

УДК: 616.12:575.113.2+577.152.1

КП

№ держреєстр. 0113U000132

Інв. №

Міністерство освіти і науки України
Сумський державний університет
(СумДУ)

40007, Україна, м. Суми, вул. Римського-Корсакова, 2, тел. (0542) 33 41 08

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи

д.ф-м.н., професор

_____ А.М. Чорноус

2014.12.25

ЗВІТ
ПРО НАУКОВО-ДОСЛІДНУ РОБОТУ

**ЗВ'ЯЗОК ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ *MGP 1* І *VDR 3* З
РОЗВИТКОМ ІШЕМІЧНОГО АТЕРОТРОМБОТИЧНОГО ІНСУЛЬТУ**
(заключний)

Начальник НДЧ,
к.ф-м.н.

2014.12.25

Д.І. Курбатов

Керівник НДР,
д.мед.н., професор

2014.12.25

О.В. Атаман

2014

Рукопис закінчено 18 грудня 2014 року

Результати роботи розглянуто науковою радою, протокол №5 від 2014.12.25

СПИСОК ВИКОНАВЦІВ

Керівник НДР, д.мед.н., професор, завідувач кафедри фізіології і патофізіології	2014.12.23	О.В. Атаман (вступ, розділ 1.1)
С.н.с., професор кафедри фізіології і патофізіології, д.б.н.	2014.12.23	В.Ю. Гарбузова (розділ 4.1)
Доцент кафедри внутрішніх хвороб, д.мед.н.	2014.12.23	Ю.О. Атаман (розділ 4.2)
М.н.с., асистент кафедри фізіології і патофізіології, к.б.н.	2014.12.23	О.А. Обухова (розділ 4.3, 4.4)
Магістр медичного інституту	2014.12.23	Є.І. Дубовик (розділ 1.2)
Магістр медичного Інституту	2014.12.23	А.О. Бороденко (розділ 2)
Студентка медичного інституту	2014.12.23	В.А. Сухарєва (розділ 3)
Студентка медичного інституту	2012.12.23	Д.А. Прасол (розділ 1.3)
Студентка медичного інституту	2012.12.23	К.А. Шимко (розділ 1.4)

РЕФЕРАТ

Звіт про НДР: 59 с., 16 табл., 7 рисунків, 7 додатків, 64 джерела.

Об'єкт дослідження – молекулярно-генетичні механізми розвитку ішемічного атеротромботичного інсульту.

Мета роботи – встановлення зв'язків між однонуклеотидними поліморфізмами генів *MGP* та *VDR* і розвитком ішемічного інсульту, що є гострим ускладненням атеросклеротичного процесу в артеріях головного мозку.

Методи дослідження – полімеразна ланцюгова реакція з наступним аналізом довжин рестрикційних фрагментів.

Уперше на сучасному методичному рівні досліджено розподіл алельних варіантів поліморфізмів генів *MGP* і *VDR* та асоціацію їх з ішемічним атеротромботичним інсультом в українській популяції. Встановлено, що ризик розвитку ІАТІ у гомозигот за мінорним алелем *A/A* (*G-7A* поліморфізм гена *MGP*) у 2,6 раза вищий, ніж у носіїв основного алеля – *G/G* і *G/A*. Виявлено асоціацію між ішемічним атеротромботичним інсультом та поліморфним варіантом *G-7A* гена *MGP* у осіб жіночої статі. У жінок-гомозигот за мінорним алелем *A/A*, ризик інсульту у 6,6 разів вищий, ніж у носіїв основного алеля (*G/A+G/G*). Проаналізовано зв'язок вивчених однонуклеотидних поліморфізмів генів *MGP* і *VDR* на асоціацію відомих факторів ризику атеросклерозу і його ускладнень (чоловіча стать, артеріальна гіпертензія, цукровий діабет, збільшений індекс маси тіла, куріння) з ішемічним інсультом. З'ясовано, що в осіб з генотипами *F/F*, *b/b*, *a/a*, *a/A*, і *T/T* існує асоціація між наявністю артеріальної гіпертензії та розвитком ішемічного інсульту.

Результати дослідження можуть бути використані при підготовці фахівців у галузі медичної і молекулярної генетики, при створенні методів виявлення спадкової схильності до найпоширеніших в Україні хвороб і розробці засобів їх попередження та лікування. Наукові результати будуть доповнювати банк даних про поширеність різних видів поліморфізмів генів серед населення України та зв'язок цього явища з виникненням патологічних процесів та хвороб.

АЛЕЛЬНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ, ГЕН, MGP, VDR, КРОВОНОСНІ СУДИНИ, ІШЕМІЧНИЙ АТЕРОТРОМБОТИЧНИЙ ІНСУЛЬТ.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів.....	5
Передмова.....	6
Вступ.....	7
1 Огляд літератури з питання ролі алельного поліморфізму генів MGP і VDR у розвитку патологічних процесів і хвороб	
1.1 Біохімія MGP та структура гена.....	9
1.2 Біохімія рецептора вітаміну D і будова його гена.....	11
2 Характеристика біологічного матеріалу дослідження	14
3 Методика проведення полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів.....	15
4 Вивчення алельного поліморфізму генів MGP і VDR	
4.1 Розподіл алельних варіантів гена MGP у хворих на ІАТІ	22
4.2 Зв'язок алельних варіантів MGP-гена з факторами ризику ІАТІ	23
4.3 Розподіл алельних варіантів VDR-гена у хворих на ІАТІ	34
4.4 Зв'язок алельних варіантів гена VDR з факторами ризику ІАТІ	35
Висновки.....	45
Перелік посилань.....	46
Додаток 1.....	53

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АТ- артеріальний тиск

ДАТ – діастолічний артеріальний тиск

ІАТІ – ішемічний атеротромботичний інсульт

ІМТ – індекс маси тіла

МGP – матриксний Gla-протеїн

ПАТ – пульсовий артеріальний тиск

САТ – систолічний артеріальний тиск

СрАТ – середній артеріальний тиск

SNP – однонуклеотидний поліморфізм

G – гуанін

A – аденін

T – тимін

C – цитозин

Gla – γ -карбоксихлутамінова кислота

Glu – глутамінова кислота

GGCX – γ -глутамілкарбоксилаза

VKOR – епоксидредуктазний комплекс

ПЕРЕДМОВА

Характерними особливостями молекулярної медицини як медицини, заснованої на розшифровці генома людини, є її індивідуальний характер. Вона спрямована на корекцію патологічного процесу у цілком конкретної людини з урахуванням унікальних особливостей цілком конкретного геному. Її інша важлива особливість – виражена профілактична спрямованість. Повні відомості про геном можуть бути отримані задовго до початку захворювання. Звідси відповідні корективи та профілактичні заходи можуть повністю ліквідувати або значною мірою попередити розвиток важкого захворювання.

Особлива увага дослідників прикута до молекулярно-генетичних механізмів розвитку склеротичних уражень кровоносних судин – атеросклерозу і артеріосклерозу Менкеберга, що зумовлено високою поширеністю цих недуг у цивілізованих країнах світу і їхніми тяжкими наслідками для здоров'я. Саме їх ускладнення (інфаркт міокарда, ішемічний інсульт, тощо) посідають перше місце серед причин смертності населення.

Дослідження в цьому напрямі проводяться і в Україні. Їхнім центром є Інститут кардіології ім. М.Д.Стражеска АМН України та Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України. Так, у цих наукових закладах досліджується роль поліморфізму генів, що кодують ряд ферментів (NO-синтазу, конвертазу, металопротеїнази та ін.) та важливих білків-регуляторів, у розвитку гострого коронарного синдрому, артеріальної гіпертензії та інших серцево-судинних хвороб. На відміну від цих досліджень у роботі, що проведена, вивчено поліморфізм гена, причетного до розвитку кальцифікації судинної стінки – важливого компоненту атеросклеротичних уражень і артеріосклерозу Менкеберга.

ВСТУП

Розшифрування геному людини, перший етап якого завершився в 2000 створенням «чорнового» варіанту первинної нуклеотидної послідовності гігантської молекули ДНК [1], стала причиною виникнення нового науково-практичного спрямування – молекулярної медицини, в якій проблеми діагностики, профілактики та лікування вирішуються на молекулярному рівні за допомогою нуклеїнових кислот (ДНК, РНК) та продуктів їх експресії (білків). Методологічну основу молекулярної медицини складають сучасні уявлення про структуру геному людини, її генах, їх функціональних взаємодіях, про так званих генних мережах - генних ансамблях, що забезпечують різні функції організму в нормі і при патології [2].

На основі досягнень у дослідженні генома людини вдалося ідентифікувати не тільки гени, що викликають спадкові хвороби, але і мутації, які призводять до найбільш частим, т.зв. мультифакторіальних захворювань. Вперше відкривається можливість проводити не тільки точну молекулярну діагностику, а й визначати схильність людини до того чи іншого захворювання. Дослідження генетичних механізмів широко поширених хвороб особливо важливо, так як ця патологія вносить основний вклад не тільки в структуру захворюваності, але й смертності дорослих і дітей [3]. Дослідження ролі генетичних факторів в розвитку мультифакторіальних захворювань є одним із найперспективніших напрямів сучасної генетики і провідною галуззю охорони здоров'я.

Із впровадженням методів молекулярної генетики в медичну практику стало можливим вивчення генетичних маркерів, які обумовлюють виникнення тих чи інших мультифакторіальних хвороб, що має велике значення не тільки для визначення спадкової схильності до них, а й для вибору метода лікування, прогнозу розвитку ускладнень. Успіхами світової наукової спільноти сьогодні накопичена значна кількість даних про участь різних поліморфних генів у формування схильності до мультифакторної патології [4].

Одними з генів-кандидатів, поліморфізм яких може бути пов'язаний зі спадковою схильністю до цілого ряду мультифакторіальних захворювань, є

матриксних Gla-протеїн (MGP) і рецептор вітаміну D (VDR). Розвиток тромбозу в уражених атеросклерозом судинах пов'язують з дегенеративними змінами атероматозних бляшок, серед яких процесам кальцифікації надають особливо великого значення [5-7]. Відкладання солей кальцію у структури судинної стінки – ектопічна кальцифікація – відбувається внаслідок порушення балансу між прокальциногенними і природними антикальциногенними чинниками організму. До перших відносять вітамін D, а до других – систему матриксного Gla-протеїну (MGP). Посилений вплив вітаміну D, так само як і зменшення активності MGP, можуть бути чинниками, що сприяють кальцифікації атеросклеротичних бляшок і розвитку тромбів на їхній поверхні [8-10].

Дослідженнями ВООЗ показано, що традиційні підходи в терапії цих та інших поширених мультифакторних хвороб малоефективні і ведуть до суттєвих економічних витрат. Проблема низької ефективності лікувально-профілактичних заходів пов'язана з відсутністю їхньої етіологічної спрямованості внаслідок недостатнього розуміння провідних механізмів формування переважної більшості мультифакторних хвороб [4].

Виконання проекту може в перспективі мати важливе практичне значення, оскільки на підставі даних вивчення геному можна буде прогнозувати ризик розвитку серцево-судинних хвороб та їхніх ускладнень і на цій основі пропонувати засоби ефективної профілактики, а в разі виникнення недуг – адекватні методи їх лікування, що поліпшить якість життя і його тривалість у населення України. Здобутий у дослідженні науковий матеріал може скласти основу розділів підручників та навчальних посібників, у яких викладаються молекулярно-генетичні механізми розвитку патологічних процесів і хвороб.

1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ З ПИТАННЯ РОЛІ АЛЕЛЬНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ MGP і VDR У РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ І ХВОРОБ

1.1 Біохімія MGP та структура його гена

Матриксний Gla-протеїн (MGP) є представником групи залежних від вітаміну К білків, що містять залишки γ -карбоксиглютамінової кислоти (Gla). До цієї ж групи належать білки, що беруть участь у коагуляції крові: протромбін, фактори VII, IX і X, протеїни C, S і Z. Уперше білок MGP було виділено в 1983 році в лабораторії Price з екстрактів демінералізованого матриксу кісток биків [11]. Згодом було визначено первинну структуру MGP, основні хімічні характеристики, локалізацію гена MGP та його будову [12,13]. MGP утворюється в багатьох м'яких тканинах, зокрема в хрящах, серці, нирках, легенях, стінках кровоносних судин [9,14]. У кожній з цих тканин експресію MGP виявляли лише в окремих, специфічних для даного органа, типах клітин [14]. Здатність до синтезу MGP мають остеобласти, хондроцити, гладкі м'язові клітини (ГМК) судин, пневмоцити, клітини ниркового епітелію, фібробласти, макрофаги [9,14,15].

У тканинах серця і легень щурів рівень мРНК MGP у 10 разів, а в тканинах нирок – у 5 разів вищий, ніж у кістках. Натомість вміст самого MGP у цих тканинах у 40-500 разів нижчий, якщо порівнювати з кістками [14]. MGP акумулюється тільки в місцях кальцифікації, а більша його частина, синтезована в м'яких тканинах, надходить у плазму крові, де концентрація MGP складає від 0,3 до 1 мкг/мл залежно від виду тварин [9].

Молекула MGP людини (мол. маса 10 кДа) складається з 84 амінокислотних залишків, 5 з яких представлено γ -карбоксиглютаміновою кислотою (Gla) [9]. З кісток щурів виділено дві форми MGP, що мають 79 і 83 залишки, тобто в них бракує відповідно 5 і 1 амінокислот від С-кінця білкової молекули [15,16]. На відміну від усіх відомих сьогодні вітамін К-залежних білків MGP не має форми пропептиду [15]. Щойно синтезована молекула MGP складається із 103 амінокислотних залишків (84 – це зрілий білок та 19 – трансмембранний сигнальний пептид).

Ген MGP у людини представлено однією копією, яка міститься в короткому плечі 12-ї хромосоми (12p12.3-13.1) [15]. У ньому закодовано 84 амінокислотні залишки зрілого білка і 19 залишків трансмембранного сигнального пептиду. Довжина гена – 3900 нуклеотидів, він складається з 4 екзонів, розділених трьома великими проміжними послідовностями (інтронами), на які припадає більш ніж 80% загальної довжини гена [15]. Аналіз промоторної частини гена MGP показав, що поряд з типовими TATA і CAT-боксами, вона містить регуляторні послідовності (putative regulatory sequences), гомологічні раніше ідентифікованим елементам, що відповідають на дію гормонів і транскрипційних факторів (hormone and transcription factor responsive elements). Зокрема, окреслено дві ділянки промотора, що містять можливі сайти зв'язування рецепторів ретиноевої кислоти і вітаміну D [15].

Сьогодні описано понад 120 видів поліморфізму поодиноких нуклеотидів (SNP) у гені MGP людини. З них найкраще досліджено з огляду їхньої асоціації з різними хворобами три види: (1) T-138C (rs 1800802); (2) G-7A (rs 1800801); (3) Ala83Thr (rs 4236).

Поліморфізм T-138C стосується промоторної частини гена – ділянки, яка утворює комплекси з ядерними білками і сприймає їх регуляторні впливи; G-7A локалізований у початковому відрізку промотора, з якого стартує власне процес транскрипції; Thr83Ala – у четвертому екзоні, що кодує Gla-місткий домен. Останній варіант SNP зумовлює заміну треоніну на аланін у передостанньому 83-у залишку молекули MGP. Питання про те, як різні види поліморфізму гена MGP впливають на його експресію і здатність сприймати різні регуляторні впливи, перебуває сьогодні у центрі уваги дослідників. Перше таке дослідження було проведено Herrmann et al. [17]. Автори показали, що поліморфізм G-7A не впливає на промоторну активність гена MGP, тимчасом як активність промотора з мінорним алелем -138C (патологічний варіант), при порівнянні з -138T (нормальним варіантом), була менша на 20% у ГМК судин щура і на 50% у культивованих фібробластах людини.

Зовсім інші дані було отримано у дослідженні Farzaneh et al. [18]. Автори встановили, що промотори з поліморфізмами G-7A і T-138C істотно змінюють

транскрипційну активність гена MGP в судинних ГМК щурів *in vitro*. Так, варіант промотора з мінорним алелем -7A виявляв активність у 1,5 рази вищу, ніж -7G, а варіант -138C був у 4 рази активніший за -138T. Таким чином, неоднозначні дані щодо впливу різних видів поліморфізму гена MGP на його транскрипційну активність свідчать про складність проблеми і зумовлюють необхідність продовжувати дослідження в цьому напрямі.

1.2 Біохімія рецептора вітаміну D і будова його гена

Рецептор вітаміну D (VDR) є представником суперсімейства ядерних рецепторів, який функціонує як класичний рецептор ендокринної системи. Ядерні рецептори утворюють суперсімейство ліганд-активних транскрипційних регуляторів, які регулюють різні фізіологічні функції, починаючи з розвитку і розмноження і до гомеостазу й метаболізму у багатоклітинних тварин. Вперше було виявлено, що вітамін D перетворюється на стероїдний гормон, у 1967 році в лабораторії А. Нормана [19]. А через два роки був відкритий рецептор вітаміну D (VDR). В 1971 р. відкрита хімічна формула стероїдного гормону – $1,25(\text{OH})_2$ вітаміну D_3 . Після клонування комплементарної ДНК VDR людини [20] знадобилося близько 10 років, щоб описати основну частину геномної структури гена VDR людини [21]. Вперше білок, названий VDR, було виділено в 1974 році із хроматинової фракції курячого кишечника двома дослідниками – Grumbach та Haussler [22].

Молекула VDR людини (мол. маса 48 289 Да) складається з 427 амінокислотних залишків. VDR має опосередковану плейотропну біологічну дію $1,25$ -дигідроксивітаміну D_3 , завдяки своїй здатності модулювати експресію генів-мішеней. Регуляція цього ліганд-активного клітинного фактора транскрипції відбувається на транскрипційному і посттрансляційному рівнях. На молекулярному рівні $1,25$ - $(\text{OH})_2\text{D}_3$ і його синтетичні аналоги модулюють експресію генів через гетеродімер VDR і рецептор ретиноїдів X (RXR). RXR ядерних рецепторів для 9-цис-ретиноєвої кислоти є облігатним партнером VDR в якості посередника дії $1,25$ - $(\text{OH})_2\text{D}_3$ [23]. За відсутності ліганду VDR локалізується в цитоплазмі [24]. З'єднання VDR і RXR-VDR викликає гетеродимерізацію і транслокацію комплексу в ядро [25].

RXR-VDR гетеродимер приєднується до вітамін D-чутливих послідовностей (vitamin D₃ response elements – VDREs), які знаходяться в промоторних ділянках генів. Основні VDREs є прямими повторами послідовностей 5'-AGG/TTCA-3' або з незначними змінами цих послідовностей [23]. Ці ділянки є в усіх генах, регуляцію транскрипції яких здійснює комплекс кальцитріол-VDR.

Ген *VDR* у людини представлений однією копією, яка міститься в довгому плечі 12-ї хромосоми в положенні 13.11 (12q13.11) [26]. Довжина гена складає 63 495 пар нуклеотидів (відрізок від 48 235 139 п. н. до 48 298 813 п. н.). Послідовність гена розташована на мінус або анти-сенса ланцюгу. Зріла мРНК має 1284 нуклеотиди. Ген *VDR* складається з 11 екзонів. Некодуєчий 5'-кінець гена включає в себе 1A, 1B, і 1C екзони. Вісім додаткових екзонів (2-9-й екзони) кодують структурну частину гена *VDR*. Але методами подовження праймера і S1-картування показано існування кількох загальних сайтів ініціації транскрипції. У результаті диференційного сплайсингу 1B і 1C екзонів утворюються три види мРНК [27]. Послідовність ДНК, яка розташована перед 1A екзоном, містить велику кількість GC-нуклеотидів і не містить очевидний ТАТА-бокс [28]. Відсутність ТАТА-боксу дає можливість для існування декількох стартових точок транскрипції. На сьогодні описано 1518 однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) гена *VDR* у людини. З них найкраще досліджено з точки зору їхньої асоціації з різними хворобами такі поліморфні варіанти: *FokI* [29-40], *BsmI* [41-47], *ApaI* [35, 48-52], *TaqI* [41, 45, 53-57], *EcoRV*-[46], *Tru9I*- [58], *Cdx2* [59, 60], *polyA* [61, 62].

Суть однонуклеотидного поліморфізму *FokI* полягає в тому, що в 2-му екзоні гена *VDR* у позиції 25920 тимін (*f*) заміщається на цитозин (*F*) [63]. Цей поліморфізм спричиняється до зміни стартового кодону, оскільки триплет ATG, що кодує амінокислоту метіонін, замінюється на ACG. Як наслідок, відбувається зміщення стартового кодону (до наступного ATG) і вкорочення на 3 амінокислотні залишки (а.з.) білкового продукту гена *VDR*. Таким чином, залежно від поліморфних варіантів *FokI*, а отже двох можливих сайтів початку трансляції, існують два різновиди (ізоформи) білка *VDR*: довгий і вкорочений. Перший (427 а.з.) є продуктом *T*-алеля ("*f*"-алеля), його позначають як M1-форму (метіонін у першій

позиції). Другий варіант (424 а.з.) є вкороченим на 3 амінокислоти, він пов'язаний із С-алелем ("F"-алелем) і позначається як М4-форма (метіонін у четвертому положенні).

Поліморфні варіанти *BsmI* і *ApaI* гена *VDR*, локалізовані у 8-му інтроні недалеко від ділянки, що не транлюється, яку позначають як 3'-UTR (untranslated region) [46]. Суть поліморфного варіанту *BsmI* полягає в тому, що у положенні 58980 гуанін заміщається на аденін. Поліморфний варіант *ApaI* характеризується заміною гуаніну в положенні 59979 на тимін [51]. Самі собою поліморфізми в інтронах не є функціонально значимим, оскільки не змінюють послідовність азотистих основ у змістовній частині гена, проте, будучи зчепленими з регуляторними ділянками гена, можуть виступати маркерами функціональних зв'язків інших SNP з розвитком патологічних процесів і хвороб.

Нарешті суть поліморфного варіанту *TaqI*, локалізованого в 9-му екзоні, неподалік від ділянки 3'-UTR, полягає в тому, що у положенні 60058 тимін заміщається на цитозин. Цей поліморфізм сам собою не є функціонально значимим, оскільки не змінює кількісний і якісний склад амінокислот у білковому продукті. В його 352-му кодоні не відбувається заміни ізолейцину в амінокислотній послідовності білка рецептора.

На сьогодні встановлено, що поліморфні варіанти *BsmI*, *ApaI* і *TaqI* гена *VDR* тісно пов'язані між собою. Завдяки такому зчепленню серед великої кількості прогнозованих гаплотипів виявляють лише три: *baT*, *BAt* і *bAT* [63]. Близькість зазначених гаплотипів до 3'-UTR-ділянки гена може певним чином позначатися на регуляції його експресії, оскільки відомо, що від цієї ділянки залежить стабільність мРНК, а отже, і кількість синтезованого білкового продукту.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження виконано з використанням венозної крові 170 хворих з ішемічним інсультом (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 [64], на підставі анамнезу і особливостей клінічного перебігу хвороби, даних ультразвукової доплерографії магістральних артерій голови, ЕКГ.

Контрольна група складалася зі 124 пацієнтів (36,3% жінок і 63,7% чоловіків) і 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 ($P<0,001$).

Таблиця 2.1 – Загальна характеристика пацієнтів з ішемічним атеротромботичним інсультом

<i>Показники</i>	<i>Хворі з ІАТІ</i>	<i>Контрольна група</i>	<i>P</i>
Вік, роки	$64,7 \pm 0,73$	$76,7 \pm 0,93$	$<0,001$
Стать, ж/ч	72/98	45/79	0,294*
Маса тіла (ж), кг	$77,6 \pm 1,42$	$69,8 \pm 1,8$	0,001
Маса тіла (ч), кг	$82,6 \pm 1,33$	$75,7 \pm 1,77$	0,002
Зріст (ж), см	$163,6 \pm 0,65$	$156,1 \pm 1,26$	$<0,001$
Зріст (ч), см	$172,9 \pm 0,76$	$167,2 \pm 0,96$	$<0,001$
ІМТ (ж), $\text{кг}/\text{м}^2$	$29,0 \pm 0,54$	$28,7 \pm 0,77$	0,744
ІМТ (ч), $\text{кг}/\text{м}^2$	$27,6 \pm 0,41$	$27,0 \pm 0,55$	0,355
САТ, мм рт. ст.	$167 \pm 2,3$	$152,6 \pm 2,1$	$<0,001$
ДАТ, мм рт. ст.	$95,4 \pm 1,2$	$86,3 \pm 1,1$	$<0,001$
Глюкоза крові, ммоль/л	$5,92 \pm 0,12$	$5,29 \pm 0,06$	$<0,001$

Примітка: p – значимість відмінностей між жіночою і чоловічою статтю.

3 МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ З НАСТУПНИМ АНАЛІЗОМ ДОВЖИНИ РЕСТРИКЦІЙНИХ ФРАГМЕНТІВ

Для генотипування венозну кров набирали в стерильних умовах в моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти ("Sarstedt", Німеччина), що слугувала антикоагулянтом. Кров заморожували і зберігали при температурі -20°C. ДНК з неї виділяли, використовуючи набори "Изоген" (Росія).

(1) *Виділення ДНК з лейкоцитів цільної крові.* ДНК виділяли з цільної крові із використанням наборів D1Atom DNA Prep 200 («Isogene», Росія). Даний метод базується на застосуванні лізуючого реагенту із гуанідинтіоціонатом, який призначений для лізису клітин, солюбілізації клітинного дебрису, а також для денатурації клітинних нуклеаз. У присутності лізуючого реагенту ДНК активно сорбується на *NucleoSTM*-сорбенті, потім легко відмивається від білків та солей спиртовим розчином. Згодом ДНК екстрагують із сорбента та переносять у стерильні, вільні від ДНК та РНК, мікропробірки. Отримана ДНК може безпосередньо використовуватися для проведення полімеразної ланцюгової реакції. Набір дозволяє виділяти із свіжого біологічного матеріалу високомолекулярну ДНК (40-50 тисяч пар нуклеотидів високої чистоти ($OD_{260/280 \text{ нм}}$ 1.6 – 2.0). Вихід чистої ДНК з 100 мкл цільної крові становить 3 – 5 мкг. У процесі виділення ДНК ми дотримувалися рекомендацій, наведених у комерційному наборі, та проводили маніпуляції згідно запропонованого протоколу.

(2) *Визначення алельних поліморфізмів генів MGP і VDR*

Ампліфікацію ділянок гена MGP, T-138C (rs1800802), G-7A (rs1800801), Thr83Ala (rs4236) і гена VDR, що містять сайти *FokI* (rs 2228570), *BsmI* (rs1544410), *ApaI* (rs7975232), *TaqI* (rs731236) поліморфних варіантів, проводили за допомогою пар специфічних праймерів, синтезованих фірмою «Metabion» Німеччина (табл. 3.1).

Таблиця 3.1 – Умови проведення PCR і рестрикційного аналізу

Ген	Полі-морфний варіант	Послідовність нуклеотидів у праймерах	Ферменти	Фрагменти рестрикції, п. н.
<i>MGP</i>	T-138C rs1800802	П 5`-AAGCATACGATGGCCAAAАСТТСТGCA-3` 3 5`-GAACTAGCATTTGGAАСТТТТСССААСС-3`	<i>Bse</i> NI	142, 118, 24
	G-7A rs1800801	П 5'-СТАGTTCAGTGCCAACCCТТССССАСС-3' 3 5'-TAGCAGCAGTAGGGAGAGAGGCTСССА-3'	<i>Nco</i> I	500, 240, 260
	Thr83Ala rs4236	П 5`-TCAATAGGGAAGCCTGTGATG-3` 3 5`-AGGGGGATACAAAATCAGGTG-3`	<i>Eco</i> 47I	173, 127, 46
<i>VDR</i>	<i>Fok</i> I rs2228570	П 5'-AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTG-3' 3 5'-ATGGAAACACCTTGCTTCTTCTCCCTC-3'	<i>Fok</i> I	267, 204, 63
	<i>Bsm</i> I rs1544410	П 5'-AGGGAGACGTAGCAAAAGGAG-3' 3 5'-TGTССССАAGGTCACAATAAC-3'	<i>Bsm</i> I	425, 232, 193
	<i>Apa</i> I rs7975232	П 5'-CAGAGCATGGACAGGGAGCAA-3' 3 5'-CACTTCGAGCACAAGGGGCGTTAGC-3'	<i>Apa</i> I	501, 284, 217
	<i>Taq</i> I rs731236	П 5'-CAGAGCATGGACAGGGAGCAA-3' 3 5'-CACTTCGAGCACAAGGGGCGTTAGC-3'	<i>Taq</i> I	501, 294, 207

Для ампліфікації брали 50-100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буферу, 1,5 мМ сульфату магнію, 250 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 15 рМ кожного з праймерів і 0,75 ОД *Taq*-полімерази ("Ферментас", Литва), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. PCR проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 ("Applied Biosystems", США).

Для ампліфікації поліморфізму T-138C брали 50-100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буферу, 1,5 мМ сульфату магнію, 200 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 20 рМ кожного з праймерів і 0,5 ОД *Taq*-полімерази ("Ферментас", Литва), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. PCR проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 ("Applied Biosystems", США). Ампліфікація фрагмента промотора складалася з 33 циклів: денатурація – 94°C (30 с), гібридизація праймерів – 57°C (1 хв) і елонгація – 72°C (1

хв). Пізніше 6 мкл продукту ампліфікації фрагмента промотора інкубували при 37°C протягом 18 годин з 3 ОД рестриктази *BseNI* ("Ферментас", Литва) у буфері В такого складу: 10 мМ трис-НСІ (рН 7,5), 10 мМ хлориду магнію і 0,1 мг/мл альбуміну. Якщо в -138 позиції гена MGP містився тимін, ампліфікат, який складався з 142 пар основ, розщеплювався рестриктазою *BseNI* на два фрагменти – 118 і 24 пари основ. У разі заміни тиміну на цитозин сайт рестрикції для *BseNI* втрачався і утворювався один фрагмент розміром 142 пари основ (рис. 3.1).

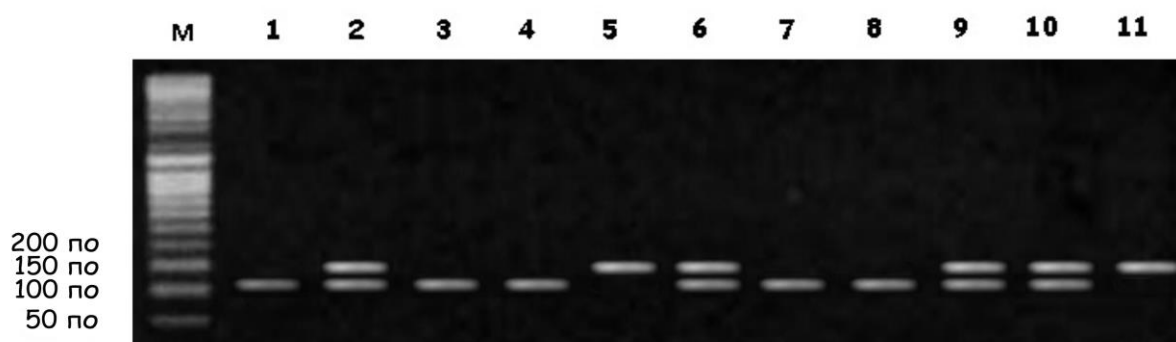


Рисунок 3.1 – Результати рестрикційного аналізу Т-138С поліморфізму гена MGP. М – маркер молекулярної маси (по - пари нуклеїнових основ); доріжки 1,3,4,7,8 відповідають Т/Т-генотипу; доріжки 2,6,9,10 – Т/С-генотипу; 5,11 – С/С-генотипу

Для ампліфікації алельного поліморфізму промотора гена MGP G-7A брали 50-100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буферу, 1,5 мМ сульфату магнію, 200 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 20 рМ кожного з праймерів і 0,75 ОД Таq-полімерази ("Ферментас", Литва), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. Ампліфікація фрагмента, що містив стартову ділянку, складалася з 33 циклів: денатурація – 94°C (50с), гібридизація праймерів – 64,5°C (45 с) і елонгація – 72°C (1 хв). Для рестрикційного аналізу 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37°C протягом 18 годин 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 -7 позиції гена MGP містився гуанін, ампліфікат, який складався з 500 пар основ, розщеплювався рестриктазою *NcoI* на два фрагменти – 240 і 260 пар основ. У разі заміни гуаніну на

аденін сайт рестрикції для *NcoI* втрачався і візуалізувався один фрагмент завдовжки 500 пар основ (рис. 3.2).

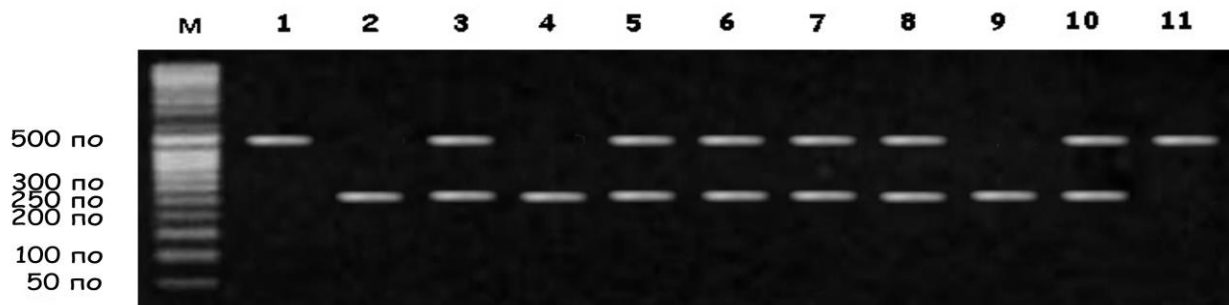


Рисунок 3.2 – Результати рестрикційного аналізу G-7A поліморфізму гена MGP. М – маркер молекулярної маси (по - пари нуклеїнових основ); доріжки 2,4,9 відповідають G/G-генотипу; доріжки 3,5,6,7,8,10 – G/A-генотипу; 1,11 – A/A-генотипу.

Програма ампліфікації алельного поліморфізму 4-го екзону гена MGP Thr83Ala була такою: денатурація – 94°C (50 с), гібридизація праймерів – 64,5°C (45 с), елонгація – 72°C (1 хв), разом 33 цикли. У подальшому 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37°C протягом 18 годин з 3 ОД рестриктази *Eco471* у буфері R такого складу: 10 мМ трис-НСl (рН 8,5), 10 мМ хлориду магнію 100 мМ хлориду калію і 0,1 мг/мл альбуміну. Наявність у 3748 позиції гена MGP аденіну перешкоджає рестрикції, а при заміні аденіну на тимін рестриктаза розщеплює ампліфіковану ділянку 4-го екзону (довжина – 173 пари азотистих основ) на два фрагменти: 127 і 46 пар основ (рис. 3.3).

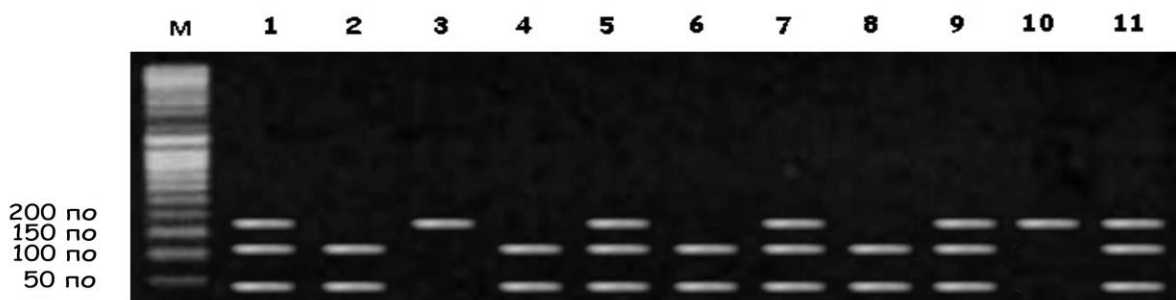


Рисунок 3.3 – Результати рестрикційного аналізу Thr83Ala поліморфізму гена MGP. М – маркер молекулярної маси (по - пари нуклеїнових основ); доріжки 2,4,6,8 відповідають Thr/Thr-генотипу; доріжки 1,5,7,9,11 – Thr/Ala-генотипу; 3,10 – Ala/Ala-генотипу.

Ампліфікація фрагмента, що містив стартову ділянку (*FokI*), складалася з 33 циклів: денатурація – 94°C (50 с), гібридизація праймерів – 64,5°C (45 с) і елонгація – 72°C (1 хв). Для рестрикційного аналізу 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 55°C протягом 20 годин з 3 ОД рестриктази *FokI* 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. Наявність у 25920-й позиції гена *VDR* цитозину перешкоджає рестрикції, а при заміні цитозину на тимін рестриктаза *FokI* розщеплює ампліфіковану ділянку довжиною – 267 пар основ на два фрагменти: 204 і 63 пари основ (рис. 3.4).

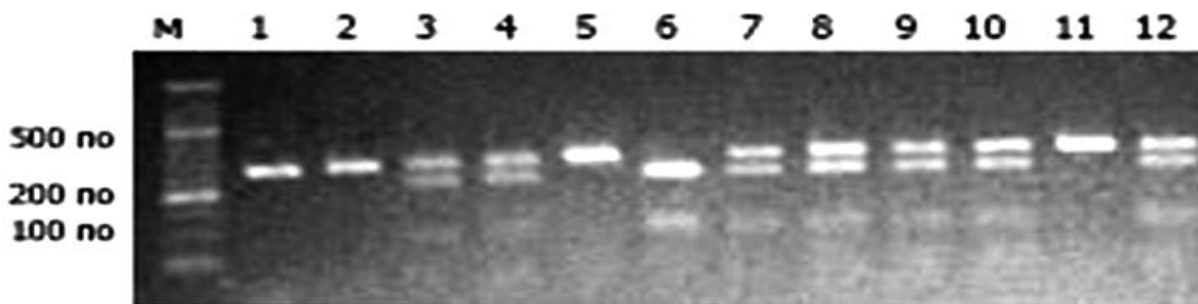


Рисунок 3.4 Результати рестрикційного аналізу поліморфного варіанту *FokI* гена *VDR*. М – маркер молекулярної маси (по - пари нуклеїнових основ), доріжки 1,2,5,11 відповідають генотипу *F/F*, 3,4,7,8,9,10,12 – генотипу *F/f*, 6 – генотипу *f/f*.

Ампліфікація фрагмента 8 інтрона (*BsmI*) складалася з 33 циклів: денатурація – 94°C (50 с), гібридизація праймерів – 60°C (45 с) і елонгація – 72°C (1 хв). Пізніше 6 мкл продукту ампліфікації фрагмента 8-го інтрону інкубували при 37°C протягом 20 годин з 2 ОД рестриктази *BsmI*, ("Ферментас", Литва) у буфері R такого складу: 10 мМ трис-НСl (рН 8,5), 10 мМ хлориду магнію 100 мМ хлориду калію і 0,1 мг/мл альбуміну. Якщо в 58980-й позиції гена *VDR* містився гуанін, ампліфікат, який складався з 425 пар основ, розщеплювався рестриктазою *BsmI* на два фрагменти – 232 і 193 пари основ. У разі заміни гуаніну на аденін сайт рестрикції для *BsmI* втрачався, і утворювався один фрагмент розміром 425 пар основ (рис. 3.5).

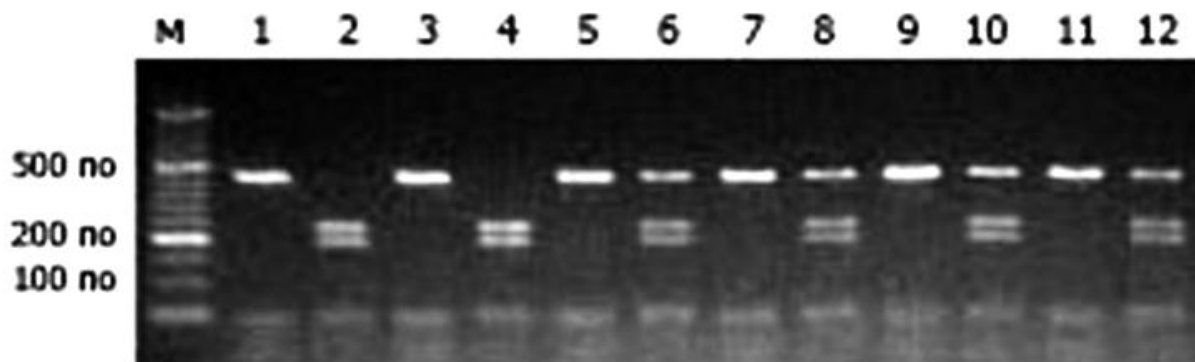


Рисунок 3.5 Результати рестрикційного аналізу поліморфного варіанту *BsmI* гена *VDR*. М – маркер молекулярної маси (по - пари нуклеїнових основ), доріжки 1,3,5,7,9,11 відповідають генотипу *b/b*, 6,8,10,12 – генотипу *b/B*, 2,4 –генотипу *B/B*.

Програма ампліфікації для поліморфного варіанту *ApaI* була такою: денатурація – 94°C (50 с), гібридизація праймерів – 64,5°C (45 с), елонгація – 72°C (1 хв), разом 33 цикли. У подальшому 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37°C протягом 20 годин з 5 ОД рестриктази *ApaI*, у буфері В такого складу: 10 мМ трис-НСl (рН 7,5), 10 мМ хлориду магнію і 0,1 мг/мл альбуміну. Якщо в 59979-й позиції гена *VDR* містився гуанін, ампліфікат, який складався з 501 пари основ, розщеплювався рестриктазою *ApaI* на два фрагменти – 284 і 217 пар основ. У разі заміни гуаніну на тимін сайт рестрикції для *ApaI* втрачався, і утворювався один фрагмент розміром 501 пара основ (рис. 3.6).

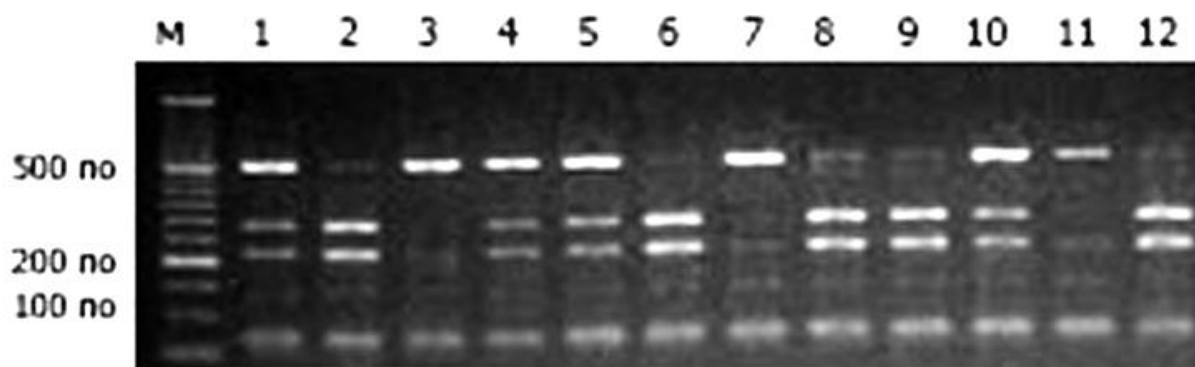


Рисунок 3.6 Результати рестрикційного аналізу поліморфного варіанту *ApaI* гена *VDR*. М – маркер молекулярної маси (по - пари нуклеїнових основ), доріжки 3,7,11 відповідають генотипу *a/a*, 1,4,5,10 – генотипу *a/A*, 2,6,8,9,12 –генотипу *A/A*.

Ампліфікація фрагмента 9 екзона (*TaqI*) була наступною: денатурація – 94°C (50 с), гібридизація праймерів – 64,5°C (45 с), елонгація – 72°C (1 хв), разом 33 цикли. У подальшому 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37°C протягом 20 годин з 5 ОД рестриктази *TaqI* у буфері *TaqI* такого складу: 10 мМ трис-НСІ (рН 8.0), 5 мМ хлориду магнію, 100 мМ NaCl і 0,1 мг/мл альбуміну. Наявність у 60058-й позиції гена VDR тиміну перешкоджає рестрикції, а при заміні тиміну на цитозин рестриктаза *TaqI* розщеплює ампліфіковану ділянку (довжина – 501 пара основ) на два фрагменти: 294 і 207 пар основ (рис. 3.7).

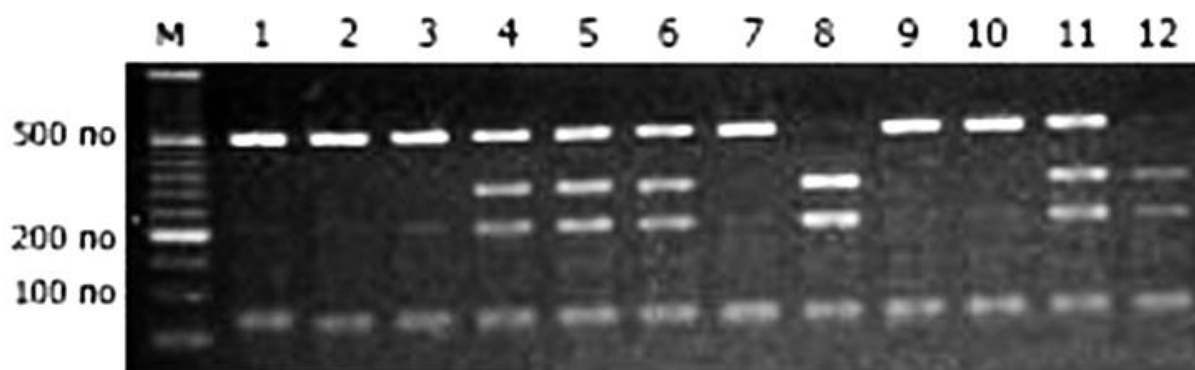


Рисунок 3.7 Результати рестрикційного аналізу поліморфного варіанту *TaqI* гена VDR. М – маркер молекулярної маси (по - пари нуклеїнових основ), доріжки 1,2,3,7,9,10 відповідають генотипу *T/T*, 4,5,6,11 –генотипу *T/t*, 8,12 –генотипу *t/t*.

Детекцію продуктів рестрикції проводили методом горизонтального електрофорезу в 2,5% агарозному гелі (Sigma-Aldrich, США), що містив бромистий етидій (Sigma-Aldrich, США). Візуалізацію результатів здійснювали в ультрафіолетових променях за допомогою автоматичної системи відеозчитування «Vi-Trap» в транслюмінаторі («Біоком» Росія).

Одержані результати опрацьовували статистично з використанням пакета SPSS 17.0. При цьому достовірність відмінностей визначали за χ^2 -критерієм. Значення $P < 0,05$ вважали достовірним.

4 ВИВЧЕННЯ АЛЕЛЬНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ MGP і VDR

4.1 Розподіл алельних варіантів гена MGP у хворих на ІАТІ

У проведених нами дослідженнях було поставлено за мету вивчити розподіл поліморфних варіантів гену MGP у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом.

Частоту трьох можливих варіантів генотипу за вивченими поліморфізмами, а також перевірку відповідності розподілу основного і мінорного алелів рівновазі Харді-Вайнберга подано в табл. 4.1.

Таблиця 4.1 – Частота алельних варіантів і алелів поліморфізмів гена MGP у контрольній групі і у хворих з ІАТІ

<i>Генотип</i>	<i>Контрольна група, n (%)</i>	<i>Хворі з ІАТІ, n (%)</i>
T-138C		
Гомозиготи T/T	74 (59,7)	104 (61,2)
Гетерозиготи T/C	44 (35,5)	53 (31,2)
Гомозиготи C/C	6 (4,8)	13 (7,6)
T-алель	0,77	0,77
C-алель	0,23	0,23
	0,03	2,7
	> 0,05	> 0,05
G-7A		
Гомозиготи G/G	54 (43,5)	61 (35,9)
Гетерозиготи G/A	62 (50,0)	83 (48,8)
Гомозиготи A/A	8 (6,5)	26 (15,3)
G-алель	0,69	0,6
A-алель	0,31	0,4
	3,16	0,07
	> 0,05	> 0,05
Thr83Ala		
Гомозиготи Thr/Thr	43 (34,7)	67 (39,4)
Гетерозиготи Thr/Ala	66 (53,2)	83 (48,8)
Гомозиготи Ala/Ala	15 (12,1)	20 (11,8)
Thr-алель	0,61	0,64
Ala-алель	0,39	0,36
	1,84	0,56
	> 0,05	> 0,05

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

Аналіз частоти генотипів показав, що за поліморфізмами T-138C і Thr83Ala різниці у розподілі алельних варіантів гену між хворими з ІАТІ і практично здоровими особами не існує ($P > 0,05$).

Порівняння частоти різних варіантів G-7A поліморфізму у хворих основної і контрольної групи дало такі результати: співвідношення генотипів G/G, G/A і A/A в основній групі становило відповідно 61 (35,9%), 83 (48,8%) і 26 (15,3%), а в контрольній – 54 (43,5%), 62 (50,0%) і 8 (6,5%) Показник P , визначений за χ^2 -критерієм Пірсона, дорівнював 0,051 і був дуже близький до рівня статистичної значимості. Гомозиготи за мінорним алелем мали ризик розвитку ІАТІ у 2,6 раза вищий, ніж носії основного алеля (G/A+G/G).

4.2 Зв'язок алельних варіантів MGP-гена з факторами ризику ІАТІ

Аналіз за статтю. Розподіл частот алельних варіантів за вивченими поліморфізмами у осіб різної статі в групах порівняння подано в табл. 4.2. Як випливає з наведених даних, частота різних алельних варіантів гену MGP за T-138C поліморфізмом істотно не відрізняється у хворих з ІАТІ та пацієнтів контрольної групи, якщо порівнювати окремо жінок і чоловіків. ($P=0,056$ і $P=0,823$ відповідно). Порівняння даних про частоту варіантів поліморфізму T-138C у жінок і чоловіків окремо в контрольній групі і у хворих з ІАТІ свідчить про відсутність статистично значимих відмінностей між особами жіночої і чоловічої статі як серед пацієнтів з ІАТІ ($P=0,349$), так і в контролі ($P=0,162$). У жодній з груп, утворених з урахуванням генотипу за T-138C поліморфізмом різниця у розподілі осіб з різними поліморфними варіантами гену була недостовірною (табл. 4.2).

При порівнянні частоти генотипів в основній і контрольній групах за поліморфізмом G-7A окремо у жінок і чоловіків одержані наступні результати. Серед жінок контрольної групи генотип G/G мали 40,0%, G/A – 55,6%, A/A – 4,4%, а серед хворих з ІАТІ відповідно 29,2%, 47,2%, 23,6%. Генотип G/G був виявлений у 45,6%, G/A – 46,8%, A/A – 7,6% практично здорових чоловіків, а серед хворих з

IAT1 у 40,8%, 50,0% і 9,2 % відповідно. Таким чином, виявлено статистично значиму асоціацію G-7A поліморфізму з IAT1 в осіб жіночої статі ($P_1=0,022$) і відсутність такого зв'язку у чоловіків ($P_1=0,798$).

Таблиця 4.2 – Частота генотипів за поліморфізмами T-138C, G-7A, Thr83Ala гена MGP у жінок і чоловіків у контрольній групі і у хворих з IAT1

Генотип	Жінки (n)		Чоловіки (n)	
	Контроль	ГКС	Контроль	ГКС
T-138C				
T/T	25	46	49	58
T/C	19	18	25	35
C/C	1	8	5	5
	$P_1=0,056$		$P_1=0,823$	
	$P_2=0,349, P_3=0,162, P_4=0,167, P_5=0,404, P_6=0,141$			
G-7A				
G/G	18	21	36	40
G/A	25	34	37	49
A/A	2	17	6	9
	$P_1=0,022$		$P_1=0,798$	
	$P_2=0,582, P_3=0,026, P_4=0,902, P_5=0,938, P_6=0,044$			
Thr83Ala				
Thr/Thr	18	23	25	44
Thr/Ala	25	38	41	45
Ala/Ala	2	11	13	9
	$P_1=0,176$		$P_1=0,125$	
	$P_2=0,131, P_3=0,176, P_4=0,425, P_5=0,322, P_6=0,016$			

Примітка : n – кількість осіб, P_1 – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і IAT1, P_2 – значимість відмінностей у розподілі генотипів між жінками і чоловіками у контролі, P_3 – значимість відмінностей у розподілі генотипів між жінками і чоловіками у групах з IAT1, P_4 - значимість відмінностей у частоті осіб різної статі серед гомозигот за основним алелем у контрольній групі і групі з IAT1, P_5 - значимість відмінностей у частоті осіб різної статі серед гетерозигот у контрольній групі і групі з IAT1, P_6 - значимість відмінностей у частоті осіб різної статі серед гомозигот за мінорним алелем у контрольній групі і групі з IAT1.

Співвідношення алельних варіантів гена MGP за поліморфізмом G-7A у жінок з ІАТІ становило 29,2%, 47,2% і 23,6%, тимчасом як у чоловіків відповідні показники дорівнювали 40,8%, 50,0% і 9,2%. Різниця у розподілі алелів виявилася достовірною ($P_3=0,026$). Таким чином, у групі хворих з ІАТІ, на відміну від контрольної групи, виявлено істотні відмінності в розподілі генотипів за поліморфізмом G-7A між особами жіночої і чоловічої статі. У хворих жінок відсоток гомозигот за основним алелем нижчий, а за мінорним алелем – вищий, ніж у чоловіків (табл. 4.2).

Нарешті, ще один аналіз підтвердив висновок про існування зв'язку між статтю пацієнтів і розвитком ІАТІ. Так, серед носіїв генотипу G/G в контрольній групі виявлено 33,3% жінок і 66,7% чоловіків, а у групі хворих з ІАТІ відповідно 34,4% і 65,6%. Достовірна відмінність у частоті осіб жіночої і чоловічої статі з генотипом G/G, у групах порівняння відсутня ($P_4=0,902$). Серед осіб з генотипом G/A у контролі було 40,3% жінок і 59,7% чоловіків, а у групі пацієнтів з ІАТІ їх кількість становила відповідно 41,0% та 59,0%. Відмінності в частоті осіб різної статі за даним генотипом у групах порівняння також відсутні ($P_5=0,938$). Що стосується носіїв A/A генотипу, то в контрольній групі виявлена 25,0% жінки і 75,0% чоловіків, а серед хворих таких було відповідно 65,4% і 34,6%. Таким чином, серед гомозигот за мінорним алелем ІАТІ у жінок виникає значно частіше, ніж у чоловіків ($P_6=0,044$) (табл. 4.2).

За допомогою методу логістичної регресії встановлено, що ризик розвитку ІАТІ у жінок, гомозиготних за мінорним алелем (A/A), у 6,6 рази вищий, ніж у носіїв основного алеля (G/A+G/G) (табл. 4.3).

Щодо Thr83Ala поліморфізму, то частота різних алельних варіантів гена MGP істотно не відрізняється у хворих з ІАТІ та пацієнтів контрольної групи, якщо порівнювати окремо жінок ($P=0,176$) і чоловіків ($P=0,125$). Не виявлено достовірної різниці у розподілі генотипів у осіб різної статі при порівнянні у контрольній ($P_2=0,131$) і основній ($P_3=0,176$) групах. І тільки у пацієнтів з генотипом Ala/Ala

відмінності між співвідношенням статей у контрольній і основній групах були статистично значимими ($P_6=0,016$) (табл. 4.2).

Таблиця 4.3 – Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за G-7A поліморфізмом гена MGP в осіб жіночої і чоловічої статі

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

Аналіз за антропометричними даними. При порівнянні показників зросту, маси тіла та ІМТ у осіб жіночої і чоловічої статі залежно від генотипу пацієнтів за T-138C виявлено певні істотні відмінності антропометричних даних. Так, у хворих на ІАТІ жінок з генотипом T/T зріст, а з генотипом T/C зріст і маса тіла були значно більшими, ніж у жінок контрольної групи з відповідним генотипом. Такі відмінності, однак, не впливали на ІМТ, що можна було пояснити пропорційністю відхилень показників зросту і маси тіла. Порівняти наведені вище антропометричні характеристики у жінок – гомозигот за мінорним алелем (C/C) не вдалося, оскільки в контрольній групі такий генотип мала тільки одна особа. У чоловіків з варіантами генотипу T/T і T/C мали місце ті ж само відмінності, що і в жінок. Але, що стосується гомозигот за мінорним алелем (C/C), то тут вплив генетичного чинника на антропометричні показники був дещо іншим. (додаток 1). Хворі як жіночої, так чоловічої статі, що є гомозиготами за основним алелем поліморфізму G-7A, мають достовірно вищі, ніж у контролі, показники зросту і маси тіла (додаток 2). Таку ж само картину спостерігаємо і в жінок-гетерозигот, а у гетерозиготних чоловіків з ІАТІ тільки показник зросту є вищим, ніж у відповідному контролі. Що стосується ІМТ, то цей параметр, як і зріст та маса тіла, не залежав від генотипу за G-7A

поліморфізмом, проте, на відміну від двох зазначених показників, він не відрізнявся в основній і контрольній групах при порівнянні пацієнтів за будь-яким із трьох генотипів (G/G, G/A, A/A). Щодо поліморфізму Thr83Ala, то немає зв'язку між генотипами за поліморфізмом Thr83Ala і середніми показниками зросту, маси тіла та ІМТ як у здорових осіб, так і у хворих з ІАТІ. Що стосується порівняння пацієнтів контрольної і основної групи за цими характеристиками, то у жінок і чоловіків, гомозиготних за Thr-алелем, зріст, а у носіїв мінорного алеля (Thr/Ala+Ala/Ala) ще й маса тіла були істотно вищими у хворих на інсульт, ніж у відносно здорових осіб (додаток 3).

Поділ кожної з двох груп – дослідної і контрольної – на дві підгрупи залежно від величини ІМТ ($< 25 \text{ кг/м}^2$ і $\geq 25 \text{ кг/м}^2$) дав можливість проаналізувати вплив поліморфних варіантів промотора гена MGP на розвиток ІАТІ в осіб з нормальним і підвищеним рівнем цього показника. Як випливає з табл. 4.4, ні серед пацієнтів з нормальним ІМТ, ні в осіб із підвищеним показником не виявлено жодного зв'язку між генотипом за поліморфізмом T-138C і виникненням ІАТІ. Як у хворих з ІАТІ, так і в осіб контрольної групи не було залежності між досліджуваним SNP і рівнем ІМТ.

G-7A поліморфізм гена MGP не впливав на розвиток ІАТІ у жодній з двох груп, утворених за показником ІМТ ($< 25 \text{ кг/м}^2$ і $\geq 25 \text{ кг/м}^2$) (табл. 4.4). При порівнянні даних про частоту варіантів поліморфізму G-7A у осіб, що мають різне значення ІМТ окремо в контрольній групі і у хворих з ІАТІ одержані наступні результати. У контрольній групі було виявлено осіб з $\text{ІМТ} < 25 \text{ кг/м}^2$, що мають генотип G/G 13 (34,2%), генотип G/A - 21 (55,3%), генотип A/A - 4 (10,5%), а осіб з $\text{ІМТ} \geq 25 \text{ кг/м}^2$ відповідно 41 (48,2%), 40 (47,1%), 4 (4,7%). Порівняння отриманих даних свідчить про відсутність статистично значимих відмінностей у розподілі алельних варіантів поліморфізму G-7A між особами з $\text{ІМТ} < 25 \text{ кг/м}^2$ та $\text{ІМТ} \geq 25 \text{ кг/м}^2$ у контрольній групі ($\chi^2=2,901$, $P_2=0,234$). Серед хворих з ІАТІ, що мають $\text{ІМТ} < 25 \text{ кг/м}^2$ було 12 (29,3%) з генотипом G/G, 20 (48,8%) з генотипом G/A і 9 (22,0%) з генотипом A/A, а серед осіб з $\text{ІМТ} \geq 25 \text{ кг/м}^2$ відповідно 49 (38,0%), 63 (48,8%) і 17 (13,2%). Одержані результати свідчать про відсутність статистично значимих

відмінностей серед пацієнтів з ІАТІ, що мають різне значення ІМТ ($\chi^2=2,224$, $P_3=0,329$). Таким чином, і у хворих з ІАТІ, і у відносно здорових осіб поліморфні варіанти гена MGP не впливали на ІМТ.

Таблиця 4.4 – Частота генотипів за поліморфізмами T-138C, G-7A, Thr83Ala гена MGP у контрольній групі і у хворих з ІАТІ залежно від ІМТ

Генотип	ІМТ<25кг/м ² (n)		ІМТ≥25кг/м ² (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
T-138C				
T/T	20	26	54	78
T/C	15	13	28	40
C/C	3	2	3	11
	P ₁ =0,604		P ₁ =0,351	
	P ₂ =0,394, P ₃ =0,744, P ₄ =0,761, P ₅ =0,267, P ₆ =0,111			
G-7A				
G/G	13	12	41	49
G/A	21	20	40	63
A/A	4	9	4	17
	P ₁ =0,391		P ₁ =0,080	
	P ₂ =0,234, P ₃ =0,329, P ₄ =0,568, P ₅ =0,175, P ₆ =0,434			
Thr83Ala				
Thr/Thr	12	12	31	55
Thr/Ala	18	25	47	58
Ala/Ala	8	4	7	16
	P ₁ =0,307		P ₁ =0,297	
	P ₂ =0,133, P ₃ =0,199, P ₄ =0,215, P ₅ =0,747, P ₆ =0,040			

Примітка : n – кількість осіб, P₁ – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ, P₂ – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з ІМТ<25кг/м² та ІМТ≥25кг/м² у контролі, P₃ – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з ІМТ<25кг/м² та ІМТ≥25кг/м² у групах з ІАТІ, P₄ - значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ<25кг/м² та ІМТ≥25кг/м² з генотипом T/T у контрольній групі і групі з ІАТІ, P₅ - значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ<25кг/м² та ІМТ≥25кг/м² з генотипом T/C у контрольній групі і групі з ІАТІ, P₆ - значимість відмінностей у частоті осіб з ІМТ<25кг/м² та ІМТ≥25кг/м² з генотипом C/C у контрольній групі і групі з ІАТІ.

У підгрупах пацієнтів з нормальним і підвищеним ІМТ не виявлено зв'язку між розподілом генотипів за Thr83Ala поліморфізмом і розвитком ІАТІ (табл. 4.4).

Аналіз підгруп пацієнтів, утворених на підставі їхнього генотипу (Thr/Thr, Thr/Ala, Ala/Ala) виявив такі особливості розподілу. Серед носіїв генотипу Thr/Thr в контрольній групі було 27,9% з $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$ і 72,1% з $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$, а у групі хворих з ІАТІ відповідно 17,9% і 82,1%. Частота осіб з різним значенням ІМТ, що мають генотип Thr/Thr у групах порівняння достовірно не відрізнялися ($P_4=0,215$). Серед осіб з генотипом Thr/Ala у контролі було 27,7% з $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$ і 72,3% з $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$, а у групі пацієнтів з ІАТІ їх кількість становила відповідно 30,1% і 69,9%. Відмінності в частоті осіб $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$ і $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$ за даним генотипом у групах порівняння також відсутні ($P_5=0,747$). Щодо гомозигот за мінорним алелем (Ala/Ala), то співвідношення осіб з нормальним і підвищеним ІМТ у контролі і у хворих з ІАТІ було різним. Так, у контрольній групі на осіб з $ІМТ < 25 \text{ кг/м}^2$ та $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$ припадало відповідно 53,3% і 46,7%, тимчасом як у хворих з ІАТІ зазначені показники дорівнювали 20,0% і 80,0% ($P=0,040$).

Аналіз за показниками артеріального тиску. При поділі пацієнтів на тих, що мають нормальний АТ, і тих, у кого виявлено артеріальну гіпертензію (САТ>140 мм рт. ст., ДАТ>90 мм рт. ст.), порівняння частоти досліджуваних генотипів дало такі результати (табл. 4.5).

Як в осіб з нормальним, так і підвищеним АТ, генотип пацієнтів за вивченими поліморфізмами гена MGP не впливав на їх схильність до розвитку ІАТІ. Інформативним виявилось вивчення частоти осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за G-7A поліморфізмом гена MGP. Так, серед носіїв генотипу G/G в контрольній групі виявлено 40,4% осіб з нормальним тиском і 59,6% з підвищеним, а у групі хворих з ІАТІ відповідно 19,7% і 80,3%. Статистичний аналіз отриманих даних виявив, що серед носіїв генотипу G/G хворі з ІАТІ мають достовірно вищу частоту артеріальної гіпертензії, ніж пацієнти контрольної групи ($P_4=0,016$) (табл. 4.5).

Таблиця 4.5 – Частота генотипів за поліморфізмами T-138C, G-7A, Thr83Ala гена MGP у контрольній групі і у хворих з ІАТІ залежно від величини АТ

Генотип	Нормальний АТ (n)		Підвищений АТ (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
T-138C				
T/T	27	25	45	79
T/C	19	13	24	40
C/C	2	4	4	9
	P ₁ =0,478		P ₁ =0,900	
	P ₂ =0,394, P ₃ =0,744, P ₄ =0,761, P ₅ =0,267, P ₆ =0,111			
G-7A				
G/G	21	12	31	49
G/A	25	23	36	60
A/A	2	7	36	60
	P ₁ =0,085		P ₁ =0,386	
	P ₂ =0,679, P ₃ =0,521, P ₄ =0,016, P ₅ =0,095, P ₆ =0,914			
Thr83Ala				
Thr/Thr	21	22	20	45
Thr/Ala	24	14	41	69
Ala/Ala	3	6	12	14
	P ₁ =0,195		P ₁ =0,369	
	P ₂ =0,086, P ₃ =0,066, P ₄ =0,058, P ₅ =0,006, P ₆ =0,503			

Примітка : n – кількість осіб, P₁ – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ, P₂ – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з нормальним та підвищеним артеріальним тиском у контролі, P₃ – значимість відмінностей у розподілі генотипів між особами з нормальним та підвищеним артеріальним тиском у групах з ІАТІ, P₄ - значимість відмінностей у частоті осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском серед гомозигот за основним алелем у контрольній групі і групі з ІАТІ, P₅ - значимість відмінностей у частоті осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском серед гетерозигот у контрольній групі і групі з ІАТІ, P₆ - значимість відмінностей у частоті осіб з нормальним та підвищеним артеріальним тиском серед гомозигот за мінорним алелем у контрольній групі і групі з ІАТІ.

Застосування методу логістичної регресії дало можливість встановити, що ризик виникнення ІАТІ в осіб з нормальним артеріальним тиском і генотипом А/А у 6,1 раза вищий, ніж у нормотензивних гомозигот за основним алелем (табл. 4.6).

Таблиця 4.6 – Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за G-7A поліморфізмом гена MGP в осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском (метод логістичної регресії)

	Гено-тип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR	95% CI для OR
Нормальний АТ	G/A	0,476	0,463	1,058	0,304	1,610	0,650	3,990
	A/A	1,812	0,880	4,245	0,039	6,125	1,092	34,346
Артеріальна гіпертензія	G/A	0,053	0,312	0,029	0,865	1,054	0,572	1,942
	A/A	0,695	0,522	1,775	0,183	2,003	0,721	5,568

Примітка: див. табл. 4.3

При аналізі груп пацієнтів, утворених з урахуванням генотипу за Thr83Ala поліморфізмом гена MGP (Thr/Thr, Thr/Ala, Ala/Ala) виявлено, що у гетерозигот (Thr/Ala) існує статистично значима залежність між рівнем АТ і ймовірністю розвитку ІАТІ: в осіб з артеріальною гіпертензією ІАТІ виявлявся частіше, ніж у пацієнтів з нормальним АТ (P=0,006). Серед осіб з генотипом Thr/Ala у контролі було 36,9% осіб з нормальним АТ і 63,1% з підвищеним АТ, а у групі пацієнтів з ІАТІ їх кількість становила відповідно 16,9% і 83,1% (табл. 4.5).

Таким чином, тільки серед гетерозигот було відзначено статистично значиму відмінність у співвідношенні нормо- і гіпертоніків в основній і в контрольній групах: відсоток осіб з артеріальною гіпертензією у хворих з ІАТІ був вищий, ніж у контролі.

Методом логістичної регресії встановлено, що у гетерозиготних жінок з ІАТІ ймовірність артеріальної гіпертензії у 5 разів вища, ніж у гомозигот за основним алелем (табл. 4.7).

Таблиця 4.7 – Аналіз ризику артеріальної гіпертензії у хворих з ІАТІ (жінок і чоловіків) залежно від генотипу за Thr83Ala поліморфізмом гена MGP (метод логістичної регресії)

	Гено-тип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI для OR нижній	95% CI для OR верхній
Жінки	Thr/Ala	1,630	0,753	4,684	0,030	5,104	1,166	22,337
	Ala/Ala	0,154	0,815	0,036	0,850	1,167	0,236	5,760
Чоловіки	Thr/Ala	0,469	0,471	0,994	0,319	1,599	0,636	4,021
	Ala/Ala	0,034	0,775	0,002	0,965	1,034	0,226	4,728

Примітка: табл. 4.3

Аналіз за фактом куріння. Розподіл генотипів за поліморфізмом T-138C, G-7A і Thr83Ala гена MGP у курців і тих, що не курять, істотно не відрізнявся в основній і контрольній групах (табл. 4.6) У контрольній і в основній групах відмінностей у розподілі генотипів між курцями і тими, що не курять, не виявлено. Співвідношення між курцями і тими, що не курять, у хворих з ІАТІ і в контролі статистично відрізнялось у групах, виділених за ознакою генотипу пацієнтів.

Таким чином, можна стверджувати, що факт куріння істотним чином не впливає на асоціацію Thr83Ala поліморфізму гена MGP з ІАТІ.

Аналіз за наявністю цукрового діабету. Визначення концентрації глюкози натще у хворих з ГКС показало, що рівень глюкози крові не залежав від поліморфізмів, що вивчалися. У пацієнтів з ішемічним атеротромботичним інсультом не виявлено зв'язку між поліморфними варіантами гена MGP і цукровим діабетом. На відсутність такої залежності не впливали стать, ІМТ, наявність артеріальної гіпертензії, дисліпопротеїнемії атерогенного характеру і ознак гіперкоагуляції крові.

Таблиця 4.6 – Частота генотипів за поліморфізмами T-138C, G-7A, Thr83Ala гена MGP у курців і тих, хто не курять у контрольній групі і у хворих з ІАТІ

Генотип	Ті, що не курять (n)		Курці (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
T-138C				
T/T	101	40	38	30
T/C	63	21	21	18
C/C	10	3	1	6
	$P_1=0,816$		$P_1=0,101$	
	$P_2=0,405, P_3=0,402, P_4=0,024, P_5=0,019, P_6=0,007$			
G-7A				
G/G	89	24	29	25
G/A	73	29	30	25
A/A	12	11	1	4
	$P_1=0,029$		$P_1=0,326$	
	$P_2=0,232, P_3=0,252, P_4=0,001, P_5=0,032, P_6=1,191$			
Thr83Ala				
Thr/Thr	68	26	23	25
Thr/Ala	86	28	30	22
Ala/Ala	20	10	7	7
	$P_1=0,614$		$P_1=0,606$	
	$P_2=0,995, P_3=0,809, P_4=0,004, P_5=0,021, P_6=0,290$			

Примітка : n – кількість осіб, P_1 – значимість відмінностей у розподілі генотипів між контролем і ІАТІ, P_2 – значимість відмінностей у розподілі генотипів у курців і тих, хто не курять у контролі, P_3 – значимість відмінностей у розподілі генотипів у курців і тих, хто не курять у групах з ІАТІ, P_4 - значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не курять серед гомозигот за основним алелем у контрольній групі і групі з ІАТІ, P_5 - значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не курять серед гетерозигот у контрольній групі і групі з ІАТІ, P_6 - значимість відмінностей у частоті осіб-курців і тих, хто не курять серед гомозигот за мінорним алелем у контрольній групі і групі з ІАТІ.

4.3 Розподіл алельних варіантів VDR-гена у хворих на ІАТІ

У проведених нами дослідженнях вивчено розподіл поліморфних варіантів FokI, BsmI, ApaI, TaqI гену VDR у хворих з ішемічним атеротромботичним інсультом.

Частоту трьох можливих варіантів генотипу за вивченими поліморфізмами, а також перевірку відповідності розподілу основного і мінорного алелів рівновазі Харді-Вайнберга подано в табл. 4.7.

Аналіз частоти генотипів показав, що за поліморфізмами FokI, BsmI, ApaI, TaqI різниці у розподілі алельних варіантів гену між хворими з ІАТІ і практично здоровими особами не існує ($P > 0,05$).

Таблиця 4.7 – Частота алельних варіантів і алелів поліморфізмів гену VDR у контрольній групі і у хворих з ІАТІ

Генотип	Контрольна група, n (%)	Хворі з ІАТІ, n (%)
FokI		
Гомозиготи <i>F/F</i> , n (%)	34 (27,4)	40 (23,5)
Гетерозиготи <i>F/f</i> , n (%)	60 (48,4)	91 (53,5)
Гомозиготи <i>f/f</i> , n (%)	30 (24,2)	39 (22,9)
<i>F</i> -алель	0,52	0,5
<i>f</i> -алель	0,48	0,5
	0,12	0,85
	> 0,05	> 0,05
BsmI		
Гомозиготи <i>b/b</i> , n (%)	57 (46)	71 (41,8)
Гетерозиготи <i>b/B</i> , n (%)	52 (41,9)	74 (43,5)
Гомозиготи <i>B/B</i> , n (%)	15 (12,1)	25 (14,7)
<i>b</i> -алель	0,67	0,64
<i>B</i> -алель	0,33	0,36
	0,34	0,62
	> 0,05	> 0,05
ApaI		
Гомозиготи <i>a/a</i> , n (%)	39 (31,5)	45 (26,5)
Гетерозиготи <i>a/A</i> , n (%)	53 (42,7)	85 (50,0)
Гомозиготи <i>A/A</i> , n (%)	32 (25,8)	40 (23,5)
<i>a</i> -алель	0,53	0,51
<i>A</i> -алель	0,47	0,49
	2,52	0
	> 0,05	> 0,05

TaqI		
Гомозиготи <i>T/T</i> , <i>n</i> (%)	54 (43,5)	68 (40,0)
Гетерозиготи <i>T/t</i> , <i>n</i> (%)	56 (45,2)	82 (48,2)
Гомозиготи <i>t/t</i> , <i>n</i> (%)	14 (11,3)	20 (11,8)
<i>T</i> -алель	0,66	0,64
<i>t</i> -алель	0,34	0,36
	0,01	0,40
	> 0,05	> 0,05

Примітка: табл. 4.1

4.4 Зв'язок алельних варіантів гена *VDR* з факторами ризику ІАТІ

Аналіз за статтю. Розподіл частот алельних варіантів за вивченими поліморфізмами *FokI*, *BsmI*, *ApaI*, *TaqI* у осіб різної статі в групах порівняння подано в табл. 4.8. Частота різних варіантів даного SNP істотно не відрізняється у хворих з ІАТІ та пацієнтів контрольної групи, якщо порівнювати окремо жінок і чоловіків. При порівнянні даних про частоту варіантів поліморфізму *FokI* у жінок і чоловіків окремо в контрольній групі і у хворих з ІАТІ одержані наступні результати. У контрольній групі було виявлено жінок з генотипом *F/F* – 20,0%, *F/f* – 48,9%, *f/f* – 31,1% ($P_1=0,507$), а чоловіків відповідно 31,6%, 48,1%, 20,3% ($P_1=0,305$) (табл. 4.8).

При порівнянні частот генотипів *BsmI* поліморфізму в основній і контрольній групах окремо у жінок і чоловіків одержані наступні результати. Серед жінок контрольної групи генотип *b/b* мали 44,4%, *b/B* – 46,7%, *B/B* – 8,9%, а серед хворих з ІАТІ відповідно 43,1%, 43,1%, 13,9%. Генотип *b/b* був виявлений у 46,8% практично здорових чоловіків, *b/B* – 39,2%, *B/B* – 13,9%, а серед хворих з ІАТІ у 40,8%, 43,9% і 15,3% відповідно. Таким чином, не виявлено статистично значимої асоціації поліморфного варіанту *BsmI* з ІАТІ в осіб жіночої ($P_1=0,715$) і чоловічої статі ($P_1=0,724$) (табл. 4.8).

Розподіл генотипів за досліджуваним SNP у жінок і чоловіків окремо представлено в табл. 3.27. Так, в осіб жіночої статі, хворих на ІАТІ, на поліморфні варіанти *a/a*, *a/A* і *A/A* припадало відповідно 25,0%, 50,0% і 25,0%, а в контрольній групі – 33,3%, 46,7% і 20,0%. Відмінності між двома групами були несуттєві ($\chi^2 =$

1,045; $P=0,593$). У чоловіків спостерігали приблизно таку ж картину: у хворих з ІАТІ зазначені вище показники дорівнювали 27,6%, 50,0% і 22,4%, а в контролі – 30,4%, 40,5% і 29,1% ($P=0,417$) (табл. 4.8).

Таблиця 4.8 – Частота генотипів за поліморфізмами FokI, BsmI, ApaI, TaqI гена VDR у жінок і чоловіків у контрольній групі і у хворих з ІАТІ

Генотип	Жінки (n)		Чоловіки (n)	
	Контроль	ГКС	Контроль	ГКС
FokI				
<i>F/F</i>	9	19	25	21
<i>F/f</i>	22	37	38	54
<i>f/f</i>	14	16	16	23
	$P_1=0,507$		$P_1=0,305$	
	$P_2=0,244, P_3=0,752, P_4=0,063, P_5=0,623, P_6=0,639$			
BsmI				
<i>b/b</i>	20	31	37	40
<i>b/B</i>	21	31	31	43
<i>B/B</i>	4	10	11	15
	$P_1=0,715$		$P_1=0,724$	
	$P_2=0,602, P_3=0,945, P_4=0,325, P_5=0,866, P_6=0,392$			
ApaI				
<i>a/a</i>	15	18	25	44
<i>a/A</i>	21	36	41	45
<i>A/A</i>	9	18	13	9
	$P_1=0,593$		$P_1=0,417$	
	$P_2=0,533, P_3=0,897, P_4=0,886, P_5=0,751, P_6=0,142$			
TaqI				
<i>T/T</i>	20	31	37	40
<i>T/t</i>	21	31	31	43
<i>t/t</i>	4	10	11	15
	$P_1=0,533$		$P_1=0,449$	
	$P_2=0,274, P_3=0,863, P_4=0,226, P_5=0,759, P_6=0,157$			

Примітка :табл.. 4.2.

При порівнянні частот генотипів в основній і контрольній групах окремо у жінок і чоловіків одержані наступні результати. Серед жінок контрольної групи генотип T/T мали 40,0%, T/t – 53,3%, t/t – 6,7%, а серед хворих з ІАТІ відповідно 41,7%, 45,8% і 12,5%. Генотип T/T був виявлений у 45,6% практично здорових чоловіків, T/t – 40,5%, t/t – 13,9%, а серед хворих з ІАТІ у 38,8%, 50,0% і 11,2 % відповідно. Таким чином, не виявлено статистично значущої асоціації поліморфного варіанту $TaqI$ з ІАТІ в осіб жіночої ($P_1=0,533$) і чоловічої статі ($P_1=0,449$) (табл. 4.8).

Порівняння отриманих даних свідчить про відсутність статистично значущих відмінностей у розподілі алельних варіантів поліморфізмів між особами жіночої і чоловічої статі у контрольній групі і у групі хворих з ІАТІ. Слід зазначити, що у пацієнтів за трьома різними генотипами відмінності між співвідношенням статей у контрольній і основній групах не були статистично значущими (табл. 4.8).

Аналіз за антропометричними даними. Порівняння показників зросту, маси тіла та ІМТ у осіб жіночої і чоловічої статі залежно від генотипу пацієнтів за поліморфним варіантом $FokI$ 2-го екзона гена VDR показало певні істотні відмінності антропометричних даних. Так, у хворих на ІАТІ жінок за всіма трьома генотипами (F/F , F/f і f/f) зріст, а з генотипом F/f і маса тіла були значно більшими, ніж у жінок контрольної групи з відповідним генотипом. Такі відмінності, однак, не впливали на ІМТ, що можна було пояснити пропорційністю відхилень показників зросту і маси тіла. Порівняння маси тіла у жінок-гомозигот за F - і f -алелями (F/F , f/f) не виявило істотних відмінностей між контрольною групою і групою з ІАТІ. У чоловіків з варіантами генотипу F/f і f/f зріст був значно більшим у хворих з ІАТІ ніж у групі контролю. Значущих відмінностей у масі тіла між групами порівняння не спостерігалось. Однак ці відмінності не впливали на ІМТ, що пояснюється пропорційністю відхилень показників зросту і маси тіла, як це спостерігалось і у жінок. (додаток 4). Хворі як жіночої, так чоловічої статі за всіма генотипами, крім чоловіків-гомозигот за B -алелем, мають достовірно вищі, ніж у контролі, показники зросту. За масою тіла достовірну значущість спостерігаємо у жінок носіїв b -алеля (b/b і b/B) і гетерозиготних чоловіків між групами з ІАТІ і контролем (додаток 5). З

додатку 6 впливає, що в групі жінок, хворих на ІАТІ, середнє значення ІМТ у гетерозигот менше ніж у гомозигот за *a*- і *A*-алелями, а отже, залежать від даного поліморфного варіанту. Середні показники зросту і маси тіла як у здорових жінок і чоловіків, так і у хворих з ІАТІ, не відрізнялися між генотипами за поліморфним варіантом *ApaI*. Що стосується порівняння пацієнтів контрольної і основної групи за цими характеристиками, то у гетерозиготних жінок і чоловіків зріст і маса, а у чоловіків-гомозигот за *a*-алелем тільки зріст тіла були істотно вищими у хворих на інсульт, ніж у відносно здорових осіб.

Хворі як жіночої, так чоловічої статі, що є гетерозиготами, мають достовірно вищі, ніж у контролі, показники зросту і маси тіла. Таку ж само картину спостерігаємо і в жінок-гомозигот за *T*-алелем, а у гомозиготних чоловіків з ІАТІ за *T*-алелем (*T/T*) тільки показник зросту є вищим, ніж у відповідному контролі (додаток 7).

Поділ кожної з двох груп – дослідної і контрольної – на дві підгрупи залежно від величини ІМТ ($< 25 \text{ кг/м}^2$ і $\geq 25 \text{ кг/м}^2$) дав можливість проаналізувати вплив поліморфних варіантів *FokI*, *BsmI*, *ApaI*, *TaqI* гена *VDR* на розвиток ІАТІ в осіб з нормальним і підвищеним рівнем цього показника. Як впливає з табл. 4.9, ні серед пацієнтів з нормальним ІМТ, ні в осіб із підвищеним показником не виявлено жодного зв'язку між генотипом і виникненням ІАТІ. Як у хворих з ІАТІ, так і в осіб контрольної групи не було залежності між досліджуваними SNP і рівнем ІМТ.

При порівнянні даних частот варіантів поліморфних варіантів *FokI*, *BsmI*, *ApaI*, *TaqI* у осіб, що мають різне значення ІМТ, окремо в контрольній групі і у хворих з ІАТІ свідчать про відсутність статистично значущих відмінностей серед пацієнтів з ІАТІ, що мають різне значення ІМТ (табл. 4.9).

Не було відмінностей у частоті осіб з нормальним і збільшеним ІМТ в основній і контрольній групах, поділених на підгрупи за поліморфними варіантами гена *VDR* (табл. 4.9).

Таблиця 4.9 – Частота генотипів за поліморфізмами *FokI*, *BsmI*, *ApaI*, *TaqI* гена *VDR* у контрольній групі і у хворих з ІАТІ залежно від ІМТ

Генотип	ІМТ<25кг/м ² (n)		ІМТ≥25кг/м ² (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
FokI				
<i>F/F</i>	10	10	23	30
<i>F/f</i>	18	22	42	69
<i>f/f</i>	10	9	20	30
	P ₁ =0,844		P ₁ =0,793	
	P ₂ =0,946, P ₃ =0,980, P ₄ =0,613, P ₅ =0,427, P ₆ =0,344			
BsmI				
<i>b/b</i>	17	17	40	54
<i>b/B</i>	18	16	34	58
<i>B/B</i>	3	8	11	17
	P ₁ =0,280		P ₁ =0,737	
	P ₂ =0,620, P ₃ =0,576, P ₄ =0,454, P ₅ =0,106, P ₆ =0,482			
ApaI				
<i>a/a</i>	10	13	29	32
<i>a/A</i>	18	19	34	66
<i>A/A</i>	10	9	22	31
	P ₁ =0,836		P ₁ =0,224	
	P ₂ =0,656, P ₃ =0,683, P ₄ =0,739, P ₅ =0,117, P ₆ =0,403			
TaqI				
<i>T/T</i>	16	19	38	49
<i>T/t</i>	18	17	37	65
<i>t/t</i>	4	5	10	15
	P ₁ =0,868		P ₁ =0,584	
	P ₂ =0,922, P ₃ =0,587, P ₄ =0,838, P ₅ =0,115, P ₆ =0,816			

Примітка : див. табл. 4.4

Таким чином, можна зробити висновок, що показник ІМТ не впливає на асоціацію між поліморфними варіантами гена *VDR* та атеротромботичним варіантом ішемічного інсульту.

Аналіз за показниками артеріального тиску. При поділі пацієнтів на тих, що мають нормальний АТ, і тих, у кого виявлено артеріальну гіпертензію (САТ > 140 мм рт. ст., ДАТ > 90 мм рт. ст.), порівняння частот досліджуваних генотипів дало такі результати (табл. 4.10).

Таблиця 4.10 – Частота генотипів за поліморфізмами FokI, BsmI, ApaI, TaqI гена VDR у контрольній групі і у хворих з ІАТІ залежно від величини АТ

Генотип	Нормальний АТ (n)		Підвищений АТ (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
FokI				
<i>F/F</i>	16	6	17	34
<i>F/f</i>	19	23	39	68
<i>f/f</i>	13	13	17	26
	P ₁ =0,103		P ₁ =0,823	
	P ₂ =0,302, P ₃ =0,165, P ₄ =0,002, P ₅ =0,322, P ₆ =0,395			
BsmI				
<i>b/b</i>	23	16	33	55
<i>b/B</i>	19	19	32	55
<i>B/B</i>	6	7	8	18
	P ₁ =0,626		P ₁ =0,816	
	P ₂ =0,892, P ₃ =0,834, P ₄ =0,025, P ₅ =0,167, P ₆ =0,345			
ApaI				
<i>a/a</i>	17	7	22	38
<i>a/A</i>	21	22	29	63
<i>A/A</i>	10	13	22	27
	P ₁ =0,122		P ₁ =0,290	
	P ₂ =0,519, P ₃ =0,183, P ₄ =0,005, P ₅ =0,052, P ₆ =0,910			
TaqI				
<i>T/T</i>	21	15	32	53
<i>T/t</i>	21	22	33	60
<i>t/t</i>	6	5	8	15
	P ₁ =0,699		P ₁ =0,943	
	P ₂ =0,964, P ₃ =0,796, P ₄ =0,036, P ₅ =0,139, P ₆ =0,273			

Примітка : див. табл. 4.5

Як в осіб з нормальним, так і підвищеним АТ, генотип пацієнтів за поліморфними варіантами *FokI*, *BsmI*, *ApaI*, *TaqI* гена *VDR* не впливав на їхню схильність до розвитку ІАТІ. Розподіл трьох алельних варіантів поліморфних варіантів гена *VDR* як у контрольній групі, так і у хворих з ІАТІ, не відрізнявся в пацієнтів з артеріальною гіпертензією і в осіб з нормальним АТ.

При аналізі груп пацієнтів, утворених з урахуванням генотипу за поліморфним варіантом *FokI* гена *VDR* (*F/F*, *F/f*, *f/f*), були отримані наступні дані. Серед носіїв генотипу *F/F* в контрольній групі було 48,5% осіб з нормальним АТ і 51,5% осіб з підвищеним, а у групі хворих з ІАТІ відповідно 15% і 85%. Статистичний аналіз наведених даних вказує на те, що у гомозигот *F/F* існує статистично значуща залежність між рівнем АТ і ймовірністю розвитку ІАТІ: в осіб з артеріальною гіпертензією ІАТІ виявлявся частіше, ніж у пацієнтів з нормальним АТ ($P_4=0,002$).

Застосування методу логістичної регресії дало можливість установити, що ризик виникнення ІАТІ в осіб з нормальним артеріальним тиском і генотипом *F/f* у 3,2 рази вищий, ніж у нормотензивних гомозигот за *F*-алелем (табл. 4.11).

Таблиця 4.11 – Аналіз ризику ІАТІ залежно від генотипу за *FokI* поліморфізмом гена *VDR* в осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском

Артеріальний тиск	Генотип	CR	SE	WS	P	OR	95% CI Нижній	95% CI верхній
Нормальний АТ	<i>F/f</i>	1,172	0,570	4,222	0,040	3,228	1,056	9,872
	<i>f/f</i>	0,981	0,619	2,512	0,113	2,667	0,793	8,969
Артеріальна гіпертензія	<i>F/f</i>	0,137	0,359	0,146	0,702	0,872	0,432	1,761
	<i>f/f</i>	0,268	0,431	0,388	0,533	0,765	0,329	1,779

Примітка: див. табл. 4.3.

Інформативним виявилось вивчення частот осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за *BsmI*

SNP гена *VDR*. Так, серед носіїв генотипу *b/b* в контрольній групі виявлено 41,1% осіб з нормальним тиском і 58,9% з підвищеним, а у групі хворих з ІАТІ відповідно 22,5% і 77,5%. Статистичний аналіз отриманих даних виявив, що серед носіїв генотипу *b/b* хворі з ІАТІ мають достовірно вищу частоту артеріальної гіпертензії, ніж пацієнти контрольної групи ($P_4=0,025$). При аналізі груп пацієнтів, утворених з урахуванням генотипу за поліморфним варіантом *ApaI* гена *VDR* (*a/a*, *a/A*, *A/A*), отримані наступні дані. Серед носіїв генотипу *a/a* в контрольній групі було 43,6% осіб з нормальним і 56,4% осіб з підвищеним АТ, а у групі хворих з ІАТІ відповідно 15,6% і 84,4%. Статистичний аналіз наведених даних вказує на те, що у гомозигот *a/a* існує статистично значуща залежність між рівнем АТ і ймовірністю розвитку ІАТІ: в осіб з артеріальною гіпертензією ІАТІ виявлявся частіше, ніж у пацієнтів з нормальним АТ ($P_4=0,005$). Серед осіб з генотипом *a/A* у контролі було 42,0% осіб з нормальним АТ і 58,0% з підвищеним АТ, а у групі пацієнтів з ІАТІ їхня кількість становила відповідно 25,9% і 74,1%. Тому, частота осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском з генотипом *a/A* у групах порівняння є статистично достовірною. ($P_5=0,052$). Інформативним виявилось вивчення частот осіб з нормальним і підвищеним артеріальним тиском у групах порівняння залежно від варіантів генотипу за поліморфним варіантом *TaqI* гена *VDR*. Так, серед носіїв генотипу *T/T* у контрольній групі виявлено 39,6% осіб з нормальним тиском і 60,4% з підвищеним, а у групі хворих з ІАТІ відповідно 22,1% і 77,9%. Статистичний аналіз отриманих даних виявив, що серед носіїв генотипу *T/T* хворі з ІАТІ мають достовірно значущу частоту артеріальної гіпертензії, ніж пацієнти контрольної групи ($P_4=0,036$) (табл. 4.10).

Аналіз за фактом куріння. Розподіл генотипів за поліморфізмами *FokI*, *BsmI*, *ApaI*, *TaqI* гена *VDR* у курців і тих, що не курять, істотно не відрізнявся в основній і контрольній групах (табл. 4.12) У контрольній і в основній групах відмінностей у розподілі генотипів між курцями і тими, що не курять, не виявлено. Співвідношення між курцями і тими, що не курять, у хворих з ІАТІ і в контролі статистично не відрізнялось у групах, виділених за ознакою генотипу пацієнтів.

Таблиця 4.12 – Частота генотипів за поліморфізмами FokI, BsmI, ApaI, TaqI гена VDR у курців і тих, хто не курять у контрольній групі і у хворих з ІАТІ

Генотип	Ті, що не курять (n)		Курці (n)	
	Контроль	ІАТІ	Контроль	ІАТІ
FokI				
<i>F/F</i>	26	32	8	8
<i>F/f</i>	43	65	17	26
<i>f/f</i>	24	23	6	16
	P ₁ =0,421		P ₁ =0,352	
	P ₂ =0,672 P ₃ =0,118, P ₄ =0,713, P ₅ =0,975, P ₆ =0,063			
BsmI				
<i>b/b</i>	42	52	15	19
<i>b/B</i>	71	53	11	21
<i>B/B</i>	10	15	5	10
	P ₁ =0,916		P ₁ =0,653	
	P ₂ =0,601, P ₃ =0,443, P ₄ =0,955, P ₅ =0,359, P ₆ =0,673			
ApaI				
<i>a/a</i>	30	33	9	12
<i>a/A</i>	40	59	13	26
<i>A/A</i>	23	28	9	12
	P ₁ =0,647		P ₁ =0,678	
	P ₂ =0,883, P ₃ =0,893, P ₄ =0,705, P ₅ =0,442, P ₆ =0,862			
TaqI				
<i>T/T</i>	40	51	14	17
<i>T/t</i>	45	56	11	26
<i>t/t</i>	8	13	6	7
	P ₁ =0,861		P ₁ =0,349	
	P ₂ =0,196, P ₃ =0,564, P ₄ =0,907, P ₅ =0,116, P ₆ =0,643			

Примітка : див. табл. 4.6.

Таким чином, можна стверджувати, що факт куріння істотним чином не впливає на асоціацію FokI, BsmI, ApaI, TaqI поліморфізмів гена VDR з ІАТІ.

Аналіз за наявністю цукрового діабету. Визначення концентрації глюкози натще у хворих з ІАТІ показало, що рівень глюкози крові не залежав від поліморфізмів, що вивчалися. У пацієнтів з ішемічним атеротромботичним інсультом не виявлено зв'язку між поліморфними варіантами гена VDR і цукровим діабетом. На відсутність такої залежності не впливали стать, ІМТ, наявність артеріальної гіпертензії, дисліпопротеїнемії атерогенного характеру і ознак гіперкоагуляції крові.

ВИСНОВКИ

1. Уперше на сучасному методичному рівні отримана інформація про розподіл різних поліморфних варіантів генів MGP і VDR у хворих на ішемічний атеротромботичний інсульт і практично здорових представників української популяції.

2. Існує зв'язок між поліморфізмом G-7A початкової ділянки промотора гена MGP з розвитком ІАТІ в осіб жіночої (а не чоловічої) статі. Жінки, гомозиготні за мінорним алелем (A/A), мають ризик ІАТІ у 6,6 раза вищий, ніж носії основного алеля (G/A + G/G).

3. У групі хворих з ІАТІ, на відміну від контрольної групи, виявлено істотні відмінності в розподілі генотипів за поліморфізмом G-7A між особами жіночої і чоловічої статі. У жінок відсоток гомозигот за основним алелем нижчий, а за мінорним алелем – вищий, ніж у чоловіків.

4. Серед осіб з нормальним, а не підвищеним, артеріальним тиском існує зв'язок між генотипом за G-7A поліморфізмом гена MGP і розвитком ІАТІ. У гомозигот за мінорним алелем ризик ІАТІ більш ніж у 6 разів вищий, ніж у гомозигот за основним алелем.

5. Серед осіб, що не курять, на відміну від курців, існує зв'язок між генотипом за G-7A поліморфізмом гена MGP і розвитком ІАТІ. У гомозигот за мінорним алелем ризик ІАТІ майже у 3 рази вищий, ніж у гомозигот за основним алелем.

6. Встановлено, що в осіб з генотипами *F/F*, *b/b*, *a/a*, *a/A*, і *T/T* поліморфних варіантів *FokI*, *BsmI*, *ApaI*, *TaqI* існує асоціація між наявністю артеріальної гіпертензії та розвитком ішемічного атеротромботичного інсульту.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Harding R.M. Human Genome Diversity Project. / R.M. Harding, A. Sajantila // Nature Genet.- 1998. - V.18. - P. 307-308.
2. Brown P.O. Genomics and human disease--variations on variation. / P.O. Brown, L. Hartwell // Nature Genet.- 1998.- V.18. - P.91-93.
3. Cooper R. Race and Genomics. / R Cooper, J. Kaufman, R. Ward // New England Journal of Medicine. - 2003. - 348 (12) - P.1166-1169.
4. Lohmueller K.E. Metaanalysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease / K.E. Lohmueller, C.L. Pearce, M. Pike, E.S. Lander, J.N. Hirschhorn // Nat Genet. 2003. - 33. - P. 177-182.
5. Price P.A. Warfarin causes rapid calcification of the elastic lamellae in rat arteries and heart valves / P.A. Price, S.A. Faus, M.K. Williamson // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.- 1998.- V.18.- P. 1400 –1407.
6. Role of vitamin D levels and vitamin D receptor polymorphisms in relation to coronary artery disease: the Indian atherosclerosis research study. / J. Shanker, A. Maitra, P. Arvind, et al. // Artery Dis. – 2011. – V. 22(5). –P. 324-332.
7. Vitamin D receptor signaling inhibits atherosclerosis in mice. / F.L. Szeto, C.A. Reardon, D. Yoon, et al. // Mol Endocrinol. – 2012. – V. 26(7). –P. 1091-1101.
8. Norman P.E. Vitamin D, shedding light on the development of disease in peripheral arteries / P.E. Norman, J.T. Powell // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.- 2005.- V.25.- P. 39-46.
9. Price P.A. Warfarin-induced artery calcification is accelerated by growth and vitamin D / P.A. Price, S.A. Faus, M.K. Williamson // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.- 2000.- V.20.- P. 317-327.
10. The vitamin D receptor genotype predisposes to the development of calcific aortic valve stenosis. / J.R. Orllepp, R. Hoffmann, F. Ohme, et al. // Heart. – 2001. – Vol. 85(6). – P. 635–638.

11. Price P.A. Primary structure of bovine matrix Gla protein, a new vitamin K-dependent bone protein / P.A. Price, M.K. Williamson // *J. Biol. Chem.*— 1985.— V. 260.— P. 14971-14975.
12. Bostrom K. Bone morphogenetic expression in human atherosclerotic lesions / K. Bostrom, K.E. Watson, S. Horn, C. Wortham, I.M. Herman, L.L. Demer // *J. Clin. Invest.*— 1993.— V.91.— P. 1800-1809.
13. Proudfoot D. Molecular mechanisms mediating vascular calcification: role of matrix Gla protein / D. Proudfoot, C.M. Shanahan // *Nephrology (Carlton)*.— 2006.— V.11.— P. 455-461.
14. Fraser J.D. Induction of matrix Gla protein synthesis during prolonged 1,25-dihydroxyvitamin D₃ treatment of osteosarcoma cells / J.D. Fraser, P.A. Price // *Calcif. Tissue Int.*— 1990.— V. 46.— P. 270-279.
15. Cancela L. Molecular structure, chromosome assignment, and promoter organization of the human matrix Gla protein gene / L. Cancela, C.L. Hsieh, U. Francket, P.A. Price // *J. Biol. Chem.*— 1990.— V. 265.— P. 15040-15048.
16. Proudfoot D. Apoptosis regulates human vascular calcification in vitro. Evidence for initiation of vascular calcification by apoptotic bodies / D. Proudfoot, J.N. Skepper, L. Hegyi, M.R. Bennett, C.M. Shanahan, L. Peter, P.L. Weissberg // *Circ. Res.*— 2000.— V.87.— P. 1055-1062.
17. Herrmann S.M. Polymorphisms of the human matrix Gla protein (MGP) gene, vascular calcification, and myocardial infarction / S.M. Herrmann, C. Whatling, E. Brand, V. Nikaud, J. Gariépy, A. Simon, A. Evans, L.B. Ruidavets, D. Arveiler, G. Luc, L. Tiret, A. Henney, F. Cambien // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*— 2000.— 20.— P. 2386-2393.
18. Farzaneh-Far A. 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 / A. Farzaneh-Far, J.D. Davies, L.A. Braam, H.M. Spronk, D. Proudfoot, S.W. Chan, K.M. O'Shaughnessy, P.L. Weissberg, C. Vermeer, C.M. Shanahan // *J. Biol. Chem.*—

- 2001.– 276.– P. 32466–32473.
- 19.Haussler M.R., The association of a metabolite of vitamin D₃ with intestinal mucosa chromatin, in vivo. / M.R. Haussler, J.F. Myrtle, A.W. Norman // *J Biol Chem.* – 1968. – Vol. 243. – P. 4055–4064.
- 20.Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. / A.R. Baker, D.P. McDonnell, M. Hughes, T.M. Crisp, et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1988. – Vol. 85. – P. 3294–3298.
- 21.Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. / K. Miyamoto, R.A. Kesterson, H. Yamamoto, Y. Taketani, et al. // *Mol. Endocrinol.* – 1997. – Vol.11. – P. 1165–1179.
- 22.Pike J. W. Vitamin D / J. W. Pike, H. F. Glorieux , D. Feldman. // Academic Press. – 2004. – 2 edition, vol. 1 – 944 pages.
- 23.Sutton A.L. Vitamin D: more than a “bone-a-fide” hormone. / A.L. Sutton, P.N. MacDonald // *Mol Endocrinol.* – 2003. – Vol. 17. – P. 777–791.
- 24.Norman P.E. Vitamin D, shedding light on the development of disease in peripheral arteries / P.E. Norman, J.T. Powell // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*- 2005.- V.25.- P. 39-46.
- 25.Dimerization with retinoid X receptor promotes nuclear localization and subnuclear targeting of vitamin D receptor. / K. Prufer, A. Racz, G.C. Lin, et al. // *J Biol Chem.* – 2000. – Vol. 275. – P. 41114–41123.
- 26.Two hereditary defects related to vitamin D metabolism map to the same region of human chromosome 12q13– 14. / M. Labuda, T.M. Fujiwara, M.V. Ross, et al. // *J. Bone Miner. Res.* – 1992. – Vol. 7. – P. 1447– 1453.
- 27.Bid H. K. Study of vitamin-D receptor (VDR) gene start codon polymorphism (Fok I) in healthy individuals from North India / H.K. Bid, R.D. Mittal // *Indian J of Human Genetic.* – 2003. – Volume 9, Issue 2. – P. 51-54.
- 28.At least three promoters direct expression of the mouse glucocorticoid receptor gene. / U. Strahle, A. Schmidt, G. Kelsy, et al. // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 1992. – Vol. 89. – P. 6731–6735.

29. Association of low bone mass with vitamin D receptor gene and calcitonin receptor gene polymorphisms in juvenile idiopathic arthritis. / L. Masi, R. Cimaz, G. Simonini, et al. // *J Rheumatol.* – 2002. – Vol. 29(10). – P. 2225–2231.
30. Associations Between Polymorphisms in the Vitamin D Receptor and Breast Cancer Risk / W.Y. Chen, E.R. Bertone-Johnson, D.J. Hunter, et al. // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2005. – V. 14. – P.2335-2339.
31. Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and the risk of calcium nephrolithiasis in children. / O. Ozkaya, O. Soylemezoglu, M. Misirlioglu, et al. // *Eur Urol.* – 2003. – Vol. 44(1). – P.150–154.
32. A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. / H. Arai, K.I. Miyamoto, Y. Taketani, et al. // *J Bone Miner Res.* – 1997. – Vol. 12(6). – P. 915–921.
33. Association between vitamin D receptor FokI. Polymorphism and serum parathyroid hormone level in patients with chronic renal failure. / G.E. Vigo, C. Cadarso-Suarez, R. Perez-Fernandez, et al. // *J Endocrinol Invest.* – 2005. – Vol. 28(2). – P. 117–121.
34. Association of gene polymorphisms and bone density in Japanese girls. / Y. Katsumata, K. Nishizawa, A. Unno, et al. // *J Bone Miner Metab.* – 2002. – Vol. 20(3). – P. 164–169.
35. Bid H.K. Association of vitamin-D and calcitonin receptor gene polymorphism in paediatric nephrolithiasis. / H.K. Bid, H. Chaudhary, R.D. Mittal // *Pediatr Nephrol* – 2005. – Vol. 20(6). – P. 773–776.
36. FokI polymorphism at translation initiation site of the vitamin D receptor gene predicts bone mineral density and vertebral fractures in postmenopausal Italian women. / L. Gennari, L. Becherini, R. Mansani, et al. // *J Bone Miner Res.* – 1999. – Vol. 14(8). – P. 1379–1386.
37. Large-Scale Population-Based Study Shows No Evidence of Association Between Common Polymorphism of the *VDR* Gene and BMD in British Women / H.M.

- Macdonald, F. E. McGuigan, A. Stewart, A.J. Black, et al. // *Journal of Bone and Mineral Research*. – 2006. – V. 21. N. 1. – P. 151–162.
38. Vitamin D receptor gene polymorphisms and haplotypes and postmenopausal breast cancer risk / S. Abbas, A. Nieters, J. Linseisen, T. Slinger et al. // *Breast Cancer Research* – 2008. – Vol. 10. – N. 2.
<http://breast-cancer-research.com/content/10/2/R31>
39. Vitamin D receptor start codon polymorphism (Fok I) and bone mineral density in Chinese men and women. / E.M.C. Lau, V. Lam, M. Li, et al. // *Osteoporos Int*. – 2002. – Vol. 13(3). – P. 218–221.
40. Vitamin D receptor start codon polymorphism (FokI) and prostate cancer progression. / Y. Xu, A. Shibata, J.E. Mcneal, et al. // *Cancer Epidemiol Biomark Prev*. – 2003. – Vol. 12(1). – P. 23–27.
41. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles / N.A. Morrison, J.C. Qi, A. Tokita, P.J. Kelly, et al. // *Nature*. – 1994. – V. 367. – P. 284–287.
42. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms, falls, balance and muscle power: results from two independent studies (APOSS and OPUS) / R. Barr, H. Macdonald, A. Stewart, et al. // *Osteoporos. Int*. – 2009.
43. BB genotype of the vitamin D receptor gene polymorphism postpones parathyroidectomy in hemodialysis patients. / M. Borrás, V. Torregrossa, A. Oliveras, et al. // *J Nephrol*. – 2003. – Vol. 16(1). – P. 116–120.
44. Association analysis of the polymorphisms of the VDR gene with bone mineral density and the occurrence of fractures. / W. Horst-Sikorska, R. Kalak, A. Wawrzyniak, et al. // *J Bone Miner Metab*. – 2007. – Vol. 25(5). – P. 310-319.
45. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and tubular citrate handling in calcium nephrolithiasis. / G. Mossetti, P. Vuotto, D. Rendina, et al. // *J Intern Med*. – 2003. – Vol. 253(2). – P.194–200.
46. Characterization of a response element in the 5'-flanking region of the avian (chicken) PTH gene that mediates negative regulation of gene transcription by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and binds the vitamin D₃ receptor. / S.M. Liu N.,

- Koszewski, M. Lupez, et al. // *Mol Endocrinol.* – 1996. – Vol. 10. – P. 206–215.
47. Meta-analysis of molecular association studies: vitamin D receptor gene polymorphisms and BMD as a case study. / A. Thakkinstian, C. D'Este, J. Eisman, et al. // *J Bone Miner Res.* – 2004. – Vol. 19(3). – P. 419–428.
48. Association of the vitamin D receptor genotype with bone metastases in breast cancer patients. / T. Schondorf, C. Eisberg, G. Wassmer, et al. // *Oncology.* – 2003. – Vol. 64(2). – P. 154–159.
49. Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and the risk of calcium nephrolithiasis in children. / O. Ozkaya, O. Soylemezoglu, M. Misirlioglu, et al. // *Eur Urol.* – 2003. – Vol. 44(1). – P. 150–154.
50. Apa I polymorphism in the vitamin D receptor gene may affect the parathyroid response in Japanese with end-stage renal disease. / K. Yokoyama, T. Shigematsu, T. Tsukada, et al. // *Kidney Int.* – 1998. – Vol. 53(2). – P. 454–458.
51. ApaI dimorphism at the human vitamin-D receptor gene locus. / J.H. Faraco, N.A. Morrison, A. Baker, et al. // *Nucleic Acids Res.* – 1989. – Vol. 17(5). – P. 2150.
52. Association of a vitamin D receptor polymorphism with sporadic breast cancer development. / J.E. Curran, T. Vaughan, R.A. Lea, et al. // *Int J Cancer.* – 1999. – Vol. 83(6). – P. 723–726.
53. Association of breast cancer progression with a vitamin D receptor gene polymorphism. / A.C. Lundin, P. Soderkvist, B. Eriksson, et al. // *Cancer Res.* – 1999. – Vol. 59(10). – P. 2332–2334.
54. Association of early osteoarthritis of the knee with a Taq I polymorphism of the vitamin D receptor gene. / R.W. Keen, D.J. Hart, J.S. Lanchbury, et al. // *Arthritis Rheum.* – 1997. – Vol. 40(8). – P. 1444–1449.
55. Association of prostate cancer with vitamin D receptor gene polymorphism. / J.A. Taylor, A. Hirvonen, M. Watson et al. // *Cancer Res.* – 1996. – Vol. 56(18). – P. 4108–4110.
56. Association of vitamin D receptor gene polymorphism with renal cell carcinoma in Japanese. / T. Ikuyama, T. Hamasaki, H. Inatomi, et al. // *Endocr J.* – 2002. – Vol.

- 49(4). – P. 433–438.
57. Association of vitamin D receptor gene polymorphism with urolithiasis. / S. Nishijima, K. Sugaya, A. Naito, M. Morozumi, et al. // *J Urol.* – 2002. – Vol. 167(5). – P. 2188–2191.
58. Ye W.Z., Identification of a novel Tru9 I polymorphism in the human vitamin D receptor gene / W.Z. Ye, A.F. Reis, G. Velho // *J Hum Genet.* – 2000. – V. 45(1). – P. 56–7.
59. The polymorphism in the caudal-related homeodomain protein Cdx-2 binding element in the human vitamin D receptor gene. / H. Arai, K.I. Miyamoto, M. Yoshida, et al. // *J Bone Miner Res.* – 2001. – Vol. 16 (7). – P. 1256–1264.
60. The polymorphisms of the VDR cdx-2 influence bone mineral density (BMD) in postmenopausal women. / J.M. Quesada-Gomez, A. Casado, R. Cuenca-Acevedo, et al. // *J Bone Miner Res.* – 2004. – Vol. 19. – P. S250.
61. Association of prostate cancer risk with genetic polymorphisms in vitamin D receptor and androgen receptor. / S.A. Ingles, R.K. Ross, M.C. Yu, et al. // *J Natl Cancer Inst.* – 1997. – Vol. 89(2). – P. 166–170.
62. Vitamin D receptor gene polymorphisms and breast cancer risk. / M. Guy, L.C. Lowe, D. Bretherton-Watt, et al. // *Clin Cancer Res.* – 2004. – Vol. 10 (16). – P. 5472–5481.
63. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. / A.G. Uitterlinden, Y. Fang, J.B. Van Meurs, et al. // *Gene.* – 2004. – Vol. 338(2). – P. 143–156.
64. Adams H.P. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment / H.P. Adams, B.H. Bendixen, L.J. Kappelle, J. Biller, et al. // *Stroke.* – 1993. – V. 24. – P. 35-41.

Додаток 1

Таблиця 1 – Показники зросту, маси тіла та індексу маси тіла (ІМТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за T-138С поліморфізмом гена MGP (M±m)

Показники		T/T	T/C	C/C	F	P ₁
Жінки						
Зріст, см	Контроль	156,3± 1,99 (25)	155,4± 1,4 (18)	(1)	0,224	0,800
	IAT1	163,9± 0,83 (46)	162,8± 1,04 (18)	164,0± 2,53 (8)	0,264	0,769
	P ₂	<0,001	<0,001			
Маса тіла, кг	Контроль	72,0± 2,67	67,2± 2,22		1,301	0,283
	IAT1	77,9± 1,92	78,0± 2,75	75,1± 2,32	0,188	0,829
	P ₂	0,078	0,004			
ІМТ, кг/м ²	Контроль	29,7± 1,19	27,8± 0,77		1,467	0,242
	IAT1	29,1± 0,74	29,4± 0,93	28,0± 1,17	0,238	0,789
	P ₂	0,652	0,186			
Чоловіки						
Зріст, см	Контроль	167,5± 1,31 (49)	166,9± 1,62 (25)	166,2± 1,32 (5)	0,086	0,917
	IAT1	172,8± 1,00 (58)	173,4± 1,22 (5)	169,8± 3,31 (5)	0,518	0,597
	P ₂	0,002	0,002	0,342		
Маса тіла, кг	Контроль	78,2± 2,55	72,0± 2,24	69,4± 1,83	1,738	0,183
	IAT1	83,0± 1,93	82,2± 1,86	81,0± 3,85	0,074	0,929
	P ₂	0,132	0,001	0,026		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	27,8± 0,77	25,9± 0,80	25,1± 0,40	1,640	0,201
	IAT1	27,8± 0,56	27,4± 0,64	28,1± 1,22	0,149	0,862
	P ₂	0,995	0,164	0,047		

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

Таблиця 2 - Показники зросту, маси тіла та індексу маси тіла (ІМТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за G-7A поліморфізмом гена MGP (M±m)

Показники		G/G	G/A	A/A	F	P ₁
Жінки						
Зріст, см	Контроль	156,3± 2,13 (18)	155,5± 1,68 (24)	160,0± 1,0 (2)	0,266	0,768
	IATГ	165,0± 1,34 (21)	163,5± 0,85 (34)	161,9± 1,35 (17)	1,640	0,201
	P ₂	0,001	<0,001	0,646		
Маса тіла, кг	Контроль	71,2± 2,96	69,1± 2,45	65,0± 6,0	0,311	0,734
	IATГ	76,8± 1,95	80,0± 2,3	73,9± 1,42	1,534	0,223
	P ₂	0,011	0,002	0,329		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	29,3± 1,29	26,8± 1,0	25,4± 2,66	0,518	0,600
	IATГ	28,3± 1,13	29,9± 0,86	28,2± 1,13	1,175	0,315
	P ₂	0,502	0,333	0,428		
Чоловіки						
Зріст, см	Контроль	167,6± 1,28 (36)	167,1± 1,54 (37)	166,2± 3,69 (6)	0,075	0,928
	IATГ	174,4± 1,02 (40)	172,4± 1,16 (49)	168,7± 2,27 (9)	2,436	0,093
	P ₂	<0,001	0,006	0,551		
Маса тіла, кг	Контроль	76,9± 2,13	76,0± 3,02	66,7± 5,2	1,110	0,335
	IATГ	82,4± 1,17	83,0± 2,36	81,4± 4,56	0,057	0,944
	P ₂	0,023	0,067	0,056		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	27,5± 0,79	27,0± 0,85	23,9± 0,96	1,404	0,252
	IATГ	27,2± 0,45	27,9± 0,68	28,6± 1,53	0,627	0,536
	P ₂	167,6± 1,28 (36)	167,1± 1,54 (37)	166,2± 3,69 (6)	0,075	0,928

Примітка: див. табл. 1

Таблиця 3 - Показники зросту, маси тіла та індексу маси тіла (ІМТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за Thr83Ala поліморфізмом гена MGP (M±m)

Показники		Thr/Thr	Thr/Ala +Ala/Ala	F	P ₁
Жінки					
Зріст, см	Контроль	157,1±1,90 (18)	155,4±1,69 (26)	0,441	0,510
	IATI	164,4±1,25 (23)	163,2±0,75 (49)	0,783	0,379
	P ₂	0,002	<0,001		
Маса тіла, кг	Контроль	72,6±2,86	67,8±1,8	1,775	0,190
	IATI	79,2±2,18	76,9±1,82	0,597	0,442
	P ₂	0,069	0,003		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	29,5±1,15	28,2±1,03	0,672	0,417
	IATI	29,4±0,84	28,9±0,69	0,167	0,684
	P ₂	0,924	0,581		
Чоловіки					
Зріст, см	Контроль	166,3±1,86 (25)	167,7±1,11 (54)	0,426	0,516
	IATI	171,6±1,18 (44)	173,9±0,96 (54)	2,279	0,134
	P ₂	0,014	<0,001		
Маса тіла, кг	Контроль	75,6±2,83	75,7±2,24	0,001	0,971
	IATI	81,4±1,63	83,6±2,02	0,717	0,399
	P ₂	0,062	0,010		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	27,2±0,75	26,9±0,73	0,051	0,822
	IATI	27,6±0,47	27,7±0,63	0,011	0,917
	P ₂	0,644	0,443		

Примітка: див. табл. 1

Таблиця 4 – Показники зросту, маси тіла та індексу маси тіла (ІМТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за *FokI* поліморфізмом гена *VDR* ($M \pm m$)

Показники		<i>F/F</i>	<i>F/f</i>	<i>f/f</i>	<i>F</i>	<i>P</i> ₁
Жінки						
Зріст, см	Контроль	153,0± 3,11 (8)	155,5± 1,50 (22)	158,7± 2,61 (14)	1,324	0,277
	IAT1	164,1± 1,08 (19)	162,9± 1,00 (37)	164,6± 1,25 (16)	0,660	0,520
	<i>P</i> ₂	<0,001	<0,001	0,043		
Маса тіла, кг	Контроль	72,0±4,90	66,8±2,00	73,1±3,75	1,414	0,255
	IAT1	77,6±2,77	78,7±2,00	75,0±3,00	0,528	0,592
	<i>P</i> ₂	0,302	<0,001	0,692		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	30,8±2,03	27,6±0,71	29,3±1,79	1,291	0,286
	IAT1	28,8±1,03	29,7±0,79	27,6±1,00	1,215	0,303
	<i>P</i> ₂	0,339	0,076	0,399		
Чоловіки						
Зріст, см	Контроль	167,2± 1,69 (25)	168,1± 1,48 (38)	165,0± 1,74 (16)	0,785	0,460
	IAT1	172,2± 1,99 (21)	172,8± 0,97 (54)	173,6± 1,44 (23)	0,197	0,821
	<i>P</i> ₂	0,060	0,007	<0,001		
Маса тіла, кг	Контроль	72,9± 3,02	76,4±2,80	78,4±3,20	0,664	0,518
	IAT1	78,8±2,38	82,7±1,97	85,9±2,36	1,645	0,198
	<i>P</i> ₂	0,143	0,061	0,061		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	26,0±0,87	26,9±0,84	28,9±1,17	1,777	0,176
	IAT1	26,5±0,66	27,7±0,58	28,6±0,88	1,452	0,239
	<i>P</i> ₂	0,659	0,420	0,836		

Примітка: див. табл. 1

Таблиця 5 – Показники зросту, маси тіла та індексу маси тіла (ІМТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за *BsmI* поліморфізмом гена *VDR* (M±m)

Показники		<i>b/b</i>	<i>b/B</i>	<i>B/B</i>	<i>F</i>	<i>P₁</i>
Жінки						
Зріст, см	Контроль	156,4± 2,32 (20)	155,9± 1,45 (21)	155,3± 3,2 (3)	0,028	0,972
	ІАТІ	164,2± 1,05 (31)	163,0± 0,95 (31)	163,8± 1,67 (10)	0,367	0,694
	<i>P</i> ₂	<0,001	<0,001	0,034		
Маса тіла, кг	Контроль	70,9±2,15	68,2±3,09	72,7±6,89	0,339	0,715
	ІАТІ	79,3±2,25	75,4±1,93	79,1±4,56	0,899	0,412
	<i>P</i> ₂	0,014	0,042	0,502		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	29,2±1,02	28,1±1,24	30,1±2,86	0,365	0,697
	ІАТІ	29,5±0,90	28,4±0,71	29,5±1,62	0,499	0,610
	<i>P</i> ₂	0,830	0,823	0,612		
Чоловіки						
Зріст, см	Контроль	167,0± 1,42 (37)	167,4± 1,71 (31)	167,7± 1,50 (11)	0,040	0,961
	ІАТІ	174,3± 1,03 (40)	171,6± 1,24 (43)	172,8± 1,99 (15)	1,308	0,275
	<i>P</i> ₂	<0,001	0,045	0,067		
Маса тіла, кг	Контроль	76,1±2,89	75,2±2,65	75,6±3,80	0,30	0,971
	ІАТІ	82,4±1,66	81,4±1,79	86,8±5,52	0,962	0,386
	<i>P</i> ₂	0,058	0,048	0,135		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	27,3±0,95	26,7±0,70	26,9±0,30	1,162	0,850
	ІАТІ	27,1±0,47	27,6±0,60	29,0±1,60	1,221	0,300
		0,847	0,333	0,279		

Примітка: див. табл. 1

Таблиця 6 – Показники зросту, маси тіла та індексу маси тіла (ІМТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за поліморфним варіантом *ApaI* гена *VDR* ($M \pm m$)

Показники		<i>a/a</i>	<i>a/A</i>	<i>A/A</i>	<i>F</i>	<i>P₁</i>
Жінки						
Зріст, см	Контроль	153,5±1,87 (15)	156,8±1,64 (20)	158,7±3,84 (9)	1,207	0,310
	IATP	163,1±1,42 (18)	163,8±0,97 (36)	163,1±1,06 (18)	0,095	0,909
	<i>P₂</i>	<0,001	<0,001	0,163		
Маса тіла, кг	Контроль	67,9±2,05	68,7±3,26	75,3±3,47	1,267	0,292
	IATP	79,1±3,0	74,6±1,6	82,2±3,34	2,707	0,074
	<i>P₂</i>	0,006	0,074	0,208		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	28,9±0,89	28,0±1,3	30,2±1,83	0,621	0,542
	IATP	29,6±1,28	27,8±0,59	30,9±1,18	3,081	0,052
	<i>P₂</i>	0,669	0,873	0,743		
Чоловіки						
Зріст, см	Контроль	165,4±1,88 (24)	167,2±1,54 (32)	169,3±1,51 (54)	1,210	0,304
	IATP	173,0±1,31 (27)	172,6±1,91 (49)	173,3±1,37 (22)	0,071	0,931
	<i>P₂</i>	0,001	0,047	0,118		
Маса тіла, кг	Контроль	75,5±4,11	76,2±2,74	75,3±2,18	0,027	0,974
	IATP	80,3±2,08	84,2±2,13	81,9±2,47	0,796	0,454
	<i>P₂</i>	0,287	0,023	0,084		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	27,5±1,28	27,1±0,82	26,3±0,72	0,405	0,668
	IATP	26,8±0,59	28,2±0,62	27,3±0,92	1,184	0,311
	<i>P₂</i>	0,609	0,281	0,435		

Примітка: див. табл. 1

Таблиця 7 – Показники зросту, маси тіла та індексу маси тіла (ІМТ) в осіб жіночої і чоловічої статі в групах порівняння залежно від варіантів генотипу за поліморфним варіантом *TaqI* гена *VDR* (M±m)

Показники		<i>T/T</i>	<i>T/t</i>	<i>t/t</i>	<i>F</i>	<i>P₁</i>
Жінки						
Зріст, см	Контроль	156,4±2,56 (18)	155,9±1,36 (23)	155,3±3,18 (3)	0,030	0,971
	ІАТІ	164,3±1,04 (30)	163,1±0,94 (33)	163,1±1,82 (9)	0,375	0,689
	<i>P₂</i>	0,002	<0,001	0,058		
Маса тіла, кг	Контроль	71,4±2,29	68,5±2,82	69,3±8,41	0,282	0,755
	ІАТІ	79,2±2,36	75,4±1,80	80,3±4,94	1,062	0,351
	<i>P₂</i>	0,032	0,035	0,290		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	29,4±1,06	28,2±1,1	28,9±3,79	0,263	0,770
	ІАТІ	29,4±0,94	28,4±0,67	30,2±1,71	0,746	0,478
	<i>P₂</i>	1,000	0,870	0,728		
Чоловіки						
Зріст, см	Контроль	167,4±1,37 (36)	167,5±1,66 (32)	165,9±2,17 (54)	0,153	0,858
	ІАТІ	174,1±1,06 (38)	172,3±1,16 (49)	171,5±2,28 (11)	0,831	0,439
	<i>P₂</i>	<0,001	0,017	0,261		
Маса тіла, кг	Контроль	76,4±2,95	75,2±2,57	74,8±3,89	0,070	0,932
	ІАТІ	81,8±1,73	82,8±2,14	84,8±3,98	0,228	0,797
	<i>P₂</i>	0,114	0,027	0,263		
ІМТ, кг/м ²	Контроль	27,3±0,98	26,7±0,68	27,2±1,31	0,151	0,860
	ІАТІ	27,0±0,51	27,8±0,62	29,0±1,57	1,212	0,302
		0,784	0,247	0,551		

Примітка: див. табл. 1