

**А.Ш. Орадова, А.Д. Сапаргалиева, Б.К. Дюсембаев**  
*Казахский Национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова,  
кафедра патологической анатомии*

## **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ РАЗВИТИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

*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. 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 разнится. 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.

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. 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. 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-синтазы, липидов крови и гомоцистеина) [9].

### **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. 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. 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».

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 атромбогенных факторов, как простаглицин 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 тромбоцитарные 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 покрывки бляшки. При этом происходит снижение отрицательного заряда эндотелия и возникновение условий для формирования пристеночных тромбов из агрегатов тромбоцитов и фибрина (рис. 1). Это связано с тем, что активированные в результате контакта с коллагеном поврежденной сосудистой стенки тромбоциты выделяют коллагеназу и эластазу, расщепляющие соответствующие структурные белки, входящие в ее состав. Помимо этого, тромбоциты высвобождают фактор Виллебранда, серотонин, АДФ, продукты превращения арахидоновой кислоты (простаглицин PGI<sub>2</sub>, тромбоксан A<sub>2</sub>). Эти биологические активные вещества вызывают вазоспазм, повышение проницаемости эндотелия, отек, усугубляя повреждение стенки сосуда, что в свою очередь усиливает адгезию и агрегацию тромбоцитов с образованием пристеночных тромбов [3].

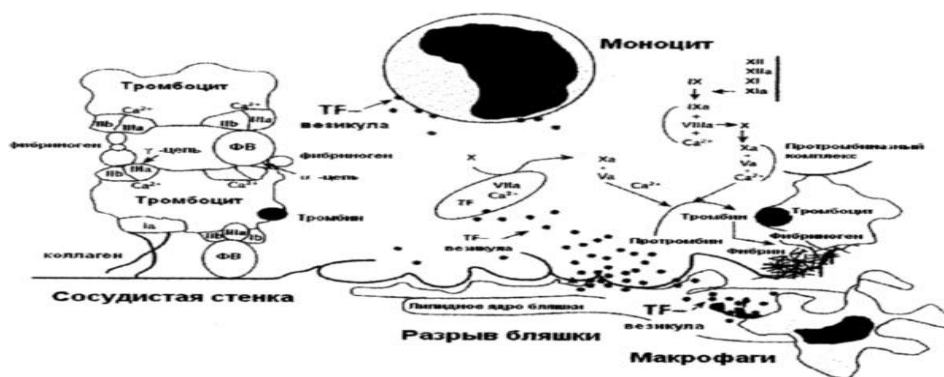


Рисунок 1 - Схема активации клеточного и коагуляционного звеньев гемостаза при разрыве атеросклеротической бляшки

Разрыв бляшек в местах выраженных стенозов сонных артерий может не сказываться на церебральном кровотоке, так как длительно существующий стеноз в сонной артерии способствует развитию коллатерального кровообращения. С другой стороны, разрыв бляшек, умеренно стенозирующих церебральные артерии, чаще проявляется симптомами острой недостаточности мозгового кровообращения из-за отсутствия развитого коллатерального русла [7].

При возникновении инфаркта мозга большая роль отводится изменениям мозгового и магистрального кровотока артерий головы и шеи с формированием стенозов, окклюзий, патологической извитости. При этом причиной ишемии мозга является ограничение кровотока в атеросклеротически суженных сосудах на фоне временного изменения системного артериального давления под влиянием экстрацеребральных факторов, приводящих к возникновению зон так называемого турбулентного типа кровотока, являющегося одним из условий оседания форменных элементов, в первую очередь тромбоцитов. Это сопровождается повреждением сосудистой стенки, изменением реологических свойств крови, способствуя развитию тромбоцитарного ишемического инсульта [1, 10].

Приблизительно у 40% больных развитие инсульта происходит по механизму кардиогенной и артериальной эмболии из распадающихся атером, пристеночных тромбов дуги аорты, магистральных артерий, внутрисердечных тромбов в результате аритмий, эндокардита, ревматизма и др. [4].

#### **Роль фибриногена в тромбообразовании у больных с инфарктом мозга.**

У больных с ишемической болезнью мозга, в том числе у перенесших ишемический инсульт, имеются изменения тромбоцитарного звена гемостаза. В процессах тромбообразования, в основе которых лежат адгезия и агрегация тромбоцитов, большая роль принадлежит фибриногену (один из факторов свертывания крови, который под действием тромбина превращается в нерастворимый фибрин, составляющий структурную основу тромба). Именно с ним взаимодействуют тромбоциты в области повреждения эндотелия. Фибриноген, иммобилизованный на поверхности эндотелиальных клеток, выполняет роль мостиков, связывающих активированные тромбоциты между собой и с коллагеном субэндотелиальных слоев, взаимодействуя с гликопротеином - специфическим рецептором мембраны тромбоцитов. Известно, что формирование тромбоцитарных агрегатов происходит с помощью этих рецепторов, способных взаимодействовать не только с фибриногеном, но и с фактором Виллебранда, фибронектином и витронектином. Активация GP является ключевым процессом, запускающим агрегацию

тромбоцитов. Таким образом, увеличение уровня фибриногена имеет определенное значение в развитии тромботических осложнений.

В международных исследованиях PROCAM (the Prospective Cardiovascular Munster), PRIME (the Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction), Framingham study, Northwick Park Heart было установлено, что повышение уровня фибриногена увеличивает в несколько раз риск развития инфарктов мозга и сердца. Механизмы, лежащие в основе связи между повышением уровня фибриногена и риском ишемического инсульта, недостаточно ясны. Это может быть обусловлено тем, что фибриноген повышает вязкость крови, агрегацию тромбоцитов и эритроцитов, стимулирует пролиферацию эндотелиальных и гладкомышечных клеток, обеспечивая матрикс для роста клеток, задерживая тромбин, обладающий митогенной активностью. Кроме того, накапливаясь в области атеросклеротической бляшки, фибрин стабилизирует тромбоцитарные агрегаты [11]. Некоторые исследователи рассматривают фибриноген как маркер повреждения эндотелия. Считается, что уровень фибриногена является чувствительным и одним из самых ранних факторов, отражающих повреждение эндотелиальных клеток. Определение его концентрации в сыворотке крови имеет значение для оценки тяжести и распространенности повреждения сосудов. Увеличение уровня фибриногена является прогностически неблагоприятным фактором, ассоциированным с увеличением риска смерти у больных с атеросклеротическим поражением сосудов головного мозга и сердца.

Гены фибриногена находятся на длинном плече 4-й хромосомы. Последовательность каждой из цепей фибриногена кодируется своим геном, однако значительная гомология свидетельствует об их возникновении в результате дупликации одного гена-предшественника.

Фибриноген состоит из трех пар неидентичных полипептидных цепей, обозначаемых  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ , является симметричной, вытянутой, слегка изогнутой молекулой размером 7x48 нм. N-концевые части всех трех полипептидов образуют центральную область взаимодействия двух половин молекулы фибриногена, которые ковалентно связаны между собой тремя дисульфидными мостиками, далее следует область, в которой все три субъединицы закручены в суперспираль, примерно по середине которой имеется короткая область нарушения регулярности структуры, являющаяся одним из участков специфического расщепления плазмином. За суперспиралью каждая из полипептидных цепей фибриногена образует свою структуру (C-концевые фрагменты) [3, 9]. Пространственная организация C-концевых фрагментов  $\beta$ - и  $\gamma$ -цепей во многом сходна. Они образуют на концах молекулы фибриногена глобулы, латерально смещенные от оси суперспирали. За счет наличия S-S связи в  $\beta$ -цепи ее концевая глобула несколько сдвинута к центру молекулы. Глобулярные участки  $\beta$ - и  $\gamma$ -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.

Уровень фибриногена плазмы крови зависит от многих факторов (возраст, пол, низкая физическая активность, артериальная гипертензия, курение, инсулинорезистентность).

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.

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. Прекращение курения приводит к некоторому снижению содержания фибриногена, но его уровень все же остается выше, чем у людей, никогда не куривших. Уровень фибриногена плазмы повышается при увеличении уровня глюкозы крови и инсулина. Сильная положительная связь обнаружена между уровнем фибриногена, индексом массы тела и абдоминальным типом ожирения [10]. 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. Обнаружена положительная связь фибриногена с липопротеидами низкой плотности и триглицеридами, хотя зависимости между его концентрацией и липидным профилем крови выявлено не было.

#### **Заключение.**

Таким образом, все исследования, связанные с изучением генетических факторов риска возникновения инсультов, демонстрирует, что в их развитии задействовано большое число генов, детерминирующих различные звенья патогенеза заболевания. Дальнейшее исследования функций генома, возможно, позволит выявить новые гены предрасположенности к сосудистым заболеваниям мозга.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Боголепов Н.К. Церебральные кризы и инсульт. – М.: Медицина, 1972. – 392 с.
- 2 Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. – М.: Медицина, 2001. – 97 с.
- 3 Панченко Е.П., Добровольский А.Б. Тромбозы в кардиологии // Механизмы развития и возможности терапии. – М.: Спорт и культура, 1999. - №1. – С. 55-59.
- 4 Шмидт Е.В., Смирнов В.Е. Вопросы эпидемиологии сосудистых заболеваний головного мозга. – М.: Медицина, 1972. – 268 с.
- 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. – P. 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. – P. 35-41.
- 7 Bansal B.C., Sood A.K., Bansal C.B. Familial hyperlipidemia in stroke in the young // *Stroke.* – 1986. - №17. – P. 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. – P. 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. – P. 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. – P. 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. – P. 3286—3293.

**А.Ш. Орадова, А.Д. Сапарғалиева, Б.К. Дюсембаев**

*С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ Ұлттық медицина университеті,  
Патологиялық анатомия кафедрасы*

#### **ИШЕМИЯЛЫҚ ИНСУЛЬТТИҢ ДАМУЫНЫҢ МОЛЕКУЛАЛЫҚ ТАҢБАЛАҒЫШТАРЫ**

**Түйін:** Ақырғы уақытта мийдың тамыр ауруларының дамуына бейімдеу тұқым қуу факторларының 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 қатерлі дамуына біз молекулярлы-генетикалық зерттеу осы шақтағы шолу бойынша жүйеліндірдік.

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

**A.S. Oradova, A.D. Sapargaliyeva, B.K. Dyussebayev**

*Asfendiyarov Kazakh National medical university,  
Department of Pathological Anatomy*

#### **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