

# Genetyczne uwarunkowania udaru mózgu

Grażyna Gromadzka

Pracownia Neuroimmunologii II Kliniki Neurologii Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie

## STRESZCZENIE

Znane czynniki ryzyka chorób naczyniowych odpowiadają za 50–60% ryzyka populacyjnego udaru mózgu. Istnieją sugestie, że ryzyko udaru może być także związane z predyspozycją genetyczną. Współczynnik zgodności udaru jest wyższy wśród bliźniąt monozygotycznych niż wśród dizygotycznych. Obciążający wywiad rodzinny wiąże się z 2–3-krotnym wzrostem ryzyka udaru. Obserwacje te sugerują, że wystąpienie udaru może być częściowo uwarunkowane zmiennością genetyczną. Około 1% udarów występuje w przebiegu rzadkich jednogenowych chorób systemowych. Większość incydentów udarowych warunkowana jest jednak poligenowo i determinowana przez wiele genów o niewielkim efekcie fenotypowym. Kombinacje genotypów, oddziaływania międzygenowe, a także interakcje genotyp–środowisko warunkują ryzyko udaru. Jest prawdopodobne, że genetyczny profil ryzyka może być różny w poszczególnych typach udaru. Określenie i charakterystyka genów związanych z podwyższonym ryzykiem udaru stały się celem wielu badań, których wyniki mogą się przyczynić do opracowania bardziej skutecznych metod profilaktycznych i terapeutycznych. Przez długi czas najczęściej stosowaną strategią w badaniach dotyczących genetycznych uwarunkowań ryzyka udaru była tak zwana analiza asocjacji polegająca na poszukiwaniu związku między wystąpieniem udaru a obecnością tak zwanych polimorficznych wariantów genów. Opiera się ona na założeniu *a priori* dotyczącym tak zwanych genów kandydujących, kodujących białka zaangażowane w procesy patofizjologiczne, istotne w patogenezie udaru. Poznanie sekwencji DNA ludzkiego genomu oraz gwałtowny rozwój nowych technik molekularnych zrewolucjonizowały zakres badań genetycznych, umożliwiając prowadzenie analiz w skali całego genomu (GWAS, *geno-*

*me-wide association studies*). Wyniki dotychczas przeprowadzonych GWAS nie pozwalają jeszcze na precyzyjne określenie konkretnych genetycznych czynników ryzyka udaru. Związek wielu wskazanych wariantów genetycznych z ryzykiem udaru jest obecnie weryfikowany w badaniach replikacyjnych. Wyniki tych badań są interesujące, ponieważ wskazują procesy biologiczne odgrywające rolę w patogenezie udaru. Obecnie trudno jest prognozować, jak duże znaczenie kliniczne będą miały wyniki takich badań.

*Polski Przegląd Neurologiczny 2011; 7 (2): 53–72*

**Słowa kluczowe:** udar mózgu, genotyp, polimorfizm, allel, gen

## Wprowadzenie

Konwencjonalne (tradycyjne) czynniki ryzyka chorób naczyniowych odpowiadają za 50–60% ryzyka populacyjnego udaru niedokrwiennego mózgu\* [1]. Przyczyna około 30% udarów pozostaje niewyjaśniona. Być może pewien odsetek ryzyka wiąże się z predyspozycją genetyczną.

Identyfikacja czynników genetycznych predysponujących do wystąpienia udaru mózgu jest trudna. Udar jest chorobą o złożonej i wieloczynnikowej etiologii. Jego wystąpienie jest efektem wielu procesów patofizjologicznych, z których każdy może być modyfikowany przez wpływ wielu *loci* genetycznych, a także złożonych interakcji genetyczno-środowiskowych czy interakcji międzygenowych. W związku ze zmienną penetracją genów warunkowaną między innymi przez wpływ czynników środowiskowych można przypuszczać, że nosicielstwo określonych alleli (czyli wariantów genów) nie zawsze doprowadzi do wystąpienia udaru. Dodatkowo wystąpienie tego samego fenotypu w postaci udaru mózgu może być warunko-

**Adres do korespondencji:** dr n. med. Grażyna Gromadzka  
Pracownia Neuroimmunologii II Kliniki Neurologii  
Instytut Psychiatrii i Neurologii  
ul. Sobieskiego 9, 02-957 Warszawa  
tel.: 22 458 26 76; tel./faks: 22 458 25 93  
e-mail: gromadz@ipin.edu.pl  
Polski Przegląd Neurologiczny 2011, tom 7, 2, 53–72  
Wydawca: VM Media sp. z o.o. VM Group sp.k.  
Copyright © 2011 Via Medica

\*Dla uproszczenia w dalszej części pracy zamiast pełnej nazwy „udar niedokrwienny mózgu” stosowany jest termin „udar mózgu”.

wane przez warianty różnych genów. Trudnością natury metodologicznej, związaną z poszukiwaniem genetycznych czynników ryzyka udaru, jest prawidłowe przeprowadzenie wywiadu rodzinnego. Udar mózgu jest chorobą podeszłego wieku (występuje ok. 10 lat później niż zawał serca), dlatego często trudno jest uzyskać informacje na temat obciążenia udarem członków rodziny chorego (szczególnie rodziców). Mimo to w ostatnich latach dokonał się duży postęp w zakresie zrozumienia genetycznych uwarunkowań ryzyka udaru mózgu.

## Genetyczne uwarunkowania udaru mózgu — badania rodzin, badania populacyjne

### Badania bliźniąt

Szczególnie istotne znaczenie dla oceny wkładu czynników genetycznych i niegenetycznych w kształtowanie określonych cech fenotypowych (np. choroby) mają badania bliźniąt. W badaniach tych oceniany jest tak zwany współczynnik zgodności (CR, *concordance rate*), czyli odsetek par bliźniąt, u których określona cecha fenotypowa występuje u obu bliźniąt. Wartość CR równa 100% dla bliźniąt monozygotycznych sugeruje, że wystąpienie danej cechy jest uwarunkowane wyłącznie przez czynniki genetyczne. Wartość CR równa 0% oznacza brak wpływu czynników genetycznych na wystąpienie danej cechy. Wyższy CR dla bliźniąt monozygotycznych niż dla dizygotycznych uważa się za dowód na udział czynników genetycznych w kształtowaniu określonego fenotypu.

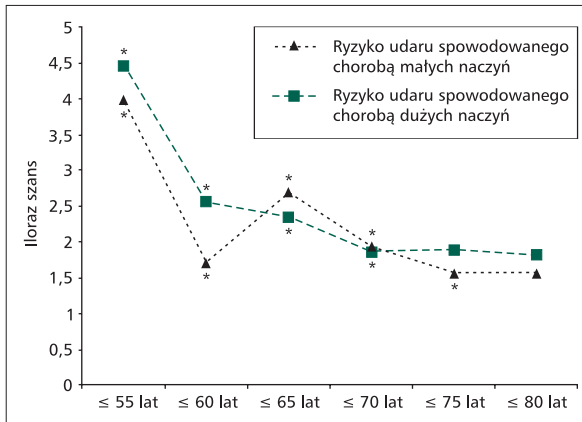
W jednym z badań bliźniąt dotyczących udaru mózgu odnotowano wyższy CR dla bliźniąt monozygotycznych niż dla dizygotycznych (odpowiednio 17,7% i 3,6%) [2]. Autorzy zbadali 2722 pary bliźniąt weteranów armii amerykańskiej zarejestrowanych w *The National Academy of Science 3 National Research Council* (NAS-NCR), którzy udzielili odpowiedzi na pytanie: „Czy kiedykolwiek lekarz powiedział ci, że masz udar?”. W kolejnym badaniu, obejmującym pary bliźniąt zarejestrowane w Szwedzkim Rejestrze Bliźniąt, nie odnotowano różnic w CR zgonu z powodu udaru między bliźniętami jedno- i dizygotycznymi [3]. Wśród 990 par bliźniąt zarejestrowanych w Duńskim Rejestrze Bliźniąt CR zgonu z powodu udaru wynosił 10% dla par bliźniąt jednozygotycznych oraz 5% dla par bliźniąt dizygotycznych, zaś CR zgonu lub hospitalizacji z powodu udaru w okresie trwania badania wynosił odpowiednio 11% i 7% [4]. Wyniki zacytowanych badań wydają się niejednoznaczne. Trzeba jednak zauważyć, że badania te przepro-

wadzono z zastosowaniem różnych metodologii. Mimo to, gdyby wystąpienie udaru było uwarunkowane wyłącznie przez czynniki środowiskowe, żadne z badań nie powinno wykazać różnic w CR między bliźniętami mono- i dizygotycznymi.

### Badania rodzin

Znaczenie czynników genetycznych w kształtowaniu ryzyka udaru oceniano również w badaniach rodzin [5–12]. Wykazano, że dodatni wywiad rodzinny wiąże się z 2–3-krotnym wzrostem ryzyka udaru [7–12]. Obciążenie udarem u ojca w nieco większym stopniu zwiększa ryzyko udaru niż obciążenie udarem u matki (iloraz szans [OR, *odds ratio*] 2,0; przedział ufności [CI, *confidence interval*] 95-proc. CI 1,13–3,54 u ojca oraz 1,41; 95% CI 0,80–2,50 u matki) [5] (podobne dane opublikowali Caicoya i wsp. [6]). Obciążenie udarem u ojca przed 65. rokiem życia wiąże się z 3-krotnym wzrostem ryzyka udaru (współczynnik ryzyka [RR, *risk ratio*] 3,18; 95% CI 1,50–6,71;  $p < 0,01$ ) [7]. Wystąpienie udaru u jednego/obojga rodziców w nieco większym stopniu zwiększa ryzyko udaru niedokrwiennego u potomstwa płci żeńskiej niż męskiej (odpowiednio OR 1,79; 95% CI 1,08–2,97;  $p = 0,025$  oraz 1,51; 95% CI 0,88–2,61;  $p = 0,136$ ) [8]. Ryzyko udaru wzrasta również w przypadku obciążenia udarem u rodzeństwa o pokrewieństwie pierwszego stopnia (OR = 1,69; 95% CI 1,01–2,84;  $p < 0,05$ ) [8]. Ciekawe wyniki uzyskano w badaniu epidemiologicznym, przeprowadzonym przez Touzé i Rothwella [9] (*Oxford Vascular Study*), którzy wykazali, że ryzyko udaru u kobiet, związane z wystąpieniem udaru u innych kobiet w rodzinie (u matki/siostry), jest 2–3-krotnie wyższe niż ryzyko związane z udarem u mężczyzn (np. u ojca/brata); podobna zależność nie dotyczyła ryzyka udaru u mężczyzn warunkowanego przez rodzinne obciążenie udarem.

Niektórzy autorzy podjęli próbę określenia, czy pozytywny wywiad rodzinny w kierunku udaru wpływa na ryzyko wystąpienia różnych typów udaru mózgu, wyróżnionych na podstawie klasyfikacji *Trial of ORG10172 in Acute Stroke Treatment* (TOAST) [10, 11]. Jerrard-Dunne i wsp. [10] oraz Polychronopoulos i wsp. [11] udowodnili, że wystąpienie udaru w rodzinie zwiększa ryzyko udaru spowodowanego chorobą dużych naczyń (LAD, *large artery disease*) i udaru lakunarnego, natomiast pozostaje bez wpływu na ryzyko udaru o etiologii zatorowej oraz udaru o nieokreślonej etiologii. Nie odnotowano zgodności co do typu udaru wśród członków tej samej rodziny [12].



**Rycina 1.** Zależność między pozytywnym rodzinnym wywiadem udarowym a ryzykiem wystąpienia udaru spowodowanego chorobą małych lub dużych naczyń u osób w różnym wieku (na podstawie danych z [10]); \*zależność istotna statystycznie

Wydaje się, że wzrost ryzyka udaru, związany z obciążeniem rodzinnym, dotyczy szczególnie osób poniżej 55. roku życia. Pozytywny wywiad rodzinny zwiększa ryzyko wystąpienia udaru spowodowanego chorobą małych lub dużych naczyń oraz udaru lakunarnego (ryc. 1) [10].

Interpretując powyższe obserwacje, trzeba pamiętać, że związek pozytywnego rodzinnego wywiadu udarowego ze zwiększonym ryzykiem udaru można wyjaśnić nie tylko uwarunkowaniami genetycznymi, lecz także wpływem czynników środowiskowych i stylu życia, które często są podobne u poszczególnych członków rodziny, jak również interakcjami między czynnikami genetycznymi i środowiskowymi.

#### Zmienność populacyjna w występowaniu udaru mózgu

Opublikowane wyniki analiz populacyjnych sugerują, że rasy ludzkie, nawet zamieszkujące te same regiony geograficzne, różnią się pod względem zapadalności na udar [13, 14]. Udar występuje częściej u osób rasy czarnej niż białej. Istnieją spekulacje, że za różnice rasowe w zapadalności na udar odpowiedzialne są czynniki genetyczne [13, 14]. Wyniki projektu *World Health Organization; Multinational MONItoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease* (WHO MONICA) wskazują, że nawet wśród osób rasy białej istnieją różnice geograficzne w zapadalności na udar. Rosjanki 5-krotnie częściej zapadają na udar niż Niemki, a Finowie 3-krotnie częściej niż Włosi [15]. Na pewno różnice te są częściowo wynikiem różnic w obciążeniu tradycyjnymi czynnikami ryzyka. Jednak prawdopodobny wydaje się też wpływ

czynników genetycznych na ryzyko wystąpienia udaru w poszczególnych populacjach.

#### Genetyka rzadkich chorób systemowych, w których przebiegu występują udary mózgu

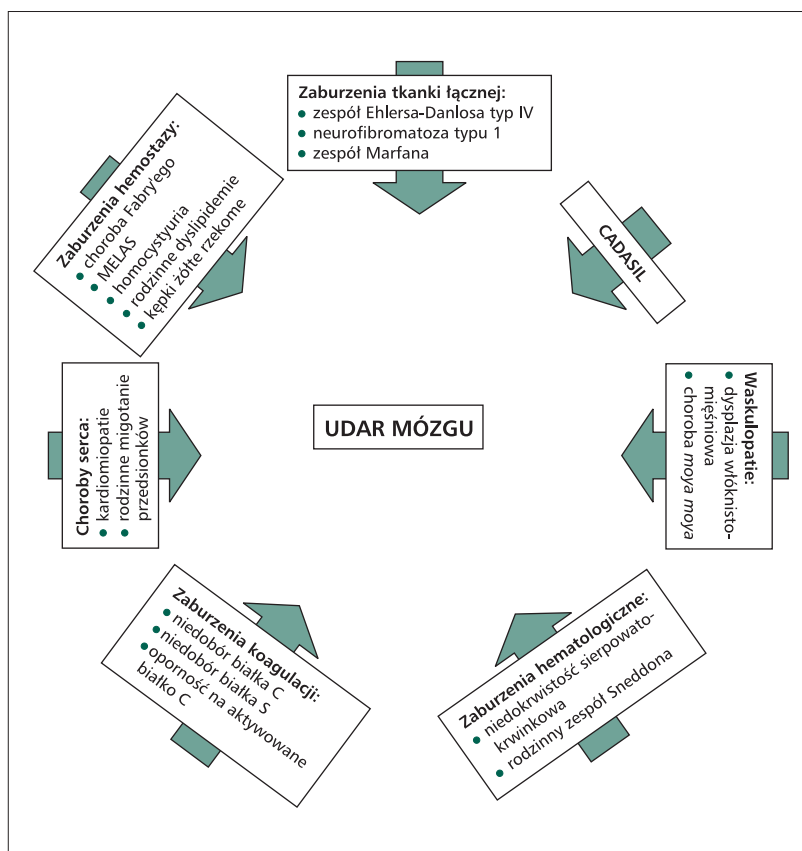
Niewielki odsetek udarów występuje w przebiegu rzadkich chorób uwarunkowanych genetycznie, przeważnie jednogenowo (są to choroby spowodowane mutacjami pojedynczych genów). W niektórych z tych chorób udar występuje jako dominująca manifestacja kliniczna, zaś w innych jest elementem szerszego spektrum prezentacji fenotypowej.

Chociaż w ogólnej populacji chorych na udar mózgu odsetek tych, u których za wystąpienie udaru odpowiada choroba jednogenowa, jest niewielki, trzeba taką przyczynę brać pod uwagę w diagnostyce różnicowej, szczególnie wtedy, gdy:

- udar mózgu wystąpił w młodym wieku (najczęściej przed 50. rż.);
- chory nie jest obciążony tradycyjnymi czynnikami ryzyka;
- udar wystąpił u innych członków rodziny (szczególnie w młodym wieku);
- u chorego stwierdza się inne zaburzenia naczyniowe (np. rozwarstwienie naczyń) i/lub zespół otępienny;
- u chorego występują zmiany miażdżycowe o nietypowo dużym nasileniu względem wieku i obciążeń tradycyjnymi czynnikami ryzyka chorób naczyniowych;
- u chorego/członków rodziny występują inne choroby neurologiczne, takie jak migrena, padaczka czy też nietypowe i/lub złożone objawy, które mogą wskazywać na chorobę genetyczną.

Mechanizm etiopatogenetyczny udarów występujących w przebiegu chorób genetycznych jest zróżnicowany. Choroby te można rozpatrywać według następującej klasyfikacji: trombofilie, choroby tkanki łącznej, waskulopatie, zaburzenia metaboliczne, genetycznie uwarunkowane choroby serca i inne. Zaburzenia te schematycznie ukazano na rycinie 2, zaś ich krótką charakterystykę, ze wskazaniem zmian genetycznych odpowiedzialnych za ich wystąpienie, przedstawiono w tabeli 1.

Jak można stwierdzić, czy wystąpienie udaru jest objawem choroby jednogenowej? Po pierwsze trzeba pamiętać, że u wielu chorych udar mózgu jest tylko jednym z wielu objawów, związanych z zaburzeniem genetycznym. Warto też mieć na względzie fakt, że często w przebiegu poszczególnych genetycznie uwarunkowanych chorób systemowych dochodzi do określonych typów udaru. Na



Rycina 2. Zaburzenia genetyczne, w przebiegu których występują udary mózgu

przykład w arteriopatii mózgowej dziedzicznej autosomalnie dominująco, z zawałami podkorowymi i leukoencefalopatią (CADASIL, *cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy*) najczęściej występują udary lakunarne, natomiast w zespole Ehlersa-Danlosa udar najczęściej jest efektem rozwarstwienia tętnic szyjnych i/lub kręgowych. Dlatego dokładna ocena fenotypowa udaru ma również duże znaczenie w identyfikacji zaburzenia genetycznego odpowiedzialnego za wystąpienie udaru. Istotny jest też możliwie dokładny wywiad rodzinny obejmujący dane dotyczące jak największej liczby żyjących i zmarłych członków rodziny chorego.

W badaniu przedmiotowym ważne jest zwrócenie uwagi na zmiany skórne, nadmierną ruchomość stawów czy inne cechy fenotypowe typowe dla chorób jednogenowych, w których przebiegu występują udary. Pomocne są też wyniki badań obrazowych, biochemicznych, immunologicznych, histopatologicznych i genetycznych.

W wielu przypadkach prawidłowe rozpoznanie pozwala zapobiec wielu komplikacjom związanym z chorobą podstawową, zastosować leczenie umożliwiające spowolnienie przebiegu czy zahamowanie postępu choroby, a nawet, w niektórych przypadkach, wyeliminowanie objawów. Istotne jest również to, że właściwa diagnoza pozwala objąć chorego i członków jego rodziny poradnictwem genetycznym.

### Udary uwarunkowane wielogenowo

Udary występujące w przebiegu zaburzeń genetycznych związanych z mutacjami pojedynczych genów stanowią około 1% wszystkich przypadków. U większości chorych kombinacje genotypów, oddziaływania międzygenowe, a także interakcje genotyp-środowisko warunkują ryzyko udaru. Genetyczny profil ryzyka może być różny w poszczególnych typach udaru (wpływ zmienności genetycznej na ryzyko udaru zilustrowano na ryc. 3).

Przez długi czas najczęściej stosowaną strategią w badaniach dotyczących genetycznych uwarun-

Tabela 1. Zaburzenia uwarunkowane genetycznie, w przebiegu których wstępują udary mózgu

Zespół	Gen/lokalizacja chromosomalna	Sposób dziedziczenia	Mechanizm/typ udaru	Inne cechy fenotypowe	Sugerowane badania diagnostyczne
<b>Zaburzenia koagulacji</b>					
Deficyt białka C [OMIM ID #176860]	<i>PROC</i> /2q13-q14	AD	Zakrzepowo-zatorowy	Nawykowe poronienia	Stężenie białka C w osoczu (↓)
Deficyt białka S [OMIM ID #612336]	<i>PROS1</i> /3p11.1-q11.2	AD/AR	Zakrzepowo-zatorowy		Stężenie białka S w osoczu (↓)
Oporność na aktywowane białko C (czynnik V Leiden) [OMIM ID *612309]	<i>F5</i> /1q21-q25	AD	Zakrzepowo-zatorowy		Test oporności na aktywowane białko C; badania genetyczne
Deficyt antytrombiny III [OMIM ID #613118]	<i>AT3</i> /1q23-25	AD	Zakrzepowo-zatorowy		Stężenie antytrombiny III w osoczu (↓)
<b>Zaburzenia hematologiczne</b>					
Niedokrwistość sierpowato-krwinkowa [OMIM ID #603903]	<i>HBB</i> (mutacja powoduje powstanie tzw. hemoglobiny S)/11p15.5	AR	Zakrzepowo-zatorowy; choroba dużych naczyń, choroba małych naczyń	Anemia hemolityczna, zmęczenie, bóle (nóg, stawów, tułowia), zapalenie stawów palców nóg i rąk, martwica kości, częste infekcje bakteryjne, owrzodzenia nóg, mielopatia	Elektroforeza hemoglobiny
Rodzinny zespół Sneddona [OMIM ID #182410]	?	AD?	Zakrzepowo-zatorowy	Marmurkowa sinica skóry, guzkowe zapalenie tętnic, nadpłytkowość samoistna	Badanie przeciwciał antykardiolipinowych w surowicy (↑)
<b>Zaburzenia tkanki łącznej</b>					
Zespół Ehlersa-Danlosa typu IV [OMIM ID #130050]	<i>COL3A1</i> /2q31	AD	Rozwarstwienie naczyń	Blada, pergaminowa, nadmiernie elastyczna skóra, nadmierna ruchomość stawów, nawykowe zwichnięcia stawów, skolioza, płaskostopie, wysięki i wylewy krwawe do jam stawowych, chroniczny ból mięśniowo-szkieletowy, słabe napięcie mięśniowe, łatwe siniaczenie, pęknięcie ściany tętnic, przewodu pokarmowego lub macicy, charakterystyczny wygląd twarzy	Biopsja skóry, badanie stężenia aminopeptydu prokolagenu typu III

cd. →

Tabela 1. cd. Zaburzenia uwarunkowane genetycznie, w przebiegu których wstępują udary mózgu

Zespół	Gen/fokalizacja chromosomalna	Sposób dziedziczenia	Mechanizm/typ udaru	Inne cechy fenotypowe	Sugerowane badania diagnostyczne
Neurofibromatoza typu I (choroba von Recklinghausena) [OMIM ID #162200]	NF1/17q11.2	AD	Choroba dużych naczyń	Przebarwienia typu <i>cafe au lait</i> na skórze całego ciała; piegowate przebarwienia skórne w okolicach pachowych i pachwinowych, guzki podskórne, guzki Lischa, ciemnożółte lub brązowawe hamartomatyczne guzki tęczówki, nerwiakowłókniaki spłotowate, guzy ośrodkowego układu nerwowego, guzy złośliwe, deformacje kostne, padaczka	
Zespół Marfana [OMIM ID #154700]	Typ I: FBN1/15q21.1 Typ II: TGFBR2/3p24.1	AD	Zatory pocho-dzenia sercowego, rozwarstwienie tętnic	Wygląd „marfanoidalny” (szczupła budowa ciała, wysoki wzrost, długie kończyny, długie palce); dysproporcja budowy ciała: stosunek górnej części ciała do dolnej < 0,86; stosunek długości ramion do wzrostu > 1,5; cechy dysmorficzne (dolichocefalia, długa, wąska twarz, hipoplazja policzków, mikrognacja, retrognacja); wady narządu wzroku (m.in. zwężenie soczewki, odwarstwienie siatkówki, hipoplazja tęczówki, zaćma, krótkowzroczność, płaska rogówka, jaskra); różnorakie wady układu sercowo-naczyniowego (m.in. poszerzenie aorty wstępującej, prowadzące do powstania tętniaka aorty, wypadanie płatków zastawki dwudzielnej, komorowe zaburzenia rytmu serca); rozedma płuc; wady układu kostnego (klatka piersiowa szewska/kurza), przedwczesne zwyrodnienia stawów, skolioza, lordoza, inne zmiany stawowe; przepukliny	

cd. →

<b>Waskulopatie</b>	Dysplazja włóknisto-mięśniowa naczyń [OMIM ID 135580]	? (region 17q11.2)	?	Zakrzepowo-zatorowy, okluzyjny	Nadciśnienie tętnicze nerkopochodne spowodowane wieloogniskowym zwężeniem tętnicy nerkowej (w obrazie angiograficznym „obraz sznura pereł”); dysplazja włóknisto-mięśniowa tętnic szyjnych (głównie wewnętrznej) może się wiązać z powikłaniami, takimi jak: niedokrwienie mózgu, zator czy zakrzepica spowodowane rozwarstwieniem tętnicy, czy występowanie objawowych tętniaków; czasem u chorych występują zawroty i bóle głowy, migreny, zespół Hornera	USG, angiografia MR i angiografia TK, angiografia
Choroba <i>moya moya</i> (jap. 'kłęby dymu') (MYYM) [OMIM ID %252350]	? Region 3p (MYYM1) 17q25 (MYYM2) 8q23 (MYYM3)	?	Okluzyjny (zwężenie, szczególnie w obrębie tętnic odchodzących od koła Willisa)	Bóle i zawroty głowy, ruchy mimowolne, upośledzenie umysłowe, porażenie połowicze, drgawki	Angiografia naczyń mózgowych (liczne naczynia rozwijającego się krążenia obocznego uwidaczniają się, przypominając obraz „kłębow dymu”)	
<b>Zaburzenia metaboliczne</b>	Choroba Fabry'ego [OMIM ID #301500]	GLA/Xq22	XR (chorują głównie mężczyźni)	Udar niedokrwinienny, Napadowy, silny piekący ból głównie w obszarze unaczynienia kręgowo-podstawnego (choroba dużych i małych naczyń) i związane z tym zaburzenia termoregulacji; rogowaciejące naczyniaki ( <i>angiokeratoma</i> ) na skórze bioder, ud i krocza; niedosłuch; zmętnienie rogówki; objawy ze strony układu pokarmowego (nudności, biegunki, brak apetytu, bóle brzucha); niewydolność nerek; w tak zwanym	Aktywność $\alpha$ -galaktozydazy w osoczu, leukocytach czy fibroblastach ( $\downarrow$ ); obecność globotriaosyloceramidu (GL-3) w osoczu i w moczu	

cd. →

Tabela 1. cd. Zaburzenia uwarunkowane genetycznie, w przebiegu których wstępują udary mózgu

Zespół	Gen/lokalizacja chromosomalna	Sposób dziedziczenia	Mechanizm/typ udaru	Inne cechy fenotypowe	Sugerowane badania diagnostyczne
MELAS (zespół mitochondrialnej miopatii, encefalopatii, kwasicy mleczanowej i epizodów udaropodobnych) [OMIM ID #540000]	<i>MTTL1</i> , <i>MTTQ</i> , <i>MTHH</i> , <i>MTTK</i> , <i>MTTS1</i> , <i>MTND1</i> , <i>MTND5</i> , <i>MTND6</i> i <i>MTTS2</i> /mito- chondrialne DNA	Mitochondrialne (dziedziczenie odmatczyne)	Epizody udaropodobne przed 40. rż. (początkowo przede wszystkim w płatach ciemieniowych i potylicznych)	wariacje sercowym przerośt mięśnia sercowego; obraz fenotypowy zależny od typu mutacji Opóźnienie rozwojowe, niskorosłość, miopatia z obecnością postrzępionych („szmatowatych”) czerwonych włókien mięśniowych (RFF), drgawki, cukrzyca typu II, niedoczynnosc przytarczyc, zaparcia, migrenopodobne bóle głowy, wymioty, głuchota korowa, spadek zdolności poznawczych	MR mózgu; stężenie kwasu mlekowego w surowicy i płynie mózgowo-rdzeniowym (↑), biopsja mięśni (obecność włókien szmatowatych)
Homocystynuria [OMIM ID #23620]	<i>CBS/21q22.3</i>	AR	Choroba dużych naczyń, choroba małych naczyń, incydenty zakrzepowo-zatorowe, często przed 29. rż., rozwarstwienie tętnic	Podwichnięcie soczewki (z powikłaniami w postaci zęza, zaćmy, jaskry, odwarstwienia siatkówki, jednoocnej ślepoty), znaczna krótkowzroczność, czasem zanik nerwu wzrokowego; typ budowy ciała „marfanoidalny” (zespół Marfana powinien być uwzględniany w diagnostyce różnicowej homocystynurii jako najbardziej zbliżony fenotypowo), różnorakie deformacje szkieletu; charakterystyczne dla chorych są jasne, łamliwe włosy, cienka, jasna pergaminowa skóra; poszerzone pory na skórze twarzy; siność siatkowata ( <i>livedo reticularis</i> ), napadowe naczyniopochodne zaczerwienienie skóry policzków; opóźnienie umysłowe, zaburzenia osobowości, objawy psychiatryczne, objawy pozapiramidowe (dystonia), drgawki; przedwczesna miażdżycza, skłonność do zatorów i zakrzepicy; przepukliny; zmiany stłuszczeniowe wątroby	Stężenia L-homocysteiny i L-metioniny w moczu i w surowicy (↑), aktywność syntazy β-cystationinowej w fibroblastach, hepatocytach, amniocytach (↓)

cd. →



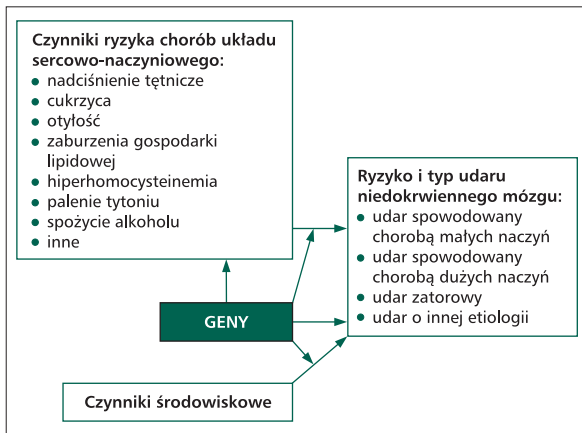
<p>Rodzinne dyslipidemie, np. rodzinna hipercholesterolemia [OMIM ID: typ A: #143890 typ B: #144010] typ HCHOLA3: #603776]</p>	<p>Typ A: LDLR/19p.13.2 AD Typ B: APOB/2p24 Typ HCHOLA3: PCSK9/1p34.1-p32</p>	<p>Choroba dużych naczyń, choroba małych naczyń</p>	<p>Żółtaki (szczególnie ścięgien, również żółtaki płaskie powiek, żółtaki guzowate [rozwijają się w 2.-3. dekadzie życia]); rąbek rogówkowy; przedwczesna miażdżyca, przedwczesna choroba naczyń obwodowych/ mózgowych, choroba niedokrwienna serca (często już u dzieci)</p>	<p>Profil lipidowy (stężenie cholesterolu całkowitego i cholesterolu frakcji LDL [↑]; triglicerydy w normie)</p>
<p>Kępkli żółte rzekome (<i>pseudoxanthoma elasticum</i>)</p>	<p>ABCC6/16p.13.1 AR</p>	<p>Choroba dużych naczyń, choroba małych naczyń</p>	<p>Wiotka skóra; obecność płaskich wyniosłości o charakterze grudek ze skłonnością do gromadzenia się w formy siateczkowate (głównie w okolicach pachowej, pachwinowej, bocznej powierzchni szyi i na wysokości brzucha); nieprawidłowości na dnie oka (szarobrunatne lub czerwone smugi rozchodzące się od tarczy nerwu wzrokowego, przypominające naczynia krwionośne pod nabłonkiem barwnikowym siatkówki), krwotoki do siatkówki, które mogą prowadzić do utraty wzroku; zmiany w strukturach włókien sprężystych warstwy środkowej naczyń prowadzą do zawałów serca, udarów mózgu i krwawień z przewodu pokarmowego</p>	<p>Obraz kliniczny i morfologiczny (różnicowanie z żółtakami towarzyszącymi hipercholesterolemii oraz ze skórą wiotką o charakterze wrodzonym lub nabytym (w wiotkości nie stwierdza się zmian grudekowych)</p>
<p>Mózgowa autosomalna dominująca arteriopatja i leukoencefalopatja (<i>CADASIL</i>, <i>cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy</i>) [OMIM ID #125310]</p>	<p>NOTCH3/19q12 AD</p>	<p>Nawracające udary lakunarne, prze- ściowe incydenty niedokrwienne (TIA)</p>	<p>Nawracające udary niedokrwienne mózgu (u osób bez tradycyjnych czynników ryzyka), zaburzenia poznawcze, zespół otępienny z objawami zaburzeń funkcji płatów czołowych, apatią, zaburzeniami</p>	<p>MR mózgu; biopsja skóry (wykrycie tzw. złogów GOM — ziarnistości osmofiline); badania genetyczne</p>

cd. →

Tabela 1. cd. Zaburzenia uwarunkowane genetycznie, w przebiegu których wstępują udary mózgu

Zespół	Gen/lokalizacja chromosomalna	Sposób dziedziczenia	Mechanizm/typ udaru	Inne cechy fenotypowe	Sugerowane badania diagnostyczne
<b>Choroby serca</b>					
Kardiomiopatie	TNNT, TNNT1/1q32 MYBPC3/11p11.2 MYH7/17p13.1 TPM1/1q22-q23 MYL2/12q23-q24.3 MYL3/3p ACTC1/15q14	AD	Zator pochodzenia sercowego	zachowania i zaburzeniami funkcjonowania wykonawczego; migreny, często z aurą (przed 40. rż.), zmiany osobowościowe (labilność emocjonalna, agresja), zaburzenia psychiczne (depresja, mania, zespoły paranoiczne); napady padaczkowe; neuropatia czuciowo-ruchowa	Echokardiografia (przerost mięśnia serca oraz obecność ewentualnego zawężania drogi odpływu lewej komory)
Rodzinne migotanie przedsionków [OMIM ID %608583]	Typ I: KCNQ1/11p15.5 KCNJ2/21q22.1	AD	Zator pochodzenia sercowego	Duszność, bóle wieńcowe, zaburzenia rytmu serca	Badanie genetyczne: mutacja S140G genu <i>KCNQ1</i> R27C genu <i>KCNE</i>

ABCC6 — gen białonowego białka transportowego z nadrodziny transporterów ABC; ACTC1 — gen aktyny sercowej; APOB — gen apolipoproteiny B-100; AT3 — gen antytrombiny III; CBS — gen syntazy β-cystationinowej; COL3A1 — gen kolagenu typu III; F5 — gen czynnika V układu krzepnięcia; FBM1 — gen neurofibryliny 1; GLA — gen α-galaktozydazy; HBB — gen łańcucha β-hemoglobiny; KCNE2 — gen podjednostki β białka należącego do podrodziny E bramkowanego napięciem kanału potasowego; KCNQ1 — gen podjednostki α białka należącego do podrodziny białek KQT-podobnych, bramkowanego napięciem kanału potasowego; LDLR — gen receptora LDL; MTL1, MITQ, MTH, MTTK, MTTST1, MTND1, MTND5, MTND6 i MTTST2 — geny mitochondrialnego DNA; MYBPC3 — gen sercowego białka C wiążącego się z miozyna; MYH — gen łańcucha ciężkiego β-miozyny; MYL2 i MYL3/3p — geny łańcuchów lekkich miozyny; istotnie go i regulującego; NF1 — gen neurofibrominy 1; NOTCH3 — gen transbilionowego białka receptorowego; PCSK9 — gen konwertazy propeptydowej; PROC — gen białka C; PROS1 — gen receptora 2 transformującego czynnika wzrostu β; TNNT, TNNT1 — geny troponin sercowych T i 1; TPM — gen α-tropomiozyny; AD — autosomalnie dominujące; AR — autosomalnie recesywne; XR — sprzężone z chromosomem X recesywne; TK — tomografia komputerowa; MR (magnetic resonance) — rezonans magnetyczny; USG (ultrasonography) — ultrasonografia; RFF (ragged red fibers) — czerwone włókna mięśniowe, TIA (transient ischaemic attack) — przejściowe incydenty niedokrwienne; GOM (granular osmophilic material) — materiał elektronowo-osmofilny



**Rycina 3.** Bezpośredni i pośredni wpływ zmienności genetycznej na ryzyko udaru mózgu

kowań ryzyka udaru była tak zwana analiza asocjacji, polegająca na poszukiwaniu związku między wystąpieniem udaru a obecnością tak zwanych polimorficznych wariantów genów, różniących się sekwencją kwasu dezoksyrybonukleinowego (DNA). Jeśli określony wariant genu (allel) częściej występuje w populacji osób chorych niż w populacji osób zdrowych ogólnej populacji, uznaje się, że jest on związany z występowaniem choroby. Najmniejszymi, a zarazem najczęściej występującymi (i najczęściej badanymi) zmianami w sekwencji genomu człowieka są tak zwane polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (SNP, *single nucleotide polymorphism*). Szczególnie często badane są polimorfizmy w obrębie sekwencji kodującej genów, ponieważ mogą one wpływać na poziom transkrypcji genu lub na zmiany w strukturze aminokwasowej białka, powodując zmianę lub utratę jego prawidłowych funkcji.

Podstawą analizy asocjacji jest założenie *a priori*, że ryzyko udaru mogą determinować warianty „genów kandydujących”, czyli genów kodujących białka zaangażowane w różne procesy patofizjologiczne, istotne w patogenezie udaru. Dotychczas badania asocjacyjne dotyczące udaru były skoncentrowane na polimorfizmach genów kodujących białka zaangażowane w procesy zapalne, metabolizm lipidów, produkcję tlenu azotu, koagulację, hemostazę, białka układu renina–angiotensyna–aldosteron i inne. Chociaż zbadano dużą liczbę genów, identyfikując wiele wariantów związanych z ryzykiem udaru, tylko niektóre z opisanych zależności znajdowały potwierdzenie w badaniach replikacyjnych. Wśród potencjalnych przyczyn

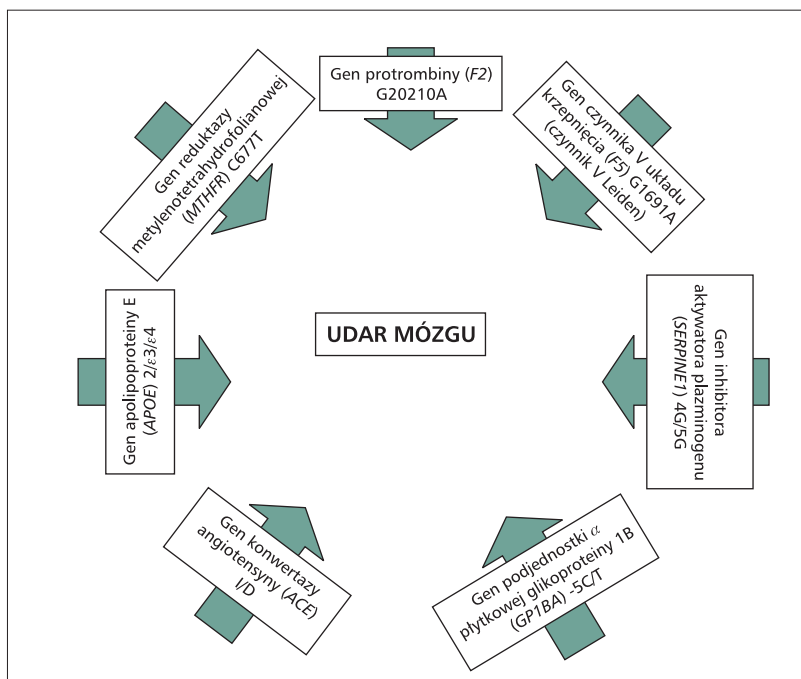
braku zgodności wyników badań uzyskiwanych przez różne zespoły badawcze wskazuje się identyfikację zależności fałszywie pozytywnych, fałszywie negatywne wyniki badań replikacyjnych, różnice metodologiczne między poszczególnymi badaniami, a także różne tło genetyczne czy środowiskowe charakteryzujące analizowane grupy chorych. Cennym sposobem interpretacji wyników licznych badań jest statystyczna analiza (metaanaliza) rezultatów wielu analiz dotyczących polimorfizmów jednego bądź wielu genów. Dotychczas opublikowano wyniki kilku metaanaliz, w których potwierdzono związek wymienionych poniżej wariantów genetycznych z ryzykiem udaru (warianty te przedstawiono schematycznie na ryc. 4).

### Polimorfizm c.G20210A [rs62623459] genu protrombiny [OMIM \*176930]; gen *F2*, lokalizacja na chromosomie: 11p11-q12\*

Protrombina występuje w osoczu w postaci nieaktywnej. W obecności fosfolipidów, jonów  $Ca^{2+}$  i czynnika V układu krzepnięcia trombokinaza, uwalniana z płytek krwi, przekształca (przez odcięcie fragmentu cząsteczki) protrombinę w postać aktywną — trombinę. Trombina katalizuje przemianę fibrynogenu w fibrynę, stymuluje agregację płytek i aktywuje czynniki krzepnięcia V, VIII i XIII.

Omawiany polimorfizm polega na tranzycji guaniny na adeninę w regionie 3' genu *F2*. Obecność adeniny w miejscu guaniny nie zmienia struktury białka protrombiny, lecz wpływa na zwiększoną ekspresję genu (być może, jest to związane ze zwiększoną efektywnością procesu translacji lub też z większą stabilnością produkowanego mRNA [16]). Wariant 20210A wiąże się z podwyższonym stężeniem protrombiny w osoczu i zwiększonym ryzykiem zakrzepicy żyłnej, szczególnie u nosicieli innych genetycznych czynników ryzyka zakrzepicy, na przykład mutacji Leiden, jak również u osób obciążonych konwencjonalnymi czynnikami ryzyka chorób naczyniowych oraz u kobiet przyjmujących doustne środki antykoncepcyjne [17–19]. Częstość nosicielstwa wariantu 20210A w populacji wynosi 1–5% [17]. Ryzyko udaru u nosicieli tego wariantu genu (OR) wynosi 1,44 (1,18–1,86) [20].

\*c.G20210A to oznaczenie polimorfizmu na poziomie DNA, które jest równoznaczne z oznaczeniem p.E200K tego samego polimorfizmu na poziomie białka; numer rs oznacza numer sekwencji referencyjnej w bazie danych SNP, prowadzonej przez Narodowe Centrum Informacji Biotechnologicznej (NCBI, *National Center of Biotechnological Information*); w oznaczeniu lokalizacji genu na chromosomie symbol „p” oznacza krótkie (z franc. ‘petit’) ramię chromosomu, a „q” — długie ramię



Rycina 4. Wybrane genetyczne czynniki ryzyka udaru o etiologii wieloczynnikowej

#### Polimorfizm c.G1691A (p.R534Q) [rs6025] genu czynnika V układu krzepnięcia ([OMIM \*612309]; gen *F5*, 1q23)

Czynnik V jest glikoproteiną, obecną w osoczu w postaci nieaktywnej. Trombina przekształca nieaktywny czynnik V w jego aktywną postać — czynnik Va, składający się z łańcucha lekkiego i ciężkiego, utrzymywanych razem przez jony wapnia. Aktywny czynnik Va jest kofaktorem przemiany protrombiny w trombinę. Czynnik Va jest inaktywowany przez aktywowane białko C.

Omawiany polimorfizm polega na transycji guanina–adenina w 1691. nukleotydzie genu *F5*, czego efektem na poziomie białka jest zastąpienie argininy przez glutaminę w pozycji 506 łańcucha ciężkiego czynnika V. Czynnik ten, będący produktem wariantu 1691A genu *F5*, nazywany jest czynnikiem V Leiden (od nazwy holenderskiego miasta, w którym po raz pierwszy opisano ten defekt genetyczny). Czynnik V Leiden jest niewrażliwy na proteolityczne działanie aktywowanego białka C, co upośledza hemostazę i zwiększa ryzyko zakrzepowo-zatorowe [OMIM #188055]. Częstość nosicielstwa tej mutacji w populacji ogólnej ocenia się na 3–8% [21, 22]. Jest ona najczęstszą genetyczną przyczyną zakrzepicy (20–40% chorych jest nosicielami tej mutacji). Ryzyko zakrzepicy, związane z nosicielstwem mutacji, jest szczególnie

wysokie u kobiet w ciąży, u kobiet przyjmujących doustne środki antykoncepcyjne oraz u osób po urazie czy po zabiegu operacyjnym [23]. Ryzyko wystąpienia udaru u nosicieli mutacji Leiden jest nieznacznie (lecz istotnie) wyższe niż w populacji ogólnej (OR = 1,33; 95% CI, 1,12–1,58) [24], w innej meta-analizie: 1,43 [1,03–1,97] [25]).

#### Polimorfizm 4G/5G (rs1799889) genu inhibitora aktywatora plazminogenu 1 (PAI-1) ([OMIM \*173360]; gen: *SERPINE1*, 7q21.3-q22)

Inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1 (PAI-1, *plasminogen activator inhibitor 1*) należy do rodziny proteaz serynowych, nazywanych serpinami. Jest produkowany w śródbłonku naczyń i w komórkach mięśniówki gładkiej ściany naczyń. Białko to hamuje proces fibrynolizy poprzez inhibicję tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA, *tissue plasminogen activator*), jak też urokinazy (u-PA, *urokinase plasminogen activator*), które przekształcają plazminogen w plazminę — enzym, który katalizuje proces rozkładu włókniaka.

Omawiany polimorfizm jest związany z obecnością sekwencji 4 lub 5 nukleotydów guanozynowych w regionie promotorowym genu PAI-1 (tzw. polimorfizm 4G/5G). Oba allele, 4G i 5G, wiążą białko aktywujące transkrypcję genu, ale allel G wiąże także białko represorowe, hamujące ten

proces. Z tego powodu allel 4G odpowiada za nasiloną produkcję PAI-1 (o ok. 30%), zwłaszcza u osób z triglicerydemią [26]. U nosicieli tego allela wzrasta ryzyko zakrzepicy [27–29]. Częstość występowania allela 4G różni się między populacjami. Na przykład w populacji Amerykanów pochodzenia afrykańskiego wynosi 28%, w populacji rasy białej 52% (ogółem 18% osób to homozygoty 4G/4G, zaś 44% to heterozygoty 4G/5G) [30]. Ryzyko (OR) wystąpienia udaru u nosicieli wariantu 4G wynosi 1,47 (95% CI 1,28–2,76) [24].

**Polimorfizm -5T/C (rs 2243093) genu *GP1BA* kodującego podjednostkę  $\alpha$  płytkowej glikoproteiny 1b (*GP1BA*) ([OMIM \*606672]; gen *GP1BA*, 17pter-p12)**

Glikoproteina 1b ulega ekspresji na płytkach krwi. Ma postać heterodimeru złożonego z podjednostek  $\alpha$  i  $\beta$ , utrzymywanych wiązaniami dwusiarczkowymi. Pełni funkcję receptora dla czynnika von Willebranda (vWF, *von Willebrandt factor*). Związanie vWF sprzyja adhezji płytek do uszkodzonego śródbłonna naczyniowego, jak również inicjuje proces aktywacji płytek i tworzenia zakrzepu.

Omawiany polimorfizm polega na substytucji cytozyny w miejsce tyminy w pozycji -5, począwszy od kodonu inicjatorowego transkrypcji ATG genu *GP1BA*, w obrębie tak zwanej sekwencji Kozak (jest to sekwencja nukleotydowa występująca w mRNA, która jest rozpoznawana przez rybosom jako miejsce, od którego mRNA jest przepisywany na kolejne aminokwasy w łańcuchu polipeptydowym w procesie translacji; nazwa tej sekwencji pochodzi od nazwiska Marlin Kozak, która zidentyfikowała tę sekwencję w latach 80. XX w.). Obecność cytozyny w miejscu -5 genu *GP1BA* jest związana z bardziej efektywną translacją i zwiększoną ekspresją kompleksu GPIIb/IIIa na płytkach krwi, co sprzyja aktywacji płytek i tworzeniu zakrzepów [31]. Odsetek heterozygotycznych nosicieli allela -5C w różnych populacjach wynosi 20–40%, zaś homozygotycznych 1–2% [32]. Ryzyko (OR) wystąpienia udaru u nosicieli wariantu -5C wynosi 1,55; 95% CI 1,14–2,11 [24].

**Polimorfizm 11417\_11704del287 genu konwertazy angiotensyny (ACE) ([OMIM +106180]; gen *ACE*, 17q23.3)**

Konwertaza angiotensyny (ACE, *angiotensin convertase*) pełni ważną rolę w regulacji ciśnienia tętniczego i równowagi elektrolitowej, gdyż katalizuje proces przekształcenia angiotensyny I w angiotensynę II (czynnik naczyniowo-skurczowy), a także inaktywuje bradykininę (czynnik rozszerzający naczynia).

Omawiany polimorfizm jest związany z występowaniem lub brakiem delecji 287 par zasad w intronie 16. genu konwertazy angiotensyny (jest to tzw. polimorfizm inercyjno-delecyjny 3 I/D). Występowanie allela D może być związane z większą ekspresją genu *ACE*, ponieważ w regionie delecji jest zlokalizowany 13-nukleotydowy motyw „wyciszacza” ekspresji genu. Homozygoty DD wykazują 2-krotnie wyższe stężenia ACE w surowicy od homozygot II, heterozygoty ID cechują pośrednie wartości stężeń [33]. Częstość występowania allela D w populacji kaukaskiej wynosi 64% (w Polsce 55%) [34, 35]. Ryzyko (OR) wystąpienia udaru u nosicieli wariantu delecyjnego, oszacowane w dwóch różnych metaanalizach, wynosiło 1,21; 95% CI 1,08–1,35 [24]/1,82; 95% CI 1,28–2,60 [36].

**Polimorfizm c.C677T (rs1801133) genu reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (MTHFR) ([OMIM \*609073]; gen *MTHFR*, 1p36.3)**

Reduktaza metylenotetrahydrofolianowa (MTHFR, *metylenotetrahydrofolate reductase*) odgrywa kluczową rolę w metabolizmie homocysteiny (Hcy), ponieważ katalizuje redukcję 5,10-metylenotetrahydrofolianu do 5-metylotetrahydrofolianu, który jest dawcą grupy metylowej potrzebnej do przekształcenia Hcy w metioninę.

Omawiany polimorfizm polega na zamianie cytozyny na tyminę w pozycji 677. łańcucha nukleotydowego, a jego efektem jest substytucja waliny w miejsce alaniny w 223. aminokwasie łańcucha białkowego MTHFR (p.V223A). Na skutek zamiany aminokwasu enzym staje się termolabilny, a jego aktywność w temperaturze 37° C zmniejsza się o 50% w stosunku do enzymu typu „dzikiego”; udowodniono, że genotyp T/T, występujący w większości populacji z częstością około 15%, jest związany z podwyższonym o 25% stężeniem Hcy w osoczu, w porównaniu z genotypem C/C [37, 38].

Ryzyko (OR) wystąpienia udaru u nosicieli wariantu 677T, oszacowane w trzech różnych metaanalizach, wynosiło 1,24; 95% CI 1,08–1,42 [24]; OR 1,26; 95% CI 1,14–1,40 [39]; OR 1,47; 95% CI 1,19–1,82 [40].

**Polimorfizm genu apolipoproteiny E (apoE) ([OMIM +107741]; gen *APOE*, 19q13.2), związany z występowaniem 3 alleli:  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  i  $\epsilon 4$ , kodujących 3 izoformy tego białka: E2, E3 i E4**

Poszczególne układy alleli są spowodowane występowaniem w 4. eksonie genu *APOE* dwóch SNP: c.T471C (p.C112R) (rs 429358) i c.C609T (p.C158R) (rs 7412). Izofорма apoE2 jest warunkowana obecnością alleli c.471T oraz c.609T, co

na poziomie białka skutkuje włączeniem cysteiny w pozycjach 112 i 158 łańcucha białkowego apoE. Izoforma apoE4 jest warunkowana układem alleli c.471C i c.609C, co na poziomie białka skutkuje obecnością argininy w pozycjach 112 i 158 łańcucha aminokwasowego. Najczęściej występująca izoforma apoE3 jest warunkowana przez allele c.471T i c.609C, co na poziomie białka przekłada się na obecność cysteiny w pozycji 112 i argininy w pozycji 158. W populacji ludzkiej najczęściej występuje izoforma apoE3 (50–90%), apoE4 występuje z częstością 5–15%, zaś apoE2 w 1–15% populacji [41].

Cząsteczki lipidów, zawierające w swoim składzie izoformę apoE4, efektywnie wiążą się do receptorów lipoprotein o małej gęstości (LDL, *low-density lipoprotein*) w wątrobie, na skutek czego ekspresja receptorów zmniejsza się, a stężenie lipoprotein w osoczu wzrasta. W sytuacji gdy w skład cząsteczek lipidowych wchodzi izoforma apoE2, słabo wiążą się one do receptorów LDL, aktywność receptorów wzrasta, a stężenie LDL w osoczu maleje [42, 43].

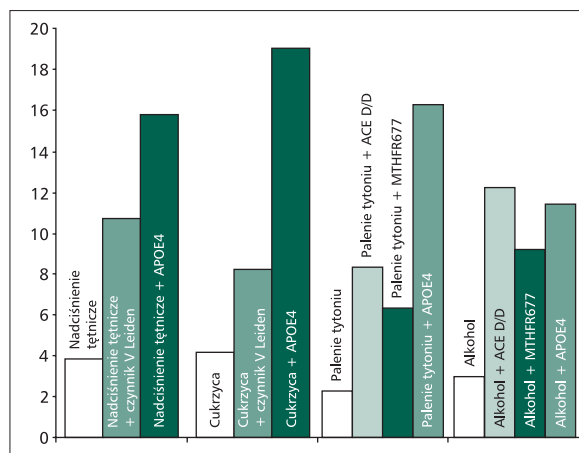
Ryzyko (OR) wystąpienia udaru u nosicieli allelela  $\epsilon 4$ , oszacowane w różnych metaanalizach, wynosiło: 1,68; 95% CI 1,36–2,09 [44]; OR 1,11; 95% CI 1,01–1,22 [45]; OR 1,77; 95% CI 1,30–2,39 [36]; OR 1,47; 95% CI 1,00–2,15 [41].

### Podsumowanie

Wyniki metaanaliz również muszą być interpretowane z ostrożnością — niektóre z nich nie uwzględniają efektu tradycyjnych czynników ryzyka udaru, różnic w pochodzeniu etnicznym chorych, różnic dotyczących wieku pacjentów (analizowano badania dotyczące dorosłych i dzieci), a także różnic dotyczących kryteriów kwalifikacji chorych do badań (z włączeniem/wyłączeniem TIA).

### Polimorfizmy oraz znane czynniki ryzyka a możliwość wystąpienia udaru

W niektórych badaniach analizowano wpływ polimorficznych odmian genów na ryzyko udaru w zależności od obciążeń tradycyjnymi czynnikami ryzyka. Zaobserwowano, że genotypy *MTHFR* 677TT i *ACE* D/D zwiększają ryzyko udaru związane z paleniem tytoniu czy nadużywaniem alkoholu [46], zaś allel *APOE*  $\epsilon 4$  zwiększa ryzyko udaru związane z występowaniem nadciśnienia tętniczego, cukrzycy, palenia tytoniu i nadużywania alkoholu [46, 47]. Mutacja Leiden zwiększa ryzyko udaru spowodowanego chorobą dużych naczyń u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym lub cukrzycą [46]. U osób palących tytoń czy naduży-



**Rycina 5.** Ryzyko (OR) wystąpienia udaru związane z obecnością wariantów genetycznych oraz tradycyjnych czynników ryzyka udaru (źródło: [46])

wających alkoholu genotypy *MTHFR* 677TT i *ACE* D/D zwiększają ryzyko udaru lakunarnego [47]. Obserwacje te sugerują, że ryzyko udaru mózgu może być warunkowane przez interakcje wariantów genetycznych i tradycyjnych czynników ryzyka udaru (ryc. 5).

### Współistnienie wariantów genów a ryzyko udaru

Wykazano także, że współistnienie wariantów różnych genów może zwiększać ryzyko udaru mózgu. Na przykład genotyp D/D genu *ACE* sam lub w połączeniu z genotypem *MTHFR* 677T(+) i/lub *APOE*  $\epsilon 4$ (+) jest związany z wyższym ryzykiem choroby małych naczyń. Mutacja Leiden — sama lub w kombinacjach z innymi mutacjami — predysponuje do choroby dużych naczyń. Allel D genu *ACE* w postaci homozygotycznej i w połączeniu z allelem *APOE*  $\epsilon 4$  lub *MTHFR* 677T jest związany ze wzrostem ryzyka choroby małych naczyń, natomiast nosicielstwo co najmniej jednego allelela D genu *ACE* w połączeniu z mutacją Leiden zwiększa ryzyko choroby dużych naczyń (tab. 2) [48].

### Analiza sprzężeń w badaniach nad genetycznym ryzykiem udaru

Jedną z metod poszukiwania regionów genomu związanych z ryzykiem udaru jest tak zwana strategia klonowania pozycyjnego. Strategia ta nie jest oparta na żadnym wstępnym założeniu dotyczącym konkretnych genów kandydujących. Polega na kilkietapowej analizie sprzężeń, która pozwala na identyfikację związanych z chorobą regionów chromosomalnych, a następnie poszukiwaniu sprzężonych z nimi genów, które mogą wpływać na ryzyko choroby. Sprzężenie oznacza łączne przekazywanie

Tabela 2. Wpływ kombinacji wybranych wariantów genetycznych na ryzyko udaru mózgu spowodowanego chorobą małych lub dużych naczyń (źródło: [46])

Genotypy	Choroba małych naczyń (OR [95% CI])	Choroba dużych naczyń (OR [95% CI])
ACE D/D	2,8 (1,4–5,4)*	0,9 (0,8–1,2)
Czynnik V Leiden	1,6 (0,6–3,1)	2,6 (1,5–3,7)
APOE ε4 allele	3,2 (1,3–7,8)*	2,6 (1,4–4,7)*
ACE D/D + MTHFR677T	6,2 (3,1–12,3)*	1,3 (0,4–3,9)
ACE D/D + MTHFR 677T + APOE ε4	11,9 (3,8–37,4)*	1,3 (0,8–2,3)
ACE D/D + APOE ε4	10,9 (3,6–33,2)*	1,9 (0,9–3,4)
Czynnik V Leiden + ACE D	0,75 (0,2–5,1)	4,5 (2,3–9,4)*
Czynnik V Leiden + MTHFR 677T	1,5 (0,4–3,7)	6,3 (2,9–13,7)*
Czynnik V Leiden + ACE D + MTHFR 677T	1,4 (0,6–3,5)	8,4 (3,6–19,7)*
Czynnik V Leiden + APOE ε4 i ACE D	0,6 (0,2–2,6)	10,8 (2,2–51,9)*

\*Zależność istotna statystycznie; ACE (angiotensin convertase) — gen konwertazy angiotensyny; APOE (apolipoprotein E) — gen apolipoproteiny E; CI (confidence interval) — przedział ufności; OR (odds ratio) — iloraz szans

genów zlokalizowanych na tym samym chromosomie. Stopień sprzężenia genów jest tym większy, im mniejsza jest odległość między nimi na chromosomie. Przy bardzo małych odległościach geny są przenoszone razem z pokolenia na pokolenie, gdyż prawdopodobieństwo zajścia między nimi *crossing-over* (czyli wymiany fragmentów między chromosomami homologicznymi w trakcie procesu mejozy) jest niewielkie. Analiza sprzężeń, przeprowadzana w rodzinach obciążonych chorobą, polega na ustaleniu u członków tych rodzin genotypów w zakresie możliwie dużej liczby równomiernie rozmieszczonych na chromosomach genetycznych *loci* markerowych i ocenie segregacji *loci* w następnym pokoleniu. Wykazanie związku między którymś spośród *loci* markerowych a wystąpieniem choroby wskazuje, że w jego okolicy na chromosomie należy szukać genu ryzyka choroby.

Nilsson-Ardnor i wsp. [49] wykonali badania metodą analizy sprzężeń, do których włączyli 109 rodowodów pochodzących ze stosunkowo homogenego genetycznie obszaru północnej Szwecji. Zidentyfikowali kilka regionów: 5q10, 9q, 13q i 18p związanych z ryzykiem udaru (najsilniejszy związek odnotowano dla regionu 18p). W badaniu tym nie wskazano żadnych nowych istotnych regionów ryzyka udaru.

### Badania asocjacyjne wielu genów kandydujących w jednym eksperymencie

W ciągu ostatnich kilku lat szybki rozwój nowych technik badań molekularnych spowodował znaczne zmiany w metodologii badań dotyczących genetycznych uwarunkowań udaru mózgu.

Technika oparta na zastosowaniu oligonukleotydowych sond umieszczanych na specjalnych mikropolach (*microarrays*) umożliwia określenie genotypu w zakresie wielu SNP w szybki i dokładny sposób podczas pojedynczego eksperymentu.

Berger i wsp. [50] przeprowadzili badanie dotyczące 106 SNP zlokalizowanych w 63 genach kandydujących (wybrano geny, których produkty są zaangażowane w procesy istotne w patogenezie chorób naczyniowych i zapalnych). Spośród zbadanych SNP jedynie p.E298D genu syntazy tlenu azotu 3 (*NOS-3*) wykazywał istotny związek z ryzykiem udaru. Inny zespół badawczy przeanalizował 105 SNP w 63 genach kandydujących (wybranych wg tych samych kryteriów, jak w badaniu Berger). Spośród zbadanych SNP jedynie dwa, dotyczące genu limfotoksyny α (*LTA*), były związane z ryzykiem udaru i to wyłącznie wśród osób bez nadciśnienia [51].

### Strategie łączące analizę sprzężeń i analizę asocjacyjną

Islandzka firma deCODE wykonała analizę sprzężeń w skali całego genomu w celu znalezienia *loci* udarowych. Analiza ta wykazała, że region na chromosomie 5 (5q12) wiąże się z ryzykiem udaru [52]. W regionie tym jest zlokalizowany gen fosfodiesterazy 4D (*PDE4D*). Fosfodiesteraza 4D należy do rodziny fosfodiesteraz — enzymów zaangażowanych w degradację cyklicznych monofosforanów adenozyliny (cAMP, *cyclic adenosine monophosphate*) i guanozyliny. Fosfodiesteraza 4D degraduje wtórny przekaźnik — cAMP, przez co może w istotny sposób wpływać na proliferację SMC

i makrofagów i w ten sposób determinować nasilenie aterogenezy i stabilność blaszki. Niestety, niedawno opublikowane wyniki dużej metaanalizy, podsumowującej wyniki 16 różnych badań, nie potwierdzają związku żadnego z analizowanych SNP genu *PDE4D* z ryzykiem udaru [53].

Ta sama firma wskazała jeszcze inne *locus* — 13q12-13, jako potencjalnie związane z ryzykiem udaru, a także zawału serca. W *locus* tym jest zlokalizowany gen białka aktywującego lipoksygenazę (*ALOX5AP*, *lipoxigenase activating protein*), wcześniej powiązany z ryzykiem miażdżycy. Haplotyp tego genu (nazwany HapA), zdefiniowany przez 4 SNP zlokalizowane w pierwszych 4 eksonach, istotnie wpływał na ryzyko udaru i zawału serca w populacjach islandzkiej i szkockiej; inny haplotyp tego samego genu (Hap B) modyfikował ryzyko udaru w populacji brytyjskiej [54]. Niestety, metaanaliza wszystkich dotychczas wykonanych badań nie potwierdziła związku między Hap A i Hap B a ryzykiem udaru [55].

### Analiza asocjacji w skali całego genomu

Do niedawna badania asocjacyjne koncentrowały się na względnie niewielkiej liczbie SNP w genach kandydujących. Poznanie sekwencji DNA ludzkiego genomu spowodowało gwałtowny postęp w zakresie technik genotypowania. Międzynarodowe konsorcjum HapMap ([www.hapmap.org](http://www.hapmap.org)) oraz projekt „1000 genomów” ([www.1000genomes.org](http://www.1000genomes.org)) przyczyniły się do skatalogowania znacznej części wariantów ludzkiego DNA [56]. Obecnie wiadomo, że zmienność genetyczna człowieka dotyczy blisko 12 milionów powszechnie występujących SNP. Ponieważ poszczególne SNP dziedziczą się wspólnie (jest to zjawisko zwane „nierównowagą sprzężeń” [LD, *linkage disequilibrium*]), zbadanie miliona SNP dostarcza informacji na temat około 90% niebadanych SNP dzięki technice statystycznej zwanej imputacją (w technice tej dany genotyp SNP jest określany probabilistycznie na podstawie obecności alleli innych genów, blisko zlokalizowanych na chromosomie) [56, 57]. Dzięki temu na podstawie wyników uzyskanych w pojedynczym eksperymencie można wyekstrapolować informację dotyczącą niemal wszystkich wariantów SNP w zakresie całego badanego genomu [56, 57].

Istnieje inny, poza SNP, rodzaj zmienności ludzkiego genomu, który jest związany z występowaniem tak zwanej zmienności liczby kopii (CNV, *copy number variation*). Zmienność ta wiąże się z występowaniem duplikacji i delecji dużych

(> 1000 par zasad) fragmentów DNA ze stosunkowo wysoką częstością (5–50%). Efektem obecności CNV mogą być zmiany w strukturze, długości czy dawce genu. Dlatego zmienność ta może wywierać istotny wpływ na funkcje genów [57, 58]. Obecnie istnieją specjalne programy komputerowe, dzięki którym podczas analizy wyników badania *microarray* można uzyskać informacje dotyczące występowania CNV w badanym genomie.

Dzięki tym genetyczno-informatycznym technikom metodologicznym możliwe jest prowadzenie badań w skali całego genomu (GWAS, *genome-wide association studies*). W strategii tej, która zrewolucjonizowała zasięg badań genetycznych, stosuje się macierze mikrosekwencjonowania DNA, umożliwiające jednoczesną analizę setek tysięcy SNP (zwykle 300 000–500 000), reprezentujących znaczny odsetek powszechnie występujących wariantów w genomie człowieka, w celu zidentyfikowania wariantów genetycznych związanych z ryzykiem wystąpienia fenotypu udaru mózgu [59]. Badania te są obecnie bardzo kosztowne, wymagają też analizowania dużej liczby (wielu tysięcy) przypadków i kontroli.

Ponieważ strategia GWAS nie wiąże się z żadną hipotezą dotyczącą wyboru genów kandydujących, jej wynikiem może być odkrycie nowych, dotąd niewiązanych z chorobą, *loci* genowych.

Dotychczas technologia GWAS została zastosowana w badaniach dotyczących udaru mózgu, obejmujących kilka kohort. Pierwsze badanie tego typu — pięcioośrodkowe badanie kohortowe (ISGS, *Ischemic Stroke Genetic Study*) obejmujące 278 chorych i 275 kontroli, u których analizowano 400 000 SNP, nie pozwoliło na wskazanie żadnego *locus* udarowego [60]. Prawdopodobnie liczebność badanych grup w tym projekcie była zbyt mała, by można było wykryć istotne zależności. Badanie to wykazało jednak, że najprawdopodobniej nie istnieje pojedyncze *locus* ryzyka udaru mózgu. Kolejne badania obejmujące dwie niezależne populacje japońskie (przeanalizowano 52 608 SNP) wskazały polimorfizm c.G1425A genu kinazy białkowej C (*PKC*, *protein kinase C*) (*PRKCH*) jako wariant ryzyka udaru lakunarnego. Obserwacja ta została potwierdzona w badaniu replikacyjnym, przeprowadzonym przez ten sam zespół również w populacji japońskiej [61]. Kinaza białkowa C uczestniczy w regulacji wielu ważnych funkcji komórkowych, w tym proliferacji, różnicowania i apoptozy. Białko to ulega ekspresji w komórkach śródbłonna naczyniowego i w komórkach piankowatych (są to makrofagi przeładowane lipidami)



w zmianach miażdżycowych, przy czym jego ekspresja wzrasta wraz z postępowaniem uszkodzenia naczynia [62]. Ten sam zespół badawczy, analizując 52 608 SNP, wykazał związek SNP w regionie flankującym 5' genu kodującego białko podobne do receptora angiotensyny 1 (*AGTRL1*) z ryzykiem udaru (OR, 1,30; 95% CI, 1,14–1,47;  $p = 0,000066$ ) [63].

Inny zespół badawczy przeprowadził analizę danych dotyczących 4 kohort, zgromadzonych w ramach konsorcjum *Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology* (CHARGE). Łącznie przeanalizowano 19 602 osób rasy białej, spośród których 1544 doznało udaru podczas 11-letniego okresu obserwacyjnego [64]. Wyniki tej analizy wskazały na związek *locus* na chromosomie 12p13 z ryzykiem udaru. Związek dotyczył konkretnie polimorfizmów oznaczonych numerami rs12425791 i 11833579. Te SNP są zlokalizowane blisko genów: *NINJ2* kodującego ninjyrinę 2 (*NINJ2*) oraz *WNK1* kodującego kinazę serynowo-treoninową uczestniczącą w regulacji kanałów jonowych zaangażowanych w transport jonów sodu i potasu. Gen *WNK1* ulega szczególnie wysokiej ekspresji w nerkach i w układzie sercowo-naczyniowym; wiele wariantów tego genu opisano w kontekście związku z nadciśnieniem tętniczym. Ninjyrina 2 jest to cząsteczka adhezyjna ulegająca silnej konstyttywnej ekspresji w zwojowych neuronach czuciowych i w neuronach trzewnych, a słabej w obwodowych komórkach gleju i neuronach układu autonomicznego. Ekspresja *NINJ2* wzrasta w dystalnym segmencie nerwu w następstwie uszkodzenia, co sprzyja wzrostowi neurytów [65, 66]. Dlatego autorzy sugerują, że determinowany genetycznie poziom ekspresji *NINJ2* może warunkować tolerancję mózgu na niedokrwienie [62]. Niestety, jedyne wykonane dotychczas badanie replikacyjne, obejmujące blisko 9000 chorych po udarze mózgu, nie potwierdziło związku genu *NINJ2* z ryzykiem udaru [67]. W jeszcze innym, kilkietapowym badaniu z zastosowaniem technologii GWAS wskazano *CELSR1* (*cadherin, epidermal growth factor laminin A G-type repeats seven-pass-G-type receptor 1*) jako gen podatności na udar w populacji japońskiej [68] (obserwacja ta znalazła potwierdzenie w badaniu replikacyjnym obejmującym populację portugalską [69]). *CELSR1* jest receptorem powierzchniowym komórki, którego funkcja nie została jak dotąd poznana, jednak jej homolog *CELSR2* determinuje stężenie LDL w osoczu [70].

W GWAS i badaniach replikacyjnych dotyczących migotania przedsionków zidentyfikowano obszar na chromosomie 4 (4q25), który wpływał

na ryzyko choroby [71, 72]. W obszarze tym najsilniejszy związek z ryzykiem migotania przedsionków wykazywały dwa SNP: rs2200733 oraz rs10033464 — okazało się, że te same polimorfizmy wpływają na ryzyko udaru o etiologii zatokowej [73]. W GWAS dotyczących zawału serca i choroby wieńcowej jako genetyczny obszar ryzyka wskazano region na chromosomie 9 (9p21) [74, 75] (nosicielstwo dwóch alleli ryzyka, pozostających ze sobą w ścisłym sprzężeniu: rs10757274 i rs2383206 wiąże się z 15–20-proc. oraz 30–40-proc. wzrostem ryzyka CAD u nosicieli heterozygotycznych i homozygotycznych, stanowiących, odpowiednio, 50% i 25% populacji kaukaskiej). Analiza regionu 9p21 wykazała, że jest to również region ryzyka udaru mózgu [76]. Nie wiadomo jeszcze, jakie geny zlokalizowane w tym regionie mogą wpływać na ryzyko udaru. Trwają poszukiwania, którymi objęto głównie geny ulegające ekspresji w naczyniach.

Wyniki przytoczonych badań nie pozwalają na określenie konkretnych *loci* udarowych, ponieważ analizy te wskazały różne *loci* ryzyka. Poza tym przeprowadzone badania nie potwierdziły asocjacji najmocniejszych wariantów genów wskazanych w dotychczasowych badaniach asocjacyjnych. Jednak rezultaty tych analiz są interesujące, ponieważ wskazują na nowe mechanizmy, które mogą być odpowiedzialne za wystąpienie udaru.

#### Strategia GWAS — interpretacja danych, możliwe implikacje kliniczne

Obecnie jest jeszcze za wcześnie, by prognozować, jak duże znaczenie kliniczne będą miały wyniki badań prowadzonych przy użyciu technologii GWAS.

Zaletą GWAS, jako strategii poszukiwania genetycznych czynników ryzyka, jest brak założeń dotyczących kryterium wyboru badanych genów. Taki sposób prowadzenia badań wiąże się jednak z trudnościami dotyczącymi analizy uzyskanych danych. Biorąc pod uwagę ogromną liczbę wariantów genetycznych określanych w jednym eksperymencie, można się spodziewać, że wiele zaobserwowanych zależności będzie efektem przypadku. Obecnie przyjęta strategia postępowania zakłada stosowanie korekt wielokrotnego testowania (np. korekty Bonferroniego, strategii doboru poziomu istotności Benjaminiego-Hochberga czy testowania permutacyjnego), w celu określenia wartości odcinającej zależności fałszywie pozytywne i negatywne [77]. Jednak wśród statystyków nie ma porozumienia co do zasadności stosowania takich

metod analizy w przypadku badania wielu wariantów wielu genów. Niektórzy uważają, że może to spowodować „przeoczenie” wariantów genetycznych mających słaby, ale istotny wpływ na dany fenotyp.

W GWAS analizowane są polimorfizmy występujące powszechnie. Dlatego strategia ta nie umożliwia poznania efektu polimorfizmów rzadziej występujących w populacji, które mogą wywierać kumulacyjny wpływ na ryzyko udaru. Poza tym w interpretacji dotychczas przeprowadzonych badań nie uwzględniano możliwości interakcji czynników genetycznych oraz genetyczno-środowiskowych, które mogą mieć istotny wpływ na ryzyko udaru [78].

W przypadku udaru mózgu istotnym czynnikiem utrudniającym skuteczną identyfikację genetycznych wariantów ryzyka jest kliniczna i/lub genetyczna heterogenność. Częstym problemem jest niewłaściwa charakterystyka fenotypowa badanych grup chorych, jak również włączanie do analiz zbyt małych grup chorych o takim samym fenotypie.

Identyfikację wariantów ryzyka choroby, szczególnie w sytuacji badania małych, zróżnicowanych klinicznie grup chorych, utrudnia też heterogenność genetyczna, związana ze zjawiskami pleiotropii (jest to wpływ genotypu na więcej niż jedną cechę fenotypową), niekompletnej penetracji (dany wariant nie u wszystkich nosicieli przejawia się fenotypowo), epistazy (zjawisko polegające na modyfikacji efektu fenotypowego jednego genu przez inny gen), heterogenności allelicznej (jest to występowanie wielu alleli tego samego genu) czy heterogenności *loci* (jest to warunkowanie tego samego fenotypu przez allele różnych genów).

Innym czynnikiem, zakłócającym identyfikację genów ryzyka za pomocą strategii GWAS, jest tak zwana stratyfikacja populacji, będąca rezultatem obecności w badanej populacji podgrup, które istotnie się różnią częstością występowania alleli. Szczególnie niekorzystna jest sytuacja, w której w danej podgrupie współlistnieją badany allel i niezwiązana z nim cecha fenotypowa. Może to prowadzić do stwierdzenia fałszywej zależności. Na przykład jeśli w badanej grupie znajdują się osoby rasy białej i żółtej, a rasa biała będzie się charakteryzowała wyższym wskaźnikiem masy ciała (BMI, *body mass index*), wtedy każdy allel występujący z wyższą częstością u osób rasy białej będzie również wykazywał pozorny związek z BMI, będącym w rzeczywistości jedynie cechą rasy białej [77].

Obecnie za „złoty standard”, służący ocenie rzeczywistego efektu wariantów genetycznych wskazanych w badaniach GWAS, uznaje się badania replikacyjne obejmujące różne populacje. Dopiero metaanaliza wyników tych badań może pozwolić na określenie związku danego wariantu genetycznego z ryzykiem choroby.

Identyfikację często występujących wariantów genetycznych o niewielkim wpływie na ryzyko udaru mogą ułatwić megametaanalizy, uwzględniające wyniki badań u setek tysięcy ich uczestników. Niestety jest prawdopodobne, że wpływ zidentyfikowanych w ten sposób wariantów genetycznych na ryzyko udaru może być słaby i raczej nieistotny w przypadku pojedynczego pacjenta [77, 79]. Jednakże analizy takie warto przeprowadzać, gdyż zidentyfikowane warianty genetyczne mogą wskazać nowe procesy biologiczne istotne w patogenezie choroby.

Obecnie dostępny jest komercyjny test w kierunku *loci* związanych z ryzykiem udaru, zlokalizowanych w obszarach chromosomowych 4q25 i 9p21 [62]. Brakuje jednak badań walidacyjnych pozwalających na ocenę użyteczności tego testu w praktyce klinicznej.

## Podsumowanie

Dzięki wielu badaniom klinicznym i genetycznym coraz więcej wiadomo na temat związku czynników genetycznych z ryzykiem wystąpienia udaru mózgu. Poznano molekularne podłoże większości chorób systemowych, w przebiegu których występują udary mózgu. Jednak wiedza dotycząca genetycznego podłoża udarów uwarunkowanych w sposób wieloczynnikowy jest wciąż ograniczona. Trwają poszukiwania mutacji związanych z ryzykiem wystąpienia różnych typów udaru. Zrozumienie genetycznych uwarunkowań udaru jest wielkim wyzwaniem, które trzeba podejmować, ponieważ poznanie genów związanych z patogenetą i przebiegiem udaru może się przyczynić do zwiększenia skuteczności prewencji i leczenia.

## PIŚMIENNICTWO

1. Baird A.E. Genetics and genomics of stroke: novel approaches. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2010; 56: 245–253.
2. Brass L.M., Isaacsohn J.L., Merikangas K.R. i wsp. A study of twins and stroke. *Stroke* 1992; 23: 221–223.
3. de Faire U., Friberg L., Lundman T. Concordance for mortality with special reference to ischaemic heart disease and cerebrovascular disease. A study on the Swedish Twin Registry. *Prev. Med.* 1975; 4: 509–517.
4. Bak S., Gaist D., Sindrup S.H. i wsp. Genetic liability in stroke: a long-term follow-up study of Danish twins. *Stroke* 2002; 33: 769–774.
5. Liao D., Myers R., Hunt S. i wsp. Familial history of stroke and stroke risk. The Family Heart Study. *Stroke* 1997; 28: 1908–1912.

6. Caicoya M., Corrales C., Rodriguez T. Family history and stroke: a community case-control study in Asturias, Spain. *J. Epidemiol. Biostat.* 1999; 4: 313–320.
7. Seshadri S., Beiser A., Pikula A. i wsp. Parental occurrence of stroke and risk of stroke in their children: the Framingham study. *Circulation* 2010; 121: 1304–1312.
8. Jousilahti P., Rastenyte D., Tuomilehto J. i wsp. Parental history of cardiovascular disease and risk of stroke. A prospective follow-up of 14,371 middle-aged men and women in Finland. *Stroke* 1997; 28: 1361–1366.
9. Touzé E., Rothwell P.M. Heritability of ischaemic stroke in women compared with men: a genetic epidemiological study. *Lancet Neurol.* 2007; 6: 125–133. Errata w: *Lancet Neurol.* 2008; 7: 25.
10. Jerrard-Dunne P., Cloud G., Hassan A., Markus H.S. Evaluating the genetic component of ischemic stroke subtypes: a family history study. *Stroke* 2003; 34: 1364–1369.
11. Polychronopoulos P., Gioldasis G., Ellul J. i wsp. Family history of stroke in stroke types and subtypes. *J. Neurol. Sci.* 2002; 195: 117–122.
12. Wiklund P.G., Brown W.M., Brott T.G. i wsp. Lack of aggregation of ischemic stroke subtypes within affected sibling pairs. *Neurology* 2007; 68: 427–431.
13. Alter M. Black-white differences in stroke frequency: challenges for research. *Neuroepidemiology* 1994; 13: 301–307.
14. Kittner S.J., White L.R., Losonczy K.G. i wsp. Black-white differences in stroke incidence in a national sample. The contribution of hypertension and diabetes mellitus. *JAMA* 1990; 264: 1267–1270.
15. Stegmayr B., Asplund K., Kuulasmaa K., Rajakangas A.M., Thorvaldsen P., Tuomilehto J. Stroke incidence and mortality correlated to stroke risk factors in the WHO MONICA Project. An ecological study of 18 populations. *Stroke* 1997; 28: 1367–1374.
16. Poort S.R., Rosendaal F.R., Reitsma P.H. i wsp. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996; 88: 3698–3703.
17. Bertina R.M. The prothrombin 20210 G to A variation and thrombosis. *Curr. Opin. Hematol.* 1998; 5: 339–342.
18. Margaglione M., Brancaccio V., Giuliani N. i wsp. Increased risk for venous thrombosis in carriers of the prothrombin G>A20210 gene variant. *Ann. Intern. Med.* 1998; 129: 89–93.
19. Aznar J., Vayá A., Estellés A. i wsp. Risk of venous thrombosis in carriers of the prothrombin G20210A variant and factor V Leiden and their interaction with oral contraceptives. *Haematologica* 2000; 85: 1271–1276.
20. Casas J.P., Hingorani A.D., Bautista L.E., Sharma P. Meta-analysis of genetic studies in ischemic stroke: thirty-two genes involving approximately 18,000 cases and 58,000 controls. *Arch. Neurol.* 2004; 61: 1652–1661.
21. Meyer M., Kutscher G., Vogel G. Simultaneous genotyping for factor V Leiden and prothrombin G20210A variant by a multiplex PCR-SSCP assay on whole blood. (Letter) *Thromb. Haemost.* 1999; 81: 162–163.
22. Braun A., Muller S., Rosche A. Population study of the G1691A mutation (R506Q, FV Leiden) in the human factor V gene that is associated with resistance to activated protein C. *Hum. Genet.* 1996; 97: 263–264.
23. Zoller B., Dahlback B. Linkage between inherited resistance to activated protein C and factor V gene mutation in venous thrombosis. *Lancet* 1994; 343: 1536–1538.
24. Casas J.P., Hingorani A.D., Bautista L.E., Sharma P. Meta-analysis of genetic studies in ischemic stroke: thirty-two genes involving approximately 18,000 cases and 58,000 controls. *Arch. Neurol.* 2004; 61: 1652–1661.
25. Wu A.H., Tsongalis G.J. Correlation of polymorphisms to coagulation and biochemical risk factors for cardiovascular diseases. *Am. J. Cardiol.* 2001; 87: 1361–1366.
26. Panahloo A., Mohamed-Ali V., Lane A. i wsp. Determinants of plasminogen activator inhibitor 1 activity in treated NIDDM and its relation to a polymorphism in the plasminogen activator inhibitor 1 gene. *Diabetes* 1995; 44: 37–42.
27. Humphries S.E., Panahloo A., Montgomery H.E., Green F., Yudkin J. Gene-environment interaction in the determination of levels of haemostatic variables involved in thrombosis and fibrinolysis. *Thromb. Haemost.* 1997; 78: 457–461.
28. Spiroski I., Kedev S., Antov S. i wsp. Investigation of SERPINE1 genetic polymorphism in Macedonian patients with occlusive artery disease and deep vein thrombosis. *Kardiol. Pol.* 2009; 67: 1088–1094.
29. Eriksson P., Kallin B., van 't Hooft F.M. i wsp. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1995; 92: 1851–1855.
30. Festa A., D'Agostino R. Jr, Rich S.S., Jenny N.S., Tracy R.P., Haffner S.M. Promoter (4G/5G) plasminogen activator inhibitor-1 genotype and plasminogen activator inhibitor-1 levels in blacks, Hispanics, and non-Hispanic whites: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Circulation* 2003; 107: 2422–2427.
31. Afshar-Kharghan V., Li C.Q., Khoshnevis-Asl M., Lopez J.A. Kozak sequence polymorphism of the glycoprotein (GP) Ib-alpha gene is a major determinant of the plasma membrane levels of the platelet GP Ib-IX-V complex. *Blood* 1999; 94: 186–191.
32. Baker R.I., Eikelboom J., Loffthouse E. i wsp. Platelet glycoprotein Ibalpha Kozak polymorphism is associated with an increased risk of ischemic stroke. *Blood* 2001; 98: 36–40.
33. Rigat B., Hubert C., Corvol P., Soubrier F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidylcarboxypeptidase 1). *Nucleic Acids Res.* 1992; 20: 1433.
34. Czekalski S., Ciechanowicz A. Uwarunkowania genetyczne powikłań sercowo-naczyniowych u chorych z przewlekłą chorobą nerek. [http://www.wydawnictwopzw.pl/download/fragmenty\\_tekstu/209540100.pdf](http://www.wydawnictwopzw.pl/download/fragmenty_tekstu/209540100.pdf).
35. Zhou T.B., Qin Y.H., Su L.N., Lei F.Y., Huang W.F., Zhao Y.J. Relationship between angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism and susceptibility of minimal change nephrotic syndrome: a meta-analysis. *Int. J. Nephrol.* 2011; 2011: 360357.
36. Ariyaratnam R., Casas J.P., Whittaker J. i wsp. Genetics of ischaemic stroke among persons of non-European descent: a meta-analysis of eight genes involving approximately 32,500 individuals. *PLoS Med.* 2007; 4: e131.
37. Frosst P., Blom H.J., Milos R. i wsp. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Genet.* 1995; 10: 111–113.
38. Rozen R. Molecular genetics of methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *Inherit. Metab. Dis.* 1996; 19: 589–594.
39. Casas J.P., Bautista L.E., Smeeth L., Sharma P., Hingorani A.D. Homocysteine and stroke: evidence on a causal link from mendelian randomisation. *Lancet* 2005; 365: 224–232.
40. Corbo R.M., Scacchi R. Apolipoprotein E (APOE) allele distribution in the world: is APOE\*4 a 'thrifty' allele? *Ann. Hum. Genet.* 1999; 63: 301–310.
41. Banerjee I., Gupta V., Ganesh S. Association of gene polymorphism with genetic susceptibility to stroke in Asian populations: a meta-analysis. *J. Hum. Genet.* 2007; 52: 205–219.
42. Schneider W.J., Kovanan P.T., Brown M.S. i wsp. Familial dysbetalipoproteinemia: abnormal binding of mutant apoprotein E to low density lipoprotein receptors of human fibroblasts and membranes from liver and adrenal of rats, rabbits, and cows. *J. Clin. Invest.* 1981; 68: 1075–1085.
43. Rall S.C. Jr., Weisgraber K.H., Innerarity T.L., Mahley R.W. Structural basis for receptor binding heterogeneity of apolipoprotein E from type III hiperlipoproteinemic subjects. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1982; 79: 4696–4700.
44. McCarron M.O., Delong D., Alberts M.J. APOE genotype as a risk factor for ischemic cerebrovascular disease: a meta-analysis. *Neurology* 1999; 53: 1308–1311.
45. Sudlow C., Martínez González N.A., Kim J., Clark C. Does apolipoprotein E genotype influence the risk of ischemic stroke, intracerebral hemorrhage, or subarachnoid hemorrhage? Systematic review and meta-analyses of 31 studies among 5961 cases and 17,965 controls. *Stroke* 2006; 37: 364–370.
46. Szolnoki Z., Somogyvari F., Kondacs A. i wsp. Evaluation of the modifying effects of unfavourable genotypes on classical clinical risk factors for ischemic stroke. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2003; 74: 1615–1620.
47. Pezzini A., Grassi M., Del Zotto E. i wsp. Synergistic effect of apolipoprotein E polymorphisms and cigarette smoking on risk of ischemic stroke in young adults. *Stroke* 2004; 35: 438–442.
48. Szolnoki Z., Somogyvari F., Kondacs A. i wsp. Evaluation of the interactions of common genetic mutations in stroke subtypes. *J. Neurol.* 2002; 249: 1391–1397.
49. Nilsson-Ardnor S., Wiklund P.G., Lindgren P. i wsp. Linkage of ischemic stroke to the PDE4D region on 5q in a Swedish population. *Stroke* 2005; 36: 1666–1671.
50. Berger K., Stögbauer F., Stoll M. i wsp. The glu298asp polymorphism in the nitric oxide synthase 3 gene is associated with the risk of ischemic stroke in two large independent case-control studies. *Hum. Genet.* 2007; 121: 169–178.
51. Wang X., Cheng S., Brophy V.H. i wsp. A meta-analysis of candidate gene polymorphisms and ischemic stroke in 6 study populations: association of lymphotoxin-alpha in nonhypertensive patients. *Stroke* 2009; 40: 683–695.
52. Gretarsdottir S., Thorleifsson G., Reynisdottir S.T. i wsp. The gene encoding phosphodiesterase 4D confers risk of ischemic stroke. *Nat. Genet.* 2003; 35: 131–138.
53. Bevan S., Dichgans M., Gschwendtner A., Kühlenbäumer G., Ringelstein E.B., Markus H.S. Variation in the PDE4D gene and ischemic stroke risk: a systematic review and meta-analysis on 5200 cases and 6600 controls. *Stroke* 2008; 39: 1966–1971.
54. Helgadottir A., Gretarsdottir S., St Clair D. i wsp. Association between the gene encoding 5-lipoxygenase-activating protein and stroke replicated in a Scottish population. *Am. J. Hum. Genet.* 2005; 76: 505–509.

55. Zintzaras E., Rodopoulou P., Sakellaridis N. Variants of the arachidonate 5-lipoxygenase-activating protein (ALOX5AP) gene and risk of stroke: a HuGE gene-disease association review and meta-analysis. *Am. J. Epidemiol.* 2009; 169: 523-532.
56. Lanktree M.B., Dichgans M., Hegele R.A. Advances in genomic analysis of stroke: what have we learned and where are we headed? *Stroke* 2010; 41: 825-832.
57. Barrett J.C., Cardon L.R. Evaluating coverage of genome-wide association studies. *Nat. Genet.* 2006; 38: 659-662.
58. Conrad D.F., Pinto D., Redon R. i wsp. Origins and functional impact of copy number variation in the human genome. *Nature* 2010; 464: 704-712.
59. Dove A. The SNPs are down: genotyping for the rest of us. *Nat. Med.* 2005; 2: 989-994.
60. Matarin M., Brown W.M., Scholz S. i wsp. A genome-wide genotyping study in patients with ischaemic stroke: initial analysis and data release. *Lancet Neurol.* 2007; 6: 414-420.
61. Kubo M., Hata J., Ninomiya T. i wsp. A nonsynonymous SNP in PRKCH (protein kinase C eta) increases the risk of cerebral infarction. *Nat. Genet.* 2007; 39: 212-217.
62. Matarin M., Singleton A., Hardy J., Meschia J. The genetics of ischaemic stroke. *J. Intern. Med.* 2010; 267: 139-155.
63. Hata J., Matsuda K., Ninomiya T. i wsp. Functional SNP in an Sp1-binding site of AGTRL1 gene is associated with susceptibility to brain infarction. *Hum. Mol. Genet.* 2007; 16: 630-639.
64. Ikram M.A., Seshadri S., Bis J.C. i wsp. Genomewide association studies of stroke. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 1718-1728.
65. Seilheimer B., Schachner M. Studies of adhesion molecules mediating interactions between cells of peripheral nervous system indicate a major role for L1 in mediating sensory neuron growth on Schwann cells in culture. *J. Cell. Biol.* 1988; 107: 341-351.
66. Lemmon V., Farr K.L., Lagenaur C. L1-mediated axon outgrowth occurs via a homophilic binding mechanism. *Neuron* 1989; 2: 1597-1603.
67. International Stroke Genetics Consortium; Wellcome Trust Case-Control Consortium 2. Failure to validate association between 12p13 variants and ischemic stroke. *N. Engl. J. Med.* 2010; 362: 1547-1550.
68. Yamada Y., Fuku N., Tanaka M. i wsp. Identification of CELSR1 as a susceptibility gene for ischemic stroke in Japanese individuals by a genome-wide association study. *Atherosclerosis* 2009; 207: 144-149.
69. Gouveia L.O., Sobral J., Vicente A.M., Ferro J.M., Oliveira S.A. Replication of the CELSR1 association with ischemic stroke in a Portuguese case-control cohort. *Atherosclerosis* 2011; 217: 260-262.
70. Käåb S., Darbar D., van Noord C. i wsp. Large scale replication and meta-analysis of variants on chromosome 4q25 associated with atrial fibrillation. *Eur. Heart J.* 2009; 30: 813-819.
71. Samani N.J., Braund P.S., Erdmann J. i wsp. The novel genetic variant predisposing to coronary artery disease in the region of the PSRC1 and CELSR2 genes on chromosome 1 associates with serum cholesterol. *J. Mol. Med. (Berl.)* 2008; 86: 1233-1241.
72. Gudbjartsson D.F., Arnar D.O., Helgadóttir A. i wsp. Variants conferring risk of atrial fibrillation on chromosome 4q25. *Nature* 2007; 448: 353-357.
73. Lemmens R., Buyschaert I., Geelen V. i wsp. The association of the 4q25 susceptibility variant for atrial fibrillation with stroke is limited to stroke of cardioembolic etiology. *Stroke* 2010; 41: 1850-1857.
74. McPherson R., Pertsemlidis A., Kavaslar N. i wsp. A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease. *Science* 2007; 316: 1488-1491.
75. Samani N.J., Erdmann J., Hall A.S. i wsp. Genomewide association analysis of coronary artery disease. *N. Engl. J. Med.* 2007; 357: 443-453.
76. Matarin M., Brown W.M., Singleton A., Hardy J.A., Meschia J.F.; ISGS Investigators. Whole genome analyses suggest ischemic stroke and heart disease share an association with polymorphisms on chromosome 9p21. *Stroke* 2008; 39: 1586-1489.
77. Lanktree M.B., Dichgans M., Hegele R.A. Advances in genomic analysis of stroke: what have we learned and where are we headed? *Stroke* 2010; 41: 825-832.
78. Pearson T.A., Manolio T.A. How to interpret a genome-wide association study. *JAMA* 2008; 299: 1 1335-1344. Errata w: *JAMA* 2008; 299: 2150.
79. Pereira T.V., Patsopoulos N.A., Salanti G., Ioannidis J.P. Discovery properties of genome-wide association signals from cumulatively combined data sets. *Am. J. Epidemiol.* 2009; 170: 1197-1206.