

КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА И ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ИНГИБИТОРА АКТИВАТОРА ПЛАЗМИНОГЕНА PAI

Ш.Р.МУБАРАКОВ, К.Т. БОБОЕВ

*Республиканский научный центр экстренной медицинской помощи, Ташкент, Узбекистан,
Научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови*

Цель: оценка значимости аллельных вариантов полиморфизма 675 4G/5G гена PAI-1 в патогенезе ишемического инсульта (ИИ).

Материал и методы: В исследование были включены 37 пациентов с острым ИИ, наблюдавшихся в РНЦЭМП. Контрольная группа была сформирована из 68 неродственных здоровых лиц узбекской национальности, без каких-либо тромбоз-ассоциированных заболеваний.

Результаты: Частота встречаемости мутантного аллеля 4G в основной и контрольной группах составила 55,4% и 30,0% соответственно. Согласно рассчитанному коэффициенту соотношения шансов носительство функционального неблагоприятного аллеля 4G в положении 675 гена PAI почти в 2,2 раза увеличивает риск развития тромбоза ($\chi^2=7,3$; $P=0,007$; OR=2,2; 95% CI 1.239-3,927).

Заключение: Полиморфизм 675 4G/5G гена PAI играть важную роль в патогенезе ИИ и характере его течения.

Ключевые слова: ишемический инсульт, ингибитор активатора плазминогена, полиморфизм гена PAI-1, фибринолитическая активность.

RELATIONSHIP BETWEEN CLINICAL COURSE OF ISCHEMIC STROKE AND POLYMORPHISM OF PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR (PAI) GENE

S.R. MUBARAKOV, K.T. BOBOEV

Republican Research Centre of Emergency Medicine, Tashkent, Uzbekistan

Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Tashkent, Uzbekistan

Objective. Evaluation of importance of 675 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene in pathogenesis of ischemic stroke (IS).

Material and methods. 37 patients with IS admitted to the Republican Research Centre of Emergency Medicine were investigated. 68 nonrelative healthy patients of Uzbek population without anythrombose-associated diseases composed control group.

Results. The incidence of mutant 4G-gene in the main and control groups was 55.4% and 30.0% respectively. Odd ratio showed that the presence of 4G allele in 675 position of PAI gene increases the risk of thrombosis 2.2 times ($\chi^2=7.3$; $P=0.007$; OR=2.2; 95% CI 1.239-3.927).

Conclusion. 675 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene has important role in pathogenesis of IS and its clinical course.

Key words: *ischemic stroke, PAI (plasminogen activator inhibitor), PAI-1 gene polymorphism, fibrinolysis activity.*

В последние десятилетия достигнуты впечатляющие успехи в области молекулярной генетики человека, позволившие от формального описания законов наследования перейти к полной расшифровке человеческого генома. Понимание механизмов генетического контроля, протекающих в организме метаболических процессов, меняет представления об этиологии и молекулярных основах патогенеза как моногенных наследственных заболеваний, так и состояний, определяющих предрасположенность к широко распространенным полигенным или мультифакториальным болезням, а также может объяснить различную чувствительность индивидуумов к неблагоприятным факторам внешней среды, инфекционным агентам и фармакологическим препаратам. Таким образом, молекулярная генетика создает базис для разработки нетрадиционных методов лечения, профилактики заболеваний и индивидуальной, генетически обоснованной фармакотерапии.

В основе развития ишемического инсульта (ИИ) головного мозга чаще всего лежат два процесса – атеросклероз и тромбоз соответствующих артерий. При этом следует обратить внимание на тот факт, что атеросклеротические изменения сосудов характерны для лиц пожилого возраста, у молодых пациентов больший вклад в формирование патологии вносят нарушения в системе коагуляции, приводящие к повышенному тромбообразованию. Анализ эпидемиологических исследований показывает, что повышение уровня ряда факторов свертывания крови, таких как фибриноген, фактор VII свертывания крови, фактор Виллебранда, фактор VIII, увеличение агрегационных свойств тромбоцитов, изменение содержания в крови компонентов фибринолитической системы являются факторами риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, включая и ИИ [5]. Данные изменения в плазменном и тромбоцитарном звеньях гемостаза генетически детерминируются. Однако вклад мутационных повреждений генов, кодирующих факторы свертывания крови, тромбоцитарные рецепторы и компоненты системы фибринолиза, в увеличение риска развития артериальных тромбозов к настоящему времени однозначно не определен. Результаты работ, посвященных этому вопросу, носят противоречивый характер и сильно зависят от этнических,

половых и возрастных особенностей исследуемых популяций [9].

При ИИ возникают нарушения в системе фибринолиза. Свой дополнительный вклад в этот патогенетический механизм могут вносить и генетические аномалии. Ингибитор активатора плазминогена (SERPINE-1 или PAI-1) является одним из основных компонентов антисвертывающей системы крови. Этот белок регулирует тканевый/урокиназный активаторы плазминогена [2,4,5]. Промоторный полиморфизм 675 4G/5G в гене PAI-1 связан с повышением уровня PAI-1 и тромбоэмболизмом [6,7]. У лиц-носителей гомозиготной формы 4G/4G-мутации отмечается повышение количества и функциональной активности тромбоцитов и снижение фибринолитической активности крови [10].

Роль носительства гетерозиготной мутации в патогенезе тромбоэмбологических осложнений не подтверждена. По данным P-G.Wiklund et al. [9], у обладателей генотипа 4G/4G относительный риск инсульта был 1,87 (95% доверительный интервал 1,12-3,15) в одной обследованной популяции и 1,56 (95% доверительный интервал 1,12-2,16) в другой. В мета-анализе X.Xu et al. [10] показано, что среди населения Китая носительство гомозиготного полиморфизма 4G/4G увеличивало относительный риск инсульта в 1,79 раза (95% доверительный интервал 1,20-2,67). В то же время в некоторых работах [1,3] и в мета-анализе A.Tsantes et al. [8] не было выявлено связи между носительством аллели 4G и риском развития инсульта.

ИИ отличается неоднородностью патогенетической структуры. Согласно современным представлениям в патогенезе ИИ особую роль отводится и генетическим факторам [5]. Однако генетические факторы риска ИИ в мире изучены недостаточно, сведения о генетической предрасположенности к ним остаются противоречивыми.

Нами проводится работа по изучению роли полиморфизма 675 4G/5G гена ингибитора активаторов плазминогена-1 (PAI-1 или SERPINE-1) в патогенезе ИИ. Выбор данного полиморфизма обусловлен тем, что его генотипические варианты оказывают непосредственное влияние на активность и структуру фибриногена и плазминогена, участвующие на конечных стадиях коагуляционного каскада гемостаза. При этом, у лиц,

имеющих в генотипе вариант 4G/4G, концентрация белка PAI-1 значительно выше, чем у лиц, имеющих варианты 5G/5G и 5G/4G [6].

Цель. Оценка значимости аллельных вариантов полиморфизма 675 4G/5Гена PAI-1в патогенезе ИИ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 37 пациентов с острым ИИ, наблюдавшихся в Республиканском научном центре экстренной медицинской помощи. Диагноз ИИ верифицировали согласно клинико-инструментальным (компьютерная томография головного мозга, цветное дуплексное сканирование экстракраниальных артерий) данных. Контрольная группа была сформирована из 68 неродственных здоровых лиц узбекской национальности, без каких-либо тромбоз-ассоциированных заболеваний. Анализ генотипов и аллелей полиморфизма 4G/5G гена PAI-1 (международный код-rs1799889) путем стандартной полимеразной цепной реакции на термоцикерах CG-1-96 «CorbettResearch» (Австралия) и Applied Biosystems-2720 (США), с использованием наборов ООО «АмплиКит» (г. Санкт-Петербург), согласно инструкции производителя. В качестве биологического материала использовали образцы ДНК, выделенных из лейкоцитов периферической крови. Расчет аллелей и генотипов, наблюдаемой (H_0) и ожидаемой (H_e) гетерозиготности, индекса фиксации Райта (D), показатели чувствительности (SE), специфичности (SP) и прогностической эффективности (AUC) проводили стандартными методами. Оценка отклонения распределений генотипов от канонического распределения Харди-Вайнберга проводилась с помощью компьютерной программы "GenePop". Для расчета коэффициента "отношения шансов" (OR – oddsratio) с 95% доверительным интервалом (CI – confidence interval) использовался статистический пакет «OpenEpi 2009, Version 2.3».

РЕЗУЛЬТАТЫ

По данным исследования, распространенность аллелей полиморфизма rs1799889 в контрольной группе составила: 4G -36,0%, 5G -64,0%; в объединенной выборке больных: 4G-55,4%, 5G-44,6%. Частота распределения генотипов в контрольной группе составила – 5G/5G – 10,8%,

4G/5G – 58,9%, 4G/4G – 30,3%. В группе больных – 5G/5G – 35,1%, G/5G – 18,9% и 4G/4G – 45,9%.

В контрольной группе уровень наблюдаемой гетерозиготности (H_0) не превышал теоретически ожидаемых (H_e) значений и полиморфизм rs1799889 находился в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга ($\chi^2=2,2$; $p=0.13$). Наблюдаемый и ожидаемый уровень гетерозиготности в этой группе составил –0,54 и 0,46, соответственно. В объединенной выборке и подгруппах больных наоборот обнаружены статистически достоверные отклонения частот генотипов от равновесия Харди-Вайнберга ($\chi^2=14.1$; $p=0.0002$), указывающего на недостаток фактических гетерозигот по данному полиморфизму. Уровень наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности среди больных варьировал от 0,18 до 0,49 соответственно, что подтверждается высокими положительными значениями индекса фиксации Райта ($D=+0.62$).

Показатели SE и SP данного генетического маркера соответствовали 0,65 и 0,64 соответственно. Вычисленная прогностическая эффективность данного маркера составила AUC=0,64. Эти данные демонстрируют неплохой уровень показателя по классификатору данного гена-кандидата, для прогнозирования развития ИИ в качестве самостоятельного маркера.

При сравнительном анализе частот распределения аллелей и генотипов полиморфизма rs1799889 между объединенной выборкой и контрольной группой были выявлены статистически значимые различия ($p<0,05$). Частота встречаемости мутантного аллеля 4G в основной и контрольной группах составила 55,4% и 30,0% соответственно. Согласно рассчитанному коэффициенту соотношения шансов носительство функционального неблагоприятного аллеля 4G в положении 675 гена PAI почти в 2,2 раза увеличивает риск развития тромбоза ($\chi^2=7,3$; $P=0,007$; OR=2,2; 95% CI 1,239-3,927).

Аналогичная закономерность выявлена и при анализе распределения генотипов между группой больных и контрольной выборкой. Частота встречаемости генотипов 5G/5G, 4G/5G и 4G/4G в основной группе больных составила 35,1%, 18,9% и 45,9%, тогда как в контрольной группе эти показатели составили 36,8%, 54,4% и 8,8% соответственно. Согласно коэффициенту соотношения шансов, риск развития ИИ в основной группе при наличии гомозиготного генотипа

4G/4G (связанный с наиболее высокой экспрессией гена PAI) достоверно увеличивается в 8,8 раза ($\chi^2=19,3$; $P=0,00001$; OR=8,8; 95% CI 3,048-25,31).

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о связи между тяжестью течения ИИ от функционального состояния гена PAI. Наличие гомозиготного генотипа 4G/4G проявляется клинически развитием ишемического инсульта со стойким неврологическим дефицитом. Данный тип генотипа можно рекомендовать для прогнозирования риска развития ишемического инсульта и проводить соответствующие как профилактические мероприятия, включающие в себя прием антиагрегантов, препаратов корректирующих уровень холестерина, триглицеридов, липопротеидов низкой и очень низкой плотности, коррекция артериаль-

ного давления, так и лечебные мероприятия, включающие антикоагулянты, ноотропные препараты и др. Напротив, присутствие 5G аллеля (даже в гетерозиготном 4G/5G состоянии) можно рассматривать как благоприятный протективный признак в отношении ИИ. При этом клинически у больного отмечается регресс неврологического дефицита или нарушение мозгового кровообращения протекает по типу транзиторной ишемической атаки (OR=0,4; 95% CI 0,2546-0,807).

ВЫВОДЫ

Полиморфизм 675 4G/5G гена PAI имеет этиологическое значение в развитии ИИ и этот маркер может играть определенную роль в патогенезе данного заболевания и характере его течения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зотова И.В., Затейщиков Д.А., Сидоренко Б.А. Предикторы внутрисердечного тромбоза у больных с мерцательной аритмией: факторы гемостаза, маркеры воспалений и генетические факторы. Кардиология. 2007; 47:46-54.
2. Калашникова Л.А., Добринина Л.А., Патрушева Н.Л. и др. Мутации генов, сочетающиеся с тромбозами, при ишемическом инсульте у больных с первичным антифосфолипидным синдромом. Тер. Архив. 2005; 77:49-53.
3. Сердечная Е.В. Фибрилляция предсердий: особенности клинического течения и выбор стратегии лечения. Автореф. дис....докт. мед. наук. Архангельск 2008.
4. Attia J., Thakkinstian A., Wang Yatal. The PAI-1 4G/5G Gene Polymorphism and Ischemic Stroke: An Association Study and Meta-Analysis. Journal of Stroke & Cerebrovascular Diseases. 2007; 16:173-179.
5. Dahlback B. Advances in understanding pathogenic mechanisms of thrombophilic disorders. Blood. 2008; 112:19-27.
6. Kucukarabaci B., Gunes H.V., Ozdemir G. at al. Investigation of Association between Plasminogen Activator Inhibitor Type-1 (PAI-
- 1) Gene 4G/5G Polymorphism Frequency and Plasma PAI-1 Enzyme Activity in Patients with Acute Stroke. Genetic Testing. 2008; 12:443-451.
7. Slavik L., Krcova V., Hlusi A. et al. Molecular pathophysiology of thrombotic states and their impact to laboratory diagnostics. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2009; 153:19-25.
8. Tsantes A.E., Nikolopoulos G.K., Bagos P.G. at al. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and risk of ischemic stroke: a meta-analysis. Blood Coagulation & Fibrinolysis. 2007; 18:497-504.
9. Wiklund P.G., Nilsson L., Ardhor S.N. at al. Plasminogen Activator Inhibitor-1 4G/5G Polymorphism and Risk of Stroke: Replicated Findings in Two Nested Case-Control Studies Based on Independent Cohorts. Stroke. 2005; 36:1661-1665.
10. Xu X., Li J., Sheng W. at al. Meta-Analysis of Genetic Studies from Journals Published in China of Ischemic Stroke in the Han Chinese Population. Cerebrovascular Diseases. 2008; 26:48-62.

ИШЕМИК ИНСУЛЬТ ВА ПЛАЗМИНОГЕН АКТИВАТОРИ ИНГИБИТОРИ (PAI) ГЕНИНИНГ ПОЛИМОРФИЗМИ ОРАСИДАГИ КЛИНИК ГЕНЕТИК ПАРАЛЛЕЛЛАР

Ш.Р.МУБАРАКОВ, К.Т. БОБОЕВ

Республика шошилинч тиббий ёрдам илмий маркази, Тошкент, Ўзбекистон.

Гематология ва қон қуиши илмий тадқиқот институти, Тошкент, Ўзбекистон.

Тадқиқот мақсади: ишемик инсульт патогенезида (ИИ) PAI-1 ген 675 4G/5G полиморфизмининг муҳимлигини баҳолаш.

Материаллар ва услублар: ИИ билан касалланган ва Республика шошилинч тиббий ёрдам илмий марказида даволанган 37 нафар бемор асосий гурухни ташкил қилди. 68 нафар ноқариндош, ўзбек миллатли, тромбоз-ассоциацияланган касалликлар билан касал бўлмаган bemорлар контроль гурухни ташкил қилди.

Натижалар ва муҳокама: мутант 4G аллел асосий ва контроль гурухларда 55,4% ва 30,0%ни ташкил қилди. OR кўрсаткичига асосан патологик 4G аллел 675 позициясида жойлашган PAI-1 гени тромбоз ривожланиш хавфини 2,2 мартағача оширади ($\chi^2=7.3$; P=0.007; OR=2.2; 95% CI 1.239-3.927).

Хуноса: 675 4G/5GPAI-1 гени полиморфизми ишемик инсульт патогенезида ва унинг кечиш характеристида муҳим ролга эга.

Калит сўзлар: ишемик инсульт, плазминоген активаторнинг ингибитори, PAI-1 ген полиморфизми, фибринолитик активлиги.

Сведения об авторах:

Мубараков Шухрат Рустамович – врач-невролог РНЦЭМП. Тел.: +99890-9720344, email: shukhrat200211@yandex.ru.

Бобоев Кодир Тухтабаевич – руководитель отдела молекулярных и клеточных технологий НИИ гематологии и переливания крови, email: abdukadirl_babaev@mail.ru

Authors

Shukhrat Mubarakov – MD, Neurologist, Department of Emergency Neurology of Republican Research Centre of Emergency Medicine, Tashkent, Uzbekistan. Phone: +998 909720344, Email: shukhrat200211@yandex.ru.

Kodir Bobev – MD, Head of the Department of Molecular and Cellular Technology, Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Tashkent, Uzbekistan. Email: abdukadirl_babaev@mail.ru