

АНАЛІЗ АСОЦІАЦІЇ G-7A ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА МАТРИКСНОГО Gla-ПРОТЕЇНУ (MGP) З ІШЕМІЧНИМ АТЕРОТРОМБОТИЧНИМ ІНСУЛЬТОМ В ОСІБ З РІЗНИМИ ФАКТОРАМИ ЙОГО РИЗИКУ

Наведено результати визначення G-7A поліморфізму (rs1800801) гена матриксного Gla-протеїну (MGP) у 170 хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом (ІАТІ) і 124 пацієнтів контрольної групи. Встановлено, що у хворих з ІАТІ співвідношення гомозигот за основним алелем, гетерозигот і гомозигот за міноним алелем складає 35,9; 48,8 і 15,3 % (у контролі – 43,5; 50,0; 6,5 %, $P = 0,051$ за χ^2 -критерієм). Істотні відмінності в розподілі генотипів виявлено тільки у жінок ($P = 0,022$). Відношення шансів (OR) для гомозигот за міноним алелем (A/A) проти носіїв основного алеля (G/A+G/G) становило 2,618 ($P = 0,023$), а у жінок цей показник дорівнював 6,645 ($P = 0,015$). У хворих з генотипом A/A величини показників зсідання крові (протромбіновий час) вказували на підвищену їхню схильність до гіперкоагуляційного синдрому. Одержані результати свідчать про те, що A/A варіант гена MGP асоційований зі збільшенням ризику розвитку ІАТІ у осіб жіночої статі в українській популяції та може бути причетний до гіперкоагуляції крові та тромбоутворення.

Ключові слова: матриксний Gla-протеїн, поліморфізм генів, ішемічний інсульт.

Вступ. У розвитку гострих порушень вільцевого і мозкового кровообігу, таких як інфаркт міокарда та ішемічний інсульт, важливе значення має відкладання солей кальцію в артеріальну стінку [1–7]. Серед чинників, які відіграють важливу роль в кальцифікації судин, одне з чільних місць посідає матриксний Gla-протеїн (MGP) – природний інгібітор мінералізації м'яких тканин, що є представником групи білків, залежних від вітаміну К [8–10].

Ген MGP у людини міститься в короткому плечі хромосоми 12 (12p13.1–p12.3). У ньому закодовано 84 амінокислотних залишки зрілого білка і 19 залишків трансмембранного сигнального пептиду. Довжина гена становить 3900 нуклеотидів, він складається з чотирьох екзонів, розділених трьома інтронами, на які припадає

понад 80 % загальної довжини гена [11]. Серед багатьох описаних варіантів поліморфізму поодиноких нуклеотидів (SNP) у гені MGP людини особливу увагу привертає до себе поліморфізм початкової ділянки промотора G-7A (rs1800801), з якої власне стартує процес транскрипції гена. Небезпідставним є припущення, що заміна гуаніну на аденін у позиції –7 промотора причетна до зміни транскрипційної активності гена, а отже може позначитися на основному біологічному ефекті білка – його антикальциногенній дії. Останню, описану як *in vitro*, так і *in vivo* [12, 13], пов'язують з наявністю у молекулі MGP Gla-залишків, здатних взаємодіяти з іонами кальцію та кристалами оксіапатиту. Доказом цього є той факт, що декарбоксильований MGP, у якому замість Gla міститься глютамінова кислота (Glu), втрачає свою антикальциногенну активність [14].

В основі розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту (ІАТІ) лежать склеротичні ураження мозкових артерій, зокрема прогресування атеросклеротичної бляшки. Її розрив і пов'язане з цим тромбоутворення є наслідком дегенеративних процесів в інтимі артерій і серед них – відкладання солей кальцію в атероматозній бляшці [15]. У цілому ряді досліджень доведено, що в кальцифікованих атеросклеротичних бляшках людини містяться білки, пов'язані з процесами мінералізації, і одним з цих білків є MGP [16,17].

Враховуючи можливий вплив MGP на розвиток кальцифікації артеріальних судин, можна припустити, що генетичний поліморфізм, від якого залежить стан експресії гена MGP, має значення для прогресування атеросклеротичних уражень, а отже, і розвитку його основних ускладнень – інфаркту міокарда та ішемічного інсульту. З цього приводу існують неоднозначні і навіть суперечливі дані щодо гострого коронарного синдрому та інфаркту

міокарда [18–24]. Що стосується ІАТІ, то його зв'язок з поліморфізмом гена MGP ще не вивчено, що і спонукало нас до проведення власних досліджень.

Таким чином, метою роботи став пошук зв'язку між поліморфізмом G-7A гена MGP і ймовірністю розвитку ІАТІ в українській популяції з урахуванням деяких відомих факторів ризику гострих порушень мозкового кровообігу (артеріальна гіпертензія, збільшений індекс маси тіла, порушення ліпопротеїнового складу плазми крові та системи її коагуляції).

Матеріали і методи. Дослідження проведено із використанням венозної крові 170 хворих з ІАТІ (42,4 % жінок і 57,6 % чоловіків) віком від 40 до 85 років (середній вік – $64,7 \pm 0,73$ роки), що перебували на диспансерному обліку в поліклінічному відділенні Сумської клінічної лікарні № 5.

Ішемічний характер інсульту встановлювали за даними анамнезу і клінічної картини хвороби, даних комп'ютерної томографії та МРТ-дослідження головного мозку. Патогенетичний варіант інсульту визначали відповідно до критеріїв TOAST [25] на підставі анамнестичних даних та особливостей клінічного перебігу хвороби, а також даних ультразвукової доплерографії магістральних артерій голови та ЕКГ.

Контрольна група складалася із 124 пацієнтів, у яких відсутність ІАТІ підтверджували анамнестичними даними та проведенням загальноприйнятих неврологічних досліджень. Контрольна група і група хворих з ІАТІ не відрізнялися за співвідношенням осіб різної статі ($P = 0,294$ за χ^2 -критерієм), проте середній вік першої ($76,7 \pm 0,93$ роки) був істотно вищим, ніж другої ($P < 0,001$).

Клінічна характеристика пацієнтів з ІАТІ охоплювала загальноприйняті показники, що відображають фактори ризику атеросклеротичного процесу і гострих розладів мозкового кровообігу: артеріальний тиск (АТ), індекс маси тіла (ІМТ), склад ліпопротеїнів плазми (ЛП) крові, показники коагуляції крові. За цими характеристиками хворих з ІАТІ було поділено на підгрупи: 1) з нормальним АТ і артеріальною гіпертензією (систоличний АТ > 140 мм рт. ст., діастолічний АТ > 90 мм рт. ст.); 2) з ІМТ < 25 кг/м² та ІМТ ≥ 25 кг/м²; 3) з індексом

атерогенності ЛП ≤ 3 і > 3 ; 4) без ознак синдрому гіперкоагуляції крові та з його ознаками (протромбіновий час < 9 с).

Визначення G-7A (rs1800801) поліморфізму гена MGP здійснювали за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів при електрофоретичному їх розділенні в агарозному гелі.

Для генотипування венозну кров в стерильних умовах набирали в моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти («Sarstedt», Німеччина), що слугувала антикоагулянтном. Кров заморожували і зберігали при температурі -20 °С. ДНК з неї виділяли, використовуючи набори «Изоген» (РФ). Ампліфікацію ділянки гена, що містить сайт G-7A поліморфізму, проводили за допомогою пари специфічних праймерів: прямого (sense) – 5'-CTAGTTCAGTGCCAAC-CCTTCCCCACC-3' та зворотного (antisense) – 5'-TAGCAGCAGTAGGGAGAGAGGCTC-ССА-3'. Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл п'ятикратного PCR-буфера, 1,5 мМ сульфату магнію, 200 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 20 рМ кожного з праймерів і 0,75 од. Taq-полімерази («Fermentas», Литва), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою.

Ампліфікація фрагмента, що містив стартову ділянку, складалася з 33 циклів: денатурація – 94 °С (50 с), гібридизація праймерів – $64,5$ °С (45 с) і елонгація – 72 °С (1 хв). Для рестрикційного аналізу 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37 °С протягом 18 год з 2 од. рестриктази *NcoI* у буфері Tango такого складу: 33 мМ трис-ацетату (рН 7,9), 10 мМ ацетату магнію, 66 мМ ацетату калію, 0,1 мг/мл альбуміну. Якщо в позиції -7 гена MGP містився гуанін, то ампліфікат, який складався з 500 пар основ (п.о.), розщеплювався рестриктазою *NcoI* на два фрагменти – 240 і 260 п.о. У разі заміни гуаніну на аденін сайт рестрикції для *NcoI* втрачався і візуалізувався один фрагмент завдовжки 500 п.о.

Ампліфікати вивченого фрагмента гена MGP після рестрикції розділяли в 2,5%-ному агарозному гелі, що містив бромистий етидій. Горизонтальний електрофорез (0,1 А; 140 В) проводили протягом 40 хв. Візуалізацію ДНК

після електрофорезу здійснювали за допомогою транслюмінатора («Біоком», РФ).

Для статистичного аналізу використовували програму SPSS-17. Дані клінічних досліджень перевіряли на нормальний розподіл за допомогою тесту Шапіро-Вілка, а припущення щодо однорідності дисперсій підтверджували тестом Лівіня. Відповідність розподілу генотипів рівновазі Харді-Вайнберга перевіряли, послуговуючись Online Encyclopedia for Genetic Epidemiology Studies (<http://www.oege.org/software/hwe-mg-calc.shtml>). Достовірність відмінностей середніх величин у групах з різними генотипами визначали за допомогою методики однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA), а номінальних змінних – за χ^2 Пірсона. Відношення шансів (OD) та 95%-ний довірчий інтервал розраховували за допомогою методу логістичної регресії.

Результати досліджень та їх обговорення. Генотипування хворих з ІАТІ та пацієнтів контрольної групи за G-7A поліморфізмом гена MGP дало змогу встановити частоту, з якою зустрічаються три варіанти цього гена, а також порівняти її між групами загалом і в підгрупах хворих з ІАТІ, виділених з урахуванням деяких факторів ризику цієї недуги.

Частота алельних варіантів при вивченні G-7A поліморфізму у хворих з ІАТІ становила 35,9; 48,8; 15,3 %, в контрольній групі – 43,5; 50,0; 6,5 % (табл. 1). Відмінності в розподілі цих варіантів між групами порівняння були дуже близькими до рівня статистичної зна-

чуцості ($P = 0,051$) і в повній мірі виявили себе при врахуванні статі пацієнтів. Так, у жінок з ІАТІ відмінності генотипу за G-7A поліморфізмом були статистично достовірними, якщо порівнювати з особами жіночої статі в контрольній групі ($P = 0,022$). У жінок з ІАТІ рідкісний варіант А/А виявляли в 5,4 раза частіше, ніж у контролі. У чоловіків відмінностей в частоті різних варіантів даного поліморфізму серед хворих з ІАТІ та пацієнтів контрольної групи не встановлено.

За допомогою методу логістичної регресії розраховували показник відношення шансів (OR), що дало змогу оцінити ризик розвитку ІАТІ залежно від генотипу і статі пацієнтів (табл. 1). Так, загалом у гомозигот за мінорним алелем (А/А) ризик ІАТІ виявився у 2,6 раза вищий, ніж у носіїв основного алеля (G/G + G/A). Встановлена закономірність залежала від статі пацієнтів: у жінок, гомозиготних за мінорним алелем, ризик ІАТІ був у 6,6 раза вищий, ніж у представників, що мали в своєму геномі алель G. На відміну від жінок, у чоловіків – носіїв різних генотипів – показник OR істотно не відрізнявся.

Серед відомих факторів ризику ІАТІ називають збільшення індексу маси тіла, артеріальну гіпертензію, дисліпопротеїнемію атерогенного характеру і гіперкоагуляційний синдром, тобто чинники, які причетні до розвитку атеросклеротичного процесу і тромбоутворення. У табл. 2 наведено деякі показники, що відображають перелічені фактори ризику у хворих з ІАТІ,

Таблиця 1. Розподіл генотипів за G-7A поліморфізмом гена MGP та показники відношення шансів (OR) у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом (ІАТІ) і в осіб контрольної групи

Генотип	Загалом		Жінки		Чоловіки	
	Контроль, n = 124	ІАТІ, n = 170	Контроль, n = 45	ІАТІ, n = 72	Контроль, n = 79	ІАТІ, n = 98
G/G	54 (43,5 %)	61 (35,9 %)	18 (40,0 %)	21 (29,2 %)	36 (45,6 %)	40 (40,8 %)
G/A	62 (50,0 %)	83 (48,8 %)	25 (55,6 %)	34 (47,2 %)	37 (46,8 %)	49 (50,0 %)
A/A	8 (6,5 %)	26 (15,3 %)	2 (4,4 %)	17 (23,6 %)	6 (7,6 %)	9 (9,2 %)
	$\chi^2 = 5,945, P = 0,051$		$\chi^2 = 7,621, P = 0,022$		$\chi^2 = 0,451, P = 0,798$	
A/A відн. G/A + G/G	OR = 2,618 (1,142–6,000) P = 0,023		OR = 6,645 (1,456–30,339) P = 0,015		OR = 1,230 (0,419–3,617) P = 0,706	

Примітка. n – кількість пацієнтів, P – статистична значущість відмінностей, у дужках (для OR) – 95%-ний довірчий інтервал.

поділених за генотипом на три групи. З одержаних результатів випливає, що тільки за показниками зсідання крові (протромбіновий час) існують відмінності між представниками різних генотипів. Так, у гомозигот за мінорним алелем ці показники виявилися істотно меншими, якщо порівнювати з двома іншими групами. Це свідчить про те, що в осіб – носіїв генотипу А/А – значно вищою є ймовірність розвитку гіперкоагуляційного синдрому, а отже, і тромбоемболії.

Поділ пацієнтів з ІАТІ на підгрупи залежно від наявності чи відсутності відомих факторів ризику інсульту дав можливість провести порівняльний аналіз розподілу їхніх генотипів. Як видно з даних табл. 3, статистично значущі відмінності встановлено тільки для підгруп, утворених із урахуванням коагуляційних влас-

тливостей крові. Це наводить на думку, що вплив G-7A поліморфізму гена MGP на розвиток ІАТІ в осіб жіночої статі може бути пов'язаний зі змінами в системі зсідання крові, що сприяють утворенню тромбів.

Кальцифікація кровоносних судин є поширеним патологічним процесом, що має як самостійне значення (склероз Менкеберга), так і ускладнює розвиток атеросклеротичних бляшок, сприяючи їх нестабільності. З огляду на це вивчення чинників, що мають стосунок до механізмів кальцифікації, викликає сьогодні підвищений інтерес, про що свідчить велика кількість публікацій, присвячених даній проблемі [26–30].

MGP є білком, що відіграє провідну роль у запобіганні ектопічної мінералізації тканин. Точні механізми, за допомогою яких MGP ін-

Таблиця 2. Деякі показники у хворих з ішемічним інсультом, що мають різний генотип за поліморфізмом G-7A гена MGP

Показник	G/G, n = 61	G/A, n = 83	A/A, n = 26	P
Індекс маси тіла, кг/м ²	27,5 ± 0,4	28,7 ± 0,54	28,4 ± 0,89	0,279
АТ систолічний, мм рт. ст.	166,7 ± 3,73	167,1 ± 3,34	167,3 ± 5,19	0,996
АТ діастолічний, мм рт. ст.	96,6 ± 2,03	94,1 ± 1,80	96,5 ± 2,35	0,593
Загальний ХС, ммоль/л *	4,7 ± 0,22	5,2 ± 0,16	5,3 ± 0,28	0,134
ХС ЛПНГ, ммоль/л *	3,0 ± 0,21	3,4 ± 0,15	3,5 ± 0,26	0,174
Індекс атерогенності ЛП *	4,4 ± 0,49	4,9 ± 0,39	5,3 ± 0,7	0,619
Протромбіновий час, с	9,9 ± 0,27	9,5 ± 0,21	8,4 ± 0,34**	0,005

Примітка. n – кількість пацієнтів, середнє значення ± стандартна похибка, P – значимість відмінностей між групами; * n = 157, частота генотипів: G/G – 54, G/A – 78, A/A – 25; АТ – артеріальний тиск, ХС – холестерол, ЛПНГ – ліпопротеїни низької густини, ЛП – ліпопротеїни; ** достовірна відмінність при порівнянні з двома іншими генотипами.

Таблиця 3. Розподіл генотипів за поліморфізмом G-7A гена MGP у підгрупах пацієнтів з ішемічним атеротромботичним інсультом із різними факторами ризику хвороби (%)

Генотип	Індекс маси тіла		Артеріальний тиск		Індекс атерогенності ліпопротеїнів		Коагуляція крові	
	<25	≥25	Норма	АГ	≤3 *	>3 *	Норма	ГКК
G/G	12 (29,2)	49 (38,0)	12 (28,5)	49 (38,3)	26 (40,0)	28 (30,4)	30 (38,0)	31 (34,0)
G/A	20 (48,8)	63 (48,8)	23 (54,8)	60 (46,9)	29 (44,6)	49 (53,3)	44 (55,7)	39 (42,9)
A/A	9 (22,0)	17 (13,2)	7 (16,7)	19 (14,8)	10 (15,4)	15 (16,3)	5 (6,3)	21 (23,1)
Разом (n)	41	129	42	128	65	92	79	91
	P = 0,329		P = 0,521		P = 0,448		P = 0,009	

Примітка. n – кількість пацієнтів, ГКК – гіперкоагуляція крові. * 13 пацієнтів, у яких немає даних про цей показник, виключено з розрахунків.

гібує кальцифікацію судин, остаточно не з'ясовано. Дані щодо зв'язку MGP з розвитком склеротичних уражень судин суперечливі. Так, у роботі Braam et al. [31] показано, що розвиток тяжкого атеросклерозу супроводжується збільшенням концентрації MGP у сироватці крові. Натомість Jono et al. [32] встановили, що рівень MGP крові обернено пропорційно корелює з кальцифікацією коронарних судин. І на решті, O'Donnell et al. [33], показавши зв'язок між рівнем MGP крові і цілим рядом факторів ризику атеросклерозу, не виявили кореляції між вмістом MGP і кальцифікацією коронарних артерій.

Що стосується зв'язку різних видів алельного поліморфізму гена MGP з рівнем MGP крові, розвитком кальцифікації артерій (зокрема мозкових), а також наслідків атеросклерозу (зокрема ішемічного інсульту), то ця проблема або взагалі не досліджувалася (йдеться про судини головного мозку та інсульт), або обмежувалася вивченням коронарних артерій і пов'язаних з ними гострого коронарного синдрому та інфаркту міокарда. Слід зазначити, що результати невеликої кількості таких досліджень є досить суперечливими.

Так, Farzaneh et al. [19] у своїй роботі не виявили асоціації між G-7A поліморфізмом і вмістом MGP у сироватці крові здорових людей. Водночас у цьому дослідженні встановлено статистично достовірний зв'язок між згаданим показником та T-138C поліморфізмом. На відміну від наведеної роботи, Crosier et al. [23] не виявили асоціації між T-138C поліморфізмом та рівнем MGP сироватки, натомість показали статистично достовірний зв'язок між G-7A і Thr83Ala варіантами поліморфізму у здорових чоловіків та жінок (мешканці США), з одного боку, і концентрацією MGP крові, з другого. У гомозигот за мінорним алелем концентрація MGP була найменша, у нормальних гомозигот – найбільша, у гетерозигот реестрували проміжні величини цього показника. Крім цього, автори встановили, що G-7A поліморфізм має зв'язок з кальцифікацією коронарних артерій (ККА) у чоловіків як самостійно, так і в поєднанні з іншими факторами ризику атеросклерозу. Водночас статистично достовірної асоціації цього поліморфізму з ККА у жінок не виявлено. Най-

більш асоційованими з ККА були гомозиготи за мінорним алелем. У чоловіків з таким генотипом тяжкість ККА була достовірно нижчою, ніж у гомозигот за основним алелем. Разом з тим автори виявили істотну міжстаєву відмінність, яка стосується T-138C поліморфізму: якщо у чоловіків – гомозигот за мінорним алелем вираженість ККА зменшувалася, то у жінок з таким генотипом, навпаки, зростала.

Що стосується атеросклерозу мозкових артерій та ішемічного інсульту як одного з його тяжких наслідків, то лише в кількох публікаціях останнього року порушувалася проблема ролі кальцифікації судин загалом та MGP зокрема в розвитку цереброваскулярної патології.

Так, у роботі Bos et al. [34] встановлено тісний зв'язок між кальцифікацією внутрішньочерепних артерій каротидного басейну та обсягом уражень білої речовини головного мозку, з одного боку, і кальцифікацією великих екстракраніальних гілок сонних артерій та величиною інфаркту мозку – з другого. Слід зазначити, що ця залежність ніяк не була пов'язана з наявністю і вираженістю атеросклеротичних бляшок, які виявляли за допомогою ультразвукового дослідження. Таким чином, на думку авторів, кальцифікація як інтра-, так і екстракраніальних судин є чинником, асоційованим з розвитком ішемічних уражень мозку, і може розглядатися як самостійний фактор ризику інсультів.

Асаг et al. [35] вивчали зв'язок рівня сироваткового MGP з розвитком геморагічних інсультів (ГІ) і встановили, що у хворих з ГІ концентрація MGP у сироватці крові набагато менша, ніж у контрольній групі. Крім того, цей показник у хворих, що померли внаслідок крововиливу у мозок, був достовірно нижчим, ніж у тих, хто вижив.

Зв'язок однонуклеотидного поліморфізму генів з різними варіантами цереброваскулярної патології вивчається сьогодні на великій кількості функціонально пов'язаних між собою генів, причетних до розвитку атеросклерозу, артеріальної гіпертензії, порушень ліпідного обміну, здійснення гемостазу тощо. Інформацію про це можна знайти у відповідних оглядах літератури [36–39].

Тут слід зауважити, що виконане нами дослідження є першим, присвяченим вивченню асоціації поліморфізму гена MGP з розвитком ішемічного інсульту атеротромботичного походження.

У попередній нашій роботі було встановлено зв'язок G-7A поліморфізму цього гена з розвитком гострого коронарного синдрому (ГКС) [24]. Схожий зв'язок, щоправда тільки в осіб жіночої статі, виявлено нами і при вивченні ІАТІ. Суть цього зв'язку полягає в тому, що гомозиготи за мінорним алелем (A/A) мають істотно вищий ризик розвитку як ГКС, так і ІАТІ. Це може означати, що в патогенезі ГКС та ІАТІ є спільні механізми (атеросклероз, кальцифікація, тромбоутворення та ін.), які певним чином пов'язані з MGP. Один з варіантів такого зв'язку може здійснюватися на рівні системи коагуляції крові. Дане припущення ґрунтується на тому, що MGP є залежним від вітаміну К протеїном з родини прокоагулянтних білків крові (протромбін, VII фактор та ін.), а отже, може впливати на зсідання крові, що має велике значення в патогенезі тромбозу як коронарних, так і мозкових артерій.

Одержані нами результати вказують на те, що гомозиготи за мінорним алелем мають величини показників зсідання крові менші, ніж носії інших двох генотипів, що свідчить про більшу їхню схильність до гіперкоагуляційного синдрому. Це підтверджується і даними про розподіл генотипів у хворих з ІАТІ, що мають і не мають ознаки гіперкоагуляції крові.

Певна річ, наведене припущення щодо зв'язку G-7A поліморфізму гена MGP з факторами коагуляції крові і тромбоутворення потребує як експериментальних, так і клінічних доказів, а тому зумовлює необхідність продовжувати дослідження в цьому напрямі. Важливим на даному етапі є висновок про те, що поліморфізм гена MGP може розглядатися як один з генетичних чинників серцево-судинної патології взагалі та ішемічного атеротромботичного інсульту зокрема.

Роботу виконано в рамках теми наукових досліджень з держбюджетним фінансуванням «Визначення ролі поліморфізму поодиноких нуклеотидів у розвитку склеротичних уражень кровоносних судин», № 91.01.01.11-12.

A.V. Ataman, A.V. Polonikov, V.Yu. Garbuzova, Yu.A. Ataman, O.I. Matlay

Sumy State University, Ukraine;
Kursk State Medical University, Russia
E-mail: ataman_av@mail.ru

ANALYSIS OF MATRIX Gla-PROTEIN (MGP) G-7A POLYMORPHISM ASSOCIATION WITH ISCHEMIC ATHEROTHROMBOTIC STROKE IN PERSONS WITH ITS DIFFERENT RISK FACTORS

G-7A polymorphism (rs1800801) of matrix Gla protein (MGP) gene in 170 patients with ischemic atherothrombotic stroke (IATS) and in 124 persons of the control group was determined. It was shown that in patients with IATS the distribution of the major allele homozygotes, heterozygotes and minor allele homozygotes was 35,9; 48,8; 15,3 % (in control – 43,5; 50,0; 6,5 %, $P = 0,051$ by χ^2 -test). Significant differences in the distribution of genotypes were revealed only in women ($P = 0,022$). Odds ratio for minor allele homozygotes (A/A) versus major allele carriers (G/A+G/G) was 2,618 ($P = 0,023$), while in women it was equal to 6,645 ($P = 0,015$). In patients with A/A genotype the values of blood coagulation parameters (prothrombin time) indicated increased predisposition to hypercoagulability. The results obtained suggest that the A/A-variant of MGP gene is associated with an increased risk of IATS in female persons of the Ukrainian population and may be related to blood hypercoagulability and thrombi formation.

И.В. Атаман, И.В. Полоников, В.Ю. Гарбузова, Ю.И. Атаман, О.И. Матлай

АНАЛИЗ АССОЦИИИ G-7A ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА МАТРИКСНОГО Gla-ПРОТЕИНА (MGP) С ИШЕМИЧЕСКИМ АТЕРОТРОМБОТИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ У ЛИЦ С РАЗНЫМИ ФАКТОРАМИ ЕГО РИСКА

Представлены результаты определения G-7A полиморфизма (rs1800801) гена матриксного Gla-протеина (MGP) у 170 больных с ишемическим атеротромботическим инсультом (ИАТИ) и 124 пациентов контрольной группы. Установлено, что у больных с ИАТИ соотношение гомозигот по основному аллелю, гетерозигот и гомозигот по минорному аллелю составляет 35,9; 48,8 и 15,3 % (в контроле – 43,5; 50,0; 6,5 %, $P = 0,051$ по χ^2 -критерию). Существенные отличия в распределении генотипов обнаружены только у женщин ($P = 0,022$). Отношение шансов (OR) у гомозигот по минорному аллелю (A/A) против носителей основного аллеля (G/A + G/G) составляло 2,618 ($P = 0,023$), а у женщин этот показатель был равен 6,645 ($P = 0,015$). У больных с генотипом A/A величины показателей свертывания крови (протромбиновое время) указывали на повышенную их предрасполо-

женность к гиперкоагуляционному синдрому. Полученные результаты свидетельствуют о том, что A/A вариант гена MGP ассоциирован с увеличением риска ИАТИ у лиц женского пола в украинской популяции и может иметь отношение к гиперкоагуляции крови и тромбообразованию.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Allison M.A., Wright C.M. Age and gender are the strongest clinical correlates of prevalent coronary calcification (R1) // *Int. J. Card.* – 2005. – **98**. – P. 325–330.
- Detrano R.C., Wong N.D., Doherty T.M., Shavelle R. Prognostic significance of coronary calcific deposits in asymptomatic high-risk subjects // *Amer. J. Med.* – 1997. – **102**. – P. 344–349.
- Füessl H.S., Schälzky H., Schewe S. et al. Zur Pathogenese und klinischen Bedeutung der Mönckebergischen Mediaverkalkung // *Klin. Wochenschr.* – 1985. – **63**. – P. 211–216.
- Iribarren C., Sidney S., Sternfeld B., Browner W.S. Calcification of the aortic arch: risk factors and association with coronary heart disease, stroke, and peripheral vascular disease // *J. Amer. Med. Ass.* – 2000. – **283**. – P. 2810–2815.
- Johnson R.C., Leopold J.A., Loscalzo J. Vascular calcification. Pathobiological mechanisms and clinical implications // *Circ. Res.* – 2006. – **99**. – P. 1044–1059.
- Lehto S., Niskanen L., Suhonen M. et al. Medial artery calcification. A neglected harbinger of cardiovascular complications in non-insulin-dependent diabetes mellitus // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1996. – **16**. – P. 978–988.
- Wayhs R., Zelinger A., Raggi P. High coronary artery calcium scores pose an extremely elevated risk for hard events // *J. Amer. Col. Card.* – 2002. – **39**. – P. 225–230.
- Price P.A., Urist M.R., Otawara Y. Matrix Gla protein, a new γ -carboxyglutamic acid-containing protein which is associated with the organic matrix of bone // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1983. – **117**. – P. 765–771.
- Fraser J.D., Price P.A. Lung, heart, and kidney express high levels of mRNA for the vitamin K-dependent matrix Gla protein // *J. Biol. Chem.* – 1988. – **263**. – P. 11033–11036.
- Price P.A., Williamson M.K. Primary structure of bovine matrix Gla protein, a new vitamin K-dependent bone protein // *J. Biol. Chem.* – 1985. – **260**. – P. 14971–14975.
- Cancela L., Hsieh C.-L., Francket U., Price P.A. Molecular structure, chromosome assignment, and promoter organization of the human matrix Gla protein gene // *J. Biol. Chem.* – 1990. – **265**. – P. 15040–15048.
- Price P.A., Faus S.A., Williamson M.K. Warfarin-induced artery calcification is accelerated by growth and vitamin D // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2000. – **20**. – P. 317–327.
- Proudfoot D., Shanahan C.M. Molecular mechanisms mediating vascular calcification: role of matrix Gla protein // *Nephrology (Carlton)*. – 2006. – **11**. – P. 455–461.
- Schurgers L.J., Teunissen K.J.F., Knapen M.H.J. et al. Novel conformation-specific antibodies against matrix gamma-carboxyglutamic acid (Gla) protein // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2005. – **25**. – P. 1629–1633.
- Stanford W. Coronary artery calcification as an indicator of preclinical coronary artery disease // *RadioGraphics*. – 1999. – **19**. – P. 1409–1419.
- Shanahan C.M., Proudfoot D., Tyson K.L. et al. Expression of mineralization-regulating proteins in association with human vascular calcification // *Z. Kardiol.* – 2000. – **89**, Suppl. 2. – P. 64–68.
- Giachelli C.M. Vascular calcification mechanisms // *J. Amer. Soc. Nephrol.* – 2004. – **15**. – P. 2959–2964.
- Herrmann S.M., Whatling C., Brand E. et al. Polymorphisms of the human matrix Gla protein (MGP) gene, vascular calcification, and myocardial infarction // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2000. – **20**. – P. 2386–2393.
- Farzaneh-Far A., Davies J.D., Braam L.A. et al. A polymorphism of the human matrix γ -carboxyglutamic acid protein promoter alters binding of an activating protein-1 complex and is associated with altered transcription and serum levels // *J. Biol. Chem.* – 2001. – **276**. – P. 32466–32473.
- Kobayashi N., Kitazawa R., Maeda S. et al. T-138C polymorphism of matrix Gla protein promoter alters its expression but is not directly associated with atherosclerotic vascular calcification // *Kobe J. Med. Sci.* – 2004. – **50**. – P. 69–81.
- Branaccio D., Biondi M.L., Gallieni M. et al. Matrix Gla protein gene polymorphisms: clinical correlates and cardiovascular mortality in chronic kidney disease patients // *Amer. J. Nephrol.* – 2005. – **25**. – P. 548–552.
- Taylor B.C., Schreiner P.J., Doherty T.M. et al. Matrix Gla protein and osteopontin genetic associations with coronary artery calcification and bone density: the CARDIA study // *Hum. Genet.* – 2005. – **116**. – P. 525–528.
- Crosier M.D., Booth S.L., Peter I. et al. Matrix Gla protein polymorphisms are associated with coronary artery calcification // *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* – 2009. – **55**. – P. 59–65.
- Гарбузова В.Ю., Гур'янова В.Л., Пархоменко А.Н. та ін. Частота алельних варіантів гена мат-

- риксного Gla-протеїну (MGP) у хворих з гострим коронарним синдромом // Фізіол. журн. – 2011. – **57**. – С. 16–24.
25. Adams H.P., Bendixen B.H., Kappelle L.J. et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment // Stroke. – 1993. – **24**. – P. 35–41.
26. Abedin M., Tintut Y., Demer L.L. Vascular calcification. Mechanisms and clinical ramifications // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2004. – **24**. – P. 1161–1170.
27. Doherty T.M., Fitzpatrick L.A., Inoue D. et al. Molecular, endocrine, and genetic mechanisms of arterial calcification // Endocrine Rev. – 2004. – **25**. – P. 629–672.
28. Guzman R.J. Clinical, cellular, and molecular aspects of arterial calcification // J. Vasc. Surg. – 2007. – **45** (Suppl A). – P. A57–A63.
29. Jayalath R.W., Mangan S.H., Golledge J. Aortic calcification // Eur. J. Endovasc. Surg. – 2005. – **30**. – P. 476–488.
30. Johnson R.C., Leopold J.A., Loscalzo J. Vascular calcification. Pathobiological mechanisms and clinical implications // Circ. Res. – 2006. – **99**. – P. 1044–1059.
31. Braam L.A., Dissel P., Gijbbers B.L. et al. Assay for human matrix Gla protein in serum. Potential applications in the cardiovascular field // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2000. – **20**. – P. 1257–1261.
32. Jono S., Vermeer C., Dissel P. et al. Matrix Gla protein is associated with coronary artery calcification as assessed by electron-beam computed tomography // Thromb. Haemost. – 2004. – **91**. – P. 790–794.
33. O'Donnell C.J., Kyla Shea M., Price P.A. et al. Matrix Gla protein is associated with risk factors for atherosclerosis but not with coronary artery calcification // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2006. – **26**. – P. 2769–2774.
34. Bos D., Ikram M.A., Elias-Smale S.E. et al. Calcification in major vessel beds relates to vascular brain disease // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2011. – **31**. – P. 2331–2337.
35. Acar A., Cevik M.U., Arkanoglu A. et al. Serum levels of calcification inhibitors in patients with intracerebral hemorrhage // Int. J. Neurosci. – 2012. – **122**. – P. 227–232.
36. Kubo M. Genetic risk factors of ischemic stroke identified by a genome-wide association study // Brain Nerve. – 2008. – **60**. – P. 1339–1346.
37. Debette S., Secharidi S. Genetics of atherothrombotic and lacunare stroke // Circ. Cardiovasc. Gen. – 2009. – **2**. – P. 191–198.
38. Matarin M., Brown W.M., Dena H. et al. Candidate gene polymorphisms for ischemic stroke // Stroke. – 2009. – **40**. – P. 3436–3442.
39. Wang X., Cheng S., Brophy V.H. et al. A meta-analysis of candidate gene polymorphisms and ischemic stroke in 6 study populations: association of lymphotoxin-alpha in nonhypertensive patients // Stroke. – 2009. – **40**. – P. 683–695.

Надійшла 23.02.12