

В.Ю. Гарбузова¹, Д.А. Строй², В.Є. Досенко², Є.І. Дубовик¹, А.О. Бороденко¹,
К.А. Шимко¹, О.А. Обухова¹, О.В. Атаман¹

Асоціація поліморфізму генів системи матриксного Gla-протеїну з розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту

¹ Сумський державний університет;

² Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ
vikgarbuzova@yandex.ru

Наведено результати визначення 10 поліморфізмів генів системи матриксного Gla-протеїну (ген MGP – T¹³⁸→C (rs1800802), G⁻⁷→A (rs1800801), Thr₈₃→Ala (rs4236); ген VDR – FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410), ApaI (rs7975232), TaqI (rs731236), ген GG CX – Arg₃₂₅→Gln (rs699664), ген VKORC1 – T²²⁵⁵→C (rs2359612), ген BMP-2 – Ser₃₇→Ala (rs2273073)) у 170 хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом (ІАТІ) і 124 здорових індивідумів (контрольна група). Встановлено, що існує зв'язок між ІАТІ і поліморфними варіантами генів MGP (G⁻⁷→A) та VKORC1 (T²²⁵⁵→C). Ризик розвитку ІАТІ у носіїв мінорного алеля А/А (G⁻⁷→A-поліморфізм) у 2,6 вищий, ніж у носіїв основного алеля (G/A+G/G), а у осіб з генотипом С/С (T²²⁵⁵→C-поліморфізм) у 2,2 раза більший, ніж у гомозигот за основним алелем. Збіг у пацієнтів генотипів Т/С і G/G, С/С і G/A, а також генотипу А/А (G⁻⁷→A-поліморфізм) із будь-яким з генотипів за T²²⁵⁵→C-поліморфізмом збільшує ризик розвитку ІАТІ.

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

ВСТУП

Чинниками, з якими пов'язують розвиток ускладнень артеріосклерозу, серед яких і ІАТІ, є кальцифікація артерій, яка може відбуватися як в інтимі (мінералізація атеросклеротичних бляшок), так і в середньому шарі судинної стінки (склероз Менкеберга) [1,2]. На думку багатьох авторів відкладання солей кальцію в структурах артерій - несприятливий прогностичний фактор, що свідчить про високу ймовірність настання фатальних ускладнень [3,4]. Однією з центральних ланок у захисті судин від ектопічної кальцифікації є білок – матриксний Gla-протеїн (MGP), наявність якого в тканинах перешкоджає як ініціюванню патологічного обвапнення, так і його поширенню [5,6]. У великій кількості праць удалося з'ясувати механізми регуляції

експресії гена MGP, і виявити можливі шляхи реалізації антикальциногенних властивостей відповідного білка. Це дало підстави говорити про функціональну систему MGP, до якої можуть бути зараховані, крім самого протеїну, такі чинники, як рецептор вітаміну D (VDR) – важливий регулятор експресії гена MGP, ферменти, що беруть участь у біохімічних перетвореннях MGP, вітамін К-оксидоредуктаза (VKOR) і γ-глутамілкарбоксилаза (GGCX), а також можливі мішені для MGP, зокрема кістковий морфогенетичний протеїн (BMP-2). Ефективна діяльність цієї системи може залежати від багатьох факторів, серед яких поліморфізм генів, що кодують структуру відповідних білків. Сьогодні вивчається зв'язок різних алельних варіантів гена MGP з серцево-судинними захворюваннями (ате-

© В.Ю. Гарбузова, Д.А. Строй, В.Є. Досенко, Є.І. Дубовик, А.О. Бороденко, К.А. Шимко, О.А. Обухова, О.В. Атаман

росклероз, інфаркт міокарда, інсульт) [7-11], остеопорозом [12], сечокам'яною хворобою [13], втратою зубів [14], інтоксикацією свинцем [15]. Отримані дані неоднозначні і досить суперечливі. Комплексні дослідження, у яких би вивчалася роль генетичного поліморфізму *MGP* і пов'язаних із ним протеїнів у розвитку серцево-судинних недуг, до цього часу не проводилися. У зв'язку з цим метою нашої роботи було вивчення частоти алельних варіантів генів системи MGP (*MGP*, *VDR*, *VKORC1*, *GGCX*, *BMP-2*) у хворих з ІАТІ і проведення аналізу комплексного впливу вивчених поліморфізмів на розвиток хвороби.

МЕТОДИКА

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 встановлювався за даними анамнезу і клінічної картини хвороби, результатами МРТ-дослідження головного мозку. Патогенетичний варіант інсульту визначали відповідно до критеріїв TOAST [16].

Група контролю складалася з 124 практично здорових донорів, у яких відсутність серцево-судинної патології підтверджували збирання анамнестичних даних, зняття електрокардіограми і вимірювання артеріального тиску.

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 ($P < 0,001$). Остання обставина збільшувала надійність контролю, оскільки зменшувалася ймовірність розвитку ІАТІ у пацієнтів контрольної групи в майбутньому.

Венозну кров набирали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,7 мл із калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кис-

лоти (11,7 мМ) ("Sarstedt", Німеччина), заморожували та зберігали при температурі -20 °С. ДНК виділяли з цільної крові з використанням наборів DIAAtom DNA Prep 200 («Isogene», Росія).

У роботі було вивчено 10 поліморфізмів: промотору гена *MGP* T¹³⁸→C (rs 1800802), стартової точки гена *MGP* G⁻⁷→A (rs 1800801), 4-го екзону гена *MGP* Thr₈₃→Ala (rs 4236), 2-го екзону гена *VDR* FokI (rs 2228570), 8-го інтрону гена *VDR* BsmI (rs 1544410) і *ApaI* (rs 7975232), 9-го екзону гена *VDR* TaqI (rs 731236), 8-го екзону гена *GGCX* Arg₃₂₅→Gln (rs 699664), 2-го інтрону гена *VKORC1* T²²⁵⁵→C (rs 2359612), 2-го екзону гена *BMP-2* Ser₃₇→Ala (rs 2273073).

Алельний поліморфізм вивчали методом полімеразної ланцюгової реакції з подальшим аналізом довжини рестрикційних фрагментів (PCR-RFLP) (табл. 1). Використовували праймери, синтезовані фірмою "Metabion" (Німеччина), і ферменти (Taq-полімераза і рестриктази) фірми "Thermo Scientific" (США). PCR проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 ("Applied Biosystems", США). Ампліфікати після рестрикції розділяли в 2,5 % агарозному гелі, що містив 10 мкг/мл бромистого етидію. Візуалізацію ДНК після електрофорезу здійснювали за допомогою транслюмінатора («Біоком», Росія).

Статистичний аналіз провели з використанням середовища для статистичної обробки інформації R, а також програми MDR версії 2.0. Перевірку різниці розподілу генотипів здійснювали за допомогою χ^2 -критерію Пірсона. Відмінність вважали статистично значимою при $P < 0,05$. Для прогнозування ризику виникнення ІАТІ використовували метод логістичної регресії. Вибір головних предикторів розвитку ускладнень атеросклеротичного процесу серед вивчених поліморфізмів здійснювали методом "Random Forest" [17-20]. І нарешті для виявлення та характеристики міжгенних взаємодій використовували метод MDR (від англ. multifactor dimensionality reduction) [21].

Таблиця 1. Методика проведення полімеразної ланцюгової реакції

Ген, поліморфізми	Праймери	Температура відпалу (час)	Розмір ампліфікатів (пари основ)	Рестриктаза	Розмір фрагментів рестрикції
<i>MGP</i> , T ¹³⁸ →C (rs 1800802)	П: 5'-AAGCATACGATGGCCAAAATTCTGCA-3' 3: 5'-GAACTAGCATTGGAACSTTTCCCAACC-3'	57°C (60 с)	142	<i>Bse</i> NI	118, 24
<i>MGP</i> , G ⁻⁷ →A (rs 1800801)	П: 5'-CTAGTTCAGTGCCAACCSTTCCCCACC-3' 3: 5'-TAGCAGCAGTAGGGAGAGAGGGCTCCCA-3'	64,5°C (45 с)	500	<i>Nco</i> I	240, 260
<i>MGP</i> , Thr ₈₃ →Ala (rs 4236)	П: 5'-TCAATAGGGAAGCCTGTGATG-3' 3: 5'-AGGGGG ATACAAAATCAGGTG-3'	64,5°C (45 с)	173	<i>Eco</i> 47I	127, 46
<i>VDR</i> , FokI (rs 2228570)	П: 5'-AGCTGGCCTGGCACTGACTCTG-3' 3: 5'-ATGGA AACACSTTGCTTCTTCTCCCTC-3'	64,5°C (45 с)	267	<i>Fok</i> I	204, 63
<i>VDR</i> , BsmI (rs 1544410)	П: 5'-AGGGAGACGTAGCAAAAAGGAG-3' 3: 5'-TGTCCCAAGGTCACAATAAC-3'	60°C (45 с)	425	<i>Bsm</i> I	232, 193
<i>VDR</i> , ApaI (rs 7975232)	П: 5'-CAGAGCATGGACAGGGAGCAA-3' 3: 5'-CACTTCGAGCACAAGGGGCGTTAGC-3'	64,5°C (45 с)	501	<i>Apa</i> I	284, 217
<i>VDR</i> , TaqI (rs 731236)	П: 5'-CAGAGCATGGACAGGGAGCAA-3' 3: 5'-CACTTCGAGCACAAGGGGCGTTAGC-3'	64,5°C (45 с)	501	<i>Taq</i> I	294, 207
<i>GGCX</i> , Arg ₃₂₅ →Gln (rs 699664)	П: 5'-GGAGAAGTCTCCTAAGGGAACG-3' 3: 5'-AGTC CAGCSTTTGCTGTACACT -3'	65°C (30 с)	384	<i>Xmn</i> I	216, 168
<i>VKORC1</i> , T ²²⁵⁵ →C (rs 2359612)	П: 5'-GAACAGAGAGAGGAACCAAGGGAGTGGA-3' 3: 5'-TCTGAACCATGTGTCAGCCAGGACC-3'	62,5°C (45 с)	198	<i>Nco</i> I	172, 26
<i>BMP-2</i> , Ser ₃₇ →Ala (rs 2273073)	П: 5'-CTCACGTCGGTCCTGTC C-3' 3: 5'-CCCTGCTCCATGCCTCAC-3'	60°C (60 с)	393	<i>Hpy</i> 99I	253, 140

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Генотипування хворих із ІАТІ по десяти сайтах генів системи *MGP* і порівняння одержаних даних з результатами рестрикційного аналізу в контрольній групі дало змогу встановити частоту, з якою зустрічаються певні варіанти цих генів (табл. 2). Розподіл аельних варіантів у хворих із ІАТІ і практично здорових осіб достовірно відрізнявся тільки для генів *MGP* за поліморфізмом G⁻⁷→A (P = 0,051) і *VKORC1* за поліморфізмом T²²⁵⁵→C (P = 0,043). Таким чином, існує зв'язок між даними поліморфізмами і розвитком ІАТІ. Використання методу логістичної регресії підтвердило цей висновок: у носіїв генотипу А/А за поліморфізмом G⁻⁷→А ризик розвитку ІАТІ у 2,6 рази вищий, ніж у носіїв основного алеля (G/А+G/G). У жінок він ще

більший: особи жіночої статі, гомозиготні за мінорним алелем (А/А), у 6,6 рази частіше хворіють на ІАТІ, ніж жінки-носії основного алеля (G/А+G/G) (табл. 3). У носіїв генотипу С/С за поліморфізмом T²²⁵⁵→С гена *VKORC1* ризик ІАТІ у 2,2 рази більший, ніж у гомозигот за основним алелем (табл. 4).

Результати комплексного аналізу частоти аельних варіантів генів системи *MGP* у пацієнтів з серцево-судинними захворюваннями нечисленні. У 2010 р. Shyu та співавт. досліджували зв'язок поліморфних варіантів генів *GGCX* (Gln₃₂₅→Arg), *VKORC1* (rs9923231) та *NQO1* (Pro₁₈₇→Ser) з ІАТІ і виявили статистично значимий протективний ефект зазначених поліморфізмів відносно ризику розвитку ішемічного інсульту. Синергізм досліджуваних локусів був більш вираженим у пацієнтів, які не вживали спиртних напоїв

Таблиця 2. Розподіл алельних варіантів за поліморфізмами генів системи MGP у контрольній групі та у хворих з ішемічним атеросклеротичним інсультом (ІАТІ)

Ген, поліморфізми	Контрольна група (1/1 : 1/2 : 2/2)	Хворі на ІАТІ (1/1 : 1/2 : 2/2)	P
<i>MGP</i> , T ¹³⁸ →C (rs 1800802)	59,7 : 35,5 : 4,8	61,2 : 31,2 : 7,6	0,521
<i>MGP</i> , G ⁻⁷ →A (rs 1800801)	43,5 : 50,0 : 6,5	35,9 : 48,8 : 15,3	0,051
<i>MGP</i> , Thr ₈₃ →Ala (rs 4236)	34,7 : 53,2 : 12,1	39,4 : 48,8 : 11,8	0,701
<i>VDR</i> , FokI (rs 2228570)	27,4 : 48,4 : 24,2	23,5 : 53,5 : 22,9	0,654
<i>VDR</i> , BsmI (rs 1544410)	46 : 41,9 : 12,1	41,8 : 43,5 : 14,7	0,707
<i>VDR</i> , ApaI (rs 7975232)	31,5 : 42,7 : 25,8	26,5 : 50,0 : 23,5	0,454
<i>VDR</i> , TaqI (rs 731236)	43,5 : 45,2 : 11,3	40,0 : 48,2 : 11,8	0,829
<i>GGCX</i> , Arg ₃₂₅ →Gln (rs 699664)	36,3 : 50,8 : 12,9	31,8 : 50,0 : 18,2	0,423
<i>VKORC1</i> , T ²²⁵⁵ →C (rs 2359612)	36,3 : 42,7 : 21,0	25,3 : 42,4 : 32,4	0,043
<i>BMP-2</i> , Ser ₃₇ →Ala (rs 2273073)	44,4 : 39,5 : 16,1	38,2 : 37,6 : 24,1	0,231

Примітка: 1/1:1/2:2/2 – співвідношення гомозигот за основним алелем, гетерозигот і гомозигот за мінорним алелем; P – показник значимості відмінностей у розподілі генотипів між контрольною групою та хворими на ІАТІ

та не були курцями [22]. Дослідження інших авторів довели, що поліморфізм першого інтрону C¹¹⁷³→T гена *VKORC1* асоційований з кальцифікацією кровоносних судин і є важливим генетичним фактором розвитку атеросклерозу [23]. Wang та співавт., вивча-

ючи розподіл генотипів за T²²⁵⁵→C-поліморфізмом гена *VKORC1*, виявили, що наявність C-алелю більше ніж удвічі підвищує ризик розвитку ішемічної хвороби серця та інсульту та понад у три рази – розшарування аорти [24]. Проте Hindorff та співавт. не підтвердили

Таблиця 3. Аналіз ризику ішемічного атеросклеротичного інсульту залежно від генотипу за G⁻⁷→A поліморфізмом гена MGP в осіб жіночої і чоловічої статей

Група	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
Загалом	0,962	0,423	5,174	0,023	2,618	1,142	6,000
Жінки	1,894	0,775	5,976	0,015	6,645	1,456	30,339
Чоловіки	0,207	0,550	0,142	0,706	1,230	0,419	3,617

Примітка: порівнюються гомозиготи за мінорним алелем (A/A) з носіями основного алеля (G/A+G/G); CR – коефіцієнт регресії; SE – стандартна похибка; WS – статистика Вальда; P – статистична значимість; OR – відношення ризику; CI – довірчий інтервал

Таблиця 4. Аналіз ризику ішемічного атеросклеротичного інсульту залежно від генотипу за T²²⁵⁵→C поліморфізмом гена *VKORC1*

Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
C/C	0,795	0,320	6,184	0,013	2,214	1,183	4,141
T/C	0,352	0,280	1,582	0,208	1,422	0,822	2,460

Примітка: порівняння проводилося відносно гомозигот за основним алелем (Т/Т); CR – коефіцієнт регресії; SE – стандартна похибка; WS – статистика Вальда; P – статистична значимість; OR – відношення ризику; CI – довірчий інтервал

цього висновку. Вивчаючи зв’язок групи поліморфізмів гена *VKORC1*, серед яких T²²⁵⁵→C, з інфарктом міокарда та іншими серцево-судинними хворобами, автори показали, що жоден із досліджуваних поліморфних варіантів не був асоційований з розвитком захворювань серця і судин, що вивчалися [25].

Наступним кроком нашого дослідження стало вивчення поєднаного впливу поліморфізму генів системи MGP і з’ясування їх спільного внеску в розвиток ІАТІ. Подібний аналіз надав можливість виявити найінформативніші комбінації поліморфних локусів, які у разі поєднаного впливу мають найбільше значення у розвитку ІАТІ. Першим в алгоритмі аналізу даних був застосований метод “Random Forest”. Він дав змогу побудувати

модель, яка відображає всі досліджувані поліморфізми (предиктори) згідно з рівнем їх важливості (ступенем внеску в розвиток ІАТІ та здатністю прогнозувати ризик його виникнення). Згідно з цим методом дослідження найбільш важливим серед усіх предикторів є T²²⁵⁵→C-поліморфізм гена *VKORC1* (рис. 1).

Для вдосконалення класифікаційної моделі був використаний метод селекції найбільш значимих предикторів, запропонований С. Strobl [20]. Згідно з цим, рандомізаційна значимість факторів ризику, що мають незначний вплив на ризик виникнення захворювання, коливається близько нуля. Абсолютне значення чинника з найменшим показником рандомізаційної важливості є пороговою і опорною величиною для вертикальної лінії.

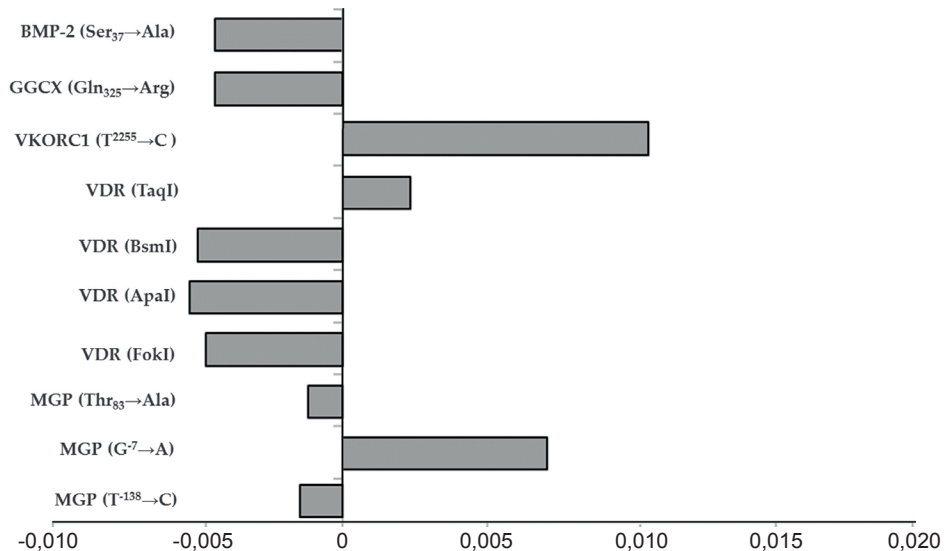


Рис. 1 Предиктори розвитку ішемічного атеросклеротичного інсульту за рівнем їх значимості (метод “Random Forest”)

Усі значущі предиктори повинні перетнути цю межу (рис. 2). Як і при попередньому

аналізі, підтверджено, що найбільш вагомим предиктором розвитку ІАТІ є $T^{2255} \rightarrow C$ -

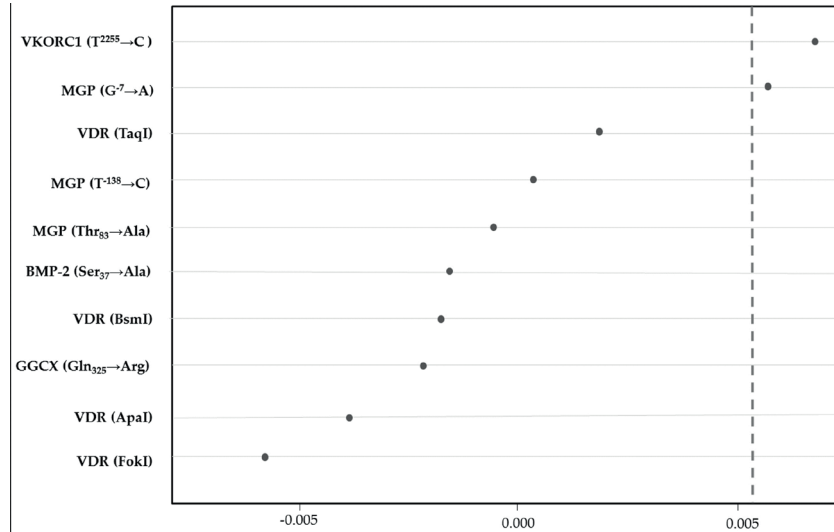


Рис. 2 Результати методу фільтрації «шумів». Важливі предиктори розміщені праворуч від пунктирної лінії

ліморфізм гена *VKORC1*. Для подальшого дослідження були обрані лише ті поліморфні варіанти вивчених генів, які розміщені праворуч від пунктирної лінії. На їх основі була створена класифікаційна модель, яка мала прогностичну значущість 58% з крос-перевірочною здатністю 10/10.

На рис. 3 відображена комбінація генотипів $T^{2255} \rightarrow C$ та $G^{-7} \rightarrow A$. Виявлено, що у разі збігу генотипів T/C і G/G, C/C і G/A, а також генотипу A/A ($G^{-7} \rightarrow A$ - поліморфізм) із будь-яким з генотипів за $T^{2255} \rightarrow C$ -поліморфізмом ризик розвитку ІАТІ зростає. Методом MDR встановлено, що найбільша частка ентропії стосовно до статусу «випадок-контроль» пов'язана з поліморфними сайтами $G^{-7} \rightarrow A$ та $T^{2255} \rightarrow C$ і дорівнює 1,54 % та 1,55 % відповідно (рис. 4). Проте аналіз міжгенних взаємодій виявив, що синергічний ефект даних локусів хоча і наявний, але виражений слабо (0,80 %). Характер та сила взаємодії між іншими предикторами є ще менш значними та важливими. Насамкінець нами були проведені пермутаційні тести, які не виявили статистичної значущості створеної моделі для ІАТІ ($P > 0,05$). Отже, результати проведених

аналізів показали, що важливими предикторами ІАТІ є поліморфізми $G^{-7} \rightarrow A$ (ген *MGP*) та $T^{2255} \rightarrow C$ (ген *VKORC1*). Проте створені на їх основі класифікаційні моделі виявили слабку прогностичну здатність. Подальша

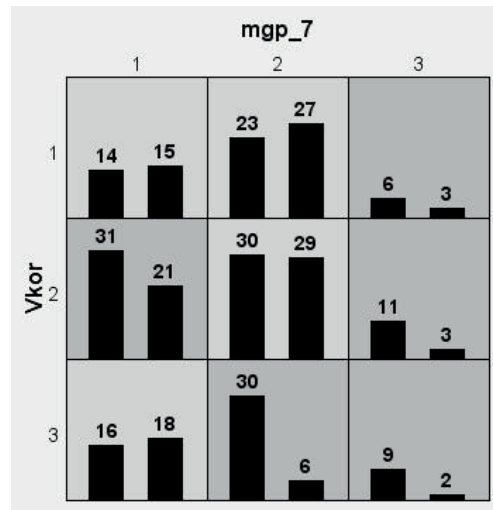


Рис. 3 Комбінації генотипів за $G^{-7} \rightarrow A$ та $T^{2255} \rightarrow C$ поліморфізмами, пов'язані з високим і низьким рівнями ризику ішемічного атеросклеротичного інсульту. Лівий стовпчик у межах кожної клітинки відображає кількість випадків, правий стовпчик – кількість контролю. Темно-сірі клітинки відповідають високому ризику, а світло-сірі – низькому ризику розвитку ішемічного атеросклеротичного інсульту

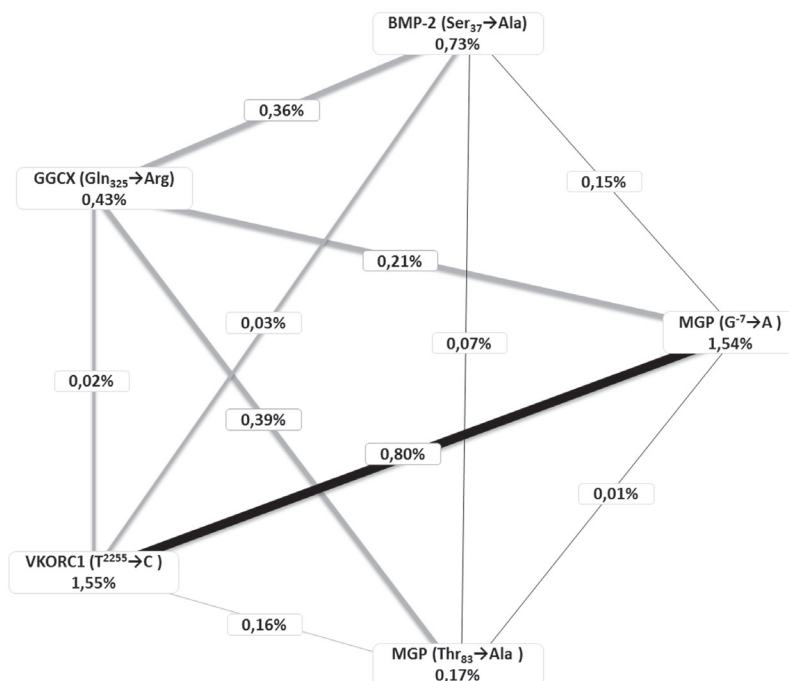


Рис. 4 Графік кластерного аналізу результатів моделювання міжгенної взаємодії методом мультифакторної просторової редукції при ішемічному атеросклеротичному інсульті. Жирною лінією позначена синергічна взаємодія

обробка даних із використанням бінарної логістичної регресії є наразі недоцільною, оскільки застосовується лише з метою підтвердження результатів MDR-аналізу і є, порівняно з останнім, більш слабким методом.

ВИСНОВКИ

Існує зв'язок між ІАТІ і поліморфними варіантами генів *MGP* ($G^{-7} \rightarrow A$) та *VKORC1* ($T^{2255} \rightarrow C$). Ризик розвитку ІАТІ у носіїв мінорного алеля А/А (поліморфізм $G^{-7} \rightarrow A$) у 2,6 вищий, ніж у носіїв основного алеля ($G/A + G/G$), а у осіб з генотипом С/С (поліморфізм $T^{2255} \rightarrow C$) у 2,2 раза більший, ніж у гомозигот за основним алелем. Збіг у пацієнтів генотипів Т/С і G/G, С/С і G/A, а також генотипу А/А (поліморфізм $G^{-7} \rightarrow A$) із будь-яким з генотипів за $T^{2255} \rightarrow C$ -поліморфізмом збільшує ризик розвитку ІАТІ.

В.Ю. Гарбузова, Д.А. Строй, В.Е. Досенко, Е.И. Дубовик, А.А. Бороденко, К.А. Шимко, О.А. Обухова, А.В. Атаман

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ СИСТЕМЫ МАТРИКСНОГО GLA-ПРОТЕИНА (MGP) С РАЗВИТИЕМ ИШЕМИЧЕСКОГО АТЕРОТРОМБОТИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Приведены результаты определения 10 полиморфизмов генов системы матриксного Gla-протеина (ген *MGP* – $T^{138} \rightarrow C$ (rs1800802), $G^{-7} \rightarrow A$ (rs1800801), $Thr_{83} \rightarrow Ala$ (rs4236), ген *VDR* – FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410), ApaI (rs7975232), TaqI (rs731236), ген *GGCX* – Arg₃₂₅ → Gln (rs699664), ген *VKORC1* – $T^{2255} \rightarrow C$ (rs2359612), ген *BMP-2* – Ser₃₇ → Ala (rs2273073)) у 170 пациентов с ишемическим атеротромботическим инсультом (ИАТИ) и 124 здоровых индивидумов (контрольная группа). Установлено, что существует связь между ИАТИ с полиморфными вариантами генов *MGP* ($G^{-7} \rightarrow A$) и *VKORC1* ($T^{2255} \rightarrow C$). Риск развития ИАТИ у носителей мінорного алеля А/А ($G^{-7} \rightarrow A$ - полиморфизм) в 2,6 выше, чем у носителей основного аллеля ($G/A + G/G$), а у лиц с генотипом С/С ($T^{2255} \rightarrow C$ -поліморфізм) в 2,2 раза больше, чем у гомозигот по основному алелю. Совпадение у пациентов генотипов Т/С и G/G, С/С и G/A, а также генотипа А/А

(G⁷→A-поліморфізм) с любым из генотипов по T²²⁵⁵→C-поліморфізму увеличивает риск развития ИАТИ.
Ключевые слова: матриксный Gla-протеин; поліморфізм генів; ішемічний атеротромботичний інсульт.

Сумський державний університет;
Інститут фізіології ім. А.А. Богомольця

**V.Yu. Garbuzova, D.A. Stroy, V.E. Dosenko,
Ye.I. Dubovyk, A.O. Borodenko, K.A. Shimko,
O.A. Obukhova, O.V. Ataman**

ASSOCIATION OF ALLELIC POLYMORPHISMS OF GENES MATRIX GLA-PROTEIN SYSTEM WITH ISCHEMIC ATHEROTHROMBOTIC STROKE

There are results of the determination of 10 polymorphisms of matrix Gla-protein system (gene *MGP* – T¹³⁸→C (rs1800802), G⁷→A (rs1800801), Thr₈₃→Ala (rs4236), gene *VDR* – FokI (rs2228570), BsmI (rs1544410), ApaI (rs7975232), TaqI (rs731236), gene *GGCX* – Arg₃₂₅→Gln (rs699664), gene *VKORS1* – T²²⁵⁵→C (rs2359612), gene *BMP-2* – Ser₃₇→Ala (rs2273073)) into 170 patients with ischemic atherothrombotic stroke (IATS) and 124 healthy individual is (control group). It is established that there is a connection between the IATS and polymorphic variants of genes *MGP* (G⁷→A) and *VKORC1* (T²²⁵⁵→C). The risk of IATS in carriers of minor allele A/A (G⁷→A polymorphism) in 2.6 times higher than in carriers of the major allele (G/A + G/G), and C/C genotype (T²²⁵⁵→C polymorphism) in 2.2 times higher than the homozygotes of major allele. The coincidence of patients T/C and G/G, C/C and G/A genotypes, and A/A genotype (G⁷→A polymorphism) with any genotype T²²⁵⁵→C polymorphism are increases the risk of IATS.

Key words: matrix Gla-protein; gene polymorphism; ischemic atherothrombotic stroke.

*Sumy State University;
O.O.Bogomoletz Institute of Physiology of NAS Ukraine, Kyiv*

REFERENCES

1. Abedin M, Tintut Y, Demer L. Vascular calcification. Mechanisms and clinical ramifications. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004; 24:1161-70.
2. Johnson RC, Leopold JA, Loscalzo J. Vascular calcification. Pathobiological mechanisms and clinical implications. *Circ Res.* 2006; 99:1044-59.
3. Lanzer P. Mediakazinose Mönckeberg. *Z Kardiol.* 1998; 87:586-93.
4. Lehto S, Niskanen L, Suhonen M. Medial artery calcification. A neglected harbinger of cardiovascular complications in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996; 16(8):978-83.
5. Garbuzova VYu, Ataman AV. Matrix Gla-Protein and Its Role in Vascular Calcification. *Int J Physiol Pathophysiol.* 2012; 3(1):79-99.

6. Proudfoot D, Shanahan CM. Molecular mechanisms mediating vascular calcification: role of matrix Gla protein. *Nephrology (Carlton).* 2006; 11:455-61.
7. Ataman AV, Garbuzova VYu, Ataman YuA, Matlaj OI, Obukhova OA. Investigation of the MGP promoter and exon 4 polymorphisms in patients with ischemic stroke in the Ukrainian population. *Journal of Cell and Molecular Biology.* 2012; 10(1):19-26.
8. Crosier MD, Booth SL, Peter I, Dawson-Hughes B, Price PA, O'Donnell CJ, et al. Matrix Gla protein polymorphisms are associated with coronary artery calcification. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2009; 55:59-65.
9. Garbuzova VYu, Gurianova VL, Stroy DA, Dosenko VE, Parkhomenko AN, Ataman AV. Association of matrix Gla protein gene allelic polymorphisms (G⁷>A, T-138>C and Thr83>Ala) with acute coronary syndrome in the Ukrainian population. *Exp Clin Cardiol.* 2012; 17(1):30-33.
10. Herrmann SM, Whatling C, Brand E, Nikaud V, Garipey J, Simon A, et al. Polymorphisms of the human matrix Gla protein (MGP) gene, vascular calcification, and myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20:2386-93.
11. Kobayashi N, Kitazawa R, Maeda S, Schurgers LJ, Kitazawa S. 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; 50:69-81.
12. Kim JG, Ku SY, Lee DO. Relationship of osteocalcin and matrix Gla protein gene polymorphisms to serum osteocalcin levels and bone mineral density in postmenopausal Korean women. *Menopause.* 2006; 13:467-73.
13. Gao B, Yasui T, Itoh Y, Tozawa K, Hayashi Y, Kohri K. Apolymorphism of matrix Gla protein gene is associated with kidney stones. *J Urol.* 2007; 177:2361-65.
14. Hirano H, Ezura Y, Ishiyama N, Yamaguchi M, Nasu I, Yoshida H, et al. Association of natural tooth loss with genetic variation at the human matrix Gla protein locus in elderly women. *J Hum Genet.* 2003; 48:288-92.
15. Shaik AP, Kaiser J. Polymorphisms in MGP gene and their association with lead toxicity. *Toxicol Mech Methods.* 2009; 19:209-13.
16. Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, 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; 24:35-41.
17. Breiman L. Random Forests. *Machine Learning.* 2001; 45:5-32.
18. Breiman L, Friedman JH, Olshen RA. Classification and Regression Trees. 1st ed. Belmont: Wadsworth; 1984.
19. Bureau A, Dupuis J, Falls K, Lunetta KL, Hayward B, Keith TP, Eerdewegh PV. Identifying SNPs Predictive of Phenotype Using Random Forests. *Genetic Epidemiology.* 2005; 28:171-82.
20. Strobl C, Boulesteix AL, Kneib T, Augustin T, Zeileis A. Conditional variable importance for random forests. *BMC*

- Bioinformatics. 2008; 9:307.
21. Alison AM, Marylyn D. Multifactor dimensionality reduction: An analysis strategy for modelling and detecting gene – gene interactions in human genetics and pharmacogenomics studies. Human genomics. 2006; 2(5):318-28.
 22. Shyu HY, Fong CS, Fu YP, Shieh JC, Yin JH, Chang CY, et al. Genotype polymorphisms of GGCX, NQO1, and VKORC1 genes associated with risk susceptibility in patients with large-artery atherosclerotic stroke. Clin Chim Acta. 2010; 411:840-5.
 23. Porojan M, Dumitraşcu DL. Genetic polymorphism of VKORC 1 and KLOTTHO genes associated with atherosclerosis. Clujul Medical. 2012; 85(4):533-6.
 24. Wang Y, Zhang W, Zhang Y, Yang Y, Sun L, Hu S, et al. VKORC1 Haplotypes Are Associated With Arterial Vascular Diseases (Stroke, Coronary Heart Disease, and Aortic Dissection). Circulation. 2006; 113:1615-21.
 25. Hindorff LA, Heckbert SR, Smith N, Marcianti KD, Psaty BM. Common VKORC1 variants are not associated with arterial or venous thrombosis. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2007; 5:2025-27.

Матеріал надійшов до редакції 01.11.2013