

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТЫ РАЗВИТИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ)

Г.А. Цветовская*, Е.Д. Чикова*, Е.Н. Воронина*, Л.А. Щепанкевич***, Н.И. Чуприянова**,
Н.А. Кострыкина*, Н.П. Пичко*

* Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

** Центр новых медицинских технологий, Новосибирск

*** Кафедра клинической неврологии и алгологии ФПК НГМУ, Новосибирск

labor@cnmt.ru

Ключевые слова: ишемический инсульт, генетическая предрасположенность, молекулярно-биологические методы исследования.

Острые нарушения мозгового кровообращения являются серьезной медико-социальной проблемой, поскольку уровень инвалидизации после перенесенного инсульта, по данным разных авторов, составляет в России от 76 до 85% [3, 6].

Развитие значимых, с клинической точки зрения, форм сердечно-сосудистых заболеваний таких как коронарная болезнь сердца и ишемическая болезнь мозга, по мнению ряда авторов [7, 8], определяется сложным взаимодействием факторов внешней среды с генетически обусловленными особенностями метаболизма конкретного индивидуума. В этой связи актуальной задачей является внедрение в практику здравоохранения наукоемких методов диагностики, позволяющих выявлять патологию на стадии предболезни. Развитие предиктивной медицины, основу которой составляет выявление «генов риска», поиск локусов генома, формирующих предрасположенность к различным заболеваниям, в том числе и нарушениям мозгового кровообращения, позволит проводить отбор больных, формировать группы риска для использования принципиально новых методов лечения и профилактики. Это стало возможным с внедрением в лабораторную практику молекулярно-биологических методов диагностики.

На наш взгляд, клинический интерес представляет случай ишемического инсульта у ребенка. Приведенная история болезни наглядно демонстрирует обоснованность использования генетического тестирования с целью выявления генов предрасположенности к развитию ишемического инсульта и начала целенаправленной патогенетически обоснованной терапии, а также профилактики повторных эпизодов болезни.

Обследование на мутации в генах системы гемостаза, фолатного цикла, генов, регули-

ющих состояние сосудистой стенки, а также генов, контролирующих метаболизм лекарственных веществ в печени, в частности варфарина (CYP2C9), проводилось с целью оценки предрасположенности к развитию тромбофилии и определения индивидуальной чувствительности к непрямому антикоагулянту – варфарину.

Пациент К., 6 лет, поступил в нервное отделение кафедры клинической неврологии и алгологии НГМУ с жалобами на слабость в правых руке и ноге, речевые расстройства. Со слов матери, 29.11.2007 г. ребенок упал, была кратковременная потеря сознания, после чего появилась головная боль, сопровождающаяся тошнотой, однократной рвотой. Через 4 ч – повторная потеря сознания с развитием генерализованных судорог, нарушением двигательной функции в правых конечностях, нарушением речи.

Неврологический статус при поступлении в клинику: Сознание ясное. Адекватен. Ориентирован в пространстве и времени. Обоняние сохранено с двух сторон. Глазные щели равные, D=S, зрачки обычной формы и размера, D=S, фотореакции живые. Движения глазных яблок в полном объеме, безболезненные. Нистагма нет. Гипестезия правой половины лица. Центральный парез лицевого нерва справа. Язык по средней линии. Мышечный тонус снижен справа. Сила в левых конечностях 5 баллов, в правой руке 3 балла, в правой ноге 4 бала. Правосторонняя гипестезия. В позе Ромберга неустойчив. Координаторные пробы выполняет справа не точно из-за пареза. Патологические знаки – симптом Бабинского справа. Менингеальных знаков нет.

Дополнительные методы исследования: МРТ головного мозга (12.12.07) – ишемический инсульт в стадии формирования кисты в подкорковых структурах левого полушария.

Транскраниальное дуплексное сканирование (19.12.07) – определяется гемодинамически значимая асимметрия кровотока по передней мозговой артерии (А1) до 40% за счет умеренной гиперперфузии слева. Кровоток в парных артериях вертебробазиллярного бассейна без значимой межполушарной асимметрии. Цереброваскулярный резерв в правой гемисфере сохранен, в левой гемисфере снижен.

ЭКГ (07.12.07) миграция водителя ритма от синусового с ЧСС 95 в мин к эктопическому с ЧСС 80 в мин. Нарушение внутрижелудочковой проводимости по передней ветви левой ножки пучка Гиса.

Рентген органов грудной клетки (20.12.07) – пневматизация легочной ткани сохранена. Легочный рисунок обогащен в прикорневой зоне за счет сосудистого компонента. Корни легких структурны. Синусы свободны. Границы сердца в пределах нормы.

ПЦР-диагностика (20.12.07): ДНК *Toxoplasma gondii*, ДНК *Virus Herpes Zoster*, ДНК *Human Herpes Virus 6*, ДНК *Human Herpes Virus 8*, ДНК *Herpes simplex Virus 1,2*, ДНК *Citomegalovirus*, ДНК *Ep-stain-Barr virus*, РНК *Rubella* не обнаружена. Иммунологически: антитела к ЦМВ IgM -0,187 (не выявлены), ЦМВ IgG-3,86 (сомнительно), ВПГ 1 и типа 2 IgM-0,203 (сомнительно), ВПГ 1 и типа 2 IgG -0,064 (не выявлены), токсоплазма IgM и IgG – не выявлены, краснуха IgM 0.454 (не выявлены), краснуха IgG 197,5 (титр высокий).

Генеалогический анализ: мать практически здорова (генетическое тестирование матери не проводилось), по линии матери у бабушки артериальная гипертония в 55 лет; у дедушки – рак легких в 44 года. По линии отца: отец практически здоров (генетическое тестирование не проводилось), бабушка – родила ребенка с синдромом Дауна, дедушка практически здоров.

При молекулярно-генетическом тестировании пациента выявлены:

I. Полиморфные варианты генов, ассоциированные с патологическим эффектом: а) гомозиготы: *GpIIIa* (T1565C), *MTHFD* (G1958A), *NOS(e)(VNTR)*, *CYP2C9×2(C430T)*; б) гетерозиготы: *FV* (G1691A), *MTRR* (A66G).

II. Полиморфные варианты генов, ассоциированные с протективным эффектом: гомо- и гетерозиготы.

Интерпретация генетического анализа: Выявлена генетическая предрасположенность к тромбофилии на фоне нарушения тромбоцитарного и коагуляционного звеньев гемостаза – *GpIIIa* (T1565C), *MTHFD* (G1958A), *FV* (G1691A), *MTRR* (A66G).

Ген *GpIIIa* кодирует аминокислотную последовательность субединицы рецептора тромбоцитов для фибриногена и фактора Виллебранда. Вариант 1565C в гомозиготном состоянии (мутация/мутация) приводит к повышенной склонности тромбоцитов к агрегации, обеспечивает прочную связь агрегатов с фибриногеном плазмы крови, что определяет предрасположенность к тромбофилии и резко увеличивает риск развития ранних инфарктов миокарда и ишемического инсульта. У пациентов с данным вариантом часто отмечается резистентность к аспирину. Функция коагуляционного фактора Лейдена заключается в активизации реакции образования тромбина из протромбина, а полиморфная замена *FV* (G1691A) ассоциирована с повышенной склонностью к тромбообразованию, развитию сосудистых тромбозов, инфаркта миокарда и инсульта.

Полиморфный вариант гена метилентетрагидрофолат дегидрогеназы *MTHFD* (G1958A) понижает удельную активность фермента, одним из проявлений дефицита *MTHFD* является нарушение в цикле метаболизма метионина и, как следствие, повышение уровня гомоцистеина в крови. Уровень гомоцистеина в крови нашего пациента составил 9 мкмоль/л, что существенно превышает нормальный уровень для детей в возрасте до 12 лет. Известно, что содержание гомоцистеина в циркулирующей крови зависит от пола, возраста, и нормальный уровень гомоцистеина у детей перед половой зрелостью в среднем не превышает 6 мкмоль/л [4, 10]. Избыточное накопление гомоцистеина оказывает патологическое воздействие на эндотелий, нарушая клеточную проницаемость и снижая выработку оксида азота (NO), в то же время известно, что NO является мощным вазодилататором, обладает антитромботическим действием, ингибируя адгезию и агрегацию тромбоцитов, активирует тканевой активатор плазминогена и другие важные антитромботические функции крови [1, 9].

Многие физиологические вазодилататоры оказывают свое сосудорасширяющее действие через активацию синтеза оксида азота, который в свою очередь обладает и антитромботическим действием. Активность NO проявляется на уровне генетического аппарата, и нарушение экспрессии или транскрипции эндотелиальной NO синтазы (eNOS) при мутации гена приводит к снижению синтеза NO, следствием чего является увеличение вазоконстрикции, снижение вазодилатации и повышенная склонность к тромбообразованию [8, 9].

В этой связи представляло интерес оценить мутантные варианты генов, регулирующих состояние сосудистой стенки и эндотелиальных факторов расслабления сосудов.

По данным генетического тестирования, у ребенка определяется генетическая предрасположенность к повышению сосудистого тонуса – полиморфный вариант гена в гомозиготном состоянии эндотелиальной NO синтазы – NOS(e)(VNTR), генотип 4R/4R, который приводит к уменьшению концентрации оксида азота в кровеносном русле, что, как правило, ассоциируется с артериальными стенозами.

Определение аллельных вариантов гена CYP2C9 у пациентов со склонностью к тромбофилиям становится актуальным в связи с необходимостью полимедикации, когда больной вынужден принимать несколько лекарств и антикоагулянты в том числе. Гидроксирование непрямого антикоагулянта варфарина у человека катализируется исключительно цитохромом P450 2C9 (CYP2C9) и каталитическая активность CYP2C9 является решающим фактором в определении концентрации варфарина в плазме. Кроме того, CYP2C9 помимо варфарина метаболизирует целый ряд лекарственных препаратов самого различного спектра действия, от нестероидных противовоспалительных средств до противоэпилептических [5].

У пациента выявлена повышенная чувствительность к лекарственным препаратам (варфарин, аценокумарол, толбутамид, лозартан, глипизид, фенитоин, ибупрофен). Уменьшение активности фермента, выявленное у ребенка, обусловленное носительством аллеля CYP2C9 × 2 в гомозиготном варианте, требует индивидуального подбора доз вышеуказанных препаратов, так как существует угроза их передозировки с развитием осложнений, в том числе кровотечения, угрожающего жизни пациента.

Диагноз при выписке: Ишемический инсульт в левом каротидном бассейне с формированием очага в области подкорковых ядер слева с центральным парезом УП пары ЧМН справа, правосторонним гемипарезом (в руке 3 балла, в ноге 4 балла), правосторонней гемигипестезией, элементами моторной афазии. Гематогенная генетически детерминированная тромбофилия.

Таким образом, у ребенка выявлены полиморфные варианты генов, ассоциированные с патологическим эффектом, из них четыре гомозиготных мутации, которые вносят определенный вклад в развитие гиперкоагуляционного синдрома и эндотелиальной дисфункции, что

и явилось, на наш взгляд, одной из основных причин развития ишемического инсульта. Известно, что наиболее тяжелые случаи тромбофилий с повторными инфарктами и/или ишемическим инсультом имеют место при гомозиготных вариантах генетических мутаций.

Следует подчеркнуть, что генотипирование факторов системы гемостаза уже признано в качестве критерия предрасположенности к тромбофилии и выполняется в ряде лабораторий [2]. Наш опыт показывает, что наряду с выявлением мутаций в генах, кодирующих ферменты и гликопротеиды тромбоцитарной, коагуляционной системы гемостаза и гены фолатного цикла, при подозрении на развитие тромбофилии или выяснении механизмов развития ишемического инсульта, серьезное внимание должно уделяться оценке эндотелиальных факторов, определяющих состояние сосудистого тонуса (эндотелиальные NO-синтазы), а также состояние системы фибринолиза (тканевого активатора плазминогена, ингибитора активации плазминогена и др.).

Генотипирование параметров системы гемостаза, сосудистых факторов как критериев предрасположенности к тромбофилии должно входить в протокол обследования больных, подверженных как наследственным (семейные инфаркты, инсульты, тромбозы различной локализации), так и приобретенным факторам риска. Пациентам с выявленными мутациями генов фолатного цикла необходим обязательный контроль уровня гомоцистеина в крови, поскольку они составляют группы риска развития эндотелиальной дисфункции.

Внедрение молекулярно-биологических методов в лабораторную практику, создание генетических паспортов будет способствовать определению тонких механизмов нарушений свертывающей и противосвертывающей систем крови, развития эндотелиальной дисфункции. Это в свою очередь позволит определять значимые факторы, оказывающие влияние на развитие патологического процесса, выявлять патологию на стадии предболезни и осуществлять поиск патогенетически обоснованных методов лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бувальцев В.И. // *Международный медицинский журнал*. 2001. № 3. С. 202–208.

2. Вавилова Т.В. Гемостазиология в клинической практике: пособие для врачей. СПб., 2005. 91 с.
3. Иванова Г.Е., Шкловский В.М., Петрова Е.А. и др. // Ж. Качество жизни (медицина). 2006. Т. 13. № 2. С. 62–70.
4. Момот А.П. Патология гемостаза. СПб., 2006. 208 с.
5. Сироткина О.В., Вавилова Т.В., Кадинская М.И. и др. Определение индивидуальной чувствительности к варфарину методом молекулярно-генетического анализа гена цитохрома P450 2C9: пособие для врачей. СПб., 2006. 16 с.
6. Скоромец А.А., Ковальчук В.В. // Неврология и психиатрия. 2007. № 2. С. 21–24.
7. Сломинский П.А., Тупицина Т.В., Шетова И.М. и др. // Медицинская генетика. 2005. № 6. С. 267–268.
8. Beckman J.S., Crapo J.D. // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. 1977. V. 16. № 5. P. 495–496.
9. Cooke J.P. // PNAS. 2003 b. V. 100. P. 768–770.
10. Malinow M.R., Bostom A.G., Krauss R.M. // Circulation. 1999. V. 89. P. 178–182.

GENETIC PREDICTS OF ISCHEMIC STROKE
(A CLINICAL CASE OF A CHILD'S ISCHEMIC
STROKE)

G.A. Tsvetovskaya, Ye.D. Chikova, Ye.N. Voronina,
L.A. Shchepankevich, N.I. Chupriyanova,
N.A. Kostrykina, N.P. Pitchko

Acute disorders of cerebral circulation present one of the most topical medical-social problems, since in

Russia according to various data the level of incapacitation after a previous stroke amounts to 76 to 85 %. According to a number of authors the development of such cardiovascular diseases as coronary heart disease and brain ischemia is determined by complex interaction of external factors with genetic features of an individual's metabolism. In this connection, practical application of knowledge-intensive methods of diagnostics, which allow identifying pathology at the stage of pre-existing disease, is a really pressing problem. Identifying «risk genes» and searching for genome loci that create a disposition to various diseases including cerebral circulation disorders form the basis for development of predictive medicine, which allows selecting patients and breaking them up into risk groups in order to use brand new methods of treatment and disease prevention. The article presents a case of ischemic stroke in a child. The laboratory study data clearly demonstrate the relevancy of using genetic testing for the purpose of identifying genes that are pre-disposed to the development of ischemic stroke. These data also demonstrate the feasibility of starting targeted, pathogenetically justified therapy, as well as prevention of backsets of the disease.