

УДК 616.831-005.4: 577.175.44:616-018.1-092

**Д.А. Филимонов¹, С.К. Евтушенко¹, И.С. Луцкий¹, А.А. Федорова²,
Н.Н. Трубникова², М.А. Белоцерковская²**¹ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М.Горького», Донецк, ДНР²ГУ «Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака», Донецк, ДНР

ВЗАИМОСВЯЗЬ ГЕНЕТИЧЕСКИ ПРОГНОЗИРУЕМОГО УРОВНЯ СЕЛЕНА И РИСКА НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ИСХОДА ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

В настоящее время церебральный инсульт является одной из ведущих причин смертности и ведущей причиной инвалидизации [1]. Несмотря на определённые успехи в терапии и профилактике цереброваскулярных заболеваний, инсульт занимает второе место в мире среди болезней, приводящих к летальному исходу, а в ряде стран Европы прогнозируется и дальнейший рост летальности от инсульта [2]. В течение последних десятилетий отчетливо наблюдается увеличение количества случаев инсульта в молодом возрасте [3].

Современные подходы к ведению пациента в острейший период инсульта включают как вторичную профилактику цереброваскулярной патологии, так и попытку уменьшить выраженность неврологического дефицита путем терапевтического воздействия на ишемизированную (но потенциально жизнеспособную) ткань мозга в зоне пенумбры [4]. Именно на данном подходе и основан принцип нейропротекции, широко применяемый в неврологических клиниках [5]. Тем не менее, несмотря на многообразие нейропротекторных препаратов, различных по механизму действия, ни один из них не обладает достаточной клинической эффективностью. В связи с этим, поиск новых подходов к нейропротекции остается важнейшей задачей современной неврологии и нейрофармакологии.

В ходе обсервационных исследований неоднократно сообщалось, что некоторые микроэлементы, особенно эссенциальные микроэлементы, связаны с риском ишемического инсульта [6,7]. Селен является одним из эссенциальных микроэлементов, участвующих в физиологических процессах, включая нейрональный метаболизм, антиоксидантную защиту, иммунный ответ [8,9]. Ведущими функциями селенопротеинов, основной функциональной формы селена в нейрональных клетках, являются модуляция нейрогенеза, регуляция Ca²⁺ каналов и поддержание окислительно-восстановительного

баланса. Опубликованные исследования *in vitro* показывают, что селен стимулирует биогенез митохондрий и уменьшает объем инфаркта после фокальной ишемии головного мозга через механизм, зависящий от аутофагии [10].

Данные обсервационных исследований показали, что уровень циркулирующего селена обратно коррелирует с некоторыми сердечно-сосудистыми исходами с возможной U-образной связью, а у пациентов с ишемическим инсультом было идентифицировано влияние на функциональный исход [11]. Однако результаты клинических испытаний были противоречивыми. В частности, результаты исследований Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT) и Nutritional Prevention of Cancer Trial (NPC) не выявили положительного влияния на заболеваемость и смертность от ишемической болезни сердца и инсульта [12]. Из-за обратной причинно-следственной связи связь между уровнем селена и риском ишемического инсульта может быть недооценена. Более того, остается неясным, оказывает ли селен влияние на функциональные исходы инсульта [13]. Учитывая большое количество кофакторов, потенциально влияющих на связь селена с исходом острого ишемического инсульта, одним из методов анализа может являться менделевская рандомизация.

В последнее десятилетие наблюдается увеличение числа научных исследований с использованием менделевской рандомизации (MR) – аналитического вычислительного метода, основанного на использовании генетических вариантов как инструментальных переменных для определения того, зависит ли исход заболевания от конкретных факторов (например, способа лечения, метаболических или биохимических характеристик организма и т.д.).

В MR-исследованиях генетические варианты используют для того, чтобы обнаружить, согласуется ли наблюдаемая ассоциация между фактором риска и исходом с причинным эффектом (показателем силы взаимосвязи между генетическими вариантами и фенотипической изменчивостью). Феномен этот основан на естественном расхождении генов при мейозе, которое обеспечивает случайное распределение генетических вариантов в популяции. Одни индивидуумы от рождения наследуют генетический вариант, влияющий на фактор риска, другие – нет. Поскольку эти генетические варианты, как правило, не связаны с искажающими факторами, различия в исходе заболевания между носителями этого варианта и теми, у кого его нет, можно отнести к разнице во влиянии самого фактора риска [14].

Изначально в MR включали единственный генетический вариант и оценивали причинную связь модифицируемого промежуточного фенотипа с исходом в единственной выборке. Однако последовавшее вскоре широкое распространение в открытом доступе данных GWAS (genome-wide association studies – метод выявления генетических локусов, связанных с общими заболеваниями или признаками.) позволило нарастить мощность MR-исследований. В современных MR-исследованиях используются множественные однонуклеотидные генетические варианты (SNP), что в совокупности обладает большей статистической мощностью. При проведении MR по двум выборкам (two sample MR, 2SMR) генетические ассоциации с фенотипом и исходом берутся из отдельных выборок [15]. При условии, что образцы взяты из одной и той же основной популяции (например, в пределах одной этнической группы), достоверные причинно-следственные оценки могут быть получены, даже если сопутствующие данные о генетических вариантах, промежуточном фенотипе и исходе заболевания каждого конкретного пациента остаются недоступными. Поскольку фенотип и исход в MR по двум выборкам не нужно оценивать у одних и тех же индивидов, генетические ассоциации с фенотипом и исходом могут быть взяты из разных баз данных, что потенциально значительно увеличивает мощность по сравнению с MR по одной выборке [16]. SNP, используемые в MR, должны отвечать трем условиям:

- связь с воздействием (фактором риска);
- влияние на результат только через воздействие;
- отсутствие факторов, влияющих одновременно на SNP и результат.

Для анализа эффекта фактора риска (признак 1) на исход (признак 2) используется линейная регрессия эффектов SNP на признак 1 против эффектов SNP на признак 2. В зависимости от присутствия или отсутствия плеiotропных эффектов SNP на исследуемые признаки должна быть выбрана соответствующая регрессионная модель.

Таким образом, менделевские рандомизационные исследования могут предоставить надежные доказательства влияния факторов риска на заболевания и могут преодолеть некоторые ограничения традиционной наблюдательной эпидемиологии.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Идентифицировать возможную причинно-следственную связь между уровнем селена и функциональным исходом ишемического инсульта.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для проведения анализа использовали язык R и среду разработки RStudio. Менделевскую рандомизацию осуществляли с помощью пакета TwoSampleMR языка R.

В качестве инструментальных переменных, генетически предсказывающих уровень селена, использовались данные исследования, проведенного Cornelis et al. [17]. В данном исследовании был проведен мета-анализ концентрации селена в ногтях ног у 4162 мужчин и женщин, включенных в когорты четырех независимых популяционных исследований: Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA), Johnston County Osteoarthritis Project (JoCo), Nurses' Health Study (NHS) и Health Professionals Follow-up Study (HPFS). Несмотря на то, что содержание селена в плазме является валидированным биомаркером уровня селена в организме, концентрация селена в ногтях считается более точным маркером, отражающим долгосрочное насыщение селеном [17]. Выбранные однонуклеотидные вариации, генетически детерминирующие уровень селена, представлены в таблице 1.

Однонуклеотидные вариации, связанные с исходом ишемического инсульта, извлекали из базы данных GISCOME (Genetics of Ischaemic Stroke Functional Outcome network), содержащей данные 12 полногеномных исследований, проведенных Международным консорциумом генетики инсульта (International Stroke Genetics Consortium) и инициативой Stroke Genetics Network Национального института неврологических заболеваний (США). GISCOME включает данные о

Таблица 1.

Одиночные нуклеотидные последовательности, ассоциированные с уровнем селена

Позиция	SNP	EA	NEA	EAF	Beta	Se	P-value	Ближайшие гены
82 993022	rs17498581	T	C	0.10	0.024	0.006	9.34e-6	LPHN2, TTLL7
241 584774	rs2802728	T	C	0.90	0.026	0.006	6.28e-6	SDCCAG8
143 476161	rs352889	A	G	0.39	0.016	0.004	4.16e-6	KYNU, ARHGAP15
2841906	rs7702905	A	G	0.28	-0.017	0.004	8.09e-6	IRX2, C5orf38
78 372 981	rs248381	A	G	0.50	-0.025	0.003	3.01e-13	DMGDH, ARSB, BHMT2
78 380 732	rs17823744	A	G	0.88	-0.045	0.005	9.91e-17	DMGDH, ARSB, BHMT2
78 447 080	rs7700970	T	C	0.30	0.030	0.004	2.21e-11	BHMT, BHMT2, JMY
78 452 172	rs567754	T	C	0.33	-0.018	0.004	4.80e-6	BHMT, BHMT2, JMY↑
78 780 798	rs6859667	T	C	0.96	-0.045	0.008	1.24e-7	HOMER1, JMY
79 178 950	rs10079417	T	C	0.23	0.018	0.004	6.10e-6	CMYA5,
133 474 474	rs756699	T	C	0.86	0.022	0.005	9.61e-6	VDAC1, TCF7↑
2101183	rs17685410	A	G	0.30	0.018	0.004	1.60e-6	MYOM2↓, CSMD1, KBTBD11↓, ARHGEF10↓
102 715 194	rs313426	A	G	0.31	-0.018	0.004	2.24e-6	DYNC2H1, DCUN1D5, PDGFD
52 561 533	rs1596370	A	G	0.21	-0.021	0.004	8.34e-7	CALCOCO1, HOXC13
103 169 535	rs7975161	T	C	0.16	-0.023	0.005	1.18e-6	TXNRD1↑, NFYB
21 225 855	rs6508367	T	C	0.96	-0.040	0.009	7.50e-6	ZNF521, SS18
19 690 101	rs2163813	T	G	0.74	-0.018	0.004	4.56e-6	ZNF14, ZNF101, ATP13A1↑

Примечание: SNP – однонуклеотидный полиморфизм; EA – эффективный аллель (кодирующий аллель); NEA – неэффективный аллель (некодирующий аллель); BETA – общая расчетная величина эффекта на уровень селена для эффективного аллеля; Se – общая стандартная ошибка оценки величины эффекта; P-value – P-значения мета-анализа с использованием коэффициентов регрессии.

генотипе и исходе ишемического инсульта 8831 пациента [18].

В качестве переменной, отражающей тяжесть инсульта, в GISCOME использовали модифицированную шкалу Рэнкина (mRS). Хороший исход после инсульта по данной шкале обычно определяется как 0-2 балла, а плохой исход – как 3-6 баллов. Это позволяет использовать обычную статистику, такую как бинарная логистическая регрессия, где результаты интуитивно представлены в виде отношения шансов, представляющего риск хорошего или плохого исхода.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Связь выбранных в качестве инструментальных переменных однонуклеотидных вариаций с промежуточными фенотипами, способными повлиять на тяжесть инсульта была исследована в системе Phenoscanner v2 [19]. Включение подобных инструментов в исследование привело бы к нарушению требований к менделевской рандомизации. Однонуклеотидная вариация rs756699, расположенная на 5 хромосоме в пози-

ции 133446575, также была ассоциирована с гипотиреозом, однако, нами не были обнаружены данные о влиянии выбранных инструментов на промежуточные фенотипы, достоверно связанные с неблагоприятным исходом инсульта.

В ходе проведения менделевской рандомизации из 17 однонуклеотидных полиморфизмов, связанных с уровнем селена, доступными для анализа оказались 10, так как остальные отсутствовали в базе GISCOME (рис. 1.).

Генетически прогнозируемое повышение уровня селена было статистически значимо обратно связано с риском неблагоприятного исхода ишемического инсульта при анализе с использованием модели линейной регрессии, взвешенной по обратным дисперсиям ($p = 0.033$, $b = -1.5989257$) (табл. 2.).

Для визуализации величины эффекта, рассчитанного с применением различных методов менделевского рандомизационного анализа, была построена диаграмма рассеяния (рис. 2.). Каждый из SNP, связанных с уровнями селена представлен черной точкой с полосами погреш-

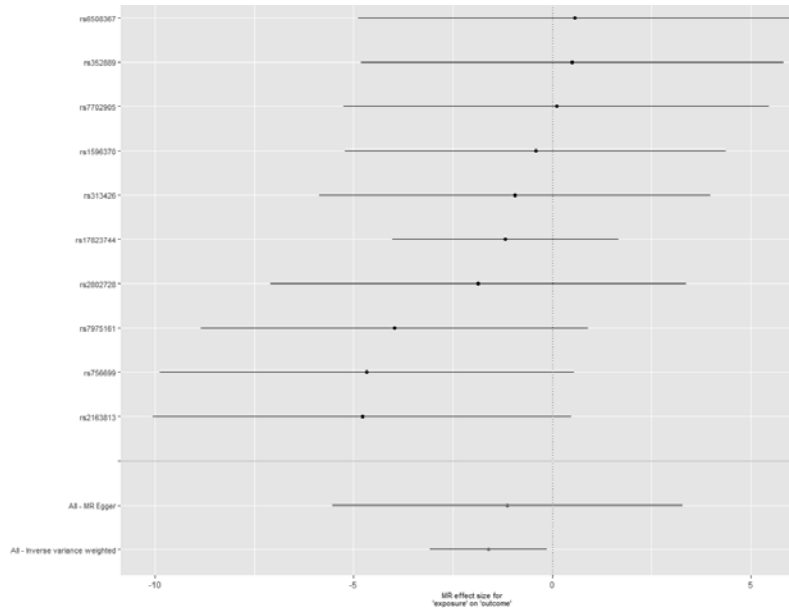


Рис. 1. Форест-график влияния на исход ишемического инсульта выбранных SNP, ассоциированных с уровнем селена.

ности, которые изображают стандартную ошибку его связи с уровнем селена (по горизонтали) и риском неблагоприятного исхода инсульта (по вертикали). Эффекты представлены в виде β . Наклон линий представляет собой причинно-следственную связь, рассчитанную с использованием различных MR методов, и обеспечивает сравнение между различными методами MR.

Был выполнен исключаящий анализ, при котором MR выполняется несколько раз, при этом по очереди из анализа исключается по одному SNP (рис. 3.). Анализ позволяет определить, является ли один из SNP движущим фактором ассоциации. В исключаящем анализе с использованием модели линейной регрессии, взвешенной по обратным дисперсиям, все оценки β были одинаковыми, что говорит в пользу того, что не один из SNP не является ведущим в возникновении наблюдаемого эффекта влияния

концентрации селена на риск неблагоприятного исхода инсульта.

Тест на подверженность выявленной взаимосвязи плеiotропии не выявил статистически значимых признаков направленной плеiotропии ($p = 0,8810933$).

Также был проведен тест на гетерогенность, который в условиях менделевской рандомизации представляет собой статистическую оценку совместимости оценок инструментальных переменных, основанных на индивидуальных генетических вариантах. Использовалась Q-статистика Кокрана. Для модели линейной регрессии, взвешенной по обратным дисперсиям, коокрановская статистика Q, равная 4,54, с соответствующим значением P, равным 0,77, не показала убедительных доказательств гетерогенности.

Таблица 2.

Менделевский рандомизационный анализ влияния концентрации селена на риск неблагоприятного исхода инсульта.

Метод	Количество SNP	b	se	pval
Эггеровская регрессия	10	-1.1236709	2.2469298	0.63047433
Взвешенная медиана	10	-1.1015003	0.9756749	0.25891369
Обратная взвешенная дисперсия	10	-1.5989257	0.7499759	0.03300935*
Простой режим	10	-0.3916476	1.5272771	0.80338039
Взвешенный режим	10	-0.7511795	1.3577126	0.59355485

Примечание: b – величина эффекта; se – общая стандартная ошибка оценки величины эффекта; pval – p-значение метаанализа с использованием коэффициентов регрессии.

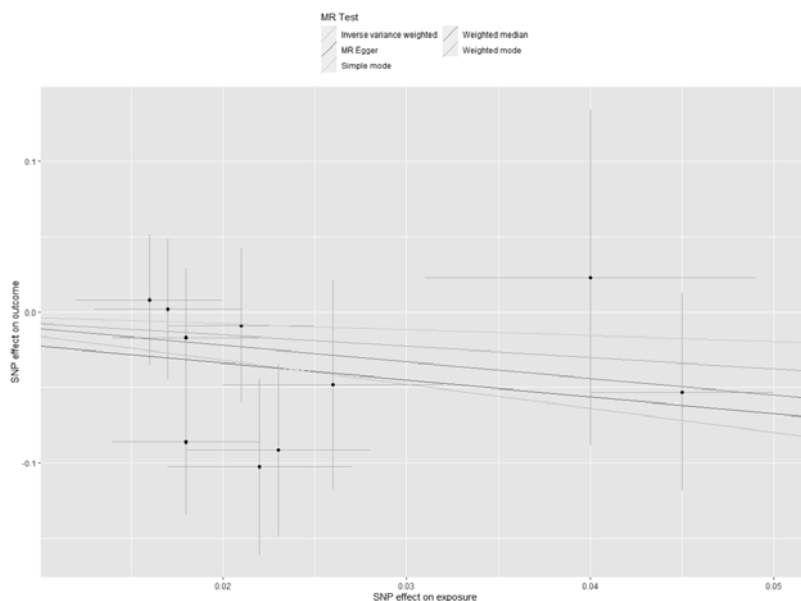


Рис. 2. Диаграмма рассеяния, показывающая взаимосвязь эффектов SNP на уровень свТ3 с эффектами SNP тяжесть инсульта.

Отношение шансов неблагоприятного исхода инсульта с каждым увеличением содержания селена на 1 мкг/г составляет 0,2 (95% ДИ 0,1-0,81).

Таким образом, результаты проведенного исследования методом менделевской рандомизации показали возможную обратную связь между уровнем селена трийодтиронина и риском неблагоприятного исхода ишемического инсульта.

Как следует из полученных нами результатов, содержание селена в организме пациента оказывает благоприятное воздействие на исход инсульта. Представляет интерес механизм, посредством которого реализуется данный эффект. В опубликованных нами ранее работах было показано, что еще одним фактором, оказывающим положительное влияние на исход инсульта, является повышенный уровень свободного трийодтиронина (fT3) в сыворотке крови пациента [20]. В то же время, высокие значения свободного тироксина (fT4), напротив, оказывали крайне негативное воздействие на исход инсульта. Это позволило нам предположить, что причина данного эффекта кроется в нарушении клеточной трансформации fT4 в fT3, которая осуществляется с помощью ферментов дейодиназ.

Дейодиназы (йодтиронин-5'-дейодиназы типа I и II) – ферменты, катализирующие удаление остатка йода в молекуле прогормона тироксина (T4), превращая ее либо в активную (T3), либо в неактивную (обратный T3, oT3) форму трийодтиронина. Дейодиназы являются селенсодержащими белками и синтезируются, наряду с еще несколькими селенопротеинами, в щито-

видной железе – органе с высоким содержанием данного микроэлемента. Клеточное поглощение различных соединений селена в организме до конца не изучено. Один из основных механизмов поглощения селена клетками включает селенопротеин P, секретируемый печенью и циркулирующий в крови, где на его долю приходится 70% содержания селена. Нокаутирование гена селенопротеина P, тем не менее, не влияет на содержание селена и функцию селенопротеинов в щитовидной железе. Таким образом, поглощение селена щитовидной железой, по-видимому, не зависит от снабжения селеном, переносимым селенопротеином P, и в большей степени зависит от локальной независимой и/или резервной системы синтеза и транспорта селенопротеинов [8]. Характеристика тканеспецифических паттернов экспрессии указывает на то, что дейодиназы осуществляют контроль над локальной и системной доступностью активного T3 [21]. Обе изоформы дейодиназы содержат в своем активном центре аминокислоту селеноцистеин, которая имеет решающее значение для их каталитической активности. Таким образом, дейодиназы представляют собой новое семейство эукариотических селенопротеинов, обладающих ферментативной функцией. Уровень селена, по-видимому, регулирует экспрессию этих изоферментов дейодиназы в различной степени, указывая на то, что для этих ферментов существует иерархия включения селена. В настоящее время считается, что дефицит селена не влияет на экспрессию 5'-дейодиназы или 5-дейодиназы (5'-DI) типа II в заметной степе-

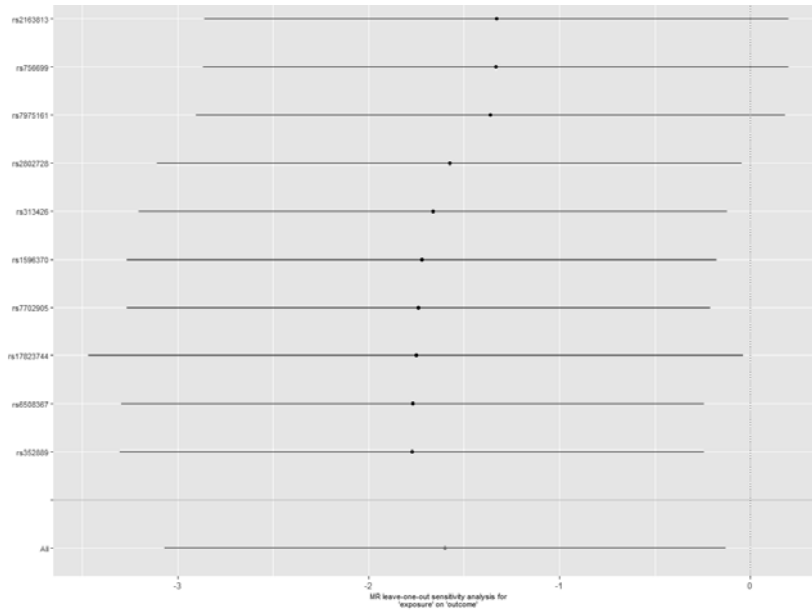


Рис. 3. Анализ чувствительности MR методом исключения (с использованием модели линейной регрессии, взвешенной по обратным дисперсиям).

ни *in vivo*, тогда как экспрессия 5'-дейодиназы типа I, по крайней мере, в печени и почках снижается при тяжелом дефиците селена. Ежедневный прием селена у относительно здоровых европейцев удовлетворяет потребность в экспрессии изоферментов дейодиназы. Однако при некоторых диетах (назначаемых, например, при фенилкетонурии или кистозном фиброзе), наблюдалось снижение экспрессии 5'-DI и продукции ТЗ, что может быть связано с нарушением транспорта ионов (йодидов или селенитов). Изменение продукции ТЗ под влиянием активности 5'-DI наблюдаются и при синдроме низкого ТЗ, который представлен широким спектром клинических расстройств. До сих пор нет четкого представления, что играет ведущую роль в лечении таких пациентов – усиление потребления селена или лечение трийодтиронином.

Выраженная тканеспецифичность экспрессии дейодиназ требует более детального изучения взаимосвязи между этими ферментами и проявлением действия гормонов щитовидной железы, которое опосредовано семейством ядерных рецепторов ТЗ или рецепторами и сигнальными молекулами в митохондриях, плазматической мембране и/или цитоскелете. Расположение ферментов дейодиназы либо на внутренней стороне плазматической мембраны, либо на цитозольной стороне эндоплазматического ретикулаума помещает эти ферменты в стратегически важное место, позволяя им действовать в качестве привратников ядерных рецепторов. Подобно другим ферментам, участвующим в активации или инактивации соедине-

ний с гормональной или сигнальной функцией, дейодиназы являются ключевыми элементами интракринной регуляции активации гормонов в тканях-мишенях или инактивации в тканях, не являющихся мишенями. Следовательно, необходим подробный молекулярный, клеточный биологический и физиологический анализ функции, регуляции и структуры генов этих ферментов, прежде чем станет возможной разработка ткане- или фермент-специфического фармакологического вмешательства в их работу [22]. Однако, не имея возможности оказывать прямое воздействие на дейодиназы, вероятно, можно оказывать опосредованное влияние на степень их активности, регулируя уровни потребления селена.

Таким образом, есть все основания рассматривать селен как один из ключевых факторов, влияющих на ряд метаболических процессов, происходящих в щитовидной железе, в частности, на активацию тиреоидных гормонов. Это, в свою очередь, является предпосылкой для назначения препаратов селена при комплексном лечении последствий ишемического инсульта препаратами тироксина с целью улучшения исхода заболевания.

Выводы

Генетически прогнозируемое повышение уровня содержания селена на 1 мкг/г (в ногтях нижних конечностей) ассоциировано со снижением риска неблагоприятного исхода на 80% (ОШ=0,2, 95% ДИ 0,1-0,81). Данная ассоциация может быть обусловлена увеличением активно-

сти селенопротеинов и дейодиназ. Учитывая ранее продемонстрированное влияние трийодтиронина на исход ишемического инсульта, пациентам с цереброваскулярной патологией, полу-

чающих синтетические аналоги тироксина, целесообразно включать в спектр терапии препараты селена с целью возможного улучшения функциональных исходов инсульта.

Д.А. Филимонов¹, С.К. Евтушенко¹, И.С. Луцкий¹, А.А. Федорова², Н.Н. Трубникова², М.А. Белоцерковская²

¹ГОУ ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», Донецк, ДНР

²ГУ «Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака», Донецк, ДНР

ВЗАИМОСВЯЗЬ ГЕНЕТИЧЕСКИ ПРОГНОЗИРУЕМОГО УРОВНЯ СЕЛЕНА И РИСКА НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ИСХОДА ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Несмотря на определённые успехи в терапии и профилактике цереброваскулярных заболеваний, инсульт занимает второе место в мире среди болезней, приводящих к летальному исходу. В ходе наблюдательных исследований неоднократно сообщалось, что некоторые микроэлементы связаны с риском ишемического инсульта. Данные наблюдательных исследований показали, что уровень циркулирующего селена обратно коррелирует с некоторыми сердечно-сосудистыми исходами с возможной U-образной связью. Однако результаты клинических испытаний были противоречивыми. Остается неясным, оказывает ли селен влияние на функциональные исходы инсульта. Учитывая большое количество кофакторов, потенциально влияющих на связь селена с исходом острого ишемического инсульта, одним из методов анализа может являться менделевская рандомизация.

Цель исследования: идентифицировать возможную причинно-следственную связь между уровнем селена и риском неблагоприятного исхода ишемического инсульта.

Материалы и методы. Для исследования влияния уровня селена на риск неблагоприятного исхода ишемического инсульта был выбран метод менделевской рандомизации – технологии, позволяющей использовать генетические вариации в качестве прокси-переменных. В качестве инструментальных переменных, генетически предсказывающих уровень селена, использовались данные исследования концентрации

селена в ногтях ног у 4162 мужчин и женщин, включенных в когорты четырех независимых популяционных исследований. Однонуклеотидные вариации, связанные с исходом ишемического инсульта, извлекали из базы данных GISCOME

Результаты. После исследования извлеченных инструментов на нарушение равновесия сцепления были отобраны 10 независимых однонуклеотидных вариаций ($r^2 < 0.001$), достигающих значимости $p < 10e-6$ и связанных с уровнем селена. В ходе анализа, установлена обратная причинно-следственная связь между уровнем селена и риском неблагоприятного исхода ишемического инсульта ($\beta = -1.5989257$, $p = 0.033$).

Выводы. Генетически прогнозируемое повышение уровня содержания селена на 1 мкг/г (в ногтях нижних конечностей) ассоциировано со снижением риска неблагоприятного исхода на 80% (ОШ=0,2, 95% ДИ 0,1-0,81). Данная ассоциация может быть обусловлена увеличением активности селенопротеинов и дейодиназ. Учитывая ранее продемонстрированное влияние трийодтиронина на исход ишемического инсульта, пациентам с цереброваскулярной патологией, получающих синтетические аналоги тироксина, целесообразно включать в спектр терапии препараты селена с целью возможного улучшения функционального исхода инсульта.

Ключевые слова: ишемический инсульт, селен, тиреоидные гормоны, менделевская рандомизация, генетические варианты.

Д.А. Filimonov¹, S.K. Evtushenko¹, I.S. Lutsky¹, A.A. Fedorova², N.N. Trubnikova², M.A. Belotserkovskaya²

¹SEI HPE «M. Gorky Donetsk National Medical University», Donetsk, DPR

²SI «V.K. Gusak Institute of Urgent and Reconstructive Surgery», Donetsk, DPR

THE RELATIONSHIP OF GENETICALLY PREDICTED SELENIUM LEVELS AND THE RISK OF ADVERSE OUTCOME OF ISCHEMIC STROKE

Despite certain advances in therapy and prevention of cerebrovascular disease, stroke ranks second place among fatal diseases worldwide. It has been repeatedly reported in observational studies that certain micronutrients are associated with the risk of ischemic stroke. Data from observational studies have shown that circulating selenium levels are inversely correlated with some cardiovascular outcomes with a possible U-shaped relationship. However, the results of clinical trials have been inconsistent. Whether selenium influences functional stroke outcomes

remains unclear. Given the large number of cofactors potentially influencing the association of selenium with acute ischemic stroke outcomes, Mendelian randomization may be one method of analysis.

Aims: to identify a possible causal relationship between selenium levels and the risk of adverse ischemic stroke outcome.

Methods. To study the effect of selenium on stroke outcome we chose Mendelian randomization, a technique that allows the use of genetic variation as proxy vari-

ables. The instrumental variables that genetically predict selenium levels were used from a study of selenium concentrations in toenails in 4162 men and women included in cohorts of four independent population studies. Single-nucleotide variations associated with ischemic stroke outcome were extracted from the GISCOME database

Results. After examination of the extracted instruments for linkage disequilibrium, 10 independent single-nucleotide variations ($r^2 < 0.001$) reaching significance $p < 10e-6$ and associated with selenium levels were selected. In the analysis, there was an inverse causal relationship between selenium levels and the risk of adverse ischemic stroke outcome ($\beta = -1.5989257$, $p = 0.033$).

Conclusions. A genetically predicted 1 $\mu\text{g/g}$ increase in selenium levels (in lower limb nails) was associated with an 80% reduction in risk of adverse stroke outcome ($\text{OR} = 0.2$, 95% CI 0.1-0.81). This association may be due to an increase in selenoprotein and deiodinase activity. Given the previously demonstrated effect of triiodothyronine on ischemic stroke outcome, it is reasonable to include selenium preparations in the spectrum of therapy for patients with cerebrovascular pathology receiving synthetic thyroxine analogues in order to possibly improve functional stroke outcome.

Key words: ischemic stroke, selenium, thyroid hormones, Mendelian randomization, genetic variants.

ЛИТЕРАТУРА

1. Luengo-Fernandez R. et al. Economic burden of stroke across Europe: A population-based cost analysis. *Eur. Stroke J.* 2020; V. 5, 1: 17-25.
2. Writing Group Members, Mozaffarian D., Benjamin E.J. et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2016 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation.* 2016; 133 (4): e38-e360. doi: 10.1161/CIR.0000000000000350
3. Terni E. et al. Genetics of ischaemic stroke in young adults. *BBA Clinical.* 2015; 3: 96-106.
4. Liu S., Levine S.R., Winn H.R. Targeting ischemic penumbra Part I: from pathophysiology to therapeutic strategy. *Journal of Experimental Stroke and Translational Medicine.* 2010; V. 3, 1: 47-55.
5. Neuhaus A.A. et al. Neuroprotection in stroke: the importance of collaboration and reproducibility. *Brain.* 2017; V. 140, 8: 2079-2092.
6. Hankey G.J. Nutrition and the risk of stroke. *The Lancet Neurology.* 2012; 11: 66-81.
7. Larsson S.C. Dietary approaches for stroke prevention. *Stroke.* 2017; V. 48, 10: 2905-2911.
8. Köhrle J. et al. Selenium, the thyroid, and the endocrine system. *Endocr. Rev.* 2005; V. 26, 7: 944-984.
9. Ramezani M. et al. Is Selenium Supplementation Beneficial in Acute Ischemic Stroke?. *Neurologist.* 2022; V. 27, 2: 51-55.
10. Mehta S.L., Kumari S., Mendeleev N., Li P.A. Selenium preserves mitochondrial function, stimulates mitochondrial biogenesis, and reduces infarct volume after focal cerebral ischemia. *BMC Neurosci.* 2012; 13: 79. doi: 10.1186/1471-2202-13-79
11. Hu X.F., Stranges S., Chan L.H.M. Circulating Selenium Concentration Is Inversely Associated With the Prevalence of Stroke: Results From the Canadian Health Measures Survey and the National Health and Nutrition Examination Survey. *J Am Heart Assoc.* 2019; 8 (10): e012290. doi: 10.1161/JAHA.119.012290
12. Klein E.A. et al. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA.* 2011; V. 306, 14: 1549-1556.
13. Fang H., Liu W., Zhang L. et al. A Bidirectional Mendelian Randomization Study of Selenium Levels and Ischemic Stroke. *Front Genet.* 2022; 13: 782691. doi: 10.3389/fgene.2022.782691
14. Davies N.M., Holmes M.V., Davey Smith G. Reading Mendelian randomisation studies: a guide, glossary, and checklist for clinicians. *BMJ.* 2018; 362: k601. doi: 10.1136/bmj.k601
15. Pierce B.L., Burgess S. Efficient Design for Mendelian Randomization Studies: Subsample and 2-Sample Instrumental Variable Estimators. *Am. J. Epidemiol.* 2013; V. 178, 7: 1177-1184.
16. Didelez V., Sheehan N. Mendelian randomization as an instrumental variable approach to causal inference. *Stat. Methods Med. Res.* 2007; V. 16, 4: 309-330.
17. Cornelis M.C. et al. Genome-wide association study of se-

REFERENCES

1. Luengo-Fernandez R. et al. Economic burden of stroke across Europe: A population-based cost analysis. *Eur. Stroke J.* 2020; V. 5, 1: 17-25.
2. Writing Group Members, Mozaffarian D., Benjamin E.J. et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2016 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation.* 2016; 133 (4): e38-e360. doi: 10.1161/CIR.0000000000000350
3. Terni E. et al. Genetics of ischaemic stroke in young adults. *BBA Clinical.* 2015; 3: 96-106.
4. Liu S., Levine S.R., Winn H.R. Targeting ischemic penumbra Part I: from pathophysiology to therapeutic strategy. *Journal of Experimental Stroke and Translational Medicine.* 2010; V. 3, 1: 47-55.
5. Neuhaus A.A. et al. Neuroprotection in stroke: the importance of collaboration and reproducibility. *Brain.* 2017; V. 140, 8: 2079-2092.
6. Hankey G.J. Nutrition and the risk of stroke. *The Lancet Neurology.* 2012; 11: 66-81.
7. Larsson S.C. Dietary approaches for stroke prevention. *Stroke.* 2017; V. 48, 10: 2905-2911.
8. Köhrle J. et al. Selenium, the thyroid, and the endocrine system. *Endocr. Rev.* 2005; V. 26, 7: 944-984.
9. Ramezani M. et al. Is Selenium Supplementation Beneficial in Acute Ischemic Stroke?. *Neurologist.* 2022; V. 27, 2: 51-55.
10. Mehta S.L., Kumari S., Mendeleev N., Li P.A. Selenium preserves mitochondrial function, stimulates mitochondrial biogenesis, and reduces infarct volume after focal cerebral ischemia. *BMC Neurosci.* 2012; 13: 79. doi: 10.1186/1471-2202-13-79
11. Hu X.F., Stranges S., Chan L.H.M. Circulating Selenium Concentration Is Inversely Associated With the Prevalence of Stroke: Results From the Canadian Health Measures Survey and the National Health and Nutrition Examination Survey. *J Am Heart Assoc.* 2019; 8 (10): e012290. doi: 10.1161/JAHA.119.012290
12. Klein E.A. et al. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA.* 2011; V. 306, 14: 1549-1556.
13. Fang H., Liu W., Zhang L. et al. A Bidirectional Mendelian Randomization Study of Selenium Levels and Ischemic Stroke. *Front Genet.* 2022; 13: 782691. doi: 10.3389/fgene.2022.782691
14. Davies N.M., Holmes M.V., Davey Smith G. Reading Mendelian randomisation studies: a guide, glossary, and checklist for clinicians. *BMJ.* 2018; 362: k601. doi: 10.1136/bmj.k601
15. Pierce B.L., Burgess S. Efficient Design for Mendelian Randomization Studies: Subsample and 2-Sample Instrumental Variable Estimators. *Am. J. Epidemiol.* 2013; V. 178, 7: 1177-1184.
16. Didelez V., Sheehan N. Mendelian randomization as an instrumental variable approach to causal inference. *Stat. Methods Med. Res.* 2007; V. 16, 4: 309-330.
17. Cornelis M.C. et al. Genome-wide association study of se-

- lenium concentrations. *Hum. Mol. Genet.* 2015; V. 24, 5: 1469-1477.
18. Maguire J.M. et al. GISCOME – Genetics of Ischaemic Stroke Functional Outcome network: A protocol for an international multicentre genetic association study. *Eur. stroke J.* 2017; V. 2, 3: 229-237.
 19. Kamat M.A. et al. PhenoScanner V2: an expanded tool for searching human genotype-phenotype associations. *Bioinformatics.* 2019; V. 35, 22: 4851-4853.
 20. Filimonov D. Low Free Serum Triiodothyronine is Associated with More Severe Neurological Deficit in Patients with First-Time Ischemic Stroke: A Single-Center Clinical Study. *Arch. Neurol. Neurosci.* 2020; V. 7, 3. doi: 10.33552/ANN.2020.07.000661
 21. Köhrle J. The deiodinase family: selenoenzymes regulating thyroid hormone availability and action. *Cell. Mol. Life Sci.* 2000; V. 57, 13-14: 1853-1863.
 22. Larsen P.R., Zavacki A.M. The role of the iodothyronine deiodinases in the physiology and pathophysiology of thyroid hormone action. *Eur Thyroid J.* 2012; 1 (4): 232-242. doi: 10.1159/000343922
- lenium concentrations. *Hum. Mol. Genet.* 2015; V. 24, 5: 1469-1477.
18. Maguire J.M. et al. GISCOME – Genetics of Ischaemic Stroke Functional Outcome network: A protocol for an international multicentre genetic association study. *Eur. stroke J.* 2017; V. 2, 3: 229-237.
 19. Kamat M.A. et al. PhenoScanner V2: an expanded tool for searching human genotype-phenotype associations. *Bioinformatics.* 2019; V. 35, 22: 4851-4853.
 20. Filimonov D. Low Free Serum Triiodothyronine is Associated with More Severe Neurological Deficit in Patients with First-Time Ischemic Stroke: A Single-Center Clinical Study. *Arch. Neurol. Neurosci.* 2020; V. 7, 3. doi: 10.33552/ANN.2020.07.000661
 21. Köhrle J. The deiodinase family: selenoenzymes regulating thyroid hormone availability and action. *Cell. Mol. Life Sci.* 2000; V. 57, 13-14: 1853-1863.
 22. Larsen P.R., Zavacki A.M. The role of the iodothyronine deiodinases in the physiology and pathophysiology of thyroid hormone action. *Eur Thyroid J.* 2012; 1 (4): 232-242. doi: 10.1159/000343922