

На правах рукописи

Хасанова Лиана Темборовна

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО ИНСУЛЬТА
У КАБАРДИНЦЕВ И БАЛКАРЦЕВ**

14.01.11 – нервные болезни

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва

2021

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Шамалов Николай Анатольевич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук

Виноградов Олег Иванович

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национального медико-хирургического центра имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра неврологии с курсом нейрохирургии Института усовершенствования врачей, заведующий кафедрой

доктор медицинских наук, профессор

Хасанова Дина Рустемовна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «азанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра неврологии и нейрохирургии, профессор

Ведущая организация:

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»

Защита состоится «.....» _____ 2021 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.072.09 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1 и на сайте www.rsmu.ru.

Автореферат разослан «.....» _____ 202__ года.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор



Боголепова Анна Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Инсульт – вторая по распространенности причина смерти и ведущая причина инвалидизации во всем мире. Общая тенденция к старению населения в ближайшие 20 лет приведет к значительному увеличению бремени, связанного с данным заболеванием (Гусев Е.И. и др., 2013, Стаховская Л.В. и др., 2016). В 2010 году инсульт занимал третье место среди причин потери скорректированных по инвалидности лет жизни во всем мире, переместившись с пятого места в 1990 году за счет увеличения заболеваемости на 19%.

факторам риска развития инсульта относятся не только средовые, но и генетические факторы, включая отягощенную наследственность, гендерные генетические особенности, наличие генов риска и эпигенетических факторов, а также взаимодействие между генами и факторами внешней среды (Имельфельд Е.И. и др., 2016, French M.A. et al., 2018). Так, одним из основных факторов риска развития инсульта является наличие в анамнезе у родителей или братьев/сестер транзиторных ишемических атак или инсульта. Наличие инсульта у матери приводит к увеличению риска развития инсульта у детей в три раза. Значительную роль генетических факторов в этиологии инсульта демонстрируют близнецовые исследования. У монозиготных близнецов риск развития инсульта повышен в пять раз при наличии инсульта у одного из близнецов, по сравнению с дизиготными близнецами (Bevan S. et al., 2012).

Генетические факторы также могут влиять на предрасположенность к воздействию традиционных факторов риска, определяя влияние таковых на органы-мишени, или, напротив, могут оказывать прямое независимое влияние на риск развития заболевания, динамику инфаркта мозга в острой фазе и исходы (Бондаренко Е.А. и др., 2011, Бондаренко Е.А. и др., 2014, Misra S. et al., 2018).

Степень разработанности темы исследования

Основное направление генетического многофакторного анализа риска развития инсульта заключается в определении генов-кандидатов, что подразумевает выявление молекулярных вариантов функционирующего гена и

определение его функции и механизма влияния на риск развития инсульта в рамках исследований случай-контроль или когортных исследований (Тупицына Т.В. и др., 2013, Huang X.Y. et al., 2017). Выявление генетических факторов может улучшить понимание патогенеза ишемического (ИИ) и геморрагического (ГИ) инсультов и выявление лиц с высоким уровнем риска (Магомаев М.Ф. и др., 2013). Целью подобных исследований является определение новых стратегий лечения и первичной профилактики инсульта (Титов Б.В. и др., 2015, Kassis H. et al., 2017).

Эффективное прогнозирование риска развития инсульта у отдельных пациентов может стать возможным на фоне увеличения числа генов, определяющих повышение риска возникновения инсульта и выявления редких генетических вариантов путем полногеномного секвенирования с последующим включением в математические алгоритмы вычисления риска заболевания.

Цель исследования: поиск генетических маркеров риска развития церебрального инсульта в популяции кабардинцев и балкарцев.

Задачи исследования:

1. Выявить основные состояния, влияющие на развитие церебрального инсульта у кабардинцев и балкарцев.
2. Провести анализ полиморфных ДН маркеров в кандидатных генах развития церебрального инсульта у кабардинцев и балкарцев.
3. Определить основные генетические и клинические факторы, ассоциированные с восстановлением после инсульта у кабардинцев и балкарцев.

Научная новизна исследования

1. В ходе исследования впервые был проведен комплексный клинико-генетический анализ кабардино-балкарской популяции.
2. Впервые проанализировано влияние полиморфизмов генов у пациентов в кабардино-балкарской популяции на развитие ишемического (ИИ) и геморрагического (ГИ) инсульта.
3. В исследовании представлен детальный анализ факторов риска ишемического и геморрагического инсульта, особенностей клинических

симптомов обследованных пациентов.

4. В результате проведенного исследования впервые продемонстрированы факторы, определяющие развитие и течение ИИ и ГИ у пациентов в кабардино-балкарской популяции.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Впервые проанализированы особенности полиморфизмов генов у пациентов с ИИ и ГИ в кабардино-балкарской популяции.

2. Аллель ITGB3*T, генотип GP1BA*C/T и аллель GP1BA*T, генотип FGB*G/A и аллель FGB*G, генотип PON1*C/C и аллель PON1*C можно отнести к предрасполагающим к повышенному риску ИИ, а генотип FGB*G/A и аллель FGB*A, генотип APOE*e2e3 и аллели APOE*e2 – к повышенному риску ГИ, и включать в состав тест-систем для генотипирования.

3. Выявление генетических маркеров повышенного риска ИИ и ГИ в популяции кабардинцев и балкарцев расширяет возможности первичной профилактики заболевания, что в дальнейшем может способствовать разработке новых подходов к диспансеризации лиц группы риска и проведению комплексного обследования и мер первичной профилактики заболевания.

Методология и методы исследования основываются на проведенном исследовании. Диссертационная работа выполнена на высоком научно-методическом уровне (проспективное клиническое исследование), на основании большого количества клинического материала (200 пациентов и 201 человек группы сравнения). Анализ полученных данных проведен с применением адекватных статистических методов (описательных и аналитических) и компьютерных программ (IBM SPSS Statistics version 23, MS Excel 2000 (Microsoft)).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в практическую деятельность неврологического отделения для больных с острым нарушением мозгового кровообращения ГБУЗ «Республиканская клиническая больница» Минздрава БР и первичного сосудистого отделения ГБУЗ «Городская клиническая больница

№1» Минздрава Б Р. Кроме того, полученные в результате исследования данные используются в процессе лекционного и практического образования студентов и ординаторов кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики лечебного факультета ФГАОУ ВО "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" МЗ РФ.

Личный вклад автора

Автор принимала непосредственное участие в выполнении всех этапов настоящего диссертационного исследования. Автором проведен поиск и анализ отечественных и зарубежных источников по изучаемой проблеме, разработан дизайн экспериментальной части исследования. Весь материал, представленный в диссертационной работе, собран, автором лично. Автор освоила методы, применяемые для получения и оценки результатов, выполнила статистическую обработку и описание клинико-лабораторных и генетических данных, интерпретацию результатов исследования, сформулировала выводы, основные положения, выносимые на защиту.

Автором выполнено написание и оформление научной работы, освещение результатов исследования в научных публикациях, а также в виде докладов на конференциях.

Основные положения, выносимые на защиту

1. При сопоставлении частоты встречаемости основных модифицируемых факторов риска инсульта выявлено, что в кабардино-балкарской популяции наиболее распространенными являются сахарный диабет 2 типа и ожирение.

2. На основании молекулярно-генетических сопоставлений показано, что кабардинцев и балкарцев можно рассматривать как единую этническую группу, в связи с отсутствием различий по частоте встречаемости полиморфизмов генов F2, F7, F13, SERPINE1, FGB, GP1BA, ITGB3, APOE, MTHFR, PON1, NOS3, ACE.

3. Показано, что у больных ИИ статистически значимо чаще, чем у лиц без инсульта выявляются аллель ITGB3*Т, генотип GP1BA*С/Т и аллель GP1BA*Т, генотип FGB*G/A и аллель FGB*G, генотип PON1*С/С и аллель PON1*С.

4. Показано, что у больных с ГИ чаще, чем у лиц без инсульта выявляются генотип FGB*G/A и аллель FGB*A, генотип APOE*e2e3 и аллели APOE*e2.

5. Выявлена статистическая тенденция к взаимосвязи полиморфизмов гена FGB с клиническим состоянием пациентов.

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность полученных результатов определяется методологической основой исследования достаточным количеством наблюдений, использованием современных методов исследования, подтверждена современными методами статистического анализа. Сформулированные в диссертации научные положения, выводы и практические рекомендации аргументированы фактическими данными, отражены в публикациях.

Апробация диссертации

Основные материалы и положения диссертации были доложены и обсуждены на межрегиональной научно-практической конференции «Инсульт: межрегиональная проблема» (Москва, 29 октября 2020), на IX Всероссийском съезде неврологов, IV конгрессе национальной ассоциации по борьбе с инсультом (Санкт-Петербург, 15-16 июня 2019).

Апробация диссертационной работы проведена на заседании кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики лечебного факультета ФГАОУ ВО «Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации 01.12.2020 года, протокол № 83.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Представленная диссертация соответствует паспорту научной специальности 14.01.11 - «нервные болезни». Результаты проведенного исследования соответствуют пунктам 3, 19, 20 области исследования паспорта специальности «нервные болезни».

Публикация результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 3 печатных работы, из них 2 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВА Минобрнауки РФ, 1 статья - в журнале, индексируемом в международной базе данных (SCOPUS).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 148 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, четырех глав собственных исследований, клинического примера, обсуждения, выводов, практических рекомендаций. Список литературы содержит 241 источник, из них 52 отечественных и 189 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 5 рисунками и содержит 33 таблицы.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы и методы исследования

В исследование были включены 200 пациентов (100 кабардинцев и 100 балкарцев) с ишемическим и геморрагическим инсультом различной степени тяжести в возрасте от 37 до 83 лет (средний возраст составил $66,0 \pm 9,9$ лет), в том числе 96 (48,0%) мужчин и 104 (52,0%) женщины с локализацией очага в полушарии, стволе мозга и мозжечке, которые поступили в стационар в сроки от 1 часа до 2 суток от начала заболевания. Пациенты наблюдались в клинике в течение всего срока госпитализации и получали терапию, соответствующую стандартам оказания медицинской помощи больным с острым инсультом в условиях стационара. Данные пациенты составили основную группу.

В группу сравнения был включен 201 здоровый доброволец (101 кабардинец и 100 балкарцев), не имевших кардиальной патологии, тромбоземболических эпизодов в анамнезе.

Все участники исследования (или их родственники) подписывали информированное согласие на участие в исследовании и заполняли анкеты, в которых необходимо было указать место рождения и этническое происхождение до третьего колена. Были включены только те пациенты, родственники которых родились и постоянно проживали на территории аб ардино-Балкарской

Республики в течение трех поколений и относили себя к кабардинцам или балкарцам.

критерии включения пациентов в исследование: первые 72 часа с момента развития ИИ или ГИ; возраст ≥ 18 лет; проживание на территории Абардино-Балкарской республики с рождения; подписание информированного согласия на участие в исследовании.

критерии включения в группу сравнения в исследование: отсутствие ИИ/ГИ/ТИА в анамнезе; возраст ≥ 18 лет; проживание на территории Абардино-Балкарской республики с рождения; подписание информированного согласия на участие в исследовании.

критерии невключения в основную группу и группу сравнения: принадлежность к другой этнической группе; СА ; беременность; алкоголизм и наркомания; острые или хронические психические заболевания; терминальные состояния; наличие тяжелых заболеваний нервной системы (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, рассеянный склероз и т.д.); аутоиммунные и инфекционные заболевания; участие в других клинических исследованиях.

Характер инсульта устанавливался по анамнестическим данным, клинической картине, данным Т головного мозга. Среди обследованных пациентов 176 (87,5%) человек были с ИИ и 24 (12,5%) с ГИ. Основные характеристики групп представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Основные характеристики групп пациентов и группы сравнения

Основные характеристики		Инсульт		Группа сравнения	
		аб ардинцы (n=100)	Балкарцы (n=100)	аб ардинцы (n=101)	Балкарцы (n=100)
Пол	мужчины	46 (46%)	50 (50%)	44 (43,6%)	48 (48%)
	женщины	54 (54%)	50 (50%)	57 (56,4%)	52 (52%)
Возраст (среднее \pm SD, min, max)		65,7 \pm 9,7 Min – 37 Max – 83	66,3 \pm 10,1 Min – 45 Max – 83	59,0 \pm 11,5 Min – 33 Max – 89	59,5 \pm 13,1 Min – 33 Max – 87
Тип инсульта	ГИ	7 (7,0%)	17 (17,0%)	-	-
	ИИ	93 (93,0%)	83 (83,0%)	-	-

Важно отметить, что ГИ у балкарцев наблюдался в 2,6 раза чаще, по сравнению с кабардинцами (тест Манна-Уитни, $p=0,030$).

Наличие коморбидных заболеваний оценивалось как в группах пациентов, так и среди здоровых добровольцев. Для пациентов группы сравнения проводился анализ соматической и неврологической патологии в анамнезе.

Артериальная гипертензия (АГ) и фибрилляция предсердий встречались с одинаковой частотой среди пациентов и здоровых добровольцев. Сахарный диабет 2 типа наблюдался почти у половины пациентов, практически с одинаковой частотой у кабардинцев и балкарцев (тест Манна-Уитни, $p=0,720$). Однако по сравнению с группой здоровых добровольцев сахарный диабет 2 типа у пациентов встречался в 2,6 и 2,1 раза чаще (тест Манна-Уитни, $p=0,032$ и $p=0,046$ соответственно). Частота встречаемости ишемической болезни сердца (ИБС) также не различалась среди пациентов в зависимости от популяции, однако по сравнению с группой здоровых добровольцев отмечалась в 1,8 и 1,7 раза чаще у кабардинцев и балкарцев соответственно (тест Манна-Уитни, $p=0,041$ и $p=0,044$ соответственно). Инфаркт миокарда (ИМ) в анамнезе наблюдался с одинаковой частотой среди пациентов и лиц группы сравнения вне зависимости от национальности (тест Манна-Уитни, $p=0,825$), при этом среди балкарцев ИМ чаще развивался у пациентов с инсультом, по сравнению со здоровыми добровольцами (тест Манна-Уитни, $p=0,038$), чего не наблюдалось среди кабардинцев (тест Манна-Уитни, $p=0,644$). Ожирение несколько чаще отмечалось у балкарцев по сравнению с кабардинцами, однако различия не достигали статистической значимости (тест Манна-Уитни, $p=0,090$). Однако по сравнению с группой сравнения, в которой ожирение было выявлено практически у трети, ожирение у пациентов встречалось в 1,6 и 1,8 раза чаще у кабардинцев и балкарцев соответственно (тест Манна-Уитни, $p=0,048$ и $p=0,038$ соответственно) (таблица 2).

На момент развития инсульта курили 64 (32,0%) человека, из них 27 кабардинцев и 37 балкарцев.

Для решения поставленных задач был проведен комплексный клинический, лабораторный и инструментальный мониторинг.

Таблица 2 - оморбидные заболевания и состояния в обследованных группах

линико-эпидемиологические характеристики	абардинцы (n=201)		Тест Манна-Уитни, p	Балкарцы (n=200)		Тест Манна-Уитни, p
	пациенты (n=100)	группа сравнения (n=101)		пациенты (n=100)	группа сравнения (n=101)	
АГ	100 (100%)	89 (88,1%)	0,475	100 (100%)	91 (91,0%)	0,837
Сахарный диабет	46 (46,0%)	18 (17,8%)	<0,001	47 (47,0%)	22 (22,0%)	0,038
ИБС	37 (37,0%)	21 (20,8%)	0,042	40 (40,0%)	24 (24,0%)	0,043
Фибрилляция предсердий	23 (23,0%)	19 (18,8%)	0,735	21 (21,0%)	18 (18,0%)	0,746
ИМ в анамнезе	12 (12,0%)	7 (6,9%)	0,093	11 (11,0%)	6 (6,0%)	0,042
Ожирение	43 (43,0%)	27 (26,7%)	0,026	59 (59,0%)	32 (32,0%)	0,034

Оценка неврологического статуса пациентов проводилась по общепринятой методике. Кроме того, были использованы специализированные шкалы: шкала оценки тяжести инсульта Национального института здоровья США - NIHSS (National Institutes of Health Stroke Score); модифицированная шкала Рэнкина; индекс Бартел.

Всем пациентам проводился общий и биохимический анализы крови, а также коагулограмма. Дуплексное сканирование магистральных артерий головы проводили с целью оценки состояния сосудистой стенки, особенностей структуры атеросклеротической бляшки, степени стеноза, а также проходимости сосудов. Исследование проводилось по общепринятой схеме на приборе TECHNOS («ISAOTE»).

Т-исследование головного мозга пациентам проводили на 1-е и 3-и сутки от развития инсульта при госпитализации. Исследования выполняли на компьютерном томографе компьютерный томограф Toshiba Aquilion 16.

Для генетического исследования всем пациентам и лицам группы сравнения проводился забор 10 мл крови, к которой добавляли 1 мл динатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА). Далее по стандартной методике проводилась экстракция геномной ДН из лейкоцитов свежей незамороженной крови. При помощи амплификации ПЦР участков оцениваемых генов проводилась прямая ДН -диагностика полиморфных сайтов с дальнейшей обработкой эндонуклеазами и электрофорезом в агарозном геле. Анализ распределения генотипов на соответствие закону Харди-Вайнберга проводился с использованием онлайн-калькулятора <http://www.cog-genomics.org/software/stats>.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ IBM SPSS Statistics version 23, программного обеспечения MS Excel 2000 (Microsoft). Описательная статистика непрерывных количественных данных представлена в виде среднего значения (M), стандартного отклонения (\pm SD) при нормальном распределении, а также в виде медианы (Me), значений нижнего (Q1) и верхнего (Q3) квартилей при распределении, отличном от нормального. По качественным признакам группы сравнивались с помощью теста χ^2 . По количественным и качественным порядковым признакам независимые группы сопоставлялись с использованием критерия Манна-Уитни, зависимые группы (в динамике) – с использованием теста Фридмана.

Пороговым уровнем статистической значимости считали $p < 0,05$. Для нивелирования проблемы множественных сравнений при сравнении частот генотипов и аллелей применяли поправку Бонферрони, устанавливая пороговый уровень значимости на уровне $0,05/12=0,004$. В этом случае рассчитанные значения P в диапазоне [0,004; 0,050] интерпретировались как проявление статистической тенденции.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клинические особенности пациентов с ишемическим инсультом

Степень тяжести неврологического дефицита, оцененная по шкале NIHSS, уменьшалась на протяжении пребывания пациентов в стационаре (рисунок 1). В

целом с момента поступления до выписки степень тяжести инсульта уменьшилась в 1,4 раза у кабардинцев и в 1,4 раза у балкарцев (тест Фридмана, $p < 0,001$). Различий по степени выраженности неврологического дефицита у пациентов с ИИ кабардинской и балкарской популяции выявлено не было ни при поступлении, ни при последующих оценках (3-и, 7-е сутки от начала развития заболевания, а также при выписке) (тест Манна-Уитни, $p = 0,294$, $p = 0,204$, $p = 0,231$ и $p = 0,222$ соответственно).

Выявлена положительная динамика степени социальной дезинтеграции, оцененной по модифицированной шкале Рэнкина, с момента госпитализации до выписки как среди кабардинцев (в 2 раза; тест Фридмана, $p < 0,001$), так и среди балкарцев (в 2,0 раза; тест Фридмана, $p < 0,001$). Между популяциями различий в контрольных точках (поступление, 3-и, 7-е и 14-е сутки, выписка) выявлено не было (тест Манна-Уитни, $p = 0,448$, $p = 0,541$, $p = 0,661$, $p = 0,721$ и $p = 0,998$ соответственно).

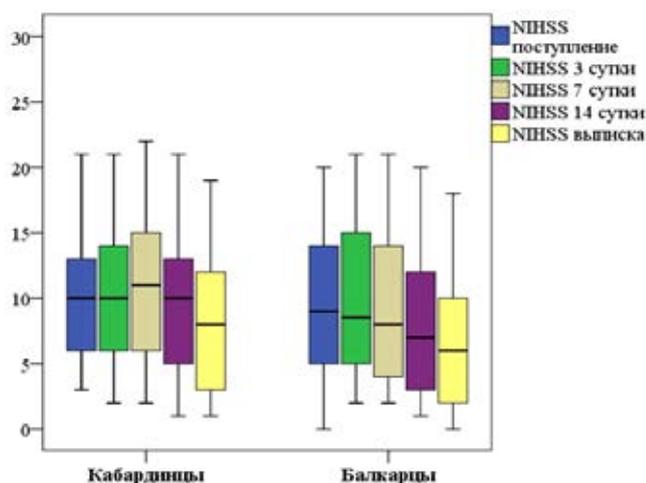


Рисунок 1. Динамика по шкале NIHSS у пациентов с ишемическим инсультом (кабардинцы – 93 пациента и балкарцы – 83 пациента)

(данные сравнительного анализа представлены в виде интегративного 95% размаха показателя без экстремальных значений и контуров, срединного диапазона, ограниченного значениями Q1 и Q3 кватриля, медианы)

При анализе функционального исхода пациентов по шкале Бартел отмечено, что как у кабардинцев, так и у балкарцев наблюдалось статистически значимое улучшение с момента госпитализации до выписки: в 2,7 раза у кабардинцев (тест

Фридмана, $p < 0,001$) и в 2,3 раза у балкарцев (тест Фридмана, $p < 0,001$). При этом различий между популяциями в показателях уровня бытовой независимости выявлено не было (тест Манна-Уитни, $p = 0,545$, $p = 0,289$, $p = 0,388$, $p = 0,524$ и $p = 0,582$ при поступлении, на 3-и, 7-е, 14-е сутки и при выписке соответственно).

Клинические особенности пациентов с геморрагическим инсультом

При оценке функционального дефицита, оцененного по шкале NIHSS, не было выявлено значимых различий между популяциями как при поступлении, так и во время пребывания пациентов в стационаре (тест Манна-Уитни, $p = 0,503$, $p = 0,389$, $p = 0,849$, $p = 0,678$ и $p = 0,524$ при поступлении, на 3-и, 7-е, 14-е сутки и при выписке). На момент выписки из стационара наблюдалось выраженное восстановление двигательных функций в 1,8 и 2,0 раза у кабардинцев и балкарцев соответственно (тест Фридмана, $p < 0,001$) (рисунок 2).

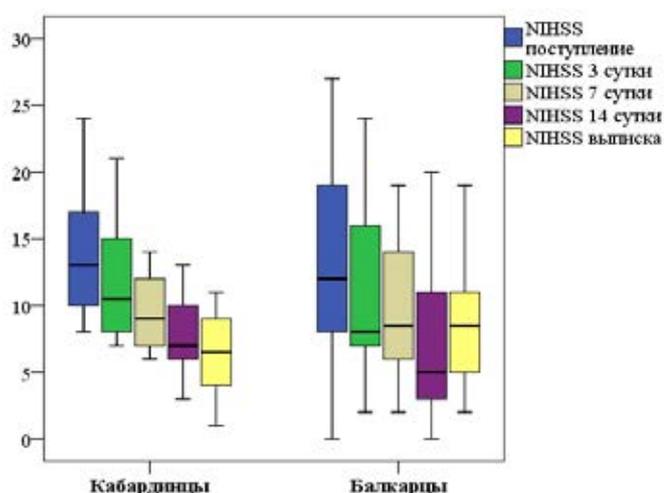


Рисунок 2. Динамика по шкале NIHSS у пациентов с геморрагическим инсультом (кабардинцы – 7 пациентов и балкарцы – 17 пациентов)

(данные сравнительного анализа представлены в виде интегративного 95% размаха показателя без экстремальных значений и контуров, срединного диапазона, ограниченного значениями Q1 и Q3 кватриля, медианы)

Степень функциональных нарушений, оцененной по модифицированной шкале Рэнкина, также была сопоставима в обеих популяциях на всем периоде наблюдения (тест Манна-Уитни, $p = 0,438$, $p = 0,507$, $p = 0,529$, $p = 0,397$ и $p = 0,272$ при

поступлении, на 3-и, 7-е, 14-е сутки и при выписке). На момент выписки состояние пациентов, оцененное по данной шкале улучшилось в 1,7 раза, как среди кабардинцев, так и среди балкарцев (тест Фридмана, $p < 0,001$).

Восстановление повседневной активности по индексу Бартел было статистически значимо как среди кабардинцев, так и балкарцев (тест Фридмана, $p < 0,001$), однако на момент выписки показатели данного индекса функциональной активности были в 1,4 раза выше у балкарцев по сравнению с кабардинцами (тест Манна-Уитни, $p = 0,021$).

ОСОБЕННОСТИ ДНК-МАРКЕРОВ В ПОПУЛЯЦИИ КАБАРДИНЦЕВ И БАЛКАРЦЕВ

Сравнительная характеристика изучаемых полиморфных ДНК-маркеров в группе сравнения у кабардинцев и балкарцев

Сравнительный анализ генотипов и аллелей в группе сравнения по G6046A полиморфному локусу гена F7, C5985A полиморфному локусу гена F13, rs1799889 4G\5G полиморфному локусу гена SERPINE1, C5918T полиморфному локусу гена ITGB3, C6065T полиморфному локусу гена GP1BA, G1800790A полиморфному локусу гена FGB, G1799983T полиморфному локусу гена NOS3, T662C полиморфному локусу гена PON1, e2\е3\е4 (rs7412 и rs429358) полиморфному локусу гена APOE, C1801133T полиморфному локусу гена MTHFR и по I/D полиморфному локусу гена ACE не выявил статистически значимых различий между двумя этносами (кабардинцы и балкарцы).

В связи с отсутствием статистически значимых различий было принято решение анализировать группу как единую кабардино-балкарскую выборку.

Сравнительная характеристика изучаемых полиморфных ДНК-маркеров у пациентов с ишемическим инсультом и группой сравнения в кабардино-балкарской популяции

При оценке результатов генотипирования rs5918 полиморфного локуса гена ITGB3 у пациентов с ИИ в кабардино-балкарской популяции не было выявлено различий по генотипам ($\chi^2 = 4,705$; $p = 0,095$) по сравнению с группой сравнения

(ОШ 0,63, 95% ДИ 0,42–0,95). Однако оказалось, что у лиц с генотипом С/С наблюдается снижение риска развития ИИ по сравнению с носителями генотипов С/Т и Т/Т (ОШ 0,61, 95% ДИ 0,39–0,97).

Таблица 3 - Сравнительный анализ полиморфных ДН -маркеров генов ITGB3, GP1BA, FGB и PON1 у пациентов с ишемическим инсультом и лиц группы сравнения в кабардино-балкарской популяции

Варианты генотипов и аллелей	Ишемический инсульт		Группа сравнения		χ^2 , P
	n=176	Частота (%)	n=202	Частота (%)	
ITGB3 rs5918 C>T					
ITGB3 C/C	120	68,2	157	77,7	$\chi^2= 4,705$; p=0,095
ITGB3 C/T	49	27,8	41	20,3	
ITGB3 T/T	7	4,0	4	2,0	
ITGB3 C	289	82,1	355	87,9	$\chi^2=4,96$; p=0,031
ITGB3 T	63	17,9	49	12,1	
GP1BA rs6065 C>T					
GP1BA C/C	116	65,9	156	77,2	$\chi^2= 6,017$; p=0,049
GP1BA C/T	53	30,1	40	19,8	
GP1BA T/T	7	4,0	6	3,0	
GP1BA C	285	81,0	352	87,1	$\chi^2=5,39$; p=0,022
GP1BA T	67	19	52	12,9	
FGB rs1800790 G>A					
FGB G/G	72	40,9	106	52,5	$\chi^2= 7,630$; p=0,022
FGB G/A	92	52,3	91	45,0	
FGB A/A	12	6,8	5	2,5	
FGB A	236	67,0	303	75,0	$\chi^2=5,82$; p=0,019
FGB G	116	33,0	101	25,0	
PON1 rs662 T>C					
PON1 C/T	95	54,0	95	47,0	$\chi^2= 5,675$; p=0,059
PON1 T/T	43	24,4	72	35,6	
PON1 C/C	38	21,6	35	17,3	
PON1 T	181	51,4	239	59,2	$\chi^2=4,56$; p=0,034
PON1 C	171	48,6	165	40,8	

При оценке распределения частот аллелей было установлено, что у пациентов с ИИ чаще встречается Т-аллель по сравнению с группой сравнения ($\chi^2=4,96$; $p=0,031$), т.е. носительство Т-аллеля ассоциировано с риском развития ИИ в кабардино-балкарской популяции (ОШ 0,63, 95% ДИ 0,42–0,95).

Выявлено, что генотип С/С полиморфного локуса гена GP1BA у пациентов с ИИ встречался реже, чем в группе сравнения, тогда как генотипы С/Т и Т/Т – чаще ($\chi^2=6,017$; $p=0,049$), также как и аллель С ($\chi^2=5,39$; $p=0,022$). Полученные данные свидетельствуют о том, что носительство Т аллеля в кабардино-балкарской популяции является фактором риска развития ИИ (ОШ 0,63, 95% ДИ 0,42–0,93).

При изучении распределения частот генотипов по G/G полиморфизму гена фибриногена (FGB) выявлено, что у пациентов с ИИ частота встречаемости генотипа G/G была существенно ниже по сравнению с группой здоровых добровольцев ($\chi^2=7,630$; $p=0,022$), также как и носительство аллеля G ($\chi^2=5,82$; $p=0,019$). Из полученных данных можно сделать вывод о том, что носительство аллеля G является фактором риска ИИ в данной этнической группе (ОШ 0,68, 95% ДИ 0,49–0,93).

При проведении сравнительного анализа генотипов и аллелей по T662C полиморфному локусу гена PON1 у пациентов с ИИ и лиц группы сравнения в кабардино-балкарской популяции установлено, что генотип Т/Т полиморфного локуса гена PON1 у пациентов с ИИ встречался реже, чем в группе сравнения, тогда как генотипы С/Т и Т/Т – чаще ($\chi^2=5,675$; $p=0,059$), также как и аллель С ($\chi^2=4,56$; $p=0,034$). Полученные данные свидетельствуют о том, что носительство С аллеля в кабардино-балкарской популяции является фактором риска развития ИИ (ОШ 0,73, 95% ДИ 0,55–0,97) (таблица 3).

По остальным оцениваемым генам не было получено статистически значимых различий в распределении частот генотипов и аллелей.

Таким образом, в результате проведенного исследования генетических особенностей выявлено, что носительство Т-аллеля генов интегрин бета-3 (ITGB3 rs5918) и гена тромбоцитарного гликопротеина б1, альфа цепи (GP1BA

rs6065), а также G-аллеля гена фибриногена (FGB rs1800790) и C-аллеля гена параоксоназы (PON1 rs662) имеет статистическую тенденцию к ассоциации с риском развития ИИ в кабардино-балкарской популяции.

Сравнительная характеристика изучаемых полиморфных ДНК-маркеров у пациентов с геморрагическим инсультом и группы сравнения в кабардино-балкарской популяции

Лишь по двум из всех оцениваемых генов была выявлена статистическая тенденция к взаимосвязи с риском развития ГИ.

Таблица 4 - Сравнительный анализ полиморфных ДН -маркеров генов FGB и APOE у пациентов с геморрагическим инсультом и лиц группы сравнения в кабардино-балкарской популяции

Варианты генотипов и аллелей	Геморрагический инсульт		онтроль		χ^2 , P
	n=24	Частота (%)	n=202	Частота (%)	
FGB rs1800790 G>A					
FGB G/G	6	25,0	106	52,5	p=0,020
FGB G/A	18	75,0	91	45,0	
FGB A/A	0	0	5	2,5	
FGB A	18	37,5	101	25,0	$\chi^2=3,46$; p=0,082
FGB G	30	62,5	303	75,0	
APOE					
e2e3	9	37,5	22	10,9	p=0,004
e2e4	0	0	5	2,5	
e3e3	14	58,3	131	64,9	
e3e4	1	4,2	39	19,3	
e4e4	0	0	5	2,5	
2	9	18,8	27	6,7	$\chi^2= 11,635$; p=0,003
3	29	60,4	323	79,9	
4	10	20,8	54	13,4	

Так, было установлено, что генотип G/A полиморфного локуса гена FGB у пациентов с ГИ встречается чаще, по сравнению с группой сравнения ($p=0,02$), также как и аллель A, что позволило сделать вывод о том, что носительство A аллеля является фактором риска развития ГИ в кабардино-балкарской популяции (ОШ - 0,56, 95% ДИ [0,3; 1,04]).

Сравнительный анализ генотипов и аллелей по $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ (rs7412 и rs429358) полиморфному локусу гена APOE у пациентов с ГИ и лиц группы сравнения в кабардино-балкарской популяции выявил, что у пациентов с инсультом генотип $\epsilon 2\epsilon 3$ встречается чаще ($\chi^2=15,181$; $p=0,004$), также как и аллель 2 ($p=0,003$), т.е. в данной этнической группе носительство аллеля 2 является фактором риска развития ГИ (таблица 4).

Таким образом, в результате проведенного анализа генетических особенностей выявлено, что носительство A-аллеля гена фибриногена (FGB rs1800790) и 2-аллеля гена параоксоназы (APOE) ассоциировано с риском развития ГИ в кабардино-балкарской популяции.

Взаимодействие генотипов и аллелей изучаемых полиморфных ДНК-маркеров у пациентов с ИИ в кабардино-балкарской популяции

Нами были подробно проанализированы взаимодействия исследуемых генов в кабардино-балкарской популяции. Показано, в кабардино-балкарской популяции одновременное наличие тех или иных генотипов оцениваемых генов у одного человека не влияет на риск развития ИИ.

Оценка взаимодействия аллелей полиморфных ДН маркеров гена FGB с клинической характеристикой заболевания выявила, что у пациентов с G/G аллелем степень инвалидизации, оцененная по модифицированной шкале Рэнкина, была статистически значимо выше, чем у пациентов с аллелями G/A и A/A ($p<0,05$), уровень повседневной активности по шкале Бартел был значимо меньше, чем у пациентов с G/A и A/A, на 7-е, 14-е сутки заболевания и при выписке ($p<0,05$) (таблица 5).

Таблица 5 - Баллы клинических шкал у пациентов с ишемическим инсультом с разными генотипами гена FGB

Данные по модифицированной шкале Рэнкина и Бартел	FGB		P, тест Манна-Уитни
	G/G (n=71)	G/A+A/A (n=105)	
Рэнкин при поступлении	4 [3; 5]	4 [3; 5]	0,919
Рэнкин 3 сутки	4 [2; 5]	4 [2; 5]	0,479
Рэнкин 7 сутки*	2 [1; 4]	4 [2; 4,75]	0,034
Рэнкин 14 сутки*	2 [1; 4]	3 [2; 4,5]	0,050
Рэнкин при выписке*	2 [1; 4]	3 [1; 4]	0,044
Бартел при поступлении	35 [17,5; 60]	25 [15; 60]	0,755
Бартел 3 сутки	42,5 [12,5; 80]	35 [15; 70]	0,279
Бартел 7 сутки*	70 [40; 90]	50 [25; 82,5]	0,033
Бартел 14 сутки*	70 [45; 90]	50 [25; 82,5]	0,030
Бартел при выписке*	80 [37,5; 90]	65 [35; 90]	0,025

По остальным оцениваемым генам не было выявлено взаимодействий аллелей полиморфных ДН маркеров с клинической характеристикой заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе настоящего исследования впервые был проведен комплексный клиничко-генетический анализ и продемонстрированы факторы, определяющие развитие и течение ИИ и ГИ у пациентов в кабардино-балкарской популяции. Важным практическим выводом, полученным в результате исследования, было выявление факта, что в кабардино-балкарской популяции наиболее распространенными факторами риска инсульта являются сахарный диабет 2 типа

и ожирение. Указанное уточнение позволяет рекомендовать проведение комплексного обследования в рамках диспансерного наблюдения с целью своевременного выявления этих патологий и разработки индивидуальных программ первичной профилактики инсульта. Проведенный анализ на основании молекулярно-генетических сопоставлений показал, что кабардинцев и балкарцев можно рассматривать как единую этническую группу и что определение известных генетических маркеров риска инсульта в данном регионе можно проводить без учета этнической принадлежности.

Использование результатов проведенного исследования в клинической практике может повысить эффективность первичной и вторичной профилактики ИИ и ГИ в кабардино-балкарской популяции, снизив тем самым социально-экономические затраты при данной серьезной патологии. Повышение эффективности профилактики и лечения в свою очередь должно привести к снижению показателей смертности и инвалидизации и улучшению качества жизни населения.

ВЫВОДЫ

1. В кабардино-балкарской популяции у пациентов с инсультом в сравнении с группой контроля (без инсульта в анамнезе) отмечается более высокая распространенность таких факторов риска, как сахарный диабет 2 типа и ожирение

2. Полиморфные ДН -маркеры rs1799963 (F2), rs6046 (F7), rs5985 (F13A1), rs1799768 (SERPINE1), rs 1800790 (FGB), 1b rs6065 (GP1BA), rs5918 (ITGB3), rs429358 (APOE), rs1801133 (MTHFR), rs662 (PON1), rs1799983 (NOS3), ACE по частоте встречаемости генотипов и аллелей не различаются среди кабардинцев и балкарцев.

3. Изучение связи полиморфизмов генов rs5918 (ITGB3), 1b rs6065 (GP1BA), rs 1800790 (FGB), и rs662 (PON1) с развитием ишемического инсульта в кабардино-балкарской популяции показало, что у пациентов с ишемическим инсультом имеется статистическая тенденция к более частому, чем в группе здоровых, выявлению аллели ITGB3*Т, генотипа GP1BA*С/Т и аллели GP1BA*Т, генотипа

FGB*G/A и аллели FGB*G, генотипа PON1*C/C и аллели PON1*C. Полученные результаты позволяют рассматривать эти генетические полиморфизмы как возможно предрасполагающие к развитию ишемического инсульта.

4. Определение связи полиморфизмов генов rs 1800790 (FGB) и rs429358 (APOE) с развитием геморрагического инсульта в кабардино-балкарской популяции показало, что у пациентов с геморрагическим инсультом чаще, чем в группе сравнения выявляются генотип FGB*G/A и аллель FGB*A, генотип APOE*e2e3 и аллели APOE*e2. Полученные результаты позволяют рассматривать эти генетические полиморфизмы как возможно предрасполагающие к развитию геморрагического инсульта.

5. В остром периоде инсульта установлена ассоциация полиморфизмов гена FGB и баллов клинических шкал модифицированной Рэнкина и Бартел на 7, 14 сутки и на момент выписки, что позволяет рассматривать данные генетические полиморфизмы в качестве возможных предикторов исхода инсульта в раннем восстановительном периоде в кабардино-балкарской популяции.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

На основании результатов, полученных в ходе настоящего исследования:

1. Рекомендуется проведение диспансерного наблюдения и комплексного обследования с целью раннего выявления основных факторов риска (сахарного диабет 2 типа и ожирения) развития инсульта в кабардино-балкарской популяции.
2. В кабардино-балкарской популяции у пациентов с наличием сахарного диабета и ожирения, доказанных ведущих факторов риска, рекомендуется своевременное проведение первичной профилактики ишемического и геморрагического инсульта.
3. Для выявления лиц из групп высокого риска и разработки новых персонализированных подходов к диспансеризации и профилактике необходимо выявление генетических маркеров повышенного риска ИИ и ГИ в популяции кабардинцев и балкарцев.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Хасанова, Л.Т. Генетические особенности церебрального инсульта/ Хасанова Л.Т., Стаховская Л.В., о льцова Е.А., Шамалов Н.А.// **Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.** - 2019. - Т.119. - № 12-2. - С. 65-72 (Scopus).
2. Хасанова, Л.Т. Полиморфизмы генов системы гемостаза у больных с ишемическим инсультом в популяции кабардинцев и балкарцев/ Хасанова Л.Т., Сломинский П.А., Лайпанова Л.Р.// **Consilium Medicum.** - 2019. - Т.21. - № 9. - С. 39-43.
3. Хасанова, Л.Т. Генетические факторы развития инсульта/ Хасанова Л.Т.// **Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение.** - 2019. - Т. 3. - № 7. - С. 34-36.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ – артериальная гипертензия

ГИ – геморрагический инсульт

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИИ – ишемический инсульт

ИМ – инфаркт миокарда

АСЕ - ангиотензин-превращающий фермент (angiotensin converting enzyme)

АГТ - ангиотензиноген (angiotensinogen)

АpoE - аполипопротеин E (apolipoprotein E)

eNOS - эндотелиальная NO-синтетаза

GP1BA - тромбоцитарный гликопротеин 1b (thrombocytic glycoprotein gene 1b)

MTHFR - метилентетрагидрофолатредуктаза (methylenetetrahydrofolate reductase)

PON1 - параоксоназа-1 (paraoxonase-1)