

13. Шмелева В.М. Гипергомоцистеинемия в патогенезе тромботических заболеваний // Трансфузиология. – 2006. – № 1. – С. 33–48.
14. Шмелева В.М., Гуржий А.А., Рыбакова Л.П. Оксидантный стресс – основа эндотелиальной дисфункции при гипергомоцистеинемии // Сборник материалов III Всерос. науч. конф. “Клиническая гемостазиология и реология в сердечно-сосудистой хирургии”. – М., 2007. – С. 262–263.
15. Califorano F, Giovaniello T, Pantone P. Clinical importance of thrombomodulin serum levels // European Review for Medical and Pharmacological Sciences. – 2000. – No. 4. – P. 59–66.
16. Vasse M., Denoyelle C., Corbiere C. Human endothelial cells synthesize protein C but not the protein C dependent inhibitor // Thromb. Haemost. – 2006. – No. 95 (3). – P. 519–523.
17. Dalal N.S., Suryan M.M., Vallayathan V. et al. Detection of reactive free radicals in fresh coal mine and their implicaton for pulmonary injury // Annals of Occupational Hygiene. – 1988. – No. 1. – P. 79–84.
18. Hayashi T, Honda G, Suzuki K. An atherogenic stimulus homocysteine inhibits cofactor activity of thrombomodulin and enhances thrombomodulin expression in human umbilical vein endothelial cells // Blood. – 1992. – No. 11. – P. 2930–2936.
19. Gyrel A., Armutzu F. et al. Evaluation of erythrocyte Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase and superoxidedismutase activities and makondialdehyde level alteration in coal miners // European Journal of General Medicine. – 2004. – No. 4. – P. 22–28.

Поступила 08.05.2013

#### Сведения об авторах

**Екимовских Александр Владимирович**, заведующий клинико-диагностической лабораторией Филиала ФГБУ НИИ общей реаниматологии РАМН в Новокузнецке, ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики ГБОУ ДПО “Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей”, врач

клинической лабораторной диагностики МБЛПУ “Городская клиническая больница №1”.

Адрес: 654057, г. Новокузнецк, ул. Бардина, 30/3.

E-mail: Alexandr-vek@rambler.ru.

**Чурляев Юрий Алексеевич**, докт. мед. наук, профессор, директор Филиала ФГБУ НИИ общей реаниматологии РАМН в г. Новокузнецке, заведующий кафедрой анестезиологии-реанимации ГБОУ ДПО НГИУВ Минздрава России.

Адрес: 654057, г. Новокузнецк, ул. Бардина, 30.

E-mail: chur15@yandex.ru.

**Епифанцева Наталья Николаевна**, канд. мед. наук, старший научный сотрудник Филиала ФГБУ НИИ ОР РАМН в г. Новокузнецке; доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ГБОУ ДПО НГИУВ МЗ России.

Адрес: 654057, г. Новокузнецк, ул. Бардина, 30/3.

**Кан Сергей Людовикович**, канд. мед. наук, ассистент кафедры анестезиологии и реаниматологии ГБОУ ДПО НГИУВ МЗ России.

Адрес: 654057, г. Новокузнецк, ул. Бардина, 30.

E-mail: kansergey1980@mail.ru.

**Даницгер Дмитрий Григорьевич**, докт. мед. наук, профессор, заведующий кафедрой организации здравоохранения и общественного здоровья ГБОУ ДПО НГИУВ МЗ России.

Адрес: 654057, г. Новокузнецк, ул. Бардина, 28.

**Редкокаша Лариса Юрьевна**, канд. мед. наук, заведующая отделением функциональной диагностики МБЛПУ “ГКБ №1”.

Адрес: 654057, г. Новокузнецк, ул. Бардина, 32.

УДК 616.8:616-053.2

## ДЕТСКИЙ ИШЕМИЧЕСКИЙ ИНСУЛЬТ: ВКЛАД ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА И ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

О.А. Львова<sup>1</sup>, В.В. Гусев<sup>1</sup>, О.П. Ковтун<sup>1</sup>, И.В. Гаврилов<sup>1</sup>, А.Н. Решетова<sup>1</sup>, А.Э. Степанова<sup>1</sup>,  
Е.С. Ворошилина<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО “Уральская государственная медицинская академия” Минздрава России, Екатеринбург

<sup>2</sup>ООО МЦ “Гармония”, Екатеринбург

E-mail: olvova@bk.ru

## ISCHEMIC STROKE IN CHILDREN: THE ROLE OF FOLATE PATHWAY GENETIC POLYMORPHISMS AND HYPERHOMOCYSTEINEMIA

O.A. Lvova<sup>1</sup>, V.V. Gusev<sup>1</sup>, O.P. Kovtun<sup>1</sup>, I.V. Gavrilov<sup>1</sup>, A.N. Reshetova<sup>1</sup>, A.E. Stepanova<sup>1</sup>, E.S. Voroshilina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>The Ural State Medical Academy, Yekaterinburg

<sup>2</sup>Medical Centre “Garmonia”, Yekaterinburg

В статье приведены результаты исследования аллельных вариантов генов фолатного цикла у 59 и уровня гомоцистеина у 47 детей с ишемическим инсультом в сравнении с 83 здоровыми. Вариант MTHFR: 677 CT и TT зарегистри-

ирован у половины пациентов – 47,5%, получены достоверные отличия по носительству генотипов MTHFR: 677 TT и 1298 CC (ОШ $\geq$ 4,2;  $p\leq$ 0,03). Сочетание с другими протромботическими полиморфизмами выявлены в 10,2% случаев, при этом вероятность инсульта существенно повышается (ОШ–9,3,  $p\leq$ 0,02). Гипергомоцистемия зарегистрирована в 83,7% случаев, ее уровень достоверно выше у мальчиков, не зависит от количества однонуклеотидных замен и прогрессивно повышается с возрастом детей.

**Ключевые слова:** инсульт, полиморфизм генов фолатного цикла, гипергомоцистеинемия, дети.

The article presents data on folate pathway genetic polymorphisms ( $n=57$ ) and level of homocysteine ( $n=47$ ) in children with ischemic stroke compared with healthy children ( $n=83$ ). Variant MTHFR: 677 CT and TT was registered in 47.5% of patients; the carriers of MTHFR: 677 TT and 1298 CC had increased risk of stroke (OR $\geq$ 4.2;  $p\leq$ 0.03). The combination of folic acid genes with thrombophilia polymorphisms were found in 10.2% of patients and the risk of stroke increased as well (OR–9.3,  $p\leq$ 0.02). The high level of homocysteine was registered in 83.7% increasing along with the age of patients independently on the number of pathological alleles. Boys demonstrated the highest rate of hyperhomocysteinemia.

**Key words:** folate pathway genetic polymorphisms, homocysteine, stroke, children.

## Введение

Актуальность проблемы острых нарушений мозгового кровообращения у детей обусловлена как высоким уровнем смертности, частым формированием инвалидирующих последствий, так и значительной склонностью к рецидивирующему течению [18, 36].

Полагают, что именно генетически детерминированные тромбофилии на ранних этапах жизни являются наиболее значимыми из всех причин ишемических инсультов (ИИ), повышают риск развития инсульта в среднем 3–7 раз и становятся базой для рецидивирующего течения болезни [5, 18, 22, 25, 27]. В то же время врожденные нарушения коагуляции представлены у детей с ИИ в разных регионах земного шара не одинаково, их роль изучена не до конца и, наконец, оспаривается рядом авторов [15, 17, 22, 23].

Внимание исследователей привлекают аллельные варианты генов, которые не могут быть однозначно названы тромбофильными, однако непосредственным образом влияют на систему гемостаза, состояние сосудистой стенки и обладают протромботическим действием. К таким однонуклеотидным заменам относят изменения в структуре генов фолатного цикла. Фенотипическим маркером носительства полиморфных генов является гипергомоцистеинемия (ГГЦ). Несмотря на то, что проблема тромбофильного статуса активно изучается представителями различных медицинских специальностей, сведения о распространенности полиморфизмов, ассоциированных с нарушениями обмена гомоцистеина, вариантах ген-генных сочетаний с другими тромбофильными аллелями у детей немногочисленны [22].

## Материал и методы

Нами проведено определение однонуклеотидных замен в генах, кодирующих ферменты фолатного цикла: MTHFR: 677C>T, MTHFR: 1298A>C, MTRR: 66A>G, MTR: 2756 A>G методом ПЦР в режиме реального времени в препаратах ДНК, полученных из цельной периферической крови у 59 детей, перенесших ИИ в возрасте до 18 лет (32 мальчика и 27 девочек). Взятие крови осуществлялось в вакуумные пластиковые пробирки типа S-Monovette (Sarstedt) объемом 2,6 мл с добавлением в качестве антикоагулянта динатриевой соли этилендиаминтетраацетата в конечной концентрации 2,0 мг/мл. Выде-

ление ДНК, полимеразную цепную реакцию, анализ продуктов проводили с использованием комплекта реагентов для определения генетических полиморфизмов “Генетика Метаболизма Фолатов” производства ООО “НПО ДНК-Технология” (Протвино, Россия) в соответствии с инструкцией. Нами проведен анализ частоты встречаемости как отдельных полиморфных вариантов генов, контролирующих работу ферментов фолатного цикла, так и их комбинации, в том числе с однонуклеотидными заменами тромбофильного спектра (FGB: -455 G>A, F2: 20210 G>A, F5: 1691 G>A, ITGA2: 807 C>T, ITGB3: 1565 T>C, PAI-1: -675 5G4G) и генов эндотелиальной нитрооксидсинтетазы (NOS3: 786 T>C, NOS3: 894 G>T), исследованных у этих больных ранее по той же методике. В группу сравнения вошли образцы крови 83 здоровых человек в возрасте от 18 лет до 45 лет, обоих полов, которые не имели в анамнезе тромботических событий любой локализации.

Уровень гомоцистеина определили у 47 пациентов, за нормальные значения принимали: менее 5 мкмоль/л для больных в возрасте до 10 лет, менее 10 мкмоль/л – для детей 10–15 лет, менее 15 мкмоль/л – старше 15 лет [10]. Определение гомоцистеина проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа в лаборатории МБУ Екатеринбургского диагностического центра.

Группа сформирована из пациентов, поступивших в неотложном порядке в неврологическое отделение МБУ ДГКБ № 9 г. Екатеринбурга. Определение уровня гомоцистеина проходило в течение первой-второй недели, детекция носительства указанных полиморфизмов – в сроки до 1 мес. от факта подтверждения диагноза ИИ.

Ведущим критерием включения в исследование стали: детский возраст; славянское происхождение; подтвержденный по клиническим данным, результатам компьютерной томографии головного мозга и люмбальной пункции диагноз ИИ (I63.0-I63.9 по МКБ-10); информированное согласие. Критериями исключения стали: этап дифференциальной диагностики острых нарушений мозгового кровообращения; отсутствие результатов генотипирования; возраст старше 18 лет.

Обработка данных проводилась с помощью пакета программ STATISTICA 6.0 с расчетом отношения шансов (ОШ), 95%-го доверительного интервала (ДИ), точного критерия Фишера для определения отличия частоты регистрации генотипов внутри исследуемой группы.

## Результаты и обсуждение

До момента появления симптоматики инсульта никому из пациентов диагноз тромбофилии или гипергомоцистеинемии установлен не был. До этапа генотипирования у 69,5% больных этиология инсульта оставалась неизвестной, патогенетический вариант не установлен. Можно предположить, что уровень ориентированности врачей-педиатров амбулаторного звена в феноменологии генетически детерминированной ГПЦ, отсутствие информации о необходимости и возможности обследования привели к недооценке клинической и лабораторной картины болезни вне периода тромбообразования, отсутствию мер первичной профилактики в плане врачебного сопровождения маленьких пациентов.

Необходимо отметить, что абсолютное большинство обследованных (83,1%) были носителями от 1 до 4 (в среднем  $2,18 \pm 0,7$ ) полиморфизмов, т.е. имели разнообразные ген-генные сочетания, которые уже реализовались в виде тромботического события в нетипичном возрасте. Интересен тот факт, что два ребенка, у которых зафиксирован нормальный генотип (так называемые “дикие” аллельные варианты), имели превышение показателей гомоцистеина в крови в три раза – 18,4 и 18,7 мкмоль/л. Такие результаты и возраст девочек (до 1 года) заставили нас провести дополнительную диагностику для исключения гомоцистинурии. Результаты тандемной масс-спектрометрии и консультация врача-генетика позволили исключить это тяжелое моногенное заболевание обмена.

Встречаемость описанных мутаций и их комбинации у обследуемых больных представлены в таблицах 1, 2.

Частота регистрации аллельных вариантов превышала значения, описанные для здоровых [40] и полученные в контрольной группе. Однако одиночное носительство этих аллелей не приводило к существенному повышению риска тромботических событий, достоверные отличия получены только по гомозиготным вариантам однонуклеотидных замен в гене, кодирующем структуру и работу

фермента метилентетрагидрофолатредуктазы (МТНФР). По данным литературы, индивиды с гомозиготным вариантом МТНФР 677 ТТ демонстрируют снижение активности фермента на 60-70%, с гетерозиготным – на 35%, в менее выраженной степени в случае полиморфизма 1298 А>С [8, 24]. Комбинация аллелей 677С>Т и 1298 А>С сопровождается снижением активности фермента, повышением концентрации гомоцистеина и снижением уровня фолиевой кислоты в той же мере, как при носительстве 677 ТТ, при этом риск ИИ в молодом и детском возрасте увеличивается в 3,39 раза [13, 28, 30, 31, 37]. Показано достоверное преобладание Т-аллели гена МТНФР у мальчиков с ИИ ( $p < 0,019$ ) [36, 37]. Среди наших пациентов половина была носителями полиморфизмов этого гена (МТНФР 677СТ, 677 ТТ, 1298АС, 1298 СС), а комбинация однонуклеотидных замен в этом гене встречалась в каждом пятом случае.

В то же время клиническое значение мутантных генов фолатного цикла существенно отличается у людей, проживающих в европейской, американской и азиатской частях света. В корейской популяции больных с ИИ более высокая концентрация гомоцистеина зарегистрирована в случае “дикого” аллеля МТНФР 2756 АА, протромботическим считается его носительство в сочетании с МТНФР 677 СТ [23]. В ряде регионов (жители Италии, Китая) “патологический” аллель МТНФР 2756 GG проявляет протективный эффект в отношении развития артериального тромбоза [15, 38]. Эти сведения нашли подтверждение в нашем исследовании: нормальный вариант строения гена МТНФР 2756 АА лабораторно сопровождался более выраженными изменениями биохимического маркера, чем в случае с носительством аллелей 2756 АГ и 2756 GG, уровень ГПЦ всегда превышал 10 мкмоль/л.

Итак, однонуклеотидные замены в генах фолатного цикла определяют снижение активности ферментов, обеспечивающих метаболизм гомоцистеина, и могут привести к гипергомоцистеинемии. Известно, что увеличение уровня гомоцистеина всего на 1 мкмоль/л сопряже-

Таблица 1

### Результаты обследования больных с ИИ (n=59) на носительство полиморфизмов генов системы гемостаза в сравнении со здоровыми (n=83), уровень гомоцистеина крови

Мутация (полиморфизм)	Норма (“дикий” вариант) у детей с ИИ, абс.	Всего мутаций у детей с ИИ, абс.	Всего мутаций у здоровых, абс.	ОШ 1	Критерий Фишера	Гетерозиготный вариант у детей с ИИ, абс.	Гомозиготный вариант у детей с ИИ, абс.	Всего гомозиготных вариантов у здоровых, абс.	ОШ 2	Критерий Фишера
Метилентетрагидрофолатредуктаза МТНФР: 677 С>Т	31	28	31	0,5	0,15	20	8	3	4,2	0,03
Уровень гомоцистеина, мкмоль/л	$10,5 \pm 1,1$	$11,7 \pm 1,2$				$9,2 \pm 1,3^{**}$	$21,1 \pm 1,2$			
Метилентетрагидрофолатредуктаза МТНФР: 1298 А>С	26	33	38	1,5	0,15	24	9	3	3	0,01
Уровень гомоцистеина, мкмоль/л	$12,5 \pm 1,2$	$10,1 \pm 1,3$				$9,8 \pm 1,3$	$10,7 \pm 1,1$			
Метионинсинтетаза МТНФР: 2756 А>Г	37	22	31	0,99	0,57	20	2	4	4	0,79
Уровень гомоцистеина, мкмоль/л	$12,9 \pm 1,1^*$	$7,8 \pm 1,2$				$6,8 \pm 1,3$	$8,7 \pm 1,3$			
Метионинсинтетаза-редуктаза МТНФР: 66 А>Г	17	42	58	1,06	0,51	25	17	20	1,25	0,33
Уровень гомоцистеина, мкмоль/л	$8,3 \pm 1,2^*$	$12,3 \pm 1,2$				$14,0 \pm 1,1^{**}$	$9,6 \pm 1,2$			

Примечание: ОШ 1 – отношение шансов при сравнении носительства полиморфизмов у пациентов с ИИ и здоровых; ОШ 2 – отношение шансов при сравнении носительства полиморфизмов у пациентов с ИИ в гомозиготном варианте и здоровых; \* –  $p < 0,05$  при сравнении уровня гомоцистеина носителей “дикого типа” и полиморфных вариантов генов; \*\* –  $p < 0,05$  при сравнении уровня гомоцистеина носителей гетерозиготного и гомозиготного вариантов генов.

Таблица 2

**Варианты ген-генных сочетаний у детей с ИИ (n=59) и в контрольной группе (n=83)**

Варианты сочетаний	Уровень гомоцистеина, мкмоль/л	ИИ, абс.	ИИ, %	Здоровые, абс.	ОШ	ДИ	Критерий Фишера
MTHFR 677 CT + MTHFR 1298 AC	9,7±1,3	12	20,3	10	1,8	0,7–4,7	0,13
MTHFR 677 CT + MTR 2756 AG	8,8±1,2***	8	13,6	12	0,9	0,3–2,5	0,99
MTHFR 677 CT + MTR 2756 AA*	14,1±1,3	19	32,2	18	1,7	0,79–3,7	0,11
MTHFR 677 CT + MTHFR 1298 AC + MTR 2756 AG	0	0	0	3	–	–	–
MTHFR 677 CT + MTHFR 1298 AC + MTR 2756 AA*	10,5±1,2	10	16,9	7	2,2	0,8–6,3	0,10
MTHFR 677 CT + MTHFR 1298 AC + MTRR 66 AG	10,2±1,1	8	13,6	7	1,7	0,6–5,1	0,23
MTHFR 677 CT + MTRR 66 AG + MTR 2756 AG	6,4±1,1***	6	10,2	4	2,2	0,8–8,5	0,18
MTHFR 677 CT + MTRR 66 AG + MTR 2756 AA*	15,2±1,2	15	25,4	11	2,2	0,9–5,4	0,05
MTHFR 1298 AC + MTRR 66 AG + MTR 2756 AG	11,3±1,3	4	6,8	8	0,7	0,2–2,4	0,83
MTHFR 1298 AC + MTRR 66 AG + MTR 2756 AA*	11,2±1,2	18	30,5	18	1,58	0,7–3,4	0,15
MTHFR 677 CT + MTHFR 1298 AC + MTRR 66 AG + MTR 2756 AG	6,1±1,3	2	3,4	2	1,4	0,2–1,1	0,55
MTHFR 677 CT + MTHFR 1298 AC + MTRR 66 AG + MTR 2756 AA*	11,3±1,1***	8	13,6	5	2,4	0,7–8,1	0,11
MTHFR 677 CT, MTHFR 1298 AC, MTRR 66 AG, MTR 2756 AG + FGB: -455 GA, F2: 20210 GA, F5: 1691 GA + ITGA2: 807 CT, ITGB3: 1565 TC + PAI-1: -675 5G4G + NOS3 786 TC, NOS3 894 GT**	12,5±0,9***	14	23,7	1	25,5	3,1–208,9	0,00001
MTHFR 677 CT, MTHFR 1298 AC, MTRR 66 AG + MTR 2756 AA* + FGB: -455 GA, F2: 20210 GA, F5: 1691 GA + ITGA2: 807 CT, ITGB3: 1565 TC + PAI-1: -675 5G4G + NOS3 786 TC, NOS3 894 GT**	16,6±1,1	6	10,2	1	9,3	1,0–82,8	0,02

Примечание: \* – нормальный тип гена MTR 2756AA может расцениваться как ведущий к гипергомоцистеинемии; \*\* – сочетание засчитывалось при наличии хотя бы одного мутантного гена из каждой группы, хотя бы в гетерозиготном состоянии; \*\*\* –  $p < 0,05$  при сравнении уровня гомоцистеина носителей “дикого типа” гена MTR 2756AA и полиморфного варианта MTR 2756 AG; ИИ – ишемический инсульт; ОШ – отношение шансов при сравнении показателей у пациентов с ИИ и здоровых.

но с 10%-м риском развития сердечно-сосудистой патологии и увеличивает вероятность инсульта на 5,17% [12]. У пациентов молодого возраста, впервые перенесших ИИ, его уровень был достоверно выше, чем в контрольной группе; ГЦ была обнаружена у 18% детей, перенесших ИИ, что в 4,4 раза превышало ее встречаемость в контрольной группе [33].

Зафиксированный нами средний уровень гомоцистеина превышал возрастные нормативы: для детей до 10 лет он составил 11,1±1,2 мкмоль/л, старше – 15,7±1,1 мкмоль/л. Прослеживается тенденция к неуклонному нарастанию содержания гомоцистеина в крови с возрастом пациентов с превышением нормы в полтора–два раза. Так, в случае дебюта ИИ до 1 года показатель составил 10,6±0,9 мкмоль/л (7,58–17,3 мкмоль/л), от 1 до 10 лет – 14,2±1,1 мкмоль/л (3,52–34 мкмоль/л), от 11 до 15 лет – 15,7±0,9 мкмоль/л (6,19–37,5 мкмоль/л), старше 15 лет – 21,2±1,1 мкмоль/л (17,1–39,5 мкмоль/л). В то же время количество полиморфизмов непосредственно не влияло на показатель гипергомоцистеинемии: у больных с одним мутантным геном ее уровень был 8,4±1,1 мкмоль/л (n=12), с двумя – 12,6±1,3 мкмоль/л (n=28), тремя и более (n=19) – 11,3±1,2 мкмоль/л.

Только четыре девочки (6,8%) имели нормальное содержание гомоцистеина в крови, при этом у них выявлены от 1 до 3 однонуклеотидных замен, в том числе носительство MTHFR 677 TT. Нами отмечено преобладание мужского пола среди пациентов с гипергомоцистеинемией: 13,8±1,2 и 9,1±1,3 мкмоль/л (для мальчиков и девочек соответственно,  $p < 0,05$ ). Описанные различия прослеживались во всех возрастных периодах: например, у младенцев с дебютом ИИ в возрасте до 1 года (n=11) показатели гомоцистеина составили 12,3 мкмоль/л у маль-

чиков и 7,6 мкмоль/л у девочек ( $p < 0,05$ ).

Носительство самой изученной однонуклеотидной замены также не влияло на уровень гипергомоцистеинемии (10,5±1,2 и 11,7±1,3 мкмоль/л у пациентов без и с мутацией MTHFR 677C>T соответственно,  $p > 0,05$ ), однако гомозиготный вариант гена вносил существенную коррективу и без того высокий показатель ГЦ – 21,1±1,2 мкмоль/л (n=8;  $p < 0,05$ ). В то же время другая природа гипергомоцистеинемии в детском возрасте вполне возможна. Как было указано выше, в нашем исследовании выявлены пациенты с “нормальным” генотипом изучаемых полиморфизмов по фолатному циклу и ГЦ более 18,4 мкмоль/л. Дебют инсульта у них пришелся на грудной возраст, что вполне может указывать на гомоцистинурию [3]. Таким образом, независимо от генотипа, оценка уровня гомоцистеина в крови в случае дебюта инсульта в детском возрасте должна стать обязательной частью диагностического комплекса [36].

Гомоцистеин является продуктом превращения незаменимой аминокислоты метионина, а повышенное его содержание в крови может быть вызвано алиментарным микронутриентным дисбалансом: избытком поступления метионина или дефицитом витаминов группы В и/или фолиевой кислоты, что в клинической практике встречается относительно редко [16, 29, 34]. Генетически детерминированные нарушения функции ферментов фолатного цикла известны давно, однако более ассоциировались с пороками развития нервной трубки плода [4, 11, 29] или группой наследственных болезней обмена с крайне редкой частотой регистрации [3].

В настоящее время накопились данные, что гипергомоцистеинемия запускает ряд прокоагуляционных механизмов, меняет состояние сосудистой стенки и ведет к

заболеваниям церебро- и кардиоваскулярного спектра [1, 6, 35]. Протромботическое действие гомоцистеина реализуется через несколько механизмов. Он активирует XII и V факторы свертывания крови, усиливает экспрессию тканевого фактора, подавляет выработку тромбомодулина [6, 26], а также способствует развитию резистентности к активированному протеину С [32].

Гипергомоцистеинемия принимает непосредственное участие в известных патологических каскадах, запускаемых гипоксией. Известно, что гомоцистеин подавляет экспрессию глутатион-пероксидазы, таким образом снижая уровень антиоксидантной защиты. Активные формы кислорода анксиоренно связывают оксид азота, снижение биодоступности которого также снижает атерогенные свойства сосудистой стенки, способствует гиперагрегации тромбоцитов [14, 39]. Образование перекисей определяет эндотелий-токсичные свойства гомоцистеина и его прокоагулянтное действие: поврежденный эндотелий, обнаженные субэндотелиальные структуры и гладкомышечные клетки инициируют процессы агрегации тромбоцитов [35].

Исправная работа ферментов фолатного цикла – один из важнейших регуляторов концентрации гомоцистеина в крови. В контексте понимания механизмов гиперкоагуляции с участием гомоцистеина интересно отследить варианты ген-генных сочетаний фолатного цикла с другими мутациями прокоагулянтного спектра и регуляторов тонуса сосудов (табл. 2). Наследственные тромбофилии признаны в качестве одного из механизмов поражения нервной ткани у детей, не уступающего по частоте встречаемости и значимости гипоксии [18, 22, 36]. Клиническое значение и популяционные характеристики полиморфизмов генов оксидсинтеза, их влияние на содержание оксида азота еще изучаются. Полагают, что носительство патологических аллелей оксидсинтеза ведет к повышению риска кардио- и цереброваскулярных заболеваний [2, 9, 20, 21, 39].

Среди наших пациентов в каждом пятом случае отмечены комбинации с участием однонуклеотидных замен в генах эндотелиальной нитрооксидсинтазы (NOS3: 786 T>C, NOS3: 894 G>T), тромбофилии и ГГЦ более  $12,5 \pm 1,2$  мкмоль/л. Показано, что больные с протромботическими мультигенными комбинациями могут быть отнесены в группу высокого риска по формированию повторных тромботических событий (венозных и артериальных) различной локализации (кардио- и цереброваскулярных, тромбозов вен кишечника, конечностей, почек и пр.) [9]. Известно, что каждый пятый ребенок с ИИ переносит его повторно, а гипергомоцистеинемия и носительство MTHFR: 677 C>T являются независимыми факторами риска этих рецидивов [19, 25, 36]. Например, пациентка К. с дебютом ИИ в возрасте 11 лет и двумя транзиторными ишемическими атаками в анамнезе имела уровень ГГЦ 34 мкмоль/л и следующую комбинацию генов тромбофилии: FGB: -455 G>A, ITGA2: 807 C>T, PAI-1: -675 4G4G, фолатного цикла MTHFR: 677 TT, MTR: 2756 AA, MTRR: 66 GG и гомозиготный вариант NOS3: 894 TT.

Такие дети нуждаются в тщательном и персонализированном подборе мер первичной и вторичной профилактики, мониторинге уровня гомоцистеина, состояния

гемостаза и артериального давления в периоды возрастных кризисов. Всем пациентам с зарегистрированной ГГЦ, наряду с традиционной антитромботической терапией, были назначены препараты фолиевой кислоты и витаминов группы В в возрастных дозировках [3, 29, 36], рекомендованы продукты питания, обогащенные этими нутриентами. Лабораторный контроль показателей работы фолатного цикла первый раз проводился через 2 недели, 1,5–2 мес., затем с частотой один раз в полгода. Средний уровень гомоцистеина при первой проверке составил в группе детей до 10 лет 4,2 мкмоль/л, 10–15 лет – 6,7 мкмоль/л, 15–18 лет – 7,8 мкмоль/л и оставался на этом уровне в заявленные сроки наблюдения. Катамнез в течение 3 лет показал отсутствие повторных эпизодов острого нарушения мозгового кровообращения у 91,1% детей. Длительность наблюдения за нашими пациентами, конечно же, не позволяет сделать однозначные и далеко идущие выводы. Тем не менее, верификация патогенетического варианта инсульта, назначение адресной и недорогой вторичной профилактики, быстрый отклик биохимического маркера носительства генов-кандидатов тромботических событий дает надежду на благополучное течение болезни.

## Заключение

Полученные в ходе исследования данные могут достаточно полно характеризовать спектр полиморфизмов генов фолатного цикла у детей с ИИ. В то же время для оценки их значимости в качестве единственного фактора риска ишемии или в комбинации с другими мутациями требуется большее число исследований и формирование большей по численности группы контроля. Популяционных данных в мире, по России и по отдельным регионам нашей страны, чтобы судить о частоте регистрации тех или иных аллелей у здоровых и у детей в клинических группах, недостаточно. Значимых различий по полу и возрасту дебюта острых нарушений мозгового кровообращения между носителями гетеро- и гомозиготных генотипов не получено, что, вероятно, связано с недостаточной численностью больных в выборке. Однако прослеживается тенденция к увеличению вероятности фенотипической реализации совокупности мутантных генов по мере взросления пациентов.

В целом следует заметить, что наличие однонуклеотидных замен в генах, влияющих на систему свертывания крови и состояние сосудистой стенки, не является фатальным фактором, неизбежно ведущими к тромботическим событиям (за исключением некоторых вариантов гомозиготного носительства). Несмотря на то, что частота врожденных протромботических состояний у детей при ИИ довольно высока, генотипирование не входит ни в один стандарт диагностики цереброваскулярной патологии [18, 36]. В повседневной практике рекомендовано обращать внимание на количество выявленных мутаций, варианты ген-генных сочетаний и их фенотипические маркеры: состояние гемостаза, содержание гомоцистеина, уровень оксида азота, мониторинг артериального давления.

Гипергомоцистеинемия обладает полимодальным

действием: форсирует каскад свертывания и эндотелиоз, ингибирует антикоагулянтные механизмы, поддерживает течение гипоксических и воспалительных процессов. В свою очередь, каскадный механизм микротромбообразования на генетически детерминированном фоне драматическим образом влияет на перфузионную ситуацию в месте тромбоза, запуская некротические и апоптотические механизмы гибели нервной клетки.

Итак, инсульт в детском возрасте – это яркий представитель мультифакторной патологии, требующий комплексного и индивидуального подхода на всех этапах диагностики. Выявление генов-кандидатов, формирующих предрасположенность к нему, представляет одну из приоритетных задач для исследователей этой проблемы. Трактовка механизмов фенотипической реализации описанных мутаций трудна и не всегда имеет прямые клинические, биохимические и гемостазиологические маркеры. В то же время их выявление представляет большую практическую ценность для рядового невролога, значимо влияет на процесс дифференциальной диагностики, подходы к лечению и профилактике.

## Литература

- Болдырев А.А. Молекулярные механизмы токсичности гомоцистеина // *Биохимия*. – 2009. – Т. 74, № 6. – С. 725–736.
- Карпенко М.А., Шацкая Е.Г., Солнцев В.Н. и др. Острые цереброваскулярные катастрофы у больных артериальной гипертензией: молекулярно-генетические аспекты // *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. – 2008. – № 1. – С. 33–38.
- Наследственные нарушения нервно-психического развития детей : руководство для врачей / под ред. П.А. Темина, Л.З. Казанцевой. – М. : Медицина, 2001. – С. 44–52.
- Плоцкий А.Р., Егорова Т. Ю., Сидорова Л.Н. Оценка уровня гомоцистеина в плазме беременных женщин с врожденными пороками развития плода // *Охрана материнства и детства*. – Т. 2, № 8. – С. 37–41.
- Ранние ишемические инсульты и гематогенные тромбофилии : методическое пособие для врачей / под ред. А.П. Момота. – Барнаул, 2009. – 58 с.
- Спиридонов М.Г., Степанов В.А., Пузырев В.П. О роли полиморфных вариантов гена 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний // *Клиническая медицина*. – 2001. – № 2. – С. 10–16.
- Тадгаева З.Г., Кацадзе Ю.Л. Полиморфизм гена метилентетрагидрофолатредуктазы, гипергомоцистеинемия и возможности ее медикаментозной коррекции при мигрени у детей // *Казанский медицинский журнал*. – 2007. – 88 (1) – С. 16–20.
- Фетисова И.Н., Добролюбов А.С., Липин М.А. Полиморфизм генов фолатного обмена и болезни человека // *Вестник новых медицинских технологий*. – 2007. – Т. 10, № 1. – С. 12–17.
- Шевченко О.В., Свистунов А.А., Бородулин В.Б. и др. Генетические основы патогенеза эссенциальной артериальной гипертензии (обзор) // *Саратовский научно-медицинский журнал*. – 2011. – Т. 7, № 1. – С. 83–87.
- Шевченко О.П., Олефиренко Г.А., Червякова Н.В. Гомоцистеин. – М., 2002. – 48 с.
- Afman L.A., Blom H.J., Drittij M.J. et al. Inhibition of transmethylation disturbs neurulation in chick embryos // *Brain Res. Dev. Brain Res*. – 2005. – Vol. 158, No. 12. – P. 59–65.
- Boushey L.D., Beresford S.A., Omenn G.S. et al. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes // *J.A.M.A.* – 1995. – No. 274. – P. 1049–1057.
- Cardo E., Monry E., Colomí C. et al. Children with stroke: polymorphism of the MTHFR gene, mild hyperhomocysteinemia, and vitamin status // *J. Child Neurol*. – May, 2000. – Vol. 1 (5). – P. 295–298.
- Cattaneo M. Hyperhomocysteinemia, atherosclerosis and thrombosis // *Thromb. Haemost.* – 1999. – Vol. 81. – P. 165–176.
- De Marco P., Calevo M.G., Moroni A. et al. Study of MTHFR and MS polymorphisms as risk factors for NTD in the Italian population // *J. Hum. Genet.* – 2002. – Vol. 47 (6). – P. 319–324.
- Fillon Emery N., Chango A., Mircher C. et al. Homocysteine concentrations in adults with trisomy 21: effect of B vitamins and genetic polymorphisms // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2004. – Vol. 80, No. 6. – P. 155–157.
- Franco R.F., Araujo A.G., Guerreiro J.F. et al. Analysis of the 677C>T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in different ethnic groups // *Thromb. Haemost.* – 1998. – Vol. 79 (1). – P. 119–121.
- Ganesan V., Chong K., Evans J. et al. (The Pediatric Stroke Working Group). Stroke in childhood: clinical guidelines for diagnosis, management and rehabilitation [Электронный ресурс]. – URL: [http://www.rcplondon.ac.uk/pubs/books/childstroke/childstroke\\_guidelines.pdf](http://www.rcplondon.ac.uk/pubs/books/childstroke/childstroke_guidelines.pdf) (дата обращения 14.07.2012).
- Ganesan V., Prengler M., McShane M. et al. Investigation of risk factors in children with arterial ischemic stroke // *Ann. Neurol*. – 2003. – Vol. 53. – P. 167–173.
- Ichihara A., Imig J.D., Inscho E.W. et al. Cyclooxygenase-2 participates in tubular flow-dependent afferent arteriolar tone: interaction with neuronal NOS // *Am. J. Physiol.* – 1998. – Vol. 275. – P. 605–612.
- Izawa H., Yamada Y., Okada T. et al. Prediction of Genetic Risk for Hypertension // *Hypertension*. – 2003. – Vol. 41. – P. 1035–1040.
- Kenet G., Ltykhoff L.K., Alibetti M. et al. Impact of thrombophilia on risk of arterial ischemic stroke or cerebral sinovenous thrombosis in neonates and children: a systematic review and meta-analysis of observational studies // *Circulation*. – 2010. – Vol. 121. – P. 1838–1847.
- Kim O.J., Hong S.P., Ahn J.Y. et al. Influence of combined methionine synthase (MTR 2756A>G) and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR 677 C>T) polymorphisms to plasma homocysteine levels in Korean patients with ischemic stroke // *Yonsei Med. J.* – 2007. – Vol. 48 (2). – P. 201–209.
- Landman L.G., Cole D.E.C. Homocystein // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* – 1999. – Vol. 36. – P. 365–406.
- Launthier S., Carmant L., David M. et al. Stroke in children : the coexistence of multiple risk factors predicts poor outcome // *Neurology*. – 2000. – Vol. 54. – P. 371–378.
- Malinow M.R. Homocystein and arterial occlusive disease // *J. Intern. Med.* – 1994. – Vol. 236. – P. 603–617.
- Pavlakis S.G., Levinson K. Arterial ischemic stroke: common risk factors in newborns and children // *Stroke*. – 2009. – Vol. 40. – P. 79–81.
- Rook J.L., Nugent D.J., Young G. Pediatric stroke and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutations // *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* – 2005. – Vol. 27 (11). – P. 590–593.
- Rosenquist T.H. Homocysteine induces congenital defects of the heart and neural tube: effect of folic acid // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1996. – Vol. 93 (26). – P. 152–153.
- Sazci A., Ergul E., Tuncer N. et al. Methylenetetrahydrofolate

- reductase gene polymorphisms are associated with ischemic and hemorrhagic stroke: dual effect of MTHFR polymorphisms C677T and A1298C // *Brain Res. Bull.* – 2006. – Vol. 71 (1–3). – P. 45–50.
31. Szolnoki Z., Somogyi F., Szaby M. et al. Interactions between the MTHFR C677T and MTHFR A1298C mutations in ischaemic stroke // *Ideggyogy Sz.* – 2006. – Vol. 59 (3–4). – P. 107–112.
32. Udas A., Williams E.B., Butenas S. et al. Homocysteine inhibits inactivation of factor Va by activated protein C // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276. – P. 4389–4439.
33. Van Beynum I. M., Smeitink J.A.M., den Heijer Martin et al. Hyperhomocysteinemia – a risk factor for ischemic stroke in children // *Circulation.* – 1999. – Vol. 99. – P. 2070–2072.
34. Wald D.S., Bishop L., Wald N.J. et al. Randomized trial of folic acid supplementation and serum homocysteine levels // *Arch. Intern. Med.* – 2001. – Vol. 161, No. 5. – P. 695–700.
35. Welch G., Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis // *N. Engl. J. Med.* – 1998. – Vol. 338 (15). – P. 1042–1050.
36. Writing Group of the American Heart Association Stroke Council and the Council On Cardiovascular Disease in the Young “Management of stroke in infants and children. A scientific statement from a special writing group of the American heart association stroke council and the council on cardiovascular disease in the young” // *Stroke.* – 2008. – Vol. 39. – P. 2644–2691.
37. Zak I., Sarecka-Hujar B., Kopyta I. et al. The T allele of the 677c>t polymorphism of *methylenetetrahydrofolate reductase* gene is associated with an increased risk of ischemic stroke in Polish children // *J. Child Neurol.* – 2009. – Vol. 24 (10). – P. 1226–1262.
38. Zhang G., Dai C. Gene polymorphisms of homocysteine metabolism-related enzymes in Chinese patients with occlusive coronary artery or cerebral vascular diseases // *Thromb. Res.* – 2001. – Vol. 104 (3). – P. 187–195.
39. Zhang X., Li H., Jin H. et al. Effects of homocysteine on endothelial nitric oxide production // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2000. – Vol. 279 (4). – P. 671–678.
40. <http://www.ncbi.nlm.gov/projects/SNP/> / Электронный ресурс. Режим доступа: (дата обращения 17.07.2012).

Поступила 09.08.2012

## Сведения об авторах

**Львова Ольга Александровна**, канд. мед. наук, доцент, заведующая кафедрой неврологии детского возраста и неонатологии ГБОУ ВПО “Уральская государственная медицинская академия” Минздрава России. Адрес: 620219, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3. E-mail: olvova@bk.ru.

**Гусев Вадим Веньевич**, канд. мед. наук, ассистент кафедры неврологии детского возраста и неонатологии ГБОУ ВПО “Уральская государственная медицинская академия” Минздрава России, зав. неврологическим отделением МБУЗ ЦГКБ № 23. Адрес: 620219, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3. E-mail: gusev\_vadim@inbox.ru.

**Ковтун Ольга Петровна**, докт. мед. наук, профессор, заведующая кафедрой педиатрии и неонатологии ФПК и ППС ГБОУ ВПО “Уральская государственная медицинская академия” Минздрава России. Адрес: 620219, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3. E-mail: kovtun@usma.ru.

**Гаврилов Илья Валерьевич**, канд. мед. наук, доцент кафедры биохимии ГБОУ ВПО “Уральская государственная медицинская академия” Минздрава России. Адрес: 620219, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3. E-mail: Given18@yandex.ru.

**Решетова Анна Николаевна**, студентка ГБОУ ВПО “Уральская государственная медицинская академия” Минздрава России. Адрес: 620219, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3. E-mail: alony@rambler.ru.

**Степанова Александра Эдуардовна**, студентка ГБОУ ВПО “Уральская государственная медицинская академия” Минздрава России. Адрес: 620219, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3. E-mail: vorona013@mail.ru.

УДК 616.248-037-03

## СРАВНЕНИЕ ШКАЛ ОЦЕНКИ КОНТРОЛЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ (ACT, ACQ) И ИНДЕКСА КООПЕРАЦИИ

**И.П. Евсева, А.А. Пунин, К.Е. Воронцов**

ГБОУ ВПО “Смоленская государственная медицинская академия” Минздрава России  
ОГБУЗ “Клиническая больница № 1”, Брянск  
E-mail: evseevaip@mail.ru

## COMPARATIVE EVALUATION OF BRONCHIAL ASTHMA CONTROL QUESTIONNAIRES (ACT, ACQ) AND COOPERATION INDEX

**I.P. Evseeva, A.A. Punin, K.E. Vorontsov**

Smolensk State Medical Academy  
Clinical Hospital № 1, Bryansk

Проведено изучение кооперативности больных бронхиальной астмой (БА) на различных уровнях достижения контроля. В исследовании приняли участие 202 амбулаторных больных. Все респонденты были разделены на две