

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ КАРДИОЭМБОЛИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА У БОЛЬНЫХ С ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ

Шульман В.А.<sup>1</sup>, Аксюткина Н.В.<sup>1</sup>, Никулина С.Ю.<sup>1</sup>, Назаров Б.В.<sup>1</sup>, Дудкина К.В.<sup>2</sup>, Максимов В.Н.<sup>3</sup>, Козлов В.В.<sup>1</sup>, Котловский М.Ю.<sup>1</sup>, Синяпко С.Ф.<sup>1</sup>, Платунова И.М.<sup>2</sup>

**Цель.** Выявить генетические предикторы ишемического инсульта у больных с ФП.

**Материал и методы.** Обследован 121 пациент с ФП и 155 их родственников I-III степени родства. В первую группу вошло 43 пробанда с ФП и ОНМК в анамнезе и 54 их родственника, во вторую — 78 пробандов с ФП без ОНМК и 101 их родственник. Контрольная группа состоит из 188 человек. Обследуемым проводили ЭКГ, ЭхоКГ, холтеровское ЭКГ-мониторирование, ВЭМ, ЧПСПП, молекулярно-генетическое исследование.

**Результаты.** Генотип AA полиморфизма -455 G>A гена *FGB* статистически значимо преобладал у пациентов с ФП и ОНМК при сравнении с пациентами с ФП без ОНМК (20,94% относительно 6,4%,  $p=0,036$ ). Отношение шансов показывает, что вероятность возникновения ОНМК при наличии гомозиготного генотипа AA по редкому аллелю в 3,9 раза выше, чем при его отсутствии. Суммарно генотипы СТ и ТТ по редкому аллелю полиморфизма 807C>T гена *ITGA2* статистически значимо преобладали у пациентов с ФП и ОНМК при сравнении с группой контроля (76,7% относительно 56,9%,  $p=0,026$ ). Вероятность возникновения ОНМК при наличии генотипов СТ и ТТ по редкому аллелю в 2,5 раза выше, чем при их отсутствии. Генотипы ТС и СС по редкому аллелю полиморфизма 5 T>C гена *GPIBA* статистически значимо чаще выявлялись у больных с ФП и ОНМК при сравнении с контролем (41,9% относительно 23,9%,  $p=0,028$ ). Наличие генотипов ТС или СС повышает вероятность возникновения ОНМК при ФП в 2,3 раза. Аллель А полиморфизма 10976 G>A гена *F7* статистически значимо реже выявлен у пациентов с ФП и ОНМК при сравнении с контрольной группой (6,98% относительно 16,22%,  $p=0,043$ ). Вероятность возникновения ОНМК при отсутствии аллеля А в 2,6 раз выше, чем при его наличии.

**Заключение.** Таким образом, настоящее исследование показало, что гомозиготный генотип AA по редкому аллелю полиморфизма -455G>A гена *FBG*, гетерозиготный генотип СТ и гомозиготный генотип ТТ по редкому аллелю полиморфизма 807C>T гена *ITGA2*, гетерозиготный генотип ТС и гомозиготный генотип СС по редкому аллелю полиморфизма — 5 T>C гена *GPIAB* определены как генетические предикторы развития ишемического инсульта у больных с ФП. Аллель А полиморфизма 10976 G>A гена *F7* оказывает протективный эффект в развитии ишемического инсульта у больных с ФП. Зная показатели генетического исследования у больных с ФП, возможно рассчитать генетический риск развития ишемического инсульта при ФП. Оценка генетического риска может способствовать ранней профилактике ишемического инсульта при ФП.

**Российский кардиологический журнал 2014, 10 (114): 29–33**

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2014-10-29-33>

**Ключевые слова:** генетический риск, кардиоэмболический инсульт, фибрилляция предсердий.

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого, МЗ РФ, Красноярск; <sup>2</sup>Краевое ГБУЗ Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 им. И. С. Берзона, Красноярск; <sup>3</sup>ФГБУ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины СО РАМН, Новосибирск, Россия.

Шульман В.А. — д.м.н., профессор кафедры внутренних болезней №1, Аксюткина Н.В.\* — к.м.н., ассистент кафедры внутренних болезней №1, Никулина С.Ю. — д.м.н., проф., зав. кафедрой внутренних болезней №1, Назаров Б.В. — к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней №1, Дудкина К.В. — к.м.н., врач-кардиолог, Максимов В.Н. — д.м.н., зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований, Козлов В.В. — к.м.н., доцент кафедры общественного здоровья и здравоохранения с курсом социальной работы, Котловский М.Ю. — к.м.н., врач-терапевт, Синяпко С.Ф. — к.м.н., доцент кафедры офтальмологии с курсом ПО им. проф. М.А. Дмитриева, Платунова И.М. — врач-невролог.

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): [zdrav\\_nva@list.ru](mailto:zdrav_nva@list.ru)

ФП — фибрилляция предсердий, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения, FBG —  $\beta$ -цепь фибриногена, F7 — фактор VII свёртывания крови, ITGA2 — интегрин  $\alpha$ -2, GPIAB —  $\alpha$ -цепь тромбоцитарного гликопротеина 1- $\beta$ , FV — фактор V свёртывания крови, MTHFR — метилентетрагидрофолатредуктаза, КТ — компьютерная томография, А — аденин, Г — гуанин, С — цитозин, Т — тимин, ОШ — отношение шансов, ДИ — доверительный интервал, ЭКГ — электрокардиография, ЭхоКГ — эхокардиография, ВЭМ — велоэргометрия, ЧПСПП — чреспищеводная стимуляция левого предсердия, HAPIEE — Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe.

Рукопись получена 29.07.2014

Рецензия получена 12.08.2014

Принята к публикации 19.08.2014

## GENETIC PREDICTORS FOR CARDIOEMBOLIC STROKE IN PATIENTS WITH ATRIAL FIBRILLATION

Shulman V.A.<sup>1</sup>, Aksyutina N.V.<sup>1</sup>, Nikulina S.Yu.<sup>1</sup>, Nazarov B.V.<sup>1</sup>, Dudkina K.V.<sup>2</sup>, Maksimov V.N.<sup>3</sup>, Kozlov V.V.<sup>1</sup>, Kotlovsky M.Yu.<sup>1</sup>, Sinyapko S.F.<sup>1</sup>, Platunova I.M.<sup>2</sup>

**Aim.** To reveal genetic predictors of the ischemic stroke in patients with AF.

**Material and methods.** Totally 121 patient studied with AF and 155 their relatives of I-III grade of relation. First group consisted of 43 probands with AF and stroke anamnesis and 54 their relatives, the second group – 78 probands with AF without stroke and 101 their relative. Control group consists of 188 subjects. The patients underwent ECG, EchoCG, Holter ECG-monitoring, VEM, TELAS, molecular-genetic investigation.

**Results.** Genotype AA of polymorphism -455 G>A of gene *FGB* statistically significantly predominated in subjects with AF and stroke comparing to those with AF without stroke (20,94% vs 6,4%;  $p=0,036$ ). Risk relation shows that the chance of stroke development with AA homozygous genotype at rare allele is 3,9 times higher than in its absence. Overall the genotypes CT and TT by the rare allele 807C>T gene *ITGA2* statistically significantly predominated in the patients with AF and stroke comparing to controls (76,7% vs 56,9%,  $p=0,026$ ). The chance of stroke development while carrying CT and TT by the rare allele is 2,5 times higher than in their absence. Genotypes TC and CC by the rare polymorphism 5 T>C gene *GPIBA* statistically more significantly were found in patients with AF and credibly increases

the chance for stroke 2,3 times. Allele A of polymorphism 10796 G>A gene *F7* statistically more significant rarer found in patients with AF and stroke comparing to controls (6,98% vs 16,22%;  $p=0,043$ ). Chance of stroke in absence of allele A is 2,6 times higher, than in its presence.

**Conclusion.** The study revealed that homozygous genotype AA by the rare polymorphism -455G>A gene *FBG*, heterozygous CT and homozygous TT by the rare allele 807C>T gene *ITGA2*, heterozygous TC and homozygous CC by the rare – 5 T>C gene *GPIAB* are set as genetic predictors for ischemic stroke development in AF. Allele A of the polymorphism 10976 G>A gene *F7* show protective effect in the ischemic stroke development in AF. Genetic risk estimation might improve the primary ischemic stroke prevention in AF.

**Russ J Cardiol 2014, 10 (114): 29–33**

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2014-10-29-33>

**Key words:** genetic risk, cardioembolic stroke, atrial fibrillation.

Фибрилляция предсердий (ФП) регистрируется приблизительно у 1,0-2,0% населения, она не только ухудшает качество жизни, но и увеличивает показатели смертности практически в 2 раза. ФП является наиболее значимой причиной кардиоэмболического инсульта. По данным исследования ATRIA с ФП ассоциируется не менее 15% всех инсультов [1]. Формирование тромбов в предсердиях при их фибрилляции является следствием сложного взаимодействия различных факторов, включая увеличение размеров ушка левого предсердия, стаз крови, эндотелиальную дисфункцию, системную и, возможно, локальную гиперкоагуляцию. 20-25% случаев ишемических инсультов, развивающихся по механизму тромбоза, имеют кардиоэмболический генез. По данным Фрэмлингского исследования ежегодный риск инсультов, предположительно связанных с ФП, увеличивается с 1,5% в группе больных 50-59 лет до 23,5% в группе больных 80-89 лет [1]. Профилактика тромбоэмболических осложнений ФП и, прежде всего, ишемического инсульта — важнейшая проблема современной кардиологии. В Европейских и Российских рекомендациях по ведению больных с ФП представлены шкалы для оценки риска развития ОНМК у пациентов с ФП — CHADS<sub>2</sub> и CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>VASc [1]. Однако в этих шкалах не отражены генетические факторы риска развития инсульта вследствие их малой изученности.

В литературе представлен ряд исследований, направленных на выявление генетических предикторов развития кардиоэмболического инсульта при ФП [2-7]. Наиболее изученным генетическим предиктором тромбоза является лейденская мутация и полиморфный маркер 677C>T гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) [3]. В целом, представленные данные о генетических предикторах тромбоэмболических осложнений при ФП единичны и в значительной мере противоречивы [7]. Поэтому дальнейшие исследования значимости полиморфных аллельных вариантов генов системы гемостаза, в особенности сочетаний аллелей этих генов, представляются весьма важной и актуальной задачей.

Таким образом, целью настоящего исследования было выявление генетических предикторов ишемического инсульта у больных с ФП.

### Материал и методы

Было проведено семейное генетическое исследование, в которое включены 121 пациент с ФП и 155 их родственников I-III степени родства. Семьи пробандов с ФП были разделены на две группы в зависимости от наличия или отсутствия ишемического инсульта у пробанда. В первую группу вошло 43 про-

банды с ФП и острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК) в анамнезе и 54 их родственника I-III степени родства, во вторую — 78 пробандов с ФП без ОНМК в анамнезе и 101 их родственник I-III степени родства. Для сравнения взята контрольная группа (188 человек), которая была отобрана на основе популяционной выборки жителей Октябрьского и Кировского районов г. Новосибирска. Эта выборка включала 9400 человек и была сформирована НИИ терапии СО РАМН в ходе работы по международному проекту HAPIEE.

Медиана возраста пробандов с ФП и ОНМК (58 [52;65] лет) статистически значимо не отличается от медианы возраста пробандов с ФП без ОНМК (62 [44;75;71] год) и от медианы возраста лиц контрольной группы (59 [53;65;75] лет). Родственники были значительно моложе (35 [25;48] лет).

Всем пациентам проводили определенный спектр клинко-инструментальных и лабораторных методов исследования: ЭКГ, ЭхоЭКГ, холтеровское ЭКГ-мониторирование, пробандам с пароксизмальной формой фибрилляции предсердий и всем родственникам — ВЭМ, ЧПСПП, молекулярно-генетическое исследование (генотипирование полиморфизма — 455G<A гена фибриногена (*FBG*), полиморфизма 10976G>A гена фактора VII свёртывания крови (*F7*), полиморфизма 807C>T гена интегрин  $\alpha$ -2 (*ITGA2*), полиморфизмом — 5 T>C гена  $\alpha$ -цепи тромбоцитарного гликопротеина 1- $\beta$  (*GP1BA*), полиморфизма 1691 G>A гена фактора V свёртывания крови (*F5*) и полиморфизма 677C<T гена метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*)). Для подтверждения ишемической природы ОНМК у обследуемых пробандов проведена компьютерная томография (КТ) головного мозга. Пробандам с пароксизмальной формой фибрилляции предсердий и всем родственникам проводилось ВЭМ и ЧПСПП для выявления пароксизмальных нарушений ритма и наличия сопутствующей патологии.

**Статистический анализ.** Статистическая обработка материала проводилась с использованием пакета прикладных программ “Excel”, и “SPSS 20”. Описательная статистика количественных признаков представлена медианами и квартилями Me(Q<sub>25</sub>-Q<sub>75</sub>). Соответствие частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга в контрольной группе оценивали по критерию хи-квадрат с помощью онлайн калькулятора. Для определения характера распределения количественных переменных использовали критерий Шапиро-Уилка. Для определения значимости различий, в зависимости от характера распределения и количества сравниваемых групп, применяли критерий Крус-

скала-Уоллиса и критерий Манна-Уитни или дисперсионный анализ и критерий Стьюдента. Относительный риск заболевания по конкретному аллелю или генотипу вычисляли как отношение шансов.

### Результаты и обсуждение

В ходе исследования у 9 родственников из 155 была диагностирована ФП. Семейное накопление ФП составило 5,81%, что свидетельствует о генетической детерминированности данного нарушения ритма, так как данный показатель значительно превышает популяционную частоту [1]. Аутосомно-доминантный тип наследования ФП был доказан нами ранее [8]. Двое из 155 обследуемых родственников с ФП в анамнезе (1,29%) имели ишемический инсульт, причем эти родственники были выявлены в семьях больных с ФП и ОНМК. Этот факт также может свидетельствовать о генетическом вкладе в данную патологию. В литературе имеются данные, что риск развития кардиоэмболических инсультов высок у пациентов с наследственными формами аритмий [9].

При анализе результатов генетического исследования получены статистически значимые различия по следующим полиморфизмам: полиморфизм -455G>A гена фибриногена (*FBG*), полиморфизм 807C>T гена *ITGA2*, полиморфизма — 5 T>C гена *GPIBA* и полиморфизма 10976 G >A гена *F7*.

Ген  $\beta$ -цепи фибриногена локализован на хромосоме 4q28. По данным литературы, носительство аллеля А полиморфизма -455 G>A гена *FBG* сопровождается повышенной экспрессией гена, что приводит к увеличению содержания фибриногена в крови и повышает вероятность образования тромба. За счёт этого носители аллеля А имеют больший риск заболеваний сердечно-сосудистой системы, в том числе ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда, инсульта [10].

В соответствии с полученными нами данными, генотип АА полиморфизма -455 G>A гена *FBG* статистически значимо преобладал у пациентов с ФП и ОНМК при сравнении с пациентами с ФП без ОНМК (20,94% относительно 6,4%,  $p=0,036$ ). Вероятность возникновения ОНМК при наличии гомозиготного генотипа АА по редкому аллелю в 3,9 раза выше, чем при его отсутствии (рис. 1).

Гликопротеин интегрин  $\alpha$ -2 является субъединицей тромбоцитарного рецептора к коллагену, фактору Виллебранда, фибронектину и ламинину. Ген *ITGA2* локализован на хромосоме 5q11.2. Кодировает аминокислотную последовательность  $\alpha$ -2-субъединицы интегринов. По данным литературы, полиморфизм 807C>T гена *ITGA2* ассоциирован с повышением плотности рецепторов на тромбоцитах и увеличением индуцируемой коллагеном агрегации тромбоцитов. Механизм этой ассоциации остается пока не ясным [11].

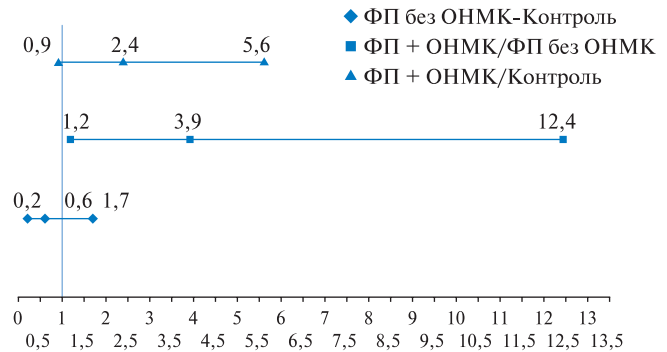


Рис. 1. Отношение шансов частоты генотипов полиморфизма -455G>A гена *FBG* (АА относительно GG+GA).

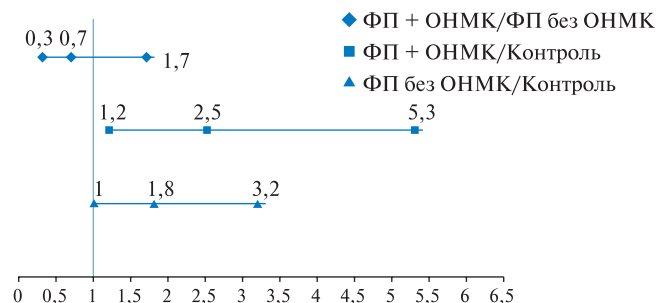


Рис. 2. Отношение шансов частоты генотипов полиморфизма 807C>T гена *GPIa* (CC относительно CT+TT).

По данным, полученным в нашем исследовании, генотипы СТ и ТТ полиморфизма 807C>T гена *ITGA2* статистически значимо преобладали у пациентов с ФП и ОНМК при сравнении с группой контроля (76,7% относительно 56,9%,  $p=0,026$ ). Отношение шансов показывает, что вероятность возникновения ОНМК при наличии генотипов СТ и ТТ в 2,5 раза выше, чем при их отсутствии (рис. 2).

Ген *GPIBA* локализован на хромосоме 17p12. По данным литературы, у носителей аллеля С полиморфизма — 5 T>C в гене *GPIBA* уровень синтезируемого GpIb $\alpha$ , а также его плотность на тромбоцитарной мембране оказываются выше, чем у лиц, не содержащих в генотипе данного аллеля. В некоторых исследованиях показано, что этот полиморфный аллельный вариант ассоциирован с риском развития острого инфаркта миокарда и ишемического инсульта, особенно у лиц молодого возраста и/или с положительным семейным анамнезом артериальной тромбоза [12].

По нашим данным, генотипы ТС и СС по редкому аллелю полиморфизма 5 T>C гена *GPIBA* статистически значимо чаще выявлялись у больных с ФП и ОНМК при сравнении с контролем (41,9% относительно 23,9%,  $p=0,028$ ). Отношение шансов показывает, что наличие генотипов ТС или СС повышает

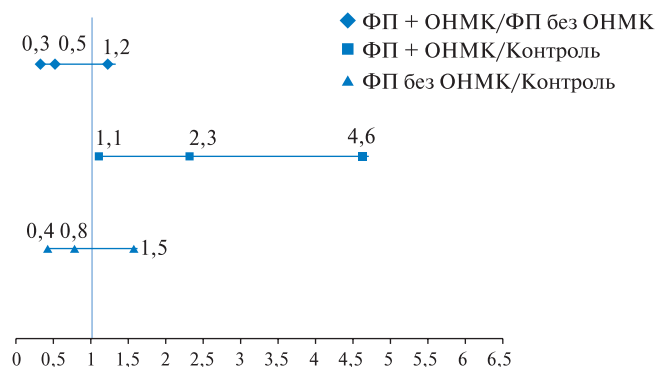


Рис. 3. Отношение шансов частоты встречаемости генотипов полиморфизма — 5 T>C гена *GPIBA*.

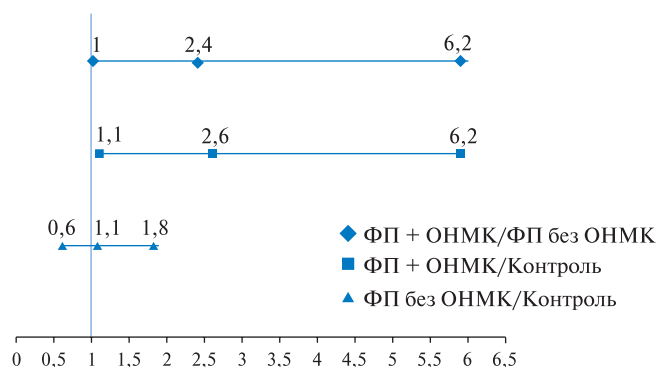


Рис. 4. Отношение шансов частоты встречаемости аллелей G/A полиморфизма 10976 G>A гена *F7*.

вероятность возникновения ОНМК при ФП в 2,3 раза (рис. 3).

Фактор VII стоит в самом начале цепочки реакций, приводящих к образованию сгустка фибрина. Ген VII фактора системы гемостаза локализован на хромосоме 13q34. По литературным данным, замена азотистого основания гуанин на аденин в позиции 10976 приводит к понижению уровня фактора VII в крови на 30% и двукратному понижению риска инфаркта миокарда при наличии коронарного атеросклероза, а также снижению риска фатального исхода при инфаркте миокарда [13].

В нашем исследовании аллель А полиморфизма 10976 G>A гена *F7* статистически значимо реже выявлен у пациентов с ФП и ОНМК при сравнении с контрольной группой (6,98% относительно 16,22%,  $p=0,043$ ). Отношение шансов показывает, что вероят-

ность возникновения ОНМК при отсутствии аллеля А в 2,6 с раз выше, чем при его наличии (рис. 4).

В соответствии с вышеизложенным, гомозиготный генотип AA по редкому аллелю полиморфизма -455G>A гена *FBG*, гетерозиготный генотип СТ и гомозиготный генотип ТТ по редкому аллелю полиморфизма 807C>T гена *ITGA2*, гетерозиготный генотип ТС и гомозиготный генотип СС по редкому аллелю полиморфизма — 5 T>C гена *GPIBA* были определены нами как генетические предикторы развития ишемического инсульта у больных с ФП. Аллель А полиморфизма 10976 G>A гена *F7*, по-видимому, обладает протективным эффектом в развитии ишемического инсульта у больных с ФП.

Как уже упоминалось выше, в литературе представлены единичные исследования, как отечественные, так и зарубежные, посвященные изучению генетических предикторов возникновения ишемических инсультов у больных с ФП [2-4, 13]. При этом данные о роли генов тромбофилий в патогенезе тромбоэмболических осложнений при ФП остаются противоречивыми. В дизайн исследования включались определение одного, реже — двух-трех полиморфизмов, ассоциированных с системой гемостаза у пациентов с ФП. Комплексное исследование связи изученных нами полиморфизмов генов системы гемостаза с развитием ишемического инсульта у больных с ФП ранее не проводилось. Полученные нами результаты по полиморфизму -455G>A гена *FBG* подтверждают полученные ранее данные Bozdemir et al. [10]. Литературных данных о связи изучаемого нами полиморфизма 10976 G>A гена *F7*, полиморфизма 807C>T гена *ITGA2*, полиморфизма — 5 T>C гена *GPIBA* с развитием ишемического инсульта при ФП при изучении русскоязычных и иностранных источников нам не встретилось.

Нами определены генотипы, использование которых возможно в стратификации риска развития ишемического инсульта у больных с фибрилляцией предсердий. Зная показатели генетического исследования у больных с ФП, возможно рассчитать генетический риск развития ишемического инсульта при ФП. Оценка генетического риска может способствовать ранней профилактике ишемического инсульта при ФП. Наличие достаточных знаний о генетических предикторах позволит расширить перечень факторов риска тромбоэмболий при ФП в шкалах CHADS<sub>2</sub> и CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc посредством включения в них генетических факторов риска.

## Литература

1. Diagnostics and treatment of fibrillation of auricles. RCS, ARSA and ACVS recommendations. Russ J Cardiol. 2013; 4: App. 3. Russian (Диагностика и лечение фибрилляции предсердий. Рекомендации РКО, ВНОА и АССХ. Российский кардиологический журнал 2013, 4: приложение 3).
2. Zotova I, Brovkin A, Isaeva M, et al. Factor V polymorphism associated with left atrial thrombosis in patients with nonvalvular atrial fibrillation. Atherosclerosis thrombosis and vascular biology annual conference. Atlanta 2008: 125.
3. Berge E, Haug K, Sandset EC, et al. The factor V Leiden, prothrombin gene 20210GA, methylenetetrahydrofolate reductase 677CT and platelet glycoprotein IIIa 1565TC mutations in patients with acute ischemic stroke and atrial fibrillation. Stroke 2007; 38: 1069—71.
4. Roldan V, Marin F, Gonzalez-Conejero R, et al. Factor VII-323 decanucleotide D/I polymorphism in atrial fibrillation: Implications for the prothrombotic state and stroke risk. Ann. Med. 2008; 40: Iss. 7: 553—9.



33