



DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-4-0-4

УДК 575.174.015.3:616

Исследование ассоциаций трёх полиморфных вариантов гена глутатионсинтазы (GSS) с риском развития ишемического инсульта

Ю.А. Бочарова 

Бюджетное медицинское учреждение «Курская областная клиническая больница»,
ул. Сумская, д. 45а, г. Курск, 305007, Российская Федерация
Автор для переписки: Ю.А. Бочарова (y_u_l_i_a_03@mail.ru)

Резюме

Актуальность: Хорошо известно, что полиморфизмы генов ферментов антиоксидантной системы вносят существенный вклад в предрасположенность к ишемическому инсульту (ИИ) и влияют на тяжесть его проявлений. **Цель исследования:** Целью настоящего исследования было изучение ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) rs13041792, rs1801310 и rs6088660 гена глутатионсинтазы (GSS), который вовлечен в первый этап биосинтеза глутатиона – одного из важнейших низкомолекулярных антиоксидантов. **Материалы и методы:** Материалом для исследования послужили образцы ДНК 1288 неродственных индивидов славянского происхождения (600 пациентов с диагнозом ИИ и 688 относительно здоровых индивидов). Генотипирование полиморфных вариантов гена GSS осуществлялось с использованием системы генетического анализа MassARRAY-4. Функциональное аннотирование SNPs проводилось с использованием различных онлайн-инструментов и баз данных. **Результаты:** Установлено, что генотип G/Ars1801310 ассоциировался с повышенным риском развития ишемического инсульта независимо от возраста (OR=1,42 95%CI1,13-1,77, P=0,002). Анализ ассоциации, стратифицированный по полу, показал, что данный генотип был ассоциирован с повышенным риском развития ИИ исключительно у мужчин (OR=1,55 95%CI1,15-2,10, P=0,004). Также было установлено, что SNP rs6088660 гена GSS ассоциировался с повышенным риском развития ишемического инсульта у женщин (OR=1,41 95%CI1,09-2,83, P=0,008). Частый гаплотип rs13041792G-rs1801310G-rs6088660T (OR=1,38 95%CI1,03-1,83P=0,029) и редкий гаплотип rs13041792A-rs1801310A-rs6088660C (OR=9,78 95%CI1,15-83,34P=0,037) были ассоциированы с повышенным риском развития ишемического инсульта у женщин. Установлено, что генотип G/A SNP rs1801310 проявляет свое влияние на риск развития ИИ у мужчин независимо от фактора риска курения, тогда как у женщин независимо от генотипов SNP rs6088660 курение увеличивало риск развития болезни. **Заключение:** Биоинформатический анализ показал, что транскрипционная активность гена GSS может зависеть от исследованных аллельных вариантов в связи с тем, что они представляют собой мишени для регуляции экспрессии гена посредством модификации гистонов, а также транскрипционных факторов в различных тканях, в том числе тканях, имеющих патофизиологическое значение для развития ишемического инсульта.

Ключевые слова: ишемический инсульт; метаболизм глутатиона; глутатионсинтаза (GSS); однонуклеотидный полиморфизм (SNP); экспрессия гена; генно-средовые взаимодействия; половой диморфизм

Для цитирования: Бочарова ЮА. Исследование ассоциаций трёх полиморфных вариантов гена глутатионсинтазы (GSS) с риском развития ишемического инсульта. Научные результаты биомедицинских исследований. 2020;6(4):476-487. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-4-0-4

An association study of three polymorphisms in the glutathione synthase (GSS) gene with the risk of ischemic stroke

Iulia A. Bocharova 

Kursk Regional Clinical Hospital,
45a Sumskaya St., Kursk, 305007, Russia

Corresponding author: Iulia A. Bocharova(y_u_l_i_a_03@mail.ru)

Abstract

Background: It is well known that gene polymorphisms of antioxidant defense enzymes contribute to the ischemic stroke (IS) predisposition and affect the severity of its manifestations. **The aim of the study:** The aim of this study was to investigate the association of single nucleotide polymorphisms (SNPs) of rs13041792, rs1801310 and rs6088660 of the glutathione synthase gene (GSS), involved in the first stage of glutathione biosynthesis, one of the most important low molecular weight antioxidants. **Materials and methods:** DNA samples from 1288 unrelated individuals of Slavic origin (600 patients with a diagnosis of IS and 688 healthy subjects) were included in the study. Genotyping of GSS gene polymorphisms was done using the MassARRAY-4 system. Functional annotation of SNPs was performed using various online bioinformatic tools. **Results:** It was found that the G/A rs1801310 genotype was associated with an increased risk of ischemic stroke, regardless of age (OR=1.42 95%CI 1.13-1.77, $P=0.002$). Association analysis stratified by sex showed that this genotype was associated with an increased risk of IS exclusively in men (OR=1.55 95%CI 1.15-2.10, $P=0.004$). It was also found that SNP rs6088660 of the GSS gene was associated with the risk of ischemic stroke in women (OR=1.41 95%CI 1.09-2.83, $P=0.008$). The frequent haplotype rs13041792G-rs1801310G-rs6088660T (OR=1.38 95%CI 1.03-1.83) and the rare haplotype rs13041792A-rs1801310A-rs6088660C (OR=9.78 95%CI 1.15-83.34) were associated with the disease in women. The G/A SNP rs1801310 genotype showed an association with IS risk in men regardless of their smoking status which influenced the disease risk in women, regardless of the rs6088660 genotypes. **Conclusion:** Bioinformatic analysis showed that transcriptional activity of the GSS gene may depend on the studied polymorphisms due to the fact that they represent the targets for regulation of gene expression by histone modifications and binding transcription factors in a tissue specific manner, including the tissues involved into of ischemic stroke pathophysiology.

Keywords: ischemic stroke; glutathione metabolism; glutathione synthase (GSS); single nucleotide polymorphism (SNP); gene expression; gene-environment interactions; sexual dimorphism

For citation: Bocharova IA. An association study of three polymorphisms in the glutathione synthase (GSS) gene with the risk of ischemic stroke. Research Results in Biomedicine. 2020;6(4):476-487. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-4-0-4

Введение. Сосудистые заболевания мозга вместе с ишемической болезнью сердца и гипертонией занимают лидирующие позиции в структуре заболеваемости, причин смертности и инвалидизации населения экономически развитых стран мира, в том числе и Российской Федерации [1]. Наиболее распространенной формой сосудистых заболеваний мозга является ишемический инсульт (ИИ), развитие которого в большинстве случаев связано с атеросклерозом и атеротромбозом церебральных сосудов с формированием очага инфаркта в головном мозге. Понимание этиологии и молекулярных механизмов развития цереброваскулярной патологии открывает перспективы для разработки более эффективных средств и подходов к профилактике и лечению данного класса социально значимых болезней.

Известно, что ишемический инсульт представляет собой мультифакториальное полигенное заболевание, развитие которого определяется взаимодействием генетических и средовых факторов. На сегодняшний день установлен широкий спектр генов, полиморфные варианты которых связаны с различными звеньями патогенеза и клинического течения ишемического инсульта [2]. Одним из патогенетически значимых молекулярных механизмов цереброваскулярной патологии являются нарушения в системе редокс-гомеостаза, проводящие к формированию окислительных повреждений стенок церебральных сосудов, способствуя развитию в них атеросклероза и тромбоза, а также играющие ключевую роль в образовании зоны некроза и воспаления в ишемизированном участке головного мозга при ИИ [3, 4, 5]. Окислительный стресс – патологический процесс, развивающийся на фоне дисба-

ланса в системе редокс-гомеостаза, связанного с избыточной продукцией активных форм кислорода и недостаточным их обезвреживанием вследствие нарушений функционирования ферментов про и антиоксидантного действия [6, 7]. Проведенные генетико-эпидемиологические исследования продемонстрировали, что полиморфные варианты генов ферментов антиоксидантной системы могут вносить ощутимый вклад в детерминацию предрасположенности к ишемическому инсульту [8, 9, 10].

Ведущую роль в системе антиоксидантной защиты клеток от окислительного повреждения играет метаболизм глутатиона. Глутатион представляет собой внутри- и внеклеточный антиоксидант, который в центральной нервной системе играет роль основного медиатора защиты мозга от его окислительного повреждения [11]. В частности, глутатион предотвращает гибель клеток во время ишемизации мозга, уменьшая зону некроза [12, 13]. Высокая внутриклеточная концентрация глутатиона, необходимая для обеспечения оптимальной антиоксидантной защиты тканей мозга обеспечивается функционированием ферментов, катализирующий целый каскад реакций биосинтеза и катаболизма катаболизм глутатиона. Ферментом, осуществляющим первый этап биосинтеза глутатиона, а именно реакции АТФ-зависимого превращения гамма-L-глутамил-L-цистеина в восстановленный глутатион (GSH), является глутатионсинтаза (GSS), ген которого в достаточном количестве экспрессируется в артериях и различных отделах головного мозга (данные порталов BioGPS, <http://biogps.org> и GTEx <https://www.gtexportal.org>).

Таким образом, полиморфные варианты гена *GSS* представляют собой привлекательный объект для генетико-ассоциативных исследований сосудистых заболеваний мозга, в частности ишемического инсульта. В то же самое время, в мире до настоящего времени не проводилось исследований по поиску ассоциаций полиморфных вариантов гена *GSS* с риском развития ишемического инсульта.

Цель исследования. Изучение ассоциации трех частых однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) rs13041792, rs1801310 и rs6088660 гена глутатионсинтазы с риском развития ишемического инсульта.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования послужила выборка 1288 неродственных индивидов славянского происхождения – уроженцев Центральной России (преимущественно русских жителей Курской области). Основная группа включала 600 больных с ишемическим инсультом. Диагноз ИИ устанавливался квалифицированными неврологами на основании данных клинического обследования и результатов компьютерной и магнитно-резонансной томографии головного мозга. Контрольная группа включала 688 относительно здоровых добровольцев без клинических проявлений сердечнососудистых и других хронических заболеваний. Сбор клинического и биологического материалов осуществлялся в неврологических отделениях БМУ «Курская областная клиническая больница» и ОБУЗ «Курская городская клиническая больница скорой медицинской помощи» в период с 2007 по 2017 гг. в рамках выполнения генетико-эпидемиологических исследований различных мультифакториальных заболеваний [14-20]. Все пациенты дали добровольное письменное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен региональным этическим комитетом Курского государственного медицинского университета (протокол № 4 от 14.04.2014).

Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции с последующей преципитации ДНК этанолом. Генотипирование поли-

морфных вариантов rs13041792, rs1801310 и rs6088660 гена *GSS* на генетическом анализаторе MassARRAY-4 (AgenaBioscience, США) в НИИ генетической молекулярной эпидемиологии Курского государственного медицинского университета (КГМУ). Праймеры для проведения мультиплексной ПЦР были синтезированы компанией Евроген (г. Москва). Контроль качества генотипирования, выполненного на 5% случайно отобранных образцов ДНК, показал 100% воспроизводимость первичных результатов генотипирования.

Анализ ассоциаций SNPs с риском развития ИИ проводился методом множественной логистической регрессии при помощи статистического пакета SNPStats [21]. Ассоциации полиморфных вариантов гена *GSS* с развитием ишемического инсульта оценивались в общих группах пациентов, а также отдельно у мужчин и женщин с коррекцией на возраст пациентов с целью выявления феномена полового диморфизма во взаимосвязи исследуемого гена с развитием болезни.

С целью патофизиологической интерпретации ассоциаций проводили функциональное аннотирование SNPs посредством различных биоинформатических онлайн-инструментов и баз данных. Для выявления т.н. *cis*QTLs (локусов количественных признаков), ассоциированных с изучаемыми полиморфизмами, использовали базы данных: GTExportal (<https://www.gtexportal.org>), eQTLGen (<https://www.eqtlgen.org/cis-eqtl.html>) и QTLbase (<http://mulinlab.tmu.edu.cn/qltbase/index.html>). С целью оценки влияния модификаций гистонов на экспрессию гена *GSS* и выявления регуляторных участков его промотора использовались онлайн-инструменты функционального аннотирования однонуклеотидных полиморфизмов SNPnexus (<https://www.snp-nexus.org/index.html>), интегрированного с экспериментальными данными проектов ENCODE (<https://www.encodeproject.org>), Roadmap Epigenomics (<http://www.roadmapepigenomics.org>) и Ensembl Regulatory Build (www.ensembl.org).

Результаты и их обсуждение. Частоты генотипов полиморфных вариантов rs13041792 и rs6088660 гена *GSS* находились в равновесии Харди-Вайнберга в обеих группах пациентов, тогда как распределение частот генотипов rs1801310 показало статистически значимое отклонение от

равновесия Харди-Вайнберга в группе больных ИИ ($P < 0,05$). В таблице 1 представлены частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов гена *GSS* в группах больных ИИ и здоровых индивидов, как в общих группах, так и в группах, стратифицированных по полу.

Таблица 1

Анализ ассоциации полиморфных вариантов гена глутатионсинтазы с риском развития ишемического инсульта

Table 1

Analysis of the association of polymorphisms of the glutathion synthase gene with the risk of ischemic stroke

SNP ID	Генотип, аллель	N (%)		P	OR (95 CI)*
		Контроль	Больные ИИ		
1	2	3	4	5	6
Общие выборки пациентов (N=1288: 688 больных, 600 здоровых)					
rs13041792, G>A	G/G	433 (64,5)	361 (65,0)	0,32	1,00
	G/A	208 (31,0)	178 (32,1)		1,03 (0,81-1,31)
	A/A	30 (4,5)	16 (2,9)		0,64 (0,34-1,19)
	A	0,200	0,189	0,51	0,94 (0,76-1,14)
rs1801310, G>A	G/G	270 (39,6)	203 (34,5)	0,007	1,00
	G/A	302 (44,3)	312 (53,0)		1,37 (1,08-1,75)
	A/A	110 (16,1)	74 (12,6)		0,90 (0,63-1,27)
	A	0,383	0,390	0,69	1,03 (0,88-1,21)
rs6088660, C>T	C/C	343 (50,4)	265 (45,8)	0,20	1,00
	C/T	288 (42,4)	262 (45,2)		1,18 (0,93-1,48)
	T/T	49 (7,2)	52 (9,0)		1,37 (0,90-2,09)
	T	0,284	0,316	0,08	1,17 (0,98-1,38)
Мужчины (N=696: 366 больных, 330 здоровых)					
rs13041792, G>A	G/G	233 (65,3)	203 (66,1)	0,77	1,00
	G/A	111 (31,1)	96 (31,3)		0,99 (0,71-1,38)
	A/A	13 (3,6)	8 (2,6)		0,72 (0,29-1,78)
	A	0,192	0,182	0,66	0,94 (0,71-1,24)
rs1801310, G>A	G/G	147 (40,6)	103 (32,0)	0,01	1,00
	G/A	161 (44,5)	177 (55,0)		1,59 (1,14-2,22)
	A/A	54 (14,9)	42 (13,0)		1,10 (0,68-1,77)
	A	0,372	0,405	0,20	1,15 (0,93-1,43)
rs6088660, C>T	C/C	170 (47,4)	153 (47,2)	0,98	1,00
	C/T	161 (44,9)	147 (45,4)		1,02 (0,75-1,40)
	T/T	28 (7,8)	24 (7,4)		0,97 (0,54-1,74)
	T	0,302	0,301	0,96	0,99 (0,79-1,25)
Женщины (N=592: 322 больных, 270 здоровых)					
rs13041792, G>A	G/G	200 (63,7)	158 (63,7)	0,39	1,00
	G/A	97 (30,9)	82 (33,1)		1,09 (0,76-1,57)
	A/A	17 (5,0)	8 (3,2)		0,59 (0,25-1,42)
	A	0,209	0,198	0,65	0,93 (0,70-1,25)
rs1801310, G>A	G/G	123 (38,4)	100 (37,5)	0,17	1,00
	G/A	141 (44,1)	135 (50,6)		1,15 (0,80-1,64)
	A/A	56 (17,5)	32 (12,0)		0,72 (0,43-1,19)
	A	0,395	0,373	0,43	0,91 (0,72-1,15)
rs6088660, C>T	C/C	173 (53,9)	112 (43,9)	0,03	1,00
	C/T	127 (39,6)	115 (45,1)		1,39 (0,98-1,97)
	T/T	21 (6,5)	28 (11,0)		2,05 (1,11-3,80)
	T	0,263	0,335	0,01	1,40 (1,09-1,82)

Примечание: * Отношения шансов после коррекции на возраст (кодоминантная генетическая модель).

Note: * Odds ratios after age correction (codominant genetic model).

Установлено, что генотип G/Ars1801310 ассоциировался с повышенным риском развития ишемического инсульта независимо от возраста (OR=1,42 95%CI1,13-1,77, $P=0,002$). Анализ ассоциации, стратифицированный по полу, показал, что данный генотип был ассоциирован с повышенным риском развития ИИ исключительно у мужчин (OR=1,55 95%CI1,15-2,10, $P=0,004$). Также было установлено, что SNP rs6088660 гена *GSS* ассоциировался с повышенным риском развития ишемического инсульта у женщин (OR=1,41 95%CI1,09-2,83, $P=0,008$ log-аддитивная генетическая модель). Данный факт свидетельствует об отчетливом половом диморфизме в ассоциациях полиморфных вариантов гена *GSS* с развитием ишемического инсульта. Возможным объяснением данного феномена может быть известный факт того, что эстрогены сами способны подавлять экспрессию гена *GSS* [22].

Полиморфные варианты *GSS* находились в тесном неравновесии по сцеплению друг с другом: rs13041792 с rs1801310 ($D'=0,907$, $D=-0,068$, $P<0,01$), rs13041792 с rs6088660 ($D'=0,999$, $D=-0,058$, $P<0,01$), rs1801310 с rs6088660 ($D'=0,999$, $D=-0,115$, $P<0,01$). В таблице 2 представлены гаплотипы гена *GSS* среди больных ИИ и у лиц контрольной группы. Было установлено пять гаплотипов гена *GSS* с частотой не менее 1%. Статистически значимых различий в частотах гаплотипов между объединенными по полу группами больных ИИ и здоровых не выявлено ($P>0,05$). Анализ распределения гаплотипов, стратифицированный по полу показал, что у женщин обнаружены различия в частотах

гаплотипов между группами ИИ и контроля ($P=0,005$). Частый гаплотип H2 rs13041792G-rs1801310G-rs6088660T (OR=1,38 95%CI1,03-1,83 $P=0,029$) и редкий гаплотип H5 rs13041792A-rs1801310A-rs6088660C (OR=9,78 95%CI 1,15-83,34 $P=0,037$) были ассоциированы с повышенным риском развития ишемического инсульта у женщин независимо от возраста.

Анализ генно-средовых взаимодействий способен объяснить механизмы, посредством которые полиморфные варианты генов ассоциированы с риском развития мультифакториальных заболеваний [23]. Нами были проанализированы совместные влияния генотипов глутатионсинтазы, полиморфизмы которой ассоциированы с развитием ИИ, и курения (известного фактора риска болезни) на риск развития ишемического инсульта отдельно у мужчин и женщин (таблица 3).

Установлено, что генотип G/A SNP rs1801310 проявляет свое влияние на риск развития ИИ у мужчин независимо от фактора риска курения, тогда как у женщин независимо от генотипов SNP rs6088660 (в наибольшей степени генотипа T/T) курение увеличивало риск развития болезни. Из литературы известно факт, что компоненты табачного дыма способны подавлять транскрипционную активность гена глутатионсинтазы [24].

Важной задачей исследования было функциональное аннотирование SNPs с использованием биоинформатических инструментов и ресурсов. В таблице 4 представлены сводные данные результатов функционального аннотирования SNPs гена *GSS*.

Таблица 2

**Анализ ассоциации гаплотипов гена глутатионсинтазы
с риском развития ишемического инсульта**

Table 2

**Analysis of the association of the glutathion synthase gene haplotypes with the risk
of ischemic stroke**

Гаплотипы	rs13041792	rs1801310	rs6088660	Контроль (N=688)	Больные ИИ (N=600)	P	OR (95% CI)*
Общие выборки пациентов (N=1288: 688 больных, 600 здоровых)							
H1	G	A	C	0,3784	0,3786	-	1,00
H2	G	G	T	0,2849	0,3162	0,29	1,11 (0,92 – 1,34)
H3	A	G	C	0,1957	0,1792	0,36	0,90 (0,72 – 1,13)
H4	G	G	C	0,1359	0,1134	0,15	0,82 (0,62 – 1,07)
H5	A	A	C	0,0051	0,0126	0,075	2,47 (0,91 – 6,68)
H6	A	G	T	0	0	-	-
Мужчины (N=696: 366 больных, 330 здоровых)							
H1	G	A	C	0,3651	0,3956	-	1,00
H2	G	G	T	0,3036	0,2989	0,57	0,93 (0,71 – 1,21)
H3	A	G	C	0,1853	0,1711	0,31	0,85 (0,62 – 1,16)
H4	G	G	C	0,1379	0,1228	0,23	0,80 (0,56 – 1,15)
H5	A	A	C	0,0081	0,0086	0,62	1,36 (0,40 – 4,58)
H6	A	G	T	0	0,0029		
Женщины (N=592: 322 больных, 270 здоровых)							
H1	G	A	C	0,3934	0,3614	-	1,00
H2	G	G	T	0,2638	0,3343	0,029	1,38 (1,03 – 1,83)
H3	A	G	C	0,2074	0,1897	0,81	0,96 (0,69 – 1,33)
H4	G	G	C	0,1336	0,1008	0,37	0,83 (0,55 – 1,25)
H5	A	A	C	0,0018	0,0138	0,037	9,78 (1,15 – 83,34)
H6	A	G	T	0	0	-	-

Примечание: * Отношения шансов, скорректированные по возрасту.

Note: * Odds adjusted by age.

Таблица 3

Анализ совместного влияния курения и генотипов глутатионсинтазы на риск развития ишемического инсульта у мужчин и женщин (анализ генно-средовых взаимодействий)

Table 3

**Analysis of the joint effect of smoking and glutathion synthase genotypes on the risk
of ischemic stroke in men and women (analysis of genetic interactions)**

Генотипы GSS	Некурящие			Курящие		
	Здоровые	Больные ИИ	OR (95% CI)	Здоровые	Больные ИИ	OR (95% CI)*
Мужчины, rs1801310 (модель сверхдоминирования)						
G/G-A/A	85	54	1,00	110	91	1,23 (0,79-1,92) P=0,24
G/A	70	92	2,09 (1,31-3,32) P=0,002	89	85	1,46 (0,92-2,29) P=0,08
Женщины, rs6088660 (рецессивная модель)						
C/C-C/T	274	159	1,00	19	68	6,17 (3,58-10,63) P=1,1×10 ⁻¹²
T/T	20	16	1,38 (0,69-2,74) P=0,38	1	12	14,34 (2,61-78,89) P=4,9×10 ⁻⁵

Примечание: * Отношения шансов с поправкой на возраст.

Note: * Age-adjusted odds ratios.

Таблица 4

Функциональное аннотирование SNPs гена глутатионсинтазы с помощью различных биоинформатических инструментов

Table 4

Functional annotation of the glutathionesyntase gene SNPs using various bioinformatics tools

SNP ID	Аллели	Локализация	TFBS (VEP)	Уровень экспрессии (eQTL анализ)						Эпигенетическая регуляция				
				Кровь			Артерии, аорта		Ткани мозга		Модификация гистонов	RegulatoryBuild (Ensembl)		
				GTEch	eQTLGen	QTLbase	GTEch	QTLbase	GTEch	QTLbase		Кровь	Артерии, аорта	Ткани мозга
rs13041792	G/A	5'upstream	-	-	-	√	-	-	-	-	-	-	-	-
rs1801310	G/A	Exon	-	-	-	-	√	-	√	√	-	-	-	-
rs6088660	C/T	5'UTR	√	-	√	√	√	-	-	-	√	-	√	√

Анализ экспериментальных данных геномного и транскриптомного анализа, депонированных в интернет ресурсах GTEchportal, eQTLGenandQTLbase позволил установить, что исследуемые полиморфные варианты гена *GSS* имеют т.н. eQTLs или локусы, ассоциированные с экспрессией гена в различных видах тканей и типов клеток. В большей степени представляли интерес те виды клеток и тканей, которые могли бы иметь патогенетическую связь с атеросклерозом (артерии, клетки крови), а также клетки центральной нервной системы и отделы головного мозга, наиболее часто подвергающиеся ишемическому повреждению в результате окклюзии церебральных артерий. Так, согласно данным GTEch портала SNP rs13041792 не имел ни одного eQTLs в данных видах тканей, но в то же время обнаружено, что аллель А SNP rs13041792 ассоциирован со снижением экспрессии гена *GSS* в сердечной мышце ($P=0,0002$) и крови ($P=2,4 \times 10^{-6}$, данные базы QTLbase). Аллель А SNP rs1801310 ассоциировался со снижением экспрессии *GSS* в коре мозга ($P=0,0001$), мозжечке ($P=0,0001$) и большеберцовой артерии ($P=0,0002$). Аллель Т полиморфизма rs6088660 был ассоциирован с увеличением экспрессии гена *GSS*

большеберцовой артерии ($P=2,3 \times 10^{-7}$, данные GTEch портала) и крови ($P=6,0 \times 10^{-7}$ данные базы eQTLGen).

Согласно данным проекта ENCODESNP rs6088660 расположен в области генома, которая вследствие химических модификацией (метилование, ацетилование) гистонов (гистоновые маркеры H3K4me2, H3K4me1, H3K4me3, H3K9ac и H3K27ac) способна влиять на экспрессию гена *GSS* в астроцитах головного мозга. Известно, что модификации гистонов H3K4me1, H3K4me2, H3K4me3 (метилование) H3K9ac и H3K27ac (ацетилование) связаны с увеличением промоторной активности генов [25, 26].

Биоинформатически анализ также позволил установить, что SNP rs6088660 охватывает область промотора гена *GSS*, активность которого выражена в тканях аорты и астроцитах согласно данным RegulatoryBuild (Ensembl). В отношении SNP rs6088660 также было предсказано, что наличие аллеля Т сопряжено с формированием участков связывания для комплекса транскрипционных факторов PITX1::HES7 и SRF согласно результатам анализа с помощью биоинформатического инструмента VariantEffectPredictor (Ensembl). Это является дополнительным

доказательством того, что аллель Т может быть связан с более выраженной, чем аллель С, транскрипционной активностью гена *GSS*. PITX1 и SRF представляют собой транскрипционные факторы, активирующие транскрипцию различных генов. В то же время транскрипционный фактор HES7 является репрессором, способным подавлять транскрипционную активность генов-мишеней.

Заключение. В ходе настоящего исследования впервые установлено, что полиморфные варианты гена глутатионсинтазы могут представлять собой значимые факторы риска развития ишемического инсульта. Однако выявленные нами ассоциации полиморфных вариантов rs1801310 и rs6088660 с риском развития болезни оказались пол-специфичными: данные SNPs ассоциировались с повышенным риском развития ИИ у мужчин и женщин, соответственно. Причины полового диморфизма могут быть связаны с различными факторами риска болезни у представителей разного пола. Подтверждением данного факта стал находка, демонстрирующая триггерное влияние курения на риск развития ИИ у женщин, являющихся носителями различных генотипов *GSS*. Несмотря на то, что исследованные полиморфизмы расположены в некодирующем участках гена, они характеризуются регуляторным потенциалом. Транскрипционная активность гена *GSS* может зависеть от исследованных аллельных вариантов в связи с тем, что они могут быть мишенями для регуляции посредством модификации гистонов, а также транскрипционных факторов, что проявляется изменениями экспрессии гена в различных тканях, в том числе тканях, имеющих патофизиологическое значение для развития ишемического инсульта. Несомненно, для подтверждения выявленных ассоциаций с риском развития ишемического инсульта, а также гипотез о механизмах регуляции генной экспрессии необходимы дальнейшие популяционные и экспериментальные исследования.

Информация о финансировании

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (соглашение № 15-15-10010).

Financial support

The study was supported by the Russian Science Foundation (Agreement No. 15-15-10010).

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The author has no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Feigin VL, Lawes CM, Bennett DA, et al. Stroke epidemiology: a review of population-based studies of incidence, prevalence, and case-fatality in the late 20th century. *The Lancet Neurology*. 2003;2(1):43-53. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(03\)00266-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(03)00266-7)
2. Dichgans M. Genetics of ischaemic stroke. *The Lancet Neurology*. 2007;6(2):149-161. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(07\)70028-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70028-5)
3. Allen CL, Bayraktutan U. Oxidative stress and its role in the pathogenesis of ischaemic stroke. *International Journal of Stroke*. 2009;4(6):461-470. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1747-4949.2009.00387.x>
4. Ciancarelli I, Di Massimo C, De Amicis D, et al. Evidence of redox unbalance in post-acute ischemic stroke patients. *Current Neurovascular Research*. 2012;9(2):85-90. DOI: <https://doi.org/10.2174/156720212800410885>
5. Chehaibi K, Trabelsi I, Mahdouani K, et al. Correlation of Oxidative Stress Parameters and Inflammatory Markers in Ischemic Stroke Patients. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2016;25(11):2585-2593. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.06.042>
6. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*. 2015;4:180-3. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.002>
7. Kattoor AJ, Pothineni NVK, Palagiri D, et al. Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Current Atherosclerosis Reports*. 2017;19(11):42. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11883-017-0678-6>
8. Voetsch B, Jin RC, Bierl C, et al. Promoter polymorphisms in the plasma glutathione

peroxidase (GPx-3) gene: a novel risk factor for arterial ischemic stroke among young adults and children. *Stroke*. 2007;38(1):41-49. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000252027.53766.2b>

9. Türkanoglu A, Can Demirdögen B, Demirkaya S, et al. Association analysis of GSTT1, GSTM1 genotype polymorphisms and serum total GST activity with ischemic stroke risk. *Neurological Sciences*. 2010;31(6):727-34. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10072-010-0330-5>

10. Polonikov A, Vialykh E, Vasil'eva O, et al. Genetic variation in glutathione S-transferase genes and risk of nonfatal cerebral stroke in patients suffering from essential hypertension. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2012;47(3):511-513. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12031-012-9764-y>

11. Lee BJ, Marchionni L, Andrews CE, et al. Analysis of differential gene expression mediated by clozapine in human postmortem brains. *Schizophrenia Research*. 2017;185:58-66. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.schres.2016.12.017>

12. Song J, Park J, Oh Y, et al. Glutathione suppresses cerebral infarct volume and cell death after ischemic injury: involvement of FOXO3 inactivation and Bcl2 expression. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2015;2015:426069. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/426069>

13. Kahl A, Stepanova A, Konrad C, et al. Critical Role of Flavin and Glutathione in Complex I-Mediated Bioenergetic Failure in Brain Ischemia/Reperfusion Injury. *Stroke*. 2018;49(5):1223-1231. DOI: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.117.019687>

14. Вялых ЕК, Солодилова МА, Бушуева ОЮ, и др. Связь полиморфизма гена каталазы с повышенным риском развития церебрального инсульта у больных гипертонической болезнью. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2012;112(8-2):3-7.

15. Polonikov A, Vialykh E, Vasil'eva O, et al. Genetic variation in glutathione S-transferase genes and risk of nonfatal cerebral stroke in patients suffering from essential hypertension. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2012;47(3):511-3. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12031-012-9764-y>

16. Полоников АВ, Иванов ВП, Солодилова МА. Промоторный полиморфизм -1293G>C гена CYP2E1 увеличивает риск развития гипертонической болезни у мужчин, злоупотребляющих алкоголем. *Бюллетень экс-*

периментальной биологии и медицины. 2013;155(6):695-698.

17. Самгина ТА, Бушуева ОЮ, Иванов ВП, и др. Связь промоторного полиморфизма -308G>А гена фактора некроза опухоли с тяжестью течения острого панкреатита у русской популяции жителей Курской области. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2014;9(109):17-20.

18. Самгина ТА, Бушуева ОЮ, Назаренко ПМ, и др. Связь полиморфизма HindIII гена липопроteinлипазы с развитием острого небилиарного панкреатита: пилотное исследование. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2016;161(1):92-95.

19. Быканова МА, Солодилова МА, Бочарова АВ, и др. Промоторный полиморфизм rs890293 гена эпоксигеназы CYP2J2 ассоциирован с повышенным риском развития гипертонической болезни у женщин. *Медицинская генетика*. 2017;16(3):37-40.

20. Самгина ТА, Канищев ЮВ, Григорьев СН, и др. Роль полиморфизма (rs1800566) гена фермента НАД(Ф)Н-хиноноксидоредуктазы 1 в развитии острого панкреатита. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2018;28(1):20-25. DOI: <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2018-28-1-20-25>.

21. Solé X, Guinó E, Valls J, et al. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*. 2006;22(15):1928-1929. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl268>

22. Konstantakopoulos N, Montgomery KG, Chamberlain N, et al. Changes in gene expressions elicited by physiological concentrations of genistein on human endometrial cancer cells. *Molecular Carcinogenesis*. 2006;45(10):752-63. DOI: <https://doi.org/10.1002/mc.20187>

23. Hunter DJ. Gene-environment interactions in human diseases. *Nature Reviews Genetics*. 2005;6(4):287-298. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg1578>

24. Anthérieu S, Garat A, Beauval N, et al. Comparison of cellular and transcriptomic effects between electronic cigarette vapor and cigarette smoke in human bronchial epithelial cells. *Toxicology in Vitro*. 2017;45(3):417-425. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2016.12.015>

25. Creighton MP, Cheng AW, Welstead GG, et al. Histone H3K27ac separates active from poised enhancers and predicts developmental

state. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2010;107(50):21931-6. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1016071107>

26. Karmodiya K, Krebs AR, Oulad-Abdelghani M, et al. H3K9 and H3K14 acetylation co-occur at many gene regulatory elements, while H3K14ac marks a subset of inactive inducible promoters in mouse embryonic stem cells. BMC Genomics. 2012;13:424. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-424>

References

1. Feigin VL, Lawes CM, Bennett DA, et al. Stroke epidemiology: a review of population-based studies of incidence, prevalence, and case-fatality in the late 20th century. The Lancet Neurology. 2003;2(1):43-53. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(03\)00266-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(03)00266-7)
2. Dichgans M. Genetics of ischaemic stroke. The Lancet Neurology. 2007;6(2):149-161. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(07\)70028-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70028-5)
3. Allen CL, Bayraktutan U. Oxidative stress and its role in the pathogenesis of ischaemic stroke. International Journal of Stroke. 2009;4(6):461-470. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1747-4949.2009.00387.x>
4. Ciancarelli I, Di Massimo C, De Amicis D, et al. Evidence of redox unbalance in post-acute ischemic stroke patients. Current Neurovascular Research. 2012;9(2):85-90. DOI: <https://doi.org/10.2174/156720212800410885>
5. Chehaibi K, Trabelsi I, Mahdouani K, et al. Correlation of Oxidative Stress Parameters and Inflammatory Markers in Ischemic Stroke Patients. Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases. 2016;25(11):2585-2593. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.06.042>
6. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. Redox Biology. 2015;4:180-3. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.002>
7. Kattoor AJ, Pothineni NVK, Palagiri D, et al. Oxidative Stress in Atherosclerosis. Current Atherosclerosis Reports. 2017;19(11):42. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11883-017-0678-6>
8. Voetsch B, Jin RC, Bierl C, et al. Promoter polymorphisms in the plasma glutathione peroxidase (GPx-3) gene: a novel risk factor for arterial ischemic stroke among young adults and children. Stroke. 2007;38(1):41-49. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000252027.53766.2b>
9. Türkanoglu A, Can Demirdögen B, Demirkaya S, et al. Association analysis of GSTT1, GSTM1 genotype polymorphisms and serum total GST activity with ischemic stroke risk. Neurological Sciences. 2010;31(6):727-34. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10072-010-0330-5>
10. Polonikov A, Vialykh E, Vasil'eva O, et al. Genetic variation in glutathione S-transferase genes and risk of nonfatal cerebral stroke in patients suffering from essential hypertension. Journal of Molecular Neuroscience. 2012;47(3):511-513. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12031-012-9764-y>
11. Lee BJ, Marchionni L, Andrews CE, et al. Analysis of differential gene expression mediated by clozapine in human postmortem brains. Schizophrenia Research. 2017;185:58-66. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.schres.2016.12.017>
12. Song J, Park J, Oh Y, et al. Glutathione suppresses cerebral infarct volume and cell death after ischemic injury: involvement of FOXO3 inactivation and Bcl2 expression. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2015;2015:426069. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/426069>
13. Kahl A, Stepanova A, Konrad C, et al. Critical Role of Flavin and Glutathione in Complex I-Mediated Bioenergetic Failure in Brain Ischemia/Reperfusion Injury. Stroke. 2018;49(5):1223-1231. DOI: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.117.019687>
14. Vialykh EK, Solodilova MA, Bushueva OYu, et al. The relationship of catalase gene polymorphism with an increased risk of cerebral stroke in patients with hypertension. Journal of Neurology and Psychiatry. C.C. Korsakova. 2012;112(8-2):3-7. Russian.
15. Polonikov A, Vialykh E, Vasil'eva O, et al. Genetic variation in glutathione S-transferase genes and risk of nonfatal cerebral stroke in patients suffering from essential hypertension. Journal of Molecular Neuroscience. 2012;47(3):511-3. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12031-012-9764-y>
16. Polonikov AV, Ivanov VP, Solodilova MA. The -1293G> C promoter polymorphism of the CYP2E1 gene increases the risk of hypertension in men who abuse alcohol. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2013;155(6):695-698. Russian.
17. Samgina TA, Bushueva OYu, Ivanov VP, et al. The relationship of the promoter poly-

morphism -308G> A of the tumor necrosis factor gene with the severity of acute pancreatitis in the Russian population of the Kursk region. *Experimental and clinical gastroenterology*. 2014;9(109):17-20. Russian.

18. Samgina TA, Bushueva OYu, Nazarenko PM, et al. The association of the HindIII polymorphism of the lipoprotein lipase gene with the development of acute nebiliary pancreatitis: a pilot study. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2016;161(1):92-95. Russian.

19. Bykanova MA, Solodilova MA, Bocharova AV, et al. The promoter polymorphism rs890293 of the CYP2J2 epoxygenase gene is associated with an increased risk of hypertension in women. *Medicalgenetics*. 2017;16(3):37-40. Russian.

20. Samgina TA, Kanishchev YV, Grigor'Yev SN, et al. The role of polymorphism (rs1800566) of NAD(F)H quinone oxidoreductase-1 in development of acute pancreatitis. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2018;28(1):20-25. Russian. DOI: <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2018-28-1-20-25>

21. Solé X, Guinó E, Valls J, et al. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*. 2006;22(15):1928-1929. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl268>

22. Konstantakopoulos N, Montgomery KG, Chamberlain N, et al. Changes in gene expressions elicited by physiological concentrations of genistein on human endometrial cancer cells. *Molecular Carcinogenesis*. 2006;45(10):752-63. DOI: <https://doi.org/10.1002/mc.20187>

23. Hunter DJ. Gene-environment interactions in human diseases. *Nature Reviews Genetics*. 2005;6(4):287-298. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg1578>

24. Anthérieu S, Garat A, Beauval N, et al. Comparison of cellular and transcriptomic effects between electronic cigarette vapor and cigarette

smoke in human bronchial epithelial cells. *Toxicology in Vitro*. 2017;45(3):417-425. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2016.12.015>

25. Creyghton MP, Cheng AW, Welstead GG, et al. Histone H3K27ac separates active from poised enhancers and predicts developmental state. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107(50):21931-6. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1016071107>

26. Karmodiya K, Krebs AR, Oulad-Abdelghani M, et al. H3K9 and H3K14 acetylation co-occur at many gene regulatory elements, while H3K14ac marks a subset of inactive inducible promoters in mouse embryonic stem cells. *BMC Genomics*. 2012;13:424. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-424>

Статья поступила в редакцию 8 февраля 2020 г.

Поступила после доработки 17 мая 2020 г.

Принята к печати 2 августа 2020 г.

Received 8 February 2020

Revised 17 May 2020

Accepted 2 August 2020

Информация об авторе

Юлия Александровна Бочарова, врач-невролог отделения нейрохирургии, БМУ «Курская областная клиническая больница», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: y_u_l_i_a_03@mail.ru, ORCID: 0000-0003-0197-0255.

Information about the author

Julia A. Bocharova, neurologist at the Department of Neurosurgery, Kursk Regional Clinical Hospital, Kursk, Russia, E-mail: y_u_l_i_a_03@mail.ru, ORCID: 0000-0003-0197-0255.