

А.Ш.ОРАДОВА

Казахский Национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы.  
Научная лаборатория «Центр коллективного пользования»

### МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ РАЗВИТИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

*В последнее время значительное количество исследований посвящено поиску наследственных факторов, предрасполагающих к развитию сосудистых заболеваний мозга. Одно из главных направлений в этих исследованиях - изучение роли генов-кандидатов. В настоящем обзоре нами систематизированы результаты молекулярно-генетических исследований последних лет по изучению связи различных классов «кандидатных генов» с риском развития ишемических инсультов у человека.*

**Ключевые слова:** ишемический инсульт, гены-кандидаты.

В настоящее время достаточно хорошо изучена роль таких факторов риска развития ишемического инсульта, как артериальная гипертензия, атеросклероз, нарушение ритма сердца, инфаркт, курение, сахарный диабет, нарушение липидного обмена, изменения в системе гемостаза, применение оральных контрацептивов, злоупотребление алкоголем и др. [8]. Известно, что тяжесть ишемического инсульта возрастает при сочетании нескольких факторов риска, среди которых значительными являются артериальная гипертензия, гиперхолестеринемия, увеличение уровня липопротеинов низкой плотности, курение [37,49]. Внедрение в клиническую практику рациональной системы профилактики и лечения артериальной гипертензии, гиполипидемической терапии, эффективной эндартериозэктомии и стентирования брахиоцефальных артерий позволило существенным образом снизить частоту возникновения мозговых катастроф. Вместе с тем данные последних лет показали, что у пациентов с высоким теоретическим индивидуальным риском инсульта фактическая частота его возникновения существенным образом различается [25]. Все это приводит к обсуждению влияния наследственной предрасположенности и механизмов, лежащих в основе повышения индивидуального риска развития ишемического инсульта [5].

Понятие о генах-кандидатах

Благодаря открытию и внедрению в практику метода полимеразной цепной реакции, развития технологии рекомбинантных ДНК, стало возможным выявление генов-кандидатов, белковые продукты которых могут хотя бы потенциально участвовать в развитии инсульта [35].

Гены, принимающие участие в развитии ишемического инсульта, подразделены на две категории: 1) увеличивающие риск развития ишемического инсульта, 2) влияющие на сосудистую реактивность, устойчивость ткани мозга к ишемии, размер очага. Эти категории не являются взаимоисключающими [20]. Определение роли конкретного гена в развитии ишемического инсульта является сложной задачей. Это связано с взаимодействием гена с другими факторами риска (артериальная гипертензия, сахарный диабет, повышение уровня фибриногена, нарушение липидного обмена) или модулированием их эффекта, а также с так называемым эффектом генной дозы. Эффект генной дозы - увеличение риска болезни при дефекте определенного гена в совокупности с другими. Часто такие комбинации являются синергическими, увеличивающими риск развития ишемического инсульта [12]. Кроме того, каждому подтипу ишемического инсульта соответствует дефект определенного гена, свои этиология и патогенез. В настоящее время лишь в единичных работах учитывается подтип ишемического инсульта. Наиболее изученной моделью для изучения наследственной предрасположенности в развитии инфаркта мозга является атеротромботический инсульт [6]. Кроме того, риск развития ишемического инсульта увеличивается не только под влиянием полиморфизма с участием одной пары нуклеотидов, но и при сочетании аллелей нескольких генов, т.е. имеет полигенную наследственную предрасположенность.

Имеется множество генов, определенные аллели которых ассоциируются с повышенным риском развития цереброваскулярных заболеваний. Так, широко изучаются полиморфные маркеры, относящиеся к генам системы гемостаза (к генам ФБ, тромбоцитарного гликопротеина, V, VIII и XII факторов свертывания, протромбина, тромбомодулина, генов, белков, участвующих в фибринолизе (tPA, PAI-1), ренин-ангиотензиновой системы, NO-синтетазы, липидов крови и гомоцистеина) [9, 20, 27, 28, 39].

Патогенез тромбообразования у больных ишемическим инсультом

Не вызывает сомнения, что одной из основных причин возникновения ишемических инсультов является тромбоз церебральных артерий: до 50% острых нарушений мозгового кровообращения по ишемическому типу являются тромботическим или эмболическим осложнением атеросклеротического процесса в артериях крупного и среднего калибра [47]. Известно, что процесс тромбообразования зависит от множества факторов: гемодинамических, состояния сосудисто-тромбоцитарного и плазменного компонентов системы гемостаза, стадии развития атеросклеротической бляшки [44]. Р. Вирховым было выделено три фактора, предрасполагающих к развитию тромбозов: 1) нарушение тока крови; 2) повреждение стенки сосуда; 3) изменение реологических свойств крови. Компоненты триады являются лишь относительно самостоятельными и их значимость в патогенезе венозных и артериальных тромбозов неодинакова: ведущие причины развития венозных тромбозов - стаз и дефицит компонентов системы противосвертывания, артериальных - нарушение структуры сосудистой стенки и активация тромбоцитов [2]. Артериальные тромбы состоят в основном из тромбоцитов с небольшим содержанием фибрина и эритроцитов, поэтому их называют «белыми» тромбами в отличие от венозных - «красных» тромбов, состоящих преимущественно из эритроцитов и фибриновых нитей [23]. Различие венозных и артериальных тромбов не является абсолютным. Состав тромба определяется его возрастом. Так, тромбы, обнаруживаемые в церебральных и коронарных артериях при инфарктах, по составу преимущественно «белые» [14, 18].

Нормальное функционирование системы гемостаза обеспечивается сложными взаимодействиями компонентов плазмы, клеток крови и стенки сосудов, которые должны способствовать сохранению жидкого состояния крови в пределах кровеносных сосудов и быстрому тромбообразованию их поврежденных участков для предотвращения кровоизлияния в ткань. В норме адгезии тромбоцитов к неповрежденному эндотелию не происходит. Это связано с образованием эндотелиальными клетками таких тромбогенных факторов, как простагландин и оксид азота. Основным субстратом образования тромбов является поражение сосудистой стенки атеросклеротическим процессом. Начальные стадии образования атеросклеротической бляшки связаны с накоплением липидов в макрофагах с пролиферацией гладкомышечных клеток и образованием коллагена. Вследствие этих процессов образуется атеросклеротическая бляшка с ядром, в котором содержатся внеклеточные липиды. Ядро заключено в фиброзно-коллагеновую капсулу. Помимо свободного холестерина, в нем содержатся богатые липидами макрофаги, которые разрушаются, и их липидное содержимое увеличивает ядро. При разрывах мелких бляшек тромботические массы проникают внутрь бляшки, происходит стимуляция пролиферации гладкомышечных клеток и дальнейший рост бляшки. Когда она увеличивается настолько, что артерия теряет способность к ремоделированию, возникает гемодинамический стеноз церебральной артерии. Данные механизмы, лежащие в основе развития хронических стенозов, могут приводить к возникновению транзиторных ишемических атак в определенном сосудистом бассейне [3].

Второй возможный вариант развития процесса - быстрое образование тромба на бляшке, которое начинается либо по причине истончения и повреждения эндотелия, покрывающего бляшку, либо вследствие разрыва покрышки бляшки. При этом происходит снижение отрицательного заряда эндотелия и возникновение условий для формирования пристеночных тромбов из агрегатов тромбоцитов и



цепей вместе с дистальной частью суперспирали составляют D-фрагмент фибриногена. Согласно модели J. Weisel и соавт. после спирального участка  $\alpha$ -цепи загибаются, и их C-концы взаимодействуют друг с другом вблизи центра молекул.  $\alpha$ - и  $\beta$ -Цепи фибриногена синтезируются как единственные продукты соответствующих генов и состоят из 610 и 461 аминокислотных остатков соответственно. Фибриноген, содержащий удлиненную  $\gamma$ -цепь, менее эффективно взаимодействует с тромбоцитами, снижая их агрегационную активность [48].

Уровень фибриногена плазмы крови зависит от многих факторов (возраст, пол, низкая физическая активность, артериальная гипертензия, курение, инсулинорезистентность) [13, 26, 29, 40].

Фибриноген является белком острой фазы, его уровень в плазме повышается также при воспалении, инфекциях, травме и стрессе. Регуляция синтеза фибриногена осуществляется на уровне транскрипции. Синтез стимулируется гормонами, жирными кислотами, продуктами деградации фибриногена. Основным механизмом стимулирующего действия является секреция интерлейкина-6 макрофагами и моноцитами в ответ на фагоцитоз продуктов деградации фибриногена [35].

Курение, вирусные инфекции, воспаление влияют на содержание фибриногена плазмы путем повышения количества лейкоцитов, секреции ими эластазы и интерлейкина-6 - основного стимулятора транскрипции  $\beta$ -фибриногена в печени [16]. Прекращение курения приводит к некоторому снижению содержания фибриногена, но его уровень все же остается выше, чем у людей, никогда не куривших [41, 43]. Уровень фибриногена плазмы повышается при увеличении уровня глюкозы крови и инсулина [24]. Сильная положительная связь обнаружена между уровнем фибриногена, индексом массы тела и абдоминальным типом ожирения [10,32]. С возрастом содержание фибриногена также увеличивается. У женщин уровень фибриногена сыворотки крови выше, чем у мужчин, и более заметно его увеличение с возрастом. Прием эстрогенов приводит к снижению фибриногена, с этим хорошо согласуются данные об увеличении уровня в менопаузе [30]. Обнаружена положительная связь фибриногена с липопротеидами низкой плотности и триглицеридами, хотя зависимости между его концентрацией и липидным профилем крови выявлено не было [32].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Боголепов Н.К. Церебральные кризы и инсульт. М: Медицина 1972;392.
- 2 Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М: Медицина 2001;7.
- 3 Панченко Е.П., Добровольский А.Б. Тромбозы в кардиологии. Механизмы развития и возможности терапии. М: Спорт и культура 1999;55—59.
- 4 Шмидт Е.В., Смирнов В.Е. Вопросы эпидемиологии сосудистых заболеваний головного мозга. М: Медицина 1972.
- 5 Aalto-Setälä K., Palomaki H., Miettinen H. et al. Genetic risk factors and ischaemic cerebrovascular disease: role of common variation of the genes encoding apolipoproteins and angiotensin-converting enzyme. *Ann Med* 1998;30:224—233.
- 6 Adams H.P.Jr., Bendixen B.H., Kappelle L.J. et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. *Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. Stroke* 1993;24:35—41.
- 7 Bansal B.C., Sood A.K., Bansal C.B. Familial hyperlipidemia in stroke in the young. *Stroke* 1986;17:1142—1145.
- 8 Balleisen L., Bailey J., Epping P.H. et al. Epidemiology study on factor VII, factor VIII and fibrinogen in an industrial population, I: baseline data on the relation to age, gender, body weight, smoking, alcohol, pill using and menopause. *Thromb Haemost* 1985;54: 721—723.
- 9 Baumann R.E., Henschen A.H. Human fibrinogen polymorphic site analysis by restriction endonuclease digestion and allele-specific polymerase chain reaction amplification: identification of polymorphisms at positions A 312 and B 448. *Blood* 1993; 82: 2117—2124.
- 10 Broderick J., Brott T., Kothari R. et al. The Greater Cincinnati/Northern Kentucky Stroke Study: preliminary first-ever and total incidence rates of stroke among blacks. *Stroke* 1998;29:415—421.
- 11 Brown E.T., Fuller G.M. Detection of a complex that associates with the b-fibrinogen G-455-A polymorphism. *Blood* 1998;92:3286—3293.
- 12 Celentano A., Mancini F.P., Crivaro M. et al. Cardiovascular risk factors, angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism, and left ventricular mass in systemic hypertension. *Am J Cardiol* 1999;83:1196—1200.
- 13 Collet J.P., Soria J., Mirshahi M. et al. Dusart syndrome: a new concept of the relationship between fibrin clot architecture and fibrin clot degradability: hypofibrinolysis related to an abnormal clot structure. *Blood* 1993;82:2462—2469.
- 14 Davies M.J. The contribution of thrombosis to the clinical expression of coronary atherosclerosis. *Thromb Res* 1996;82:1—32.
- 15 Ferraresi P., Marchetti G., Legnani C. et al. The heterozygous 20210 G/A prothrombin genotype is associated with early venous thrombophilia and is not increased in frequency in arterial disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:2418.
- 16 Fishman D., Faulds G., Jeffery R. et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 1998;102:1369—1376.
- 17 Folsom A.R. Hemostatic risk factors for atherothrombotic disease: an epidemiologic view. *Thromb Haemost* 2001;86:366—373.
- 18 Fuster V., Badimon L., Badimon J.J., Chesebro J.H. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (1). *N Engl J Med* 1992;326:242—250.
- 19 Gutstein D.E., Fuster V. Pathophysiology and clinical significance of atherosclerotic plaque rupture. *Cardiovasc Res* 1999;41:323—333.
- 20 Hassan A., Hugh S. Markus. Genetics and ischaemic stroke. *Brain* 2000;123:1784—1796.
- 21 Heinrich J., Balleisen L., Schulte H. et al. Fibrinogen and factor VII in the prediction of coronary risk: results from the PROCAM study in healthy men. *Arterioscler Thromb* 1994;14:54—59.
- 22 Jang Y., Lincoff A.M., Plow E.F., Topol E.J. Cell adhesion molecules in coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1591—1601.
- 23 Jates P.O. A change in the pattern of cerebrovascular disease. *Lancet* 1964;1:65—69.
- 24 Kannel W.B., Wilson P.R., Bleanger A.J., Gargon D.R. Diabetes, fibrinogen, and risk of cardiovascular disease. The Framingham experience. *Am Heart J* 1990;120:87—94.
- 25 Kokubo Y., Chowdhury A.H., Date C. Age-dependent association of apolipoprotein E genotype with stroke subtypes in a Japanese rural population. *Stroke* 2000;31:6:1299—1309.
- 26 Krobot K., Hense H.W., Cremer P. et al. Determinants of plasma fibrinogen: relation of body weight, waist-to-hip ratio, smoking, alcohol, age, and sex: results from the second MONICA Augsburg Survey 1989—1990. *Arterioscler Thromb* 1992;12:780—788.
- 27 Lane D., Grant P. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. *Blood* 2000;95:1517—1532.
- 28 Margaglione M., Seripa D., Gravina C. et al. Prevalence of apolipoprotein E alleles in healthy subjects and survivors of ischemic stroke: an Italian case-control study. *Stroke* 1998;29:399—403.
- 29 Meade T.W., Brozovic M., Chakraborty R. et al. An epidemiological study of the haemostatic and other effects of oral contraceptives. *Br J Haematol* 1976;34:353—364.
- 30 Meade T.W., Haines A.P., North W.R. Characteristics affecting fibrinolytic activity and plasma fibrinogen concentration. *Br Med J* 1979;1.
- 31 Meade T.W., Mellows S., Brozovic M. et al. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1986;2:533—537.

- 32 Moller L., Kristensen T.S. Plasma fibrinogen and ischemic heart disease risk factor. *Arterioscler Tromb* 1991;11:145—157.
- 33 Peerschke E.I. Stabilization of platelet-fibrinogen interactions is an integral property of the glycoprotein IIb—IIIa complex. *J Lab Clin Med* 1994;124:439—446.
- 34 Pohjasvaara T., Mantyla R., Salonen O. et al. How complex interactions of ischemic brain infarcts, white matter lesions, and atrophy relate to poststroke dementia. *Arch Neurol* 2000;57:1295—1300.
- 35 Princen U.M.G., Nieuwenhuizen W., Yap S.H. Direct evidence of transcriptional control of fibrinogen and albumin synthesis in rat liver during the acute phase response. *Biochem Biophys Res Commun* 1981;102:109—116.
- 36 Savage B., Saldívar E., Ruggeri Z.M. Initiation of platelet adhesion by arrest onto fibrinogen or translocation on von Willebrand factor. *Cell* 1996;84:289—297.
- 37 Scarabin P.Y., Bara L., Ricard S. et al. Genetic variation at the
- 38 b-fibrinogen locus in relation to fibrinogen concentrations and risk of myocardial infarction: the ECTIM study. *Arterioscler Thromb* 1993;13:886—891.
- 39 Scarabin P.Y., Arveiler D., Amouyel P. et al. Plasma fibrinogen explains much of the difference in risk of coronary heart disease between France and Northern Ireland. The PRIME study. *Atherosclerosis* 2003;166:103—109.
- 40 Schmidt H., Schmidt R., Niederkorn K. et al. b-fibrinogen gene polymorphism (C148 to T) is associated with carotid atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:487.
- 41 Sechi L.A., Zingaro L., Catena C. et al. Relationship of fibrinogen levels and hemostatic abnormalities with organ damage in hypertension. *Hypertension* 2000;36:978—991.
- 42 Sharma P., Carter M.L., Barley J., Brown M.M. Molecular approach to assessing the genetic risk of cerebral infarction. *J Hum Hypertens* 1994;8:645—648.
- 43 Smith E.B. Fibrinogen, fibrin and the arterial wall. *Eur Heart J* 1995;16:24—33.
- 44 Staessen J.A., Fagard R., Thijs L. et al. Randomised double-blind comparison of placebo and active treatment for older patients with isolated systolic hypertension: the Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) Trial Investigators. *Lancet* 1997;350:757—764.
- 45 Tracy R.P. Epidemiological evidence for inflammation in cardiovascular disease. *Thromb Haemost* 1999;82:826—831.
- 46 Tybjaerg H.A., Agerholm L.B., Humphries S.E. et al. A common mutation (G-455A) in the beta-fibrinogen promoter is an independent predictor of plasma fibrinogen, but not of ischemic heart disease. A study of 9,127 individuals based on the Copenhagen City Heart Study. *J Clin Invest* 1997;99:3034—3039.
- 47 van der Bom J.G., Bots M.L., Haverkate F. et al. Reduced response to activated protein C is associated with increased risk for cerebrovascular disease. *Ann Intern Med* 1996;125:265—269.
- 48 Wei X., Fu Y., Ni P.H., Song Y.Y., Chen S.D. The relationship between the five beta-fibrinogen gene polymorphisms and cerebral infarction. *Abstract* 2005; Dec: 44(12): 914—917. (TIMP-1) increased gene expression following focal stroke. *Stroke* 1998;29:516—520.
- 49 Weisel J. W., Stavfacher C. V., Bullitt E., Cohen C.A. A model of fibrinogen: domains and sequence. *Science* 1985;230:1388—1391.
- 50 Wolf P.A., D'Agostino R.B., O'Neal M.A. et al. Secular trends in stroke incidence and mortality: the Framingham Study. *Stroke* 1992; 23:1551—1555.
- 51 Woodward M., Low G.D.O., Rumley A. Fibrinogen as a risk factor for coronary heart disease and mortality in middle-aged men and women. *Eur Heart J* 1998;19.
- 52 Yu S., Sher B., Kudryk B., Redman C.M. Fibrinogen precursors. Order of assembly of fibrinogen chain. *J Biol Chem* 1984;259:47—59.

#### А.Ш. ОРАДОВА

#### ИШЕМИЯЛЫҚ ИНСУЛЬТТИҢ ДАМУЫНЫҢ МОЛЕКУЛАЛЫҚ ТАҢБАЛАҒЫШТАРЫ

**Түйін:** Ақырғы уақытта мийдың тамыр ауруларының дамуына бейімдеу тұқым қуу факторлардың көптеген зерттеу ізденуі арналған. Негізгі бір бағыттардың бұл зерттеулердің – ген-кандидаттардың рөлінің зерделеуі. Ақырғы жылдардың ген-кандидаттардың әр түрлі класстарының байластарың зерделеуі адамдарда жүрек ишемиялық инсульттың кәтерлі дамуына біз молекулярлы-генетикалық зерттеу осы шақтағы шолу бойынша жүйеліндірдік.

**Түйінді сөздер:** ишемиялық инсульт, ген-кандидаттар.

#### A.S.ORADOVA

#### MOLECULAR MARKERS OF DEVELOPMENT OF THE ISCHEMIC STROKE

**Resume :** In recently quite a number of studies is dedicated to searching for of hereditary factors, predisposing to development of vascular diseases of brain. One of the main directions in these studies - study dug the genes-candidates. In this review us systematized results molecular-genetic studies of lasts of years on study of relationships of different classes "genes-candidates" with risk of development ischemic strokes beside person.

**Keywords:** ischemic stroke, genes-candidates