

ma and other solid tumors. *Breast Cancer Res Treat.* 1995. Vol. 36 (2). P. 169–180.

19. De Jong J. S., van Diest P. J., Baak J. P. Heterogeneity and reproducibility of microvessel counts in breast cancer. *Lab Invest.* 1995. Vol. 73 (6). P. 922–926.

20. PECAM-1 affects GSK-3beta-mediated beta-catenin phosphorylation and degradation / P. Biswas et al. *Am J Pathol.* 2006. Vol. 169 (1). P. 314–324.

21. Enhanced susceptibility to endotoxic shock and impaired STAT3 signal-

ing in CD31-deficient mice / M. Carrithers et al. *Am J Pathol.* 2005. Vol. 166 (1). P. 185–196.

22. Endothelial functions of platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 (CD31) / P. Lertkiatmongkol et al. *Curr Opin Hematol.* 2016. Vol. 23 (3). P. 253–259.

23. Paduch R. The role of lymphangiogenesis and angiogenesis in tumor metastasis. *Cell Oncol (Dordr).* 2016. Vol. 39 (5). P. 397–410.

24. Microvessel Density and Impact of Angiogenesis on Survival of Resected Pan-

creatic Cancer Patients: A Systematic Review and Meta-analysis / P. Ntellas et al. *Pancreas.* 2019. Vol. 48 (2). P. 233–241.

25. Prediction of Occult Lymph Node Metastasis in Head and Neck Cancer with CD31 Vessel Quantification / M. Mermod et al. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2019. Vol. 160 (2). P. 277–283.

Надійшла до редакції 06.12.2019

Рецензент канд. мед. наук,  
доц. О. І. Тірон,  
дата рецензії 09.12.2019

УДК 616.681-006.2-091.8-092.18

С. М. Потапов, О. М. Плітень, Д. І. Галата, О. В. Кривошапка

## ОСОБЛИВОСТІ АНГІОГЕНЕЗУ В ГЕРМІНОГЕННИХ ПУХЛИНАХ ЯЄЧКА

Метою роботи було вивчення васкуляризації в пухлині жовткового мішка постпубертатного типу (ПЖМПТ), тератомі постпубертатного типу (ТПТ), сперматоцитній пухлині та тератомі з малігнізацією соматичного типу яєчка. Досліджували площу (S) та інтенсивність (L) експресії CD31 і CD34, а також щільність судин (ЩС). У міру прогресування ПЖМПТ зростали S експресії CD31, CD34 і ЩС. У ТПТ в динаміці пухлинної прогресії зменшувалися ЩС і S експресії CD34 та зростала S експресії CD31. Судинна інвазія і метастазування в ПЖМПТ опосередковані підвищенням S експресії CD31 і CD34, а також збільшенням ЩС, а в ТПТ — збільшенням S та L експресії CD31.

**Ключові слова:** герміногенні пухлини яєчка, неоангіогенез, васкулогенна мімікрія, імуногістохімічне дослідження.

UDC 616.681-006.2-091.8-092.18

S. M. Potapov, O. M. Pliten, D. I. Halata, O. V. Kryvoshapka

## PECULIARITIES OF ANGIOGENESIS IN TESTICULAR GERM CELL TUMORS

The purpose of the work was to study vascularization in the testicular postpubertal-type yolk sac tumor (YSTPT), postpubertal-type teratoma (TPT), spermatocytic tumor (ST) and teratoma with somatic-type malignancy (TSTM). The relative area (S) and intensity (L) of CD31 and CD34 expression, as well as the density of blood vessels (DBV) were investigated. At progression of YSTPT S of CD31, CD34 expression and DBV have been increasing. In TPT, in the dynamics of tumor progression, DBV and S of CD34 expression have been decreasing and S of CD31 expression increasing. Vascular invasion and metastasis in YSTPT are mediated by an increase of S of CD31 and CD34 expression, as well as an increase of DBV, and in TPT, by an increase of S and L of CD31 expression.

**Key words:** testicular germ cell tumors, neoangiogenesis, vasculogenous mimicry, immunohistochemical investigation.

УДК 616.12-008.331

Є. І. Шоріков, д-р мед. наук, доц.,  
Д. В. Шорікова, канд. мед. наук, доц.

## АСОЦІАЦІЯ НОСІЙСТВА АЛЕЛЬНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА АДФ-РЕЦЕПТОРА *P2RY12 T-744C* У ХВОРИХ З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ ТА ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ ЗІ ЗМІНАМИ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТРОМБОЦИТІВ І ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПЛАЗМИ КРОВІ

Вищий державний навчальний заклад України  
«Буковинський державний медичний університет», Чернівці

### Вступ

Поліморфізм генів людини визначає ймовірність виникнення та перебіг багатьох хво-

роб, включаючи артеріальну гіпертензію [3; 4; 6]. За даними Quinn et al., внесок генетичних факторів у варіабельність реактивності тромбоцитів стано-

вить близько 30 % [5]. Значення генетично детермінованих варіантів будови білків-рецепторів і варіабельність ферментних систем тромбоцитів активно вивчається, залишаючись актуальною проблемою кардіо-

© Є. І. Шоріков, Д. В. Шорікова, 2019

логії. У низці досліджень було визначено зв'язок між асоціацією поліморфних маркерів генів, що кодували тромбозитарні протеїни, із підвищеним ризиком серцево-судинних захворювань і несприятливим прогнозом щодо них [10; 11].

Р. Fontana і співавт. [2] ідентифікували 5 поліморфних маркерів гена *P2RY12*, чотири з яких відіграють значну роль у підвищенні процесів тромбоутворення; два з них — мононуклеотидні заміни в інтроні 5 (*i-C139T*, *i-T744C*), один — мононуклеотидна заміна в екзоні 2 (*G52T*) та один — мононуклеотидна вставка в інтроні 5 (*i-ins801A*) гена *P2RY12*. Іншими дослідниками показано, що гаплотип H2 має асоціацію з підвищенням АДФ-агрегації тромбоцитів і за рахунок експресії АДФ-рецепторів [7]. Група дослідників визначила зв'язок гаплотипу H2 із тромбозами периферичних судин і розвитком периферичного ураження артерій за відсутності інших факторів впливу (паління, збільшення маси тіла, гіперліпідемії тощо) [8]. Тим же часом вкрай актуальним питанням залишається створення регіонально-етнічних баз пацієнтів, які б містили інформацію щодо асоціації алельних поліморфізмів гена АДФ-рецептора *P2RY12 T-744C* з факторами кардіоваскулярного ризику.

**Мета** роботи — дослідити варіанти алельного поліморфізму гена АДФ-рецептора *P2RY12 T-744C* у хворих з артеріальною гіпертензією та цукровим діабетом 2 типу, їхню асоціацію зі змінами функціональних властивостей тромбоцитів і протеолітичної активності плазми крові.

#### Матеріали та методи дослідження

У роботу включено 100 хворих з артеріальною гіпертен-

зією (АГ) та цукровим діабетом (ЦД) 2 типу (основна група) і 50 пацієнтів з артеріальною гіпертензією без ЦД 2 типу (контрольна група). Верифікацію діагнозу АГ проводили з використанням критеріїв, рекомендованих Європейським товариством гіпертензії та кардіології [1]. Верифікація ЦД проводилася на основі критеріїв ВООЗ і рекомендацій Європейського товариства з вивчення цукрового діабету [9]. Усі представники дослідної та контрольної груп належали до загальної популяції українців Чернівецької області (Північна Буковина).

Розподіл алелів поліморфних ділянок гена АДФ-рецептора *P2RY12 T-744C* досліджували шляхом виділення геномної ДНК з лейкоцитів периферичної крові та наступною ампліфікацією за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (на ампліфікаторі “Amplify-4L” за спеціальною температурною програмою, використовуючи реактиви фірми «НПО ЛИТЕХ» (Росія).

Для статистичного аналізу отриманих результатів використовували пакет програм обробки даних загального призначення Statistica for Windows версії 6.0 (Stat Soft inc., США). Величини представлені у вигляді частот (відсоток спостережень до загальної кількості обстежених). Для порівняння дискретних величин у незалежних вибірках використовували критерій  $\chi^2$  Пірсона. Величини параметрів згортання крові, протеолізу та функції тромбоцитів представлено у вигляді середніх із стандартним відхиленням. Для порівняння їх використовувався дисперсійний аналіз (із визначенням критеріїв Фішера та проведенням post-hoc аналізу). При  $p < 0,05$  розбіжності вважають статистично вірогідними.

#### Результати дослідження та їх обговорення

На початковому етапі проведено оцінку розподілу генотипів поліморфізму гена *P2RY12* за законом Харді — Вайнберга в основній та контрольній групах. Результати аналізу представлено в табл. 1.

В основній групі гомозиготи *H1/H1* становили 37,0 % випадків, гомозиготи з наявністю алеля «ризик» *H2/H2* — 10,0 %, гетерозиготи *H1/H2* — 53,0 % ( $p < 0,05$ ; див. табл. 1). У досліджуваній групі виявлено тенденцію до збільшення носійства «ризикового» генотипу *H2/H2* в 1,74 разу та зменшення частоти «протективного» гомозиготного генотипу в основній групі щодо контролю (табл. 2).

Популяційний спосіб вивчення ступеня асоціації «генів-кандидатів» у розвиток ускладнень було доповнено стратегією вивчення взаємозв'язку між локусами поліморфізму та кількісними ознаками, які характеризують стан поєданого перебігу АГ та ЦД 2 типу.

Можливим фенотиповим проявом поліморфізму *T-744C (H1/H2)* гена *P2RY12* є гіперактивнація рецепторного апарату тромбоцитів, що впливає на агрегаційні властивості. Дійсно, основні параметри АДФ-залежної агрегації тромбоцитів, такі як ступінь і швидкість агрегації, були вірогідно збільшені у носіїв генотипу *H2/H2* ( $p < 0,05$ ; табл. 3) порівняно із носіями гетерозиготного генотипу *H1/H2* та гомозиготного генотипу *H1/H1*. Окрім параметрів, що характеризують АДФ-залежну агрегацію, у нашій роботі доведено підвищення ступеня та швидкості адреналін-залежної агрегації ( $p < 0,05$ ; див. табл. 3).

Для більш повної оцінки зв'язку фенотипу тромбоци-

Таблиця 1

**Розподіл частоти генотипів поліморфізмів гена *P2RY12* та їхня відповідність рівновазі Харді — Вайнберга**

Ген	Поліморфізм	Генотип	Розподіл генотипів			
			Контрольна група		Основна група	
			N (%)	p	N (%)	p
<i>P2RY12</i>	<i>T-744C (H1/H2)</i>	-744TT (H1H1)	25 (50)	$p_1=0,51$ $p_2=0,73$	37 (37)	$p_1=0,15$ $p_2=0,21$
		-744TC (H1H2)	22 (44)		53 (53)	
		-744CC (H2H2)	3 (6)		10 (10)	

Примітка. p — за  $LL\chi^2$ , точним критерієм Фішера.

Таблиця 2

**Тести асоціації генотипів поліморфної ділянки *T-744C (H1/H2)* гена *P2RY12***

Генотип <i>P2RY12</i>	Розподіл генотипів		$\chi^2$	p	OR	
	Основна група, n=100	Контрольна група, n=50			Значення	95 % CI
-744TT (H1H1)	0,370	0,500	2,45	0,12	0,59	0,30–1,17
-744TC (H1H2)	0,530	0,440			1,44	0,73–2,84
-744CC (H2H2)	0,100	0,060			1,74	0,46–6,63

Таблиця 3

**Зміни параметрів агрегації тромбоцитів залежно від генотипу поліморфної ділянки *T-744C (H1/H2)* гена *P2RY12* при поєднаному перебігу артеріальної гіпертензії та цукрового діабету 2 типу**

Показник	Носії генотипу		
	H1/H1	H1/H2	H2/H2
Ступінь АДФ-агрегації, %	48,30±15,11	55,46±18,29	69,49±20,05
F=6,80; p=0,002; міжгруповий post-hoc аналіз проведено з використанням LSD-тесту; $p_{1-2}=0,071$ ; $p_{1-3}=0,001$ ; $p_{2-3}=0,019$			
Ступінь адреналін-залежної агрегації, %	61,36±12,25	61,93±14,14	70,15±15,34
F=2,45; p=0,09; міжгруповий post-hoc аналіз проведено з використанням LSD-тесту; $p_{1-2}=0,86$ ; $p_{1-3}=0,065$ ; $p_{2-3}=0,066$			
Швидкість АДФ-агрегації, %/хв	33,35±10,42	34,66±10,71	43,53±12,18
F=4,97; p=0,009; міжгруповий post-hoc аналіз проведено з використанням LSD-тесту; $p_{1-2}=0,61$ ; $p_{1-3}=0,007$ ; $p_{2-3}=0,044$			
Швидкість адреналін-залежної агрегації, %/хв	24,64±14,19	29,53±12,33	36,93±15,80
F=4,05; p=0,02; міжгруповий post-hoc аналіз проведено з використанням LSD-тесту; $p_{1-2}=0,147$ ; $p_{1-3}=0,018$ ; $p_{2-3}=0,09$			

тарної активації за наявності алельного поліморфізму *T-744C (H1/H2)* гена *P2RY12* у хворих на АГ та ЦД 2 типу ми дослідили асоціацію поліморфізму цього гена з додатковими параметрами згортання та фібри-

нолізу, активність яких пов'язана або залежить від адгезивних і агрегаційних властивостей тромбоцитів. Отримані результати наведені в табл. 4.

Установлено вірогідні зміни протеолітичної активності пла-

зми за рівнем азоальбуміну та азоказеїну зі зменшенням ступеня протеолізу в разі носійства «протективного» алеля H1 ( $p<0,05$ ; табл. 4). Щодо вмісту XIII фактора було продемонстровано вірогідний приріст даного чинника коагуляції у носіїв «ризикового» генотипу H2/H2 ( $p<0,05$ ; див. табл. 4).

### Висновки

1. Установлено зниження частоти носійства «протективних генотипів» *P2RY12-744TT (H1/H1)* ( $p<0,05$ ) у досліджуваній популяції хворих із АГ та ЦД 2 типу.

2. Доведено, що у хворих з поєднаним перебігом АГ та ЦД 2 типу ступінь і швидкість АДФ-залежної агрегації, ступінь та швидкість адреналін-залежної агрегації вірогідно збільшуються у носіїв генотипу *H2/H2* ( $p<0,05$ ) порівняно із носіями гетерозиготного генотипу *H1/H2* та гомозиготного генотипу *H1/H1*.

3. При поєднаному перебігу АГ та ЦД 2 типу встановлено вірогідні зміни протеолітичної активності плазми за рівнем азоальбуміну й азоказеїну зі зменшенням рівня протеолізу в разі носійства «протективного» алеля H1 ( $p<0,05$ ).

4. Виявлено вірогідний приріст вмісту XIII фактора коагуляції у носіїв «ризикового» генотипу *H2/H2* ( $p<0,05$ ).

**Ключові слова:** артеріальна гіпертензія, цукровий діабет 2 типу, поліморфізм *P2RY12*, агрегація, протеоліз.

### ЛІТЕРАТУРА

1. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH) / B. Williams et al. *European Heart Journal*. 2018. Vol. 39. P. 3021–3104.

2. Adenosin diphosphate-induced platelet aggregation is associated with P2Y12 gene sequence variations in healthy subjects / P. Fontana et al. *Circulation*. 2003. Vol. 108. P. 989–995.

Показники систем згортання,  
фібринолізу та протеолізу залежно від генотипу  
поліморфної ділянки T-744C (H1/H2) гена P2RY12

Показник	Носії генотипу		
	H1/H1	H1/H2	H2/H2
Рівень XIII фактора, %	75,5±11,7	84,0±11,7	88,6±13,3
F=6,67; p=0,002; міжгруповий post-hoc аналіз проведено з використанням LSD-тесту; p <sub>1-2</sub> =0,004; p <sub>1-3</sub> =0,001; p <sub>2-3</sub> =0,18			
НФА, Е440·мл/год	0,77±0,13	0,80±0,15	0,83±0,16
F=0,62; p=0,54; міжгруповий post-hoc аналіз проведено з використанням LSD-тесту; p <sub>1-2</sub> =0,38; p <sub>1-3</sub> =0,29; p <sub>2-3</sub> =0,63			
Фібриноген, г/л	3,45±0,59	3,52±0,48	3,68±0,60
F=0,71; p=0,49; міжгруповий post-hoc аналіз проведено з використанням LSD-тесту; p <sub>1-2</sub> =0,63; p <sub>1-3</sub> =0,24; p <sub>2-3</sub> =0,35			
Лізис азоальбуміну, Е440·мл/год	4,27±0,41	4,49±0,42	4,51±0,34
F=2,70; p=0,072; міжгруповий post-hoc аналіз проведено з використанням LSD-тесту; p <sub>1-2</sub> =0,03; p <sub>1-3</sub> =0,08; p <sub>2-3</sub> =0,91			
Лізис азоказеїну, Е440·мл/год	4,21±0,31	4,39±0,45	4,64±0,20
F=5,74; p=0,004; міжгруповий post-hoc аналіз проведено з використанням LSD-тесту; p <sub>1-2</sub> =0,061; p <sub>1-3</sub> =0,001; p <sub>2-3</sub> =0,027			
Активність ффВ, %	117,1±14,4	113,8±13,8	119,3±15,0
F=0,84; p=0,43; міжгруповий post-hoc аналіз проведено з використанням LSD-тесту; p <sub>1-2</sub> =0,51; p <sub>1-3</sub> =0,54; p <sub>2-3</sub> =0,20			

3. Association analysis of the essential hypertension susceptibility genes in adolescents: Kangwha study / S. Kim et al. *J. Med. Pub. Health*. 2006. Vol. 39 (2). P. 177–183.

4. Association between effectiveness of tuberculosis treatment and cyto-

chrome P-450E1 polymorphism of the patients / P. Antonenko et al. *International journal of mycobacteriology*. 2017. Vol. 6 (4). P. 396–400.

5. Common variations in platelet glycoproteins: pharmacogenomic implications / M. J. Quinn et al. *Phar-*

6. Comprehensive linkage and linkage heterogeneity analysis of 4344 sibling pairs affected with hypertension from the Family Blood Pressure Program / T. A. Greenwood et al. *Genet. Epidemiol*. 2007. Vol. 31 (3). P. 195–210.

7. Dimorphism in the P2Y1 ADP receptor gene is associated with increased platelet activation response to ADP / S. L. Hetherington et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005. Vol. 25. P. 252–257.

8. Gene sequence variations of the platelet P2Y12 receptor are associated with coronary artery disease / U. Cavallari et al. *BMC Med Genet*. 2007. Vol. 8. P. 59.

9. Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases: The Task Force on Diabetes and Cardiovascular Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for the Study of Diabetes (EASD) / L. Ryde'n et al. *European Heart Journal*. 2007. Vol. 28. P. 88–136.

10. Optimal cut-off value of P2Y12 reaction units to prevent major adverse cardiovascular events in the acute periprocedural period: post-hoc analysis of the randomized PRASFIT-ACS study / M. Nakamura et al. *Int. J. Cardiol*. 2015. Vol. 182. P. 541–548.

11. Race/Ethnic Differences in the Associations of the Framingham Risk Factors with Carotid IMT and Cardiovascular Events / C. M. Gijsberts et al. *PLoS One*. 2015. Vol. 10 (7). P. e0132321. Doi: 10.1371/journal.pone.0132321.

Надійшла до редакції 06.12.2019

Рецензент д-р мед. наук,  
проф. П. Б. Антоенко,  
дата рецензії 09.12.2019

УДК 616.12-008.331

Є. І. Шоріков, Д. В. Шорікова

АСОЦІАЦІЯ НОСІЙСТВА АЛЕЛЬНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА АДФ-РЕЦЕПТОРА P2RY12 T-744C У ХВОРИХ З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ ТА ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ ЗІ ЗМІНАМИ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТРОМБОЦИТІВ І ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПЛАЗМИ КРОВІ

Представлені дані, присвячені вивченню асоціації генотипів поліморфізму тромбоцитарного рецептора P2RY12 T-744C (H1/H2) та залежних від них змін функції тромбоцитів та системи протеолізу у хворих на артеріальну гіпертензію та цукровий діабет 2 типу. Обстежено 100 хворих на АГ та ЦД 2 типу і 50 хворих із АГ без діабету. За монолокусного аналізу виявлено зниження частоти носійства «протективних генотипів» P2RY12-744TT (H1H1) (p<0,05) у досліджуваній популяції хворих із АГ та ЦД 2. Установлено, що у носіїв «ризикового генотипу» H2/H2 вірогідно збільшуються ступінь і швидкість АДФ-залежної та адреналін-залежної агрегації тромбоцитів, виявлено вірогідний приріст вмісту XIII фактора коагуляції. Вірогідно змінюється протеолітична активність плазми за рівнем азоальбуміну й азоказеїну зі зменшенням рівня протеолізу в разі носійства «протективного» алеля H1 (p<0,05).

**Ключові слова:** артеріальна гіпертензія, цукровий діабет 2 типу, поліморфізм P2RY12, агрегація, протеоліз.

UDC 616.12-008.331

Ye. I. Shorikov, D. V. Shorikova

ASSOCIATION OF CARRIER'S ALLELIC POLYMORPHISM GENE ADP RECEPTOR R2RY12 T-744C IN PATIENTS WITH HYPERTENSION AND TYPE 2 DIABETES WITH CHANGE OF PLATELETS' FUNCTIONAL PROPERTIES AND THE PLASMA'S PROTEOLYTIC ACTIVITY

The article presents data on the study of the association of the genotypes of platelet receptor polymorphism P2RY12-744TT (H1H2) and their dependent changes in platelet function and proteolysis in patients with hypertension and type 2 diabetes mellitus. 100 patients with hypertension and diabetes type 2 and 50 patients with hypertension without diabetes were examined. Analysis of independent loci revealed a decrease in the frequency of carriers of "protective genotypes" P2RY12-744TT (H1H1) (p<0.05) in the studied population of patients with hypertension and diabetes mellitus type 2. It was found that the carriers of the "risk genotype" H2/H2 had increased rate of ADP-dependent and adrenaline-dependent platelet aggregation and a significant increase in the content of the XIII factor of coagulation. The proteolytic activity of plasma is significantly altered by the level of azoalbumin and azocasein with a decrease in the level of proteolysis in the case of the carrier of the "protective" H1 allele (p<0.05).

**Key words:** hypertension, type 2 diabetes mellitus, P2RY12 polymorphism, aggregation, proteolysis.