

УДК 616.36-004+616.831

© Н.В. Ларина, 2014.

ОСОБЕННОСТИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ГЕМОДИНАМИКИ У БОЛЬНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ИШЕМИЧЕСКИЙ ИНСУЛЬТ С РАЗЛИЧНЫМИ ПОЛИМОРФИЗМАМИ ГЕНОВ АПФ, ENOS, МТГФР

Н.В. Ларина

Кафедра нервных болезней с курсом неврологии ФПО (зав. кафедрой - проф. Л.Л. Корсунская), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь.

FEATURES OF CEREBRAL HEMODINAMICS IN ISCHEMIC STROKE PATIENTS WITH DIFFERENT POLYMORPHISMS OF ACE, ENOS, MTHFR GENES

N.V. Larina

SUMMARY

Ischemic stroke is a complex multifactorial pathology, the frequency of which increases with the number of risk factors, including hypertension, hypercholesterolemia, diabetes and smoking. However, half of stroke can't be explained by the presence of these risk factors. At present, a large amount of cases evidence the important role of genetic factors in the formation of stroke risk. In recent decades, it has significantly increased the amount of research dedicated to finding genetic markers of predisposition to the development and clinical course of various clinical-pathogenic forms of stroke [1,3,9]. The article presents the results of an analysis of morpho - functional state of cerebral hemodynamics, depending on the polymorphism of genes regulating blood pressure (ACE), vascular tone (eNOS) and hemostasis (MTHFR).

ОСОБЛИВОСТІ ЦЕРЕБРАЛЬНОЇ ГЕМОДИНАМІКИ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНИЙ ІНСУЛЬТ З РІЗНИМИ ПОЛІМОРФІЗМАМИ ГЕНІВ АПФ, ENOS, МТГФР

Н.В. Ларіна

РЕЗЮМЕ

Ішемічний інсульт - складна багатофакторна патологія, частота якої зростає при збільшенні кількості факторів ризику, включаючи артеріальну гіпертензію, гіперхолестеринемію, цукровий діабет і куріння. Однак приблизно в половині випадків інсульт не може бути пояснений наявністю даних факторів ризику [1,3]. До теперішнього часу накопичено велику кількість доказів важливої ролі генетичних факторів у формуванні ризику інсульту. В останні десятиліття значно зросла кількість досліджень, присвячених пошуку генетичних маркерів схильності до розвитку і клінічним перебігом різних клініко-патогенетичних форм інсультів [1,3,9]. У статті представлені результати аналізу морфо - функціонального стану церебральної гемодинаміки, в залежності від поліморфізму генів, що регулюють артеріальний тиск, судинний тонус і гемостаз.

Ключевые слова: ишемический инсульт, полиморфизм, церебральная гемодинамика.

Большинство случаев ишемического инсульта представляют собой мультифакторные заболевания с определенной генетической предрасположенностью. Существуют различные модели формирования генетической предрасположенности к мультифакторному заболеванию. Согласно одной из них, развитие заболевания и его тяжесть обусловлены результатом действия риск – аллелей ряда «малых» генов, эффекты которых в отдельности незначительны и лишь при определенной «неблагоприятной» комбинации могут превысить функциональный порог, приводя к болезни. В других ситуациях нельзя исключить, что на фоне аддитивного действия нескольких генов решающим является влияние основного локуса, условно патогенный эффект которого «запускается» специфическим неблагоприятным средовым фактором [1,9].

На данный момент известно более 150 генов,

полиморфные варианты которых связывают с предрасположенностью к инсульту. К числу генов – кандидатов относят гены различных систем, таких как регуляции артериального давления, гемостаза и сосудистого тонуса, метаболизма липидов, гомоцистеина и др. [1,2,4,6,8,9].

Особое внимание в изучении генетических механизмов формирования инсульта отводится гену ангиотензин превращающего фермента. Ангиотензин превращающий фермент (ACE) и ангиотензиноген (AGT) являются ключевыми элементами ренин-ангиотензиновой системы и вносят существенный вклад в развитие инсульта [1]. Ген ангиотензин-превращающего фермента (АПФ), отвечает за синтез ангиотензина II и катаболизм брадикинина - пептидов, задействованных в регуляции сосудистого тонуса, пролиферации гладкомышечных клеток, процессах реабсорбции натрия и воды в почечных

канальцах. Помимо этого, тканевый ангиотензин II является стимулятором различных ростовых факторов, вовлеченных в процесс атерогенеза [8,9].

Многочисленные исследования последних лет убедительно показали важную роль эндотелия в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, в частности мозгового инсульта [1,3,6,7]. При острой церебральной ишемии в разные стадии микроциркуляторно-клеточного каскада эндотелий претерпевает ряд существенных функциональных изменений и структурных повреждений (разрыв, сморщивание, некроз) [7]. Важнейшим регуляторным фактором эндотелиальной функции является оксид азота - NO, обеспечивающий вазодилатацию, торможение экспрессии молекул адгезии и агрегацию тромбоцитов, оказывающий антипролиферативное, антиапоптотическое и антитромботическое действие [6,7]. Эндотелиальная NO-синтаза (eNOS) участвует в синтезе NO эндотелием и, следовательно, в регуляции сосудистого тонуса, кровотока и артериального давления. Все это дало основания предположить наличие связи полиморфизма гена эндотелиальной NO-синтазы с такими заболеваниями как артериальная гипертензия и ишемическая болезнь сердца и др. [1,2,6,7].

Особое значение в формировании тромбофилических состояний имеют нарушения в системе метионин-гомоцистеинового обмена, приводящие к гипергомоцистеинемии, которая согласно данным литературы признана независимым фактором риска развития тромбозов и атеросклероза [1,4,9,10]. Данное состояние возникает в результате нарушенного метаболизма гомоцистеина (ГЦ) – промежуточного продукта обмена метионина, и может иметь экзогенное происхождение (например, связанное с недостаточностью кофакторов — фолиевой кислоты, витаминов В 12 и В 6) [1,10].

Однако основными причинами развития гипергомоцистеинемии являются генетические дефекты, приводящие к неполноценности ферментов обмена ГЦ - метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР), метионинсинтазы-редуктазы, цистатионин-синтазы и др. [1, 4,9,10].

Тесная взаимосвязь между метаболизмом мозга и церебральной гемодинамикой, наличие особен-

ностей электрогенеза мозга у больных инсультом с различными полиморфизмами генов АПФ, eNOS, МТГФР определило также необходимость проведения анализа состояния мозгового кровообращения.

Для оценки функционального состояния церебральной гемодинамики были проанализированы показатели линейной систолической скорости кровотока (ЛССК) магистральных церебральных артерий, толщины КИМ, атеросклеротического поражения церебральных сосудов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 195 пациентов, перенесших ишемический инсульт, и проходивших реабилитационное лечение в клинике ГУ «Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарева НАМН Украины». Предварительно все больные прошли комплексное обследование: клинико-неврологический осмотр, ЭЭГ (на 16-канальном электроэнцефалографе «Neurofax EEG - 1100K», NIHON KONDEN, Япония), УЗДС сосудов головы и шеи (прибор EnVisor, PHILIPS), КТ/МРТ головного мозга (для верификации характера и локализации очага). На основании результатов этого обследования был подтвержден диагноз ишемический инсульт.

Выделение и очистку препаратов ДНК из лейкоцитов периферической крови проводили с помощью стандартного метода [5]. Определение генотипов проводили с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Продукты ПЦР разделяли с помощью горизонтального электрофореза, и после окрашивания геля этидием бромидом визуализировали с использованием трансиллюминатора.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием методов общей статистики.

Оценка достоверности проводилась по t-критерию Стьюдента. Вычисляли среднее значение показателя и стандартное отклонение. Различия считались достоверными при значении $p < 0.05$.

Количественное распределение больных, перенесших ишемический инсульт в зависимости от носительства полиморфизма генов представлено в таблице 1.

Таблица 1

Распределение вариантов полиморфизмов генов АПФ, eNOS, МТГФР у больных ишемическим инсультом

Ген	Полиморфизм	Полиморфизм	Полиморфизм
АПФ	II = 53 = 27,2%	ID = 76 = 38,9%	DD = 66 = 33,9%
eNOS	4b4b = 126 = 64,6%	4b4a = 59 = 30,3%	4a4a = 10 = 5,1%
МТГФР	CC = 85 = 43,6%	CT = 86 = 44,1%	TT = 24 = 12,3%

Таблица 2
Толщина КИМ в ОСА у больных, перенесших ИИ в зависимости от полиморфизмов гена eNOS, мм

Полушарие	Полиморфизм 4b4b	Полиморфизм 4b4a	Полиморфизм 4a4a
Пораженное	1,073±0,016	1,092±0,021	1,137±0,012*
Интактное	1,081±0,014	1,106±0,022	1,156±0,041

Примечание:

1.*- статистически достоверная разница между группами носителей 4b4b и 4b4a.

Таблица 3
Размер, мм и частота встречаемости стенотического поражения, % в ОСА у больных инсультом в зависимости от полиморфизмов гена eNOS

Полиморфизм гена eNOS	Размер бляшки, мм Пор.полушарие	Размер бляшки, мм Ин. полушарие	Стеноз % Пор. полушарие	Стеноз % Ин. полушарие
4b4b	2,221±0,073	2,14±0,064*	73,8±1,24	59,5±1,56
4b4a	2,35±0,097	2,521±0,129	77,96±1,89	50,85±2,18
4a4a	2,733±0,075**	2,175±0,199	80,2±1,53**	60,1±1,15

Примечание:

1.*- статистически достоверная разница между группами носителей 4b4b и 4b4a

2.**- статистически достоверная разница между группами носителей 4b4b и 4a4a

Таблица 4
Линейная систолическая скорость кровотока в экстра - и интракраниальных сосудах у больных, перенесших инсульт с различными полиморфизмами гена eNOS, см/с

Бассейн	Полушарие	4b4b	4b4a	4a4a
ОСА	Пораж.	62,49±1,33	58,03±1,81	56,61±1,09
	Интактн.	63,34±1,42*	70,349±1,58**	64,31±1,12
ВСА	Пораж.	54,42±1,46	52,45±1,84	45,57±1,49
	Интактн.	57,18±1,41	63,35±1,07	71,58±2,55#
ПА	Пораж.	34,78±0,81*	39,02±1,17**	29,91±1,83
	Интактн.	33,19±0,76	31,66±1,13	31,57±1,68
ПМА	Пораж.	71,65±1,52	64,42±2,26	53,25±2,25#
	Интактн.	72,42±1,83	67,04±2,31**	57,43±2,63#

Примечание:

1.*- статистически достоверная разница между группами носителей 4b4b и 4b4a

2.**- статистически достоверная разница между группами носителей 4b4a и 4a4a

3.# - статистически достоверная разница между группами носителей 4a4a и 4b4b

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Особенности церебральной гемодинамики в зависимости от полиморфизма гена eNOS наиболее выражены для больных ишемическим инсультом, носителей полиморфизма 4a4a. Так, для этой группы больных характерна самая большая толщина комплекса интима – медиа (КИМ) общей сонной артерии (ОСА) пораженного полушария (см. таб. 2), достоверно больший размер атеросклеротических бляшек (АСБ) и частота встречаемости стенозов в пораженном полушарии (см. таб. 3). Наиболее низкая

линейная систолическая скорость кровотока (ЛССК) отмечается в позвоночной артерии (ПА) и передней мозговой артерии (ПМА) пораженного, а также ПМА интактного полушария (см. таб. 4).

Анализ морфо - функциональных изменений церебральной гемодинамики у больных ишемическим инсультом с учетом полиморфизма гена МТГФР показал, что в этой группе больных выше частота встречаемости стенозов ОСА в пораженном полушарии (см. таб. 5), самая низкая ЛССК в ОСА, ВСА пораженного полушария и ПА интактного полушария (см. таб. 6).

Таблица 5

Размер, мм и частота встречаемости стенотического поражения, % в ОСА у больных инсультом в зависимости от полиморфизмов гена МТГФР

Полиморфизм гена МТГФР	Размер бляшки		Стеноз %	
	Пор. полушарие	Ин. полушарие	Пор. полушарие	Ин.полушарие
СС	2,292±0,089	2,313±0,101	62,35±1,35	51,76±1,48
СТ	2,224±0,089	2,228±0,085	61,63±1,64*	62,79±1,71
ТТ	2,309±0,15	2,161±0,139	70,83±1,36**	58,33±1,29

Примечание:

- 1.*- статистически достоверная разница между группами носителей ТТ и СТ
- 2.**- статистически достоверная разница между группами носителей ТТ и СС

Таблица 6

Линейная систолическая скорость кровотока в экстра - и интракраниальных сосудах у больных, перенесших инсульт с различными полиморфизмами гена МТГФР, см/с

Бассейн	Полушарие	СС	СТ	ТТ
ОСА	Пораж.	62,57±1,61	57,972±1,271	54,721±1,8#
	Интактн.	67,19±1,94	68,56±1,61	64,37±4,07
ВСА	Пораж.	56,52±2,01	52,41±1,825	47,827±1,44#
	Интактн.	56,45±1,92	62,98±2,37	59,75±2,06
ПА	Пораж.	35,588±1,07	36,253±0,91	38,583±1,58
	Интактн.	35,01±1,067*	31,118±0,941	30,721±1,074#
ПМА	Пораж.	72,468±3,558	63,153±5,214	72,563±7,101
	Интактн.	68,274±4,417	67,886±5,156	72,482±5,646

Примечание:

- 1.*- статистически достоверная разница между группами носителей СС и СТ
2. # - статистически достоверная разница между группами носителей ТТ и СС

По данным анализа состояния мозгового кровообращения не установлено выраженных особенностей в зависимости от полиморфизма гена АПФ,

за исключением большей толщины КИМ в ОСА пораженного полушария у больных, носителей полиморфизма DD гена АПФ (см. таб. 7).

Таблица 7

Толщина КИМ в ОСА у больных, перенесших ИИ в зависимости от полиморфизмов гена АПФ, мм

Полушарие	Полиморфизм II	Полиморфизм ID	Полиморфизм DD
Пораженное	1,048±0,025	1,087±0,018	1,18±0,024*
Интактное	1,069±0,023	1,104±0,019	1,07±0,025

Примечание:

1.*- статистически достоверная разница между группами DD и II полиморфизмов

ВЫВОДЫ

Таким образом, у больных ишемическим инсультом, гомозиготных носителей мутантных полиморфизмов генов eNOS (4a4a), МТГФР (ТТ), АПФ (DD) наиболее выражены морфологические изменения церебральных артерий (утолщение КИМ, больший размер АСБ и частота встречаемости стенотического поражения), а также снижение показателей ЛССК в отдельных артериях каротидного и вертебро - базилярного бассейнов.

ЛИТЕРАТУРА

- Иллариошкин С.Н. Генетика сосудистых заболеваний головного мозга/ С.Н. Иллариошкин// Очерки ангионеврологии /Под ред. З.А. Суслиной - М.: Атмосфер, 2005. – С.327-345.
- Коваленко В. Н. Гены эндотелиальных факторов и артериальная гипертензия/ В. Н.Коваленко, Е. Н.Рябокоть// Український кардіологічний журнал – 2003 – № 1 – С. 126-131.
- Кузнецова С.М. Хромосомний поліморфізм – біологічні та медичні аспекти/ С.М.Кузнецова, Н.В.Гур'янова, Н.В. Калашніков //Цитология и генетика. – 1996. – Т.30, №2. – С. 67-74.
- Лившиц Л.А. Роль полиморфизмов генов фактора 2, фактора 5 и метилентетрагидро-фолатредуктазы в патогенезе ишемического инсульта среди населения Украины/ Л.А.Лившиц, С.М. Кузнецова, Д.В. Шульженко и др. // Збірник праць XII Міжнародної конференції Актуальні напрямки в неврології: сьогодення та майбутнє, 25 - 28 квітня, 2010. – С. 18-25.
- Маниатис Т., Молекулярное клонирование / Маниатис Т., Фрич Е., Сэмбрук Е. ? М.: Мир, 1984. – 480 с. : ил. – Библиогр.: с.446-477
- Небиеридзе Д.В. Дисфункция эндотелия: клиническое значение и ее коррекция при артериальной гипертензии/ Д.В.Небиеридзе // Трудный пациент.– 2005.– №3.– С.28-34.
- Deanfield J. Endothelial function and dysfunction. / J. Deanfield, A. Donald, C. Ferri, C. Giannattasio et al. //Part I: Methodological issues for assessment in the different vascular beds: A statement by the Working group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. J. Hypertes.– 2005.– №23 (1) - P. 7–17.
- Saidi S. Association between renin-angiotensin-aldosterone system genotypes and haplotypes and risk of ischemic stroke of atherosclerotic etiology. /S. Saidi, S.G. Mallat, W.Y. Almawi et al.// Acta Neurol Scand. – 2009. – V.119(6) - P.356-63.
- Sharma P. Stroke genetics /Sharma P. Meschia J.F., Springer. – London, 2013. P.320
- Williams K.T Homocysteine metabolism and its relation to health and disease/ K.T.Williams, K.L. Schalinske. /Biofactors.– 2010. №.36(1). – P.19-24.