

Н.В.Аксютин, С.Ю.Никулина, В.А.Шульман, В.Н.Максимов,
Б.В.Назаров, К.В.Дудкина, А.П.Безрук, А.И.Балог, Ю.В.Котловский,
О.Я.Оседко, О.А.Ковалева, С.В.Штейнердт, А.А.Чернова

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА БЕТА-ЦЕПИ ФИБРИНОГЕНА С РАЗВИТИЕМ ОСТРОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ В СЕМЬЯХ БОЛЬНЫХ С ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ

ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого»
Минздравсоцразвития России, ФГБУ «НИИ терапии» СО РАМН, Красноярск

С целью изучения полиморфизма -455G>A гена β -цепи фибриногена в семьях больных с фибрилляцией предсердий и острым нарушением мозгового кровообращения обследовано 43 пробанды и 56 их родственников, а также контрольная группа, состоящая из 153 человек без сердечнососудистой патологии.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий, острое нарушение мозгового кровообращения, фибриноген, полиморфизм -455G>A гена β -цепи фибриногена, варфарин, дабигатран

To study the -455G>A gene polymorphism of the fibrinogen β -chain in families of patients with atrial fibrillation and stroke, 43 probands and their 56 relatives, as well as control group which consisted of 153 subjects without cardiovascular pathology were examined.

Key words: atrial fibrillation, stroke, fibrinogen, polymorphism of -455G>A gene of the fibrinogen β -chain, Warfarin, Dabigatran.

Фибрилляция предсердий (ФП) - наиболее распространенное нарушение ритма сердца. В общей популяции ФП встречается у 1-2% населения [1]. С возрастом частота случаев ФП увеличивается и предполагается, что в связи со старением населения через 50 лет риск возникновения ФП по крайней мере удвоится. ФП увеличивает риск возникновения инсульта в 5 раз и обуславливает возникновение каждого пятого инсульта. Риск смерти у больных инсультом, связанным с ФП, в 2 раза выше, а затраты на его лечение возрастают в 1,5 раза [1, 2].

Уже через 48 часов после появления ФП в ушке левого предсердия наблюдается, по данным чреспищеводной эхокардиографии феномен спонтанного контрастирования (ФСК), с последующим образованием тромба, появляется риск тромбоэмболии [3, 4]. ФСК объясняется фибриноген-индуцированной агрегацией эритроцитов и недостаточным уровнем активности антикоагулянтного звена системы свертывания крови [5-8].

Профилактика тромбоэмболических осложнений (ТО) ФП и, прежде всего, профилактика ишемического инсульта (ИИ) - важная проблема современной кардиологии. С целью решения этой проблемы в Европейских рекомендациях по профилактике и лечению ФП (2010 г.), а также в Российских рекомендациях (2011 г.) предложены шкалы CHADS₂ и CHA₂DS₂-VASc, в которых представлена количественная оценка различных факторов риска возникновения ИИ у больных ФП и даны соответствующие рекомендации по его профилактике [1, 2].

В то же время следует отметить, что к настоящему времени практически не изучены молекулярные механизмы тромбообразования в ушке левого предсердия у больных с ФП и соответственно генетические предикторы ТО у этих больных. В крупных эпидемиологических исследованиях несколько генетических локусов,

близких к генам PITX2 и ZENX3, ассоциировались с развитием ФП и ИИ [9].

Одной из причин, приводящих к изменению концентрации фибриногена сыворотки крови, могут быть структурные полиморфизмы генов фибриногена. К настоящему времени описаны, по меньшей мере, 650 однонуклеотидных вариантов в кластере этих генов на хромосоме 4 [10, 11] и установлены этнические различия в частоте аллелей и генотипов для некоторых из этих полиморфизмов [12-14]. Ряд работ также посвящен полиморфизму С-концевого участка α -цепи фибриногена, заключающегося в замене Thr на Ala [15-17].

Однако учитывая то, что сборка полипептидных цепей фибриногена начинается с β -цепи, в настоящее время наиболее широко изучаются нуклеотидные замены в области гена β -фибриногена. Так, описано более 10 полиморфных участков гена β -фибриногена, которые могут влиять на уровень фибриногена плазмы крови, среди них такие полиморфные участки, как: C-148T, G-455A [18].

Ген FGB кодирует аминокислотную последовательность β -цепи фибриногена (FGB). Полиморфизм -455G>A гена FGB - замена гуанина (G) на аденин (A) в промоторном участке гена. Носительство аллеля А сопровождается повышенной экспрессией гена, что приводит к увеличению содержания фибриногена в крови и повышает вероятность образования тромбов. В связи с этим носители аллеля А имеют больший риск возникновения заболеваний сердечнососудистой системы, в том числе ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда, инсульта [15]. Полученные результаты Сердюк И.Ю. показали, что гомозиготное и гетерозиготное носительство аллеля -455A имеет взаимосвязь с функциональной активностью тромбоцитов в группе с ишемическим инсультом [18]. Однако взаимосвязь полиморфизма G-455A гена FGB с раз-

витиём ИИ у больных с ФП до настоящего времени не изучена.

Между тем, выявление молекулярных предикторов тромбообразования у больных с ФП могло бы способствовать созданию более совершенной системы профилактики ТО в семьях больных с данным нарушением ритма. Поэтому целью настоящей работы было изучение полиморфизма - 455G>A гена β -цепи фибриногена в семьях больных с фибрилляцией предсердий и острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 43 пробанда с хронической ФП и ОНМК в анамнезе (25 женщин и 18 мужчин) и 56 их родственников 1, 2 и 3 степени родства (39 женщин и 17 мужчин), а также контрольная группа, состоящая из 153 человек без сердечнососудистой патологии (82 женщины и 71 мужчины). Средний возраст больных ОНМК составил $63,7 \pm 18,86$ лет (от 45 до 85), их родственников - $53,6 \pm 16,8$ лет (от 12 до 73 лет), контрольной группы - $52,4 \pm 16,4$ года (от 45 до 69 лет).

Контрольная группа формировалась методом случайной выборки на основе популяционной выборки 45-69 летних жителей Октябрьского и Кировского районов Новосибирска. Обследование проводилось в НИИ терапии СО РАМН в ходе работы по международному проекту НАРИЕЕ [19].

Всем обследуемым проводился сбор жалоб, анамнеза, объективный осмотр, электрокардиография, эхокардиоскопия. Помимо этого, родственникам пробандов проводилось холтеровское ЭКГ-мониторирование, тест с физической нагрузкой. У всех обследованных была взята кровь на генетический анализ. Набор пациентов основной группы и все функциональные методы исследования проводились в МБУЗ ГКБ № 20 им. И.С.Берзона Красноярска.

Геномную ДНК выделяли из 10 мл венозной крови. Экстракция ДНК из крови проводилась методом фенол-хлороформной экстракции [20]. Полиморфизм генов тестировали с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в соответствии с протоколом фирмы производителя (зонды TaqMan, Applied Biosystems, USA) на приборе ABI 7900HT.

Частоты генотипов и аллелей полиморфизма 455G>A гена FGB у пробандов, родственников I, II, III степени родства и лиц контрольной группы

	Пробанды (1)		Родственники (2)		Контроль (3)		P ₁₋₃	P ₂₋₃	P ₁₋₂
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%			
Генотипы									
GG	20	46,5	27	48,2	97	63,4	0,069	0,069	0,972
GA+AA	23	53,5	29	51,8	56	36,6	0,069	0,069	0,972
GG+GA	38	88,4	51	91,1	149	97,4	0,037	0,108	0,916
AA	5	11,6	5	8,9	4	2,6	0,037	0,108	0,916
Аллели									
G	58	67,4	78	69,6	246	80,4	0,017	0,028	0,860
A	28	32,6	34	30,4	60	19,6	0,017	0,028	0,860

Статистическая обработка полученных данных выполнялась при помощи программы SPSS, версии 19.0. Описательная статистика результатов исследования представлена для качественных признаков в виде процентных долей, для количественных - в виде средних арифметических (М) и стандартных отклонений (σ). Значимость различий качественных признаков в группах наблюдения оценивали при помощи непараметрического критерия χ^2 Пирсона с поправкой на непрерывность. При частоте встречаемости признака 5 и менее использовался точный критерий Фишера. Различия во всех случаях оценивали, как статистически значимые при $p < 0,05$.

Для оценки риска развития ОНМК по конкретному аллелю или генотипу производили оценку отношения шансов в таблицах сопряженности 2x2 с расчетом доверительных интервалов. Проверка нормальности распределения значений переменных в группах наблюдения проводилась с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. При подтверждении нормального распределения значений переменных в исследуемых группах, проверку статистической значимости различий проводили при помощи t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Для оценки значимости статистических различий между исследуемыми группами при отсутствии нормального распределения переменных, проводили сравнение групп по непараметрическому ранговому критерию Манна-Уитни.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из табл. 1, наблюдается достоверное преобладание гомозиготного генотипа AA у больных ФП с ОНМК при сравнении с данными контрольной группы, соответственно 11,6% и 2,6% ($p = 0,037$, ОШ 4,901, 95% ДИ 1,255-19,138). Тенденция к преобладанию этого генотипа наблюдалась и у родственников больных ФП с ОНМК (8,9% относительно 2,6%, $p = 0,108$, ОШ 3,652, ДИ 95% 0,944-14,125). Встречаемость генотипа AA у пробандов с ФП и ОНМК и их здоровых родственников не различалась (11,6% относительно 8,9%, $p = 0,916$, ОШ 1,342, ДИ 95% 0,363-4,968). У больных ФП с ОНМК наблюдается достоверное преобладание аллеля A при сравнении с лицами контрольной группы соответственно (32,6% относительно 19,6%, $p = 0,017$, ОШ 1,979, ДИ 95% 1,163-3,37).

Среди родственников больных ФП с ОНМК также наблюдается преобладание этого аллеля по сравнению с лицами контрольной группы (30,4% относительно 19,6%, $p = 0,028$, ОШ 1,787, ДИ 95% 1,093-2,923). Таким образом, учитывая полученные результаты, выявлена ассоциация генотипа AA и аллеля A с развитием ОНМК в семьях больных ФП с ОНМК.

Синтез β -цепи фибриногена является скоростью-

лимитирующей стадией процесса синтеза зрелого белка, поэтому полиморфные участки в промоторной области гена FGB, изменяющие уровень продукции β -цепи, оказывают влияние на уровень фибриногена в плазме крови. В частности, носительство аллеля -455A полиморфизма G-455A гена FGB определяет повышенный уровень фибриногена [18, 21]. В европейской популяции этот полиморфизм находится в полном равновесном сцеплении с полиморфизмом C-148T, так что однонуклеотидный полиморфизм C-148T является «меткой» для однонуклеотидного полиморфизма G-455A [22]. У здоровых обследованных и у лиц с артериальной гипертензией генотип -455A/A ассоциирован с повышением уровня фибриногена по сравнению с носителями генотипа G/G [23]. Этот генотип также связан с повышенным риском развития ишемической болезни сердца [24] и лакунарных инсультов [25].

В настоящем исследовании показана ассоциация полиморфизма -455G>A гена FGB с ОНМК в семьях больных с ФП и ОНМК. Это обуславливает актуальность дальнейшей разработки молекулярно-генетических методов превентивной диагностики - выявление лиц с носительством генотипа AA и аллеля A полиморфизма 455G>A гена FGB и проведение профилактических мероприятий, включая индивидуально подобранное медикаментозное лечение для предупреждения ОНМК. Таким образом определение носительства полиморфизмов генов, ассоциированных с ОНМК целесообразно в условиях клинической неопределенности, т. е. в случае, когда у пациента имеется 0 или 1 балл по шкале CHADS₂ или CHA₂DS₂VASc, и возможен выбор между назначением ацетилсалициловой кислоты или антикоагулянтов (варфарин, дабигатран и др.).

ЛИТЕРАТУРА

- Guidelines for the management of atrial fibrillation. The Task force for the management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) / A.J. Camm, P. Kirchhof, G.Y.H. Lip [et al.] // *Eur. Heart J.* - 2010. - V. 31. - 2369- 2429.
- Клинические рекомендации по диагностике и лечению пациентов с фибрилляцией предсердий / Л.А.Бокерия, А.Ш.Ревитшвили, Р.Г.Оганов [и др.] // *Вестник аритмологии.* - 2010. - № 59. - С.53-77.
- Falk, R.H. Atrial fibrillation / R.H. Falk // *New Engl. J. of Med.* - 2001. - V. 344. - P. 1067-1078.
- Atrial fibrillation: current knowledge and recommendation for anagemet. The Working Group. Report of the European society of cardiology / S.Levy, G.Breithardt, R.Campbell // *Eur. Hert J.* - 1998. - V. 19. - P. 1294-320.
- The relationship between intravascular smoke-like echo and erythrocyte rouleaux formation / X.F.Wang, L.Liu, T.O.Cheng [et al.] // *Am. Heart J.* - 1992. - V.124. - P.961- 965.
- Transesophageal Echocardiographic Correlates of Clinical Risk of Thromboembolism in Nonvalvular Atrial Fibrillation / M.Zabalgaitia, J.L.Halperin, A.Lesly [et al.] // *J. Am. Col. Cardiology.* - 1998. - V.31. - P.1622-1626.
- Вариабельность ритма сердца и функциональная активность тромбоцитов у больных с мерцательной аритмией / В.Ф.Киричук, А.Ю.Хороводов, Н.А.Железнякова, Ю.Г.Шварц // *Вестник аритмологии.* - 2002. - №30. - С. 39.
- Фактор, ассоциированные с возникновением тромбоза ушка левого предсердия у пациентов с персистирующей фибрилляцией предсердий / И.Н.Алексеевская, Ю.А.Персидских, И.В.Корнелюк [и др.] // *Вестник аритмологии.* - 2009. - №56, С. 20-25.
- A sequence variant in ZFHX3 on 16q22 associates with atrial fibrillation and ischemic stroke / D.F.Gudbjartsson, H.Holm, S.Gretarsdottir [et al.] // *Nat. Genet.* - 2009. - V. 41. - P. 876-878.
- Majerus, P.W. Human genetics: bad blood by mutation / P.W.Majerus // *Nature.* -1994. -V. 14. - P. 369.
- A linkage between beta-fibrinogen gene -148C/T polymorphism and cerebral infarction / A.J.Ma, X.D.Pan, C.S.Zhang, Y.Xing, Y.N.Zhang // *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* - 2006. - V. 23, № 2. - P. 202-204.
- Генетика ишемического инсульта / В.И.Скворцова, С.А.Лимборская, Е.А.Кольцова [и др.] // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова.* - 2001. - № 4. - С.15-29.
- Platelet aggregation in acute cerebral ischemia serial measurements of platelet function in cerebrovascular disease / J.Dougherty, D.Levi, B.Weksler // *Lancet.* - 1977. - V. 1. - P. 4.
- Relation of blood pressure, serum lipids, and smoking to the risk of cerebral stroke: a longitudinal study in Eastern Finland / J.T.Salonen, P.Puska, J.Tuomilehto [et al.] // *Stroke.* - 1982. - V. 13. - P. 327-33.
- b-Fibrinogen gene polymorphisms are associated with plasma fibrinogen and coronary artery disease in patients with myocardial infarction: The ECTIM Study. Etude Cas-Temoins sur l'Infarctus du Myocarde / I. Behague, O.Poirier, V. Nicaud [et al.] // *Circulation.* - 1996. - V. 93. - P. 440—449.
- Association of the b-fibrinogen Thr312Ala polymorphism with poststroke mortality in subjects with atrial fibrillation / A.M.Carter, A.J.Catto, P.J.Grant // *Circulation.* - 1999. - V. 99. - P. 2423-2426.
- The b-fibrinogen T/A312 polymorphism in the ECTIMstudy / J.M.Curran, A.Evans, D.Arveiler [et al.] // *Thromb Haemost.* - 1998. - V. 79. - P.1057-1058.
- Сердюк, И.Ю. «Полиморфизм генов фибриногена у больных с ишемическим инсультом» / И.Ю.Сердюк // автореферат диссертации. - 2008. - С.16.
- Качество жизни населения Сибири / Г.И.Симонова, С.Н.Богатырев, О.Г.Горбунова [и др.] // *Бюллетень СО РАМН.* - 2006. - №4 (122). - С. 52-55.
- Пульс-электрофорез и методы работы с большими молекулами ДНК / К.Смит, С.Калко, Ч.Кантор // *Анализ генома. Под ред. К. Дейвиса, пер. с англ. - М. - Мир.* - 1990. - С. 58-94.
- Beta-fibrinogen gene polymorphism (C148->T) is associated with carotid atherosclerosis: results of the Austrian Stroke Prevention Study / H.Schmidt, R.Schmidt, K.Niederkorn [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* - 1998. - V. 18. - №3. - P. 487-492.
- Stroke in twins III: a follow-up study / L.M.Brass, W.F.Page, J.H.Lichtman // *Stroke.* - 1998. - V. 29. - P. 256-258.

23. Platelet aggregation in acute cerebral ischemia serial measurements of platelet function in cerebrovascular disease / J.Dougherty, D.Levi, B.Weksler // *Lancet*.- 1977.- V. 1.- P. 821-824.
24. Warfarin in the prevention of stroke associated with nonrheumatic atrial fibrillation: Veterans Affairs Stroke

- Prevention in Nonrheumatic Atrial Fibrillation Investigators / M.D.Ezekowitz, S.L.Bridgers, K.E.James [et al.] / *N. Engl. J. Med.* // 1992.- V. 327.- 1406- 1412.
25. Initiation of platelet adhesion by arrest onto fibrinogen or translocation on von Willebrand factor / B.Savage, E.Saldivar, Z.M.Ruggeri// *Cell*.- 1996.- V. 84.-P. 289-297.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА БЕТА-ЦЕПИ ФИБРИНОГЕНА С РАЗВИТИЕМ ОСТРОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ В СЕМЬЯХ БОЛЬНЫХ С ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ

Н.В.Аксюткина, С.Ю.Никулина, В.А.Шульман, В.Н.Максимов, Б.В.Назаров, К.В.Дудкина, А.П.Безрук, А.И.Балог, Ю.В.Котловский, О.Я.Оседко, О.А.Ковалева, С.В.Штейнердт, А.А.Чернова.

С целью изучения полиморфизма - 455G>A гена β -цепи фибриногена в семьях больных с фибрилляцией предсердий (ФП) и острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК) обследовано 43 пробанда с хронической ФП и ОНМК в анамнезе (25 женщин и 18 мужчин) и 56 их родственников 1, 2 и 3 степени родства (39 женщин и 17 мужчин), а также контрольная группа, состоящая из 153 человек без сердечнососудистой патологии (82 женщины и 71 мужчины). Средний возраст больных ОНМК составил $63,7 \pm 18,86$ лет (от 45 до 85), их родственников - $53,6 \pm 16,8$ лет (от 12 до 73 лет), контрольной группы - $52,4 \pm 16,4$ года (от 45 до 69 лет). Всем обследуемым проводился сбор жалоб, анамнеза, объективный осмотр, электрокардиография, эхокардиоскопия. Полиморфизм генов тестировали с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Наблюдалось достоверное преобладание гомозиготного генотипа AA у больных ФП с ОНМК при сравнении с данными контрольной группы, соответственно 11,6% и 2,6% ($p=0,037$). Тенденция к преобладанию этого генотипа наблюдалась и у родственников больных ФП с ОНМК (8,9% и 2,6%, $p=0,108$). Встречаемость генотипа AA у пробандов с ФП и ОНМК и их здоровых родственников не различалась (11,6% и 8,9%, $p=0,916$). У больных ФП с ОНМК наблюдалось достоверное преобладание аллеля A при сравнении с лицами контрольной группы соответственно (32,6% и 19,6%, $p=0,017$). Среди родственников больных ФП с ОНМК также наблюдается преобладание этого аллеля по сравнению с лицами контрольной группы (30,4% и 19,6%, $p=0,028$). Таким образом, учитывая полученные результаты, выявлена ассоциация генотипа AA и аллеля A с развитием ОНМК в семьях больных ФП с ОНМК.

CORRELATION OF POLYMORPHISM OF FIBRINOGEN BETA-CHAIN GENE AND STROKE IN FAMILIES OF PATIENTS WITH ATRIAL FIBRILLATION

N.V. Aksyutina, S.Yu. Nikulina, V.A. Shulman, V.N. Maksimov, B.V. Nazarov, K.V. Dudkina, A.P. Bezruk, A.I. Balog, Yu.V. Kotlovsky, O.Ya. Osedko, O.A. Kovaleva, S.V. Shteynerdt, A.A. Chernova

To study the -455G>A gene polymorphism of the fibrinogen β -chain (FGB) in families of patients with atrial fibrillation (AF) and stroke, 43 probands with chronic AF and a history of stroke (25 women and 18 men) and their 56 relatives of degrees of kinship of grades I III (39 women and 17 men), as well as 153 subjects of the control group free of cardiovascular pathology (82 women and 71 men) were examined. The patients with stroke aged 63.7 ± 18.86 years (45 85 years), their relatives aged 53.6 ± 16.8 years (12 73 years), and the control group subjects, 52.4 ± 16.4 years (45 69 years). In the study subjects, performed were assessment of complaints and the medical history, physical examination, electrocardiography, and echocardiography. The gene polymorphism was tested with the aid of polymerase chain reaction in the real time mode.

A significant prevalence of the homozygous genotype AA was revealed in the patients with AF and stroke as compared with the control group (11.6% and 2.6%; $p=0.037$). A tendency to prevalence of the above genotype was noted in the relatives of patients with AF and stroke (8.9% and 2.5%; $p=0.108$). The prevalence of the AA genotype in the probands with AF and stroke and their relatives did not differ (11.6% and 8.9%; $p=0.916$). In the patients with AF and stroke, a considerable prevalence of the A allele as compared with the control group was revealed (32.6% and 19.6%; $p=0.017$). In the relatives of the patients with AF and stroke, Allele A was also revealed more frequently than in control group (30.4% and 19.6%; $p=0.028$). Thus, taking the results obtained into the account, an correlation of the genotype AA and allele A with stroke in the families of patients with AF and stroke was revealed.