

Изучение полиморфизма генов человека, ортологи которых функционально задействованы в реакцию на экспериментальную ишемию мозга в модельных системах

Хрунин А.В.¹, Хворых Г.В.¹, Гнатко Е.Д.^{1,2}, Филиппенков И.Б.¹, Ставчанский В.В.¹, Дергунова Л.В.¹, Лимборская С.А.¹

1 — ФГБУН Институт молекулярной генетики Российской академии наук
123182, г. Москва, пл. Курчатова, 2

2 — ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации
119992, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

В условиях модели экспериментальной ишемии мозга крыс, вызванной обратимой окклюзией правой средней мозговой артерии, с использованием методов RNA-Seq и ПЦР в реальном времени были выявлены гены, значительно меняющие свою активность в мозге крыс. Для 38 наиболее активных генов были определены гены-ортологи у человека. С использованием баз данных проекта 1000 геномов (популяция CEU) был изучен полиморфизм каждого из генов и отобраны локусы, которые демонстрировали максимальное число ассоциаций с другими полиморфизмами (tagSNPs). На первом этапе был исследован полиморфизм генов *DRD2*, *CCL23*, *SOCS3*, *HSPB1* и *CHRM4*, в каждом из которых были идентифицированы от одного до трех tagSNPs. С использованием метода ПЦР в режиме реального времени (TaqMan) аллельные варианты отобранных локусов были генотипированы в выборке больных ишемическим инсультом (100 чел.) и контрольной группе (100 чел.). Частоты встречаемости генотипов исследованных полиморфизмов в контрольной группе, в большинстве случаев, оказались близкими таковым в группе больных с ишемическим инсультом. Наиболее существенные различия в распределении генотипов между выборками ($p = 0,088$) были продемонстрированы для локуса rs8069976 из региона локализации гена *SOCS3*. Для уточнения направленности выявленных различий планируется их проверка на выборках больных и контроля больших размеров.

Ключевые слова: ишемический инсульт, полиморфизм ДНК, геном человека, транскриптом крысы.

Для цитирования: Хрунин А.В., Хворых Г.В., Гнатко Е.Д., Филиппенков И.Б., Ставчанский В.В., Дергунова Л.В., Лимборская С.А. Изучение полиморфизма генов человека, ортологи которых функционально задействованы в реакцию на экспериментальную ишемию мозга в модельных системах. *Медицинская генетика* 2020; 19(5): 83-85.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.05.83-85

Автор для корреспонденции: Хрунин А.В., e-mail: khrunin@img.ras.ru

Финансирование. Работа проводилась при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-04-00397).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Study of polymorphism of human genes, orthologues of which are functionally involved in the response to experimental brain ischemia in model systems

Khrunin A.V.¹, Khvorykh G.V.¹, Gnatko E.D.^{1,2}, Filippenkov I.B.¹, Stavchansky V.V.¹, Dergunova L.V.¹, Limborska S.A.¹

1 — Institute of Molecular Genetics of the Russian Academy of Sciences
Kurchatov sq. 2, 123182 Moscow, Russia

2 — I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
Trubetskaya st. 8-2, 119991 Moscow, Russia

In a model of experimental rat brain ischemia caused by the right transient middle cerebral artery occlusion using RNA-Seq and real-time PCR, genes that significantly change their activity in the rat brain were revealed. For 38 most active rat genes their human orthologous genes were identified. Using the genotype data from the 1000 genome project (CEU population), we explored the polymorphism of each of the genes and identified the loci showed the maximum number of associations with other polymorphisms (tagSNPs). At the first stage, the polymorphisms in *DRD2*, *CCL23*, *SOCS3*, *HSPB1* and *CHRM* genes were studied. From one to three tagSNPs were selected for further analysis in each gene. Using TaqMan real-time PCR assays, allelic variants of the selected loci were genotyped in 100 patients with ischemic stroke and in 100 controls. In the most cases the frequencies of genotypes of the SNPs in the control group were similar to those in the group of patients with ischemic stroke. The most substantial differences in the distribution of genotypes between the groups ($p = 0.088$) were demonstrated for the SNP rs8069976 from the region of *SOCS3* gene. To clarify the direction of the differences revealed, their testing in the patient and control samples of larger sizes is planned.

Key words: ischemic stroke, DNA polymorphism, human genome, rat transcriptome.

For citation: Khrunin A.V., Khvorykh G.V., Gnatko E.D., Filippenkov I.B., Stavchansky V.V., Dergunova L.V., Limborska S.A. Study of polymorphism of human genes, orthologues of which are functionally involved in the response to experimental brain ischemia in model systems. *Medical genetics*. 2020; 19(5): 83-85. (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.05.83-85

Corresponding author: Khrunin A.V., e-mail: khrunin@img.ras.ru

Funding. The research was supported by grant of the Russian Foundation for Basic Research (project No 19-04-00397).

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interests.

Accepted: 20.05.2020

Острые нарушения мозгового кровообращения (инсульты) являются одной из важнейших социальных проблем, что обусловлено их высокой частотой в структуре общей заболеваемости, смертности и инвалидизации населения. Основную долю инсультов составляют случаи ишемического инсульта. Ишемический инсульт является комплексным заболеванием, развивающимся в результате взаимодействия традиционных факторов риска и генетической предрасположенности. Однако, несмотря на достигнутые к настоящему времени успехи в изучении патофизиологических механизмов инсульта, генетические детерминанты заболевания, во многом, остаются недостаточно понимаемыми [1]. Последнее обусловлено, в том числе, и методологическими сложностями с воспроизведением результатов ассоциативных исследований [2] и требует использования новых подходов к выявлению генетических факторов риска, которые могли бы быть использованы в качестве маркеров индивидуальной предрасположенности к ишемическому инсульту.

Целью настоящей работы является поиск и идентификация генетических маркеров риска и течения инсульта путем анализа полиморфизма генов, изменивших экспрессию у модельных животных (крысы) с транзиторной ишемией. Предполагается, что это позволит определить полиморфные варианты генов, реально участвующих в патофизиологии заболевания, уменьшив тем самым вероятность обнаружения ложноположительных ассоциаций.

Материалы и методы

Гены, значительно меняющие свою активность в мозге крыс и связанные с действием ишемии, были выявлены в условиях модели экспериментальной ишемии мозга крыс, вызванной обратимой окклюзией правой средней мозговой артерии с использованием методов RNA-Seq и ПЦР в реальном времени. Для наиболее активных из них были идентифицированы соответствующие им гены-ортологи у человека. С использованием баз данных генотипов проекта 1000 геномов (европейская популяция CEU) был

изучен полиморфизм каждого из генов, проанализированы паттерны неравновесия по сцеплению между находящимися внутри них полиморфными локусами и идентифицированы те из них, которые демонстрировали максимальное число ассоциаций с другими полиморфизмами (tagSNPs). Выбор тестовой популяции основывался на результатах собственных исследований полногеномного полиморфизма однонуклеотидных замен в популяциях стран Восточной и Западной Европы, продемонстрировавших ее генетическую близость к популяциям русского населения центральных регионов европейской части России [3].

Результаты

В рамках первого этапа был детально исследован полиморфизм пяти генов: *DRD2*, *CCL23*, *SOC33*, *HSPB1* и *CHRM4*, в каждом из которых для дальнейшего анализа были отобраны от одного до трех tagSNPs. С использованием метода ПЦР в режиме реального времени в технологии TaqMan аллельные варианты отобранных локусов были генотипированы в выборке больных ишемическим инсультом и контрольной группе, сформированных из индивидов, происходящих из центральных регионов Восточно-Европейской равнины и принадлежащих, главным образом, к русской этнической группе. Обе группы включали по 100 человек и были сбалансированы по возрасту и полу. Средний возраст индивидов в контрольной группе составил $60,99 \pm 5,31$ лет, возраст больных инсультом — $60,77 \pm 6,09$ лет. В каждой группе мужчины и женщины были представлены в равных пропорциях. Частоты встречаемости генотипов исследованных полиморфизмов в контрольной группе оказались близкими таковым в популяциях из европейского кластера проекта 1000 геномов. Похожими они были и в группе больных с ишемическим инсультом. Наиболее существенные различия в распределениях генотипов между выборками больных и контроля были продемонстрированы для локуса rs8069976 из региона локализации гена *SOC33* ($p = 0,088$).

Выводы

Полученные результаты позволяют предполагать потенциальную эффективность разработанного подхода для поиска и идентификации генетических маркеров риска и течения инсульта. Однако требуется как верификация направленности выявленных различий на больших по размеру выборках больных и контроля, так и изучение полиморфизма других генов человека, чьи ортологи у крыс демонстрировали значительные изменения экспрессии в модельных экспериментах.

Литература/References

1. Boehme A.K., Esenwa C., Elkind M.S.V. Stroke Risk Factors, Genetics, and Prevention. *Circ Res.* 2017; 120(3): 472–495.
2. Bush W.S., Moore J.H. Chapter 11: Genome-wide Association Studies. *PLoS Comput Biol.* 2012; 8(12): e1002822.
3. Khrunin A.V., Khokhrin D.V., Filippova I.N. et al. A genome-wide analysis of populations from European Russia reveals a new pole of genetic diversity in northern Europe. *PLoS ONE* 2013; 8(3): e58552.