 %)	5 (20,0 %)
	<i>Разом</i>	25 (100 %)	49 (100 %)
$\chi^2 = 1,236; P = 0,539$			

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

Додаток 13

Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів EDN1 і EDNRA на розвиток клінічних проявів ІАТІ у осіб жіночої та чоловічої статей

Lys198Asn-поліморфізм				
Жінки	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення</i>	<i>Сенсорні порушення</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення</i>
	Lys/Lys	-	2 (20,0 %)	28 (45,2 %)
	Lys/Asn	-	8 (80,0 %)	28 (45,2 %)
	Asn/Asn	-	0	6 (9,7 %)
	<i>Разом</i>	-	10 (100 %)	62 (100 %)
$\chi^2 = 4,366; P = 0,113$				
Чоловіки	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення</i>	<i>Сенсорні порушення</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення</i>
	Lys/Lys	2 (50,0 %)	7 (38,9 %)	43 (56,6 %)
	Lys/Asn	2 (50,0 %)	8 (44,4 %)	21 (27,6 %)
	Asn/Asn	0	3 (16,7 %)	12 (15,8 %)
	<i>Разом</i>	4 (100 %)	18 (100 %)	76 (100 %)
$\chi^2 = 3,257; P = 0,516$				
C+70G-поліморфізм				
Жінки	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення</i>	<i>Сенсорні порушення</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення</i>
	C/C	-	4 (40,0 %)	15 (24,2 %)
	C/G	-	2 (20,0 %)	34 (54,8 %)
	G/G	-	4 (40,0 %)	13 (21,0 %)
	<i>Разом</i>	-	10 (100 %)	62 (100 %)
$\chi^2 = 4,227; P = 0,121$				
Чоловіки	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення</i>	<i>Сенсорні порушення</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення</i>
	C/C	1 (25,0 %)	5 (27,8 %)	16 (21,1 %)
	C/G	1 (25,0 %)	12 (66,7 %)	49 (64,5 %)
	G/G	2 (50,0 %)	1 (5,6 %)	11 (14,5 %)
	<i>Разом</i>	4 (100 %)	18 (100 %)	76 (100 %)
$\chi^2 = 5,815; P = 0,213$				

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

Додаток 14

Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів *EDN1* і *EDNRA* на розвиток клінічних проявів ІАТІ у осіб з різним ІМТ

Lys198Asn-поліморфізм				
	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення</i>	<i>Сенсорні порушення</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення</i>
ІМТ < 25 кг/м ²	Lys/Lys	-	2 (28,6 %)	16 (47,1 %)
	Lys/Asn	-	4 (57,1 %)	14 (41,2 %)
	Asn/Asn	-	1 (14,3 %)	4 (11,8 %)
	<i>Разом</i>	-	7 (100 %)	34 (100 %)
	$\chi^2 = 0,819; P = 0,664$			
ІМТ ≥ 25 кг/м ²	Lys/Lys	2 (50,0 %)	7 (33,3 %)	55 (52,9 %)
	Lys/Asn	2 (50,0 %)	12 (57,1 %)	35 (33,7 %)
	Asn/Asn	0	2 (9,5 %)	14 (13,5 %)
	<i>Разом</i>	4 (100 %)	21 (100 %)	104 (100 %)
	$\chi^2 = 4,771; P = 0,312$			
C+70G-поліморфізм				
	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення</i>	<i>Сенсорні порушення</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення</i>
ІМТ < 25 кг/м ²	C/C	-	2 (28,6 %)	2 (5,9 %)
	C/G	-	4 (57,1 %)	24 (70,6 %)
	G/G	-	1 (14,3 %)	8 (23,5 %)
	<i>Разом</i>	-	7 (100 %)	34 (100 %)
	$\chi^2 = 3,443; P = 0,179$			
ІМТ ≥ 25 кг/м ²	C/C	1 (25,0 %)	7 (33,3 %)	29 (27,9 %)
	C/G	1 (25,0 %)	10 (47,6 %)	59 (56,7 %)
	G/G	2 (50,0 %)	4 (19,0 %)	16 (15,4 %)
	<i>Разом</i>	4 (100 %)	21 (100 %)	104 (100 %)
	$\chi^2 = 3,884; P = 0,422$			

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

Додаток 15

Вплив Lys198Asn- і C+70G-поліморфізмів генів EDN1 і EDNRA на розвиток клінічних проявів ІАТІ у осіб з нормальним і високим АТ

Lys198Asn-поліморфізм				
	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення</i>	<i>Сенсорні порушення</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення</i>
НАТ	Lys/Lys	0	5 (45,5 %)	21 (70,0 %)
	Lys/Asn	1 (100 %)	5 (45,5 %)	4 (13,3 %)
	Asn/Asn	0	1 (9,1 %)	5 (16,7 %)
	<i>Разом</i>	1 (100 %)	11 (100 %)	30 (100 %)
	$\chi^2 = 7,873; P = 0,096$			
АГ	Lys/Lys	2 (66,7 %)	4 (23,5 %)	50 (46,3 %)
	Lys/Asn	1 (33,3 %)	11 (64,7 %)	45 (41,7 %)
	Asn/Asn	0	2 (11,8 %)	13 (12,0 %)
	<i>Разом</i>	3 (100 %)	17 (100 %)	108 (100 %)
	$\chi^2 = 4,307; P = 0,366$			
C+70G-поліморфізм				
	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення</i>	<i>Сенсорні порушення</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення</i>
НАТ	C/C	0	4 (36,4 %)	5 (16,7 %)
	C/G	1 (100 %)	5 (45,5 %)	18 (60,0 %)
	G/G	0	2 (18,2 %)	7 (23,3 %)
	<i>Разом</i>	1 (100 %)	11 (100 %)	30 (100 %)
	$\chi^2 = 2,623; P = 0,623$			
АГ	C/C	1 (33,3 %)	5 (29,4 %)	26 (24,1 %)
	C/G	0	9 (52,9 %)	65 (60,2 %)
	G/G	2 (66,7 %)	3 (17,6 %)	17 (15,7 %)
	<i>Разом</i>	3 (100 %)	17 (100 %)	108 (100 %)
	$\chi^2 = 6,569; P = 0,161$			

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

Додаток 16

Вплив Lys198Asn- і С+70G-поліморфізмів генів EDN1 і EDNRA на розвиток клінічних проявів ІАТІ у курців і осіб, що не курять

Lys198Asn-поліморфізм				
Куріння (-)	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення</i>	<i>Сенсорні порушення</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення</i>
	Lys/Lys	2 (100 %)	5 (31,3 %)	51 (50,0 %)
	Lys/Asn	0	10 (62,5 %)	38 (37,3 %)
	Asn/Asn	0	1 (6,3 %)	13 (12,7 %)
	<i>Разом</i>	2 (100 %)	16 (100 %)	102 (100 %)
$\chi^2 = 5,884; P = 0,208$				
Куріння (+)	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення</i>	<i>Сенсорні порушення</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення</i>
	Lys/Lys	0	4 (33,3 %)	20 (55,6 %)
	Lys/Asn	2 (100,0 %)	6 (50,0 %)	11 (30,6 %)
	Asn/Asn	0	2 (16,7 %)	5 (13,9 %)
	<i>Разом</i>	2 (100 %)	12 (100 %)	36 (100 %)
$\chi^2 = 5,270; P = 0,261$				
С+70G-поліморфізм				
Куріння (-)	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення</i>	<i>Сенсорні порушення</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення</i>
	C/C	1 (50,0 %)	6 (37,5 %)	25 (24,5 %)
	C/G	0	6 (37,5 %)	60 (58,8 %)
	G/G	1 (50,0 %)	4 (25,0 %)	17 (16,7 %)
	<i>Разом</i>	2 (100 %)	16 (100 %)	102 (100 %)
$\chi^2 = 5,189; P = 0,268$				
Куріння (+)	<i>Генотип</i>	<i>Рухові порушення</i>	<i>Сенсорні порушення</i>	<i>Сенсорно-рухові порушення</i>
	C/C	0	3 (25,0 %)	6 (16,7 %)
	C/G	1 (50,0 %)	8 (66,7 %)	23 (63,9 %)
	G/G	1 (50,0 %)	1 (8,3 %)	7 (19,4 %)
	<i>Разом</i>	2 (100 %)	12 (100 %)	36 (100 %)
$\chi^2 = 2,599; P = 0,627$				

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

ЗАТВЕРДЖУЮ

Ректор Національного фармацевтичного університету

академік НАН України, проф. В.П.Черних

2016 року



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень Олешко Т.Б. в навчальний процес

1. **Пропозиції для впровадження:** Роль поліморфізму гена ендотеліну-1 в розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту.
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет, м. Суми, вул. Римського-Корсакова, 2, 40007.
3. **Джерело інформації**
 1. Олешко Т.Б. Аналіз зв'язку Lys198Asn поліморфних варіантів гена ендотеліну-1 (EDN-1) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі / Т.Б. Олешко, Д.Ю. Свириденко, В.Ю. Гарбузова // Clin. and experim. pathol. – 2016. – Vol.15, №1 (55). – С.99-103.
 2. Олешко Т.Б. Особливості асоціації Lys198Asn поліморфізму гена EDN-1 з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту залежно від індексу маси тіла / Т.Б. Олешко, Д.Ю. Свириденко, В.Ю. Гарбузова // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2016. – Т.16., № 2(54). – С. 152-156.
 3. Олешко Т.Б. Розподіл алельних варіантів за Lys198Asn поліморфізмом гена ендотеліну-1 у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом у курців та осіб, які не палять / Т.Б. Олешко, Д.Ю. Свириденко, В.Ю. Гарбузова // J. Clin. Exp. Med. Res. – 2016. – Vol. 4(2). – С. 335–340.
4. **Базова установа яка проводить впровадження:** кафедра патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету.
5. **Термін впровадження:** січень-грудень 2016 року.
6. **Форма впровадження:** в лекційний курс і практичні заняття при вивченні розділів «Патофізіологія серця і судин», « Патофізіологія нервової системи».
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження :
завідувач кафедри патологічної фізіології
Національного фармацевтичного університету
д.м.н., професор

Н.М. Кононенко

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з навчальної роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
проф.Ю.Й. Гумінський
«15» XII 2016 року

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

матеріалів наукових досліджень Олешко Т.Б. в навчальний процес

1. **Пропозиції для впровадження:** Роль поліморфізму гена ендотеліну-1 в розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту.
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет, м. Суми, вул. Римського-Корсакова,2, 40007.
3. **Джерело інформації**
 1. Олешко Т.Б. Аналіз зв'язку Lys198Asn поліморфних варіантів гена ендотеліну-1 (EDN-1) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі / Т.Б. Олешко, Д.Ю. Свириденко, В.Ю. Гарбузова // Clin. and experim. pathol. – 2016. – Vol.15, №1 (55). – С.99-103.
 2. Олешко Т.Б. Особливості асоціації Lys198Asn поліморфізму гена EDN-1 з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту залежно від індексу маси тіла / Т.Б. Олешко, Д.Ю. Свириденко, В.Ю. Гарбузова // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2016. – Т.16., № 2(54). – С. 152-156.
 3. Олешко Т.Б. Розподіл алельних варіантів за Lys198Asn поліморфізмом гена ендотеліну-1 у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом у курців та осіб, які не палять / Т.Б. Олешко, Д.Ю. Свириденко, В.Ю. Гарбузова // J. Clin. Exp. Med. Res. – 2016. – Vol. 4(2). – С. 335–340.
4. **Базова установа яка проводить впровадження:** кафедра патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.
5. **Термін впровадження:** січень-грудень 2016 року.
6. **Форма впровадження:** в лекційний курс і практичні заняття при вивченні розділів «Патофізіологія серця і судин», «Патофізіологія нервової системи».
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження :
завідувач кафедри патофізіології
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
д.м.н., професор

Н.А. Рикало

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор Івано-Франківського
Національного Медичного університету

Л.М. Заяць
проф. Г.М. Ерстенюк
«*17*» *12*» 2016 року

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

матеріалів наукових досліджень Олешко Т.Б. в навчальний процес

1. **Пропозиції для впровадження:** Роль поліморфізму гена ендотеліну-1 в розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту.
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет, м. Суми, вул. Римського-Корсакова, 2, 40007.
3. **Джерело інформації**
 1. Олешко Т.Б. Аналіз зв'язку Lys198Asn поліморфних варіантів гена ендотеліну-1 (EDN-1) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі / Т.Б. Олешко, Д.Ю. Свириденко, В.Ю. Гарбузова // Clin. and experim. pathol. – 2016. – Vol.15, №1 (55). – С.99-103.
 2. Олешко Т.Б. Особливості асоціації Lys198Asn поліморфізму гена EDN-1 з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту залежно від індексу маси тіла / Т.Б. Олешко, Д.Ю. Свириденко, В.Ю. Гарбузова // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2016. – Т.16., № 2(54). – С. 152-156.
 3. Олешко Т.Б. Розподіл алельних варіантів за Lys198Asn поліморфізмом гена ендотеліну-1 у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом у курців та осіб, які не палять / Т.Б. Олешко, Д.Ю. Свириденко, В.Ю. Гарбузова // J. Clin. Exp. Med. Res. – 2016. – Vol. 4(2). – С. 335–340.
4. **Базова установа яка проводить впровадження:** кафедра патофізіології Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Термін впровадження:** січень-грудень 2016 року.
6. **Форма впровадження:** в лекційний курс і практичні заняття при вивченні розділів «Патофізіологія серця і судин», «Патофізіологія нервової системи».
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження :
завідувач кафедри патофізіології
Івано-Франківського національного медичного
університету д.м.н., професор

Л.М. Заяць

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний
університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ
України»

проф. А.Г. Шульгай

« 14 » XII 2016 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень Олешко Т.Б. в навчальний процес

1. **Пропозиції для впровадження:** Роль поліморфізму гена ендотеліну-1 в розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту.
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет, м. Суми, вул. Римського-Корсакова, 2, 40007.
3. **Джерело інформації**
 1. Олешко Т.Б. Аналіз зв'язку Lys198Asn поліморфних варіантів гена ендотеліну-1 (EDN-1) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі / Т.Б. Олешко, Д.Ю. Свириденко, В.Ю. Гарбузова // Clin. and experim. pathol. – 2016. – Vol.15, №1 (55). – С.99-103.
 2. Олешко Т.Б. Особливості асоціації Lys198Asn поліморфізму гена EDN-1 з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту залежно від індексу маси тіла / Т.Б. Олешко, Д.Ю. Свириденко, В.Ю. Гарбузова // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2016. – Т.16., № 2(54). – С. 152-156.
 3. Олешко Т.Б. Розподіл алельних варіантів за Lys198Asn поліморфізмом гена ендотеліну-1 у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом у курців та осіб, які не палять / Т.Б. Олешко, Д.Ю. Свириденко, В.Ю. Гарбузова // J. Clin. Exp. Med. Res. – 2016. – Vol. 4(2). – С. 335–340.
4. **Базова установа яка проводить впровадження:** кафедра патологічної фізіології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України»
5. **Термін впровадження:** січень-грудень 2016 року.
6. **Форма впровадження:** в лекційний курс і практичні заняття при вивченні розділів «Патофізіологія серця і судин», «Патофізіологія нервової системи».
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження :

завідувач кафедри патофізіології ДВНЗ
«Тернопільський державний медичний
університет ім. І.Я. Горбачевського
МОЗ України» д.м.н., професор



Ю.І. Бондаренко

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор
Сумського державного університету
В.Д. Карбуша

« 16 » _____ 2016 року



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукових досліджень Олешко Т.Б. в навчальний процес

1. **Пропозиції для впровадження:** Роль поліморфізму гена ендотеліну-1 в розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту.
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет, м. Суми, вул. Римського-Корсакова, 2, 40007.
3. **Джерело інформації**
 1. Олешко Т.Б. Аналіз зв'язку Lys198Asn поліморфних варіантів гена ендотеліну-1 (EDN-1) з ішемічним атеротромботичним інсультом в осіб різної статі / Т.Б. Олешко, Д.Ю. Свириденко, В.Ю. Гарбузова // Clin. and experim. pathol. – 2016. – Vol.15, №1 (55). – С.99-103.
 2. Олешко Т.Б. Особливості асоціації Lys198Asn поліморфізму гена EDN-1 з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту залежно від індексу маси тіла / Т.Б. Олешко, Д.Ю. Свириденко, В.Ю. Гарбузова // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2016. – Т.16., № 2(54). – С. 152-156.
 3. Олешко Т.Б. Розподіл алельних варіантів за Lys198Asn поліморфізмом гена ендотеліну-1 у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом у курців та осіб, які не палять / Т.Б. Олешко, Д.Ю. Свириденко, В.Ю. Гарбузова // J. Clin. Exp. Med. Res. – 2016. – Vol. 4(2). – С. 335–340.
4. **Базова установа яка проводить впровадження:** кафедра фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету.
5. **Термін впровадження:** січень-грудень 2016 року.
6. **Форма впровадження:** в лекційний курс і практичні заняття при вивченні розділів «Патофізіологія серця і судин», « Патофізіологія нервової системи».
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносились.

Відповідальний за впровадження :
завідувач кафедри фізіології і
патофізіології з курсом медичної біології
Сумського державного університету
д.м.н., професор



О.В. Атаман