

О.І. Савчук, В.С. Мельник, С.В. Гончаров, В. Ю. Шандюк, Д.О. Строй,
В.Є. Досенко, Л.І. Соколова, Г.Г. Скибо

Частота алельного поліморфізму генів субодиноць конституційної та імунної протеасом у хворих на ішемічний інсульт

Представлені результати визначення частоти алельного поліморфізму генів, що кодують великі мультифункціональні протеази LMP2 (Arg₆₀→His-поліморфізм) та α6-субодиноць кіркової частини протеасоми (C⁸→G-поліморфізм), у хворих на ішемічний інсульт, використовуючи метод полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі. Алельні варіанти генів PSMA6 розподілилися наступним чином: C/C – 80,2 %, C/G – 19,8 %, G/G – не зареєстровано (в контрольній групі) та C/C – 75,5 %, C/G – 21,4 %, G/G – 3,1 % у хворих (P=0,22). Встановлено, що частота алельних варіантів генів LMP2 була такою: Arg/Arg 53,3 %, Arg/His – 43,5 %, His/His – 6,7 % в контрольній групі, а у хворих – Arg/Arg – 55,9 %, Arg/His – 34,3 %, His/His – 9,8 % (P > 0,05). Отримані результати свідчать про те, що поліморфізми генів LMP2 та PSMA6 не впливають на ймовірність виникнення ішемічного інсульту в українській популяції.

Ключові слова: протеасома, поліморфізм поодиноких нуклеотидів, ішемічний інсульт.

ВСТУП

Ішемічний інсульт є однією з найважливіших причин інвалідизації та смертності населення у розвинених країнах [10, 14]. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), щорічно від цього захворювання помирає близько 5 млн людей (1 випадок на 1000 населення) [8]. Інсульт є мультифакторним полігенним захворюванням, що спричинюється взаємодією негативних факторів навколишнього середовища та генетичних варіацій. Численні епідеміологічні обстеження сімей, особливо з близнюками, вказують на наявність факторів, які зумовлюють схильність до розвитку інсульту в поєднанні з іншими факторами ризику [10]. Атеросклероз розглядається як одна з причин розвитку інсульту, так само як і інших серцево-судинних захворювань [12]. У патогенезі останнього активно вивчається роль протеасомного протеолізу [7–9]. Протеасома є основним

нелізосомним мультикаталітичним протеазним комплексом, залученим у деградацію більшості внутрішньоклітинних білків і має велике значення при апоптозі, клітинному циклі, проліферації, диференціації та імунній відповіді [17].

Показано, що протеасомне розщеплення внутрішньоклітинних білків відіграє значну роль у регуляції обміну ліпопротеїдів, експресії молекул клітинної адгезії, апоптозі гладеньком'язових та ендотеліальних клітин, тобто в процесах, що мають принципове значення в атерогенезі [2]. З іншого боку, визначено алельні варіанти генів, що кодують субодиноць протеасоми, а також проводяться дослідження, спрямовані на вивчення асоціації між генетичними варіаціями та ймовірністю розвитку багатьох серцево-судинних захворювань, зокрема ішемічного інсульту [15]. Так виявлено наявність цілої низки SNP (від англ. single nucleotide polymorphism) у гені, що кодує α6-субодиноць протеасоми

© О.І. Савчук, В.С. Мельник, С.В. Гончаров, В. Ю. Шандюк, Д.О. Строй, В.Є. Досенко, Л.І. Соколова, Г.Г. Скибо

(PSMA6), а один з найбільш розповсюджених у популяції ген (C⁻⁸→G, rs1048990) частіше зустрічається у хворих на інфаркт міокарда та збільшує транскрипційну його активність [12].

При дослідженні розподілу варіантів SNP PSMA6 у популяціях західної Європи та Японії, виявили низьку частоту виникнення генотипу гомозигот за мінорним алелем гена PSMA6 у хворих з інфарктом міокарда (1–2 та 3–8 % відповідно).

Показано, що у хворих на цукровий діабет з інфарктом міокарда більш часто зустрічається G-алель порівнянно з контролем, при цьому достовірно збільшується частота G-алеля PSMA6 у хворих на цукровий діабет з інфарктом міокарда в порівнянні з такими без інфаркту [1, 4, 5, 13].

Японські дослідники Suita та Takashima [16] показали, що C⁻⁸→G SNP достовірно асоціюється зі щільністю каротидної артерії, припускаючи що це відіграє значну роль у патогенезі атеросклерозу. При цьому Bennett та співавт. [2] встановили протилежне, досліджуючи алельний поліморфізм гена PSMA6, вони виявили, що тютюнопаління, артеріальна гіпертензія чи цукровий діабет не впливають на виникнення інфаркту міокарда.

Не меншу увагу привертають поліморфізми в субодиницях імунопротеасоми – мультикаталітичного комплексу, що утворюється при дії на клітини прозапальних цитокінів (насамперед, γ -інтерферону), а також експресується постійно в деяких органах, у тому числі в головному мозку. Glenn Y. Deng та співавт. [5] встановлено залежність між цукровим діабетом та поліморфізмом гена, що кодує субодиницю імунопротеасоми LMP2 (Arg₆₀→His). Нами встановлено, що частота розподілу цього алельного поліморфізму та варіанту α 6-субодиниці протеасоми (C⁻⁸→G) відрізняє хворих на первинну артеріальну гіпертензію [6].

Мета нашої роботи – дослідити частоту алельних варіантів генів PSMA6 та LMP2, що кодують субодиниці протеасоми, у хворих на

ішемічний інсульт в українській популяції та провести аналіз впливу вказаних поліморфізмів на клінічні показники.

МЕТОДИКА

Обстежено 102 пацієнти (дослідна група) з гострим ішемічним інсультом – 54 (52,9 %) чоловіків та 48 (47,1 %) жінок, середній вік яких на момент розвитку інфаркту мозку становив 70,4±9,9 роки. Вогнище інфаркту локалізувалося: в басейні лівої передньої мозкової артерії – у 1 (1 %) хворого; в басейні лівої середньої мозкової артерії – у 47 (46,1 %) хворих; в басейні правої середньої мозкової артерії – у 37 (36,3 %) хворих; у вертебрально-базиллярному басейні – у 17 (16,6 %). Двадцять хворих в анамнезі вже перенесли ішемічний інсульт – 14 (13,7%) в тому ж басейні та 6 (5,9%) в іншому судинному басейні.

Вихідний рівень неврологічного дефіциту в середньому становив 12,0±2,1 бала: у 43 (42,2 %) хворих порушення були тяжкими (13,8±0,7 бала), у 46 (45,1 %) — середньої тяжкості (11,5±1,5 бала), у 13 (12,8 %) — легкими (7,8±0,4 бала).

Контрольна група складалася з 92 осіб, середній вік яких становив 71,3±10,2 роки, що за основними показниками та факторами ризику інсульту не відрізнялися від пацієнтів із гострими порушеннями мозкового кровообігу (транзиторними ішемічними атаками, ішемічного або геморагічного інсульту) в анамнезі.

Гендерне співвідношення контрольної групи становило 45 чоловіків (48,9 %) та 47 (51,1 %) жінок, а в дослідній групі – 54 (52,9 %) чоловіків та 48 (47,1 %) жінок. Гіпертонічна хвороба була виявлена у 77 осіб контрольної групи та у 84 осіб із гострими порушеннями мозкового кровообігу. Миготливу аритмію було діагностовано у 24 людей контрольної групи та у 25 людей дослідної групи. У 11 осіб контрольної групи було виявлено інфаркт міокарда в анамнезі, у 24

– цукровий діабет. У пацієнтів із гострими порушеннями мозкового кровообігу інфаркт міокарда був зареєстрований у 12, а цукровий діабет у 19 осіб.

Матеріалом дослідження була венозна кров хворих на ішемічний інсульт, що проходили лікування у 1-му та 2-му неврологічному відділенні Київської міської лікарні №4. Венозну кров забирали в стерильних умовах у моновети об’ємом 2,7 мл з кальцієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти (11,7 ммоль/л) як антикоагулянта (“Sarstedt”, Німеччина).

ДНК виділяли з цільної крові із використанням наборів (“NucleoSpin®Blood”, США) згідно з рекомендаціями виробника.

Алельний поліморфізм генів PSMA6 (C⁻⁸→G; rs1048990) та LMP2 (Arg₆₀→His; rs17587) визначали із застосуванням методики полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі. Для ампліфікації ділянки зазначеного гена застосовували пару специфічних праймерів: прямий (forward) – PSMB9_F 5’-TGAACCGAGTGTTTGACAAGCT-3’ і зворотний (reverse) – PSMB9_R 5’-CAGCAGCTGAAC-CAGAGAGT-3’, а також флуоресцентні зонди до мажорного та мінорного алеля (PSMB9_V

VIC 5’-ACGAGCGCATCTAC-3’, PSMB9_M FAM 5’-CACGAGCACATCTAC-3’). Для ампліфікації брали 0,5 мкл ДНК і додавали до суміші, що містила 10 мкл 2-кратного TaqMan PCR Master Mix, 0,5 мкл 40-кратної суміші специфічних праймерів і зондів, об’єм доводили до 20 мкл деіонізованою водою.

Алельний поліморфізм гена PSMA6 (C⁻⁸→G) (rs 1048990) визначали із застосуванням TaqMan® SNP Assay C_11599359_10 та 7500 Fast Real Time PCR System (“Applied Biosystems”, США) [13]. Для ампліфікації брали 0,5 мкл ДНК і додавали до суміші, що містила 10 мкл 2-кратного TaqMan PCR Master Mix, 0,5 мкл 40-кратного TaqMan® SNP Assay C_11599359_10, об’єм доводили до 20 мкл деіонізованою водою. Програма ампліфікації складалася з 50 циклів (денатурація – 92 °C, 15 с, гібридизація та елонгація – 60 °C, 1 хв), після чого проводили аналіз з дискримінації алелей (рис. 1, 2).

Статистичний аналіз проведено за допомогою програмного пакета SPSS версія 20.0, а також за законом Харді–Вайнберга для розподілу генів у популяції. Для створення прогностичної моделі ризику виникнення інсульту була використана бінарна логістична

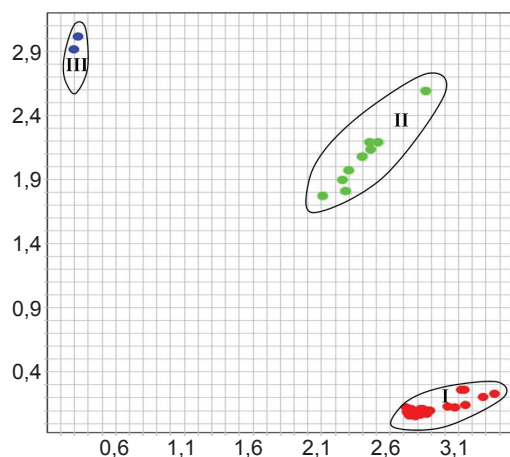


Рис. 1. Результати дискримінаційного аналізу алелей гена PSMA6 (C⁻⁸→G) із застосуванням 7500 Fast Real-time PCR System між людьми контрольної групи та хворими на ішемічний інсульт: I – гомозиготи C/C, II – гетерозиготи C/G, III – гомозиготи G/G

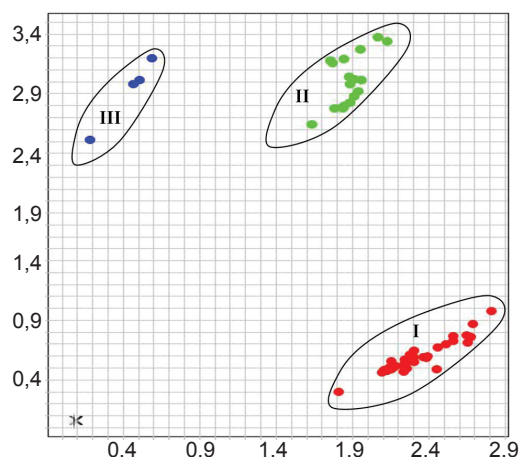


Рис. 2. Результати дискримінаційного аналізу алелей гена LMP2 (Arg₆₀→His) із застосуванням 7500 Fast Real Time PCR між здоровими людьми контрольної групи та хворими на ішемічний інсульт: I – гомозиготи Arg/Arg, II – гетерозиготи Arg/His, III – гомозиготи His/His

регресія. Предиктори були такі: 2 поліморфізми (PSMA6 та LMP2), стать і вік. При проведенні обробки результатів нам не вдалося виявити статистично-значимих предикторів ($P > 0,05$), які б дали змогу з певною ймовірністю прогнозувати ризик розвитку інсульту.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті генотипування було встановлено, що частота різних алельних варіантів гена протеасоми PSMA6 ($C^8 \rightarrow G$) у пацієнтів з ішемічним інсультом була такою: C/C – 75,5 %, C/G – 21,4 %, G/G – 3,1 %, що достовірно не відрізнялося від контролю: C/C – 80,2 %, C/G – 19,8 %, G/G – не зареєстровано ($P=0,22$ за критерієм χ^2 ; рис. 3.).

При генотипуванні встановлено, що частота різних алельних варіантів субодиниці імунпротеасоми LMP2 у хворих достовірно відрізнялася від пацієнтів без інсульту та була наступною: Arg/Arg – 55,9 %, Arg/His – 34,3 %, His/His – 9,8 %, а у контролі: Arg/Arg – 53,3 %, Arg/His – 43,5 %, His/His – 6,7 % ($P > 0,05$; див. рис. 3).

Ми проаналізували вік, в якому розвинувся ішемічний інсульт у хворих з різними алельними варіантами субодиниць гена LMP2 ($Arg_{60} \rightarrow His$) та PSMA6 ($C^8 \rightarrow G$). Встановлено, що середній вік хворих з мажорним гомозиготним алельним варіантом (Arg/Arg)

становив $69,4 \pm 10,8$ роки, алельним варіантом (Arg/His) – $73,9 \pm 7,7$ роки та мінорним гомозиготним алельним варіантом (His/His) – $63,3 \pm 6,5$ роки. Таким чином, було встановлено, що у пацієнтів-гомозигот за мінорним алельним варіантом гена LMP2 ішемічний інсульт розвинувся в середньому на 10,6 років раніше порівняно з гетерозиготним варіантом (Arg/His) та на 6,1 роки раніше порівняно з хворими з мажорним гомозиготним варіантом (Arg/Arg). Подібну, однак дещо менш виражену, тенденцію виявлено і при аналізі впливу алельного поліморфізму субодиниці гена протеасоми PSMA6 ($C^8 \rightarrow G$): середній вік хворих з мажорним гомозиготним алельним варіантом (C/C) становив $70,3 \pm 10,3$ роки, гетерозиготним – (C/G) – $71,7 \pm 9,5$ роки та мінорним гомозиготним – (G/G) – $66,0 \pm 9,5$ роки ($P > 0,05$). У хворих з мінорним гомозиготним алельним варіантом субодиниці гена протеасоми PSMA6 (G/G) ішемічний інсульт виник в середньому на 5,7 роки раніше порівняно з пацієнтами з гетерозиготним варіантом (C/G) та в середньому на 4,3 роки раніше порівняно з особами з мажорним гомозиготним алельним поліморфізмом (C/C; $P > 0,05$).

Також ми проаналізували поширеність цукрового діабету, миготливої аритмії, перенесеного в минулому інфаркту міокарда та ішемічного інсульту серед пацієнтів з різними алельними варіантами субодиниць гена LMP2 ($Arg_{60} \rightarrow His$) та гена PSMA6 ($C^8 \rightarrow G$; таблиця).

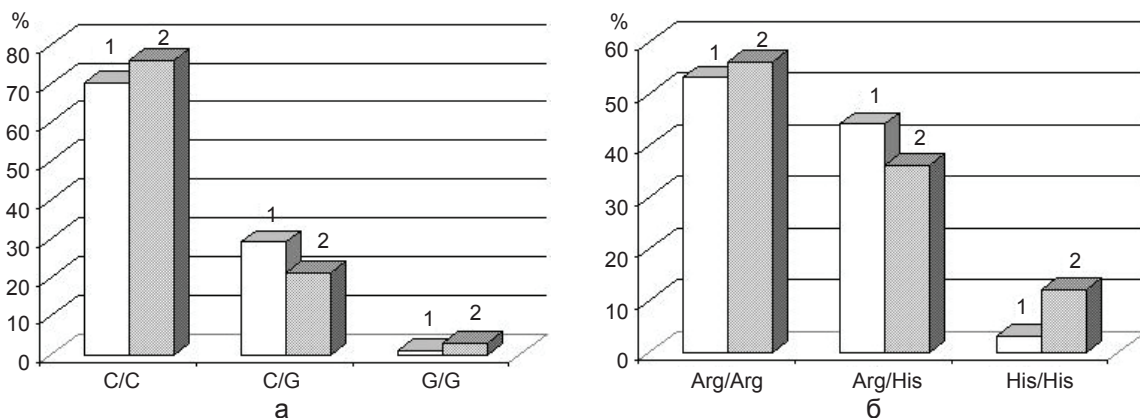


Рис. 3. Частота алельних варіантів субодиниці гена протеасоми PSMA6 ($C^8 \rightarrow G$) (а), імунпротеасоми LMP2 ($Arg_{60} \rightarrow His$) (б) серед осіб контрольної (1) та хворих дослідної груп (2)

При порівнянні частоти вищезгаданих факторів ризику у хворих з різними варіантами субодиноць гена PSMA6 (C⁻⁸→G) встановлено, що у пацієнтів з мінорним варіантом генотипу поширеність перенесених у минулому інфаркту міокарда та ішемічного інсульту, хоча й не сягали достовірної різниці, були більш розповсюдженими порівняно з гетерозиготним і мажорним гомозиготним варіантом субодиноць гена PSMA6: інфаркт міокарда в анамнезі зареєстровано у 1 з 3 хворих (P=0,098), а перенесений в минулому ішемічний інсульт у 2 з 3 хворих (P=0,056). Поширеність цукрового діабету та миготливої аритмії достовірно не відрізнялися (див. таблицю).

У результаті проведеного порівняння нами встановлено, що поширеність цукрового діабету серед хворих на гострий ішемічний інсульт з різними алельними варіантами субодиноць гена LMP2 (Arg₆₀→His) достовірно відрізнялась (P=0,032): найбільш поширеним цукровий діабет був серед пацієнтів з гетерозиготним варіантом (Arg/His) – зареєстрований у 11 (31,4 %) з 36 хворих. Поширеність миготливої аритмії, перенесених в минулому

інфаркту міокарда та ішемічного інсульту достовірно не відрізнялась у пацієнтів з різними варіантами субодиноць гена LMP2 (див. таблицю).

Таким чином, встановлено, що частота різних алельних варіантів гена субодиноць протеасоми PSMA6 та імунопротеасоми LMP2 у хворих на ішемічний інсульт достовірно не відрізнялася від пацієнтів без інсульту. Нами виявлено, що у пацієнтів з мінорним гомозиготним алельним варіантом (His/His) гена субодиноць імунопротеасоми LMP2 та у осіб з мінорним гомозиготним алельним варіантом субодиноць гена протеасоми PSMA6 (G/G) ішемічний інсульт виникає в значно молодшому віці порівняно з пацієнтами з гетерозиготним і мажорним гомозиготним поліморфізмом; цукровий діабет був серед пацієнтів з гетерозиготним варіантом (Arg/His).

Подальші дослідження, можливо, вкажуть як поліморфізми впливають на ризик розвитку артеріальної гіпертензії та інфаркту міокарда, але не пов'язані з ішемічним інсультом.

Поширеність цукрового діабету, фібриляції передсердь, перенесеного в минулому інфаркту міокарда та ішемічного інсульту серед пацієнтів з різними алельними варіантами субодиноць гена PSMA6 (C⁻⁸→G) та LMP2 (Arg₆₀→His)

Генотипи	Цукровий діабет	Без цукрового діабету	Фібриляція передсердь	Без фібриляції передсердь	Інфаркт міокарда в анамнезі	Без інфаркту міокарда в анамнезі	Ішемічний інсульт в анамнезі	Без ішемічного інсульту в анамнезі
Arg/Arg	8 (14,0%)*	49 (86%)	11 (19,3%)	46 (80,7%)	4 (7%)	53 (93%)	12 (21,1%)	45 (78,9%)
Arg/His	11 (31,4%)*	24 (68,6%)	11 (31,4%)	24 (68,6%)	7 (20%)	28 (80%)	8 (22,9%)	27 (77,1%)
His/His	-	10 (100%)	3 (30%)	7 (70%)	1 (10%)	9 (90%)	-	10 (100%)
C/C	14 (18,9%)	60 (81,1%)	19 (25,7%)	55 (74,3%)	11 (14,9%)	63 (85,1%)	16 (21,6%)*	58 (78,4%)
C/G	4 (19%)	17 (81%)	6 (28,6%)	15 (71,4%)	-	21 (100%)	2 (9,5%)*	19 (90,5%)
G/G	-	3 (100%)	-	3 (100%)	1 (33,3%)	2 (66,7%)	2 (66,7%)	1 (33,3%)

* P<0,05.

**Е.И. Савчук, В.С. Мельник, С.В. Гончаров,
В. Ю. Шандюк, Д.А. Строй, В.Е. Досенко,
Л.И. Соколова, Г.Г Скибо**

**ЧАСТОТА АЛЛЕЛЬНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ
ГЕНОВ СУБЪЕДИНИЦ КОНСТИТУЦИОН-
НОЙ И ИМУННОЙ ПРОТЕАСОМ У БОЛЬ-
НЫХ С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ**

Представлены результаты определения частоты аллельного полиморфизма генов, кодирующих большие мультифункциональные протеазы LMP2 (Arg₆₀→His-полиморфизм) и αβ-субъединицу корковой части протеасомы (C⁻⁸→G-полиморфизм), у больных с ишемическим инсультом, используя метод полимеразной ценной реакции в реальном времени. Аллельные варианты гена PSMA6 распределялись следующим образом: C/C – 80,2%, C/G – 19,8%, G/G – не зарегистрировано (в контрольной группе) и C/C – 75,5%, C/G – 21,4%, G/G – 3,1% у больных ишемическим инсультом (P=0,22). Установлено, что частота аллельных вариантов гена LMP2 была следующей: Arg/Arg – 53,3%, Arg/His – 43,5%, His/His – 6,7% в контрольной группе, а у больных ишемическим инсультом – Arg/Arg – 55,9%, Arg/His – 34,3%, His/His – 9,8% (P>0,05). Полученные результаты свидетельствуют о том, что полиморфизмы генов LMP2 и PSMA6 не влияют на вероятность развития ишемического инсульта в украинской популяции. Ключевые слова: протеасома, полиморфизм единичных нуклеотидов, ишемический инсульт.

**O.I. Savchuk, V.S. Melnyk, S.V. Goncharov,
V.Yu. Shandyuk, D.O. Stroi, V.E. Dosenko,
L.I. Sokolova, G.G. Skibo**

**FREQUENCY OF ALLELIC POLYMORPHISM
OF PROTEASOME SUBUNITS PSMA6 AND
LMP2 IN PATIENTS WITH ISCHEMIC
STROKE**

Frequency of allelic variants of proteasome subunits genes LMP2 (Arg₆₀→His) and PSMA6 were determined in patients with ischemic stroke using real-time PCR. Allelic variants of PSMA6 were disposed in the next manner: C/C – 80,2%, C/G – 19,8%, G/G – were not (in control) and C/C – 75,5%, C/G – 21,4%, G/G – 3,1% (P=0,22) in patients with IS. It was shown that distribution of LMP2 allelic variants was the following: Arg/Arg – 53,3%, Arg/His – 43,5%, His/His – 6,7% in control and Arg/Arg – 55,9%, Arg/His – 34,3%, His/His – 9,8% in IS group (P>0,05). The data show that LMP2 and PSMA6 gene polymorphism is not a risk factor of ischemic stroke in Ukrainian population.

Key words: proteasome, single nucleotide polymorphism, ischemic stroke.

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology National Academy of Science of Ukraine, Kyiv;

State Key Laboratory of Molecular and Cellular Biology

REFERENCES

1. Barbieri M, Marfella R, Rizzo MR, Boccardi V, Siniscalchi M, Schiattarella C, Siciliano S, Lemme P, Paolisso G. The 8'UTR C/G polymorphism of PSMA6 gene is associated with susceptibility to myocardial infarction in type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis*. 2008; **201**: 117- 123.
2. Bennett DA, Xu P, Clarke R, Zondervan K, Parish S, Palmer A, Cardon L, Peto R, Lathrop M, Collins R. The exon 1-8C/G SNP in the PSMA6 gene contributes only a small amount to the burden of myocardial infarction in 6946 cases and 2720 controls from a United Kingdom population. *Eur J Hum Genet*. 2008; **16**: 480-486.
3. Brass LM, Isaacsohn JL, Merikangas KR, Robinette CD. A study of twins and stroke. *Stroke*. 1992; **23**(2): 221-223.
4. Cheng YC, Anderson CD, Bione S, Keene K, Maguire JM, Nalls M, Rasheed A, Zeginigg M, Attia J, Baker R, Barlera S, Biffi A, Bookman E, Brott TG, Brown RD Jr, Chen F, Chen WM, Ciusani E, Cole JW, Cortellini L, Danesh J, Doheny K, Ferrucci L, Grazia Franzosi M, Frossard P, Furie KL, Golledge J, Hankey GJ, Hernandez D, Holliday EG, Hsu FC, Jannes J, Kamal A, Khan MS, Kittner SJ, Koblar SA, Lewis M, Lincz L, Lisa A, Matarin M, Moscato P, Mychaleckyj JC, Parati EA, Parolo S, Pugh E, Rost NS, Schallert M, Schmidt H, Scott RJ, Sturm JW, Yadav S, Zaidi M, Boncoraglio GB, Levi CR, Meschia JF, Rosand J, Sale M, Saleheen D, Schmidt R, Sharma P, Worrall B, Mitchell BD. Are myocardial infarction-associated single-nucleotide polymorphisms associated with ischemic stroke? *Stroke*. 2012; **43**: 980-986.
5. Deng GY, Muir A, Maclaren NK, She JX. Association of LMP2 and LMP7 genes within the major histocompatibility complex with insulin-dependent diabetes mellitus: population and family studies. *Amer. J. Hum. Genet*. 1995; **56**: 528-534.
6. Dosenko VE, Mykhalchuk DV, Zagoryi VY, Khaytovych MV, Moibenko AA. Functional significance of allelic polymorphisms of genes encoding the catalytic subunit immunoproteasome. *Fiziol Zh*. 2005; **51**(6): 3-10.
7. Freilinger T, Bevan S, Ripke S, Gschwendtner A, Lichtner P, Müller-Myhsok B, Wichmann HE, Markus HS, Meitinger T, Dichgans M. Genetic variation in the lymphotoxin-alpha pathway and the risk of ischemic stroke in European populations. *Stroke*. 2009; **40**: 970-972.
8. Goldberg AL, Cascio P, Saric T, Rock KL. The importance of the proteasome and subsequent proteolytic steps in the generation of antigenic peptides. *Mol. Immunol*. 2002; **39**(3): 147-164.
9. Goldberg A, Eledzh C, Harper DzhV. Mechanisms of cell death. *The world of science*. 2001; **2**: 32-37.
10. Mishchenko TS. Treatment of stroke: towards full use of the opportunities of the therapeutic window. *Health Protection of Ukraine*. 2009; **1**: 12-15.
11. Morgan TM, Krumholz HM, Lifton RP, Spertus JA. Nonvalidation of reported genetic risk factors for acute coronary syndrome in a large-scale replication study. *JAMA*. 2007; **297**: 1551-1561.

12. Ozaki K, Sato H, Iida A. A functional SNP in PSMA6 confers risk of myocardial infarction in the Japanese population. *Nat. Genet.* 2006; **38**(8): 921-925.
13. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, Bravata DM, Dai S, Ford ES, Fox CS, Fullerton HJ, Gillespie C, Hailpern SM, Heit JA, Howard VJ, Kissela BM, Kittner SJ, Lackland DT, Lichtman JH, Lisabeth LD, Makuc DM, Marcus GM, Marelli A, Matchar DB, Moy CS, Mozaffarian D, Mussolino ME, Nichol G, Paynter NP, Soliman EZ, Sorlie PD, Sotoodehnia N, Turan TN, Virani SS, Wong ND, Woo D, Turner MB. Executive summary: heart disease and Stroke statistics – 2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 2012; **125**: 188-197.
14. Skvortsova VI, Yarygin VN, Yarygin KN, Pirogov AY, Gubskiy LV, Uchevatkin AA, Glushkova TT. Experimental model of focal cerebral ischemia in rats based endovascular microsurgery. *Zh. Neurology and Psychiatry by SS Korsakov.* 2008; **109**(2): 62-69.
15. Sjakste T, Poudziunas I, Ninio E, Perret C, Pirags V, Nicaud V, Lazdins M, Evanss A, Morrison C, Cambien F, Sjakste N. SNPs of PSMA6 gene –investigation of possible association with myocardial infarction and type 2 diabetes mellitus. *Genetik.* 2007; **43**: 553-559.
16. Willerson JT, Ridker PM. Inflammation as a cardiovascular risk factor. *Circulation.* 2004; **109**: 2-10.
17. Zhang W, Meng H, Li ZH, Shu Z, Ma X, Zhang BX. Regulation of STIM1, store-operated Ca²⁺ influx, and nitric oxide generation by retinoic acid in rat mesangial cells. *Amer. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2007; **292**(3): 1054-1064.

*Ин-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України;
Державна ключова лабораторія молекулярної і клі-
тинної біології, Київ
E-mail: floweringbowl@ukr.net*

*Матеріал надійшов
до редакції 23.09.2013*