Анализ вовлеченности однонуклеотидных полиморфизмов генов редокс-гомеостаза в развитие изолированных и коморбидных кардио- и цереброваскулярных заболеваний

Бушуева О.Ю.

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
305041 г. Курск, ул. К. Маркса,3

Распространенные и зачастую сочетающиеся кардио- и цереброваскулярные заболевания (КЦВЗ), включающие артериальную гипертензию (АГ), ишемическую болезнь сердца (ИБС) и мозговой инсульт (МИ), представляют собой основную причину смертности во всем мире. Окислительный стресс имеет множество патологических эффектов на сосудистый гомеостаз и в настоящее время рассматривается как один из общих механизмов развития КЦВЗ. Целью исследования было изучение ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов генов редокс-гомеостаза rs2070424 *SOD1*, rs4880 *SOD2*, rs769214 *CAT*, rs713041 *GPX4*, rs41303970 *GCLM*, rs17883901 *GCLC*, rs854560 *PON1*, rs7493 *PON2*, rs1695 *GSTP1*, rs2266782 *FMO3* с развитием изолированных и сочетанных форм КЦВЗ. Материалом для исследования послужила выборка неродственных индивидов славянского происхождения, общей численностью 2702 человека. В исследование вошли 1815 пациентов с различными кардио- и цереброваскулярными заболеваниями и их сочетаниями: с изолированной АГ (иАГ), с изолированной ишемической болезнью сердца (иИБС), с сочетанием АГ и ИБС (АГ+ИБС), с мозговым инсультом (МИ) на фоне АГ (АГ+МИ); с коморбидной кардио- и цереброваскулярной патологией (АГ+ИБС+МИ). Из общей выборки здоровых лиц (N=887) были сформированы 5 контрольных групп, соответствующих по полу и возрасту каждой из групп нозологических форм заболеваний. Генотипирование SNP проводили методом ПЦР в режиме реального времени путем дискриминации аллелей с помощью TaqMan-зондов. Для анализа ассоциаций генотипов с развитием заболеваний пользовались лог-аддитивной регрессионной моделью. Все расчеты выполнены относительно минорного аллеля; введены поправки на пол и возраст. SNP rs1695 *GSTP1* был связан исключительно с развитием иАГ (OR=1,19, 95%CI=1,01–1,39, p=0,034). SNP rs7493 *PON2* был связан с развитием всех исследованных коморбидных кардио- и цереброваскулярных заболеваний: АГ+ИБС ($OR_{adj}=1,32$, $95\%CI_{adj}=1,07-1,63$, $p_{adj}=0,01$); АГ+МИ ($OR_{adj}=1,79$, $95\%CI_{adj}=1,45-2,21$, $p_{adj}<0,0001$); АГ+ИБС+МИ ($OR_{adj}=1,51$, $95\%CI_{adj}=1,09-2,09$, $p_{adj}=0,01$), а также с укорочением протромбинового времени ($Difference_{adj}=-0,35$; $p_{adj}=0,01$). SNP rs2266782 *FMO3* был связан с фенотипом АГ+МИ ($OR_{adj}=1,24$, $95\%CI_{adj}=1,02-1,51$, $p_{adj}=0,03$), а также снижал возраст манифестации МИ ($Difference_{adj}=-2,31$; $p_{adj}=0,03$). Таким образом, установлено, что однонуклеотидные полиморфизмы генов редокс-гомеостаза могут представлять важную генетическую компоненту формирования дифференцированности кардио- и цереброваскулярных фенотипов.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, мозговой инсульт, коморбидность, окислительный стресс, однонуклеотидный полиморфизм, rs2266782 *FMO3*, rs7493 *PON2*, rs1695 *GSTP1*

Для цитирования: Бушуева О.Ю. Анализ вовлеченности однонуклеотидных полиморфизмов генов редокс-гомеостаза в развитие изолированных и коморбидных кардио- и цереброваскулярных заболеваний. *Медицинская генетика* 2020; 19(9): 37-49.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.09.37-49

Автор для корреспонденции: Бушуева Ольга Юрьевна; e-mail: olga.bushueva@inbox.ru

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 15.07.2020.

Analysis of the involvement of single nucleotide polymorphisms of redox-homeostasis genes in the development of isolated and comorbid cardio- and cerebrovascular diseases

Bushueva O.Yu.

Kursk State Medical University
K. Marx str., 3, Kursk, 305041, Russian Federation,

Common and often comorbid cardio- and cerebrovascular diseases (CCVD), including arterial hypertension (AH), coronary heart disease (CHD), and cerebral stroke (CS), are the leading cause of death worldwide. Oxidative stress has many pathological effects on vascular homeostasis and is currently regarded as one of the common mechanisms for the development of CCVD. The aim of our study was to investigate the association of single nucleotide polymorphisms of the redox-homeostasis genes rs2070424 *SOD1*, rs4880 *SOD2*, rs769214 *CAT*, rs713041 *GPX4*, rs41303970 *GCLM*, rs17883901 *GCLC*, rs854560 *PON1*, rs7493 *PON2*, rs1695 *GSTP1*,

rs2266782 *FMO3* with the development of isolated and comorbid CCVD. A total 2702 individuals of Slavic origin were included for this study. The patients group included 1815 subjects with various CCVD and their combinations: isolated AH (IAH); isolated IHD (IIHD), combination of AH and IHD (AH+IHD); combination of AH and CS (AH+CS); comorbid cardio- and cerebrovascular pathology (AH+IHD+CS). From the total sample of healthy individuals (N=887), 5 sex- and age-matched control groups were formed. Genotyping was performed using TaqMan-based PCR. To analyze the associations of genotypes with the risk of diseases, a log-additive regression model was used. All calculations were performed relative to the minor allele; corrections for gender and age have been introduced. SNP rs1695 *GSTP1* was associated with IAH exclusively (OR=1.19, 95%CI=1.01-1.39, P=0.034). SNP rs7493 *PON2* was associated with the development of all studied comorbid CCVD: AH+IHD (adjOR=1.32, adj95%CI=1.07-1.63, adjP=0.01); AH+CS (adjOR=1.79, adj95%CI=1.45-2.21, adjP<0.0001); AH+IHD+CS (adjOR=1.51, adj95%CI=1.09-2.09, adjP=0.01), as well as shortening of prothrombin time (adjDifference=-0.35; adjP=0.01). SNP rs2266782 *FMO3* was associated with the development of AH+CS (adjOR=1.24, adj95%CI=1.02-1.51, adjP=0.03), as well as decreased age of manifestation of CS (adjDifference=-2.31; adjP=0.03). Thus, it was found that genes involved in regulation of redox-homeostasis, can represent an important genetic component in the formation of differentiation of cardio- and cerebrovascular phenotypes.

Keywords: arterial hypertension, coronary artery disease, cerebral stroke, comorbidity, oxidative stress, single nucleotide polymorphism, rs2266782 *FMO3*, rs7493 *PON2*, rs1695 *GSTP1*

For citation: Bushueva O.Yu. Analysis of the involvement of single nucleotide polymorphisms of redox-homeostasis genes in the development of isolated and comorbid cardio- and cerebrovascular diseases. *Medical genetics*. 2020; 19(9): 37-49. (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.09.37-49

Corresponding author: Bushueva Olga Yuryevna; e-mail: olga.bushueva@inbox.ru

Funding. The study was carried out with financial support of Kursk State Medical University.

Conflict of Interest. Author declare no conflict of interest.

Accepted: 15.07.2020.

Введение

Множественные (сочетанные) болезни представляют особо важную проблему современной медицины. Сочетание нескольких хронических заболеваний у одного пациента в настоящее время является скорее правилом, чем исключением. Однако коморбидные заболевания мало исследованы ввиду того, что пациенты с сочетанием заболеваний исключаются из исследования, либо наличие сопутствующей патологии не принимается во внимание. В то же время во всем мире отмечается неуклонный рост доли пациентов, у которых имеются несколько хронических заболеваний [1]. Это явление можно объяснить тенденцией старения населения, а также прогрессом в оказании медицинской помощи и общественном здравоохранении, приводящем к тому, что все большее число пациентов выживает в условиях предоставляемой медицинской помощи при заболеваниях, которые при иных условиях могли быть летальными.

Распространенные и зачастую сочетающиеся кардио- и цереброваскулярные заболевания (КЦВЗ), включающие артериальную гипертензию (АГ), ишемическую болезнь сердца (ИБС), и инсульт, представляют собой основную причину смертности и инвалидизации во всем мире. По прогнозам экспертов, количество смертей от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) в мире возрастет до 24,2 млн в 2030 году [2]. Несмотря на большое количество научных исследований КЦВЗ, механизмы формирования их сочетанных и изолированных форм остаются недостаточно изу-

ченными. В то же время именно такой исследовательский подход, направленный на изучение дифференцированных сосудистых фенотипов, может быть полезен в изучении молекулярных аспектов патогенеза КЦВЗ.

Одной из систем, характеризующихся плейотропными патологическими эффектами на сосудистый гомеостаз, является система редокс-гомеостаза. Данные исследований, накопленные за последние десятилетия, представляют убедительные доказательства причастности активных форм кислорода (АФК) к инициации и прогрессированию сердечно-сосудистых заболеваний. Усиление процессов генерации АФК и дезорганизация механизмов антиоксидантной активности приводят к формированию оксидантного (окислительного) стресса, который в настоящее время рассматривается как один из общих механизмов развития кардио- и цереброваскулярных заболеваний (КЦВЗ). АФК имеют множество сосудистых эффектов, таких, как дисфункция эндотелия, миграция гладкомышечных клеток и индукция воспалительных реакций, апоптоз, пролиферация гладкомышечных клеток сосудов и др., которые нарушают регуляцию сосудистого тонуса и способствуют развитию атеросклеротического процесса [3]. Эти эффекты являются следствием высокой концентрации АФК, превышающей физиологические концентрации и возможности антиоксидантных защитных механизмов «уравновесить» их разрушительные эффекты. Более того, окислительный стресс связан со всеми известными сердечно-сосудистыми фак-

торами риска, и является связующим звеном между ними и сосудистыми заболеваниями.

Несмотря на доказанную вовлеченность окислительного стресса в развитие ССЗ, генетические аспекты системы редокс-гомеостаза недостаточно исследованы с позиций их вовлеченности в формирование сердечно-сосудистой коморбидности. В то же время общеизвестно, что АГ часто сочетается с ИБС и мозговым инсультом (МИ). Комбинации АГ с этими заболеваниями представляют собой типичные примеры нозологической синтропии (коморбидности) [4]. Анализа вовлеченности генов редокс-гомеостаза в формирование изолированных и сочетанных форм кардио- и цереброваскулярных заболеваний не проводилось.

Целью нашей работы стал анализ ассоциаций 10 полиморфных вариантов генов, вовлеченных в редокс-гомеостаз (rs2070424 *SOD1*, rs4880 *SOD2*, rs769214 *CAT*, rs713041 *GPX4*, rs41303970 *GCLM*, rs17883901 *GCLC*, rs854560 *PON1*, rs7493 *PON2*, rs1695 *GSTP1*, rs2266782 *FMO3*) в формирование предрасположенности к развитию изолированных и синтропных форм кардио- и цереброваскулярных заболеваний.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужила выборка неродственных жителей Курской области, общей численностью 2702 человека; все участники подписали добровольное информированное согласие на исследование. В исследование вошли 1815 пациентов с различными кардио- и цереброваскулярными заболеваниями, которые были подразделены на 5 групп в зависимости от наличия/отсутствия у них коморбидной (сопутствующей) сердечно-сосудистой патологии: больные изолированной АГ (иАГ), N=702; больные изолированной ИБС (иИБС), N=125; больные с сочетанием АГ и ИБС (АГ+ИБС), N=498; больные с МИ на фоне АГ (АГ+МИ), N=378; больные с коморбидной кардио- и цереброваскулярной патологией (АГ+ИБС+МИ), N=112. Больные кардиологического профиля находились на стационарном лечении в кардиологических отделениях Курской областной клинической больницы, Курской Городской клинической больницы скорой медицинской помощи в период 2011–2017 гг. [5, 6]. Больные МИ находились на стационарном лечении в Региональном сосудистом центре Курской областной клинической больницы и неврологическом отделении Курской Городской клинической больницы скорой медицинской помощи. Сбор материала исследования осуществлялся в 2 этапа: 2003–2005 гг.; 2007–2015 гг. [7]. В группу АГ вошли пациенты с систолическим артериальным давлением (САД) ≥ 140 мм рт.ст. и/или

диастолическим артериальным давлением (ДАД) ≥ 90 мм рт.ст., а также пациенты, которые получали антигипертензивную терапию. Критерии исключения: симптоматическая АГ, острые воспалительные заболевания, аутоиммунные заболевания, тяжелые заболевания почек или печени, онкопатология, беременность.

Диагноз ИБС устанавливался квалифицированными врачами-кардиологами на основании данных объективного обследования, результатов инструментальных методов исследования (электрокардиография, коронарография). ИБС диагностировали в случае ангиографически подтвержденного стеноза не менее чем на 50% диаметра хотя бы одного из крупных коронарных сосудов. В исследование не включали пациентов с хроническими болезнями печени, почек, эндокринными, онкологическими заболеваниями, кардиомиопатией, хронической обструктивной болезнью легких, коллагенозами, острыми и хроническими инфекционно-воспалительными заболеваниями, алкоголизмом.

Диагноз инсульта устанавливался квалифицированными врачами-неврологами в острейшем и остром периодах заболевания на основании данных клинико-неврологического статуса, компьютерной или магнитно-резонансной томографии головного мозга. Из исследования исключали пациентов с печеночной и почечной недостаточностью, эндокринными, аутоиммунными, онкологическими и другими заболеваниями, которые могли быть причиной острого нарушения мозгового кровообращения. Больные с геморрагическим инсультом по типу вторичного внутримозгового кровоизлияния, с гемодинамическим, гемореологическим и инсультом по типу диссекции, а также пациенты с перенесенной черепно-мозговой травмой также исключались из исследования. Все пациенты с МИ имели АГ в анамнезе и получали гипотензивную терапию.

Контрольную группу составили 887 относительно здоровых индивидов без кардио- и цереброваскулярных заболеваний в анамнезе и имеющих нормальный уровень артериального давления. Контрольная выборка была сформирована из относительно здоровых добровольцев, а также во время профессиональных осмотров на промышленных предприятиях, в лечебно-профилактических учреждениях г. Курска и Курской области. Формирование выборок больных и здоровых осуществлялось сплошным методом.

В связи с наличием половозрастных особенностей в распределении больных из общей когорты здоровых лиц (N=887) были сформированы 5 контрольных групп, каждая из которых соответствовала своей нозологической форме по полу и возрасту (табл. 1).

Исследование было одобрено Региональным этическим комитетом Курского государственного медицинского университета. Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. У всех обследуемых проводился забор венозной крови.

Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. В исследование были включены гены антиоксидантной системы, вовлеченные в детоксикацию супероксидного анион-радикала (*SOD1*, *SOD2*), гидроперекисей (*CAT*), гены, вовлеченные в метаболизм глутатиона (*GPX4*, *GCLM*, *GCLC*, *GSTP1*), а также другие гены редокс-гомеостаза, играющие потенциально важную роль в сер-

дечно-сосудистой патологии, такие, как параоксоназа 1 и 2 (*PON1*, *PON2*), флавиновая монооксигеназа (*FMO3*). Основными критериями отбора SNP были функциональная значимость полиморфизма и частота минорного аллеля более 5% [8]. В исследование были включены следующие однонуклеотидные полиморфизмы генов: rs2070424 *SOD1*, rs4880 *SOD2*, rs769214 *CAT*, rs713041 *GPX4*, rs41303970 *GCLM*, rs17883901 *GCLC*, rs854560 *PON1*, rs7493 *PON2*, rs1695 *GSTP1*, rs2266782 *FMO3*. Генотипирование проводили методом ПЦР в режиме реального времени путем дискриминации аллелей с помощью TaqMan зондов на амплификаторе CFX96, Bio-Rad (США). Повторное генотипирование 10% исследованных образцов, отобранных

Таблица 1

Общая характеристика исследованных групп пациентов/контроля

Больные иАГ (n=702)			Контрольная группа, сформированная для больных иАГ (n=857)			Сравнение больных иАГ и контроля	
ср. возраст, Ме (Q1; Q3)	пол, n (%)		ср. возраст, Ме (Q1; Q3)	пол, n (%)		p-уровень различий по возрасту	Критерии различий по полу, χ^2 (p)
	М	Ж		М	Ж		
55 (48; 62)	307 (43,7)	395 (56,3)	53 (49; 59)	406 (47,4)	451 (52,6)	0,84	1,92 (0,17)
Больные иИБС (n=125)			Контрольная группа, сформированная для больных иИБС (n=353)			Сравнение больных иИБС и контроля	
ср. возраст, Ме (Q1; Q3)	пол, n (%)		ср. возраст, Ме (Q1; Q3)	пол, n (%)		p-уровень различий по возрасту	Критерии различий по полу, χ^2 (p)
	М	Ж		М	Ж		
62 (56; 69)	95 (76,0)	30 (24,0)	60 (57; 68)	242 (68,6)	11 (31,4)	0,98	2,12 (0,15)
Больные АГ+ИБС (n=498)			Контрольная группа, сформированная для больных АГ+ИБС (n=420)			Сравнение больных АГ+ИБС и контроля	
ср. возраст, Ме (Q1; Q3)	пол, n (%)		ср. возраст, Ме (Q1; Q3)	пол, n (%)		p-уровень различий по возрасту	Критерии различий по полу, χ^2 (p)
	М	Ж		М	Ж		
62 (55,25; 70)	300 (60,2)	198 (39,8)	60 (56; 68)	247 (58,8)	173 (41,2)	0,83	0,14 (0,71)
Больные АГ+МИ (n=378)			Контрольная группа, сформированная для больных АГ+МИ (n=474)			Сравнение больных АГ+МИ и контроля	
ср. возраст, Ме (Q1; Q3)	пол, n (%)		ср. возраст, Ме (Q1; Q3)	пол, n (%)		p-уровень различий по возрасту	Критерии различий по полу, χ^2 (p)
	М	Ж		М	Ж		
60 (54; 66,75)	217 (57,4)	161 (42,6)	59 (56; 67)	263 (55,5)	211 (44,5)	0,05	0,24 (0,62)
Больные АГ+ИБС+МИ (n=112)			Контрольная группа, сформированная для больных АГ+ИБС+МИ (n=329)			Сравнение больных АГ+ИБС+МИ и контроля	
ср. возраст, Ме (Q1; Q3)	пол, n (%)		ср. возраст, Ме (Q1; Q3)	пол, n (%)		p-уровень различий по возрасту	Критерии различий по полу, χ^2 (p)
	М	Ж		М	Ж		
66 (60; 72,25)	69 (61,6)	43 (38,4)	63 (59; 70)	187 (56,8)	142 (43,2)	0,05	0,60 (0,44)

по случайному принципу и при отсутствии информации о статусе болезни, показало 100%-ную воспроизводимость оригинальных результатов.

Для оценки ассоциаций генотипов использовали показатели отношения шансов (OR) и 95%-ный доверительный интервал (CI), рассчитанные для лог-аддитивной регрессионной модели. Все расчеты были выполнены с поправками на пол и возраст в программе SNPStats, доступной онлайн (<https://www.snptest.net/start.htm>). Для изучения регуляторного потенциала исследуемых SNP использовали онлайн-ресурс atSNP, оценивающий связывающую способность транскрипционных факторов (ТФ) с участками ДНК в области SNP в зависимости от носительства референсного/альтернативного аллеля (<http://atsnp.biostat.wisc.edu>). ТФ включали в анализ только при условии высокой и очень высокой степени влияния SNP на взаимодействие ТФ с ДНК, рассчитанной на основе позиционной весовой матрицы. Инструмент Gene Ontology (<http://geneontology.org>) использовали для поиска генных онтологий, связанных с биологическими функциями ТФ, ассоциированных с референсным/альтернативным аллелем. Для анализа связи SNP с локусами количественных признаков (eQTL, mQTL, hQTL) пользовались биоинформационными ресурсами QTLbase (<http://mulinlab.org/qtlbase>) и GTex portal (<https://gtexportal.org/home/>).

Результаты и обсуждение

Анализ соответствия распределения частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга проводили в общей группе вошедших в исследование здоровых индивидумов (N=887). Распределение частот генотипов всех исследованных SNP, кроме rs41303970 *GCLM*, соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($p > 0,05$). По rs41303970 *GCLM* мы наблюдали снижение наблюдаемой гетерозиготности (0,30) по сравнению с ожидаемой (0,34); $p < 0,01$.

SNP rs1695 *GSTP1* был связан исключительно с повышенным риском развития иАГ (OR=1,19, 95%CI=1,01–1,39, $p=0,034$). SNP rs7493 *PON2* был связан с повышенным риском развития всех исследованных коморбидных фенотипов: АГ+ИБС (OR=1,32, 95%CI=1,07–1,63, $p=0,01$); АГ+МИ (OR=1,79, 95%CI=1,45–2,21, $p < 0,0001$); АГ+ИБС+МИ (OR=1,51, 95%CI=1,09–2,09, $p=0,01$). SNP rs2266782 *FMO3* был связан с повышенным риском развития АГ+МИ (OR=1,24, 95%CI=1,02–1,51, $p=0,03$) (табл. 2).

Анализ влияния исследованных полиморфных вариантов генов на клинические проявления заболеваний установил, что rs2266782 *FMO3* влиял на воз-

раст манифестации МИ: у носителей генотипов G/A-A/A инсульт манифестировал в среднем на 2,5 года раньше по сравнению с носителями генотипа G/G. Полиморфизм rs7493 *PON2* влиял на такой показатель, как протромбиновое время у больных с кардио- и цереброваскулярной патологией. Носители гомозиготы CC отличалась наиболее быстрым гемостазом, гомозиготы GG самым медленным, гетерозиготы имели промежуточные показатели протромбинового времени (табл. 3).

SNP rs1695 *GSTP1*, согласно проведенному нами исследованию, был ассоциирован с повышенным риском развития иАГ и не был связан с другими КЦВЗ. Ген глутатион S-трансферазы класса Pi (*GSTP1*) достаточно широко исследован при ССЗ. Функционально значимая замена А на G в экзоне 5 (rs1695) приводит к замене аминокислоты Ile105Val, что снижает активность фермента [9]. В метаанализе ассоциации данного полиморфизма с развитием АГ обнаружено не было [10]. Однако стоит отметить, что данный мета-анализ был выполнен на основании результатов проведенных в мире 12 исследований АГ. При этом 10 из включенных в данный метаанализ исследований были проведены на выборках менее 300 человек. В связи с высокой частотой АГ в популяциях мира, данные исследования не соответствуют современным критериям генетико-эпидемиологических исследований. А единственное включенное в метаанализ масштабное исследование (более 1000 человек) было проведено в США на больных раком с сопутствующей АГ. Учитывая важнейшую роль rs1695 *GSTP1* в биотрансформации проканцерогенов, результаты этого исследования должны быть интерпретированы с осторожностью из-за наличия коморбидной патологии с потенциально высокой вовлеченностью rs1695 *GSTP1* в ее патогенез. Других исследований ассоциаций rs1695 *GSTP1* с развитием АГ в мире проведено не было. Таким образом, нами впервые показана связь rs1695 *GSTP1* с развитием АГ. Примечательно, что данный SNP был связан только с иАГ, и не был вовлечен в развитие ИБС и цереброваскулярные заболевания.

Фермент GSTP1 защищает клетки от широкого спектра токсических веществ, поскольку является важным компонентом системы биотрансформации ксенобиотиков. GSTP1 катализирует конъюгацию различных электрофильных и гидрофобных соединений с глутатионом, в частности, алифатических ароматических гетероциклических радикалов, эпоксида [11]. Вариантный аллель G снижает ферментативную эффективность GSTP1, приводит к уменьшению конъюгативной способности с глутатионом и его количества, уменьшает детоксицирующие и антиоксидантные свойства GSTP1 и, как следствие, вызывает множество

**Анализ ассоциаций исследованных полиморфных вариантов генов
с развитием различных кардио- и цереброваскулярных фенотипов**

Ассоциации исследованных SNP с развитием иАГ						
	Ген	rs	Минорный аллель	Частота минорного аллеля у больных/в контроле	Результаты анализа ассоциаций генотипов	
					OR (95% CI) ¹	P ²
1.	<i>SOD1</i>	rs2070424	G	0,07/0,07	1,00 (0,74–1,34)	0,98
2.	<i>SOD2</i>	rs4880	T	0,49/0,5	0,98 (0,84–1,14)	0,75
3.	<i>CAT</i>	rs769214	G	0,34/0,37	0,88 (0,75–1,04)	0,13
4.	<i>GPX4</i>	rs713041	T	0,4/0,4	1,00 (0,85–1,16)	0,97
5.	<i>GCLM</i>	rs41303970	T	0,22/0,22	1,03 (0,87–1,23)	0,73
6.	<i>GCLC</i>	rs17883901	T	0,09/0,09	1,13 (0,87–1,47)	0,37
7.	<i>PON1</i>	rs854560	A	0,36/0,37	0,98 (0,84–1,15)	0,83
8.	<i>PON2</i>	rs7493	C	0,26/0,26	0,97 (0,82–1,14)	0,68
9.	<i>GSTP1</i>	rs1695	G	0,35/0,31	1,19 (1,01–1,39)	0,03*
10.	<i>FMO3</i>	rs2266782	A	0,44/0,43	1,03 (0,89–1,20)	0,67
Ассоциации исследованных SNP с развитием ИИБС						
1.	<i>SOD1</i>	rs2070424	G	0,07/0,08	0,92 (0,50–1,70)	0,8
2.	<i>SOD2</i>	rs4880	T	0,48/0,50	0,91 (0,66–1,25)	0,56
3.	<i>CAT</i>	rs769214	G	0,38/0,38	1,03 (0,76–1,41)	0,84
4.	<i>GPX4</i>	rs713041	T	0,42/0,40	1,12 (0,82–1,53)	0,49
5.	<i>GCLM</i>	rs41303970	T	0,17/0,21	0,82 (0,56–1,21)	0,31
6.	<i>GCLC</i>	rs17883901	T	0,09/0,09	0,93 (0,54–1,61)	0,79
7.	<i>PON1</i>	rs854560	A	0,38/0,38	1,03 (0,74–1,42)	0,87
8.	<i>PON2</i>	rs7493	C	0,25/0,24	1,07 (0,77–1,50)	0,68
9.	<i>GSTP1</i>	rs1695	G	0,24/0,30	0,70 (0,49–1,00)	0,04
10.	<i>FMO3</i>	rs2266782	A	0,46/0,45	1,08 (0,80–1,46)	0,63
Ассоциации исследованных SNP с развитием АГ+ИБС						
1.	<i>SOD1</i>	rs2070424	G	0,07/0,08	0,84 (0,58–1,23)	0,38
2.	<i>SOD2</i>	rs4880	T	0,49/0,50	0,95 (0,78–1,15)	0,59
3.	<i>CAT</i>	rs769214	G	0,36/0,38	0,94 (0,78–1,15)	0,57
4.	<i>GPX4</i>	rs713041	T	0,43/0,40	1,15 (0,95–1,40)	0,15
5.	<i>GCLM</i>	rs41303970	T	0,23/0,20	1,11 (0,89–1,38)	0,35
6.	<i>GCLC</i>	rs17883901	T	0,08/0,09	0,92 (0,66–1,29)	0,63
7.	<i>PON1</i>	rs854560	A	0,38/0,37	1,01 (0,82–1,23)	0,93
8.	<i>PON2</i>	rs7493	C	0,30/0,24	1,32 (1,07–1,63)	0,01*
9.	<i>GSTP1</i>	rs1695	G	0,32/0,32	1,01 (0,83–1,23)	0,93
10.	<i>FMO3</i>	rs2266782	A	0,45/0,43	1,06 (0,88–1,28)	0,51
Ассоциации исследованных SNP с развитием АГ+МИ						
1.	<i>SOD1</i>	rs2070424	G	0,08/0,08	1,01 (0,70–1,45)	0,97
2.	<i>SOD2</i>	rs4880	T	0,49/0,49	1,04 (0,86–1,27)	0,67
3.	<i>CAT</i>	rs769214	G	0,35/0,38	0,87 (0,71–1,07)	0,18
4.	<i>GPX4</i>	rs713041	T	0,39/0,40	0,99 (0,81–1,20)	0,9
5.	<i>GCLM</i>	rs41303970	T	0,24/0,21	1,19 (0,95–1,49)	0,13
6.	<i>GCLC</i>	rs17883901	T	0,10/0,09	1,10 (0,79–1,54)	0,58
7.	<i>PON1</i>	rs854560	A	0,34/0,38	0,85 (0,69–1,05)	0,12
8.	<i>PON2</i>	rs7493	C	0,38/0,25	1,79 (1,45–2,21)	<0,0001*
9.	<i>GSTP1</i>	rs1695	G	0,34/0,32	1,09 (0,89–1,34)	0,41
10.	<i>FMO3</i>	rs2266782	A	0,49/0,44	1,24 (1,02–1,51)	0,03*
Ассоциации исследованных SNP с развитием АГ+ИБС+МИ						
1.	<i>SOD1</i>	rs2070424	G	0,07/0,08	0,85 (0,47–1,56)	0,6
2.	<i>SOD2</i>	rs4880	T	0,52/0,50	1,07 (0,78–1,48)	0,66
3.	<i>CAT</i>	rs769214	G	0,40/0,38	1,08 (0,79–1,48)	0,64
4.	<i>GPX4</i>	rs713041	T	0,38/0,40	0,89 (0,65–1,23)	0,49
5.	<i>GCLM</i>	rs41303970	T	0,19/0,20	0,97 (0,66–1,41)	0,86
6.	<i>GCLC</i>	rs17883901	T	0,06/0,09	0,63 (0,34–1,17)	0,13
7.	<i>PON1</i>	rs854560	A	0,34/0,37	0,87 (0,63–1,21)	0,41
8.	<i>PON2</i>	rs7493	C	0,34/0,25	1,51 (1,09–2,09)	0,01*
9.	<i>GSTP1</i>	rs1695	G	0,36/0,31	1,18 (0,86–1,62)	0,3
10.	<i>FMO3</i>	rs2266782	A	0,49/0,43	1,26 (0,92–1,72)	0,15

Примечание: все расчеты выполнены относительно минорного аллеля; ¹ – отношение шансов и 95%-доверительный интервал (рассчитаны для лог-аддитивной регрессионной модели) с коррекцией на пол и возраст; ² – $p_{кор}$ – значение для лог-аддитивной регрессионной модели с коррекцией на пол и возраст.

событий, опосредованных токсическим и окислительным стрессом в сердечно-сосудистой системе [12].

Согласно данным GTex portal, cis-eQTL, ассоциированные с рисковым аллелем G rs1695, связаны со снижением экспрессии гена в аорте ($p=1,3 \times 10^{-8}$), коронарных артериях ($p=0,0000038$), левой большеберцовой артерии ($p=2,5 \times 10^{-16}$), левом желудочке сердца ($p=5,0 \times 10^{-9}$), цельной крови ($p=0,0014$), а также отделах головного мозга, участвующих в регуляции сосудистого тонуса: гипоталамусе ($p=1,1 \times 10^{-7}$), черной субстанции головного мозга ($p=9,7 \times 10^{-7}$). Анализ cis-mQTL (локусов количественных признаков метилирования) выявил, что носительство рискового аллеля G rs1695 *GSTP1* связано с cis-mQTL, ассоциированными с повышением метилирования 26 CpG-сайтов в крови/тканях головного мозга (табл. 4). Анализ cis-hQTL (локусов количественных признаков модификации гистонов) показал, что носительство аллеля G rs1695 *GSTP1* связано с cis-hQTL, ассоциированными со снижением ацетилирования на 27-м остатке лизина белка гистона H3 (H3K27ac) в различных клетках крови (табл. 4). Поскольку H3K27ac ассоциирован с более высокой активацией транскрипции и поэтому определяется как активная метка энхансера, можно предположить, что снижение H3K27ac может быть ассоциировано со снижением транскрипции *GSTP1*. Таким образом, rs1695 *GSTP1* обладает высоким регуляторным потенциалом в ССЗ-ассоциированных тканях, в первую очередь посредством cis-ассоциированных регуляторных элементов.

SNP rs2266782 *FMO3* был связан с повышенным риском развития МИ на фоне АГ. Примечательно, что rs2266782 *FMO3* также был ассоциирован с повышенным риском развития сочетанной кардио- и цереброваскулярной патологии (АГ+ИБС+МИ) согласно рецессивной модели ассоциаций генотипов (OR=1,94, 95%CI=1,16–3,26, $p=0,013$), однако, ассоциация в лог-аддитивной модели не достигала уровня статистической значимости. Возможно, это связано с недостаточной мощностью исследования данной фенотипической подгруппы пациентов, поскольку сочетание АГ, ИБС и МИ является одним из наиболее редких сердечно-сосудистых фенотипов.

Флаavin-содержащая монооксигеназа 3 (*FMO3*) – фермент, катализирующий реакции NADPH-зависимого окисления различных классов ксенобиотиков прооксидантного действия, преобразуя их в молекулы, которые легко выводятся из организма. Было показано, что *FMO3* также способен окислять клеточные тиолы, такие, как цистеамин и цистеин [13]. Процесс оксигенации цистеамина в цистамин, катализируемый *FMO3*, и транспорт их из клетки можно рассматривать как механизм детоксикации. Однако, благодаря этому механизму, *FMO3* косвенно может контролировать уровень H_2O_2 в клетке и экспрессию генов, регулируемых уровнем H_2O_2 и общим уровнем редокс-потенциала клетки [14]. Таким образом, катализируемая *FMO3* биоактивация молекул и превращение их в химически активные метаболиты может рассматриваться как прооксидантный эффект данно-

Таблица 3

Влияние исследованных полиморфных вариантов генов на клинические проявления КЦВЗ

Ген/SNP	Модель/генотипы	Mean±StD ¹	_{adj} Difference (95%CI) ²	_{adj} p ³
Установленные ассоциации rs2266782 <i>FMO3</i> с возрастом манифестации МИ				
<i>FMO3</i> (rs2266782)	D	G/G	62,46 (0,58)	0
		G/A-A/A	60,15 (0,82)	
Установленные ассоциации rs7493 <i>PON2</i> с протромбиновым временем				
<i>PON2</i> (rs7493)	A	G/G	11,97 (0,16)	-0,35 (-0,62 – -0,08)
		G/C	11,59 (0,14)	
		C/C	11,24 (0,24)	

Примечание: все расчеты выполнены с поправкой на пол, возраст, курение (adj);

Для каждого полиморфизма представлены наиболее значимые модели ассоциаций, выбранные по наименьшим значениям AIC (критерия Акаике);

D – доминантная регрессионная модель; A – лог-аддитивная регрессионная модель;

¹ – Mean±StD – показатель среднего значения и стандартного отклонения; для возраста манифестации – гг., для протромбинового времени – сек.

² – разница средних значений (измеряет абсолютную разницу между средним значением в двух группах) и 95%-ный доверительный интервал;

³ – p – уровень значимости.

Cis-mQTL/cis-hQTL, ассоциированные с носительством вариантных аллелей rs1695 *GSTP1* и rs2266782 *FMO3*

№	CpG-сайт (геномный регион)	Размер эффекта (beta)	p-уровень значимости	Ткань
Ассоциация cis-mQTL с повышением метилирования CpG-сайтов у носителей аллеля G rs1695 <i>GSTP1</i>				
1.	cg17066594 (chr11:67764654)	0,043	0,040	кровь
2.	cg09545730 (chr11:67071885)	0,026	0,019	кровь
3.	cg10552496 (chr11:67353032)	0,02	0,008	кровь
4.	cg08248461 (chr11:67407202)	0,032	0,0002	кровь
5.	cg25475591 (chr11:67407224)	0,09	$8,88 \times 10^{-8}$	кровь
6.	cg04669077 (chr11:67276295)	0,025	0,023	кровь
7.	cg13708910 (chr11:67183498)	0,029	0,0004	кровь
8.	cg17661940 (chr11:67168617)	0,027	0,024	кровь
9.	cg01376079 (chr11:67070233)	0,039	0,01	кровь
10.	cg09038676 (chr11:67351608)	0,065	$9,26 \times 10^{-8}$	кровь
11.	cg06928838 (chr11:67351490)	0,03	0,01	кровь
12.	cg11566244 (chr11:67351786)	0,155	$8,91 \times 10^{-18}$	кровь
13.	cg20122470 (chr11:67183083)	0,046	0,003	кровь
14.	cg04477681 (chr11:67224103)	0,018	0,022	кровь
15.	cg20266711 (chr11:67261661)	0,022	0,027	кровь
16.	cg21660623 (chr11:67373625)	0,075	$7,9 \times 10^{-8}$	кровь
17.	cg26754560 (chr11:67379955)	0,019	0,016	кровь
18.	cg26422060 (chr11:67407029)	0,02	0,016	кровь
19.	cg15214183 (chr11:67232269)	0,035	0,011	кровь
20.	cg19500979 (chr11:67287273)	0,042	0,009	кровь
21.	cg18407189 (chr11:67810421)	0,02	0,021	кровь
22.	cg09038676 (chr11:67595032)	0,009372	$3,9 \times 10^{-17}$	головной мозг
23.	cg11566244 (chr11:67595210)	0,014162	$1,39 \times 10^{-10}$	головной мозг
24.	cg22224704 (chr11:67595465)	0,011803	$1,7 \times 10^{-9}$	головной мозг
25.	cg10552496 (chr11:67596456)	0,007491	0,0001	головной мозг
26.	cg21734168 (chr11:67597398)	0,00463	$2,43 \times 10^{-6}$	головной мозг
Ассоциация cis-mQTL со снижением метилирования CpG-сайтов у носителей аллеля A rs2266782 <i>FMO3</i>				
1.	cg05376227 (chr1:171111193)	-0,093	0,000005	кровь
2.	cg23080769 (chr1:171217189)	-0,045	0,009	кровь
3.	cg13963738 (chr1:171220819)	-0,029	0,050	кровь
4.	cg20826576 (chr1:170636223)	-0,036	0,033	кровь
5.	cg16599143 (chr1:171058672)	-0,036	0,004	кровь
Ассоциация cis-hQTL с модификациями гистонов у носителей аллеля G rs1695 <i>GSTP1</i>				
1.	H3K27ac (chr11:67371742-67386244)	-0,02797	0,056	Кровь; моноциты CD14+
2.	H3K27ac (chr11:67349522-67357698)	-0,09251	0,001	Кровь; нейтрофилы CD16+
3.	H3K27ac (chr11:67371742-67386244)	-0,01957	0,059	Кровь; Т-клетки CD4+
4.	H3K27ac (chr11:67349522-67357698)	-0,06384	$7,93 \times 10^{-5}$	Кровь; Т-клетки CD4+

Примечание: результаты представлены ресурсом QTLbase (<http://mulinlab.org/qtlbase>).

го фермента. Необходимо также отметить, что *FMO3* осуществляет окисление триметиламина (вырабатывается кишечной микробиотой из пищевых триметиламинсодержащих соединений, включая фосфатидилхолин, холин и карнитин) в триметиламин-N-оксид (ТМАО) [15]. Было показано, что метаболический путь ТМАО усиливает накопление холестерина в макрофагах и гиперреактивность тромбоцитов, которые способствуют развитию атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний, что было показано на животных моделях [16, 17]. Более того, ТМАО является конкурентным ингибитором эндотелиальной синтазы оксида азота, что может указывать на его причастность к развитию эндотелиальной дисфункции.

В настоящее время в гене *FMO3* обнаружено 15 однонуклеотидных полиморфизмов, большинство из которых не влияет на функциональную активность фермента. Известно, что нуклеотидная замена 472G>A (rs2266782) сопровождается аминокислотной заменой глутаминовой кислоты на лизин в 158-м положении белка (E158K) и, соответственно, может влиять на активность фермента [18]. В проведенном нами ранее исследовании было показано влияние генотипа AA на сердечно-лодыжечный сосудистый индекс (неинвазивный метод определения атеросклеротического поражения коронарных артерий) [19]. Связь данного SNP с МИ уже была обнаружена в популяции турков [20]. В европейской популяции ассоциация rs2266782 *FMO3* с МИ выявлена нами впервые. Для интерпретации функциональных эффектов rs2266782 *FMO3* мы прибегли к биоинформатическому анализу. Согласно базам данных GTEx portal и QTLdatabase, cis-eQTL, ассоциированные с альтернативным аллелем А, связаны с повышением экспрессии гена в артериях ($p=0,00013$), в головном мозге ($p=3,62 \times 10^{-7}$). Анализ mQTL выявил cis-mQTL, ассоциированные со снижением метилирования CpG-сайтов в гене *FMO3* в периферической крови у носителей рискового аллеля А (табл. 4). Согласно ресурсу mQTLdatabase (<http://www.mqtl.org/>), на котором представлены данные о влиянии cis-mQTL на экспрессию генов в различные возрастные периоды, носительство аллеля А (рискового относительно развития инсульта) создает участки связывания для cis-mQTL, ассоциированных со снижением метилирования CpG-островка cg05376227 во всех возрастных периодах, в т.ч. в среднем возрасте ($\beta=-0,32350$; $p=5,61 \times 10^{-18}$) и, следовательно, данный аллель может быть связан с повышением экспрессии *FMO3*. Примечательно, что аллель А также создает участки связывания с cis-hQTL (локусами количественных признаков модификации гистонов), которые приводят к снижению монометилирования

лизина 4 гистона H3 (H3K4me1). Учитывая, что последний поддерживает открытое состояние хроматина, можно сделать вывод о том, что аллель А также может быть связан с повышением экспрессии *FMO3* посредством ассоциации с cis-hQTL.

SNP rs7493 *PON2* в нашем исследовании был связан с повышенным риском развития всех коморбидных кардио- и цереброваскулярных фенотипов (АГ+ИБС, АГ+МИ, АГ+ИБС+МИ), а также влиял на показатель протромбинового времени. Учитывая потенциально высокую патогенетическую значимость однонуклеотидной замены rs7493 *PON2*, данный SNP достаточно широко исследован на предмет ассоциаций с ишемическими поражениями сердца и мозга. В проведенном в 2016 г. метаанализе, включающем в общей сложности 5278 участников из разных популяций (азиаты, европейцы, и латиноамериканцы) ассоциации с ИБС обнаружено не было. Однако при анализе подгрупп по этнической принадлежности было обнаружено, что rs7493 *PON2* был связан с повышенным риском ИБС у европейцев и не был связан с заболеванием в азиатских или латиноамериканских популяциях [21]. Исследований связи данного полиморфизма с развитием ИБС у славян не проводилось. Проведенные в мире генетико-эпидемиологические исследования ассоциации rs7493 *PON2* с развитием МИ единичны. Так, ассоциация rs7493 *PON2* с повышенным риском развития МИ была выявлена у жителей Канарских островов [22]. В то же время данный SNP не был связан с развитием МИ в китайской популяции Хань [23]. Что касается популяции Центральной России, то была выявлена связь S311C *PON2* (которая в том числе может быть обусловлена однонуклеотидной заменой rs7493), с развитием МИ только в аспекте межгенных взаимодействий с определенными генотипами *PON1* [24]. Таким образом, в нашем исследовании впервые в популяции славян выявлена ассоциация rs7493 *PON2* с повышенным риском развития МИ и ИБС.

Основная функция *PON2* – атеропротективная. Поскольку *PON2* локализован в различных субклеточных структурах цитозоля, этот фермент участвует в снижении внутриклеточного окислительного стресса. В ответ на окислительный стресс *PON2* динамически транслоцируется в плазматическую мембрану для борьбы с перекисным окислением липидов [25] и ингибирует способность окисленных ЛПНП индуцировать хемотаксис моноцитов в сосудистый эндотелий [26].

Ген *PON2* экспрессируется в различных тканях, включая мозг, печень, эндотелиальные и гладкомышечные клетки сосудов. В атеросклеротических бляшках *PON2* продолжает экспрессироваться в эндотелиальных клетках, гладкомышечных клетках сосудов

и макрофагах и имеет антиатерогенные эффекты [27]. Полиморфизм rs7493 в гене *PON2* наиболее функционально значимый и существенно влияет на процессы перекисного окисления липидов. Установлено, что аллель С ассоциирован со снижением активности фермента и увеличением концентрации окислен-

ных ЛПНП [28]. Проведенный биоинформатический анализ rs7493 *PON2* выявил, что cis-eQTL, ассоциированные с рисковым аллелем С, связаны со снижением экспрессии *PON2* в аорте (p=0,000017), левой большеберцовой артерии (p=0,00001), в левом желудочке сердца (p=0,00010), цельной крови (p=0,00084), моно-

Таблица 5

Анализ влияния rs7493 *PON2* на связывание ДНК с факторами транскрипции

Ref/SNP аллель ¹	ТФ ²	GAIN/LOSS ³	Motif ⁴	p-Value SNP impact ⁵	p-Value Ref ⁶	p-Value SNP ⁷
G/C	TBX5	GAIN	TBX5_4	0,003	1,0	0,028
G/C	HIF1A::ARNT	GAIN	HIF1A::ARNT_1	0,009	0,397	0,014
G/C	TBX1	GAIN	TBX1_1	0,005	0,051	0,004
G/C	SOX	GAIN	SOX_1	0,007	0,14	0,009
G/C	HLTF	GAIN	HLTF_1	0,007	0,629	0,042
G/C	EGR1	GAIN	EGR1_2	0,01	0,454	0,04
G/C	GTF2A	GAIN	GTF2A_1	0,003	0,062	0,005
G/C	TBX2	GAIN	TBX2_2	0,007	0,143	0,007
G/C	RBPJ	GAIN	RBPJ_2	0,005	0,324	0,017
G/C	IKZF1	LOSS	IKZF1_2	0,007	0,01	0,23
G/C	GATA5	LOSS	GATA5_2	0,005	0,009	0,49
G/C	TAL1	LOSS	TAL1_disc1	0,008	0,018	0,273
G/C	GATA	LOSS	GATA_2	0,002	0,003	0,461
G/C	STAT	LOSS	STAT_2	0,002	0,014	0,326
G/C	PBX	LOSS	PBX_1	<0,0001	<0,0001	0,088
G/C	GATA	LOSS	GATA_3	0,003	0,015	0,422
G/C	GATA	LOSS	GATA_1	0,005	0,024	0,516
G/C	GATA3	LOSS	GATA3_5	0,003	0,012	0,719
G/C	Gata1	LOSS	MA0035,3	0,002	0,004	0,096
G/C	GATA2	LOSS	MA0036,2	0,009	0,004	0,08
G/C	GATA3	LOSS	GATA3_2	0,004	0,001	0,116
G/C	STAT	LOSS	STAT_1	0,008	0,028	0,216
G/C	GATA4	LOSS	GATA4_2	0,008	0,009	0,468
G ⁸	регуляция пролиферации клеток сердечной мышцы (P ^{FDR} =0,0002) регуляция роста сердечной мышечной ткани (P ^{FDR} =0,0005)					
C ⁹	коагуляция крови (P ^{FDR} =0,0002) негативная регуляция апоптотического процесса эндотелиальных клеток (P ^{FDR} =0,02)					

¹ – референсный (Ref) / альтернативный (SNP) аллель;

² – ТФ – транскрипционный фактор;

³ – связывание ТФ с референсным (GAIN) / альтернативным (LOSS) аллелем;

⁴ – сайты связывания, имеющие высокое сходство с ТФ;

⁵ – значение р, статистически подтверждающее потенциальное усиление или потерю функции геномной области с SNP с точки зрения связывания ТФ;

⁶ – р-значение для оценки связывания ТФ с Ref аллелем;

⁷ – р-значение для оценки связывания ТФ с SNP аллелем;

⁸ – биологические процессы, в которые совместно вовлечены ТФ, связывающиеся с референсным аллелем G (данные ресурса *Gene Ontology*; <http://geneontology.org/>);

⁹ – биологические процессы, в которые совместно вовлечены ТФ, связывающиеся с альтернативным аллелем С (данные ресурса *Gene Ontology*; <http://geneontology.org/>)

цитах CD14+ ($p=0,00002$) (<https://gtexportal.org/home/>). Таким образом, обнаруженная нами связь rs7493 *PON2* с повышенным риском развития различных кардио- и цереброваскулярных фенотипов, ассоциированных с ишемическим поражением сердца и мозга, в первую очередь может быть объяснена нарушениями атеропротективных свойств *PON2*, связанных с регуляцией перекисного окисления липидов при носительстве функционально неполноценного аллеля С.

Обнаруженная ассоциация rs7493 *PON2* с показателем протромбинового времени — укорочение протромбинового времени у гомозигот СС по сравнению с гомозиготами GG — может свидетельствовать о вовлеченности данного полиморфного варианта гена в формирование предрасположенности к тромбозу (одному из главных факторов риска развития ИБС и МИ). Протромбиновое время определяется для оценки внешнего пути свертывания крови и используется при оценке системы гемостаза в целом (позволяет оценить активность факторов свертывания I, II, V, VII и X). В мире проведено достаточно много исследований по анализу влияния гена *PON2* на показатели, характеризующие систему гемостаза. В недавнем исследовании Maskman N. и соавт. пришли к выводу, что активность тканевого фактора (TF, F3) эндотелиальных клеток индуцирует протромботическое состояние у мышей, у которых отсутствует параксоназа-2 (*PON2*) [29]. Из-за мощной прокоагулянтной активности экспрессия и активность *F3* жестко регулируется для поддержания гемостаза. *F3* конститутивно экспрессируется периваскулярными клетками, в частности, гладкомышечными клетками сосудов. Ebert J. и соавт. показали, что у *PON2*^{-/-} мышей повышены плазменные уровни фактора VIII (FVIII), FIX и FXI; сокращено протромбиновое время; отмечается укорочение активированного частичного тромбопластинового времени, что представляет дополнительные доказательства вовлеченности исследованного нами SNP rs7493 *PON2* в регуляцию сосудистого гемостаза [30]. Анализ TF в программе atSNP выявил, что рискованный аллель С rs7493 *PON2* связан с транскрипционными факторами, совместно вовлеченными в гемокоагуляцию ($p^{\text{FDR}}=0,0002$), что также подтверждает прокоагулянтные эффекты данного SNP (табл. 5). При этом референсный аллель G вовлечен в регуляцию пролиферации клеток сердечной мышцы ($p^{\text{FDR}}=0,0002$) и регуляцию роста (гипертрофии) сердечной мышечной ткани ($p^{\text{FDR}}=0,0005$).

Таким образом, в проведенном исследовании впервые установлена ассоциация rs1695 *GSTP1* с повышенным риском развития АГ; впервые у русских установлена связь rs7493 *PON2* с повышенным риском разви-

тия ИБС и МИ (АГ+ИБС, АГ+МИ, АГ+ИБС+МИ) и с показателями гемокоагуляции (протромбиновое время), показана ассоциация rs2266782 *FMO3* с повышенным риском развития и возрастом манифестации МИ. Впервые установлено, что, несмотря на плейотропные сосудистые эффекты, гены редокс-гомеостаза проявляют дифференцированные эффекты в ассоциациях с различными сосудистыми фенотипами. Так, *GSTP1* связан исключительно с развитием АГ, rs2266782 *FMO3* вовлечен преимущественно в цереброваскулярную патологию (АГ+МИ, АГ+МИ+ИБС), а rs7493 *PON2* обладает выраженными патологическими эффектами на ишемические поражения и сердца, и мозга атеросклеротического генеза (АГ+ИБС, АГ+МИ, АГ+ИБС+МИ). При этом изолированная ИБС не была связана ни с одним из исследованных SNP, что свидетельствует о том, что нарушения редокс-гомеостаза, возможно, играют меньшую патогенетическую роль в развитии данного фенотипа.

Полученные результаты открывают перспективы для дальнейшего изучения молекулярно-генетических аспектов вовлеченности генов редокс-гомеостаза в развитие сердечно-сосудистой коморбидности.

Благодарности. Автор выражает благодарности заслуженному деятелю науки РФ, д.м.н., профессору кафедры биологии, медицинской генетики и экологии Курского государственного медицинского университета Иванову В.П., а также д.м.н., профессору кафедры биологии, медицинской генетики и экологии, директору НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии Курского государственного медицинского университета Полонику А.В. за консультирование на различных этапах выполнения исследования.

Литература

1. Vetrano D.L., Foebel A.D., Marengoni A et al. Chronic diseases and geriatric syndromes: The different weight of comorbidity. *Eur J Intern Med.* 2016; 27: 62-67. doi: 10.1016/j.ejim.2015.10.025.
2. Оганов Р.Г., Масленникова Г.Я. Демографические тенденции в Российской Федерации: вклад болезней системы кровообращения. *Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний.* 2013; 1(1): 3-10.
3. Pignatelli P., Menichelli D., Pastori D., Violi F. Oxidative stress and cardiovascular disease: new insights. *Kardiologia Pol.* 2018; 76(4): 713-722. doi: 10.5603/KP.a2018.0071.
4. Puzyrev V.P., Freidin M.B. Genetic view on the phenomenon of combined diseases in man. *Acta Naturae.* 2009; 1(3): 52-57.
5. Бушуева О.Ю., Долженкова Е.М., Барышев А.С. и др. Исследование взаимосвязи полиморфизма С667Т гена MTHFR с риском развития ишемической болезни сердца у русских жителей Центральной России. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».* 2015; (4): 76-80. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25380164> (дата обращения: 10.07.2020).

6. Бушуева О.Ю., Иванов В.П., Рыжаева В.Н. и др. Ассоциация полиморфизма -844G>A гена каталазы с повышенным риском развития артериальной гипертензии у курильщиков. *Терапевтический архив*. 2016; 88(9): 50-54. doi:10.17116/terarkh201688950-54.
7. Стецкая Т.А., Полоников А.В., Солдатов В.О. и др. Полиморфизм +1675G>A гена AGTR2 ассоциирован с развитием ишемического инсульта. *Медицинская генетика*. 2017; 16(3): 33-36. *Режим доступа*: <https://www.medgen-journal.ru/jour/article/view/248/196> (дата обращения: 10.07.2020).
8. Пономаренко И.В. Отбор полиморфных локусов для анализа ассоциаций при генетико-эпидемиологических исследованиях. *Научный результат. Медицина и фармация*. 2018; 4(2): 40-54. doi:10.18413/2313-8955-2018-4-2-0-5.
9. Polimanti R., Carboni C., Baesso I. et al. Genetic variability of glutathione S-transferase enzymes in human populations: functional inter-ethnic differences in detoxification systems. *Gene*. 2013; 512(1):102-107. doi:10.1016/j.gene.2012.09.113.
10. Eslami S., Sahebkar A. Glutathione-S-transferase M1 and T1 null genotypes are associated with hypertension risk: a systematic review and meta-analysis of 12 studies. *Curr Hypertens Rep*. 2014; 16(6): 432. doi:10.1007/s11906-014-0432-1.
11. Hausman-Cohen S.R., Hausman-Cohen L.J., Williams G.E., Bilich C.E. Genomics of detoxification: how genomics can be used for targeting potential intervention and prevention strategies including nutrition for environmentally acquired illness. *J Am Coll Nutr*. 2020; 39(2): 94-102. doi:10.1080/07315724.2020.1713654.
12. Simeunovic D., Odanovic N., Pljesa-Ercegovac M. et al. Glutathione Transferase P1 Polymorphism Might Be a Risk Determinant in Heart Failure. *Dis Markers*. 2019; 2019: 6984845. doi: 10.1155/2019/6984845.
13. Rossner R., Kaeberlein M., Leiser S.F. Flavin-containing monooxygenases in aging and disease: emerging roles for ancient enzymes. *J Biol Chem*. 2017; 292(27): 11138-11146. doi: 10.1074/jbc.R117.779678.
14. Khomenko T., Deng X., Sandor Z. et al. Cysteamine alters redox state, HIF-1alpha transcriptional interactions and reduces duodenal mucosal oxygenation: novel insight into the mechanisms of duodenal ulceration. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004; 317(1): 121-127. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.03.017.
15. Senthong V., Li X.S., Hudc T. et al. Plasma Trimethylamine N-Oxide, a Gut Microbe-Generated Phosphatidylcholine Metabolite, Is Associated With Atherosclerotic Burden. *J Am Coll Cardiol*. 2016; 67(22): 2620-2628. doi: 10.1016/j.jacc.2016.03.546.
16. Zhu W., Gregory J.C., Org E. et al. Gut Microbial Metabolite TMAO Enhances Platelet Hyperreactivity and Thrombosis Risk. *Cell*. 2016; 165(1): 111-124. doi: 10.1016/j.cell.2016.02.011.
17. Bennett B.J., de Aguiar Vallim T.Q., Wang Z. et al. Trimethylamine-N-oxide, a metabolite associated with atherosclerosis, exhibits complex genetic and dietary regulation. *Cell Metab*. 2013; 17(1): 49-60. doi: 10.1016/j.cmet.2012.12.011.
18. Cashman J.R., Zhang J. Human flavin-containing monooxygenases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2006; 46: 65-100. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.46.120604.141043.
19. Sorokin A.V., Kotani K., Bushueva O.Y., Polonikov A.V. Antioxidant-related gene polymorphisms associated with the cardio-ankle vascular index in young Russians. *Cardiol Young*. 2016; 26(4): 677-682. doi: 10.1017/S104795111500102X.
20. Türkanoglu Özçelik A., Can Demirdöğen B., Demirkaya S., Adalı O. Flavin containing monooxygenase 3 genetic polymorphisms Glu-158Lys and Glu308Gly and their relation to ischemic stroke. *Gene*. 2013; 521(1): 116-121. doi: 10.1016/j.gene.2013.03.010.
21. Chen M.L., Zhao H., Liao N., Xie Z.F. Association Between Paraonase 2 Ser311Cys Polymorphism and Coronary Heart Disease Risk: A Meta-Analysis. *Med Sci Monit*. 2016; 22: 3196-3201. doi: 10.12659/msm.896601.
22. Rodríguez-Esparragón F., López-Fernández J.C., Buset-Ríos N. et al. Paraonase 1 and 2 gene variants and the ischemic stroke risk in Gran Canaria population: an association study and meta-analysis. *Int J Neurosci*. 2017; 127(3): 191-198. doi: 10.3109/00207454.2016.1165675.
23. Zhang G., Li W., Li Z. et al. Association between paraonase gene and stroke in the Han Chinese population. *BMC Med Genet*. 2013; 14: 16. doi: 10.1186/1471-2350-14-16.
24. Авдоница М.А., Наседкина Т.В., Иконникова А.Ю. и др. Исследование ассоциаций полиморфных маркеров генов F12, PON1, PON2, NOS2, PDE4D, HIF1a, GRI1a, CYP11B2 с ишемическим инсультом среди русского населения Центральной России. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2012; 112(2): 51-54.
25. Haggmann H., Kuczkowski A., Ruehl M. et al. Breaking the chain at the membrane: paraonase 2 counteracts lipid peroxidation at the plasma membrane. *FASEB J*. 2014; 28(4): 1769-1779. doi: 10.1096/fj.13-240309.
26. Cozzi L., Campolo J., Parolini M. et al. Paraonase 1 L55M, Q192R and paraonase 2 S311C alleles in atherothrombosis. *Mol Cell Biochem*. 2013; 374(1-2): 233-238. doi: 10.1007/s11010-012-1525-2.
27. She Z.G., Chen H.Z., Yan Y. et al. The human paraonase gene cluster as a target in the treatment of atherosclerosis. *Antioxid Redox Signal*. 2012; 16(6): 597-632. doi: 10.1089/ars.2010.3774.
28. Martinelli N., Girelli D., Olivieri O. et al. Interaction between smoking and PON2 Ser311Cys polymorphism as a determinant of the risk of myocardial infarction. *Eur J Clin Invest*. 2004; 34(1): 14-20. doi: 10.1111/j.1365-2362.2004.01292.x.
29. Mackman N., Antoniak S. Tissue factor and oxidative stress. *Blood*. 2018; 131(19): 2094-2095. doi: 10.1182/blood-2018-02-833673.
30. Ebert J., Wilgenbus P., Horke S. Paraonase-2 Regulates Blood Coagulation through Endothelial Redox-Signaling and Inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2015; 35(suppl 1): A187-A187.

References

1. Vetrano D.L., Foebel A.D., Marengoni A. et al. Chronic diseases and geriatric syndromes: The different weight of comorbidity. *Eur J Intern Med*. 2016; 27: 62-67. doi: 10.1016/j.ejim.2015.10.025.
2. Oganov R.G., Maslennikova G.Ya. Demograficheskiye tendentsii v Rossiyskoy Federatsii: vklad boleznnyy sistemy krovoobrashcheniya [Demographic trends in the Russian federation: the impact of cardiovascular disease]. *Mezhdunarodnyy zhurnal serdtsa i sosudistykh zabolevaniy [International Heart and Vascular Disease Journal]*. 2013; 1(1): 1-9. (In Russ.)
3. Pignatelli P., Menichelli D., Pastori D., Violi F. Oxidative stress and cardiovascular disease: new insights. *Kardiolog Pol*. 2018; 76(4): 713-722. doi: 10.5603/KP.a2018.0071.
4. Puzryev V.P., Freidin M.B. Genetic view on the phenomenon of combined diseases in man. *Acta Naturae*. 2009; 1(3): 52-57.
5. Bushueva O.Yu., Dolzhenkova E.M., Baryshev A.S. et al. Issledovaniye vzaimosvyazi polimorfizma C667T gena MTHFR c riskom razvitiya ishemiicheskoy boleznny serdtsa u russkikh zhitel'ey Tsentral'noy Rossii [The relationship between polymorphism C667T of the MTHFR gene and ischemic heart disease risk in russian population of Central Russia]. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik "Chelovek i ego zdorov'ye" [Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"]*. 2015; (4): 76-80. Available at: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25380164> Accessed: 10.07.2020. (In Russ.)
6. Bushueva O.Yu., Ivanov V.P., Ryzhaeva V.N. et al. Assotsiatsiya polimorfizma -844G>A gena katalazy s povyshennym riskom razvitiya arterial'noy gipertonii u kuril'shchikov [Association of the -844G>A polymorphism in the catalase gene with the increased risk of essential hypertension in smokers]. *Terapevticheskiy arkhiv [Therapeutic Archive]*. 2016; 88(9): 50-54. doi: 10.17116/terarkh201688950-54. (In Russ.)

7. Stetskaya T.A., Polonikov A.V., Soldatov V.O. et al. Polimorfizm +1675G>A gena AGTR2 assotsirovan s razvitiem ishemicheskogo insul'ta [Polymorphism +1675G>A in gene encoding *AGTR2* is associated with the development of ischemic stroke]. *Meditsinskaya genetika [Medical Genetics]*. 2017; 16(3): 33-36.
8. Ponomarenko I.V. Otor polimorfnykh lokusov dlya analiza assotsiatsiy pri genetiko-epidemiologicheskikh issledovaniyakh [Selection of polymorphic loci for association analysis in genetic-epidemiological studies]. *Nauchnyy rezul'tat. Meditsina i farmatsiya [Research Result. Medicine and Pharmacy]*. 2018; 4(2): 40-54. doi: 10.18413/2313-8955-2018-4-2-0-5. (In Russ.).
9. Polimanti R., Carboni C., Baesso I. et al. Genetic variability of glutathione S-transferase enzymes in human populations: functional inter-ethnic differences in detoxification systems. *Gene*. 2013; 512(1):102-107. doi:10.1016/j.gene.2012.09.113.
10. Eslami S., Sahebkar A. Glutathione-S-transferase M1 and T1 null genotypes are associated with hypertension risk: a systematic review and meta-analysis of 12 studies. *Curr Hypertens Rep*. 2014; 16(6): 432. doi:10.1007/s11906-014-0432-1.
11. Hausman-Cohen S.R., Hausman-Cohen L.J., Williams G.E., Bilich C.E. Genomics of detoxification: how genomics can be used for targeting potential intervention and prevention strategies including nutrition for environmentally acquired illness. *J Am Coll Nutr*. 2020; 39(2): 94-102. doi:10.1080/07315724.2020.1713654.
12. Simeunovic D., Odanovic N., Pljesa-Ercegovac M. et al. Glutathione Transferase P1 Polymorphism Might Be a Risk Determinant in Heart Failure. *Dis Markers*. 2019; 2019: 6984845. doi: 10.1155/2019/6984845.
13. Rossner R., Kaerberlein M., Leiser S.F. Flavin-containing monooxygenases in aging and disease: emerging roles for ancient enzymes. *J Biol Chem*. 2017; 292(27): 11138-11146. doi: 10.1074/jbc.R117.779678.
14. Khomenko T., Deng X., Sandor Z. et al. Cysteamine alters redox state, HIF-1alpha transcriptional interactions and reduces duodenal mucosal oxygenation: novel insight into the mechanisms of duodenal ulceration. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004; 317(1): 121-127. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.03.017.
15. Senthong V., Li X.S., Hudec T. et al. Plasma Trimethylamine N-Oxide, a Gut Microbe-Generated Phosphatidylcholine Metabolite, Is Associated With Atherosclerotic Burden. *J Am Coll Cardiol*. 2016; 67(22): 2620-2628. doi: 10.1016/j.jacc.2016.03.546.
16. Zhu W., Gregory J.C., Org E. et al. Gut Microbial Metabolite TMAO Enhances Platelet Hyperreactivity and Thrombosis Risk. *Cell*. 2016; 165(1): 111-124. doi: 10.1016/j.cell.2016.02.011.
17. Bennett B.J., de Aguiar Vallim T.Q., Wang Z. et al. Trimethylamine-N-oxide, a metabolite associated with atherosclerosis, exhibits complex genetic and dietary regulation. *Cell Metab*. 2013; 17(1): 49-60. doi: 10.1016/j.cmet.2012.12.011.
18. Cashman J.R., Zhang J. Human flavin-containing monooxygenases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2006; 46: 65-100. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.46.120604.141043.
19. Sorokin A.V., Kotani K., Bushueva O.Y., Polonikov A.V. Antioxidant-related gene polymorphisms associated with the cardio-ankle vascular index in young Russians. *Cardiol Young*. 2016; 26(4): 677-682. doi: 10.1017/S104795111500102X.
20. Türkanoglu Özçelik A., Can Demirdöğen B., Demirkaya S., Adalı O. Flavin containing monooxygenase 3 genetic polymorphisms Glu158Lys and Glu308Gly and their relation to ischemic stroke. *Gene*. 2013; 521(1): 116-121. doi: 10.1016/j.gene.2013.03.010.
21. Chen M.L., Zhao H., Liao N., Xie Z.F. Association Between Paraoxonase 2 Ser311Cys Polymorphism and Coronary Heart Disease Risk: A Meta-Analysis. *Med Sci Monit*. 2016; 22: 3196-3201. doi: 10.12659/msm.896601.
22. Rodríguez-Esparragón F., López-Fernández J.C., Buset-Ríos N. et al. Paraoxonase 1 and 2 gene variants and the ischemic stroke risk in Gran Canaria population: an association study and meta-analysis. *Int J Neurosci*. 2017; 127(3): 191-198. doi: 10.3109/00207454.2016.1165675.
23. Zhang G., Li W., Li Z. et al. Association between paraoxonase gene and stroke in the Han Chinese population. *BMC Med Genet*. 2013; 14: 16. doi: 10.1186/1471-2350-14-16.
24. Avdonina M.A., Nasedkina T.V., Ikonnikova A.Yu. et al. Issledovaniye assotsiatsiy polimorfnykh markerov genov F12, PON1, PON2, NOS2, PDE4D, HIF1a, GPIIb, CYP11B2 s ishemicheskim insul'tom sredi russkogo naseleniya Tsentral'noy Rossii [Association study of polymorphic markers of F12, PON1, PON2, NOS2, PDE4D, HIF1a, GPIIb, CYP11B2 genes with ischemic stroke in Russian patients]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova [S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry]*. 2012; 112(2): 51-54. (In Russ.).
25. Haggmann H., Kuczkowski A., Ruehl M. et al. Breaking the chain at the membrane: paraoxonase 2 counteracts lipid peroxidation at the plasma membrane. *FASEB J*. 2014; 28(4): 1769-1779. doi: 10.1096/fj.13-240309.
26. Cozzi L., Campolo J., Parolini M. et al. Paraoxonase 1 L55M, Q192R and paraoxonase 2 S311C alleles in atherothrombosis. *Mol Cell Biochem*. 2013; 374(1-2): 233-238. doi: 10.1007/s11010-012-1525-2.
27. She Z.G., Chen H.Z., Yan Y. et al. The human paraoxonase gene cluster as a target in the treatment of atherosclerosis. *Antioxid Redox Signal*. 2012; 16(6): 597-632. doi: 10.1089/ars.2010.3774.
28. Martinelli N., Girelli D., Olivieri O. et al. Interaction between smoking and PON2 Ser311Cys polymorphism as a determinant of the risk of myocardial infarction. *Eur J Clin Invest*. 2004; 34(1): 14-20. doi: 10.1111/j.1365-2362.2004.01292.x.
29. Mackman N., Antoniak S. Tissue factor and oxidative stress. *Blood*. 2018; 131(19): 2094-2095. doi: 10.1182/blood-2018-02-833673.
30. Ebert J., Wilgenbus P., Horke S. Paraoxonase-2 Regulates Blood Coagulation through Endothelial Redox-Signaling and Inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2015; 35(suppl 1): A187-A187.