

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТРОМБОТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ У ДЕТЕЙ С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

[М. А. Колесникова, Ю. А. Снигирь, Л. А. Строзенко, Ю. Ф. Лобанов](#)

*ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России
(г. Барнаул)*

Цель исследования: установить распределение протромботических полиморфных вариантов генов у детей с ишемическим инсультом. *Материалы и методы.* Материалом для изучения распределения полиморфных вариантов протромботических генов послужили образцы ДНК 25-ти детей с диагнозом ишемический инсульт в возрасте 2–17 лет. В основе анализа лежал метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (Real-Time PCR) с использованием конкурирующих TaqMan зондов. *Результаты.* Выявлено, что гетерозиготный полиморфный вариант (-675) 4G/5G гена PAI-1 и гетерозиготный полиморфизм 677 CT гена MTHFR с большей частотой определялись у пациентов с острым нарушением мозгового кровообращения. Сочетание трех и более полиморфных вариантов протромботических генов чаще выявлялись в группе больных детей. Определен высокий уровень концентрации гомоцистеина в сыворотке крови у пациентов с ишемическим инсультом. *Выводы.* Исследование протромботических полиморфизмов у детей и своевременная фенотипическая корректировка их функциональной реализации позволит существенно уменьшить число пациентов, у которых реализуются тромботические сосудистые события.

Ключевые слова: ишемический инсульт, полиморфные варианты генов, сочетания полиморфизмов, компаунды, гены системы гемостаза, гены фолатного цикла, дети.

Колесникова Марина Анатольевна — аспирант кафедры пропедевтики детских болезней ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (3852) 54-23-53, e-mail: marinamed66@mail.ru

Снигирь Ольга Анатольевна — аспирант кафедры пропедевтики детских болезней ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (3852) 55-98-90, e-mail: olgs6@rambler.ru

Строзенко Людмила Анатольевна — доктор медицинских наук, профессор кафедры пропедевтики детских болезней ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский

университет», рабочий телефон: 8 (3852) 47-75-65, e-mail: strozen@mail.ru

Лобанов Юрий Федорович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой пропедевтики детских болезней ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (3852) 61-91-89, e-mail: ped2@agmu.ru

Введение. Ишемический инсульт (ИИ) или острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) по ишемическому типу у детей может быть обусловлен различными причинами [1]. В настоящее время определены причины врожденных тромбофилий, при которых имеется высокая склонность к формированию и рецидивированию тромбозов различной локализации, в том числе и головного мозга. С развитием молекулярной генетики стало возможным картировать гены тех или иных белков, участвующих в процессе свертывания крови. Установлена, в частности, роль мутаций фактора V Лейден, протромбина, метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), ингибитора активатора плазминогена-1 типа (PAI-1) в склонности к раннему формированию и рецидивированию тромбозов. Тем не менее, достоверные сведения о носительстве тромбогенных полиморфизмов у детей как в популяции Алтайского края, так и в России, практически отсутствуют [2, 3]. Анализ факторов риска у детского населения со свершившимся фактом нарушения мозгового кровообращения, отличается от такового у взрослых. Не освящен вопрос и о сочетании гематогенных тромбофилий с аномалиями сосудов головного мозга. Значительные материальные затраты на лечение, высокая степень инвалидизации, снижение уровня качества жизни определяют актуальной темой выявления факторов риска и профилактики нарушений мозгового кровообращения у детей. Изучение факторов риска позволит определить прогноз, принять меры первичной профилактики, что поможет предотвратить заболевание и улучшить качество жизни пациента.

Цель исследования: установить распределение протромботических полиморфных вариантов генов у детей с ИИ.

Материалы и методы исследования. В исследование было включено 25 пациентов с диагнозом ИИ по ишемическому типу в возрасте от 2 до 17 лет (средний возраст — 12 лет), из них мальчиков — 11 (44,0 %), девочек — 14 (56,0 %), находившихся на стационарном лечении. Комплексное обследование проводилось всем детям, включающее клиническое, инструментальное и лабораторные методы исследования. Критериями включения пациентов в исследуемую группу являлось наличие доказанного эпизода ИИ в анамнезе. Контрольную группу составили 115 условно здоровых детей, сопоставимые по полу и возрасту исследуемому контингенту больных.

Определение аллельных вариантов генов осуществлялось в лаборатории молекулярной генетики Алтайского краевого диагностического центра (г. Барнаул). В основе анализа лежал метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (Real-Time PCR) с использованием конкурирующих TagMan зондов. Проведено генетическое исследование 8-ми протромботических полиморфных маркёров генов-кандидатов: фактора II протромбина (*G20210A*); фактора V Лейден (*Arg506Gln*); фактора VII свертывания крови (*Arg353Gln*); фактора XIII свертывания крови (*Val134Leu*); фибриногена *G(-455)A*; тромбоцитарного рецептора к коллагену — *ITGA2-α2 интегрин* (C807T, rs1126643) *GpIa*; тромбоцитарного рецептора фибриногена — *ITGB3-b интегрин* (T1565C) *GPIIb*; ингибитора активатора плазминогена *PAI-1 4G(-675)5G* и четырех полиморфных

вариантов генов, ассоциированных с нарушениями фолатного цикла: метилентетрагидрофолатредуктазы — (*MTHFR* Ala223Val, C677T, rs1801133 и *MTHFR* E429A, A1298C, rs1801131), B₁₂-зависимой метионин-синтазы — (*MTR* Asp919Gly, A2756G, rs1805087) и метионин-синтазы редуктазы — (*MTRR* Ile22Met, A66G, rs1801394). Кроме того, проведено исследование уровня гомоцистеина в крови у пациентов с диагнозом ИИ методом твердофазного энзим-связанного иммуносорбентного анализа с использованием тест-системы (Axis Homocystein EIA, UK). За нормальные значения концентрации гомоцистеина принимали уровень менее 5 мкмоль/л для больных в возрасте до 10 лет и 7 мкмоль/л для детей пубертатного возраста [4].

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакета программ «STATISTICA for Windows 5.0» (STATSoft). Для проверки гипотезы о нормальном распределении использовали критерий Шапиро-Уилка. Парное сравнение частот аллелей и генотипических групп в разных популяциях проводили с помощью двустороннего точного критерия Фишера (ТКФ) и критерия Пирсона. Соответствие распределения генотипических частот равновесию Харди-Вайнберга проверяли посредством критерия χ^2 , используя при этом онлайн калькулятор (<http://www.oege.org/software/hardy-weiberg.shtml>). Обнаружено отклонение от канонического распределения. Состояние генного разнообразия оценивали вычислением индекса D — относительного отклонения наблюдаемой (H_o) гетерозиготности от ожидаемой (H_e). Для отдельных показателей (относительный риск, отношение шансов) рассчитывали 95 % доверительный интервал (95 % ДИ). Различия сравниваемых величин считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. В результате проведенного исследования были установлены наиболее часто встречающиеся факторы риска развития ИИ, среди них отягощенность семейного анамнеза — у 32,0 %, отягощенный перинатальный анамнез — 68,0 %, аномалии строения сосудов мозга — 56,0 % обследованных детей.

В ходе исследования у больных детей были рассчитаны частоты аллелей, изученных полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла (табл. 1). Результаты генотипирования показали, что частота минорного аллеля T 677 гена *MTHFR* ($p = 0,047$) у детей с ОНМК встречалась статистически значимо больше по сравнению с группой контроля. По остальным частотам аллелей в исследованных протромботических полиморфных вариантах генов статистически значимых различий не наблюдалось.

Таблица 1

Распределение частот аллелей генов системы гемостаза и фолатного цикла у подростков с ИИ и у здоровых детей

Локус	Аллели	ИИ n Всего (%)	Здоровые n Всего (%)	p
<i>FII</i> G20210A	G A	49 (98,0) 1 (2,0) n = 25	226 (98,3) 4 (1,7) n = 115	1,000 1,000
<i>FV</i> G1691A	G A	50 (100) 0 n = 25	221 (96,1) 9 (3,9) n = 115	0,892 0,214

<i>FVII</i> G10976A	G A	48 (96,0) 2 (4,0) n=25	65 (90,3) 7 (9,7) n= 36	0,866 0,286
<i>FXIII</i> G226A	G A	41 (82,0) 9 (18,0) n = 25	79 (76,0) 25 (24,0) n = 52	0,852 0,340
<i>FGB</i> G(-455)A	G A	41 (82,0) 9 (18,0) n = 25	60 (78,9) 16 (21,1) n = 38	1,000 0,793
<i>ITGA2</i> C(807)T	C T	29 (58,0) 21 (42,0) n = 25	101 (60,8) 65 (39,2) n = 83	0,785 0,589
<i>GPIIIa</i> T1565C	T C	43 (86,0) 7 (14) n = 25	92 (86,8) 14 (13,2) n = 53	1,000 1,000
<i>PAI-1</i> 4G(-675)5G	5G 4G	21 (42,0) 29 (58,0) n = 25	94 (40,9) 136 (59,1) n = 115	1,000 1,000
<i>MTHFR</i> C677T	C T	32 (64,0) 18 (36,0) n = 25	171 (74,4) 59 (25,6) n = 115	0,421 0,047
<i>MTHFR</i> A1298C	A C	41 (82,0) 9 (18,0) n = 25	73 (70,2) 31 (29,8) n = 52	0,441 0,087
<i>MTR</i> A2756G	A G	43 (86,0) 7 (14,0) n = 25	73 (81,1) 17 (18,9) n = 45	0,858 0,444
<i>MTRR</i> A66G	A G	19 (38,0) 31 (62,0) n = 25	44 (44,0) 56 (56,0) n = 50	0,316 0,356

Примечание. Статистика: p — точный критерий Фишера (ТКФ); в скобках — %

Распределение частот аллелей и генотипов в изученных генах системы гемостаза и фолатного цикла у пациентов с ОНМК проверено на соответствие равновесию Харди-Вайнберга (табл. 2). Обнаружено отклонение от канонического распределения для частот генотипа 4G(-675)5G гена *PAI-1* ($\chi^2 = 7,838$; $p = 0,005$) и для частот генотипа A2756G гена *MTR* ($\chi^2 = 6,291$; $p = 0,012$).

Таблица 2

Распределение генотипов и аллелей генов факторов свертывания крови и фолатного цикла в популяции подростков, перенесших ОНМК

Локус	Генотип	N.O. %	N.E. %	χ^2 d.f. = 1	Частота аллеля	Ho \pm s.e. He \pm s.e.	D
<i>FII</i> G20210A (n = 25)	GG	96,0	96,0	0,010 $p=0,919$	G= 0,980 A= 0,2	Ho = 0,040 \pm 0,002 He = 0,040 \pm 0,002	0
	GA	4,0	4,0				
	AA	0	0				
<i>FV</i> G1691A (n = 25)	GG	100	100	$p=0,919$	G= 1,00 A= 0	Ho = 0 He = 0	0
	GA	0	0				
	AA	0	0				

<i>FVII</i> G10976A (n = 25)	GG	92,0	92,2	0,043 $p=0,835$	G = 0,960 A = 0,400	Ho = 0,080 ± 0,003 He = 0,077 ± 0,003	+0,039
	GA	8,0	7,7				
	AA	0	0,1				
<i>FXIII</i> G226A (n = 25)	GG	68,0	67,2	0,066 $p=0,797$	G = 0,820 A = 0,180	Ho = 0,280 ± 0,008 He = 0,295 ± 0,008	-0,051
	GA	28,0	29,5				
	AA	4,0	3,3				
<i>FGB</i> G(-455)A (n = 25)	GG	72,0	67,2	2,600 $p=0,107$	G = 0,820 A = 0,180	Ho = 0,200 ± 0,006 He = 0,295 ± 0,008	-0,322
	GA	20,0	29,5				
	AA	8,0	3,3				
<i>ITGA2</i> C(807)T (n = 25)	CC	36,0	33,6	0,235 $p=0,628$	C = 0,580 T = 0,420	Ho = 0,440 ± 0,01 He = 0,487 ± 0,01	-0,096
	CT	44,0	48,7				
	TT	20,0	17,7				
<i>GPIIIa</i> T1565C (n = 25)	TT	72,0	74,0	0,663 $p=0,416$	T = 0,860 C = 0,140	Ho = 0,280 ± 0,008 He = 0,240 ± 0,007	+0,167
	TC	28,0	24,0				
	CC	0	2,0				
<i>PAI-1 4G (-675)5G</i> (n = 25)	5G/5G	4,0	17,6	7,838 $p=0,005$	5G = 0,420 4G = 0,580	Ho = 0,760 ± 0,007 He = 0,487 ± 0,01	+0,561
	4G/5G	76,0	48,7				
	4G/4G	20,0	33,7				
<i>MTHFR</i> C677T (n = 25)	CC	36,0	41,0	1,159 $p=0,282$	C = 0,640 T = 0,360	Ho = 0,560 ± 0,01 He = 0,460 ± 0,01	+0,217
	CT	56,0	46,0				
	TT	8,0	13,0				
<i>MTHFR</i> A1298C (n = 25)	AA	64,0	67,2	1,205 $p=0,272$	A = 0,820 C = 0,180	Ho = 0,360 ± 0,009 He = 0,295 ± 0,008	+0,220
	AC	36,0	29,5				
	CC	0	3,3				
<i>MTR</i> A2756G (n = 25)	AA	80,0	74,0	6,291 $p=0,012$	A = 0,860 G = 0,140	Ho = 0,120 ± 0,004 He = 0,240 ± 0,007	-0,500
	AG	12,0	24,0				
	GG	8,0	2,0				
<i>MTRR</i> A66G (n = 25)	AA	20,0	14,4	1,392 $p=0,238$	A = 0,380 G = 0,620	Ho = 0,360 ± 0,009 He = 0,421 ± 0,01	-0,145
	AG	36,0	42,1				
	GG	44,0	38,5				

Примечание. N.O. — наблюдаемые частоты генотипов; N.E. — ожидаемые частоты генотипов; критерий χ^2 — оценка соответствия равновесию Харди-Вайнберга; число степеней свободы; Ho ± S.E. и He ± S.E. — соответственно наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность с ошибкой; D — относительное отклонение наблюдаемой гетерозиготности от ожидаемой

Установлено, что у пациентов с ОНМК фактическое распределение генотипа (-675) 4G/5G гена *PAI-1* было существенно увеличено (76,0 %) по сравнению с теоретическим (48,7 %), тогда как наблюдаемое распределение генотипа (-675) 4G/4G гена *PAI-1* было уменьшено (20,0 % против 33,7 % — ожидаемого распределения). Напротив, фактическое

распределение Htzg (AG) гена *MTR* статистически значимо снижено по сравнению с теоретическим, а наблюдаемая частота Hmzg (GG) гена *MTR* достоверно выше, чем ожидаемая.

Выявлен высокий уровень ожидаемой гетерозиготности по полиморфным вариантам для двух генов системы гемостаза: C807T гена *ITGA2-α2* (0,487); 4G(-675)5G гена *PAI-1* (0,487); и двух генов фолатного цикла: C677T гена *MTHFR* (0,460) и A66G гена *MTRR*(0,421).

В результате исследования нами было выявлено распределение генотипов генов системы гемостаза и генов фолатного цикла у пациентов с ОНМК и здоровых детей (табл. 3).

Анализ показал, что в группе пациентов с ОНМК гетерозиготный полиморфный вариант гена *FV*Лейден не встречался, тогда как в группе контроля зафиксирован у 7,8 % детей. Вместе с тем, гетерозиготный полиморфизм 20210 GA гена *FII* определялся с одинаковой частотой в обеих группах детей ($p = 1,000$). Гомозиготных полиморфизмов (минорных аллелей) 20210 AA гена *FII*, 1691 AA гена *FV* у детей с ИИ и детей контрольной группы обнаружено не было.

Интересно, что гетерозиготный полиморфный вариант (-675) 4G/5G гена *PAI-1* с большей частотой определялся у пациентов с ОНМК (76,0 % против 47,0 % здоровых детей; $p = 0,014$). Расчет относительного риска (ОР) показал, что в группе больных детей частота гетерозиготного полиморфизма (-675) 4G/5G гена *PAI-1* была в 1,3 раза значимо выше, чем у детей группы сравнения ($p < 0,005$). Оценка отношения шансов (ОШ) показала, что при наличии гетерозиготного полиморфного варианта (-675) 4G/5G гена *PAI-1* вероятность развития ИИ в 7,04 раза выше, чем у здоровых детей ($p < 0,005$).

В результате исследования генов фолатного цикла выявлено, что гетерозиготный полиморфизм 677 CT гена *MTHFR* достоверно чаще встречался у больных детей ($p = 0,044$) по сравнению с контрольной группой. По остальным частотам распределения генотипов генов системы гемостаза и фолатного цикла у больных и здоровых детей статистически значимых различий не наблюдалось ($p > 0,05$). Расчет ОР показал, что в группе детей с ОНМК частота гетерозиготного полиморфизма 677 CT гена *MTHFR* была в 1,64 раза значимо выше, чем в группе здоровых детей ($p < 0,005$). В результате расчета ОШ выявлено, что при наличии гетерозиготного полиморфного варианта 677 CT гена *MTHFR* вероятность развития сосудистых событий повышается в 2,54 раза, чем в контрольной группе ($p < 0,005$).

Таблица 3

Распределение частот генотипов генов факторов свертывания крови и генов фолатного метаболизма у подростков с ИИ и у здоровых детей

Ген	Генотип	ИИ n Всего (%)	Здоровые n Всего (%)	p
<i>FII</i> G20210A	20210 GG	24 (96,0)	111 (96,5)	1,000 1,000
	20210 GA	1 (4,0)	4 (3,5)	
	20210 AA	0	0	
		n = 25	n = 115	
<i>FV</i> G1691A	1691 GG	25 (100)	106 (92,2)	0,214 0,214
	1691 GA	0	9 (7,8)	
	1691 AA	0	0	
		n = 25	n = 115	

<i>FVII</i> G10976A	10976 GG 10976 GA 10976 AA	23 (92,0) 2 (8,0) 0 n = 25	29 (80,6) 7 (19,4) 0 n = 36	0,286 0,286
<i>FXIII</i> G226A	226 GG 226 GA 226 AA	17 (68,0) 7 (28,0) 1 (4,0) n = 25	30 (57,7) 19 (36,5) 3 (5,8) n = 52	0,459 0,608 1,000
<i>FGB</i> G(-455)A	(-455) GG (-455) GA (-455) AA	18 (72,0) 5 (20,0) 2 (8,0) n = 25	23 (60,5) 14 (36,8) 1 (2,6) n = 38	0,424 0,175 0,557
<i>ITGA2</i> C(807)T	807 CC 807 CT 807 TT	9 (36,0) 11 (44,0) 5 (20,0) n = 25	33 (39,7) 35 (42,2) 15 (18,1) n = 83	0,817 1,000 1,000
<i>GPIIIA</i> T1565C	1565 TT 1565 TC 1565 CC	18 (72,0) 7 (28,0) 0 n = 25	40 (75,5) 12 (22,6) 1 (1,9) n = 53	0,785 0,778 1,000
<i>PAI-1</i> 4G (-675)5G	(-675) 5G5G (-675) 4G5G (-675) 4G4G	1 (4,0) 19 (76,0) 5 (20,0) n = 25	20 (17,4) 54 (47,0) 41 (35,6) n = 115	0,123 0,014 0,162
<i>MTHFR</i> C677T	677CC 677 CT 677 TT	9 (36,0) 14 (56,0) 2 (8,0) n = 25	66 (57,4) 39 (33,9) 10 (8,7) n = 115	0,076 0,044 1,000
<i>MTHFR</i> A1298C	1298 AA 1298 AC 1298 CC	16 (64,0) 9 (36,0) 0 n = 25	24 (46,1) 25 (48,1) 3 (5,8) n = 52	0,154 0,340 0,547
<i>MTR</i> A2756G	2756 AA 2756 AG 2756 GG	20 (80,0) 3 (12,0) 2 (8,0) n = 25	30 (66,7) 13 (28,9) 2 (4,4) n = 45	0,280 0,142 0,613
<i>MTRR</i> A66G	66 AA 66 AG 66 GG	5 (20,0) 9 (36,0) 11 (44,0) n = 25	15 (30,0) 14 (28,0) 21 (42,0) n = 50	0,417 0,596 1,000

Примечание. Статистика: *p* — точный критерий Фишера (ТКФ); в скобках — %

Известно, что риск возникновения сосудистых событий увеличивается при одновременном носительстве двух и более полиморфизмов в генах-кандидатах [5-7]. Поскольку генетические компаунды усиливают выраженность фенотипических проявлений, мы оценили их частоты распределения у детей с ИИ и здоровых детей и получили следующие данные (табл. 4).

Таблица 4

Распределение сочетаний протромботических полиморфных вариантов генов у детей с ИИ и здоровых детей

Количество генетических полиморфизмов	ИИ n = 25 (%)	Здоровые n = 115 (%)	<i>p</i>
1 полиморфизм	1 (4,0)	30 (26,1)	0,015

2 полиморфизма	0	39 (33,9)	0,001
3 полиморфизма	3 (12,0)	17 (14,8)	0,771
4 полиморфизма	9 (36,0)	11 (9,6)	0,002
5 полиморфизмов	8 (32,0)	6 (5,2)	0,0005
6 полиморфизмов	2 (8,0)	5 (4,3)	0,608
7 полиморфизмов	1 (4,0)	2 (1,7)	1,000
8 полиморфизмов	—	—	—
9 полиморфизмов	1 (4,0)	0	0,178
Отсутствие замен	0	5 (4,3)	0,585
Всего сочетаний	25 (100,0)	110 (95,6)	0,585

Примечание. Статистика: p — точный критерий Фишера (ТКФ); в скобках — %

Представленные результаты исследования свидетельствуют о наличии особенностей в носительстве количества протромботических полиморфных вариантов генов у пациентов с ОНМК. Так, носительство одного, двух генетических полиморфизмов чаще встречалось у здоровых детей (26,1 %, $p = 0,015$ и 33,9 %, $p = 0,001$), для больных детей было характерно носительство 4-х (36,2 %, $p = 0,002$) и 5-ти генетических полиморфизмов (32,0 %, $p = 0,0005$). В целом максимальное количество генетических полиморфизмов, ассоциированных с наследственной предрасположенностью к тромбофилии, составило у детей с ИИ — 100 %, а у детей из группы контроля — 95,6 %. Следовательно, сочетание трех и более исследуемых нами полиморфных замен наблюдалось в 2,7 раз чаще в группе больных ИИ по сравнению с контрольной группой (96,0 и 35,6 % соответственно, $p < 0,005$). Отсутствие носительства полиморфизмов зафиксировано только у 4,3 % здоровых детей.

По данным большинства авторов, именно сочетание различных протромботических полиморфных вариантов генов усиливает прокоагулянтную составляющую тромбофилического статуса [8-10]. В нашем исследовании сочетания компаундов *C677T* гена *MTHFR* и *4G(-675)5G* гена *PAI-1* чаще выявлялись у пациентов с ОНМК (64,0 и 57,0 % соответственно, $p > 0,05$), но не имели достоверных различий. Однако сочетание трех компаундов *C677T* гена *MTHFR*, *A66G* гена *MTRR* и гена ингибитора активатора плазминогена *4G(-675)5G* достоверно чаще выявлялись в группе больных с ИИ по сравнению с контрольной группой (52,0 и 15,6 % соответственно, $p < 0,001$). Вместе с тем, у детей с ИИ, в отличие от контрольной группы, уровня статистической значимости достигали сочетания следующих полиморфизмов: *C677T* гена *MTHFR*, *A66G* гена *MTRR*, гена *PAI-1 4G(-675)5G*, гена тромбоцитарного рецептора к коллагену — *C807T* гена *GpIa* и тромбоцитарного рецептора фибриногена — *T1565C* гена *GPIIIa* (32,0 и 6,9 % соответственно, $p = 0,002$), которые имеют наибольшую патогенетическую значимость для развития сосудистых событий.

Методом разностного анализа проведен расчет уровня гомоцистеина в крови у больных и здоровых детей. Сравнительный анализ позволил выявить высокую концентрацию гомоцистеина в сыворотке крови в группе больных детей, превышающую возрастную норму ($8,9 \pm 2,6$ мкмоль/л), которая была значимо выше, чем у здоровых детей ($3,5 \pm 2,2$ мкмоль/л), $p < 0,001$.

Известно, что основными причинами развития гипергомоцистеинемии являются полиморфные замены в генах фолатного метаболизма, в частности, полиморфизм *C677T*

гена *MTHFR* является генетической детерминантой гипергомоцистеинемии, поскольку приводит к уменьшению активности протеина и накоплению гомоцистеина [19, 20]. Результаты нашего исследования показали, что уровень гомоцистеина в крови у больных с ИИ при носительстве сочетаний одного или двух гетерозиготных либо гомозиготных (минорных аллелей) полиморфных вариантов генов фолатного цикла был повышен в 2,5 раза по сравнению с группой здоровых детей ($p < 0,001$).

Выводы. Таким образом, проведенное нами исследование показало, что частота минорного аллеля *T 677* гена *MTHFR* статистически значимо выше определялась в группе больных детей. Установлено отклонение от канонического равновесия Харди-Вайнберга для частот генотипа *4G(-675)5G* гена *PAI-1* и для частот генотипа *A2756G* гена *MTR* у детей с ИИ в анамнезе. Выявлено, что гетерозиготный полиморфный вариант *(-675) 4G/5G* гена *PAI-1* и гетерозиготный полиморфизм *677 CT* гена *MTHFR* большей частотой определялись у пациентов с ОНМК. Сочетание трех и более полиморфных вариантов протромботических генов чаще выявлялись в группе больных детей. Определен высокий уровень концентрации гомоцистеина в сыворотке крови у пациентов с ИИ.

Исследование протромботических полиморфных вариантов генов у детей и своевременная фенотипическая корректировка их функциональной реализации позволит существенно уменьшить число пациентов, у которых реализуются тромботические сосудистые события.

Список литературы

1. Numis A. L. Arterial ischemic stroke in children: risk factors and etiologies / A. L. Numis, C. K. Fox // *Neurol. Neurosci Rep.* — 2014. — N 14 (1). — P. 422.
2. Первичная тромбопрофилактика у детей на основе выявления и модификации постоянных и временных факторов тромбогенного риска : методические рекомендации для врачей-педиатров, клинических ординаторов и интернов / А. П. Момот [и др.] ; под научн. ред. д-ра мед. наук, профессора А. П. Момота. — Барнаул : Изд-во АГМУ, 2013. — 83 с.
3. Баркаган З. С. Учение о тромбофилиях на современном этапе / З. С. Баркаган // *Консилиум.* — 2000. — № 6. — С. 61-65.
4. Шевченко О. П. Гипергомоцистеинемия и ее клиническое значение / О. П. Шевченко, Г. А. Олефриенко // *Лаборатория.* — 2002. — № 1. — С. 3-7.
5. Жарков П. А. Влияние носительства протромботических полиморфизмов на риск развития тромбозов у детей : автореф. дис. канд. мед. наук / П. А. Жарков. — М., 2013. — 24 с.
6. Проблема наследственной тромбофилии в практике детского нефролога / О. Л. Чугунова [и др.] // *Педиатрия.* — 2012. — № 91 (6). — С. 34-40.
7. Спиридонова М. Г. О роли полиморфных вариантов гена 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*) в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний / М. Г. Спиридонова, В. А. Степанов, В. П. Пузырев // *Клин. медицина.* — 2001. — № 2. — С. 10-16.
8. Наследственные прокоагулянтные и протромботические нарушения как ведущий этиологический фактор ишемических инсультов у детей раннего возраста / О. А. Львова [и др.] // *Журн. неврологии и психиатрии. Инсульт.* — 2013. — № 9. — С. 13-20.
9. Анализ полиморфизмов генов гемостаза и фибринолиза у детей с ишемическим инсультом / О. Е. Громыко [и др.] // *Рос. педиатр. журн.* — 2014. — № 6. — С. 4-10.
10. Строзенко Л. А. Полиморфные варианты сочетаний генов системы гемостаза

и фолатного цикла в популяции подростков Алтайского края / Л. А. Строзенко, В. В. Гордеев, Ю. Ф. Лобанов // Рос. педиатр. журн. — 2015. — № 4. — С. 26-31.

PROTHROMBOTIC DISTRIBUTION POLYMORPHIC OPTIONS OF GENES AT CHILDREN WITH ISCHEMIC STROKE

M. A. Kolesnikova, Y. A. Snigir, L. A. Strozenko, Y. F. Lobanov

SBEI HPE «Altai state medical university» of the Russian Ministry of Health (Barnaul)

Research objective: to establish distribution the prothrombotic polymorphic options of genes at children with an ischemic stroke. *Materials and methods.* Samples of DNA at 25 children with the diagnosis of ischemic stroke at the age of 2-17 years were the material for studying of distribution of polymorphic the options of prothrombotic genes. The method of polymerase chain reaction in real time (Real-Time of PCR) with usage of the competing TaqMan probes was the cornerstone of the analysis. *Results.* It was revealed that the heterozygotic polymorphic option (-675) 4G/5G of a gene of PAI-1 and a heterozygotic polymorphism of 677 ST of a gene of MTHFR with a larger frequency were defined at patients on acute disturbance of a cerebral circulation. A combination of three and more polymorphic options the prothrombotic of genes were more often revealed in group of sick children. High level of concentration of a homocysteine in blood serum at patients with an ischemic stroke is registered. *Conclusions.* Research of the prothrombotic of polymorphisms at children and well-timed phenotypic correction of their functional realization will allow to reduce significantly number of patients who have had thrombotic vascular events.

Keywords: ischemic stroke, polymorphic options of genes, combinations of polymorphisms, compounds, genes of hemostasis system, genes of folate cycle, children.

About authors:

Kolesnikova Marina Anatolyevna — post-graduate student of children's propaedeutics chair at SBEI HPE «Altai state medical university», office phone: 8 (3852) 54-23-53, e-mail: marinamed66@mail.ru

Snigir Olga Anatolyevna — post-graduate student of children's propaedeutics chair at SBEI HPE «Altai state medical university», office phone: 8 (3852) 55-98-90, e-mail: olgs6@rambler.ru

Strozenko Lyudmila Anatolievna — doctor of medical science, professor of children's propaedeutics chair at SBEI HPE «Altai state medical university», office phone: 8 (3852) 47-75-65, e-mail: strozen@mail.ru

Lobanov Yuri Fedorovich — doctor of medical science, professor, head of children's propaedeutics chair at SBEI HPE «Altai state medical university», office phone: 8 (3852) 61-91-89, e-mail: ped2@agmu.ru

List of the Literature:

1. Numis A. L. Arterial ischemic stroke in children : risk factors and etiologies / A. L. Numis, C. K. Fox // *Neurol. Neurosci Rep.* — 2014. — N 14 (1). — P. 422.

2. Primary thromboprophylaxis at children on the basis of identification and modification of constant and temporary factors of thrombogenic risk : methodical references for pediatricians, clinical interns and interns / A. P. Momot [et al.] ; under scient. edition of the doctor of medical science, professor A. P. Momota. — Barnaul : Publishing house of ASMU, 2013. — 83 p.
3. Barkagan Z. S. The doctrine on thrombophilias at the present stage / Z. S. Barkagan // Consultation. — 2000. — N 6. — P. 61-65.
4. Shevchenko O. P. Hyperhomocysteinemia and her clinical value / O. P. Shevchenko, G. A. Olefrienko // Laboratory. — 2002. — N 1. — P. 3-7.
5. Zharkov P. A. Influence of a carriage prothrombotic polymorphisms on risk of development of clottages in children : theses. cand. of medical science / P. A. Zharkov. — M., 2013. — 24 p.
6. A problem of a hereditary thrombophilia in practice of the children's nephrologist / O. L. Chugunova [et al.] // Pediatrics. — 2012. — N 91 (6). — P. 34-40.
7. Spiridonova M. G. About a role of polymorphic options of a gene of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) in pathogenesis of cardiovascular diseases / M. G. Spiridonova, V. A. Stepanov, V. P. Puzyrev // Clin. medicine. — 2001. — N 2. — P. 10-16.
8. Hereditary procoagulant and prothrombotic disturbances as the leading etiological factor of ischemic strokes at children of early age / O. A. Lvova [et al.] // Journal of neurology and psychiatry. Stroke. — 2013. — N 9. — P. 13-20.
9. The analysis of polymorphisms of genes of a hemostasis and fibrinolysis at children with an ischemic stroke / O. E. Gromyko [et al.] // Rus. pediatrician. journal. — 2014. — N 6. — P. 4-10.
10. Strozenko L. A. Polymorphic options of combinations of genes of hemostasis system and a folate cycle in population of teenagers of Altai Krai / L. A. Strozenko, V. V. Gordeev, Y. F. Lobanov // Rus. pediatrician. journal. — 2015. — N 4. — P. 26-31.