

# ХОМОЗИГОТНО НОСИТЕЛСТВО

## PAI МУТАЦИЯТА КАТО РИСКОВ ФАКТОР ЗА ИСХЕМИЧЕН МОЗЪЧЕН ИНСУЛТ ПРИ ПАЦИЕНТИ ПОД 50-ГОДИШНА ВЪЗРАСТ



г-р Мария  
Чолакова,  
г-р Николай  
Михнев,  
проф. г-р Иван  
Стайков

Клиника по  
неврология и  
медицина на съня,  
„Аджибадем Сити  
Клиник УМБАЛ  
Токуга“

**ТРОМБОФИЛИЯТА СЕ ОПРЕДЕЛЯ КАТО ПРЕДРАЗПОЛОЖЕНИЕ ЗА НЕПРАВИЛНО ОБРАЗУВАНЕ НА СЪСИРЕЦИ.** Тя е полигенно разстройство с променлива експресивност. Предразположението към тромбобразуване може да е резултат от генетични фактори, придобити промени в механизма на кръвосъсирването или по-често от взаимодействие между двете. Хомозиготното носителство или комбинацията от два или повече хетерозиготни аномални фактора може да доведе до тромботични нарушения в млада възраст. Един от тези рискови фактори е мутацията PAI – 4G/5G. Клинична значимост за тромботични събития има хомозиготното носителство на PAI мутацията, 4G/4G, като липсва такава за хетерозиготното ѝ носителство. Повишената плазмена активност на PAI-1 води до намалена фибринолитична активност и повишен риск от артериална и венозна тромбоза.

Инхибиторът на плазминогенния активатор-1 (PAI-1) е основният за тъканния тип плазминогенен активатор (tPA). Намаленият фибринолитичен капацитет, дължащ се на повишените плазмени нива на PAI-1, играе важна роля в патогенезата на тромботичните инциденти<sup>[1]</sup>. Лица, които са хомозиготни за 4G алела, имат увеличени плазмени PAI-1 концентрации в сравнение с тези с 5G алела<sup>[2]</sup>. Този полиморфизъм е изследван широко и в някои проучвания е установено, че разпространението на 4G алела е по-голямо при заболявания на коронарните артерии, менингококов септичен шок, остеонекроза, тежка прееклампсия, диабетна нефропа-

тия тип 2, белодробен тромбоемболизъм (БТЕ)<sup>[1,3,4]</sup>.

Генът SERPINE1 е отговорен за производството на PAI-1. PAI-1 участва в хемостазата, като инхибира действието на плазминогенните активатори. Тези протеини, включително урокиназният плазминогенен активатор (u-PA) и тъканният тип плазминогенен активатор, превръщат плазминогена до неговата активна форма – плазмин (Фиг. 1). Плазминът участва във фибринолизата. Чрез инхибиране на превръщането на плазминогена в плазмин, PAI-1 предотвратява фибринолизата.

Хетерозиготните патогенни варианти в SERPINE 1 гена могат да бъ-

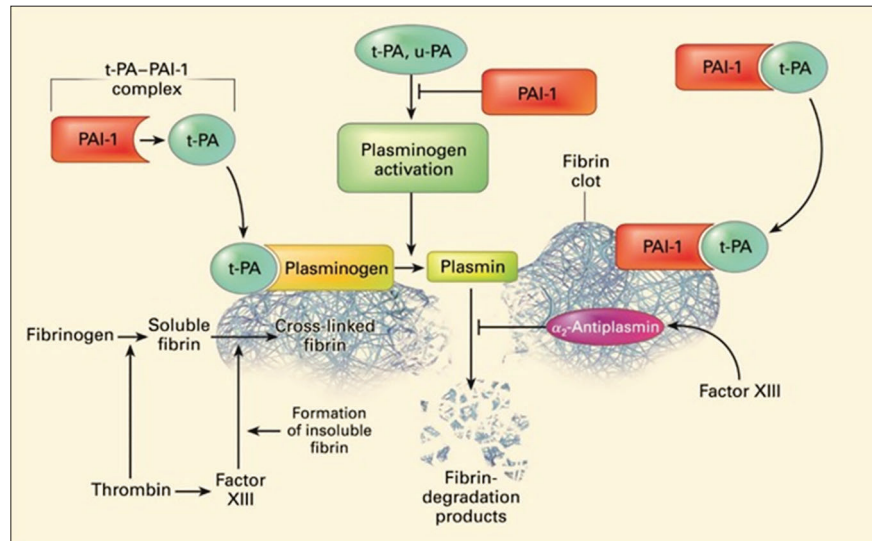
дат свързани с качествено дефицит на PAI-1 (т.е. нормални нива на PAI-1 и намалена активност на PAI-1), чието клинично значение е неизвестно<sup>[5]</sup>. SERPINE1 включва седем екзона. Вариантът SERPINE1 C-820-817G (4\_5) (4G/5G) е инсерция/делеция на четири или пет G-нуклеотидни остатъка в промоторния регион на SERPINE1.

4G алелът е свързан с по-висока плазмена PAI-1 активност. Повишаването на плазмената активност на PAI-1 води до намалена фибринолитична активност и повишен риск за артериална и венозна тромбоза, като е значим рисков фактор за коронарно артериално заболяване и повтарящ се спонтанен аборт<sup>[6]</sup>. В различните популации плазмените нива на PAI-1 антигенът се свързват с 4/5 гуанозин (4G/5G) полиморфизъм в промоторния регион на PAI-1 гена<sup>[7]</sup>. Хомозиготните носители на 4G алела имат най-високи нива на PAI-1, а 5G хомозиготните носители имат най-ниските нива на PAI-1<sup>[8,9]</sup>. Връзката между 4G/5G полиморфизма на PAI-1 гена и исхемичния инсулт е все още неясна. В някои проучвания се съобщава, че 4G/5G генотипът води до повишен риск от инсулт, но други изследователи съобщават, че същият генотип е неутрален<sup>[10-12]</sup>. Високите нива на PAI-1 са свързани със синдрома на инсулинова резистентност и с хипертриглицеридемия<sup>[13]</sup>.

### Ключови думи:

мозъчен инсулт,  
тромбофилия,  
мутацията  
PAI-1 4G/5G

При исхемичния инсулт има сложно взаимодействие между генетични фактори, начин на живот и социални фактори. Генетичните фактори могат да имат различно въздействие в дадена популация поради действието на придобитите рискови фактори за исхемичен инсулт. Две независими проучвания, сравняващи зависимостта между PAI-1 4G/5G полиморфизма и риска от инсулт, са показали клинично значима връзка между генотипа на PAI-1 4G/5G и риска от бъдещ исхемичен инсулт<sup>[14]</sup>. Освен нарушената фибринолитична способност, дължаща се на високите нива на циркулиращия PAI-1, PAI-1 оказва влияние и върху процесите на пролиферация на гладкомускулните клетки<sup>[15]</sup>. PAI-1 4G алелът е свързан с повишен риск от исхемичен мозъчен инсулт (ИМИ) при хипертриглицеридемия, като серумните триглицериди са предиктор на бъдещ инсулт само при 4G хомозиготите. Хипертриглицеридемията се свързва с повишени плазмени нива на PAI-1<sup>[9]</sup>. Това се дължи на много нископътен липопротеинов индуциращ транскрипционен фактор, свързващ се с PAI-1 промотора, припокривайки 4G/5G полиморфното място<sup>[16]</sup>. Рискът от инсулт, свързан с хипертриглицеридемия, може да се дължи на специфични за генотипа влияния върху PAI-1. Генотипът на PAI-1 е по-силен предиктор за бъдещ инсулт в сравнение с плазменния PAI-1 антиген, но се влияе и от други метаболитни, възпалителни и съдови фактори, намалявайки чувствителността на PAI-1 антигенните измервания като предиктор на инсулт<sup>[1]</sup>. Въпреки че има зависимост между полиморфизма на PAI-1 гена и мозъчния инсулт, повечето изследвания не са потвърдили такава връзка<sup>[11,12,17]</sup>. Резултатите от този



Фигура 1:  
PAI-1<sup>[1]</sup>

тип проучвания, анализиращи взаимодействието между генетичните рискови фактори и ИМИ, са трудни за възпроизвеждане<sup>[18]</sup>. Недостатъчният брой пациенти може да доведе до фалшиво отрицателни резултати, както и различните популации (алелна хетерогенност).

Исхемичният мозъчен инсулт е сериозно социално-значимо заболяване, с висока степен на инвалидизиране. Повече от 10-15% от пациентите с ИМИ са на възраст под 55 години. В повечето случаи инсултите са криптогенни, като имат значение не само придобитите рискови фактори за съдови инциденти, но и генетичните. Все още е спорна ролята на PAI мутацията в етиологията на ИМИ, като не е рутинно изследването ѝ при пациентите с мозъчен инсулт (МИ). Факторите за тромбофилия се изследват най-често при млади пациенти с преживяна дълбока венозна тромбоза (ДВТ) или белодробна тромбемболия (БТЕ).

За определяне на рисковия профил за ИМИ проведохме проспективно изследване върху стационарни пациенти, преживели такъв, на възраст между 18-50 години, хоспитализи-

рани в Клиниката по неврология на „Аджибагем Сити Клиник УМБАЛ Токуга“. Включиха се 101 пациенти с преживян ИМИ. Определена бе възрастова граница до 50 години, тъй като според редица проучвания се счита, че под тази възрастова граница има клинично значение изследването на наследствените рискови фактори<sup>[19-22]</sup>. Изследвах се 67 пациенти за носителство на мутацията PAI. Включена бе и контролна група с 69 пациенти на възраст от 18-50 години, без преживян ИМИ, но с изследвани фактори за тромбофилия, с оглед сравнителен анализ на рисковите фактори за мозъчно-съдови инциденти. Пациентите в контролната група се избрах на рандомизиран принцип.

От проведеното изследване се установи, че клинична значимост за тромботични събития има хомозиготно носителство на PAI мутацията - 4G/4G (Табл. 1). От групата на пациентите, преживели ИМИ, 40.3%<sup>[27]</sup> са хетерозиготни носители PAI-1 4G/5G, а хомозиготите по мутантния алел 4G/4G са 32.8%<sup>[22]</sup>.

Анализира се взаимодействието на PAI мутацията с другите рискови

таблица 1

РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА PAI МУТАЦИЯТА В ГРУПАТА НА ПАЦИЕНТИТЕ С ИМИ

PAI-1	Брой	%
Хомозиготи по нормален алел	18	26.9
Хетерозиготи по мутантния алел	27	40.3
Хомозиготи по мутантния алел 4G/4G	22	32.8
<b>Общо</b>	<b>67</b>	<b>100.0</b>

фактори (генетични и придобити) в етиологията на исхемичния инсулт. Установиха се следните корелации: 7 от хомозиготните носители на мутантния алел 4G/4G са с артериална хипертония, както и 10 от пациентите без носителство на PAI мутация. При изследваните пациенти не се установи статистическа зависимост между артериалната хипертония и PAI мутацията,  $p=0.681$ . 14 от пациентите, които са хомозиготи по мутантния алел 4G имат и дислипидемия, а един е със захарен диабет. Не се установи статистическа значима зависимост между тези фактори,  $p=0.355$ . Тромбоза на артериален съд в каротидната или вертебро-базиларната система се установи при 25.0% от хомозиготите по мутантния алел 4G/4G и при 28.6% от хетерозиготните носители на мутацията ( $p=0.065$ ), като рецидивиращ ИМИ са имали трима от хомозиготите по мутантния алел 4G/4G и трима от хетерозиготните носители на мутацията. Точният критерий на Фишер показва, че има статистически значима зависимост между PAI мутацията и наличието на рецидив на ИМИ ( $P=0.0035$ ). Оценки се количествено рисковите фактори за ИМИ и тяхното самостоятелно влияние чрез бинарна логистична регресия. Установиха се

следните зависимости: с нарастването на възрастта с една година се увеличава рискът от инсулт с 1.11 пъти [OR=1.11; CI: (1.06-1.16);  $p<0.001$ ]. При мъжете шансът за инсулт нараства с 3.79 пъти в сравнение с жените [OR=3.79; CI: (1.99-7.24);  $p<0.001$ ]. Дислипидемията увеличава риска за ИМИ с 26.25 пъти в сравнение с нормалните стойности на липидите [OR=26.25; CI: (10.12-68.07);  $p<0.001$ ], а артериалната хипертония с 36.27 пъти [OR=36.27; CI: (10.63-123.72);  $p<0.001$ ]. Другите придобити рискови фактори, които увеличават значимо риска за ИМИ, са обструктивната сънна апнея и тютюнопушенето. Обструктивната сънна апнея увеличава този шанс с 1.00 пъти повече [OR=1.00; CI: (0.12-0.58);  $p<0.001$ ], а тютюнопушенето с 2.87 пъти [OR=2.87; CI: (1.16-7.12);  $p=0.023$ ]. От факторите за тромбофилия се установи, че хомозиготното носителство на PAI мутацията го увеличава 3.00 пъти [OR=3.00; CI: (0.70-12.93)].

## Заклучение

При пациентите с ИМИ е необходима оценка на рисковите фактори за настъпването му. В млада възраст имат значение не само придобитите рискови фактори, но в повечето случаи генетичните, които са чес-

то с водеща роля. Правилното определяне на рисковите фактори за мозъчно-съдови инциденти, включително наличието на тромбофилия, има роля за ефективната вторична профилактика на нови тромботични събития.

От проведеното изследване се установи, че е необходимо изследването на пациентите за носителство на мутацията PAI при реализиран ИМИ в млада възраст. Като чест и статистически значими се определиха следните рискови фактори: артериална хипертония, дислипидемия, тютюнопушене, хомозиготното носителство на PAI мутацията, обструктивна сънна апнея, захарен диабет. Необходимо е провеждането на допълнителни клинични проучвания за определянето на генетичния рисков профил за МИ при пациенти в млада възраст. ■

## Книгопис:

- Kohler, H., Grant, P. Mechanisms of disease: plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *New Eng J Med*, 2000, 342, 1792-1801.
- Eriksson, P., Kallin, B., Björntorp, P. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995, 92, 1851-1855.
- Westendorp, R., Hillebrand, J., Slaatsboom, P. Variation in plasminogen-activator-inhibitor-1 gene and risk of meningococcal septic shock. *Lancet*, 1999, 354, 561-563.
- Zoller, B., Garcia de Frutos, P., Dahlback, B. A common 4G allele in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene is a risk factor for pulmonary embolism and arterial thrombosis in hereditary protein S deficiency. *Thromb Haemostasis*, 1998, 79, 802-807.
- DeSancho, M., Dorf, T., Ranc, J. Thrombophilia and the risk of thrombotic events in women on oral contraceptives and hormone replacement therapy. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2010, 21, 534-538.
- Huang, Z., Tang, W., Chen, Q. Plasminogen activator inhibitor-1 polymorphism confers a genetic contribution to the risk of spontaneous abortion: an updated meta-analysis. *Reprod Sci*, 2017, 01, 1.
- Grossmann, R., Geissen, U., Merati, G. et al. Genetic risk factors in young-adults with cryptogenic ischemic cerebrovascular disease. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2002, 13, 583-90.
- Fay, W., Parker, A., Conroy, L. Human plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) deficiency: characterization of a large kindred with a null mutation in the PAI-1 gene. *Blood*, 1997, 07, 1, 90, 204-8.
- Hamsten, A., Wiman, B., de Faire, U. Increased plasma levels of a rapid inhibitor of tissue plasminogen activator in young survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med*, 1985, 312, 1557-1563.
- Bang, C., Park, H., Ahn, M. 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene and insertion/deletion polymorphism of the tissue-type plasminogen activator gene in atherosclerotic stroke. *Cerebrovasc Dis*, 2001, 11, 294-299.
- Catto, A., Carter, A., Stickland, M. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) 4G/5G promoter polymorphism and levels in subjects with cerebrovascular disease. *Thromb Haemostasis*, 1997, 77, 730-734.
- Hindorf, L., Schwartz, S. The association of PAI-1 promoter 4G/5G insertion/deletion polymorphism with myocardial infarction and stroke in young women. *J Cardiovasc Risk*, 2002, 9, 131-137.
- Hamsten, A., Eriksson, P., Karpe, F. Relations of thrombosis and fibrinolysis to atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, 1994, 5, 382-389.
- Per-Gunnar, W., Nilsson, N., Arndor, S. et al. Plasminogen Activator Inhibitor-1 4G/5G Polymorphism and Risk of Stroke: Replicated Findings in Two Nested Case-Control Studies Based on Independent Cohorts. *Stroke*, 2005, 36, 1661-1665.
- Roest, M., Banga, J. Editorial comment-genetic make-up for increased PAI-1 expression protects against stroke. *Stroke*, 2003, 34, 2828-2829.
- Eriksson, P., Nilsson, L., Karpe, F. Very-low-density lipoprotein response element in the promoter region of the human plasminogen activator inhibitor-1 gene implicated in the impaired fibrinolysis of hypertriglyceridemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, 18, 20-26.
- Hoekstra, T., Galleijsse, J., Kluft, C. 4G/4G genotype of PAI-1 gene is associated with reduced risk of stroke in elderly. *Stroke*, 2003, 34, 2822-2828.
- Couhoun, H., McKeligue, P., Davy, S. Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet*, 2003, 361, 865-872.
- Goeggel, S., Simonetti, B., Mono, M. et al. Risk factors, aetiology and outcome of ischaemic stroke in young adults: the Swiss Young Stroke Study (SYSS). *J Neurol*, 2015, 09, 262, 2022-32.
- Hausler, K., Heim, J., Hoppe, B. For the Genetics and Stroke in the Young Study Group- Thrombophilia screening in young patients with cryptogenic stroke: Prevalence of gene polymorphisms compared to healthy blood donors and impact on secondary stroke prevention. *Hypertension*, 2012, 59, 2, 147-52.
- Harland, A., Chimowitz, M., Hill, H. Cryptogenic Stroke in Relation to Genetic Variation in Clotting Factors and Other Genetic Polymorphisms Among Young Men and Women. *Stroke*, 2002, 33, 2762-2768.
- Rutten-Jacobs, L., Keurlings, P., Arntz, R. et al. High incidence of diabetes after stroke in young adults and risk of recurrent vascular events: the FUTURE study. *PLoS One*, 2014, 1, 23, 87171.