

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

К настоящему времени уже идентифицировано большое число генов цереброваскулярных заболеваний. Тем не менее, выявить конкретные полиморфные варианты генов либо генные мутации, определяющие развитие ишемического инсульта, до сих пор не удалось. Все исследования, связанные с изучением генетических факторов риска возникновения инсультов показывают, что в их развитии задействовано большое число генов, детерминирующие различные звенья патогенеза заболевания. Дальнейшее исследование функций генома, возможно, позволит выявить новые кандидатные гены предрасположенности к сосудистым заболеваниям мозга.

Ключевые слова: ишемический инсульт, кандидатные гены, генетический полиморфизм, апоптоз, полигенная наследственность.

Определение роли конкретного гена в развитии ишемического инсульта, является сложной задачей. Это связано с его взаимодействием с другими генами и факторами, а также с сопутствующими заболеваниями, такими как артериальная гипертензия, сахарный диабет, ожирение, ишемическая болезнь сердца [1]. Так, имеет место увеличение степени риска болезни, связанное с носительством одного гена в сочетании с другими генами (так называемый феномен "эффект дозы гена", "gene dosage effect"), действия которых являются синергичными в отношении риска развития ишемического инсульта [2]. Важно отметить, что существует генетическая гетерогенность ишемического инсульта или, другими словами каждому клинико-патогенетическому варианту инсульта соответствуют уникальные комбинации генов. Установлено, что риск развития ишемического инсульта увеличивается не только под влиянием полиморфизма одного гена, но и при сочетании аллелей нескольких генов, т.е. имеет место полигенная наследственная предрасположенность к тромботическим поражениям мозговых сосудов.

К настоящему времени уже идентифицировано большое число генов цереброваскулярных заболеваний. В частности, к таким генам можно отнести гены системы гемостаза, ген фибриногена, тромбоцитарного гликопротеина GP IIb/IIIa, V, VIII и XII факторов свертывания, протромбина, гены, регулирующие фибринолиз (tPA, PAI-1), гены ренин-ангиотензиновой системы, NO-синтазы, метаболизма сывороточных липидов и гомоцистеина [3].

Одним из основных пусковых механизмов патогенеза ишемической болезни мозга является нарушение функциональных свойств эндотелия, что в дальнейшем приводит к изменению тонуса сосудистой стенки и дальнейшему развитию и прогрессированию патологического процесса. Кроме того, так как важную роль в патогенезе ишемической болезни мозга могут играть изменения гемодинамики и кровяного давления, то интерес представляет изучение генов, кодирующих белки, участвующие в процессах регуляции солевого и жидкостного гомеостаза и поддержании сосудистого тонуса. Анализ литературных данных позволяют утверждать, что ангиотензин превращающий фермент (АПФ или ACE) и ангиотензиноген (AGT) являются ключевыми элементами ренин-ангиотензиновой системы (РАС) и вносят существенный вклад в развитие инсульта [4]. Ангиотензин превращающий фермент – это интегральный мембранный протеин, высвобождаемый с клеточной поверхности цинковой металлоэстеразой. У здоровых индивидуумов уровень концентрации ACE может варьировать 5-кратно. В гене ACE имеется инсерционно-делеционный полиморфизм, связанный с инсерцией (I) или делецией (D) Alu-повтора размером 287 п.н. в интроне 16. Данный полиморфизм ассоциирован с повышенным уровнем ACE в плазме крови и развитием целого ряда сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе и инсультов.

Среди большого числа генов-кандидатов ишемического инсульта особое внимание привлекает ген рецептора ангиотензина II (AGTR1). Через этот тип рецепторов опосредуется не только вазоконстрикторное действие ангиотензина II, но и экспрессия факторов роста и пролиферации гладкомышечных клеток сосудов. Продукт гена AGTR1 обуславливает основные кардиоваскулярные эффекты ангиотензина-II. Полиморфизм гена AGTR1 A1166C является маркером повышенного риска развития ишемического инсульта. Исследование 206 больных артериальной гипертензией и 298 доноров с нормальным давлением показало статистически значимое увеличение частоты варианта 1166C среди гипертоников (вероятность развития артериальной гипертензии при наличии у пациента генотипа 1166C увеличивается в 1,3 раза) [5].

Взаимодействие тромбоцитов с тканевыми белками, секретируемыми при повреждении стенки сосудов происходит за счет белка $\alpha 2B$ интегрин – специализированного рецептора тромбоцитов, который кодируется геном ITGA2. Изменение первичной структуры интегринов вследствие мутации данного гена может приводить к повышенному риску тромбофилии [6].

Ген ITGB3 кодирует белковую компоненту тромбоцитарного рецептора фибриногена (β -3-интегрин). Данный рецептор обеспечивает взаимодействие тромбоцитов с фибриногеном плазмы крови, в результате чего происходит агрегация тромбоцитов и образование тромба. При полиморфизме гена тромбоциты приобретают повышенную склонность к агрегации, поэтому его носители имеют повышенный риск тромбоза мозговых сосудов и развития инсульта.

Ген FGB кодирует аминокислотную последовательность бета-цепи фибриногена. Повышенная экспрессия этого гена приводит к увеличению содержания фибриногена в крови и повышает вероятность образования тромбов, что способствует увеличению риска тромбоза мозговых сосудов [7]. Исследование полиморфизма гена FGB имеет прогностическое значение и позволяют оценить относительный риск развития заболеваний сердечно-сосудистой системы вследствие нарушений в свертывающей системе крови.

Наряду с изучением молекулярно-генетических аспектов формирования основных факторов риска цереброваскулярной патологии проводится изучение генетических механизмов апоптоза и антиапоптозной защиты, а также исследования генов, определяющих индивидуальную чувствительность ткани мозга к ишемии [8,9]. Показано, что изменение экспрессии генов, вовлеченных в механизмы регуляции программированной клеточной гибели (семейство bcl-2, каспазы, гены немедленного реагирования, гены белков теплового шока, p53), может играть важную роль в развитии ишемического повреждения мозга.

Одним из наиболее существенных достижений в последние годы было раскрытие стадийности патофизиологического каскада острейшего периода ишемического инсульта. Установлены основные механизмы, обуславливающие переход обратимых гемодинамических, клеточных и молекулярных изменений в области ишемической полутени в стойкие, формирование зоны некроза. Наряду с некрозом, в момент повреждения запускается механизм отсроченного (вторичного) повреждения клеток, в основе которого лежит апоптоз, представляющий собой физиологическую гибель клеток, необходимую для обновления клеточного пула органов, дифференцировки и развития тканей [10,11,12]. Помимо этого, апоптоз активируется и тем самым предохраняет ткани от возможных последствий при сублетальных повреждениях, недостаточных для прямого уничтожения клетки путем некроза. Возможность перехода апоптоза в некроз (апоптозно-некротический континуум, апонекроз) недостаточно изучена, и это является предметом более широкого рассмотрения проблемы.

В то время как некроз представляет собой необратимую гибель клетки, смерть в результате апоптоза на определенных этапах может быть задержана или предупреждена. Поэтому во многих лабораториях мира проводятся исследования с целью изучения механизмов активации апоптоза, его временного и пространственного распространения в клеточной популяции ткани. Выясняются индукторы, супрессоры и

исполнители программы апоптоза, а так же возможные пути влияния на этот процесс, и, прежде всего его торможения, с целью повышения выживаемости клеток.

Реализация цитотоксичности связана с индукцией рецептор-опосредованного апоптоза клетки-мишени. Среди огромного множества клеточных рецепторов в особую группу выделяют так называемые рецепторы смерти (death receptors). Они представляют собой трансмембранные гликопротеиды, которые, взаимодействуя со специфическими лигандами, передают апоптотический сигнал в клетку и вызывают активацию каспаз. Большинство смертельных рецепторов относятся к надсемейству рецепторов фактора некроза опухолей (TNFR) и характеризуются сходными экстрацеллюлярными доменами, богатыми цистеином [13]. Рецепторы смерти также имеют в своей структуре гомологичные цитоплазматические участки, называемые смертельными доменами (death domain), которые принимают непосредственное участие в запуске апоптоза [14]. Наиболее изученными из смертельных рецепторов являются Fas (CD95, или Apo1) и TNFR1. Человеческий Fas-рецептор состоит из 335 аминокислотных остатков с сигнальной последовательностью на N-конце и трансмембранным участком в середине молекулы, что позволяет отнести его к мембранным белкам Т типа [15,16].

Исследования последних лет позволили выявить группу (каскад) цистеиновых протеаз - каспаз, которые активируя друг друга, во многих случаях составляют основу реализации программы клеточной гибели [17,18]. С появлением каспаз была выделена третья, промежуточная фаза апоптоза, связанная с активацией так называемых исполнителей апоптоза, к которым отнесены нижние каспазы (downstream caspases) и эндонуклеазы [19,20]. Считают, что эта промежуточная фаза до начала фрагментации ДНК также является обратимой.

Кроме фрагментации ДНК, активация или индукция каспаз также является достаточно надежным признаком апоптоза. Использование иммуногистологического метода с применением антикаспазных антител позволяет регистрировать эти протеиназы на ранних этапах посттравматического апоптоза в спинном мозге. Каспаза 8 рекрутируется лиганд-активированными рецепторами посредством ассоциированного с рецепторами смертельного домена белка FADD, что привело к первой молекулярной модели апоптоза, индуцируемого смертельными рецепторами. Хотя FADD необходим для Fas-индуцированной некроз-подобной программируемой клеточной гибели, этот белок блокирует TNFR1-индуцированный некроз, возможно путем активации каспазы-8. Следовательно, FADD можно рассматривать как один из переключателей между апоптозом и некрозом, запускаемыми TNF.

Реализация программированной клеточной смерти происходит параллельно по 3 путям:

1. Рецепторный - взаимодействие рецептора и лиганда смерти приводит к последовательной активации инициаторных и эффекторных каспаз (каспазы I и II порядка соответственно), после чего процесс оказывается необратимым.

2. Митохондриальный - под воздействием индукторов апоптоза происходит увеличение проницаемости мембран митохондрий с высвобождением цитохрома С с последующей активацией каспазного каскада. Высвобождение апоптоз-индуцирующего фактора (АИФ) является митохондриальным эффектором, вызывающий конденсацию хроматина и фрагментацию ДНК независимо от действия каспазы 9.

3. Прямое повреждение ДНК ведет к активации p53, который стимулирует "рецепторы смерти" и апоптотические гены, а также активирует модулятор суицида PUMA (p53 upregulated modulator of APOptosis), блокирующий антиапоптотический белок Bcl-2, после чего происходит беспрепятственный выход цитохрома с из митохондрий.

Дефекты на любой ступени пути цитохрома с или АИФ приводят к переключению с апоптотической гибели на некротическую. Такая гибель соответствует критериям программируемой клеточной гибели, так как может быть блокирована анти-апоптотическими онкогенами Bcl-2.

Подавление каспазной активности изменяет способ гибели клетки, если сигнал достиг митохондрий. Во многих моделях гибели клеток главные контролеры программируемой клеточной гибели оперируют на митохондриальном уровне, тогда как решения о форме гибели принимаются на уровне активации каспаз. В случае острой церебральной ишемии нейроны внутри одной области подвергаются воздействию разной интенсивности, что обуславливает разные программы гибели. К примеру, быстрое истощение АТФ или нарушение внутриклеточного распределения ионов нарушают цитохромом с-индуцированную активацию каспаз, а массивная продукция оксида натрия непосредственно инактивирует каспазы. Таким образом, гибель клеток обнаруживает смешанные признаки апоптоза и некроза, в качестве «исполняющих» протеаз выступают каспазы или калпаины, или же обнаруживается активация PARP-1, как контролера запрограммированного некроза [21].

Кольцовой К.В. [22] изучались полиморфные варианты генов-регуляторов рецепторного пути индукции апоптоза (FADD, Fas и каспазы 8), их влияния на формирование инфаркта мозга, течение и исход острого ишемического атеротромботического инсульта. Эти гены вовлечены в комплекс генетических реакций, определяющих тканевую ответ на ишемическое повреждение и участвующих в формировании морфологического дефекта. Была обнаружена ассоциация комбинации полиморфизмов генов рецепторного пути индукции апоптоза (FADD и Fas) и митохондриального пути (PARP-1 и p53) с тяжестью состояния больных в остром периоде ишемического инсульта и объемом инфаркта мозга. Автор предлагает применять комбинации полиморфных вариантов генов-регуляторов рецепторного пути индукции апоптоза FADD и Fas в качестве критериев для прогнозирования объема инфаркта головного мозга при ишемическом инсульте.

Выявление генетических маркеров индивидуальной чувствительности головного мозга к ишемии расширяет возможности первичной профилактики ишемического инсульта, позволяет разработать новые подходы к диспансеризации практически здоровых лиц из групп риска с целенаправленным и комплексным их обследованием и превентивным лечением. Изучение генетических основ повреждающего действия ишемии позволяет выявить новые мишени для лечения инсульта. Выявленная ассоциация между полиморфными вариантами генов FADD, Fas и размерами инфаркта головного мозга доказывает перспективность использования нейропротекторов, реализующих свое действие через торможение процессов апоптоза [23].

Таким образом, многочисленные исследования позволили выделить ряд кандидатных генов, вовлеченных в патогенез ишемии мозга. Однако выявить конкретные полиморфные варианты генов либо генные мутации, определяющие развитие ишемического инсульта, до сих пор не удалось. Все исследования, связанные с изучением генетических факторов риска возникновения инсультов показывают, что в их развитии задействовано большое число генов, детерминирующие различные звенья патогенеза заболевания. Дальнейшее исследование функций генома, возможно, позволит выявить новые кандидатные гены предрасположенности к сосудистым заболеваниям мозга. Возможно, будущие достижения молекулярной генетики и системной биологии позволят пролить свет на механизмы реализации полигенной предрасположенности к нарушениям мозгового кровообращения и закономерности взаимодействия генотипа с факторами внешней среды, которые провоцируют развитие заболевания в популяциях человека.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Гусев Е.И., Скворцова В. И Ишемия головного мозга// М. Медицина.- 2001.- 328 с.
- 2 Brott T. Treatment of acute ischemic stroke // Engl J Med. 2000. - Vol. 343. - P. 710-722.
- 3 Гусев Е. И. Эпидемиология инсульта в России. // Consilium medicum : журн. доказательной медицины для практикующих врачей. Спец. вып. — 2003. - С. 5-7.
- 4 Schunkert H. Association between a deletion polymorphism of angiotensin Oconverting enzyme gene and left ventricular hypertrophy // N Engl J Med. 1994. - V. 330. - P. 1634 - 1638.
- 5 Corral J, Vicente V et al. Genetic polymorphisms of factor VII are not associated with arterial thrombosis// Blood Coagul Fibrinolysis.- 1998; 9: 267-272.

- 6 Crumrine R.C., Thomas AL, Morgan PF. Attenuation of p53 expression protects against focal ischemic damage in transgenic mice// J Cereb Blood Flow Metab 1994.- 14: 887-891.
- 7 Скулачев В.П. Кислород и явления запрограммированной смерти// М.- 2000г.-26с.
- 8 Шмидт Е.В. и др. Сосудистые заболевания нервной системы// М. Медицина 1975.- 662.
- 9 Evan G., Littlewood T. A matter of life and cell death//Science. -1998.- V.281- P. 1317-1322
- 10 Kokubo Y., Chowdhury A.H., Date C., Yokoyama T., Sobue H., Tanaka H, Age-dependent association of apolipoprotein E genotypes with stroke subtypes in a Japanese rural population// Stroke.- 2000.-31:1299—1306,
- 11 Malygina N.A., Vodolagina N.N., Serova L.D. "Genetics of stroke". //VI European Congress of Gerontology//. 2007, p. 140-141.
- 12 Mies G., Ishimaru S., Xie Y., Seo K., Hossmann K.A. Ischemic thresholds of cerebral protein synthesis and energy state following middle cerebral artery occlusion in rat// J Cereb Blood Flow Metab. 1991;11:753—761.
- 13 Oehm A., Behrmann I., Falk W. et al. Purification and Molecular Cloning of the APO-1 Cell Surface Antigen, a Member of the Tumor Necrosis Factor/Nerve Growth Factor Receptor Superfamily // J. Biol. Chem. 1992. V. 267. №15. P. 10709—10715.
- 14 Cai H. The Glu-298-Asp (894G-T) mutation at exon 7 of the endothelial nitric oxide synthase gene and coronary artery disease// J Mol Med 1999; 77: 6: 511-514.
- 15 Henskens L.H., Kroon A.A., van Boxtel M.P, et al. Associations of the angiotensin II type 1 receptor A11 66C and the endothelial NO synthase G894T gene polymorphisms with silent subcortical white matter lesions in essential hypertension. Stroke.- 2005.-36(9):1 869-73.
- 16 Болдырев А. А. Дискриминация между апоптозом и некрозом нейронов под влиянием окислительного стресса // Биохимия. -2000.- Т.65.- №7. - С. 21-34, 981-990.
- 17 Corral J, Vicente V et al. Genetic polymorphisms of factor VII are not associated with arterial thrombosis// Blood Coagul Fibrinolysis 1998; 9: 267-272.
- 18 Tomimoto H., I. Akiguchi, R. Ohtani, H. Yagi, M. Kanda, H. Shibasaki, and Y. Yamamoto The Coagulation-Fibrinolysis System in Patients With1.ukoaraiosis and Binswanger Disease// Arch Neurol. 2001; 58(10): 1620- 1625.
- 19 Tsukada T, Yokoyama K., Aral T et al. Evidence of association of the ecNOS gene polymorphism with plasma NO metabolite levels in humans// Biochem Biophys Res Commun/- 1998;245:1 90-3.
- 20 Dichgans M, Holtmannspotter M, Herzog J, Peters N, Bergmann M, Yousry TA. Cerebral microbleeds in CADASIL: a gradient-echo magnetic resonance imaging and autopsy study//Stroke.- 2002; 33:67-71.
- 21 Кольцова К.В. Роль полиморфных вариантов генов, участвующих в рецепторном пути индукции апоптоза (FADD, Fas и каспазы-8 в патогенезе ишемического инсульта// Автореферат М.- 2007.-136 с.
- 22 Сворцова В.И., Лимборская С.А., Сломинский П.А. и др. Генетические аспекты ишемического инсульта// Ж.Вестник РГМУ.- 2003.- № 4 (30).-С 78-84

Р.Т.ЖҰМАШЕВА

ИШЕМИЯЛЫҚ ИНСУЛЬТТИҢ ГЕНЕТИКАЛЫҚ АСПЕКТІЛЕРІ

Түйін: Қазіргі уақытта цереброваскулярлық аурулар гендерінің көптеген түрі белгілі. Дегенімен, ишемиялық инсульттің даму себебін анықтайтын гендердің нақты полиморфты нұсқалары немесе гендік мутация әлі күнге дейін анықталмай отыр. Инсульттің даму қаупін тудыратын гендік факторларды анықтауға байланысты жүргізілген барлық зерттеулер нәтижесі аурудың даму механизмінің әртүрлі тізбектерін детерминерлеуші көптеген гендердің қатысы бар екені анықталды. Геном функциясын одан әрі зерттеу миды қан тамырлары ауруларына бейімдейтін жаңа кандидаттық гендердің ашылуына мүмкіндік береді.

Түйінді сөздер: ишемиялық инсульт, кандидаттық гендер, гендік полиморфизм, апоптоз, полигендік тұқым қуалаушылық.

R.T.JUMASHEVA

GENETIC ASPECTS OF ISCHEMIC STROKE

Resume: A large number of genes of cerebrovascular diseases have been identified today. However, identifying the specific polymorphic variants of genes or gene mutations that determine the development of ischemic stroke has not succeeded. All of the research related to the study of genetic risk factors of stroke show that their development involves a large number of genes that determine the various stages of pathogenesis of the disease. Further investigation of genome functions might help to identify new candidate genes predisposing to vascular diseases of the brain.

Keywords: ischemic stroke, candidate genes, genetic polymorphisms, apoptosis, polygenic inheritance.