ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ACE, NOS3 И ИХ АССОЦИАЦИЯ С ХРОНИЧЕСКОЙ СОСУДИСТО-МОЗГОВОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Якубова М.М., *Кушаева Д.С.

Ташкентская медицинская академия, Ташкент, Узбекистан

Целью данной работы является изучение ассоциации между больными с хронической сосудисто-мозговой недостаточностью (ХСМН) и полиморфизмами генов ACE I/D, NOS3 4a/4b и NOS3 C/T 786, а также установление ген-генной взаимосвязи и ассоциации с данной патологией. Нами всесторонне было обследовано 110 лиц, из которых основную группу составляло 68 больных с ХСМН. Контрольную группу здоровых лиц составляло 42 чел. Определение полиморфизмов генов ACE I/D, NOS3 4a/4b и NOS3 C/T 786 было осуществлено методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Установлено достоверное доминирование аллеля D и генотипа D/D гена ACE и аллеля 4b и генотипа 4b/4b у больных с ХСМН и большая встречаемость III и IV стадии. У носителей генотипа I/I, D/D в комбинации с 4b/4b самый высокий показатель возникновения III и IV стадии ХСМН.

Ключевые слова: хроническая сосудисто-мозговая недостаточность, полиморфизм гена, ангиотензин превращающий фермент, синтаза оксида азота.

Введение. Сосудистые заболевания головного мозга являются одним из медицинских и социальных проблем в большинстве экономически развитых стран мира [4] и в силу их омоложения, частоты возникновения, и в результате проявлений таких серьезных осложнений, как инсульт, приводящий к глубокой инвалидизации больных с резким ухудшением качества их жизни [1,3,6]. Хроническая сосудисто-мозговая недостаточность (ХСМН) – наиболее частое проявление цереброваскулярной патологии, с чем часто сталкивается каждый врач – невролог в своей практике [Дамулин И.В., Парфенов В.А., Скоромец А.А. и др., 2001]. Немаловажной причиной развития сосудисто-мозговой недостаточности (СМН) являются поражения экстра- или интракраниального отдела внутренних сонных артерий (ВСА) и позвоночных артерий (ангиодисплазии), которое может протекать в виде острого или хронического нарушения мозгового кровообращения [9]. Надо подчеркнуть, что, хронические и длительно протекающие изменения в головном мозге, обусловленные нарастающим ухудшением его кровоснабжения, изменением его метаболических потребностей, в итоге приводит к развитию острого нарушения мозгового кровообращения [Румянцева С.А., Силина И.В., 2007]. Немаловажным и перспективным направлением в изучении наследственной предрасположенности к различным заболеваниям, в том числе и сердечно-сосудистым заболеваниям являются так называемые гены – кандидаты. Вазодилатация и

вазоконстрикция приводит к сокращению гладкой мускулатуры, этим самым влияет на кровяное давление. К ним относятся гены, кодирующие элементы РААС [17], которые рассматриваются как основные гены-кандидаты, ген ангиотензин–превращающего фермента (АПФ) полиморфизм I/D и эндотелиальная синтаза оксида азота (eNOS) полиморфизмы 4b/4a и C/T 786. В кровотоке образуется ангиотензин-1, и он быстро превращается в октапептид ангиотензин-2, который зависит от уровня, циркулирующего АПФ в крови на поверхности сосудистого эндотелия [12,13], и инактивирует брадикинин-сосудорасширяющий белок [14,15]. При носительстве генотипов I/I и I/D уровень фермента АПФ бывает в норме, у здоровых носителей генотипа D/D, уровень фермента бывает повышенным [18]. При обследовании 428 здоровых людей было показано, что у носителей генотипа bb уровень NO приблизительно в 2 раза ниже, чем у носителей генотипа aa, гетерозиготы занимают промежуточное положение [19]. Вариант C/T 786 замена тимидина на цитозин и при носительстве мутационного варианта выражается в значительном уменьшении активности промотора гена eNOS [20].

Одним из основных пусковых механизмов патогенеза ишемической болезни мозга является нарушение функциональных свойств эндотелия, что в дальнейшем приводит к изменению тонуса сосудистой стенки, развитию и прогрессированию патологического процесса.

*E-mail: dildora7519@mail.ru

Несомненно, важное место занимает своевременная диагностика, позволяющая выявить данное патологическое состояние, и предупредить возникновение нарушения мозгового кровообращения. К ним относятся нейровизуализационные методы обследования, которые играют важную роль для диагностирования имеющихся симптомов сосудистой природы. Самым достоверным методом является компьютерная рентгеновская или, что предпочтительнее, магнитно-резонансная томография с ангиографией головного мозга и доплерография или дуплексное сканирование брахицефальных артерий. Все больше появляются предположений о возможном участии генетических механизмов в комбинации этиологических факторов спорадического поражения мелких сосудов при ХСМН [16]. Любые нарушения мозгового кровообращения должны служить причиной детального обследования основных сосудов головного мозга [11].

Раннее распознавание и своевременно начатое лечение даст возможность снизить возникновение сосудисто-мозговых катастроф.

Цель: на основе полученных молекулярно-генетических результатов полиморфизма генов ACEI/D, NOS3 4a/4b и NOS3 C/T 786 изучить их связь у больных с хронической сосудисто-мозговой недостаточностью.

Методы исследования. Нами всесторонне было обследовано 110 лиц, из которых основную группу составляло 68 больных с ХСМН. Контрольную группу здоровых лиц составляло 42 чел. Из 68 больных 41 (60%) были мужчины, 27 (40%) – женщины. Возраст больных варьировал от 26 до 85 лет, в среднем составлял – $62,9 \pm 0,8$ лет (мужчин – $61,7 \pm 1,2$ и женщин – $62,4 \pm 1,9$ лет). В контрольной группе больных мужчин встречалось 28 (67%) случаев, средний возраст $59,8 \pm 1,2$ лет. Женщины – 14 (33%), средний возраст $56 \pm 0,89$ лет.

Рис. 1. Распределение больных по полу и возрасту

С учетом гендерного фактора выявлено, что в обеих группах количество мужчин превалировало над количеством женщин. Если рассматривать по возрасту, то больше всего в возрасте 56-66 лет

достоверно чаще наблюдалась хроническая сосудисто-мозговая недостаточность. Мужчины превалировали над женщинами, в этом возрасте у обоих полов количество больных было больше,

чем в других возрастных градациях (рис. 1.).

Больные были обследованы в отделении ангионеврологии 2-й клиники Ташкентской медицинской академии и в 1-й Республиканской клинической больнице в отделении сосудистой неврологии и сосудистой хирургии.

Всем больным проводилось клиническое и параклиническое обследование. Определение степени сосудисто-мозговой недостаточности осуществлялось по классификации А.В.Покровского 1979 г. Из параклинических методов МРТ головного мозга с ангиорежимом и дуплексное сканирование брахиоцефальных сосудов. Так же всем больным проводилось молекулярно-генетическое исследование с помощью проведения полимеразой цепной реакции (ПЦР). Данные исследования выполнялись на базе отдела молекулярной медицины и клеточных технологии НИИГ и ПК МЗ РУз. Образцам выделенной ДНК была проведена стандартная ПЦР с детекцией продуктов амплификации на программируемых термоциклерах фирмы «appliedbiosystems» (США) и «corbette research», (quagen, Германия). Для анализа достоверности различий между

качественными признаками использовали критерий χ^2 -распределения Пирсона (хи-квадрат). Для вычисления частот аллелей и генотипов применяли закон Харди-Вайнберга. В основной и в контрольной группе аллель D (58 и 52%) наблюдается чаще, чем аллель I (42 и 48%), встречаемость гена NOS3 варианта 4b/4a аллели 4b- (86 и 98%), аллель 4a- (14 и 2%) и в варианте C/T 786 гена NOS3 аллель T- (80 и 88%) и мутационный аллель C- (20 и 12%).

У 45 (66%) больных проводились реконструктивные операции по поводу патологической извитости экстракраниальных артерий. В остальных случаях больным проводилось консервативное лечение, которое включало антиоксиданты, метаболики, препараты, улучшающие реологию крови и церебропротекторы. Из 68 больных - 12 (18%) имели разной степени стенозы во внутренних сонных артериях, остальные 56 (82%) имели патологические деформации во внутренних сонных артериях у мужчин - 32 (58%) и у женщин - 24 (42%). Из них, у 43 (77%) больных патологические перегибы сонных артерий сочетались со стенозом.

Таблица 1

Частота встречаемости генотипов генов ACE (I/D), NOS3 4a/4b и C/T 786 у больных с ХСМН

Гены	N	Частота распределений генотипов						
		Основная группа		Контрольная группа				
		N	%	N	%	P	χ^2	OR
Ген ACE I/D	I/I	23	34	12	29	0,7	0,08	1,2
	I/D	11	16	15	37	0,02	4,8	0,4
	D/D	34	50	14	34	0,1	2,0	1,5
Ген NOS34a/4b	4b/4b	49	72	40	95	0,006	7,5	0,7
	4b/4a	19	28	2	5	0,006	7,5	5,8
	4a/4a	-	-	-	-	-	-	-
Ген NOS3 C/T 786	T/T	44	65	31	76	0,3	0,9	0,8
	T/C	21	31	10	24	0,6	0,3	1,2
	C/C	3	4	-	-			

Как видно (таб. 1.) определено 3 генотипа гена ACE: I/I, I/D, D/D и частота распределений генотипов, как в основной, так и в контрольной группе различны.

В основной группе наиболее чаще наблюда-

ется генотип D/D (50%), чем генотипы I/I (34%) и I/D (16%).

В контрольной группе чаще определяется генотип I/D (37%), реже I/I (29%) и D/D (34%). При сравнении основной и контрольной группы,

выяснилось, что мутационный гомозиготный генотип D/D чаще наблюдается у больных, чем у здоровых лиц ($P=0,1$, $\chi^2=22,0$, $OR=1,5$) и у носителей этого генотипа в 1,5 раза чаще наблюдается ХСМН, чем у лиц, не имеющих его. При сравнении с контрольной группой немутационный гомозиготный генотип I/I также повышает риск развития ХСМН на 1,2 раза. Гетерозиготный вариант I/D чаще наблюдался у здоровых лиц (16% против 37%).

Исследования выявили 2 генотипа гена NOS3: 4b/4b, 4a/4b, но мутационный вариант 4a/4a не был выявлен ни в одной группе. Распределение генотипов, как в основной, так и в контрольной группе показало, что в обеих группах немутационный вариант 4b/4b превалирует (72 и 95%) над гетерозиготным вариантом 4a/4b (28 и 5%)

($P=0,006$; $\chi^2=7,5$; $OR=5,8$) носители этого генотипа в 5,8 раза чаще могут переносить ХСМН, чем лица, не имеющие его.

При исследовании гена NOS3 C/T786 выявлено 3 генотипа у больных основной группы, и 2 генотипа в контрольной группе здоровых. В этой группе мутационный генотип данного гена выявлен не был. Распределение генотипов, как в основной, так и в контрольной группе показало, что в обеих группах немутационный вариант T/T превалирует (65 и 76%) над гетерозиготным вариантом T/C (31 и 24%), ($P=0,6$, $\chi^2=0,3$, $OR=1,2$). Носители этого генотипа в 1,2 раза чаще могут переносить ХСМН.

Мутационный гомозиготный вариант C/C встречается (4%) и только у больных основной группы.

Рис. 2. Встречаемость комбинации генотипов генов ACE (I/D), NOS3 4a/4b и NOS3 C/T 786 у больных с ХСМН в зависимости от пола

По рис. 2. видно, что во всех видах генных полиморфизмов преобладает мужской пол, с исключением генотипа I/I гена ACE, где преобладает женский пол. Мутантный вариант 4a/4a не выявлен. Так же нужно отметить, что генотип C/C (мутантный вариант) гена NOS3 встречался у больных исключительно мужского пола.

Все пациенты были разделены в зависимости от степени сосудисто-мозговой недостаточности (СМН) по классификации А.В. Покровского: ХСМН I степени (асимптомное течение) у наших больных не было диагностировано. Было выявлено ХСМН II ст. – 15%, ХСМН III ст. – 46% и ХСМН IV ст. – 39% случаев.

Рис. 3. Частота встречаемости ХСМН в зависимости от пола.

Оценка частоты встречаемости хронической сосудисто-мозговой недостаточности в зависимости от пола (рис.3), показало, что ХСМН II и IV стадии чаще встречается у больных мужско-

го пола (10 и 30%) чем у женского (5 и 9%). Однако встречаемость ХСМН III стадии преобладает у больных женского пола (27%), по сравнению с мужским (19%).

Таблица 2

Проявление ген-генной взаимодействий в зависимости от стадии ХСМН

Ассоциация генов			ХСМН 2	ХСМН3	ХСМН4	ВСЕГО
ACE I/D	NOS3 4a/4b	NOS3 C/T786				
Генотип I/I	4b/4b	T/T	2 (3%)	9 (13%)	4 (6%)	15 (22%)
	4b/4b	T/C	-	2 (3%)	1 (1,4%)	3 (4,4%)
	4a/4b	T/T	-	-	1 (1,4%)	1 (1,4%)
	4a/4b	T/C	1 (1,4%)	2 (3%)	-	3 (4,4%)
	4b/4b	C/C	-	-	1 (1,4%)	1 (1,4%)
ВСЕГО			3 (4,4%)	13 (19%)	7 (10,2)	23 (34%)
Генотип I/D	4b/4b	T/T	-	2 (3%)	1 (1,4%)	3 (4,4%)
	4a/4b	T/T	-	1 (1,4%)	-	1 (1,4%)
	4b/4b	T/C	-	1 (1,4%)	2 (3%)	3 (4,4%)
	4a/4b	T/C	1 (1,4%)	-	2 (3%)	3 (4,4%)
	4b/4b	C/C	-	1 (1,4%)	-	1 (1,4%)
ВСЕГО			1 (1,4%)	5 (7%)	5 (7%)	11 (16%)
Генотип D/D	4b/4b	T/C	2 (3%)	1 (1,4%)	-	3 (4,4%)
	4a/4b	T/T	1 (1,4%)	2 (3%)	2 (3%)	5 (7,4%)
	4b/4b	T/T	2 (3%)	7 (10%)	10 (15%)	19 (28%)
	4a/4b	T/C	1 (1,4%)	2 (3%)	3 (4%)	6 (8,4%)
	4b/4b	C/C	-	1 (1,4%)	-	1 (1,4%)
ВСЕГО			6 (9%)	13 (19%)	15 (22%)	34 (50%)
ИТОГ			10 (15%)	31 (46%)	27 (39%)	68 (100%)

Изучение ген-генного взаимодействия исследуемых полиморфизмов в зависимости от степени ХСМН показало (таб. 2.), что мутационный гомозиготный полиморфизм D/D и I/I гена ACE в сочетании с полиморфизмами 4b/4b и T/T гена NOS3 (13% и 6% случаев, 10% и 15%) чаще наблюдается у больных с ХСМН III и IV стадии. Ассоциация генотипа I/D гена ACE со всеми генотипами (4b/4a) и (C/T 786) гена NOS3 самый низкий показатель возникновения ХСМН.

Обсуждение. По нашим данным выявленный аллель D и генотип DD гена ACE встречался чаще, чем аллель I и генотипы II и ID у больных основной группы, что совпадает с данными других авторов [2,10]. Однако есть противоречивые данные [7], где частота генотипа ID встречается чаще, чем генотипы II и DD. Наши результаты показывают, что у мужчин больше встречался генотип DD, у женщин генотип II, по сравнению с результатами других авторов [8], где не были обнаружены половые различия по данному полиморфизму. В популяциях англичан и китайцев важным фактором риска развития инсультов рассматривается аллель 4a полиморфизма гена eNOS 4a/4b. Связь между генотипом – 786 T/T и

риском развития инфаркта мозга определяется у афроамериканцев [5]. Эти данные аналогичны нашими данными, где так же у носителей генотипов 4b/4a и T/T гена NOS3 чаще наблюдалось ХСМН IV ст. (инсульты).

Выводы

1. Распределение частот аллелей и генотипа полиморфизмов 4b/4a гена NOS3 и I/D гена ACE у больных и здоровых лиц показало, что, аллель D и генотип D/D гена ACE и аллель 4b и генотип 4b/4b чаще встречаются у больных с ХСМН, чем в группе контроля;
2. Генотип D/D гена ACE и 4b/4b гена NOS3 чаще являются причиной возникновения III и IV стадии ХСМН;
3. У носителей генотипа I/I, D/D в комбинации с 4b/4b самый высокий показатель возникновения III и IV стадии ХСМН;
4. Комбинация гетерозиготных генотипов (I/D и 4b/4a) является низким показателем возникновения ХСМН;
5. Хроническая сосудисто-мозговая недостаточность II и IV стадии чаще наблюдалась у больных мужского пола, III стадия - у больных женского пола.

ЛИТЕРАТУРА – REFERENCES – ƏDƏBİYYAT

1. Анисимова А.В. Прогностическое значение гемореологических и морфоденситометрических параметров клеток крови для оценки прогрессирования цереброваскулярной недостаточности // Журнал неврологии и психиатрии, 2011, 11:46-48.
2. Дубенко О.Е. полиморфизм гена АПФ и уровень ангиотензина II при остром инсульте//Международный медицинский журнал (66) 2014. С.-32-37.
3. Еркебаева А.Е. Улучшение гемодинамики при сосудисто-мозговой недостаточности методом иглорефлексотерапии., Медицина, №4,2013. С.-26-27.
4. Кабза И.И., Мелень А.П., Трутек Р.И. и др. Профилактика ишемического инсульта у пациентов с окклюзией ВСА: магистрализация НСА // Сердце и сосуды. 2013. №3.С.37-41.
5. Кузнецова Т.Ю. Генетические особенности ишемического инсульта в различных этнических группах, проживающих на территории Республики Мордовия // Медицинский альманах №3(33) 2014. С.- 42-45.
6. Кулеш С.Д., Лихачев С.А., Филина Н.А. Пятилетняя выживаемость после мозгового инсульта // Анналы клинической и экспериментальной неврологии, 2012,6 (1):14-19.
7. Махкамова Н.У., Хамидуллаева Г.А., и др. Значение полиморфизма гена АПФ в развитии ЦВЗ у больных АГ // Евразийский кардиологический журнал. 3. 2017. С. -57.
8. Ослопов В.Н., Федосеева Е.Ю. и др. Различия полиморфизма гена АПФ у больных гипертонической болезнью в квартилях скорости Na⁺ - Li⁺ - противотранспорте в мем-

- бране эритроцита // Кардиология № 4. 2011.
9. Покровский А.В., Белоярцев Д.Ф., Адырхаев З.А. и др. Отдаленные результаты реконструктивных операций при патологической деформации внутренней сонной артерии// Ангиология и сосудистая хирургия. -2012.- №1.- С.92 – 104.
10. Ребова Т.Ю., Муслимова Э.Ф., Афонасьев С.А. и др. Аллель D гена АПФ – возможный фактор риска развития рестеноза после коронарного стентирования у больных ИБС.
11. Скобцов Ю.А., Родин Ю.В., Моделирование и визуализация поведения потоков крови при патологических процессах. - Донецк: Издатель Заславский А.Ю., 2008.-212 с.
12. Corvol P., Michaud A., Soubrier F., Williams T.A. Recent advances in knowledge of the structure and function of the angiotensin I converting enzyme // J Hypertens Suppl. 1995; 13: S3-10.
13. Parkin E.T, Turner A.J, Hooper N.M. Secretase-mediated cell surface shedding of the angiotensin-converting enzyme // Protein Pept Lett. 2004; 11: 423-432.
14. Ferreira S.H. A bradykinin-potentiating factor (BPF) present in the venom of Bothrops jararaca // Br J Pharmacol Chemother. 1965; 24: 163- 169.
15. Soffer R.L. Angiotensin-converting enzyme and the regulation of vasoactive peptides // Annu Rev Biochem. 1976; 45: 73-94.
16. Jackson C., Hutchison A., Dennis M. et al. Differing risk factor profiles of ischemic stroke subtypes: evidence for a distinct lacunar arteriopathy? // Stroke. 2010. Vol. 41. P. 624–629.

17. Yagil Y., Yagil C.. Hypothesis: ACE2 modulates blood pressure in the mammalian organism // Hypertension. 2003; 41: 871-873.
18. Rigat B., Hubert Ch., Alhenc-Gelas F. et al. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels // J. Clin. Invest. – 1990. – Vol. 86. – P. 1343-1346.
19. Wang X.L., Mahaney M.C., Siew A. et al. Genetic Contribution of the Endothelial Constitutive Nitric Oxide Synthase Gene to plasma Nitric Oxide Levels // Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997; 17: 3147-3153.
20. Nakayama M., Yasue H., Yoshimura M. et al. T786-C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm // Circulation 1999; 99: 2864-2870.

XÜLASƏ

ACE, NOS3 GENLƏRİNİN POLİMORFİZMİ VƏ ONLARIN XRONİKİ BEYİN QAN DÖVRANİ ÇATMAMAZLIĞI İLƏ ASSOSİASIYASI

Yakubova M.M., Kuşayeva D.S.

Daşkənt Tibb Akademiyası, nevrologiya kafedrası, Daşkənt, Özbəkistan

Təqdim edilmiş elmi işin məqsədi xroniki beyin qan dövranı çatmamazlığı (XBQDÇ) olan xəstələr və ACE I/D, NOS3 4a/4b və NOS3 C/T 786 genlərinin polimorfizminin assosiasiyasının öyrənilməsi və həm də, genlərarası qarşılıqlı əlaqəni təyin etmək və bu patologiya ilə assosiasiya etmək olmuşdur. Tərəfimizdən 110 şəxs hərtərəfli müayinə olunmuş, onlardan əsas qrupu 68 XBQDÇ olan xəstələr təşkil etmişdir. Sağlam şəxslərdən ibarət 42 nəfər kontrol qrupu yaratmışdır. ACEI/D, NOS3 4a/4b və NOS3 C/T 786 genlərinin polimorfizmlərinin təyini polimeraz zəncirvari reaksiyalar metodu ilə aparılmışdır. ACE geninin D/D genotipinin və D allelinin və XBQDÇ olan xəstələrdə 4b/4b genotipinin və 4b allelinin etibarlı dərəcədə dominasiyası təyin edilmişdir və daha çox xəstəliyin III və IV mərhələdə rast gəlinmişdir. XBQDÇ-nin III və IV mərhələsinin yaranmasının ən yüksək göstəricisi 4b/4b kombinasiyası ilə I/I, D/D genotipinin daşıyıcılarında olmuşdur.

Açar sözlər: xroniki beyin qan dövranı çatmamazlığı, gen polimorfizmi, angiotenzin çevirici ferment, azot oksidinin sintazası.

SUMMARY

POLYMORPHISM OF ACE GENES, NOS3 AND THEIR ASSOCIATION WITH CHRONIC CEREBROVASCULAR INSUFFICIENCY

Yakubova MM, Kushaeva D.S.

Tashkent Medical Academy, Department of neurology, Tashkent, Uzbekistan

The aim of this work is to study the association between patients with chronic cerebrovascular insufficiency (CHCVI) and polymorphisms of the ACE I/D, NOS3 4a/4b and NOS3 C/T 786. Also establish a gene relationship and associate with this pathology. We comprehensively examined 110 individuals, of whom the main group consisted of 68 patients with CHCVI. The control group of healthy individuals was 42 people. Determination of polymorphisms of the ACE I/D, NOS3 4a/4b and NOS3 C/T 786 genes performed by the polymerase chain reaction method. Significant dominating of the D allele and the D/D genotype of the ACE gene and the 4b allele and the 4b/4b genotype has been established in patients with CHCVI and is more common in the III and IV stages. In carriers of the genotype I/I, D/D in combination with 4b/4b, the highest incidence of III and IV stages of CHCVI.

Keywords: chronic cerebrovascular insufficiency, polymorphism of the angiotensin gene, angiotensin converting enzyme, nitric oxide synthase.

Redaksiyaya daxil olub: 14.06.2018

Çapa tövsiyə olunub: 09.07.2018

Rəyçi: t.ü.f.d. X.İ.Həsənov