

РОЛЬ ГЕНА *ROS1* В РАЗВИТИИ ОСТРОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Никулин Д. А., Никулина С. Ю., Чернова А. А., Шульман В. А., Третьякова С. С.

Цель. Изучить взаимосвязь однонуклеотидного полиморфизма G→C (rs619203) гена *ROS1* с развитием ишемического и геморрагического инсульта.

Материал и методы. Обследованы 152 пациента (92 мужчин, 60 женщин) с острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК), из них 124 пациента с ишемическим инсультом, 28 человек с геморрагическим инсультом и 475 здоровых лиц (320 мужчин, 155 женщин), составивших контрольную группу. Всем пациентам проведено стандартное неврологическое клинико-инструментальное обследование на базе СКЦ ФМБА (г. Красноярск) и молекулярно-генетическое исследование ДНК в НИИ терапии и профилактической медицины СО РАМН (г. Новосибирск). Статистическая обработка материала включала стандартный алгоритм статистических процедур.

Результаты. Полученные результаты показали статистически значимое преобладание распространенного генотипа GG гена *ROS1* среди пациентов с ОНМК по ишемическому типу по сравнению с контрольной группой.

Заключение. Гомозиготный генотип GG гена *ROS1* является фактором риска развития ишемического инсульта.

Ключевые слова: ген *ROS1*, ишемический инсульт, геморрагический инсульт.

ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, Красноярск, Россия.

Никулин Д. А. — ассистент кафедры нервных болезней с курсом медицинской реабилитации, Никулина С. Ю.* — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой внутренних болезней № 1, Чернова А. А. — д.м.н., доцент кафедры внутренних болезней № 1, Шульман В. А. — д.м.н., профессор кафедры внутренних болезней № 1, Третьякова С. С. — ординатор кафедры внутренних болезней № 1.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): nicoulina@mail.ru

АД — артериальное давление, КТ — компьютерная томография, ОИМ — острый инфаркт миокарда, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения, ТГ — триглицериды, УЗДС — ультразвуковое дуплексное сканирование, ХС — холестерин, ЭКГ — электрокардиография.

Рукопись получена 22.06.2015

Рецензия получена 29.06.2015

Принята к публикации 06.07.2015

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 46–49

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-46-49>

THE ROLE OF *ROS1* GENE IN DEVELOPMENT OF STROKE

Nikulin D. A., Nikulina S. Yu., Chernova A. A., Shulman V. A., Tretyakova S. S.

Aim. To study the relation of mononucleotide polymorphism G→C (rs619203) of *ROS1* gene with the risk of ischemic and hemorrhagic stroke development.

Material and methods. Totally 152 patients studied (92 males, 60 females) with acute brain circulation disorder (stroke), of those 124 with ischemic stroke, and 28 with hemorrhagic, and 475 healthy people (320 males, 155 females) of controls. All patients underwent standard neurological, clinical and instrumental investigation in SCC FMBA (Krasnoyarsk city) and molecular-genetic investigation of DNA in SRI of Therapy and Prevention Medicine of SD RAMS (Novosibirsk city). Statistics included standard algorithm of statistical procedures.

Results. The results of the study showed statistical predominance of prevalent genotype GG of *ROS1* gene in ischemic stroke patients, comparing to control group.

Conclusion. Homozygous genotype of GG gene of *ROS1* is a risk factor for ischemic stroke.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 46–49

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-46-49>

Key words: gene *ROS1*, ischemic stroke, hemorrhagic stroke.

SBEI HPE Krasnoyarsk State Medical University n.a. Voyno-Yasenetsky of the Healthcare Ministry, Krasnoyarsk, Russia.

Церебральный инсульт — это мультифакторное полигенное заболевание, предрасположенность к которому определяется аллельными вариантами генов, детерминирующими риск развития болезни при взаимодействии с определенными внешними факторами [1]. Результаты многочисленных научных исследований последних лет позволили выделить несколько групп генов-кандидатов, определяющих предрасположенность к ОНМК: гены системы гемостаза, гены ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, продукции оксида азота, гены гомоцистеинового и липидного обмена [2–9]. Тем не менее, поиск новых генетических маркеров указанного заболевания продолжается, и в этом аспекте представляет интерес ген рецептора тирозинкиназы (*ROS1*), расположенный на 6 хромосоме (6q22).

Ген *ROS1* (rs 619203) кодирует интегральный мембранный белок I типа. Белок ROS1 обладает каталитической активностью и является сильным стимулятором репарации ткани, т.е. стимулирует пролиферацию фибробластов и гладкомышечных клеток сосудистой стенки, а также синтез компонентов соединительной ткани — гликозаминогликанов и коллагена. Указанные процессы играют ключевую роль в патогенезе атеросклероза, а, значит, могут определять развитие острого нарушения мозгового кровообращения. Большинство проведенных исследований доказали взаимосвязь гена *ROS1* (ОИП-маркер rs619203) с повышенным риском развития ОИМ [10–12]. Однако опубликованные результаты работы японских ученых свидетельствуют о роли гена *ROS1* в развитии тромбозомболического инсульта. В указанном исследовании приняли участие 1362 пациентов

с инсультом (822 с тромбоэмболическим инсультом, 333 с внутримозговым кровоизлиянием и 207 с субарахноидальным кровоизлиянием) и 2070 лиц группы контроля. Было проанализировано 50 полиморфизмов в 38 кандидатных генов методами полимеразной цепной реакции и секвенирования. Установлено, что полиморфизм rs619203 (G→C (Cys2229Ser) гена *ROS1* ассоциирован с тромбоэмболическим инсультом [13].

Цель работы — изучить взаимосвязь однонуклеотидного полиморфизма G→C (rs619203) гена *ROS1* с развитием ишемического и геморрагического инсульта.

Материал и методы

В исследовании принимали участие 152 пациента с острым нарушением мозгового кровообращения и 475 здоровых лиц (группа контроля). Пациенты с ОНМК находились на лечении в неврологическом учреждении здравоохранения — Сибирском клиническом центре Федерального медико-биологического агентства г. Красноярск, где им было проведено стандартное клиничко-инструментальное обследование и забор крови для молекулярно-генетического исследования. Все обследуемые пациенты подписывали информированное согласие, утвержденное локальным этическим комитетом КрасГМУ. Основная группа была подразделена на 2 подгруппы в зависимости от механизма ОНМК: 1 подгруппа — больные с ишемическим инсультом, 2 подгруппа — больные с геморрагическим инсультом. В первой подгруппе было 124 человека, средний возраст — $58,41 \pm 11,39$ лет, из которых было 75 мужчин, средний возраст — $57 \pm 11,51$ лет и 49 женщин, средний возраст — $60,46 \pm 11,04$. Во второй подгруппе было 28 больных, средний возраст — $54,61 \pm 11,98$ лет, из которых было 17 мужчин, средний возраст — $52,35 \pm 12,17$ лет и 11 женщин, средний возраст — $58,09 \pm 11,36$ лет. Клиничко-инструментальное обследование основной группы включало оценку неврологических симптомов, исследование соматического статуса, контроль АД, запись ЭКГ, рентгенографию органов грудной клетки, общий и биохимический анализы крови, УЗИ сонных артерий, КТ головного мозга. Молекулярно-генетические исследования проводились на базе лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины СО РАМН (г. Новосибирск).

Группа контроля представлена популяционной выборкой здоровых лиц, жителей г. Новосибирск, обследованных в рамках программы ВОЗ “MONICA”. В контрольной группе было 475 человек, средний возраст — $57,41 \pm 7,23$ лет, из которых было 320 мужчин, средний возраст — $57,01 \pm 7,03$ лет и 155 женщин, средний возраст — $58,24 \pm 7,57$ лет. Обследование контрольной группы включало: измерение артериального давления, антропометрию (рост, вес), соци-

ально-демографические характеристики, опрос о курении, потреблении алкоголя (частота и типичная доза), уровне физической активности, оценку липидного профиля (общий холестерин, триглицериды и холестерин липопротеидов высокой плотности), опрос на выявление стенокардии напряжения (Rose), ЭКГ покоя в 12-ти отведениях с оценкой по Миннесотскому коду, атропиновый тест для исключения CCCY, молекулярно-генетическое исследование полиморфизма гена *ROS1*.

Статистическая обработка материала проводилась с использованием пакета прикладных программ “Excel”, “Statistica for Windows 7.0” и “SPSS 13” и стандартного алгоритма статистических процедур. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Результаты анализа CG полиморфизма среди больных инсультом и в контрольной группе представлены в таблице 1. Согласно результатам исследования установлено, что частота носителей гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю среди больных с ишемическими инсультами ($62,9 \pm 4,3\%$) была статистически значимо выше по сравнению с контрольной группой ($49,3 \pm 2,3\%$, $p=0,009$). Таким образом, генотип GG является фактором риска развития ишемического инсульта, отношение шансов носителя генотипа GG в группе с ишемическим инсультом составляет 1,459 по сравнению с носителями двух других генотипов. Частоты генотипов CC были статистически незначимо меньше у больных с ишемическим инсультом ($7,3 \pm 2,3\%$), чем в группе контроля ($8,0 \pm 1,2\%$, $p=0,931$) (табл. 1).

Нами было проанализировано распределение генотипов и аллелей rs619203 гена *ROS1* среди женщин, имеющих ишемический инсульт. По результатам исследования установлено, что частота носителей гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю у данной группы женщин ($58,0\% \pm 7,0$) была выше по сравнению с контрольной группой ($47,7 \pm 4,0\%$), но результаты не были достоверными. Частота гетерозиготных носителей CG среди женщин с ишемическим инсультом ($30,0 \pm 5,4\%$) была несколько ниже в сравнении с группой контроля ($45,2 \pm 4,0\%$). Такая же тенденция наблюдалась и у носителей гомозиготного генотипа по редкому аллелю CC — в группе контроля ($7,1 \pm 2,1\%$) в сравнении с группой женщин с ишемическим инсультом ($12,0 \pm 3,8\%$), но результаты статистически не значимы.

В таблице 2 представлено распределение генотипов и аллелей rs619203 гена *ROS1* среди мужчин с ишемическим инсультом и лиц контрольной

Таблица 1

**Распределение частот генотипов и аллелей rs619203 гена *ROS1*
среди больных с ишемическим инсультом и лиц контрольной группы**

Генотипы:	Ишемический инсульт (n=124)		Контроль (n=475)		p
	n	%±m	n	%±m	
GG	78	62,9±4,3	234	49,3±2,3	0,009
CG	37	29,8±4,1	203	43,7±2,3	0,012
CC	9	7,3±2,3	38	8,0±1,2	0,931
Аллели:					
Аллель G	193	77,8±4,2	671	70,6±1,5	0,030
Аллель C	55	22,2±4,2	279	29,4±1,5	0,030
ОШ; 95% ДИ	1,459; 1,048-2,031				
Генотип GG	78	62,9±4,3	234	49,3±2,3	0,009
Генотипы CG+CC	46	37,3±4,3	241	50,7±2,3	0,009
ОШ; 95% ДИ	1,746; 1,163-2,622				

Примечание: p — уровень значимости при сравнении распределения генотипов с показателями группы контроля.

Таблица 2

**Распределение частот генотипов и аллелей rs619203 гена *ROS1*
среди мужчин с ишемическим инсультом и лиц контрольной группы**

Генотипы:	Мужчины с ишемическим инсультом (n=74)		Контроль (n=320)		p
	n	%±m	n	%±m	
GG	49	66,2±5,5	160	50,0±2,8	0,017
CG	22	29,7±4,1	133	41,6±2,8	0,081
CC	3	4,1±1,8	27	8,4±1,6	0,299*
Аллели:					
Аллель G	120	81,1±3,2	453	70,8±1,8	0,015
Аллель C	28	18,9±3,2	187	29,2±1,8	0,015
ОШ; 95% ДИ ОШ	1,769; 1,133-2,761				
Генотип GG	49	66,2±5,5	160	50,0±2,8	0,017
Генотипы CG+CC	25	33,8±5,5	160	50,0±2,8	0,017
ОШ; 95% ДИ	1,960; 1,155-3,327				

Примечание: p — уровень значимости при сравнении распределения генотипов с показателями группы контроля, * — уровень значимости, достигнутый точным критерием Фишера.

группы. Как видно из представленных данных, частота гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю у мужчин с ишемическим инсультом составила 66,2±5,5%, гетерозиготного генотипа CG — 29,7±4,1 и гомозиготного генотипа CC по редкому аллелю — 4,1±1,8%. Таким образом, установлено, что частота носителей гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю среди мужчин с ишемическими инсультами (66,2±5,5%) была статистически значимо выше по сравнению с контрольной группой (50,0±2,8%, p=0,017) (табл. 2).

При анализе распределения частот генотипов и аллелей rs619203 гена *ROS1* среди больных с геморрагическим инсультом и лиц контрольной группы были получены следующие результаты. Частота гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю у больных с геморрагическим инсультом составила 63,0±9,3%, гетерозиготного генотипа CG — 29,6±7,3% и гомозиготного генотипа CC по редкому аллелю — 7,4±4,2%. В контрольной группе 49,3±2,3% являлись

носителями гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю, 42,7±2,3% — носителями гетерозиготного генотипа CG и 8,0±1,2% — носителями гомозиготного генотипа CC по редкому аллелю. Суммарное значение частот гетерозиготного генотипа CG и гомозиготного генотипа CC по редкому аллелю (носители других генотипов) встречалось у 37,0±9,3% больных с геморрагическим инсультом, в группе контроля — 50,7±2,3%, (ОШ=0,571; 95% ДИ 0,256-1,273). Таким образом, не установлено статистически значимого преобладания ни по одному из генотипов между больными с геморрагическим инсультом и лицами группы контроля.

В подгруппе женщин с геморрагическим инсультом частота носителей гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю составила 63,6±14,5%, в группе контроля — 47,7±4,0%. Частота гетерозиготных носителей CG среди женщин с геморрагическим инсультом (27,3±13,4%) была несколько ниже в сравнении с группой контроля (45,2±4,0%). Кроме того,

наблюдалось незначительное преобладание носителей гомозиготного генотипа *CC* по редкому аллелю ($9,1 \pm 8,7\%$) в сравнении с группой контроля ($7,1 \pm 2,1\%$). Однако результаты статистически не значимы. Частота носителей аллеля *G* среди женщин с геморрагическим инсультом составила $77,3 \pm 8,9\%$, у лиц контрольной группы — $70,3 \pm 2,6\%$. Частоты носителей аллеля *C* распределились следующим образом: женщины с геморрагическим инсультом — $22,7 \pm 8,9\%$ и контрольная группа — $29,7 \pm 2,6\%$. Таким образом, не выявлено статистически значимых отличий ни по одному генотипу между женщинами с геморрагическим инсультом и группой контроля.

В подгруппе мужчин с геморрагическим инсультом $62,5 \pm 12\%$, являлись носителями распространенного генотипа *GG*; $31,3 \pm 11,6\%$ — носителями гетерозиготного генотипа *CG* и $6,3 \pm 6,1\%$ — носителями редкого генотипа *CC*. В группе контроля соответственно частота генотипа *GG* составила $50,0 \pm 2,8\%$, генотипа *CG* — $41,6 \pm 2,8\%$, генотипа *CC* — $8,4 \pm 1,6\%$ ($p > 0,05$). Частота носителей аллеля *G* среди мужчин с геморрагическим инсультом составила $78,1 \pm 7,3\%$, у лиц контрольной группы — $70,8 \pm 1,8\%$. Частоты носителей аллеля *C* распределились следующим образом: мужчины с геморрагическим инсультом — $21,9 \pm 7,3\%$ и контрольная группа — $29,2 \pm 1,8\%$. Таким образом, не выявлено статистически значимых отличий ни по одному генотипу между мужчинами с геморрагическим инсультом и группой контроля.

Литература

1. Torshin IYu. Bioinformatics in the post-genomic era: physiology and medicine. N.Y. (USA): Nova Biomedical Book; 2007.
2. Ataman OV, Polonikov OV, Garbuzova VYu, et al. Analysis of the association of G-7A polymorphism of matrix Gla-protein (MGP) with ischemic atherothrombotic stroke in individuals with different its risk factors. Cytology and genetics 2013; 47(5): 33-40. Russian (О. В. Атаман, О. В. Полоников, В. Ю. Гарбузова и др. Анализ ассоциации G-7A полиморфизма гена матричного Gla-протеина (MGP) с ишемическим атеротромботическим инсультом у лиц с разными факторами его риска. Цитология и генетика 2013; 47(5): 33-40).
3. Ovsyannikova AN, Mashin VV, Belova LA, et al. Analysis of gene polymorphisms of the hemostatic system in the development of acute cerebral ischemia in young and middle-aged patients. Modern problems of science and education 2014; 5: 511. Russian (А. Н. Овсянникова, В. В. Машин, Л. А. Белова и др. Анализ полиморфизма генов системы гемостаза в развитии острой ишемии мозга у пациентов молодого и среднего возраста. Современ. проблемы науки и образования 2014; 5: 511).
4. Platonova IM, Nikulina SYu, Cherkashina II, et al. Association of RS699 polymorphism of the GENE of angiotensinogen (AGT) with hemorrhagic and ischemic stroke. Sib. med. review 2013; 3 (81): 26. Russian (И. М. Платунова, С. Ю. Никулина, И. И. Черкашина и др. Ассоциация полиморфизма RS699 гена ангиотензиногена (AGT) с геморрагическим и ишемическим инсультами. Сиб. мед. обозрение 2013; 3 (81): 26).
5. Shklovsky VM, Villanov VB, Remennik AY, et al. Interaction of polymorphisms ANKK1 RS1800497 and RS 2075654 DRD2 in patients with ischemic and hemorrhagic stroke. J. of rehabilitation medicine 2014; 3:117-8. Russian (В. М. Шкловский, В. Б. Вильянов, А. Ю. Ременник и др. Взаимодействие полиморфизмов RS1800497 ANKK1 и RS 2075654 DRD2 у больных с ишемическим и геморрагическим инсультом. Вестн. восстанов. медицины 2014; 3: 117-8).
6. Shishkova VN, Remennik AYu, Bugaeva ON, et al. Influence of different variants of the polymorphisms on the development of ischemic stroke in the Moscow population. Consilium Medicum 2014; 16(1): 30-2. Russian (В. Н. Шишкова, А. Ю. Ременник, О. Н. Бугаева и др. Влияние разных вариантов полиморфизмов генов на развитие ишемического инсульта в московской популяции. Consilium Medicum 2014; 16(1): 30-2).
7. Murzaliev AM, Yusupov FA, Abdykalykova NS, et al. Genetic polymorphism lipoproteincholesterol phospholipase A2 and development of strokes. Neurological journal 2012; 17(1): 50-4. Russian (А. М. Мурзалиев, Ф. А. Юсупов, Н. С. Абдыкалыкова и др. Генетический полиморфизм липопротеинассоциированной фосфолипазы A2 и развитие инсультов. Неврол. журн. 2012; 17(1): 50-4).
8. Shishkova V, Remennik A, Shklovsky V, et al. Development of the 1st of ischemic stroke and the prevalence of different variants of the gene polymorphism of apolipoprotein E in the Moscow population. Doctor 2013; 12: 81-2. Russian (В. Шишкова, А. Ременник, В. Шкловский и др. Развитие 1-го ишемического инсульта и распространенность различных вариантов полиморфизма гена аполипопротеина Е в московской популяции. Врач 2013; 12: 81-2).
9. Net JB, van der Oosterveer DM, Versmissen J, et al. Replication study of 10 genetic polymorphisms associated with coronary heart disease in a specific high-risk population with familial hypercholesterolemia. Eur. Heart. J. 2008; 29(18): 2195-201.
10. Chan K, Patel RS, Newcombe P, et al. Association of variation in the chromosome 9p21 locus with myocardial infarction versus chronic coronary artery disease. Circ. Cardiovasc. Genet. 2008; 1(2): 85-92.
11. Horne BD, Carlquist JF, Muhlestein JB, et al. Associations with myocardial infarction of six polymorphisms selected from a three-stage genome-wide association study. Am. Heart J. 2007; 154(5): 969-75.
12. Shiffman D, Ellis SG, Rowland CM, et al. Identification of four gene variants associated with myocardial infarction. Am. J. Hum. Genet. 2005; 77(4): 596-605.
13. Yamada Y, Metoki N, Yoshida H, et al. Genetic factors for ischemic and hemorrhagic stroke in Japanese individuals. Stroke 2008; 39(8): 2211-18.

Заключение

Однонуклеотидный полиморфизм $G \rightarrow C$ (rs619203) гена *ROS1* может использоваться в качестве генетического маркера острого нарушения мозгового кровообращения по ишемическому типу. Наличие у пациента гомозиготного генотипа *GG* по распространенному аллелю статистически значимо повышает риск развития ишемического инсульта.