
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН
ФГБОУ ВПО «БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М. АКМУЛЛЫ»
КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ



БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. М. Акмулы



«ВАВИЛОВСКИЕ ЧТЕНИЯ - 2015»

Труды
Межвузовской научной конференции
молодых ученых

Уфа
27 ноября 2015 г.

УДК 575
ББК 28.04
Т79

Печатается по решению редакционно-издательского совета Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы

Труды научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых посвященный 128-летию со дня рождения академика Николая Ивановича Вавилова «Вавиловские чтения», 27 ноября. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2015. – 109 с.

В сборнике представлены результаты исследований по широкому кругу актуальных вопросов общей генетики, генетики растений, микроорганизмов.

Рассчитан на научных работников биологического профиля, аспирантов и студентов соответствующих специальностей.

Ответственный редактор: профессор В.Ю.Горбунова

© Издательство БГПУ, 2015

СОДЕРЖАНИЕ

Ахтямова З.А. РОЛЬ ФНО - α В АДГЕЗИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ К ЭНДОТЕЛИЮ	5
Борискова Д.Д. ALU-ИНСЕРЦИОННО-ДЕЛЕЦИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА <i>RKNDL1</i> В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ОНТОГЕНЕЗА ЧЕЛОВЕКА	9
Бухарбаева Э.Н., Воробьева Е.В. АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЕНОВ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У ЛЮДЕЙ С РАЗНЫМ ПИЩЕВЫМ ПОВЕДЕНИЕМ	17
Губаева Ю.Г., Воробьева Е.В., Горбунова В.Ю. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ КЛЕТЧНОГО ЦИКЛА (RB, TP53) ПРИ ОНКОПАТОЛОГИИ	22
Давыдова Ю.Д., Гумерова О.В. АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ СЕРОТОНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ <i>5-HTR2A</i> И <i>5-HTR2CS</i> ПОКАЗАТЕЛЯМИ ТРЕВОЖНОСТИ У СТУДЕНТОВ	27
Иванова Т.В., Закирова Э.Г., Хуснутдинова Н.С., Вахитова Ю.В. ДЕФЕРОКСАМИН И ХЛОРИД КОБАЛЬТА (II) ИНДУЦИРУЮТ ДНК-СВЯЗЫВАЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ HIF-1 α	35
Исрафилова А.Б., Гумерова О.В. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА ПЕРЕНОСЧИКА СЕРОТОНИНА (SLC6A4) У ЛИЦ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ВЕРБАЛЬНОГО ИНТЕЛЛЕКТА	39
Казакова Т. Ю., Воробьева Е. В. АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА <i>rs1799782</i> ГЕНА <i>XRCC1</i> С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	45
Мухаррямова А.Ф., Зайнуллина Л.Ф., Вахитова Ю.В. СУБЪЕДИНИЧНЫЙ СОСТАВ NMDA-РЕЦЕПТОРА Т-ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА	49
Рустямова Р.С., Васильева Э.М. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ РМЖ	52
Садыкова Л.Р., Гумерова О.В. АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА 5-HTTLPR ГЕНА ПЕРЕНОСЧИКА СЕРОТОНИНА SLC6A4 С ПОКАЗАТЕЛЯМИ НЕВЕРБАЛЬНЫХ И ВЕРБАЛЬНЫХ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ	56
Султанова Р.И., Хусаинова Р.И., Хуснутдинова Э.К. ПОИСК АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА ГЕНА <i>SMAD3</i> С ИНТРАКРАНИАЛЬНЫМИ АНЕВРИЗМАМИ	61

Урманова А.А., Гумерова О.В. АНАЛИЗ ВКЛАДА ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА (<i>RS6323</i>) ГЕНА МОНОАМИНОКСИДАЗЫ А В ФОРМИРОВАНИЕ ПРИЗНАКА «ТИП НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ»	69
Хафизова Л.М., Гумерова О.В., Горбунова В.Ю. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА <i>VAL158MET</i> ГЕНА КАТЕХОЛ-О-МЕТИЛТРАСФЕРАЗЫ СОМТ С УРОВНЕМ ТРЕВОЖНОСТИ У СТУДЕНТОВ	75
Шаповалова Д.А., Тюрин А.В., Хусаинова Р.И. ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА КОЛЛАГЕНА 2 ТИПА (<i>COL2A1</i>) В РАЗВИТИИ ОСТЕОАРТОРОЗА У ЖЕНЩИН С НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ	81
Шеин М.Ю. АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА 252A.>G ГЕНА <i>LTA</i> С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА СРЕДИ ТАТАР БАШКОРТОСТАНА	92
Яхина И. И., Мулюкова Р. В., Горбунова В. Ю. СВЯЗЬ ГЕНА АДИПОНЕКТИНА (<i>ADIPOQ</i>) С ИНДЕКСОМ МАССЫ ТЕЛА	98

РОЛЬ ФНО - α В АДГЕЗИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ К ЭНДОТЕЛИЮ

З.А. Ахтямова.

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Д.В. Хасанова, У.Ш. Кузьмина, Ю.В. Вахитова.

ФГБУН УНЦ РАН.

Ключевые слова: Т-клетки, эндотелиальные клетки, адгезия, ФНО α , аCD3, аCD28

Краткая аннотация: Показано влияние инкубации эндотелиоцитов с ФНО α на адгезию нестимулированных или аCD3/аCD28-стимулированных лимфоцитов человека. Результаты проведенной работы подтверждают важное значение провоспалительного цитокина ФНО α в процессе адгезии Т-лимфоцитов к эндотелиальным клеткам.

Введение: Адгезивные взаимодействия между эндотелиоцитами и лейкоцитами являются важными звеньями механизмов, обеспечивающих миграцию лейкоцитов в зону повреждения, а, следовательно, воспаления и развития там иммунных и репаративных реакций (Витковский, 2006; Солпов, 2002). Необходимо подчеркнуть, что этот сложный и многоэтапный процесс находится под контролем разнообразных эндогенных факторов, в частности, ФНО α , которые могут определять пространственно-временную экспрессию тех или иных молекул адгезии на лимфоцитах и эндотелии, их аффинность и специфичность взаимодействия.

Целью данного исследования является изучение влияния провоспалительного цитокина ФНО α на адгезию нестимулированных и антиген-стимулированных Т-лимфоцитов человека к эндотелиальным клеткам *in vitro*.

Методы: Анализ влияния ФНО α на адгезию Т-лимфоцитов к эндотелию сосудов проводили в модельной системе с использованием первичных эндотелиальных клеток человека (HUVEC). Лимфоциты были получены из периферической крови здоровых доноров-добровольцев. Выделение фракции мононуклеаров выполняли по стандартной методике градиентного центрифугирования (Boyum, 1968). Эндотелиальные клетки из пупочной вены человека (HUVEC) были выделены согласно адаптированному протоколу Jaffe et al. (1973). Культура эндотелиоцитов верифицирована по экспрессии основных маркеров (антитела к фактору фон Виллебранта, иммуноцитохимическое окрашивание). Эндотелиоциты культивировали в покрытых желатином лунках 24-луночных планшетах (80-90 % монослоя) в среде DMEM/F12 (Биолот, Россия), обогащенной 15% эмбриональной бычьей сывороткой (HyClone, США), 2мМ L-глутамином, 25 мкг/мл ростовой добавкой ECGS (Sigma, США), 50 мкг/мл гепарина (Синтез, Россия) и 50 мкг/мл гентамицина.

Для оценки адгезии эндотелиоциты инкубировали в течение 4 часов с ФНО α (25нг/мл), по истечению времени клетки отмывали и добавляли к ним нестимулированные или aCD3/aCD28-стимулированные лимфоциты, предварительно окрашенные флуоресцентным витальным красителем (Vybrant Cell-Labeling Solution). Сравнительный анализ проводили на основе данных о количестве флуоресцентно-меченых адгезированных к эндотелию Т-клеток (фазово-контрастная флуоресцентная микроскопия).

Статистическую обработку полученных результатов производили с использованием стандартного пакета программ статистического анализа Statistica 6.0 для Windows (StatSoft, США).

Работа выполнена на базе лаборатории молекулярной фармакологии и иммунологии Института биохимии и генетики УНЦ РАН.

Результаты: Полученные данные свидетельствуют о том, что ФНО α в концентрации 10 и 25 нг/мл достоверно увеличивает адгезию

нестимулированных Т-лимфоцитов на $54,9 \pm 5,9 \%$ и $79,8 \pm 26,0 \%$, соответственно (рис.1).

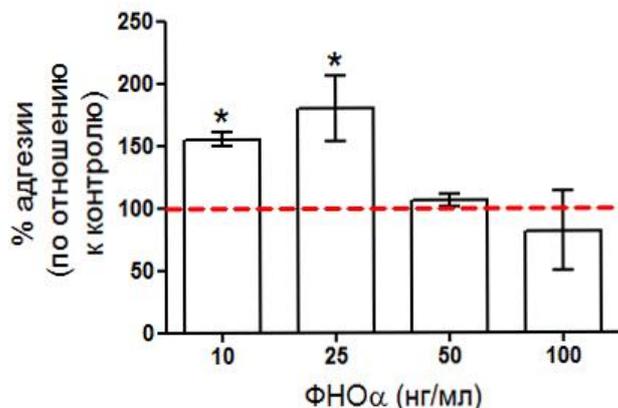


Рис. 1. Дозо-зависимый эффект ФНОα на адгезию нестимулированных Т-клеток к HUVEC. Данные представлены в виде $M \pm SEM$, * - $\rho < 0,05$.

Согласно данным, представленным на рисунке 2, активация Т-лимфоцитов через Т-клеточный рецептор приводит к увеличению адгезии данного типа клеток к эндотелиальным клеткам в 2 раза. При стимуляции эндотелиоцитов ФНОα, а Т-клеток антигенами к CD3 и CD28 молекулам наблюдалось повышение адгезии в 1,5 раза.

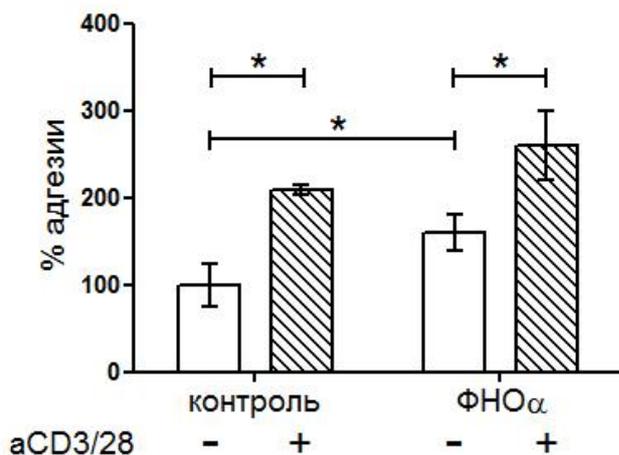


Рис. 2. Влияние ФНОα на адгезию антиген-стимулированных Т-лимфоцитов к HUVEC. Данные представлены в виде $M \pm SEM$, * - $\rho < 0,05$.

Таким образом, в результате проведенного исследования было установлено, что инкубация эндотелиоцитов с ФНО α усиливает адгезию иммунных клеток, что, в свою очередь, свидетельствует о его важной роли в процессе воспаления и развития иммунных и репаративных реакций.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Витковский Ю.А. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Солпов // Медицинская иммунология. 2006. - Т8. - № 5- 6. - С. 745- 753.
2. Солпов А.В. Влияние цитокинов на лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию / А.В. Солпов // Тромбоз, гемостаз, реология. 2002. - №1. - С.34-36.
3. Boyum, A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. Introduction // Scand J Clin Lab Invest Suppl. – 1968. – Vol. 97. – P.7.
4. Jaffe E.A., Nachman R.L., Becker C.G., Minick C.R. Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria. // J Clin Invest. – 1973 – V.52 (11) – P. 2745-2756.

ALU-ИНСЕРЦИОННО-ДЕЛЕЦИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *PKHD1* В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ОНТОГЕНЕЗА ЧЕЛОВЕКА

Д.Д. Борискова.

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Д.Д. Каримов, В.В. Эрдман.

ФГБУН УНЦ РАН

Ключевые слова: долголетие, старение, популяция, Alu(I/D)-полиморфизм, ген *PKHD1*.

Краткая аннотация. Впервые у татар, проживающих в Республике Башкортостан, охарактеризовано распределение частот аллелей и генотипов по Alu-инсерционному полиморфизму гена *PKHD1* (8q23). Ген *PKHD1* (polycystic kidney and hepatic disease 1) кодирует белок, принимающий участие в иммунном ответе организма. Генотип *PKHD1**D/*D можно рассматривать как протективный фактор долголетия, так как присутствие данного генотипа свидетельствует о более продолжительном периоде жизни. Полученные сведения важны для оценки значимости этого полиморфного локуса как маркера при исследовании генетической структуры популяций, а также многофакторных заболеваний и старения.

Введение. На сегодняшний день изучение механизмов старения и увеличения долголетия человека является одной из наиболее приоритетных и социально значимых направлений медицины и современной генетики. Интерес к геронтологии в последнее время безостановочно возрастает, и, прежде всего, изучаются первичные механизмы старения организмов, которые определяют его период жизни.

Старение человека обусловлено генетическими факторами, образом жизни и факторами окружающей среды. Выявление фундаментальных механизмов старения является необходимой предпосылкой для продления жизни и разработке эффективных мер для снижения инвалидности при старении [1].

Причиной старения также является непостоянство генома человека. Непостоянство или нестабильность генома на уровне последовательности ДНК или хромосом — главная особенность наследственного аппарата всех живых организмов, включая человека [4].

На непостоянство генома оказывают свое влияние Alu-элементы. Инсерции Alu-повторов в экзоны и промоторы белок-кодирующих генов, в область экзон-интронных границ, а также незаконная гомологичная рекомбинация между различными копиями Alu-повторов могут приводить к возникновению различных наследственных заболеваний. Многие факты свидетельствуют о том, что Alu-повторы могут участвовать в регуляции генной экспрессии, как на уровне транскрипции, так и на уровне трансляции. Большинство Alu-элементов неактивны и меньшая часть ретранспозируется.

Цель проведенного нами исследования заключалась в оценке Alu I/D-полиморфного состояния гена *PKHDLL1* в разные периоды жизни в популяции татар, проживающих в Республике Башкортостан.

Материалы и методы. Выборка была сформирована из 1425 человек, в возрасте от 21 до 109 лет, татар по этнической принадлежности, проживающих в Республике Башкортостан. В соответствии с правилами биологической этики было получено согласие всех участников исследования на использование их анкетных данных и биологического материала.

ДНК получали из 8 мл цельной венозной крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции [3].

Анализ Alu I/D-полиморфизма в гене *PKHDLL1* осуществляли методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК (ПЦР). Разделение амплифицированных фрагментов ДНК проводили при помощи

электрофореза в 2% агарозном геле; гели окрашивали 1% раствором бромистого этидия, после чего их сканировали с использованием системы гель-видеодокументации Mega-Capture (Vilber Lourmat).

Условия проведения эксперимента и последовательности олигонуклеотидных праймеров были подобраны с помощью онлайн-программ Primer-Blast (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/) и PrimerQuest (eu.idtdna.com/primerquest/home/index). Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы Arlequin (v 3.1, 2006). При сравнении групп по частотам генотипов и аллелей применялся точный тест Фишера.

При анализе результатов исследования выборку подразделяли на возрастные группы согласно классификации, принятой на 7-й Всесоюзной конференции по проблемам возрастной морфологии, физиологии и биохимии: 21–35 лет (первый зрелый возраст), 36–60 лет (второй зрелый возраст), 61–74 лет (пожилой возраст), 75–89 лет (старческий возраст), 90 и старше (долгожители) [2].

Результаты и обсуждение.

В популяции татар частоты генотипов *PKHD1L1**I/*I, *PKHD1L1**I/*D, *PKHD1L1**D/*D составили 21,1%, 54,25% и 24,65%, частоты аллелей *PKHD1L1**I и *PKHD1L1**D – 48,23% и 51,77% соответственно (табл.1). Наблюдаемое распределение частот генотипов в выборке женщин отклоняется от равновесного распределения Харди-Вайнберга ($P < 0,05$).

При сравнении частот генотипов в общей группе выявлены статистически значимые различия. У долгожителей и стариков частота генотипа *PKHD1L1**I/*D ниже, чем у лиц пожилого возраста (49,74% и 52,06% против 60,18%, $p < 0,05$). Также обнаружено, что в группе лиц пожилого возраста частота генотипа *PKHD1L1**D/*D выше, чем у лиц старческого возраста и долгожителей (29,74% и 27,68% против 19,76%, $p = 0,010$). При сравнении частот аллелей выявлены статистически значимые различия у лиц 1 зрелого возраста (*PKHD1L1**I: 52,41%) и долгожителей

(*PKHD1L1**D: 54,62%). При сравнении частот генотипов у мужчин выявлены статистически значимые различия частот гетерозиготных генотипов. В группах лиц пожилого возраста частота генотипа *PKHD1L1**I/*D выше, чем у лиц 1 и 2 зрелого возрастов (64% против 49,57% и 50,8%, $p=0,004$). Частота генотипа *PKHD1L1**D/*D у лиц пожилого возраста ниже, чем у людей 1 и 2 зрелого возрастов (15% против 30,13% и 37,5%, $p=0,043$). При сравнении частот аллелей выявлены статистически значимые различия у лиц пожилого возраста (*PKHD1L1**I: 53,3%) и долгожителей(*PKHD1L1**D: 64,06%) (табл.2). При сравнении частот генотипов у женщин также выявлены статистически значимые различия частот гетерозиготных генотипов (табл.3). У лиц второго зрелого возраста частота генотипа *PKHD1L1**I/*D выше, чем у долгожителей (70,73% и против 49,08%, $p=0,014$). При сравнении частот аллелей выявлены статистически значимые различия в частотах аллелей у лиц 1 зрелого возраста (*PKHD1L1**I: 60,71%) и старческого возраста(*PKHD1L1**D: 54,08%).

Таблица № 1 Частоты аллелей и генотипов в общей группе

Генотип/аллель	N	Зрелый 1 P(%)	N	Зрелый 2 P(%)	N	Пожилой P(%)	N	Старческий P(%)	N	Долгожители P(%)	N	Все P(%)
II	36	24.83±3.59	49	23.11±2.9	67	20.06±2.19	123	20.26±1.63	40	20.51±2.89	315	21.1±1.06
ID	80	55.17±4.13	116	54.72±3.42	201	60.18±2.68	316	52.06±2.03	97	49.74±3.58	810	54.25±1.29
DD	29	20±3.32	47	22.17±2.85	66	19.76±2.18	168	27.68±1.82	58	29.74±3.27	368	24.65±1.12
*I	152	52.41±2.93	214	50.47±2.43	335	50.15±1.93	562	46.29±1.43	177	45.38±2.52	1440	48.23±0.91
*D	138	47.59±2.93	210	49.53±2.43	333	49.85±1.93	652	53.71±1.43	213	54.62±2.52	1546	51.77±0.91

Таблица № 2 Частоты аллелей и генотипов в группе мужчин

Генотип/аллели	N	Зрелый 1 P(%)	N	Зрелый 2 P(%)	N	Пожилой P(%)	N	Старчески й P(%)	N	Долгожите ли P(%)	N	Все P(%)
II	30	25.64±4.04	43	25.15±3.32	21	21±4.07	57	23.85±2.76	3	9.38±5.15	154	23.37±1.65
ID	58	49.57±4.62	87	50.88±3.82	64	64±4.8	110	46.03±3.22	17	53.12±8.82	336	50.99±1.95
DD	29	24.79±3.99	41	23.98±3.27	15	15±3.57	72	30.13±2.97	12	37.5±8.56	169	25.64±1.7
*I	118	50.43±3.27	173	50.58±2.7	106	53±3.53	224	46.86±2.28	23	35.94±6	644	48.86±1.38
*D	116	49.57±3.27	169	49.42±2.7	94	47±3.53	254	53.14±2.28	41	64.06±6	674	51.14±1.38

Таблица № 3 Частоты аллелей и генотипов в группе женщин

Генотип/аллели	N	Зрелый 1 P(%)	N	Зрелый 2 P(%)	N	Пожилой P(%)	N	Старческий P(%)	N	Долгожители P(%)	N	Все P(%)
II	6	21.43±7.75	6	14.63±5.52	46	19.66±2.6	66	17.93±2	37	22.7±3.28	149	18.13±1.34
ID	22	78.57±7.75	29	70.73±7.11	137	58.55±3.22	206	55.98±2.59	80	49.08±3.92	474	57.66±1.72
DD	0	-	6	14.63±5.52	51	21.79±2.7	96	26.09±2.29	46	28.22±3.53	199	24.21±1.49
*I	34	60.71±6.53	41	50±5.52	229	48.93±2.31	338	45.92±1.84	154	47.24±2.77	772	46.96±1.23
*D	22	39.29±6.53	41	50±5.52	239	51.07±2.31	398	54.08±1.84	172	52.76±2.77	872	53.04±1.23

Таким образом, генотип *PKHD1L1**D/*D можно рассматривать как протективный фактор долголетия.

Функции белка фиброцистина-L неясны, однако определено, что он экспрессируется в Т-лимфоцитах, наличие в белке трансмембранного домена указывает на его вероятную сигнальную функцию. Таким образом, можно предположить, что продукт гена *PKHD1L1* принимает участие в иммунном ответе. Инсерция Alu-элемента в 65 экзон гена, вероятно, изменяет иммунный статус организма, отсутствие же инсерции способствует достижению возраста долголетия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хрисанфова Е. Н. Основы геронтологии (Антропологические аспекты). М.: Владос, 1999. С.151.
2. Кажарова Р.З. Генетические факторы долголетия у мужчин и женщин Кабардино-Балкарской республики // Международный научно-исследовательский журнал. 2014. №. 3-1. С. 22.
3. Lupski J.R. Structural variation in the human genome and its role in disease. Annu Rev Med. 2010. - №61.P.437–455.
4. Johns, M. B. Paulus-Thomas J. E. Purification of human genomic DNA from whole blood using proteinase K treatment followed by phenol-chlorophorm extraction // Anall. Biochem. 1989. P. 276–278.

АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЕНОВ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У ЛЮДЕЙ С РАЗНЫМ ПИЩЕВЫМ ПОВЕДЕНИЕМ

Э.Н. Бухарбаева, Е.В. Воробьева

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: нутригенетика, пищевое поведение, липидный обмен

Краткая аннотация. Выполнен анализ пищевого поведения у студентов БГПУ им. Акмуллы и особенностей генов лептина (LEP) и его рецептора (LepR).

Введение. Нутригенетика – одно из новых научных направлений, которое изучает взаимосвязь генетику человека и его питание. Специальные нутригенетические исследования позволяют определить, какие именно питательные вещества и в какой комбинации необходимы конкретному человеку, а какие, наоборот, противопоказаны.

Пищевые предпочтения являются одним из ключевых определений качества жизни человека. В последнее десятилетие большое внимание уделяется вопросам связи пищевого поведения и предрасположенности ко многим распространенным болезням, в том числе, хроническим. Нутригеномика и нутригенетика активно развиваются на основе генетики, и биохимии, а также ряда технологий для исследования сложного взаимодействия между генетическими и средовыми факторами, имеющими отношение к метаболическим процессам и здоровью человека. В то же время постоянно выявляются ассоциации уже известных генов и пищевых предпочтений человека, влияющих на риск развития той или иной патологии, связанной с типом питания. Ярким примером является ожирение, в развитии которого немаловажную роль играют особенности взаимодействия генов и

нутриентов, а также метаболизм, антропометрические факторы (рост и вес), которые тоже находятся в определенной степени под генетическим контролем. Сложные взаимодействия между генетическими и средовыми факторами, такими как диеты и образ жизни, в частности, избыточное питание и малоподвижный образ жизни, способствуют прогрессии этой болезни. В настоящее время распространенность ожирения как болезни резко увеличивается. Питание является, вероятно, самым важным средовым фактором, который модулирует экспрессию генов, вовлеченных в метаболические пути и разнообразие фенотипов, связанных с ожирением[2].

Так, разработка способов индивидуализации программ пищевого поведения, которые основаны на данных генетического анализа является сейчас популярным направлением. Некоторые из таких первых подходов уже запатентованы и начинают применяться на практике. Среди генетических факторов, влияющие на правильный выбор диеты, чаще всего анализируют нуклеотидные полиморфизмы генов липидного обмена (LepR, Lep, PPARG, LPL и др.). Генетическая вариабельность этих генов значительно влияет на то, как быстро и эффективно усваиваются питательные вещества, поступающие с пищей, а это значит, что они могут препятствовать или помогать достижению и поддержке оптимального веса. Эти генетические вариации не являются патогенными мутациями, они достаточно широко распространены, но, располагая информацией об их наличии или отсутствии, можно точнее оценить индивидуальные особенности своего организма[1].

Многочисленные исследования показали, что пищевые предпочтения человека генетически детерминированы. Но также не стоит забывать о том, что выбор пищи обусловлен и средовым фактором. Таким образом, нет однозначности в изучаемом вопросе, в связи с чем он до настоящего времени не теряет актуальности и в выявлении механизмов избыточной массы тела наиболее актуальным является изучение генов липидного обмена. Из-за этого наиболее часто изучаются такие гены, как Lep и LepR.

Ген лептина (*Lep*, *Ob*) человека локализуется на 7q31.3 хромосоме и состоит из 3 экзонов и 2 интронов и кодируется 4,5 kb мРНК. Продукт гена участвует в регуляции объема депонированного жира. Действует прямо или опосредованно на центрально нервную систему и регулирует потребление пищи и расход энергии. Является частью гомеостатических механизмов, которые направлены на поддержание постоянства внутренней среды. Одной из наиболее частых мутаций в гене *LEP* является замена аденина на гуанин в 2548 положении (*G-2548A*) в его промоторной области (*rs7799039*) [3].

Ген рецептора лептина *LEPR* локализуется на коротком плече 1 хромосомы (1p31) и принадлежит к семейству цитокиновых рецепторов. Это ген, кодирующий рецептор трансмембранной области. Через эту область ген лептина регулирует массу жировой ткани и расходы энергии. Показано, что точечные мутации в гене рецептора к лептину приводят к нарушению сплайсинга и блокируют экспрессию длинной формы рецептора. При такой мутации рецептора нарушается проведение гормонального сигнала. Наиболее изучаемой мутацией этого гена является замена аденина на гуанин в 668 положении (*A668G*, *rs1137101*), что приводит к замене глутамина на аргинин в 223 позиции в белке (*Gln223Arg*, *Q223R*) [3].

Целью настоящего исследования был анализ распределения пищевых предпочтений у студентов БГПУ им. Акмуллы. Материалом для исследования явились опросы 72 человек.

Материалы и методы. В работе было опрошено 72 студента по их питанию. Студенты должны были указать свой рост, вес, пол, возраст и степень физической активности. Исследования проводились именно на студентах, потому что сюда по научным источникам, начиная с 25 лет, каждые следующие 10 лет жизни обмен веществ становится медленнее на 5-10.

Оценку питания и расчет калорийности проводили на основании формулы Харриса-Бенедикта, которая рассчитывает потребность организма в калориях на основной обмен. Затем, исходя из индекса массы тела, которая

рассчитывается по формуле Кетеле, делается предположение о типе телосложения студента и выбирается наиболее подходящая пропорция трех основных пищевых компонентов: белков, жиров, углеводов. С этими четырьмя основными параметрами: рекомендованной общей калорийностью, рекомендованной калорийностью белков, жиров, углеводов и сравнивается результат расчета дневного меню испытуемого, и уже потом относят к той или иной выборке[2].

Результаты и обсуждения. В ходе исследовательской работы было определено 5 выборок на основании опроса студентов по их питанию:

-индивиды, у которых потребляемая дневная калорийность соответствует рекомендованной;

-индивиды, у которых потребление жиров и углеводов соответствуют норме, а белки потребляются в недостаточном количестве;

-индивиды, у которых потребление жиров соответствуют норме, белки находятся в недостатке, а углеводы, наоборот, потребляются в избытке;

-индивиды, у которых потребление углеводов соответствуют норме, белки потребляются в недостаточном количестве, а жиры находятся в избытке;

-индивиды, у которых потребление белков и жиров в недостаточном количестве, а углеводы находятся в избытке.



Результаты исследования показали, что по разным группам пищевых предпочтений наблюдались неодинаковые комбинации у опрошенных студентов. Полученные предварительные результаты требуют дальнейшего анализа для выявления генотипов у индивидов и сравнения с опросом.

ЛИТЕРАТУРА.

1. И.В. Николаев, Р.В. Мулюкова, Л.Р. Каюмова, Е.В. Воробьева, В.Ю. Горбунова. Анализ взаимодействия аллелей генов липидного обмена при дислипидемии. Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, Уфа, Россия. 2014. 10 с.
2. Тимошина И. А., Филипцова О. В. Ассоциации пищевых предпочтений у сибсов в украинских популяциях. Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина. 2013. 3 с.
3. Юдочкин А. В. Клинико-генетическая диагностика и диетотерапия метаболического синдрома у женщин репродуктивного возраста. Российская академия медицинских наук ФГБУ «НИИ ПИТАНИЯ». Москва. 2013. 94 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА (*RB*, *TP53*) ПРИ ОНКОПАТОЛОГИИ

Ю.Г. Губаева, Е.В. Воробьева, В.Ю. Горбунова.

ФГБОУ ВПО «БГПУ им.М. Акмуллы»

Ключевые слова: клеточный цикл, канцерогенез, апоптоз, ген-онкосупрессор, полиморфизм.

Краткая аннотация. Проведена генетическая оценка роли SNP полиморфизмов генов *RB*, *TP53*, продукты которых отвечают за переход клетки из фазы G1 клеточного цикла в фазу S. Достоверных различий различий между группами больных РМЖ и раком ЖКТ по изученным генам не было выявлено.

Введение. Клеточный цикл и митоз находятся под строгим контролем системы регуляции, представляющей собой сложную цепь взаимодействия различных генов и их продуктов. Злокачественное перерождение клетки в результате нарушения клеточного цикла и отсутствия апоптоза в большинстве случаев служит основой канцерогенеза [1].

В выявлении механизмов злокачественной трансформации клеток наиболее актуальным является изучение генов клеточного цикла и наиболее значимыми представителями являются гены-онкосупрессоры одного сигнального пути *RB*, *TP53* ввиду широкого спектра выполняемых функций в процессах поддержания целостности генома и генетической стабильности клетки.

Ген ретинобластомы (*RB*) в норме кодирует ядерный белок, фосфорилирование которого приводит к переходу клеток из G1-фазы в S-фазу и началу нового цикла репликации[3]. Инактивация или отсутствие *RB*-белка могут быть связаны с неконтролируемым размножением опухолевых

клеток [1]. Генетический полиморфизм *rs13785329420* экзона гена *RB* приводит к замене аргинина на триптофан в положении 661[4].

TP53 - транскрипционный фактор, ядерный белок, кодируемый одноименным геном-онкосупрессором, регулирует также митотический цикл, дифференцировку клеток и их гибель при апоптозе [7]. В клеточном цикле активированный ген *TP53* обеспечивает остановку в сверхочной точке G1/S для репарации поврежденной ДНК и индукции апоптоза [2]. Полиморфизм (*rs1042522*) гена *TP53* в 72 кодоне 4 экзона происходит в богатой пролином области, необходимой для белка, чтобы осуществлять свою проапоптотическую роль. Это ведет к трансляции двух функционально и биохимически различных вариантов белка TP53: с аргинином или пролином в 72-м кодоне области, богатой пролиновыми остатками, которая вовлечена в апоптотическую деятельность TP53[6].

Целью настоящего исследования явился анализ аллельных состояний генов-онкосупрессоров *RB*, *TP53* при онкопатологии.

Материалы и методы. В работе использованы образцы ДНК 286 человек проживающих в РБ, из которых 113 здоровых индивидов безотягощенного онкологического анамнеза и 164 онкологических больных(88-больные РМЖ, 76-больные раком ЖКТ). Анкетирование и сдача венозной крови для проведения генетических исследований проводилось с согласия исследуемых людей.

Генотипирование проводилось с использованием метода ПЦР-ПДРФ. Для проведения ПЦР использовали амплификатор «Терцик» фирмы «ДНК технология». Результаты ПЦР детектировались методом вертикального электрофореза в 30%-ном полиакриламидном геле.

Статистическая обработка данных проведена с помощью программного обеспечения MS Excel 2013 (Microsoft), таблиц сопряженности 2x2 (с поправкой Иэйтса). Различия между параметрами считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Проведен анализ полиморфных вариантов генов системы онкосупрессии в отношении риска развития онкопатологии. Прежде, чем проводить анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфных локусов изучаемых генов определяли существуют ли различия в распределении частот генотипов и аллелей исследуемых генов между больными раком молочной железы и раком желудочно-кишечного тракта. Так сравнительный анализ распределения частот генотипов и аллелей гена *TP53* (*rs1042522*) не показал достоверных различий между группами больных РМЖ и раком ЖКТ (табл.1).

Таблица 1

Сравнительная характеристика распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса (*rs1042522*) гена *TP53* у онкобольных с различной локализацией опухоли

Генотип /аллель	Все виды локализаций		Рак ЖКТ n=76		РМЖ n=88		p (χ^2) (между РМЖ и раком ЖКТ)
	n	$p_i \pm s_p$	n	$p_i \pm s_p$	n	$p_i \pm s_p$	
GG	87	0,53±0,04	39	0,51±0,06	48	0,55±0,05	0,79 (0,07)
GC	57	0,35±0,04	28	0,37±0,06	29	0,33±0,05	0,72 (0,13)
CC	20	0,12±0,03	9	0,12±0,04	11	0,12±0,04	1,0005 (0,0005)
*G	231	0,70±0,03	106	0,70±0,04	125	0,71±0,03	0,89 (0,02)
*C	97	0,30±0,03	46	0,30±0,04	51	0,29±0,03	0,89 (0,02)

Полученные результаты можно объяснить тем, что ген *TP53* является одним из ключевых генов-супрессоров опухолевого роста, функция которого направлена на ограничение вероятности возникновения генетически нестабильных клеток [1]. При активации *TP53* клеточный цикл и репликация ДНК прекращаются; при сильном негативном сигнале – происходит апоптоз [2].

Сравнительный анализ генетической структуры группы здоровых и онкобольных по гену TP53 не проводился, т.к. группа контроля изначально состояла из носителей «нормальных» аллелей гена TP53.

При сравнительном анализе распределения частот генотипов и аллелей гена RB (*rs137853294*) достоверных различий между группами больных РМЖ и раком ЖКТ также не было обнаружено (табл.2). Согласно литературным данным, это может быть связано с тем, что белок RB исполняет роль супрессора при образовании опухолей - препятствуя пролиферации и способствуя окончательной дифференцировке клеток [6].

Таблица 2

Сравнительная характеристика распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса (*rs137853294*) гена RB у онкобольных с различной локализацией опухоли

Генотип /аллель	Все виды локализаций		Рак ЖКТ n=76		РМЖ n=88		p (χ^2) (между РМЖ и раком ЖКТ)
	n	$p_i \pm s_p$	n	$p_i \pm s_p$	n	$p_i \pm s_p$	
CC	14	0,08±0,01	6	0,08±0,02	8	0,09±0,02	0,9752 (0,015)
CG	93	0,58±0,03	42	0,55±0,04	51	0,58±0,04	0,7322 (0,1177)
GG	51	0,32±0,03	26	0,34±0,04	25	0,28±0,03	0,5821 (0,3033)
*C	121	0,38±0,02	54	0,37±0,04	67	0,4±0,03	0,6146 (0,2539)
*G	195	0,62±0,02	94	0,63±0,04	101	0,6±0,03	0,6146 (0,2539)

Для дальнейшего анализа ассоциаций группа больных РМЖ и раком ЖКТ составили одну группу – онкобольные (n=164). Для полиморфного локуса *rs137853294* гена RB установлена следующая закономерность (табл 3): было выявлено статистически значимое повышение гомозиготного генотипа GG ($p=0,0005, \chi^2=23,37$).

Таблица 3

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта гена *RB* *rs137853294* у здоровых индивидов и в группе с онкопатологией

Ген	Полиморфный вариант	Генотип/аллель	Группа здоровых индивидов		Онкобольные		p (χ^2)
			n	$p_i \pm s_p$	n	$p_i \pm s_p$	
<i>RB</i>	<i>rs137853294</i> (C/G)	CC	0	0	14	0,09±0,01	0,0045 (8,46)
		CG	105	0,93±0,02	97	0,59±0,03	0,0005 (36,96)
		GG	8	0,07±0,02	53	0,32±0,02	0,0005 (23,37)
		*C	105	0,46±0,02	125	0,38±0,02	0,0611 (3,51)
		*G	121	0,54±0,02	203	0,62±0,02	0,0611 (3,51)

Повышение частоты генотипа *GG* у онкобольных связано со снижением способности к взаимодействию и активации транскрипции генов-мишеней, а также низкой эффективностью апоптоза, тогда как *CC* форма индуцирует клеточный цикл в фазе *G1*, что определяет клеточную пролиферацию [6].

Инактивация *Rb* ослабляет работу сверхочной точки *G1*, не влияя на *G2*, и не блокируя *tp53*. Одновременная модификация белков *tp53* и *Rb* приводит к срыву механизмов контроля в регуляции клеточного цикла. Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о ключевой роли аллельного состояния генов системы онкосупрессии в формировании риска злокачественной трансформации клетки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Копнин Б.П. Опухолевые супрессоры и мутаторные гены// Российский онкологический научный центр им.Н.Н.Блохина РАМН, Москва,2005.

2. Чумаков П.М. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме. М: Успехи биологической химии, 2007, т. 47, 2007, с. 3–52
3. Buchkovich K.; Duffy L. A. and Harlow E.: The retinoblastoma protein is phosphorylated during specific phases of the cell cycle. // Cell. 1989. V. 58. P. 1097-1105
4. Dietmar R. Lohmann, Martin Gerick, Birgit Brandt, Ulrich Oelschlaeger, Birgit Lorenz. Constitutional RB1 -Gene Mutations in Patients with Isolated Unilateral Retinoblastoma. Am. J. Hum. Genet. 61:282-294, 1997.
5. Dumont P., Leu J.I., Della Pietra A.C. et al. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential // Nat. Genet. 2003. V. 33 (3). P. 357—365.
6. Lee W.H., Lee E.Y.: The retinoblastoma gene: from its basic understanding as a signal mediator for growth and differentiation to its use in the treatment of cancer. // Gan To Kagaku Ryoho. 1997. V. 24. P. 1368-1380.
7. Soussi T., Fromental C., May P. // Oncogene. 1990. V.5. P.945-952.

УДК 575.174.015.3

**АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ
СЕРОТОНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ 5-*HTR2A* И 5-*HTR2C*
ПОКАЗАТЕЛЯМИ ТРЕВОЖНОСТИ У СТУДЕНТОВ**

Ю.Д.Давыдова, О.В.Гумерова

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы», г.Уфа

Ключевые слова: рецептор, серотонин, полиморфизм, тревожность, студенты.

Краткая аннотация. Проведена оценка роли полиморфных вариантов генов 5-*HTR2A* (A-1438G) и 5-*HTR2C*(G68C), ответственных за рецепцию серотонина, в развитии тревожности у студентов.

Введение. В современном мире тревожные расстройства являются одними из самых распространенных нарушений психического здоровья людей, о чем говорят результаты международных исследований ВОЗ [1]. Только за 2010 год они были выявлены у 14% населения развитых стран [2]. Тревожность определяется как переживание эмоционального дискомфорта, обусловленного ожиданием неблагоприятного развития событий и предчувствием грозящей опасности, и включает в себя как физиологические, так и поведенческие симптомы. Физиологические симптомы включают в себя усиление сердцебиения, учащение дыхания, повышение артериального давления. На поведенческом уровне тревога проявляется как напряжение, нервозность и чувство неопределенности. Изначально тревога представляет собой адаптивное поведение, помогающее индивиду избегать возможную опасность, но в определённых условиях тревожное поведение приобретает патологические черты и снижает приспособленность организма [3]. Состояние тревожности в процессе обучения определяет поведение студента. Обычно высокотревожные студенты - это неуверенные в себе люди и постоянно испытываемое ими чувство страха перед неизвестным ведет к тому, что они не проявляют инициативу в образовательной среде. В этом случае тревожность мешает самореализации и это может послужить важным фактором в развитии депрессии или невроза. Низкая тревожность у студентов, наоборот, требует повышения внимания к мотивам деятельности и повышения чувства ответственности. Но иногда очень низкая тревожность является результатом активного вытеснения личностью высокой тревоги с целью показать себя в «лучшем свете», что также неблагоприятно и является дезадаптивной реакцией [4].

Предполагают, что причиной тревожной симптоматики являются нарушения нейромедиаторных систем мозга. Одним из классических медиаторов мозга, регулирующих различные виды поведения и физиологические процессы, является серотонин (5-HT). Поразительная

полифункциональность серотонина обусловлена, прежде всего, наличием многочисленных рецепторов, опосредующих воздействие этого медиатора на нейроны [5].

В настоящее время идентифицировано 14 типов *5-HTR* рецепторов, экспрессирующихся в мозге млекопитающих [6]. Ген рецептора серотонина типа *2A* (*5-HTR2A*), рассматривается как возможный участник патогенеза тревожного расстройства. В результате системного скрининга полиморфных вариантов гена *5-HTR2A* была выявлена однонуклеотидная замена в промоторе в положении *A-1438G* (*rs6311*), ведущая к синтезу низкочувствительного белкового рецептора [7]. При изучении полиморфного варианта *A-1438G* были выявлены достоверные различия на уровне тенденции между распределением генотипов локусов среди пациентов с диссоциативными расстройствами, больных с расстройствами адаптации и психически здоровых людей, что, возможно, свидетельствует о его вкладе в развитие невротических психических расстройств [8].

Рецепторы серотонина типа *2C* (*5-HTR2C*) участвуют в регуляции настроения, сна, аппетита, сексуальных функций, сердечно-сосудистой системы. Показана ассоциация локуса *G68C* (*rs6318*) гена *5-HTR2C* с депрессивным расстройством [9] и суицидным поведением [10]. В то же время практически ничего не известно о вовлечении *5-HTR2C* рецепторов в механизмы тревожного поведения.

Исходя из этого, **целью** данной работы явилось исследование взаимосвязи полиморфных вариантов генов серотониновых рецепторов *5-HTR2A* (*A-1438G*) и *5-HTR2C* (*G68C*) с показателями тревожности у студентов, у которых не наблюдается явных психологических отклонений.

Материалы и методы. *Материалом* исследования служили образцы ДНК 109 студентов, обучающихся в ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М.Акмиллы». Все они были протестированы для определения показателей тревожности.

Оценку уровня тревожности проводили с помощью методики Ч.Д. Спилбергера в адаптации Ю.Л. Ханина. Методика включает 2 части по 20

вопросов каждая. Первая часть определяет уровень ситуативной тревожности (СТ), вторая – личностной тревожности (ЛТ). Результаты диагностики обрабатываются по ключу. Затем подсчитывается сумма баллов по каждой шкале. Полученная сумма позволяет судить об уровне тревожности: до 30 баллов – низкий уровень тревожности; 31-44 баллов – умеренный уровень тревожности; 45 и более баллов – высокий уровень тревожности [4].

Выделение ДНК проводилось с помощью метода фенольно-хлороформной экстракции [11].

Анализ полиморфных вариантов генов *5-HTR2A* и *5-HTR2C* проводили с помощью рестрикционного анализа продуктов амплификации.

Условия проведения ПЦР. Амплификацию проводили в растворе объемом 9,2 мкл, содержащем 1,5 мкл ПЦР-mix, 3,5 мкл H_2O , 4 мкл праймеров, 1,2 мкл ДНК. Полиморфные варианты анализируемых ДНК-локусов, последовательности праймеров и номенклатура аллелей представлены в таблице 1. Размеры продуктов амплификации и последующей рестрикции исследовали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле.

Таблица 1

Полиморфные варианты, последовательности праймеров и номенклатура аллелей анализируемых ДНК-локусов

Ген (локализация), полиморфизм	Праймеры (5' -> 3') и рестриктаза	Аллели, п.о.
5-HTR2A (13q14-21), A-1438G	F: AAG CTG CAA GGT AGC AAC AGC R: AAC CAA CTT ATT TCC TAC CAC рестриктаза <i>MspI</i>	*A – 468 *G – 244+224
<i>HTR2C</i> (Xq23), G68C	F: TTG GCC TAT TGG TTT GGG AAT R: GTC TGG GAA TTT GAA GCG TCC AC рестриктаза <i>HinfI</i>	*G – 104 *C – 86+18

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения MS Excel 2013 (Microsoft), таблиц сопряженности 2x2 (с поправкой Йэйтса) и критерия χ^2 .

Результаты и обсуждение. Было проведено добровольное тестирование студентов по методике самооценки уровня тревожности Ч.Д. Спилбергера и Ю.Л. Ханина. В общей выборке по шкале ситуативной тревожности средние показатели встречались с частотой 67,28%, высокие показатели с частотой 22,84%, низкие – 9,88%. По шкале личностной тревожности средние показатели выявлены у 58,39% испытуемых, высокие показатели – у 34,16% испытуемых, низкие – 7,45%.

Исходя из полученных данных, установлено, что высокие показатели ситуативной и личностной тревожности чаще встречаются у студентов 5-го курса (с частотой 43,75% по двум шкалам). Низкие показатели ситуативной тревожности чаще встречаются у студентов 4-го курса (с частотой 16,67%), а по личностной тревожности – у студентов 1-го курса (частота 15,80%). Процент средних показателей по тесту по шкалам ситуативной и личностной тревожности выше у студентов 2-го курса (82,50% и 62,00% соответственно).

При молекулярно-генетическом анализе полиморфных локусов распределение частот генотипов и аллелей в исследованной выборке было следующим. По гену 5-*HTR2A* генотип **A/*A* встречался с частотой 30,10%; **A/*G* – 45,63%, **G/*G* – 24,27%, частота аллеля **A* – 52,91%, **G* – 47,09%; по гену 5-*HTR2C* генотип **G/*G* встречался с частотой 79,57%, **G/*C* – 15,05%, **C/*C* – 5,38%, частота аллеля **G* – 87,10%, **C* – 12,90%.

Для проведения анализа полиморфных локусов исследуемых генов вся выборка была разделена на 3 группы в соответствии с показателями тревожности [4]. Ситуативная и личностная тревожность анализировались отдельно. Распределение частот генотипов и аллелей в изученных группах представлено на рисунках 1-2.

При попарном сравнении частот генотипов и аллелей по полиморфному маркеру 5-*HTR2A* (*A-1438G*) между различными экспериментальными группами статистически значимого различия не было установлено (рис. 1). Во всех случаях уровень значимости p был выше критической отметки ($p > 0,05$).

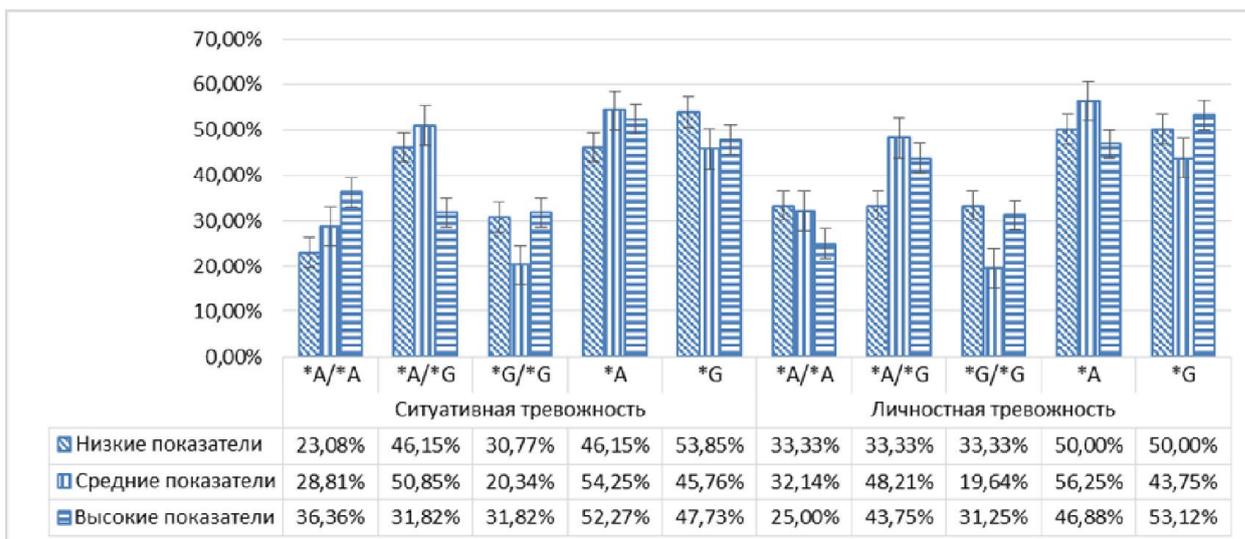


Рис. 1. Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфному маркеру *5-HTR2A (A-1438G)* в группах с низкими, средними и высокими показателями.

Достоверное статистически значимое различие также не было установлено для распределения частот генотипов и аллелей по полиморфному маркеру *5-HTR2C (G68C)* и уровень значимости p был выше критической отметки 0,05 (рис. 2).

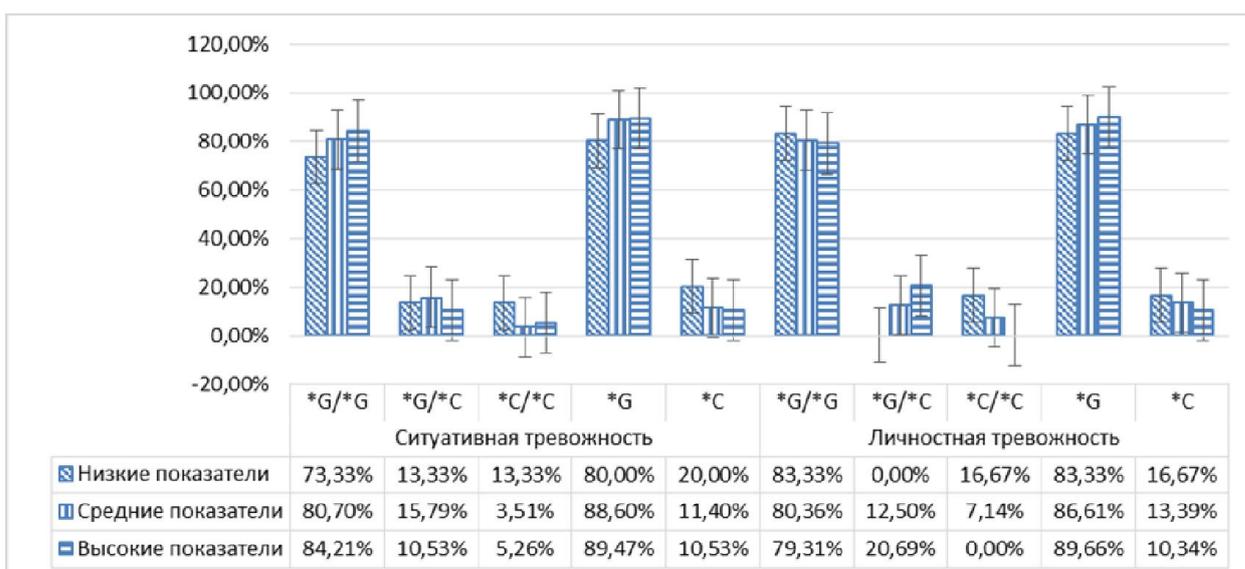


Рис. 2. Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфному маркеру *5-HTR2C (G68C)* в группах с низкими, средними и высокими показателями.

В ходе проведённого ранее исследования было выявлено, что полиморфные варианты генов, отвечающих за биосинтез (*TPH1*, *TPH2*) и деградацию (*MAO-A*) серотонина, вносят определённый вклад в развитие тех или иных различий по показателям тревожности [12]. Установлено, что комплекс из высокоактивного фермента биосинтеза серотонина триптофангидроксилазы с низкоактивным ферментом деградации моноаминоксидазой-А будет приводить к накоплению серотонина в синаптической щели. На психологическом уровне это будет проявляться в повышении показателей ситуативной тревожности. При наличии комплекса из низкоактивного фермента триптофангидроксилазы с высокоактивным ферментом деградации будет наблюдаться обратная картина – концентрация серотонина будет снижена и это приведёт к понижению показателей ситуативной тревожности.

Так как статистически значимых различий в ходе исследования рецепторов серотонина типа *2A* и *2C* не было выявлено, можно выдвинуть предположение, что в этиологии тревожного поведения рецепторное звено задействовано в меньшей степени, но в совокупности с изменениями на этапах биосинтеза и деградации может модифицировать психологическую сферу индивида.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Kessler R.C. The WHO World Mental Health (WMH) Surveys / R.C. Kessler, S. Aguilar-Gaxiola, J. Alonso // *Psychiatrie (Stuttg)*, 2009. – Vol. 6. – № 1. – P. 5-9.
2. Griebel G. 50 years of hurdles and hope in anxiolytic drug discovery / G. Griebel, A. Holmes/ *Nat Rev Drug Discov*, 2013. – Vol. 12. – № 9. – P. 667-87.
3. Галямина А.Г. Исследование взаимосвязи депрессии и тревожности в развитии смешанного тревожно-депрессивного расстройства: фармакологический подход [Текст]: дис. на соиск. учен. степ. докт. биол.

- наук (03.03.01) / Галямина Анна Георгиевна // Российская академия наук. – Новосибирск, 2015. – 120 с.
4. Барканова О.В. Методики диагностики эмоциональной сферы: психологический практикум [Текст] / О.В. Барканова // Красноярск: Литера-принт., 2009. – Вып.2. – с. 215-222.
 5. Науменко В.С. Серотониновые рецепторы и функциональные межрецепторные взаимодействия в пластичности серотониновой системы мозга, терморегуляции и регуляции поведения [Текст]: автореф. дис. на соиск. учен.степ. докт. биол. наук (03.03.01) / Науменко Владимир Сергеевич // Российская академия наук. – Новосибирск, 2012. – 31 с.
 6. Маренина М.К. Фармакокоррекция стресс-индуцированной тревожной депрессии у животных новыми агентами на основе терпеновых соединений [Текст]: дис. на соиск. учен.степ. канд. биол. наук (14.03.06) / Маренина Мария Константиновна // Российская академия наук. – Томск, 2014. – 105 с.
 7. Коробейникова Л.А. Генетические основы предрасположенности к паническому расстройству [Текст] / Л.А. Коробейникова // Успехи современной биологии, 2012. – том 132. – № 1. – с.21-35.
 8. Рядовая Л.А. Изучение полиморфных вариантов гена рецептора серотонина типа 2A 5-HT_{2A} при пограничных психических расстройствах [Текст] / Л.А. Рядовая, Е.В. Гуткевич, О.М. Лаврушина, С.А. Иванова, В.Я. Семке // Сибирский вестник психиатрии и наркологии, 2007. – № 4. – с. 12-15.
 9. Massat I. HTR2C (Cys23Ser) polymorphism influences early onset in bipolar patients in a large European multicenter association study / I. Massat, B. Lerer, D. Souery // Mol. Psychiatry, 2007. – № 12. – P. 797–798.
 10. Videtic A. Promoter and functional polymorphisms of HTR2C and suicide victims // A. Videtic, T.T. Peternelj, T. Zupanc, J. Balazic, R. Komel // Genes Brain Behav, 2009. – № 8. – Vol.5. – P. 541–545.

11. Mathew C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA // *Methods in Molecular Biology*, 1985. –V.2.
12. Давыдова Ю.Д. Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов серотонинергической системы с показателями тревожности у студентов [Текст] / Ю.Д. Давыдова, О.В. Гумерова // Труды научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «День ДНК-2015», 2015. – с.10-15.

УДК 576.08

**ДЕФЕРОКСАМИН И ХЛОРИД КОБАЛЬТА (II) ИНДУЦИРУЮТ
ДНК-СВЯЗЫВАЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ HIF-1 α**

Т.В. Иванова, Э.Г. Закирова

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Н.С. Хуснутдинова, Ю.В. Вахитова

ФГБУН ИБГ УНЦ РАН

Ключевые слова: хлорид кобальта (II), дефероксамин, гипоксия, HIF-1 α .

Введение. Гипоксия – типичный патологический процесс, развивающийся в результате недостаточного снабжения тканей кислородом или нарушения использования кислорода тканями. В случае гипоксии возникает состояние энергетического дефицита, приводящее к закономерным метаболическим, функциональным и морфологическим нарушениям, вплоть до гибели клеток [1]. Для уменьшения гипоксии пользуются фармакологическими средствами и методами, улучшающими доставку в организм кислорода, и важную роль в этих процессах играет кислород-чувствительный транскрипционный фактор HIF-1 α .

Активация HIF-1 α происходит в присутствии миметиков гипоксии хлорида кобальта (II) (CoCl₂) и дефероксамина (DFO), которые широко

используются для изучения моделируемой гипоксии *in vitro*. Дефероксамин является хелатирующим веществом, которое образует комплексы путем присоединения ионов трехвалентного железа, а хлорид кобальта (II) способен более прочно связываться с гемом, чем железо, тем самым имитируя процессы, которые происходят при гипоксии [2].

Целью исследования является поиск рабочих концентраций специфических индукторов (CoCl₂ и DFO) транскрипционного фактора HIF-1 α .

Материалы и методы исследования. В работе использовались клетки линии HEK293 (клетки почки эмбриона человека; Российская коллекция клеточных культур, Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург). Клетки культивировали при 37°C при 5 % CO₂ в среде DMEM («Биолот», Россия), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки («Sigma», США), 2 mM L-глутамин, 50 мкг/мл гентамицина сульфата («ПанЭко», Россия).

Для проведения трансфекции клетки линии HEK293 рассаживали в количестве 4×10³ клеток на лунку в 96-луночных планшетах в 100 мкл в среде без антибиотика DMEM, содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 2 mM L-глутамин. Репортерная векторная конструкция, содержащая сайт связывания для транскрипционного фактора HIF-1 получена на основе плазмидного вектора pTL-Luc («Panomics», США; несет ген люциферазы *Photinus pyralis*) [3].

Клетки HEK293 транзientно трансфицировали данной конструкцией с помощью реагента Липофектамин 2000 («Invitrogen», США) согласно рекомендациям изготовителя.

Экспериментальное моделирование гипоксии осуществляли с использованием DFO и CoCl₂, которые вызывают стабилизацию HIF-1 α , т.е. являются фармакологическими индукторами гипоксии [4]. Люциферазная конструкция для анализа активности HIF-1 содержит 4 копии консенсусной последовательности 5' ACGTG 3', являющейся сайтом связывания для белка HIF-1 (конструкция HIF-1-Luc). После трансфекции указанной репортерной

конструкцией добавляли индукторы в различных концентрациях – DFO (10 мкМ, 50 мкМ, 100 мкМ) и CoCl₂ (50 мкМ, 100 мкМ, 200 мкМ) с последующей инкубацией в течение 8 часов. Контрольные клетки трансфецировали репортерным вектором, не несущим каких-либо вставок (контрольный вариант TA-Luc) и также добавляли индукторы (TA-Luc+CoCl₂ и TA-Luc+DFO). Детекцию люциферазной активности в клеточных лизатах проводили с помощью набора «Dual Luciferase Reporter Assay System» («Promega», США) на планшетном анализаторе «2300 EnSpire® Multimode Plate Reader» («Perkin Elmer», США). В качестве внутреннего контроля трансфекции применяли ко-трансфекцию с плазмидой pRL-ТК («Promega», США), кодирующей ген люциферазы *Renilla reniformis*. Значения люминесценции для *Photinus pyralis* нормировали по люминесценции для *Renilla reniformis* в каждом измерении.

Работа выполнена на базе лаборатории молекулярной фармакологии и иммунологии Института биохимии и генетики УНЦ РАН.

Результаты и обсуждения. Данные, представленные на рисунке 1А, свидетельствуют о том что, при 8 часовой инкубации с дефероксамином в концентрации 100мкМ отмечается повышение ДНК-связывающей активности транскрипционного фактора HIF-1α по сравнению с контролем в 1.7 раз.

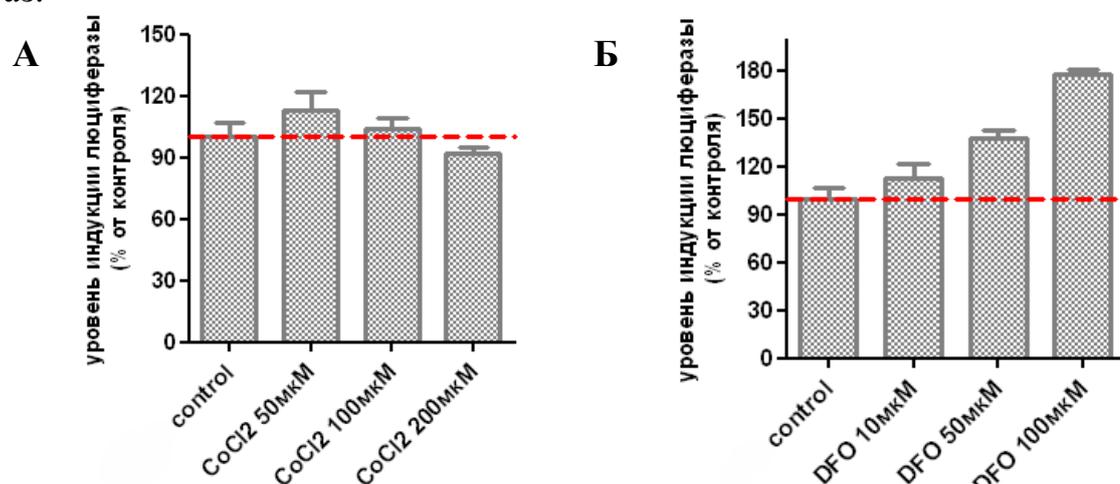


Рис.1. Оценка функциональной активности репортерных конструкций, содержащих сайты связывания транскрипционного фактора HIF-1α,

трансфицированного в клетки HEK293. Данные представлены в виде среднего арифметического \pm стандартная ошибка среднего (n=3).

В тоже время концентрация 50мкМ хлорида кобальта (II) в наших экспериментальных условиях, приводит к индукции HIF-1 α транскрипционной активности только в 1.2 раза (рис.1Б). Кроме того, увеличение концентрации CoCl₂ приводит к ингибированию активности изучаемого транскрипционного фактора, что, на наш взгляд, является следствием токсичности данного вещества.

Таким образом, для дальнейших исследований в качестве фармакологического миметика гипоксии нами был выбран дефероксамин в концентрации 100 мкМ.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Малкова Я. Г. Использование различных моделей гипоксии в экспериментальной фармакологии [Текст] / Я. Г. Малкова, Г. П. Кальченко // Молодой ученый. — 2010. — №3. — С. 318-319.
2. D.G. Nagle, Yu-Dong Zhou, *Curr. Pharm. Des.*, **12**(21), 2673-2688 (2006).
3. Salimgareeva M.Kh., Sadovnikov S.V., Farafontova E.I., Zaïnullina L.F., Vakhitov V.A., Vakhitova Y.V. // *Prikl Biokhim Mikrobiol.* 2014. V. 50. № 2. P. 219-225.
4. Piret J.P., Mottet D., Raes M., Michiels C. // *Ann. NY Acad Sci.* 2002. V. 973. P. 443 - 447.

УДК 575.162

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА
ПЕРЕНОСЧИКА СЕРОТОНИНА (SLC6A4) У ЛИЦ С РАЗЛИЧНЫМ
УРОВНЕМ ВЕРБАЛЬНОГО ИНТЕЛЛЕКТА**

А.Б. Исрафилова, О.В. Гумерова.

ФБГОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: вербальный интеллект, ген SLC6A4.

Краткая аннотация: Проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса 5-HTTLPR гена переносчика серотонина (SLC6A4) в выборке студентов с разным уровнем вербального интеллекта. Показано преобладание низкоактивного аллеля SLC6A4*S в группе студентов с низким уровнем вербального интеллекта.

Введение: Ген SLC6A4 (solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter), member 4) - кодирует интегральный мембранный белок, который транспортирует нейромедиатор серотонина. Основная функция в регулирование серотонинергической передачи сигналов с помощью переноса молекулы серотонина из синаптической щели обратно в пресинаптический нейрон. Синонимы гена НТТ или SERT. Ген расположен на 17 хромосоме в позиции q11.2. Количество экзонов – 14, интронов – 13 [1].

В гене SLC6A4 обнаружено более 170 сайтов нуклеотидного полиморфизма, преимущественно в промоторной области или в интронах, а также два участка варьирующего размера. Первый – 44-нуклеотидная последовательность в промоторе, приблизительно за 1 т.п.н. до старта транскрипции. Это последовательность может присутствовать или отсутствовать, приводя к существованию двух вариантов данного промотора: длинного и короткого (L и S, соответственно). Показано, что S-промотор менее эффективен и обуславливает понижение содержания транспортера

серотонина. При нарушении молекулярного механизма передачи медиатора серотонина могут возникать различные психологические расстройства, такие как стресс, агрессивное поведение, суицидальные наклонности, депрессия, шизофрения, также на образование и успешное обучение [2].

Ранее сотрудниками кафедры была показана взаимосвязь данного полиморфного локуса с уровнем невербального интеллекта [3]. В данной работе проведен анализ распределения частот генотипов и аллелей данного полиморфного локуса с показателями вербального интеллекта, который рассматривается как интегральное образование, функционирование которого осуществляется в словесно-логической форме с опорой преимущественно на знания [4].

Материалы и методы исследования. Образцы ДНК 54 студентов были предоставлены лабораторией Центра молекулярно-генетических исследований Башкирского Государственного Педагогического университета им. М. Акмуллы, где и были проведены исследования. Выборка была разделена на 3 группы: с высоким, со средним и низким уровнем вербального интеллекта, на основе теста Х. Айзенка [5].

Образцы ДНК получены из 10 мл венозной крови человека. ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции [6]. Анализ полиморфных локусов проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК. ПЦР производилась на амплификаторе «Терцик» с использованием ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* производства фирмы «Силекс». Для амплификации участка ДНК, содержащего полиморфизм 5-HTTLPR в гене SLC6A4, использовались следующие праймеры:

5HTT F –CAATGTCTGGCGCTTCCCCTACATAT;

5HTT R -GACATAATCTGTCTTCTGGCCTCTCAAG.

Ожидаемые длины продуктов амплификации 300 и 256 п.н. для аллелей *L и *S соответственно. ПЦР проводили по следующей программе:

1) 94С, 1 минута -1 цикл;

2) 94С -30 с, 65С -30 с, 72С - 30 с. - 35 циклов;

3) Хранение: +10С.

Детекцию продуктов проводили с помощью электрофореза в 3% агарозном геле в присутствии 0,00001 % бромистого этидия.

Наблюдаемые частоты встречаемости генотипов исследованного локуса проверяли на отклонение от равновесия Харди-Вайенберга. Сравнение распределения частот аллелей и генотипов в обследованных группах проводили методом 2*2 (с поправкой Йейтса). Статистически достоверными считали различия при $p < 0,0005$.

Результаты и обсуждение. Проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса SLC6A4 (5-HTTLPR - полиморфизма) среди студентов с разным уровнем вербального интеллекта. В исследованной выборке найдено три генотипа (*L/*L, *L/*S, *S/*S) и два аллеля (*L, *S).

В группе с высоким уровнем интеллектуального развития (выше 130 баллов) установлено следующее распределение частот аллелей и генотипов: *L – 62,5%, *S – 37,5%, *L/*L -33,3% , *L/*S – 58,3%, *S/*S – 8,4%.

В группе со средними значениями вербального интеллекта (от 110 до 130 балла) частоты распределились следующим образом: *L – 65,5%, *S – 34,5%, *L/*L – 44,8% , *L/*S - 41,8 % , *S/*S – 13,4%.

В группе с низкими показателями вербального интеллекта (ниже 110 баллов) распределение частот составило: *L – 41,3%, *S – 58,7%, *L/*L – 13,1% , *L/*S - 56,5%, *S/*S - 30,4%.

Проведен попарный анализ распределения частот генотипов и аллелей в зависимости от уровня вербального интеллекта. При сравнении групп с низким и средним уровнем вербального интеллекта установлено достоверное различие в распределении частот аллелей ($p=0,0239$). Показано достоверно повышение частоты низкоактивного аллеля SLC*S в группе с низким уровнем интеллекта (58,7%) по сравнению с группой со средними значениями признака (34,5%). Изучение распределения частот генотипов в

обследованных группах показало достоверное снижение частоты гомозиготного по высокоактивному аллелю генотипа *L/*L в группе с низким уровнем интеллекта ($p=0,0307$). Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта rs25531 гена SLC6A4 с низким и средним уровнем интеллекта

ДНК-локус	Генотипы / аллели	Низкий уровень интеллекта (ниже 110)		Средний уровень интеллекта (от 110 до 130)		$p(\chi^2)$
		n	p, %	n	p, %	
SLC6A4 rs25531	LL	3	13,1	13	44,8	0,0307 (4,6830)
	LS	13	56,5	12	41,8	0,4208 (0,6501)
	SS	7	30,4	4	13,4	0,2647 (1,2494)
	L	19	41,3	38	65,5	0,0239 (0,51344)
	S	27	58,7	20	34,5	

Между группами со средним и высоким уровнем вербального интеллекта достоверных различий в распределении частот генотипов и аллелей не выявлено (таблица 2). Изучение распределения частот генотипов в обследованных группах показало преобладание гомозигот генотипа *L/*L (44,8% у группы со средним уровнем интеллекта) и гетерозигот *L/*S (44,8 % у группы с высоким значением интеллекта). Частоты аллелей в данных группах не отличаются друг от друга. Частота аллеля * L преобладает в двух

выборках (65,5% группы со средним уровнем интеллекта, 62,5 % в группе с высоким уровнем интеллекта).

Таблица 2

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта rs25531 гена SLC6A4 со средним и высоким уровнем интеллекта

ДНК-локус	Генотипы /аллели	Средний уровень интеллекта (от 110 до 130)		Высокий уровень интеллекта (больше 130)		p(χ^2)
		n	p, %	n	p, %	
SLC6A4 rs25531	LL	13	44,8	4	33,3	0,7406 (0,1103)
	LS	12	41,8	7	58,3	0,5182 (0,4182)
	SS	4	13,4	1	8,4	1,0005 (0,0005)
	L	38	65,5	15	62,5	0,9956
	S	20	34,5	9	37,5	(0,0005)

Между группами с низким и высоким уровнем вербального интеллекта достоверных различий в распределении частот генотипов и аллелей также не выявлено (таблица 3). Изучение распределения частот генотипов в обследованных группах показало преобладание гетерозигот генотипа *L/*S (56,5% у группы с низким уровнем интеллекта и 58,3 % у группы с высоким уровнем интеллекта) в обеих группах. Частоты аллелей достоверно не отличаются друг от друга. Частота аллеля *S преобладает у группы с низким уровнем интеллекта(58,7%), а частота аллеля *L больше в группе с высоким уровнем интеллекта (62,5%).

Таблица 3

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного варианта rs25531 гена SLC6A4 с низким и высоким уровнем интеллекта

ДНК-локус	Генотипы /аллели	Низкий уровень интеллекта (ниже 110)		Высокий уровень интеллекта (больше 130)		p(χ^2)
		n	p, %	n	p, %	
SLC6A4 rs25531	LL	3	13,1	4	33,3	0,3283 (0,9595)
	LS	13	56,5	7	58,3	1,0005 (0,0005)
	SS	7	30,4	1	8,4	0,2928 (1,1114)
	L	19	41,3	15	62,5	0,1525
	S	27	58,7	9	37,5	(2,0519)

Таким образом, результаты проведенного сравнительного анализа указывают на наличие ассоциации уровня вербального интеллекта с полиморфизмом гена SLC6A4. Установлено, что в группе индивидов с низким уровнем вербального интеллекта достоверно выше частота низкоактивного аллеля *S и снижена частота гомозиготного по высокоактивному аллелю генотипа *L/*L.

ЛИТЕРАТУРА

1. Генетическая база данных GeneCards [Электронный ресурс] / Режим доступа: <http://www.genecards.org/>, свободный. — Загл. с экрана. — Яз. англ.
2. Копытов А.В. Роль генетического полиморфизма транспортера серотонина 5 – HTTLPR в предрасположенность алкоголизма у мужчин молодого возраста (в белорусской популяции) [Текст] / Копытов А.В., Обьедков В.Г., Голоенко И.М. // В помощь практикующему врачу. 2012. №1 (42). – с.118-123.

3. Гумерова О.В. Генетическая обусловленность показателей интеллектуальной деятельности человека. [Текст]: автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. биол. наук /Гумерова Оксана Владимировна, БГПУ им. М. Акмуллы, Уфа, Россия – Уфа, 2007
4. Иванова С.А. Полиморфизм генов серотонинергической системы у детей и подростков тывинской популяции с расстройствами поведения [Текст] / Иванова С.А., Шмиголь М. В., Сандый-оол А. В., Левчук Л. А., Гаврилова В.А., Белокрылова М. Ф.// Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2011. № 1 (64). – с.42-45.
5. Вербальный тест интеллекта Г.Айзенка (Тест на IQ) / Альманах психологических тестов – М., 1995. С.35-46
6. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA // C. C. Mathew// Methods in molecular biology N.Y. 1984 V. 2. P. 31-34.

УДК616-006

**АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА *rs1799782*
ГЕНА *XRCC1* С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Казакова Т. Ю., Воробьева Е. В.

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: эксцизионная репарация оснований, полиморфизм, ген-онкосупрессор, *XRCC1* (*X-ray cross-complementing group I*).

Краткая аннотация. Проведен генетический анализ распределения частот генотипов и аллелей по полиморфному локусу *rs1799782* (*C/T*) гена *XRCC1*. В результате проведенного исследования выявлено достоверное повышение частоты генотипов *CC* и *CT*, а также аллеля **C* в выборке здоровых по сравнению с выборкой онкобольных индивидов ($p=0,0019$, $\chi^2=10,7$; $p=0,0005$, $\chi^2=17,9$; $p=0,0009$, $\chi^2=13,5$ соответственно).

Введение. На фоне общего загрязнения биосферы происходит интенсивное накопление мутагенов. Взаимодействие последних с генетическим аппаратом клеток приводит к возрастанию уровня повреждений ДНК, ускоряет мутационный процесс и увеличивает мутационный груз в природных популяциях и популяциях человека. Известно, что повреждения ДНК и возникшие на их основе генные и хромосомные мутации вносят существенный вклад в этиологию и патогенез различных заболеваний. Целостность и стабильность генома клеток поддерживается благодаря защитным механизмам, которые противостоят мутагенному давлению окружающей среды.

Одной из основных систем поддержания стабильности генетического материала является репарация ДНК, функционирование которой в норме обеспечивает восстановление повреждений в структуре ДНК [1]. Репарация – это сложный ферментативный процесс, контролируемый более 150 генами [2]. Гены репарации ДНК, как и другие гены, являются полиморфными. Полиморфизм генов эксцизионной репарации широко изучается в связи с риском канцерогенеза и других хронических заболеваний. Большинство повреждений ДНК удаляется белками эксцизионной репарации. Мутации в генах репарации ДНК приводят к тяжелой наследственной патологии, сопровождающейся хромосомной нестабильностью и злокачественными новообразованиями.

Особое место среди генов-супрессоров опухолевого роста занимают гены, кодирующие компоненты системы эксцизионной репарации ДНК, которые способны к восстановлению повреждений ДНК, возникающих в результате внешних (канцерогены, ксенобиотики и др.) и внутренних (ошибки репликации) воздействий, и удалению посредством апоптоза клеток, генетический аппарат которых не может быть восстановлен. Нарушения в генах репарационной системы приводят либо к снижению эффективности репарации, либо полностью подавляет репарационную активность. За счет

накоплений повреждений в ДНК, связанных с ослаблением системы репарации, увеличивается частота заболеваний раком [3].

Одним из ключевых генов репарационной системы является ген *XRCC1* (*X-ray cross-complementing group 1*). Ген *XRCC1* локализован на 19 хромосоме в локусе 19q13.2, включает 17 экзонов и кодирует белок состоящий из 633 аминокислот. Данный белок выступает важным регуляторным белком системы эксцизионной репарации оснований. Полиморфные варианты гена *XRCC1* влияют на эффективность репарации ДНК и ассоциированы с повышенным риском рака различных локализаций [4-6].

Цель настоящего исследования заключается в генетическом анализе аллельного состояния гена репарационной системы *XRCC1* в норме и при онкопатологии.

Материалы и методы. В работе были использованы образцы ДНК 286 индивидов, из которых 127 здоровых и 159 больных с различной локализацией опухоли.

Генотипирование проводили методом ПЦР-ПДРФ-анализа с последующей детекцией продуктов в 7 %- ПААГ. Для статистической обработки данных применялся критерий χ^2 , таблица сопряженности 2x2.

Результаты и обсуждение. При попарном сравнении частот аллелей и генотипов по полиморфному локусу *rs1799782* гена *XRCC1* в группах здоровых и онкобольных выявлено статистически значимое достоверное повышение частоты генотипов *CC* и *CT*, а также аллеля **C* в группе здоровых по сравнению с группой онкобольных индивидов ($p=0,0019$, $\chi^2=10,7$; $p=0,0005$, $\chi^2=17,9$; $p=0,0009$, $\chi^2=13,5$ соответственно). В группе онкобольных преобладал генотип *TT*, а также аллель **T* ($p=0,0005$, $\chi^2=32,3$; $p=0,0009$, $\chi^2=13,5$ соответственно).

Ген	Полиморфный вариант	Гено тип/ аллель	Здоровые		Онкобольные		p (χ^2)
			n	$p_i \pm s_p$	n	$p_i \pm s_p$	
<i>XRCC1</i>	<i>rs1799782</i> (C/T) <i>Arg194Trp</i>	<i>CC</i>	12	0,09±0,02	1	0,01±0,01	0,0019 (10,7)
		<i>CT</i>	75	0,59±0,04	53	0,3±0,03	0,0005 (17,9)
		<i>TT</i>	40	0,31±0,04	105	0,64±0,02	0,0005 (32,3)
		*C	87	0,43±0,02	54	0,17±0,02	0,0009 (13,5)
		*T	115	0,57±0,03	158	0,78±0,02	0,0009 (13,5)

Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о ключевой роли аллельного состояния гена *XRCC1* в формировании риска развития онкопатологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горбунова В. Н., Имянитов Е. Н. Генетика и канцерогенез//Методическое пособие для студентов медицинских вузов. СПбГПИМА, 2007. 24 с.
2. Tamer L, Ates N.A, Ates C, Ercan B, Elipek T, Yildirim H, Camdeviren H, Wood R. D., Mitchell M. and Lindahl T., Human DNA repair genes // Mutat. Res. Vol. 2005. 577. P. 275–283.
3. Минина В.И. , Дружинин В.Г., Лунина А.А., Ларионов А.В., Волков А.Н., Головина Т.А., Глушков А.Н. Исследование взаимосвязи между полиморфизмом генов репарации ДНК и частотой хромосомных аббераций в лимфоцитах крови человека// Экологическая генетика. Том IX. № 2. 2011, ISSN 1811–0932.
4. Тимофеева А. А., Минина В. И., Дружинин В. Г., Ларионов А. В. Молекулярно-генетический анализ полиморфизмов гена *XRCC1* у коренного и пришлого населения кемеровской области// Вестник КемГУ 2013 № 2 (54)
5. Уржумов П.В., Возилова А.В., Донов П.Н., Блинова Е.А., Аклеев А.В. Связь полиморфизма генов систем репарации ДНК с повышенным

уровнем хромосомных aberrаций у облученных лиц//Научно-практический рецензируемый журнал «Медико-биологические проблемы жизнедеятельности» № 1(11), 2014. 59с.

6. Thompson L.H., Brookman K.W., Jones N.J., Allen S.A., Carrano A.V. Molecular cloning of the human XRCC1 gene, which corrects defective DNA strand break repair and sister chromatid exchange. Mol Cell Biol. 1990 Dec; 10 (12):6160-71.

УДК 571.27

СУБЪЕДИНИЧНЫЙ СОСТАВ NMDA-РЕЦЕПТОРА Т-ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

А.Ф. Мухаррямова.

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Л.Ф. Зайнуллина, Ю.В. Вахитова.

ФГБУН ИБГ УНЦ РАН

Введение. Существуют сведения, что иммунная и нервная системы взаимосвязаны между собой через гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось, автономную нервную систему, иннервирующую лимфоидные органы посредством циркулирующих цитокинов, нейропептидов и нейромедиаторов. Последние, выступают в качестве иммуномодуляторов, действуя на уровне иммунокомпетентных клеток, обеспечивая межсистемные связи (Зайнуллина, 2013).

Ионотропные рецепторы глутамата, активируемые N- метил- D-аспаратом (NMDA-рецепторы) оказывают существенную роль в контроле процессов роста и развития нейронов, формирования и поддержания синаптической пластичности, проницаемости сопряженных с ними ионных каналов.

Структурно NMDA-рецептор представляет собой тетрамерный комплекс, формируемый комбинацией субъединиц GluN1, GluN2A→D, GluN3A→B, которые образуют ионный канал, высокопроницаемый для K^+ , Na^+ , Ca^{2+} . Комбинация субъединиц NMDA-рецепторов определяет такие его функциональные свойства как кинетика Ca^{2+} -токов, параметры активации/деактивации канала, сопряженность с различными системами сигнальной трансдукции и специфичность клеточного ответа (Mayer, 2005).

Целью данной работы является изучение экспрессии GluN1-субъединицы NMDA-рецепторов Т-лимфоцитов человека.

Материалы и методы. В качестве объекта исследований использовали Т-лимфоциты периферической венозной крови условно-здоровых доноров-добровольцев. Выделение фракции мононуклеаров осуществляли по методике градиентного центрифугирования в плотности фиколла (1.077г/см³) (Boyum, 1968). Изучение представленности субъединиц NMDA-рецепторного комплекса в цитоплазме Т-лимфоцитов проводили методом непрямого иммунофлуоресцентного окрашивания с моноклональными антителами к GluN1-субъединице NMDA-рецепторов с последующей окраской вторичными антителами. Интенсивность окрашивания детектировали с помощью проточного цитофлуориметра.

Результаты. Согласно полученным данным, в контрольной группе нестимулированных клеток присутствует незначительное содержание белков GluN1-субъединицы (в 2,8 раз больше связывания изотипических антител).

Стимуляция клеток через Т-клеточный комплекс в течение 48 часов, в нашей экспериментальной модели, приводит к увеличению уровня белков GluN1-субъединицы в 2.6 раза по отношению с таковым в нестимулированных клетках (рисунок1).

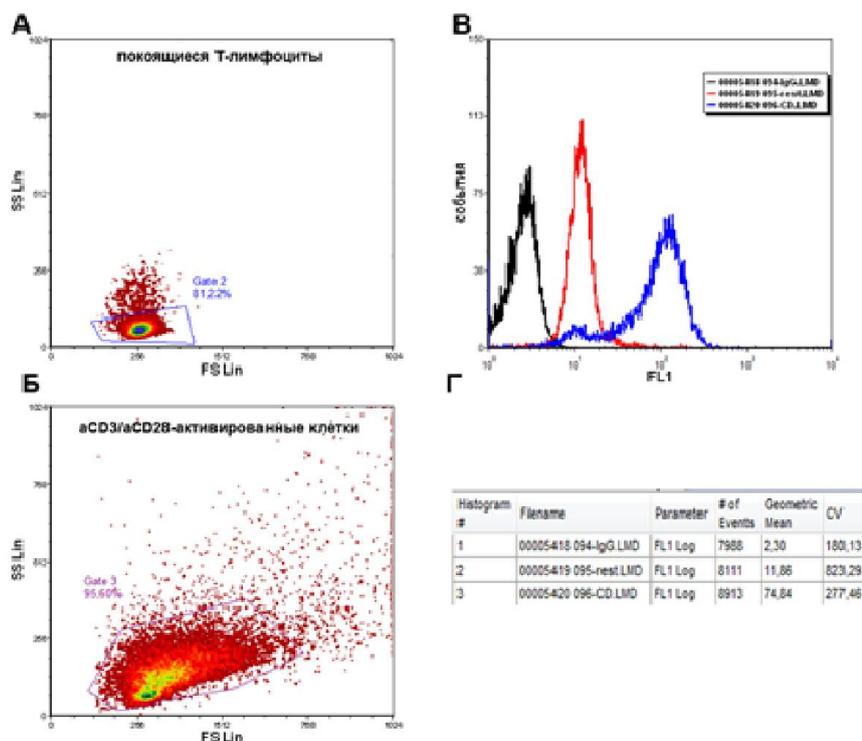


Рис.1 Первичные данные представленности GluN1-субъединицы NMDA-рецепторов в покое и антиген-стимулированных Т-лимфоцитах человека. (А) Диаграмма рассеяния размер/гранулярность покое Т-лимфоцитов. (Б) Диаграмма рассеяния размер/гранулярность аCD3/аCD28-стимулированных Т-лимфоцитов (2,5/1,25 мкг/мл; 48ч). (В) Гистограммы флуоресценции клеток, окрашенных контрольными и целевыми антителами, по каналу детекции в логарифмической шкале (FL1). (Г) Среднее геометрическое гистограмм контрольных и опытной групп.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зайнуллина Л.Ф. Диссертация на соискание научной степени кандидата биологических наук. Регуляция NMDA- рецепторами функций Т-лимфоцитов человека.- Уфа, 2013
2. Mayer, M.L. Crystal structures of the GluR5 and GluR6 ligand binding cores: molecular mechanisms underlying kainate receptor selectivity / Mayer, M.L. // Neuron. - 2005. - 45. - P. 539-52.
3. Boum, A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. Introduction/ Boum, A. // Scand J. Clin Lab Invest Suppl. – 1968- 97. – P. 7.

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ГЕНОВ
ЦИТОКИНОВОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ РМЖ**

Р.С. Рустямова. В. Э.М. Васильева

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: рак молочной железы, цитокиновая система, интерлейкин-4, IL-6.

Введение. Рак молочной железы (РМЖ)- злокачественное новообразование, развивающееся из клеток эпителия протоков и долек паренхимы железы. Возникновение рака определяет сложное взаимодействие между эндокринной и иммунной системами организма, воздействующих на трансформированные под влиянием различных канцерогенов клетки.

По данным экспериментальных исследований, одним из важных является изучение роли генов цитокиновой системы, который играет важную роль в клеточной пролиферации, апоптозе, воспалительной и аутоиммунной реакциях [1].

Цитокины принимают непосредственное участие в физиологических и патофизиологических реакциях организма, обеспечивая согласованное действие иммунной, эндокринной и нервной системы. Изменение уровня продукции цитокинов и особенности их синтеза у определенного индивида может лежать в основе ряда заболеваний. Несмотря на то, что современные представления о роли цитокинов как регуляторов иммунного ответа при опухолевой патологии крайне противоречивы, их роль в процессе онкогенеза не подвергается сомнению [2]. Показано, что гены цитокинов сопряженно активируются онкогенами при хромосомных абберациях и при ретровирусных инфекциях. При опухолевом росте нередко изменяется характер взаимодействий в системе «иммунокомпетентные клетки–

цитокины», что может лежать в основе нарушения механизмов реализации противоопухолевой защиты организма [3].

Продуцируемые Th2 лимфоцитами IL-4, IL-6, IL-10 стимулируют гиперпродукцию антител и направляют иммунный ответ по гуморальному типу, подавляя активность Th1-лимфоцитов, что в случае развития злокачественных опухолей приводит к угнетению цитотоксических клеток и Т-эффекторов гиперчувствительности замедленного типа, и способствует усилению роста опухоли за счет «экранирования» антигенных детерминант опухолевых клеток антителами [3].

Наиболее сильный эффект IL-4 оказывает на регуляцию образования других цитокинов при иммунном ответе. IL-4 ограничивает синтез макрофагами провоспалительных IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, TNF α , образование высокоактивных метаболитов кислорода, азота, усиливает дифференцировку в цитотоксические Т-клетки, активирует макрофаги. IL-4 предотвращает рост опухоли и стимулирует апоптоз опухолевых клеток в клеточных линиях в присутствии IL-4R. Ингибирующий эффект IL-4 обусловлен, как предполагается, снижением экспрессии онкогенов, блокадой клеточного цикла и усилением экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС) I и II классов на опухолевых клетках [4]. Показано, что IL-4 аналогично IL-6 играет важную роль в регуляции синтеза эстрогенов [5].

IL-6 регулирует дифференцировку В-лимфоцитов и усиливает антителообразование, индуцирует цитотоксичность клеток, не зависящую от экспрессии антигенов МНС. Наряду с выраженным провоспалительным действием он модулирует противоопухолевую активность макрофагов. IL-6 принимает участие в генерации ЛАК-клеток и защищает нейтрофилы от апоптоза, усиливая их цитотоксический потенциал в отношении опухолевых клеток. Однако показано, что IL-6 может индуцировать регрессию опухоли только на ранних этапах роста слабоиммуногенных опухолей, но не оказывает такого эффекта на рост иммуногенных опухолей на поздних

этапах их развития. Есть предположения, что при РМЖ IL-6 стимулирует экспрессию эстрогенов и, соответственно, усиливает пролиферацию опухолевых клеток [6]. И это подтверждается тем, что в подавляющем большинстве случаев опухолевая прогрессия при РМЖ сопровождается увеличением сывороточного уровня IL-6 [7].

Цель настоящего исследования заключается в генетическом анализе генов цитокиновой системы IL-4 и IL-6 в норме и при онкопатологии.

Материалы и методы. В работе использованы образцы ДНК 270 человек, проживающих в Республике Башкортостан. Из них 135 здоровых индивидов и 135 больных раком молочной железы, находившихся на стационарном лечении в ГБУЗ Республиканском клиническом онкологическом диспансере МЗ Республики Башкортостан.

Экстракция ДНК из периферической крови проводилась стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции.

Генотипирование проводили методом ПЦР-ПДРФ-анализа с последующей детекцией продуктов в 7 %- ПААГ. Для статистической обработки данных применялся критерий χ^2 , таблица сопряженности 2x2.

Результаты и обсуждение. При попарном сравнении частот аллелей и генотипов гена *IL-4* и *IL-6* в группах здоровых и онкобольных. Выявлено статистически значимое достоверное повышение частоты генотипов гена *IL-4*: V_1V_1 и V_1V_2 , а также аллеля $*V_1$ в группе здоровых по сравнению с группой онкобольных индивидов ($p=0,0017$, $\chi^2=10,2$; $p=0,0005$, $\chi^2=19,2$; $p=0,0008$, $\chi^2=13,5$ соответственно). В группе онкобольных преобладал генотип V_2V_2 , а также аллель $*V_2$ ($p=0,0005$, $\chi^2=28,3$; $p=0,0008$, $\chi^2=13,5$ соответственно).

IL-6: GG и GC, а также аллеля $*G$ в группе здоровых по сравнению с группой онкобольных индивидов ($p=0,0019$, $\chi^2=12,8$; $p=0,0009$, $\chi^2=21,2$; $p=0,0009$, $\chi^2=13,5$ соответственно). В группе онкобольных преобладал

генотип СС, а также аллель *С ($p=0,0007$, $\chi^2=24,5$; $p=0,0009$, $\chi^2=13,5$ соответственно).

Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о ключевой роли генов цитокиновой системы в формировании риска развития онкопатологии РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Соснина А.В., Великая Н.В., Аутеншлюс А.И. Роль цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований /–Новосибирск : Вектор-Бест, 2013. – 80 с.
2. Бабышкина Н.Н., Стахеева М.Н., Слонимская Е.М., Чердынцева Н.В., Гарбуков Е.Ю. Иммунологические параметры и уровень продукции цитокинов у больных с пролиферативными заболеваниями и раком молочной железы // Цитокины и воспаление. – 2006 – Т. 5, №1. – С. 37-43.
3. Литовкин К.В, Доменюк В.П., Бубнов В.В., Запорожан В.Н. Полиморфизм –174G/C в промоторе гена IL-6 у больных раком молочной железы и миомой матки: популяционный анализ на основе сравнения контрольной и опытных групп – [http:// www.exp-oncology.com.ua/ru/archives/33/650.html](http://www.exp-oncology.com.ua/ru/archives/33/650.html)
4. Тугуз А.Р., Анисимова Н.Ю., Вершинина М.В. Соотношение основных цитокинов в крови онкологических больных и здоровых доноров// Иммунология. – 2003. – Т. 3. – С. 184-186.
5. Nagai S., Toi M. Interleukin-4 and breast cancer // Breast Cancer. – 2000. – Vol. 7(3). – P. 181-186.
6. .Nagai S., Toi M. Interleukin-4 and breast cancer // Breast Cancer. – 2000. – Vol. 7(3). – P. 181-186.
7. Purohit A., Newman P.S., Reed M. J. The role of cytokines in regulating estrogen synthesis: implications for the etiology of breast cancer // Breast Cancer Res. – 2002. – Vol. 4. – P. 65-69.

**АНАЛИЗ АССОЦИИИ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА 5-HTTLPR
ГЕНА ПЕРЕНОСЧИКА СЕРОТОНИНА SLC6A4 С ПОКАЗАТЕЛЯМИ
НЕВЕРБАЛЬНЫХ И ВЕРБАЛЬНЫХ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫХ
СПОСОБНОСТЕЙ**

Л.Р. Садыкова, О.В. Гумерова

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Ключевые слова: вербальный, интеллект, невербальный, нейромедиатор, переносчик, серотонин

Краткая аннотация. Произведен анализ ассоциации полиморфного варианта 5-HTTLPR гена переносчика серотонина SLC6A4 с показателями невербальных и вербальных интеллектуальных способностей у студентов Естественно-географического факультета БГПУ им. М. Акмуллы. Показана ассоциация полиморфного варианта 5-HTTLPR гена SLC6A4 с низкими показателями невербального интеллекта.

Введение. Интеллектуальные способности являются одной из наиболее социально значимых характеристик. Умственный потенциал населения, подобно демографическому, территориальному и технологическому, является одним из оснований его прогрессивного развития [1].

Согласно модели Р. Кеттела, общий интеллект имеет две подструктуры – вербальный и невербальный интеллект. Если невербальный интеллект является подструктурой, связанной с функционированием наглядно-действенного мышления с опорой на зрительные образы и пространственные представления, то вербальный интеллект является подструктурой, связанной с словесно-логическим мышлением с опорой на накопленные знания. Невербальные способности, в отличие от вербальных,

не изменяются с течением времени и сильно обусловлены наследственными факторами ($h^2 = 0,71$) [2].

В области изучения психогенетических признаков большое внимание уделяется нейромедиаторным системам головного мозга, в частности, серотонинергической нейромедиаторной системе.

На кафедре генетики БГПУ им. М. Акмуллы проведено изучение генетических основ невербального интеллекта. Уже показаны ассоциации уровня невербального интеллекта с такими генами, регулирующими деятельность серотонинергической нейромедиаторной системы, как моноаминоксидаза А МАОА и рецепторы серотонина 5НTR.

Целью настоящего исследования явился анализ ассоциации полиморфного варианта 5-НТTLPR гена переносчика серотонина SLC6A4 с показателями невербальных и вербальных интеллектуальных способностей.

Методы. Определение уровня невербального интеллекта проводилось по методике культурно-свободного теста интеллекта Р. Кеттела [3]. Для оценки средние показатели невербального интеллекта составляли диапазон 100-110 баллов. Определение уровня вербального интеллекта проводилось при помощи вербального теста Г. Айзенка. Для оценки средние показатели вербального интеллекта составляли диапазон 100-130 баллов.

Материалом исследования послужили образцы ДНК 100 студентов в возрасте от 19 до 22 лет. ДНК выделена из периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции [4].

Анализ полиморфного локуса 5-НТTLPR проводился методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК [5]. Определение аллельных вариантов гена SLC6A4 проводилось с использованием следующей парой праймеров:

5'-СТTGTTGGGGATTCTCCCGCCTGGCGTT-3',

5'-TCGAGGCTGAGCGTCTAGAGGGACTGAGCTGG-3'.

Аmplификацию ДНК проводили в 10,2 мкл реакционной смеси, содержащей 1,2 мкл матричной ДНК и 9 мкл смеси по программе: 1 цикл –

тотальная денатурация ДНК 5 мин при 95⁰С; 35 циклов – повторная денатурация 45 сек при 95⁰С, отжиг праймеров 1 мин при 66⁰С, элонгация 1 мин при 72⁰С; выдержка – 7 мин 10 сек при 72⁰С. Результаты оценивались при помощи проведения вертикального электрофореза в 7%-ном полиакриламидном геле [6].

При попарном сравнении частот генотипов и аллелей в исследуемых группах использовался критерий χ^2 (p) и таблица сопряженности 2x2 с поправкой Йетса на непрерывность.

Результаты. Средние показатели как невербального, так и вербального интеллекта в исследуемой выборке составили 116 баллов. Показатели невербального и вербального интеллекта, находящиеся в пределах нормы и выше, встречаются у 92% и 90% студентов соответственно.

Анализ распределения частот генотипов и аллелей гена SLC6A4 в группах с высокими (выше 130) и низкими (ниже 110) показателями невербального интеллекта показал следующие результаты (табл. 1):

Таблица 1

Распределение частот аллелей и генотипов по гену SLC6A4 в группах лиц с высокими (выше 130) и низкими (ниже 110) показателями невербального интеллекта

Выборка	Генотипы (% ± m)			Аллели (%)	
	*LL	*SL	*SS	*L	*S
IQ выше 130	43,48 ± 0,1033	47,83 ± 0,1041	8,70 ± 0,0587	67,39	32,61
IQ ниже 110	14,81 ± 0,0683	59,26 ± 0,0945	25,93 ± 0,0843	44,44	55,56
χ^2	3,7401	0,2748	1,4676	4,3987	
p	0,0532	0,6004	0,2266	0,0362	

* p – частота, m – ошибка среднего арифметического значения.

Примечание. *L – аллель, кодирующий нормальный белок переносчика серотонина (528 п. о.), *S – аллель, содержащий инсерционно-делеционный

полиморфизм 5-HTTLPR, снижающий уровень транскрипционной активности белка переносчика серотонина (484 п. о.).

Анализ распределения частот генотипов и аллелей выявил тенденцию к статистически значимому ($p = 0,0532$; $\chi^2 = 3,7401$) повышению частоты генотипа *LL и статистически значимое повышение частоты аллеля *L ($p = 0,0362$; $\chi^2 = 4,3987$) гена SLC6A4 в группе лиц с высокими показателями невербального интеллекта.

Произведен анализ распределения частот генотипов и аллелей гена SLC6A4 в группах с высокими (выше 130) и низкими (ниже 100) показателями вербального интеллекта (табл. 2):

Таблица 2

Распределение частот аллелей и генотипов по гену SLC6A4 в группах лиц с высокими (выше 130) и низкими (ниже 100) показателями вербального интеллекта

Выборка	Генотипы (% ± m)			Аллели (%)	
	*LL	*SL	*SS	*L	*S
IQ выше 130	36,36 ± 0,1450	54,55 ± 0,1501	9,09 ± 0,0866	66,67	33,33
IQ ниже 100	50 ± 0,25	25 ± 0,2165	25 ± 0,2165	62,5	37,5
χ^2	0,0005	0,1846	0,0005	0,0005	
p	1,0005	0,6678	1,0005	1,0005	

Произведенный анализ распределения генотипов и аллелей не выявил статистически значимых различий между группами с высокими и низкими показателями невербального интеллекта.

Обсуждение. Для невербального интеллекта анализ частот генотипов и аллелей гена переносчика серотонина SLC6A4 (5-HTTLPR) в группах с высокими и низкими IQ было установлено повышение частоты генотипа *LL и аллеля *L в группе лиц с высокими показателями. Это говорит о связи между нормальным количеством синтезируемых в синапсе белков-

переносчиков серотонина и высокими показателями невербального интеллекта. Носительство аллеля *S (5-HTTLPR) свидетельствует о наличии делеции в промоторной области гена, которая содержит короткие повторы. На уровне экспрессии это приводит к снижению уровня транскрипции гена SLC6A4. Недостаток белка переносчика серотонина может приводить к снижению скорости передачи нервных импульсов. Возможно, по этой причине аллель *S чаще встречается у лиц с низкими показателями невербального интеллекта.

Для вербального интеллекта анализ частот генотипов и аллелей гена переносчика серотонина SLC6A4 (5-HTTLPR) в группах с высокими и низкими IQ не выявил статистически значимых различий. Это говорит о возможном отсутствии влияния данного полиморфного варианта на формирование вербального интеллекта. На данном этапе исследования не выявлен характер наследования вербальных способностей, поэтому в области нейромедиаторных систем мозга активно ведется поиск генетических маркеров для исследования признака «вербальный интеллект».

ЛИТЕРАТУРА

1. Холодная М.А. Психология интеллекта: парадоксы исследования [Текст]. М.; Томск, 1997 – 272 с.
2. Гумерова О.В. Генетическая обусловленность показателей интеллектуальной деятельности человека. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук [Текст]. – Уфа, 2007 – 23 с.
3. Денисов А. Ф., Дорофеев Е. Д. Культурно свободный тест интеллекта Р. Кеттела (Руководство по использованию) [Текст]. – СПб.: Иматон, 1996. – 17 с.
4. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA [Текст] // Methods in molecular Biology N.Y. 1984 V. 2. P. 31-34.

5. Mullis K.B., Saiki R.K., Scharf S., et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia [Текст] // Science. 1985. P. 487-491.
6. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование (Методы генетической инженерии) [Текст]. М. «Мир».1984. С. 220-228.

УДК 616.133.33-007.64

ПОИСК АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА ГЕНА *SMAD3* С ИНТРАКРАНИАЛЬНЫМИ АНЕВРИЗМАМИ

Султанова Р.И., Хусаинова Р.И., Хуснутдинова Э.К.

ФГБУ ВПО «БашГУ»

Ключевые слова: интракраниальные аневризмы, гены-кандидаты, полиморфизм ДНК.

Аннотация. Интракраниальные аневризмы (МКБ-10 I72) являются сложным заболеванием многофакторной природы, приводящие к спонтанным субарахноидальным кровоизлияниям. Каждый год более 30 тыс. людей страдают от разрыва аневризм, приводящим к особо тяжелым формам инсульта. Существуют очевидные доказательства связи генетических факторов с патогенезом данного заболевания. В представленной работе проведен поиск ассоциаций полиморфного варианта *rs6494629* гена *SMAD3* с предрасположенностью к аневризмам сосудов головного мозга.

Введение. Аневризмы сосудов головного мозга, церебральные аневризмы или интракраниальные аневризмы (ИА) – это патологические локальные выпячивания стенок артериальных сосудов мозга из-за изменений в строении сосудистой стенки, могут быть приобретенными и врожденными. В общей популяции распространенность заболевания колеблется от 1 до 8%.

Распространенность ИА среди населения старше 30 лет составляет от 3,6 до 6,5 на 100 000 [1, 2]. Соотношение частоты аневризм у женщин и у мужчин составляет 3:1. САК, вследствие разрыва ИА происходит примерно в 1,24 раза чаще у женщин, чем у мужчин [3]. Более половины (51%) аневризм приходится на артериальные аневризмы. Частота САК в России варьирует от 6 до 19,4 на 100 000 населения в год [4], по данным регистра по инсультам частота геморрагических инсультов в России увеличилась за последние годы и составила 0,57 на 1000 населения в год [5].

Среди этих людей 50% умирают, 25% становятся инвалидами в связи с потерей речи, зрения и координации движений, у оставшихся 25% повышен риск повторных инсультов [6-8]. Главная причина этого связана с возникновением САК у относительно молодых людей и плохими исходами [9,10]. В отличие от других сосудистых заболеваний головного мозга, аневризмы чаще наблюдаются у лиц молодого и среднего возраста, и обнаружены даже у детей (0,5 - 4,6%), отмечается повышение показателей заболеваемости, что может объясняться применением современных точных методик диагностики [11, 12].

В основе патогенеза аневризм сосудов головного мозга лежат недоразвитие одного или всех слоев сосудистой стенки при врожденных случаях заболевания или механическое повреждение с дистрофическими изменениями, истончением и потерей эластичности сосудистой стенки на пораженном участке при приобретенных формах. В развитие заболевания вовлечено множество факторов, среди которых артериальная гипертензия, курение, потребление алкоголя, кокаина, наличие сопутствующих заболеваний соединительной ткани. Генетические факторы также имеют важное значение в патогенезе аневризм сосудов головного мозга [13-16] полиморфные варианты генов, продукты которых вовлечены в сигнальные пути трансформирующего фактора роста бета, серин-треонин киназ, хемокинов, кальция, нейротрофина, участвующих в клеточном цикле, локальной адгезии, апоптозе [17]. Под термином “дисплазия соединительной

ткани” подразумевается аномалия тканевой структуры, проявляющаяся в снижении содержания отдельных составных элементов или изменении их соотношения. ДСТ может рассматриваться как фоновое состояние, способствующее развитию ИА, так как в основе патогенеза ИА и ДСТ лежат изменения в структуре соединительной ткани [18, 19].

Один из *R-SMAD*, *SMAD3*, вовлекается в индуцирование апоптоза. *R-SMAD* далее связывается с обычным *SMAD* (*SMAD4*) и формирует гетеродимерный комплекс. Этот комплекс входит в клеточные ядра, где действует как транскрипционный фактор для разных генов, включая те гены, которые активируют митоген-активируемый протеинкиназный путь, который является пусковым механизмом апоптоза [20].

Несмотря на достигнутый прогресс в изучении заболевания, проблема генетической предрасположенности к аневризмам сосудов головного мозга чрезвычайно актуальна. Целью исследования является поиск ассоциаций полиморфного варианта *rs6494629* гена *SMAD3* с развитием аневризм сосудов головного мозга в целом, с учетом гендерных различий и сопутствующих состояний.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили образцы ДНК 330 больных с аневризмами мозговых сосудов и 288 практически здоровых индивидов в качестве контрольной выборки русской этнической принадлежности, проживающих в Волго-Уральском регионе России.

Возраст больных варьировал от 14 до 73 лет (средний возраст – 43,2 года), доля множественных аневризм составила 18,1%. Исследуемые выборки тестированы по специально составленному протоколу, включающему сведения об этнической принадлежности, количестве аневризм, их локализации, наследственного статуса, потреблении, алкоголя, курении, наличии сопутствующих заболеваний и состояний, которые могут predispose к сосудистой патологии (гипертоническая болезнь,

атеросклероз, дисплазия соединительной ткани, наследственные заболевания соединительной ткани).

Генотипирование проводилось с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ), согласно протоколу производителя. Данные о последовательности праймеров, использованной рестриктазе представлены в табл 1.

Таблица 1

Характеристика исследованных локусов

Ген	Локус	Последовательность праймеров (5'→3')	Метод детекции	Ссылка
<i>SMAD3</i>	<i>rs6494629</i>	catctttcctcctcctggccata cttagcgaaggaaaccagca	ПЦР/ПДРФ <i>HpaII</i>	A. Paradowska-Gorycka, et.al.,2014.

Для амплификации использовали реакцию смесь объемом 25 мкл, которая содержала 25 мМ Tris-HCl, pH 8.4, 50 мМ KCl, 1,5 мМ MgCl₂, 0.2 мМ каждого dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP по 200 мкМ каждого), по 5 пМ каждого из праймеров, 20-30 нг тотальной ДНК и 0,5 единицы Taq ДНК-полимеразы. Расчет t° отжига праймеров производят по формуле: $T^{\circ} = \sum(CG) \cdot 4 + \sum(AT) \cdot 2 - 5 = X$

ПЦР проводили по схеме: начальная денатурация (94°C, 5 мин.); 28 30 циклов амплификации со следующими параметрами: 1) денатурация - 94°C, 30-45 сек; 2) отжиг – 63°C, 45 сек; 3) синтез - 72°C, 45 сек; после чего проводили инкубацию при 72°C в течение 10 минут.

Результаты и обсуждение. В ходе исследования проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта *rs6494629* гена *SMAD3* в общей выборке больных, а так с учетом гендерных различий и наличия признаков дисплазии соединительной ткани, а также в

сопоставимой по полу и возрасту группе контроля. Частота генотипа *С*С в группе больных с ИА составила 0,385, что ниже чем в группе контроля, где его частота составляет 0,441. Таким образом, генотип *С*С у мужчин оказался протективным ($p=0,05$, $OR=0,5$). В остальных случаях результаты сравнительного анализа не достигают уровня статистической значимости. Полученные данные представлены в таблице 2.

Таблица 2

Анализ распределения частот аллелей и генотипов локуса *rs6494629* гена *SMAD3* с ИА и ДСТ.

Популяции	n	Частоты аллелей		Частоты генотипов		
<i>rs6494629</i> гена <i>SMAD3</i>						
Выборки		*С	*Т	*С*С	*С*Т	*Т*Т
Больные с ИА	319	0,394	0,605	0,153	0,482	0,363
Контроль	285	0,415	0,584	0,192	0,445	0,361
Мужчины с ИА	131	0,385	0,614	0,122	0,527	0,351
Контроль мужчины без ИА	127	0,441	0,559	0,212	0,456	0,330
Женщины с ИА	177	0,404	0,596	0,180	0,446	0,372
Контроль женщины без ИА	157	0,398	0,602	0,178	0,443	0,382
ДСТ + в популяции	116	0,409	0,590	0,155	0,508	0,336
ДСТ - в популяции	241	0,429	0,570	0,174	0,510	0,315
ДСТ + у женщин	59	0,423	0,576	0,203	0,440	0,355
ДСТ - у женщин	107	0,425	0,574	0,159	0,532	0,308
ДСТ+ у мужчин	57	0,395	0,605	0,105	0,579	0,315
ДСТ - у мужчин	133	0,436	0,564	0,187	0,496	0,315

Таким образом, полиморфный вариант гена *rs6494629* гена *SMAD3* не является маркером риска развития аневризм сосудов головного мозга. У мужчин с генотипом *С*С понижен риск развития ИА ($p=0,05$, $OR=0,5$).

В доступной литературе мало публикаций по изучению роли полиморфных вариантов гена *SMAD3* в патогенезе заболеваний соединительной ткани в целом и артериальных аневризм сосудов головного мозга, в частности. Существует несколько исследований, результаты которых являются противоречивыми. Полученные нами данные не согласуются с результатами исследователей из Польши, по данным которых генотип *Т*Т оказался маркером повышенного риска развития ревматоидного артрита, что может быть связано с различиями популяционной структуры [21]. По данным других исследований аллель *G* локуса *rs8031440* гена *SMAD3* коррелирует с пониженной экспрессией *SMAD3* в суставной ткани и клетках гладкой мускулатуры сосудов ($p=0,027$, $OR=0,921$) [20]. По данным Fitzgerald К.К. с соавторами (2014) и Burke С. С соавторами (2015) выявлена и доказана роль мутаций в гене *SMAD3* в развитии аневризм аорты [22].

TGF- β сигнальный путь играет решающую роль в патогенезе аневризмы, однако, до сих пор не ясно, является ли он защитным или вовлечен в патогенез заболевания. По литературным данным, потеря белка *SMAD3* приводит к утолщению стенок сосудов, способствует ремоделированию сосудистой стенки, реорганизации коллагенового волокна и инфильтрации лейкоцитов, подавляя воспаление при аневризме брюшной аорты на модели мыши [23,24]. Для определения роли *SMAD3* в патогенезе аневризм сосудов головного мозга необходимо продолжить исследования функционально значимых вариантов гена *SMAD3* и провести поиск ассоциаций с клинико-патогенетическими формами заболевания.

ЛИТЕРАТУРА.

1. International Study of Unruptured Intracranial Aneurysms Investigators. Unruptured intracranial aneurysms – risk of rupture and risks of surgical intervention. *New England Journal of Medicine* 1998. 339 (24). 1725–33.
2. Ujiie H, Sato K, Onda H, et al. Clinical analysis of incidentally discovered unruptured aneurysms. // *Stroke*.1993.V.24.P.1850–1856.

3. Rooij N.K., Linn F.H., van der Plas J.A., et al.: Incidence of subarachnoid haemorrhage: a systematic review with emphasis on region, age, gender and time trends //Journal of Neurology Neurosurgery Psychiatry. 2007.V.78.P.1365–1372.
4. Лебедев В.В., Гельфенбейн М.С., Евзиков Г.Ю., Белозеров Г.Е. Микронеурохирургическое лечение при окклюзионных поражениях цереброваскулярной системы. В кн.: Диагностика и хирургическое лечение острых нарушений мозгового кровообращения по ишемическому типу. Материалы городского семинара нейрохирургов. Москва.1996. с.9-13.
5. Геморрагический инсульт. Под редакцией В.И. Скворцовой, В.В. Крылова. ГЭОТАР-Медиа. 2005.160 с.
6. Peters D.G., Kassam A.B., Feingold E., et al.: Molecular anatomy of an intracranial aneurysm: coordinated expression of genes involved in wound healing and tissue remodeling // Stroke. - 2001. V. 32(4). P. 1036-1042.
7. Shievink W.I. Genetics of intracranial aneurysms // Neurosurgery. 1997. V.40. P. 651– 663.
8. Qureshi A.I., Suri M.F., Nasar A., et al.: Trends in hospitalization and mortality for subarachnoid hemorrhage and unruptured aneurysms in the United States // Neurosurgery. 2005. V.57(1).P.1-8.
9. Feigin V.L., Lawes C.M., Bennett D.A., et. al.: Stroke epidemiology: a review of population-based studies of incidence, prevalence, and case-fatality in the late 20th century. // Lancet Neurol. 2003.V.2(1).P.43-53.
10. Hackett M.L., Anderson C.S., : Health outcomes 1 year after subarachnoid hemorrhage: An international population-based study. The Australian Cooperative Research on Subarachnoid Hemorrhage Study Group. // Neurology.2000.V. 55(5).P.658-662.
11. Inagawa T, Hirano A. Autopsy study of unruptured incidental intracranial aneurysms. Surgical Neurology 1990.V.34(6). P.361–365.

12. Menghini V.V., Brown Jr R.D., Sicks J.D., et al. Incidence and prevalence of intracranial aneurysms and hemorrhage in Olmsted County, Minnesota, 1965 to 1995. //Neurology. 1998.V.51.P. 405–411.
13. Gloft H.J., Kallmes D.F., Kallmes M.H., et al.: Prevalence of cerebral aneurysms in patients with fibromuscular dysplasia: a reassessment. J Neurosurg 1998,V. 88(3). P.436–440.
14. Neil-Dwyer G., Bartlett J.R., Nicholls A.C., et al.: Collagen deficiency and ruptured cerebral aneurysms: a clinical and biochemical study // J. Neurosurg. 1983. V. 59. P.16 –20.
15. Ostergaard J.R., Oxlund H. Collagen type III deficiency in patients with rupture of intracranial saccular aneurysms // J. Neurosurg. 1987. V.67. P. 690–696.
16. Pope F.M., Nichols A.C., Narcisi P., et al.: Some patients with cerebral aneurysms are deficient in type III collagen // Lancet. 1981. V.1. P.973–975.
17. Bakir-Gungor B., Sezerman O.U. The identification of pathway markers in intracranial aneurysm using genome-wide association data from two different populations // PLoS One. 2013.V.8(3).
18. Кадурина Т.И. Наследственные коллагенопатии (клиника, диагностика, лечение и диспансеризация) // СПб.: Невский диалект, 2000. 272 с.
19. Нечаева Г.И., Друк И.В., Перспективы реализации здоровьесберегающих технологий в группе пациентов с дисплазиями соединительной ткани // Кубанский научный медицинский вестник. 2009. №6. с. 64-68.
20. Dai X., Shen J., Annam N.P., et. al, : SMAD3 deficiency promotes vessel wall remodeling, collagen fiber reorganization and leukocyte infiltration in an inflammatory abdominal aortic aneurysm mouse model //Sci Rep. 2015. V.18;P.5.
21. Paradowska-Gorycka A., Romanowska-Próchnicka K., Haladyj E., et.al.:. Association of the Smad3 and NFATc2 gene polymorphisms and their

- serum levels with susceptibility to rheumatoid arthritis in Polish cohorts // Clin Exp Immunol. 2015.V.179(3). P. 444-453.
22. Raine E.V., Reynard L.N., van de Laar I.M., et. al.: Identification and analysis of a SMAD3 cis acting eQTL operating in primary osteoarthritis and in the aneurysms and osteoarthritis syndrome // Osteoarthritis Cartilage. 2014. V. 22(5). P. 698-705.
23. Fitzgerald K.K., Bhat A.M., Conard K., et. al.: Novel SMAD3 Mutation in a Patient with Hypoplastic Left Heart Syndrome with Significant Aortic Aneurysm // Case Rep Genet. 2014. 591516.
24. Burke C., Shalhub S., Starnes B.W. Endovascular repair of an internal mammary artery aneurysm in a patient with SMAD-3 mutation // J. Vasc. Surg. 2015. V. 62(2). P 486-488.

УДК 575.174.015.3

**АНАЛИЗ ВКЛАДА ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА (*RS6323*) ГЕНА
МОНОАМИНОКСИДАЗЫ А В ФОРМИРОВАНИЕ ПРИЗНАКА «ТИП
НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ»**

А.А.Урманова, О.В. Гумерова
БГПУ им. М. Акмуллы, г. Уфа

Ключевые слова. Теппинг-тест, сила нервных процессов, МАОА, психомоторная реакция, полиморфизм.

Краткая аннотация. Проведена генетическая оценка вклада полиморфного локуса *rs6323* гена МАОА в формирование признака сила нервной системы. Обнаружены достоверные различия по данному локусу у лиц с сильным и слабым типом нервной системы.

Введение. Тип высшей нервной деятельности является основным показателем свойств нервной системы, так как определяет силу и подвижность нервных процессов.

Определение свойств нервной системы по психомоторным показателям имеет большое значение в теоретических и прикладных исследованиях. Многие из лабораторных методов диагностики требуют специальных условий проведения, аппаратуры, и являются трудоемкими.

В данном исследовании для определения типов нервной системы использовался «теппинг-тест» по методике Ильина.

Основным показателем данного теста в исследовательской работе явилась сила нервных процессов. Она является показателем работоспособности нервных клеток и нервной системы в целом. Сильная нервная система выдерживает большую по величине и длительности нагрузку, чем слабая. Методика основана на определении динамики максимального темпа движения рук. Опыт проводится последовательно сначала правой, а затем левой рукой. Полученные в результате варианты динамики максимального темпа могут быть условно разделены на пять групп, в соответствии с силой нервной системы: сильный тип, средне-сильный, средний, средне-слабый и слабый типы (*Brunner, 1993*).

Целью данной работы являлось проведение анализа взаимосвязи полиморфного варианта гена моноаминоксидазы А (*rs6323*) с показателями психомоторных реакций.

Материалы и методы. Материалом исследования послужили ДНК 86 студентов. Забор крови осуществлялся с добровольного согласия исследуемых. Все они были протестированы для определения типов нервной деятельности. Оценку психомоторных реакций студентов проводили с помощью методики Е.П.Ильина «теппинг-тест». Теппинг-тест используется обычно в комплексе с другими, измеряющими разноуровневые характеристики личности. Особенно полезен такой тест при определении профориентации и проведения психологического консультирования по

коррекции и/или усовершенствованию персонального стиля деятельности. Тестирование проводится индивидуально и обычно занимает около 2 минут (Райгородский, 2001).

Так же использовалась форма для подсчета коэффициента силы нервной системы для проверки правильности построения графиков по методике Е.П.Ильина (Brunner, 1993).

Была выделена ДНК из лейкоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции (Mathew, 1984).

Аmplификацию локуса *rs6323* гена MAO A проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции синтеза ДНК на амплификаторе «Терцик». После проведения ПЦР продукты амплификации подвергали рестрикции эндонуклеазами Fnu4HI.

Продукты амплификации оценивали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ).

На следующем этапе работы было рассчитано распределение частот генотипов и аллелей генов в исследуемой выборке согласно закону Харди – Вайнберга. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета программ SPSS ANOVA, программы Microsoft Excel, анализа таблиц сопряженности 2x2 с вычислением статистик связи (с поправкой Йэйтса), пакета программ GMDR.

Результаты. Согласно результатам исследования показателей «теппинг-теста», вся исследованная выборка, в количестве 86 человек, была разделена на четыре группы в зависимости от типа нервной системы: сильный (23 чел.), среднесильный (19 чел.), среднеслабый (16 чел.) и слабый (28 чел.). Стабильного типа обнаружено не было.

Для более точного статистического анализа при сопоставлении показателей «теппинг-теста» с полиморфными вариантами генов, исследованные группы объединены в две: с сильным (42 чел.) и слабым (44 чел.) типов нервной системы.

В результате молекулярно-генетического анализа полиморфизма *rs6323* гена *MAOA*, было выявлено два аллеля – *488, *460 и три генотипа *488/*488, *488/*460, *460/*460. Распределение частот аллелей и генотипов приведено в таблицах 1, 2. Поскольку данный ген расположен на X-хромосоме, группы мужчин и женщин анализировались отдельно.

Наиболее распространённым в выборке женщин явился аллель *MAOA rs6323 *460* (60,81%), а частота аллеля *MAOA rs6323 *488* составила 39,19%. Установлено следующее распределение частот генотипов: *MAOA rs6323 *488/*488* - 9,46%, *MAOA rs6323 *488/*460* - 59,46%, *MAOA rs6323 *460/*460* - 31,08%. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса *rs6323* гена *MAOA* среди женщин

Генотип/аллель	N	Частота p+-s
488/488	7	0,0946+-0,0340
488/460	44	0,5946+-0,0570
460/460	23	0,3108+-0,0538
*488	58	0,3919+-0,0401
*460	90	0,6081+-0,0401

Наиболее распространённым в выборке мужчин явился аллель *MAOA rs6323 *460* (75%), а частота аллеля *MAOA rs6323 *488* составила 25%. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Распределение частот аллелей полиморфного локуса *rs6323* гена *MAOA* среди мужчин

Аллель	N	Частота p+-s
*488	3	0,25+-0,125
*460	9	0,75+-0,125

Поскольку популяция мужчин обладала низкой численностью, в дальнейшем анализе они не учитывались.

При попарном сравнении частот генотипов и аллелей полиморфного локуса *rs6323* гена *MAO A* установлено достоверно значимое различие в распределении частот генотипа **460/*460* между группами с различным типом ВНД (табл.3). Показано достоверное повышение частоты данного генотипа в группе с сильным типом НС ($P=0,0475$). Данная тенденция проявляется и в распределении частот аллелей: частота аллеля *MAOA*460* повышается у лиц с сильным типом НС на фоне снижения частоты аллеля *MAOA*488*. Однако данная тенденция не достигает необходимого уровня значимости ($P=0,0819$), что, возможно, объясняется малочисленностью выборки. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса *rs6323* гена *MAOA* у женщин в зависимости от типа ВНД

	Сильный тип НС	Слабый тип НС	χ^2	P
488/488	2	5	0,3263	0,5681
488/460	17	27	1,6658	0,1976
460/460	15	8	3,9285	0,0475
*488	21	37	3,0267	0,0819
*460	47	43	3,0267	0,0819

Обсуждение. Согласно литературным данным, *rs6323* полиморфизм гена *MAOA* обусловлен однонуклеотидной заменой G>T в 941 положении экзона 8 (*Leuchter, 2009*), что снижает активность фермента. Мутантный аллель **460* обуславливает снижение активности фермента по отношению к нормальному аллелю **488*. Снижение активности фермента *MAOA* в синапсе приводит к накоплению нейромедиатора в синаптической щели, обеспечивает преобладание процессов возбуждения, что определяет более сильный тип НС и коррелирует с такими психологическими чертами, как агрессивность, нейротизм.

Определена однофакторная модель по гену моноаминоксидазы *MAOA* (*rs6323* полиморфизм) в выборке студентов с различными показателями типа

нервной системы. Установлено, что генотип МАОА rs6323*460/*460 определяет сильный тип нервной системы, а генотипы МАОА rs6323*488/*488 и МАОА rs6323*488/*460 – слабый тип нервной системы.

Также проведен анализ распределения типов нервной системы в зависимости от года поступления в ВУЗ. Проведенный анализ показал, что в исследуемой выборке сильный и слабый тип НС у испытуемых встречается примерно с одинаковой частотой (48,8% и 51,2% соответственно). Установлено, что наибольшее количество индивидов с сильным типом нервной системы находится на 4 курсе, а со слабой на 3 курсе.

Таким образом, проведенный анализ показал, что полиморфизм *rs6323* гена моноаминоксидазы А вносит вклад в формирование фенотипических различий по признаку «тип нервной системы». Присутствие аллеля *rs6323*488* МАОА определяет более низкие показатели теппинг-теста, что характеризует более слабый тип нервной системы.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Гумерова О.В. Генетическая обусловленность показателей интеллектуальной деятельности человека [Текст]: автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. биол. наук (03.00.15) / Гумерова Оксана Владимировна // Башкирский государственный педагогический университет им. М.Акмуллы. – Уфа, 2007. – 23 с.;
2. Райгородский Д.Я. Практическая психодиагностика. Методики и тесты. Учебное пособие. - Самара: "БАХРАХ-М", 2001;
3. Buckholtz J.W., Meyer-Lindenberg A. MAOA and the neurogenetic architecture of human aggression // Trends in Neuroscience. 2008. Vol. 31. P. 120–129;
4. Brunner H.G., Nelen M., Breakefield X.O., Ropers H.H., van Oost B.A. Abnormal behavior associated with a point mutation in the structural gene for monoamine oxidase A // Science. 1993. Vol. 262. P. 578–580;

5. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA / C.C. Mathew // Methods in Molecular Biology. Human Press, 1984. – V.2. – P. 31-34;
6. Leuchter A.F. Monoamine oxidase a and catechol-o-methyltransferase functional polymorphisms and the placebo response in major depressive disorder/ A.F. Leuchter, J.T. McCracken, A.M. Hunter, I.A. Cook, J.E. Alpert // J Clin Psychopharmacol, 2009 Aug;29(4).P. 372-377.

УДК 575.174.015.3

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА VAL158MET ГЕНА КАТЕХОЛ-О-МЕТИЛТРАСФЕРАЗЫ COMT С УРОВНЕМ ТРЕВОЖНОСТИ У СТУДЕНТОВ

Хафизова Л.М., Гумерова О.В., Горбунова В.Ю.

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М.Акмиллы»

Ключевые слова: катехол-О-метилтрансфераза, дофамин, полиморфизм, генотип, уровень тревожности.

Краткая аннотация. Проведен анализ ассоциаций полиморфизма Val158Met гена катехол-О-метилтрансферазы с показателями тревожности у студентов 1-5 курса.

Введение. Одной из главных составляющих учебной деятельности студента, помимо умственной подготовленности, является его психологическая адаптация к различным стрессовым условиям. Тревога – последовательность эмоциональных, когнитивных и поведенческих реакций, которая актуализируется в результате воздействия на человека различного рода стрессоров, таких как внешние раздражители (люди, ситуации) и внутренние факторы (актуальное состояние, прошлый жизненный опыт, определяющий интерпретации событий). Тревога предупреждает человека о

возможности опасности и побуждает к поиску и конкретизации данной опасности на основе активного исследования окружающей действительности. В отличие от тревоги, *тревожность* современной психологии рассматривают как психическое свойство и определяют как склонность индивида к переживанию тревоги, характеризующая низким порогом возникновения реакции тревоги[1].

Термин «тревожность» используют для обозначения относительно устойчивых индивидуальных различий в склонности индивида испытывать это состояние. Эта особенность напрямую не проявляется в поведении, но ее уровень можно определить исходя из того, как часто и как интенсивно у человека наблюдаются состояния тревоги. Личность с выраженной тревожностью склонна воспринимать окружающий мир как заключающий в себе опасность и угрозу в значительно большей степени, чем личность с низким уровнем тревожности. На данный момент различают два вида тревожности: ситуативную и личностную. Ситуативная тревожность показывает, как человек чувствует себя в настоящий момент времени, а личностную тревожность определяют как свойство личности, которая выражает то, как субъект чувствует себя обычно в повседневной жизни[2].

В 90-х гг. началось бурное изучение молекулярно-генетических основ отдельных свойств темперамента и личности. Относительно недавно было обнаружено, что вариации в генах дофаминергической системы влияют на проявление тревожности. Одним из важнейших звеньев дофаминергической нейротрансмиттерной системы служит ферменты катехол-О-метилтрансфераза, инактивирующий катехоламины (норадреналин, дофамин), и дофамин-бета-гидроксилаза, конвертирующий дофамин в норадреналин. Активность COMT регулирует количество активного дофамина и норадреналина в различных областях мозга и, следовательно, влияет на настроение и другие психические процессы [3].

Многие научные исследования по поиску ассоциаций генетических полиморфизмов с личностными характеристиками проводятся на людях,

которые страдают различными психическими отклонениями в целях поиска генетической основы болезни, но таких исследований мало для формирования полного представления о наследуемости тревожности. Поэтому актуальным в настоящее время является исследование влияния генов дофаминергической системы и их полиморфных вариантов на уровень тревожности у студентов, у которых не наблюдается явных психических отклонений.

Исходя из выше перечисленного, **целью работы** является исследование аллельных вариантов гена катехол-О-метилтрансферазы, осуществляющего инактивацию дофамина в синапсе, у лиц с различным уровнем тревожности.

Материалы и методы. Материалом исследования послужили образцы ДНК 102 студентов БГПУ им. М. Акмуллы. Все студенты были протестированы для определения показателей ситуативной и личностной тревожности по методике Ч.Д. Спилбергера в адаптации Ю.Л. Ханина[2]. Методика включает по 20 вопросов каждая по каждому показателю тревожности. Результаты диагностики обрабатываются по ключу. Суммируются баллы по каждой шкале. Полученные результаты разделяют на три группы: до 30 баллов – низкий уровень тревожности; 31-44 баллов – умеренный уровень тревожности; 45 и более баллов – высокий уровень тревожности [2]. Выделение ДНК проводилось с путем метода фенольно-хлороформной экстракции [4]. Анализ генетических полиморфизмов осуществлен методом полимеразной цепной реакции с последующим ПДРФ-анализом. Статистическую обработку данных проводили с использованием таблиц сопряженности 2x2 (с поправкой Иэйтса).

Результаты и обсуждение. Проведено анкетирование студентов 1-4 курса по методике самооценки уровня тревожности Ч.Д.Спилбергера и Ю.Л.Ханина. Общая выборка была разделена на три группы в зависимости от уровня тревожности: высокий, умеренный и низкий. Был проведен анализ показателей ситуативной и личностной тревожности в зависимости от года

обучения. Было установлено, что низкие показатели по обеим шкалам встречаются реже всего у 3 курса (с частотой 6,25%) и 5 курса (12,5%). Процент средних показателей теста по ситуативной и личностной тревожности чаще всего обнаруживается у учащихся 3 курса (с частотой 88,2% и 82,3% соответственно). Высокие показатели по ситуативной тревожности характерны для студентов 5 курса (с частотой 31,25%), по личностной тревожности - 4 и 3 курса (42,8% и 33,3% соответственно)(табл.1).

Таблица 1

Показатели тревожности в зависимости от года обучения

Курс	Личностная тревожность	Ситуативная тревожность
1	40,3	39,1
2	41,1	39
3	40,3	36,25
4	43,3	39,7
5	42,4	42,3

Проведен молекулярно-генетический анализ полиморфного локуса G158A гена COMT в выборке студентов и установлено три генотипа (*H/*H, *H/*L и *L/*L) и два аллеля (*H, *L). При анализе показателей тревожности установлено, что частота генотипов *H/*H и *H/*L распределилась в одинаковом соотношении по 44,11%.

При попарном сравнении частот генотипов и аллелей по полиморфному маркеру G158A гена COMT между различными группами с показателями ситуативной тревожности статистически значимое различие не было установлено. Во всех случаях уровень значимости p был выше критической отметки (0,005) (табл.2).

Таблица 2

Анализ частоты генотипов и аллелей маркера *G158A* гена *COMT* в группах с различными показателями ситуативной тревожности

Уровень трев-ти	Генотипы (частота %±m)			Аллели (частота %)	
	*Н/*Н	*Н/*L	*L/*L	*Н	*L
низкий	41,67±14,23	41,67±14,23	16,67±10,75	62,5±9,88	37,5±9,88
средний	40±6	49,23±6,2	10,77±3,84	64,62±4,2	35,38±4,1
X ²	0,0535	0,0005	0,003	0,0005	0,0005
p	0,8184	1,0005	0,9606	1,0005	1,0005
низкий	41,67±14,23	41,67±14,23	16,67±10,75	62,5±9,88	37,5±9,88
высокий	52,38±10,89	38,1±10,59	9,52±6,4	71,43±6,9	28,57±6,9
X ²	0,0005	0,0285	0,0095	0,2256	0,2256
p	1,0005	0,8678	0,9250	0,6352	0,6352
высокий	52,38±10,89	38,1±10,59	9,52±6,4	71,43±6,9	28,57±6,9
средний	40±6	49,23±6,2	10,77±3,84	64,62±4,2	35,38±4,1
X ²	0,5522	0,4073	0,0005	0,3902	0,3902
p	0,4580	0,5238	1,0005	0,5326	0,5326

При попарном сравнении частот генотипов и аллелей по полиморфному маркеру *G158A* гена *COMT* между различными группами с показателями личностной тревожности статистически значимое различие не было установлено. Во всех случаях уровень значимости *p* был выше критической отметки (0,005) (табл.3).

Таблица 3

Анализ частоты генотипов и аллелей маркера *G158A* гена *COMT* в группах с различными показателями личностной тревожности

Уровень трев-ти	Генотипы (частота %±m)			Аллели (частота %)	
	*Н/*Н	*Н/*L	*L/*L	*Н	*L
низкий	33,33±19,24	33,33±19,24	33,33±19,24	75±15,3	25±15,3
средний	44,26±6,35	45,9±6,38	9,84±3,81	67,21±4,25	32,79±4,25
X ²	0,0075	0,0262	1,069	0,0005	0,0005
p	0,9341	0,8733	0,3021	1,0005	1,0005
низкий	33,33±19,24	33,33±19,24	33,33±19,24	75±15,3	25±15,3
высокий	43,75±8,76	46,88±8,82	9,38±5,15	67,19±5,86	32,81±5,86
X ²	0,001	0,276	0,8749	0,2447	0,2447
p	0,9817	0,8699	0,3506	0,5644	0,5644
высокий	43,75±8,76	46,88±8,82	9,38±5,15	67,19±5,86	32,81±5,86

средний	44,26±6,35	45,9±6,38	9,84±3,81	67,21±4,25	32,79±4,25
X ²	0,0005	0,0005	0,0005	0,0574	0,0574
p	1,0005	1,0005	1,0005	0,9483	0,9483

Таким образом, данные показывают, что полиморфный локус *G158A* гена COMT не ассоциирован с уровнем тревожности у студентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Куликова М. А. Полиморфизмы генов дофаминергической системы – маркеры проявления тревожности у спортсменов [Текст]: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук (14.00.51) / Куликова Мария Андреевна; Институт Высшей Нервной Деятельности РАН. – Москва, 2009. – 25 с.
2. Барканова О. В. Методики диагностики эмоциональной сферы: психологический практикум [Текст]/ О. В. Барканова [серия: Библиотека актуальной психологии]. – Вып.2. – Красноярск: Литера-принт, 2009. – с. 215 - 222.
3. Николаева В.В. Структурные особенности генов дофамин-бета-гидроксилазы и катехол-орто-метилтрансферазы больных алкоголизмом // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. 2010. С.25.
4. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA // Methods in molecular Biology N.Y. 1984 V. 2. P. 31 -34.

**ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА
КОЛЛАГЕНА 2 ТИПА (*COL2A1*) В РАЗВИТИИ ОСТЕОАРТРОЗА У
ЖЕНЩИН С НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ
СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ**

Д.А. Шаповалова, А.В. Тюрин, Р.И. Хусаинова

ФГБУН ИБГ УНЦ РАН

Ключевые слова: остеоартроз, коллаген, ДСТ, сустав, хрящ, ГМС.

Аннотация. Остеоартроз является распространенной патологией среди населения России, прогрессирующей с возрастом. Проведен поиск ассоциаций полиморфных вариантов гена *COL2A1* с остеоартрозом (ОА) в целом и различных локализаций, с клиническими характеристиками ДСТ в целом и ее отдельными фенотипическими признаками, а также ОА и ДСТ в коморбидном состоянии. Обнаружены ассоциации гена *COL2A1* с развитием изолированного ОА в целом и ОА тазобедренных суставов, в частности, а также с отдельными фенотипическими проявлениями ДСТ.

Введение. Остеоартроз (ОА) - гетерогенная группа заболеваний различной этиологии со сходными биологическими, морфологическими и клиническими проявлениями, в основе которых лежит поражение всех компонентов сустава - хряща, субхондральной кости, синовиальной оболочки, связок, капсулы околосуставных мышц [1-2]. Распространенность ОА среди населения России на 1997 год составляла 6,43%, увеличившись к 2008 году до 10-12% [3]. Один из факторов, вероятно, ассоциированным с ОА, является дисплазия соединительной ткани (ДСТ) - это полиорганная патология, в основе которой лежат дефекты синтеза или катаболизма компонентов внеклеточного матрикса или регуляторов морфогенеза соединительной ткани [4-5]. ДСТ может рассматриваться как фоновое

состояние, способствующее развитию ОА, так как в основе патогенеза ОА и ДСТ лежат изменения деструктивного характера в структуре соединительной ткани, в том числе и в суставном хряще. Морфогенез и функционирование структур хряща генетически детерминированы, поэтому молекулярно-генетические основы ОА так важны для понимания механизмов патогенеза данного заболевания. Частота возникновения ОА в три раза выше у близнецов первой линии, нежели у контроля, наследственный компонент может варьировать от 50 до 65% [6]. Исследования состояния коллагена человека при различных хондродисплазиях начались еще в 1989 году, когда предположили, что дефект коллагена II типа может вызывать поражение опорно-двигательного аппарата. Образцы хряща у пациентов со спондилоэпифизарной дисплазией исследовали методом электрофореза и хроматографии и выявили замедление продвижения фрагментов в геле, что указывает на его морфологическую атипичность [7]. Коллаген II типа - основной белок суставного хряща, имеет наибольший удельный вес среди всех фибрилл плотной соединительной ткани. Ген коллагена II типа (*COL2A1*) локализован на 12 хромосоме (12q13.11), состоит из 31537 п.о., содержит 54 экзона и является привлекательным кандидатным геном, вовлеченным в патогенез ОА и ДСТ.

Чрезвычайно актуальным является внедрение в клиническую практику современных и эффективных методов ранней диагностики ОА, основанных на понимании генетических механизмов развития заболевания, для разработки новых подходов к лечению и профилактике.

Цель работы: Провести поиск ассоциаций полиморфных вариантов *rs63118460* и *rs2276455* гена *COL2A1* с ОА в целом, с клиническими характеристиками ОА различных локализаций, с клиническими проявлениями ДСТ в целом и ее отдельными фенотипическими признаками, а также в сочетании симптомокомплекса ОА и ДСТ.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили образцы ДНК 158 женщин с остеоартрозом и 156 – с симптомокомплексом.

Из них полиостеоартроз (ПОА) диагностирован у 37 женщин (23,4%), гонартроз (ГА) у 80 женщин (50,6%), коксоартроз (КА) у 41 женщины (26%). Рентгенологическая стадия стадия по Kellgrene-Lawrence была II у 97 пациенток, III - у 40 пациенток, IV - у 21 пациентки. Длительность заболевания составила от 3 до 18 лет (средняя длительность 5±1,84 года).

ДСТ легкой степени отмечалась у 125 человек (80,1%), тяжелой степени - у 31 человека (19,9%). Средний возраст у женщин с различной выраженностью ДСТ составлял 50,47 лет в группе с ДСТ в целом, 50,8 лет с ДСТ легкой степени, 48,19 с ДСТ тяжелой степени.

По этнической принадлежности 39% женщин составили татары, 36% - русские и 25% - метисы и другие этносы.

Для проведения исследования были сформированы три группы в зависимости от наличия у них ДСТ и ОА. В первую группу были включены 92 женщины с сочетанием ОА и ДСТ (ОА+ДСТ+), во вторую - 66 пациенток с изолированным ОА (ОА+ДСТ-), в третью - 64 женщины с изолированной ДСТ (ОА-ДСТ+). Группу контроля составили 111 женщин без признаков ОА и ДСТ (ОА-ДСТ-).

Таблица 1

Использованные праймеры и ферменты рестрикции для генотипирования исследованных локусов

Локус	Праймеры	Метод	Ссылка
<i>rs63118460</i>	3'-gggaagtggagtccttgtgg-5' 3'-ttccgggagcaccctaagg-5'	ПЦР/ПДРФ <i>Pvu II</i>	Galves-Rosas A., 2010
<i>rs2276455</i>	3'-agagaggagcgggctcagga-5' 3'-ccccatggttgctcagtc-5'	ПЦР/ПДРФ <i>Hind III</i>	Tsuneyoshi T., 1991

ДНК выделяли из периферической крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции [Mathew et al., 1984]. Для определения нуклеотидных замен проводили гидролиз амплифицированных фрагментов соответствующей эндонуклеазой рестрикции, согласно протоколу производителя (табл. 1). Рестрикцию полиморфных локусов *rs63118460* и

rs2276455 гена *COL2A1* проводили эндонуклеазами *PvuII*, *HindIII* (производства Fermentas) соответственно, при температуре 37°C.

После окончания электрофореза гель окрашивали раствором 5%-ного бромистого этидия и визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете. Документирование результатов электрофореза проводили с использованием видеосистемы «Geldokulant» (Франция). Статистическая обработка полученных данных проведена на основании общепринятых методов вариационной статистики с использованием стандартных пакетов Microsoft Excel 2007, Statistica 6,0.

Результаты и обсуждение. Распределение частот аллелей и генотипов изученных локусов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($p > 0,05$). Удельный вес минорного аллеля *C полиморфного варианта *rs63118460* гена *COL2A1* составил 0,414 в группе женщин с ОА и 0,457 в контрольной группе. Частота встречаемости генотипа *C*C также была несколько меньше в группе женщин с патологией суставов по сравнению с контрольной группой (0,164 и 0,230, соответственно), различия не достигли уровня статистической значимости ($\chi^2=2,05$, $p=0,15$). Генотип *T*T встречался в группе с ОА в 33,6% случаев, в группе контроля - в 31,6%. Не было выявлено существенных различий в распределении частот встречаемости аллелей и генотипов полиморфного варианта *rs2276455* гена *COL2A* между группами с ОА и контролем. Частота минорного аллеля *A составила 0,324 в группе женщин с ОА и 0,353 в группе контроля. Генотип *G*G встречался в группе с ОА в 47,7% случаев, в контрольной - в 44,6%. Генотип *A*A встречался в группе с ОА в 12,4% случаев, в контрольной - в 15,3%.

Мы разделили выборки на группы сравнения с учетом локализации патологического процесса и возраста дебюта заболевания с целью поиска специфических генетических маркеров. Обнаружена ассоциация ОА тазобедренного сустава с полиморфным вариантом *rs63118460* гена *COL2A1*. Частота аллеля *T данного локуса у больных составила 0,689, что существенно больше таковой в контрольной группе (0,543). Различия

достигли уровня статистической значимости ($\chi^2=6,38$, $p=0,011$). Показатель относительного риска для аллеля *T составил 1,68 (95% ДИ 1,12-1,52), что свидетельствует об ассоциации данного аллеля с риском развития ОА тазобедренных суставов.

Частота встречаемости аллеля *T полиморфного варианта *rs63118460* гена *COL2A1* была одинаковой в группах с ДСТ и контроля и составила 0,563. Различия в частотах встречаемости генотипов также были минимальны - генотип *C*C встречался у женщин с ДСТ в 20,1% случаев, в группе сравнения - в 19,8%. Генотип *T*T встречался у женщин с ДСТ в 32,7% случаев, в группе сравнения - в 32,4%. Частота аллеля *G полиморфного варианта *rs2276455* гена *COL2A1* составила 0,658 в группе с ДСТ и 0,662 в группе сравнения. Генотип *G*G встречался у женщин с ДСТ несколько реже, чем в группе сравнения, однако различия были статистически незначимы (0,439 и 0,478, соответственно, $\chi^2=3,26$, $p=0,07$). Частота встречаемости генотипа *A*A составила 0,122 в группе женщин с ДСТ и 0,154 в группе сравнения. Частота встречаемости аллеля *T полиморфного варианта *rs143383* гена *GDF5* составила 0,614 в группе женщин с ДСТ и 0,586 в группе сравнения. Генотип *T*T встречался в группе с ДСТ с частотой 0,400, в группе сравнения - 0,348. Генотип *C*C встречался в группах с ДСТ и сравнения в 17,8% и 17,6% случаев, соответственно.

Удельный вес аллеля *C полиморфного варианта *rs63118460* гена *COL2A1* был выше у женщин с выраженной ДСТ, чем в группе сравнения - 0,533 и 0,437, соответственно, однако различия также были статистически незначимы ($\chi^2=1,90$, $p=0,16$). Отмечается преобладание генотипа *C*C у женщин с выраженной ДСТ по сравнению с женщинами без признаков ДСТ (0,300 и 0,198, соответственно), различия статистически незначимы ($\chi^2=1,56$, $p=0,21$).

Аллель *C полиморфного варианта *rs63118460* гена *COL2A1* существенно чаще встречался у женщин с долихостеномелией (0,750), чем в группе сравнения (0,427), различия достигли статистической значимости

($\chi^2=6,93$, $p=0,008$; OR=4,01; 95% ДИ 1,44-11,9). Генотип *C*C также преобладал у женщин с долихостеномелией (0,600 и 0,187; $\chi^2=7,09$, $p=0,004$; OR=6,51; 95% ДИ 1,78-23,8). У женщин с артериальной гипотензией частота встречаемости аллеля *C составила 50%, что статистически значимо выше ее частоты в группе сравнения (0,409; $\chi^2=4,92$, $p=0,02$; OR=1,44; 95% ДИ 1,01-2,02). Генотип *C*C также достоверно чаще встречался у женщин с артериальной гипотензией (0,280 и 0,163; $\chi^2=5,81$, $p=0,01$; OR=1,98 95% ДИ 1,13-3,49). Имеется тенденция к преобладанию частоты встречаемости аллеля *C и генотипа *C*C у пациенток с низкой массой тела (0,500 против 0,415 для аллеля *C и 0,268 и 0,176 для генотипа *C*C соответственно), однако различия не достигли уровня статистической значимости ($\chi^2=3,5$, $p=0,061$ и $\chi^2=3,21$, $p=0,07$). Таким образом, аллель *C и генотип *C*C полиморфного варианта *rs63118460* гена *COL2A1* увеличивают риск развития таких фенотипических признаков ДСТ, как долихостеномелия и артериальная гипотензия.

Полиморфный вариант *rs2276455* гена *COL2A1* ассоциирован с наличием гипермобильностью суставов (ГМС) тяжелой степени, артериальной гипотензии и геморрагического синдрома. Аллель *A чаще встречается у женщин ГМС тяжелой степени, чем в группе сравнения (0,480 и 0,328), различия достигли уровня статистической значимости ($\chi^2=4,77$, $p=0,02$). Частота встречаемости генотипа *A*A в группе женщин с тяжелой ГМС (0,320) превышает таковую в группе сравнения (0,125), различия статистически значимы ($\chi^2=7,35$, $p=0,006$). Также генотип *A*A чаще встречался у женщин с артериальной гипотензией (0,200 и 0,111; $\chi^2=4,71$, $p=0,029$ и геморрагическим синдромом (0,185 и 0,108; $\chi^2=3,99$, $p=0,045$). Показатель OR для аллеля *A при геморрагическом синдроме тяжелой степени составил 1,89 (95% ДИ 1,13-3,49), для генотипа *A*A при ГМС тяжелой степени OR = 3,3 (95% ДИ 1,3-8,18), при артериальной гипотензии OR = 2,0 (95% ДИ 1,06-3,76), при геморрагическом синдроме OR = 1,88 (95% ДИ 1,01-3,52), что свидетельствует о влиянии аллеля *A и генотипа *A*A на

повышение риска развития данных фенотипических проявлений ДСТ. Таким образом, аллель *A и генотип *A*A полиморфного варианта *rs2276455* гена *COL2A1* увеличивают риск развития ГМС тяжелой степени, артериальной гипотензии и геморрагического синдрома.

Учитывая многофакторную природу ОА и ДСТ, мы рассмотрели наши выборки с учетом этнического фактора и провели поиск ассоциаций изученных локусов у женщин русской и татарской этнической принадлежности.

У русских женщин с ДСТ отмечается преобладание частоты аллеля *G полиморфного варианта *rs2276455* гена *COL2A1* по сравнению таковыми без ДСТ (0,676 и 0,477; $\chi^2=9,25$, $p=0,002$). Частота встречаемости генотипов в данных группах также различается – у русских женщин с ДСТ генотип *G*G встречался чаще (0,431 и 0,215), в то время, как генотип *A*A встречался чаще у женщин без признаков ДСТ. В обоих случаях различия достигли уровня статистической значимости ($\chi^2=7,02$, $p=0,008$ и $\chi^2=6,46$, $p=0,02$, соответственно). Показатель отношения шансов для аллеля *G составил 1,61 (95% ДИ 1,16-2,22), для генотипа *G*G он составил 1,74 (95% ДИ 1,18-2,58), что говорит об их роли в повышении риска развития ДСТ. Для генотипа *G*A относительный риск равен 0,38 (95% ДИ 0,71-0,97), что вероятно, свидетельствует о снижении риска развития ДСТ для его носителей.

При исследовании распределения частот аллелей и генотипов в группах женщин в зависимости от наличия ОА в сочетании с ДСТ, а так же у женщин с изолированными случаями ОА и ДСТ были выявлены некоторые закономерности. Генотип *C*C полиморфного варианта *rs63118460* гена *COL2A1* несколько реже встречался у пациенток с изолированным ОА (0,115), чем в группе контроля (0,245), различия достигли уровня статистической значимости ($\chi^2=4,2$, $p=0,04$). Показатель относительного риска для генотипа *C*C полиморфного варианта *rs63118460* гена *COL2A1* составил 0,5 (95% ДИ 0,26-0,97) у лиц с изолированным ОА, что, вероятно, свидетельствует о его протективном влиянии на развитие заболевания.

За последние годы было проведено большое количество исследований, посвященных поиску генетических основ развития ОА. В то же время, генетические маркеры выявлены лишь для моногенных форм ДСТ. В доступной литературе опубликованы результаты исследований, посвященных изучению генетической обусловленности различных заболеваний и состояний, входящих в симптомокомплекс ДСТ. Результаты их зачастую противоречивы.

При исследовании выборки, вошедшей в Роттердамское исследование ОА коленных суставов, была выявлена связь между участком гена, непосредственно прилегающим к гену *COL2A1* и риском сужения суставной щели в 2 раза, ассоциаций с развитием остеофитов и градацией по Келлгрэну-Лоуренсу выявлено не было [8]. При исследовании финских семей с ранним малосимптомным ОА были обнаружены мутации в генах коллагена 2 и 11 типов, однако при дальнейшем исследовании не выявлено полиморфных вариантов, которые существенно влияли бы на риск развития ОА [9]. В популяции мексиканских метисов была выявлена ассоциация аллеля **p* и генотипов **p*p/*P*p* полиморфного варианта гена *COL2A1* с ОА коленного сустава 4 степени по Келлгрэну-Лоуренсу (OR=4.1, ДИ 1.2-14.6) [10]. У больных ОА женщин из Китая было выявлено преобладание генотипа **A*A* полиморфного варианта *rs2276455* гена *COL2A1* по сравнению со здоровыми женщинами (24,2% и 10,0%, соответственно). Уровни N-пропептида коллагена 2 типа в сыворотке были статистически значимо ниже у пациентов-носителей генотипа **A*A* по сравнению с генотипом **G*G* и **G*A*, тогда как уровни СТХ-II, которые являются маркером дегенерации коллагена, напротив, были повышены. Анализ гаплотипов показал, что гаплотип **TA* полиморфных вариантов *rs63118460* и *rs2276455* гена *COL2A1* был протективным, **TG* увеличивал риск развития патологии суставов [11]. Было проведено исследование полиморфных вариантов *rs3737548* и *rs2276455* гена *COL2A1* у женщин из Финляндии, страдающих ПОА. Носительство как минимум одного из минорных аллелей полиморфного

варианта *rs2276455* (*G*A и *A*A) было ассоциировано с увеличением риска развития ПОА (OR=1.58, 95% ДИ 1.05 - 2.36).

Исследовалось влияние полиморфных вариантов данного гена на развитие отдельных проявлений ДСТ. Пять полиморфных вариантов гена *COL2A1* типа были исследованы на предмет ассоциации с развитием миопии в двух больших европейских базах пациентов («Дьюк» и «Кардифф»). Каждый из исследованных полиморфных вариантов показал ассоциацию с тяжелой миопией в выборке «Дьюк». У больных из базы «Кардифф» полиморфный вариант *rs1635529* был ассоциирован с повышенным риском развития патологии рефракции. При исследовании 517 пациентов с миопией из Европы была установлена значимость полиморфного варианта *rs1635529* гена *COL2A1* в развитии заболевания [12]. В то же время, при исследовании данных локусов в китайской популяции в 2012 году не было выявлено ни одной ассоциации с полиморфными вариантами *rs1635529*, *rs60542319*, *rs1635530*, *rs1635531* и *rs954326* гена *COL2A1* и тяжелой миопией [13]. Минорный аллель полиморфного варианта *rs1793949* гена *COL2A1* был ассоциирован с повышенным риском развития «волчьей пасти» у детей из Прибалтийского региона [14].

Таким образом, нами обнаружены генетические маркеры, обуславливающие развитие ОА и ДСТ в целом, их отдельных клинических вариантов и фенотипических проявлений. Полиморфный вариант *rs63118460* гена *COL2A1* ассоциирован с развитием ОА тазобедренных суставов, а также с развитием патологии скелета. Полиморфный вариант *rs2276455* гена *COL2A* ассоциирован с развитием деформаций желчного пузыря и геморрагического синдрома. Развитие артериальной гипотензии ассоциировано с локусами *rs2276455* и *rs63118460* гена *COL2A1*. Полученные результаты могут послужить основой для разработки алгоритмов ДНК-диагностики ОА и проведения профилактических мероприятий.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Цветкова Е.С. Остеоартроз / Е.С. Цветкова // Ревматические болезни / под ред. В.А. Насонова, Н.В. Бунчук. – М.: Медицина, 1997. С. 335-348.
2. Хитров, Н.А. Болевой синдром при остеоартрозе / Н.А. Хитров // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2009. № 2. С. 62-67.
3. Митрофанов, В.А. Остеоартроз: факторы риска, патогенез и современная терапия / В.А. Митрофанов, И.И. Жадёнов, Д.М. Пучиньян // Саратовский научно-медицинский журнал. 2008. № 2. С. 23-30.
4. Кадурина, Т.И. Наследственные коллагенопатии (клиника, диагностика, лечение и диспансеризация) / Т.И. Кадурина. СПб.: Невский диалект, 2000. 272 с.
5. Нечаева, Г.И. Перспективы реализации здоровьесберегающих технологий в группе пациентов с дисплазиями соединительной ткани / Г.И. Нечаева, И.В. Друк // Кубанский научный медицинский вестник. 2009. № 6. С. 64-68.
6. Zhai, G. Genetic influence on the progression of radiographic knee osteoarthritis: a longitudinal twin study / G. Zhai, D.J. Hart, B.S. Kato, A. et al. // Osteoarthritis Cartilage 2007. V.15. №2. P. 222-225.
7. Murray, L.W. Type 11 Collagen Defects in the Chondrodysplasias. Spondyloepiphyseal Dysplasias / L.W. Murray // Am. J. Hum. Genet. 1989. V. 45. P. 5-15.
8. Uitterlinden, A.G. Adjacent genes, for COL2A1 and the vitamin D receptor, are associated with separate features of radiographic osteoarthritis of the knee / A.G. Uitterlinden // H. Burger, C.M. van Duijn, Q. Huang, A. Hofman, et al. // Arthritis Rheum. 2000. V. 43. №7. P. 1456-1464.
9. Russell, J. Collagen XI chain misassembly in cartilage of the chondrodysplasia (CHO) mouse / Russell J. Fernandes, MaryAnn Weis, Melissa A. Scott, Robert E. Seegmiller, David R. Eyre // Matrix Biol. 2007. Vol. 26. №8. P.597–603.

11. Gálvez-Rosas, A. *COL2A1* gene polymorphism is related with advanced stages of osteoarthritis of the knee in Mexican Mestizo population / A. Gálvez-Rosas, C. González-Huerta, V.M. Borgonio-Cuadra, C. et al. // *Rheumatol. Int.* 2010. V.8. P.1035-1039.
12. Xu, P. Relationships between *COL2A1* gene polymorphisms and knee osteoarthritis in Han Chinese women / P. Xu, J. Yao, W. Hou // *Mol. Biol. Rep.* 2011. V. 38. № 4. P. 2377-81.
13. Metlapally, R. *COL1A1* and *COL2A1* genes and myopia susceptibility: evidence of association and suggestive linkage to the *COL2A1* locus // R. Metlapally, Y.J. Li, K.N. Tran-Viet, D. Abbott, G.R. et al. // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009. V. 50. №9. P.4080-4086.
14. Wang, J. High myopia is not associated with single nucleotide polymorphisms in the *COL2A1* gene in the Chinese population / J. Wang, P. Wang, Y. Gao, S. Li, X. Xiao, Q. Zhang // *Mol Med Rep.* 2012. V. 5. №1. P. 133-137.
15. Nikopensius, T. Genetic variants in *COL2A1*, *COL11A2*, and *IRF6* contribute risk to nonsyndromic cleft palate / T. Nikopensius, T. Jagomägi, K. Krjutskov, et al. // *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2010. V. 88. №9. P. 748-56.

**АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНОГО МАРКЕРА 252A.>G
ГЕНА LTA С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА СРЕДИ ТАТАР
БАШКОРТОСТАНА**

М.Ю. Шейн

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М. Акмуллы»

Т.Р. Насибуллин

ФГБУН ИБГ УНЦ РАН

Аннотация. Среди больных, перенёсших инфаркт миокарда (ИМ) (321 человек) и в контрольной группе (443 человека) проведён анализ ассоциаций полиморфного маркера rs909253 (252A>G) гена LTA с риском ИМ. Установлено, что для мужчин в возрасте до 47 лет маркером повышенного риска является генотип *A/A ($P=0.036$ OR=1.53 CI 1.03 – 2.28), для мужчин более старшего возраста – генотип *G/G ($P=0.023$ OR=3.02 CI 1.18 – 7.74).

Введение. Несмотря на значительные успехи современной медицины инфаркт миокарда (ИМ) по-прежнему остаётся серьёзной медицинской и социальной проблемой. На сегодняшний день хорошо изучены основные популяционные факторы риска атеросклероза, проводятся мероприятия по исключению их негативного влияния на человека, благодаря чему удалось добиться некоторого снижения заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний. Дальнейшее снижение этих показателей связывают с исследованием молекулярно-генетических аспектов патологии, которые определяют индивидуальную восприимчивость к неблагоприятным популяционным факторам и, как следствие, могут служить основой для эффективной индивидуальной профилактики с учётом конституциональных особенностей конкретного человека.

В подавляющем большинстве случаев ИМ представляет собой многофакторное, полигенное заболевание, обусловленное сложным взаимодействием факторов внешней, внутренней среды и генетическими факторами, что значительно затрудняет его изучение. Одним из направлений в исследовании молекулярно-генетических основ предрасположенности к заболеванию является изучение полиморфных маркеров, расположенных в областях генов, которые контролируют синтез белков задействованных в патогенезе заболевания (ген кандидатный подход).

Ключевым этапом патогенеза ишемической болезни сердца (ИБС) в целом и ИМ в частности является атеросклеротическое повреждение коронарных сосудов, в развитии которого важную роль играет локальное и системное воспаление [1, 2], регулируемое множеством биологических активных веществ, к числу которых относится цитокин лимфо-токсин α (LTA). LTA относится к группе провоспалительных цитокинов. Показано, что он способен стимулировать экспрессию молекул адгезии [3], которые в свою очередь способствует привлечению иммунокомпетентных клеток в область повреждения эндотелия. В экспериментах на модельных животных показано, что у мышей нокаут гена LTA на 62% снижает размеры атеросклеротических повреждений [4].

Исходя из вышеизложенного, цель настоящего исследования состояла в анализе ассоциаций полиморфного маркера rs909253 (252A>G) гена LTA с риском ИМ.

Материалы и методы. Материалом для исследования стали образцы ДНК, выделенные из 5-6 мл цельной венозной крови. В группу больных вошли 321 человек, диагноз ИМ устанавливался на базе Республиканского кардиологического диспансера г. Уфы. В исследование были включены мужчины, перенёвшие крупноочаговый ИМ в возрасте до 55 лет (средний возраст \pm стандартное отклонение 45.8 ± 5.27), без эндокринной патологии и других тяжелых сопутствующих хронических заболеваний. Группу сравнения (443 человека) составили мужчины в возрасте от 30 до 60 лет

(43.04±7.17) без клинических признаков сердечно-сосудистых заболеваний. Все участники исследования были татарами по этнической принадлежности.

ДНК выделяли методом фенол-хлороформной экстракции [5]. Генотипирование проводили с использованием полимеразной цепной реакции. Фрагмент размерами 331 п.о. амплифицировали с использованием праймеров F 5'-aag aga cgt tca ggt ggt gt-3' и R 5'-gcc tgg gcc ttg gtg ggt ttg-3' (10 пмоль каждого) в 10 мкл реакционной смеси, содержащей 10 mM (Трис)HCl, pH 8.6, 2.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 0.5 ед. Taq полимеразы и 30 нг геномной ДНК, (1 цикл 4 мин – 94°C; 27 циклов 20 сек – 94°C, 45 сек – 64°C; 1 цикл 5 мин – 72°C). Полученные ампликоны обрабатывали рестриктазой NcoI при 37°C в течении 16 часов. Разделение полученных, фрагментов проводили с помощью электрофореза в 2% агарозном геле. Фрагмент в 331 п.о. соответствовал аллелю *A, фрагменты 230 п.о и 101 п.о. – аллелю *G. Подбор праймеров и рестриктазы, проводился с помощью пакета программ DNA Star 5.05 и баз данных <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>.

Для сравнения групп по частотам генотипов и аллелей использовался точный двухсторонний тест Фишера, статистически значимым принимались различия при P<0.05. При анализе отклонения наблюдаемых частот генотипов от теоретически ожидаемого равновесного распределения Харди–Вайнберга использовалась программа Arlequin 3.0. Анализ возрастных особенностей распределения частот генотипов проводился с помощью алгоритма CHAID реализованного в программе Answer Tree v. 3.0. Силу ассоциации рассчитывали как соотношение шансов (OR odds ratio).

Результаты. Результаты анализа ассоциаций полиморфного маркера rs909253 гена LTA представлены в таблице 1. В контрольной группе распределение частот генотипов соответствует равновесному распределению Харди-Вайнберга (P=0.554). Статистически значимых различий по распределению частот в контрольной группе и группе больных выявлено не было.

Таблица 1

Результаты анализа ассоциаций полиморфного маркера rs909253 (252A>G) гена LTA с риском ИМ

Генотип/ Аллель	Контроль		Больные		P
	n	p CI (%)	n	p CI (%)	
*A/A	198	49.38 (44.38 - 54.38)	169	54.34 (48.63 - 59.97)	0.199
*A/G	164	40.9 (36.04 - 45.89)	115	36.98 (31.6 - 42.61)	0.315
*G/G	39	9.73 (7.01 - 13.06)	27	8.68 (5.8 - 12.38)	0.697
*A	560	69.83 (66.52 - 72.99)	453	72.83 (69.15 - 76.29)	0.216
*G	242	30.17 (27.01 - 33.48)	169	27.17 (23.71 - 30.85)	

Примечание здесь и далее: p – частота, CI – 95% доверительный интервал, P – значение двухстороннего теста Фишера

Поскольку возраст является одним из основных факторов риска развития ИМ, нами проведен анализ возрастных особенностей распределения частот генотипов в группе больных и контрольной группе. Установлено, что группа больных перенёсших ИМ в возрасте до 47 лет по спектру частот генотипов гена LTA существенно отличается от группы больных перенёсших ИМ в более позднем возрасте (до 47 лет *A/A – 62.03%, *A/G – 34.18% *G/G – 3.8%, старше 47 лет *A/A – 46.41%, *A/G – 39.87% *G/G–13.73%, $\chi^2=13.504$ P=0.001), также были выявлены существенные различия и в контрольной группе (до 47 лет *A/A – 51.6%, *A/G – 36.65%, *G/G – 11.74% старше 47 лет *A/A – 44.17%, *A/G – 50.83% *G/G–5%, $\chi^2=9.391$ P=0.009). Анализ ассоциаций полиморфного маркера rs909253 гена LTA в выделенных возрастных группах (табл. 2) показал, что среди больных, перенёсших ИМ в возрасте до 47 лет в отличие от соответствующей контрольной группы существенно снижена частота генотипа *G/G (3.8% и 11.74% соответственно, P=0.005 OR=0.3 CI 0.12 – 0.73) и повышена частота генотипа *A/A (62.03% и 51.6% соответственно P=0.036 OR=1.53 CI 1.03 – 2.28). В тоже время в группе больных перенёсших, ИМ в возрасте старше 47 лет, в отличие от соответствующей контрольной группы повышена частота генотипа *G/G (13.73% и 5% соответственно, P=0.023 OR=3.02 CI 1.18 – 7.74).

Обсуждение. Нами проведён анализ ассоциаций полиморфного маркера rs909253 гена LTA с риском ИМ в этнически однородной группе татар. Полученные нами данные свидетельствуют о важной роли гена LTA в формировании

Таблица 2.

Результаты анализа ассоциаций полиморфного маркера rs909253 (252A>G) гена LTA с риском ИМ с учётом возраста манифестации заболевания

Генотип/ Аллель	До 47 лет					47 лет и старше				
	Контроль		Больные		P	Контроль		Больные		P
	n	p(%)	n	p(%)		n	p(%)	n	p(%)	
*A/A	145	51.6	98	62.03	0.036	53	44.17	71	46.41	0.716
*A/G	103	36.65	54	34.18	0.678	61	50.83	61	39.87	0.086
*G/G	33	11.74	6	3.8	0.005	6	5	21	13.73	0.023
*A	393	69.93	250	79.11	0.003	167	69.58	203	66.34	0.461
*G	145	30.07	66	20.89		73	30.42	103	33.66	

Предрасположенности к ИМ, причем если в возрасте до 47 лет генотип *G/G можно рассматривать как протективный, то в более позднем возрасте этот же генотип является маркером повышенного риска ИМ. Согласно результатам исследования Судомоиной М.А с соавт. для жителей Москвы частота аллеля *G снижена среди лиц перенёсших ИМ [6]. В тоже время, в других исследованиях показана связь аллеля *G с увеличением толщины комплекса интима-медиа сонных артерий у больных сахарным диабетом [7]. По результатам мета-анализа аллель *G ассоциирован с повышенным риском ишемического инсульта у европейцев [8]. Tanaka T. и Ozaki K. в опытах *in vitro* показали, что в клетках, содержащих аллель LTA*G, транскрипционная активность гена LTA в 1.5 раза выше, чем в клетках с аллелем LTA*A [9]. Следует отметить, что LTA опосредует свои эффекты через два вида рецепторов – TNFRSF1A (TNFR1, p55) и TNFRSF1B (TNFR2, p75), причём эффекты от взаимодействия с разным типом рецепторов неодинаковы. В работе Zhang Y. с соавторами продемонстрировано, что LTA

через взаимодействие с TNFRSF1A реализуют эффекты, приводящие к сердечной недостаточности после ишемии миокарда, тогда как через взаимодействие этих цитокинов с TNFRSF1B реализуются кардиопротективные эффекты [10].

Таким образом, результаты нашего исследования подтверждают гипотезу о существенном вкладе в формирование наследственной предрасположенности к ИМ гена LTA, что согласуется с современными представлениями о патогенезе атеросклеротического поражения сосудов и развитии ИМ. Полученные данные могут служить основой для дальнейшего поиска информативных предикторов ИМ, как на геномном так и протеомном уровне.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease // *Am. Heart J.* 1999. V. 138. S419–S420.
2. Libby P. Inflammation in atherosclerosis // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012. V. 32. № 9. P. 2045-2051.
3. O'Brien K. D. McDonald T. O., Chait A et al. Neovascular expression of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, and vascular cell adhesion molecule-1 in human atherosclerosis and their relation to intimal leukocyte content // *Circulation.* – 1996. V. 93. №. 4. P. 672-682.
4. Schreyer S.A., Vick C.M., LeBoeuf R.C. Loss of lymphotoxin-alpha but not tumor necrosis factor-alpha reduces atherosclerosis in mice // *J Biol Chem.* 2002. V. 277. N 14. P. 12364–12368.
5. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning.* Ed. Nolan C. Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press. 479 p.
6. Судомоина М. А., Сухинина Т. С., Барсова Р. М., и др. Комплексный анализ ассоциации полиморфизма генов воспаления с инфарктом миокарда // *Молекулярная биология.* 2010. Т. 44. №. 3. С. 463-471.

7. Liu Y., Herrington D., Burdon K.P. et al. A functional polymorphism in the lymphotoxin-alpha gene is associated with carotid artery wall thickness: the Diabetes Heart Study // *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2006. V. 13. N 4. P. 655-657.
8. Wang X., Cheng S., Brophy V.H. et al. A meta-analysis of candidate gene polymorphisms and ischemic stroke in 6 study populations: association of lymphotoxin-alpha in nonhypertensive patients // *Stroke.* 2009. V. 40. N 3. P. 683-695.
9. Tanaka T., Ozaki K. Inflammation as a risk factor for myocardial infarction // *J. Hum Genet.* 2006. V. 51. P. 595–604.
10. Zhang Y., Zhao J., Lau W.B. et al. Tumor necrosis factor- α and lymphotoxin- α mediate myocardial ischemic injury via TNF receptor 1, but are cardioprotective when activating TNF receptor 2 // *PLoS One.* 2013. V. 8. N 5:e60227.

УДК 574.577

СВЯЗЬ ГЕНА АДИПОНЕКТИНА (ADIPOQ) С ИНДЕКСОМ МАССЫ ТЕЛА

И. И. Яхина, Р. В. Мулюкова, В. Ю. Горбунова

ФГБОУ ВПО «БГПУ им. М.Акмоллы»

Ключевые слова: дислипидемия, single-nucleotide polymorphism, адипонектин, ген адипонектина (ADIPOQ), метаболический синдром (МС), индекс массы тела (ИМТ).

Аннотация. На сегодняшний день расчет индекса массы тела (ИМТ) становится актуальным, т. к. ожирение по признанию Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) рассматривают как неинфекционную эпидемию настоящего времени в связи с его широким распространением среди населения, высоким риском развития ССЗ, ранней инвалидизацией больных и преждевременной смертностью. В данной работе исследуется

связь однонуклеотидного полиморфизма rs2241766 гена адипонектина (ADIPOQ), которая ассоциируется с нарушением функционирования жировой ткани, что приводит к ожирению.

Введение. Ожирение – это хроническое рецидивирующее многофакторное заболевание, характеризующееся накоплением жировой ткани в организме, при этом вызывая ряд серьезных ассоциированных заболеваний: МС, СД 2-го типа, дислипидемия, подагра, ССЗ (Бурко, 2013).

По данным ВОЗ ~ 30% жителей планеты страдают избыточным весом, из них 16,8% — женщины и 14,9% — мужчины. Численность людей, страдающих ожирением, прогрессивно увеличивается каждые 10 лет на 10% (Бурко, 2013).

Основной причиной ожирения является нарушения генетической регуляция энергетического баланса между потреблением и расходом энергии, который обуславливает поддержание стабильной массы тела и составляет 5- 10 % влияния на развитие ожирения (Марри, 1993; Бурко, 2013).

Ведущую роль в причинах ожирения занимает адипоцитокнины (адипокины) – белки ЖТ, экспрессия и секреция которых изменяется при патологии, т. е при ожирении и/или абдоминальном типе распределения ЖТ (Танянский, 2008).

Диагностика ожирения проводится при помощи клинического показателя – индекса массы тела (ИМТ). Формула для вычисления ИМТ:

$$\text{ИМТ} = m/h^2,$$

где m – масса тела (кг), h – рост (m^2). У людей (старше 18 лет) ИМТ равное 25-29 $кг/м^2$ говорит о наличии избыточной массы тела, а 30 и более $кг/м^2$ – об ожирении 1, 2, 3 степени (Бурко, 2013).

Основными биомаркерами ожирения являются лептин и адипонектин. Они оказывают влияние на углеводный и липидный обмены Лептин участвует в передаче информации в гипоталамусе о количестве энергии, запасенный в жире. Уровень содержания лептина в сыворотке крови при

ожирении увеличивается в то время как адипонектина - снижается (Бутыгина, 2013).

Адипонектин - коллагеноподобный белок, регулирующий важные метаболические и катаболические процессы; снижает содержание жирных кислот и их поступление в печень, стимулируя β -окисление жирных кислот путем активации протеинкиназы, способствуя сокращению продукции глюкозы печенью, также синтеза триглицеридов (ТГ); участвует в регуляции кровяного давления, препятствуя отложению жира на стенках кровеносных сосудов; предотвращает возникновение воспалительных процессов; смягчает повреждения при ишемии и реперфузии (возобновление тока крови) сердечной мышцы; предотвращает развитие деменции (слабоумия); поддерживает энергетический гомеостаз; улучшает чувствительность к инсулину, предотвращая развитие инсулинорезистентности; ингибирует атеросклеротические процессы. Адипонектин синтезируется в белой ЖТ, состоит из 244 аминокислот и кодируется геном ADIPOQ, который локализован в 3q27 (Катрухи, 2009).

Липиды, попадая в организм человека, подвергаются разложению в пищеварительном тракте, в результате чего образуются продукты, которые поступают в жидкую среду организма (кровь, лимфа) и переносятся в печень для уничтожения либо отлагаются в ЖТ. За эти процессы кроме гена ADIPOQ отвечают и другие гены, связанные с ожирением: лептин (LEP) и его рецептор (LEPR), липопротеинлипаза (LPL), белок, связывающий жирные кислоты (FABP2) (Николаев, 2014).

При помощи программы «GeneMania» (Warde-Farley et al., 2010; <http://genemania.org/>) был построен метаболический путь, включающий в себя 5 генов: LEP, LEPR, LPL, ADIPOQ, FABP2. Граф взаимодействия локусов генов LEP, LEPR, LPL, ADIPOQ, FABP2 между собой и другими генами, задействованными в развитии ожирения (Николаев, 2014).

Связь между геном ADIPOQ и метаболизмом в организме изучается при помощи однонуклеотидных полиморфизмов (SNP – single nucleotid

polymorphism), полиморфизмов гена (более десяти). В данной работе исследуется полиморфизм rs2241766 (g.+45T→G) располагаются в структурной зоне гена (Атраментова, 2010).

SNP +45T→G локализован в экзоне 2 и представляет собой трансверсию, т. е. замена Т на G в 45 локусе. В результате возникает молчащая мутация Gly15 (GGT на GGG), что приводит к инактивации гена или же влияет на концентрацию адипонектина, изменяя сплайсинг пре-м-РНК, стабильность м-РНК (Караченцев, 2010).

Полиморфизм rs2241766 ассоциирован с СД 2-го типа, ожирением и МС. По литературным данным можно указать аллели Т* и G*. Аллель Т* является протективным, т. е. отвечает за правильное, равномерное распределение жировой ткани. G* – мутантный аллель, который имеет негативный эффект, вызывая понижение уровня адипонектина в крови, что приводит к ожирению (Reddy, 2012; Jochmanová, 2013). А гетерозиготы по данным аллелям (G/T) чаще встречаются у людей с избыточной массой тела (Reddy, 2012; Jochmanová, 2013).

Целью данного исследования является исследование генетической структуры популяции людей с нормальным ИМТ в пределах 25,15-27,4, и ИМТ превышающий 27,5 среди мужчин и женщин по полиморфному варианту rs2241766 гена ADIPOQ. Были поставлены следующие задачи: сравнение частот генотипов и аллелей полиморфизма rs2241766 гена ADIPOQ в группах с ИМТ=25,15-27,4, и больше 27,5 среди мужчин и женщин.

Материалы исследования. В работе использованы образцы ДНК 103 людей с ИМТ в пределах 25,1-51,67. Образцы ДНК были предоставлены лабораторией Центра молекулярно-генетических исследований Башкирского Государственного Педагогического университета им. М. Акмуллы, где и были проведены исследования.

Выборка была поделена на 2 группы: ИМТ = 25,15-27,4 – с небольшой избыточной массой тела и ИМТ>27,5 представлены ожирением 1, 2, 3

степени. Сравнение групп проводилось между мужчинами и женщинами. Показатели ИМТ, которые были использованы в данной работе представлены в табл. 1.

Таблица 1

Показатели индекса массы тела (ИМТ)

Типы массы тела	ИМТ (по Кетле)	Ссылка
Дефицит массы тела	Менее 19,5	(Танянский, 2008)
Норма	19,5-22,9	
Избыток массы тела	23,0-27,4	
Ожирение 1 степени	27,5-29,9	
Ожирение 2 степени	30,0-34,9	
Ожирение 3 степени	35,0-39,9	
Ожирение 4 степени	40 и больше	

Методы исследования. Молекулярно-генетические методы: ДНК выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции по Mathew (1984), полимеразную цепную реакцию синтеза ДНК проводили по Mullis (1987), электрофорез в 7 % полиакриламидном геле по Маниатису (1984).

Статистическая обработка данных: закон Харди-Вайнберга, метод χ^2 , метод 2*2.

Биоинформатические методы: По программе «GeneMania» (Wardle-Farley et al., 2010; <http://genemania.org/>) анализировались графы белок-белкового взаимодействия. Это позволяет увидеть метаболический путь белка гена ADIPOQ и его связь с другими генами (рис. 1).

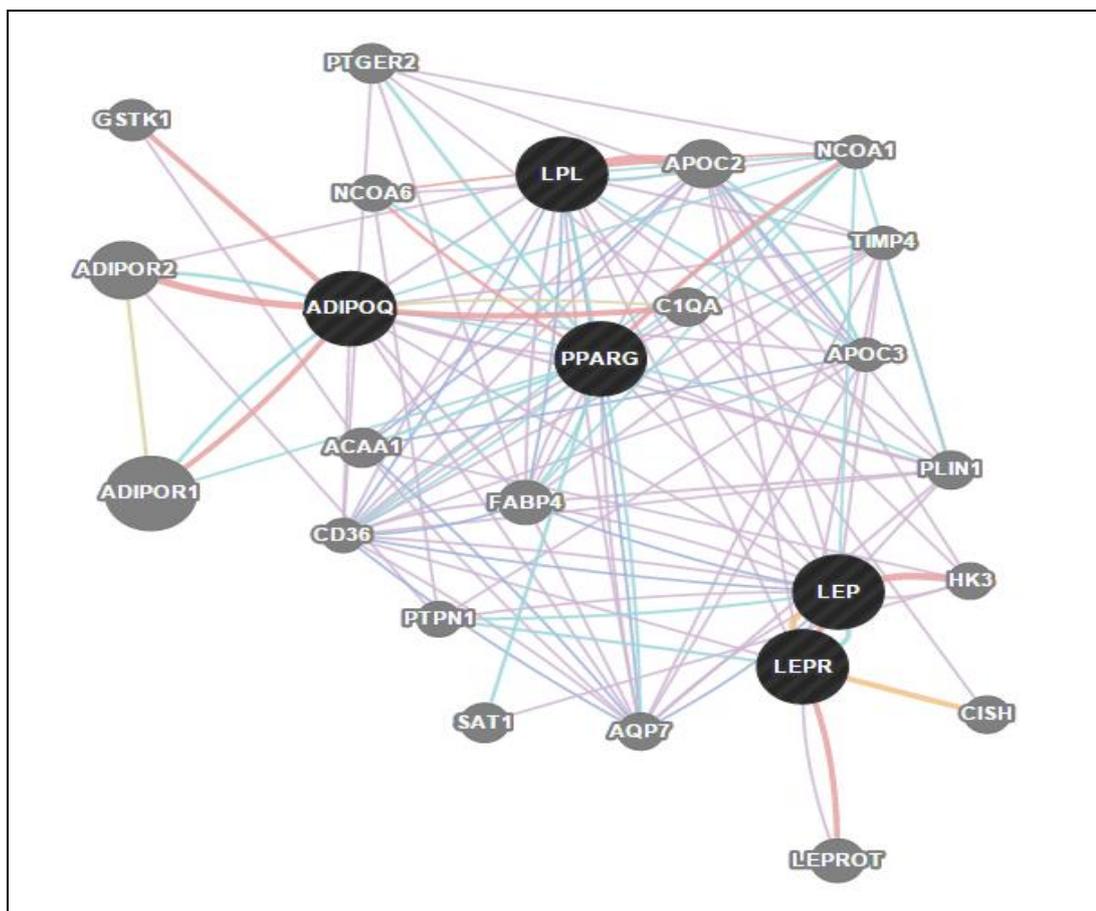


Рис. 1 Метаболический путь, включающий в себя 5 генов: LEP, LEPR, LPL, ADIPOQ, FABP2 (программа «GeneMania» (Warde-Farley et al., 2010; <http://genemania.org/>))

Результаты и обсуждение. Молекулярно-генетический анализ полиморфизма rs2241766 гена ADIPOQ показал наличие в выборке из 103 человек двух аллелей (T* и G*) и трех генотипов (TT, TG, GG). В выборке присутствовали мужчины и женщины с ИМТ=25,15-27,4 (45), ИМТ>27,5 (58).

С помощью статистической обработки данных был произведен анализ распределения частот генотипов и аллелей по показателям ИМТ=25,15-27,4, ИМТ>27,5. Для каждого показателя проводились отдельные расчеты с распределением по Харди-Вайнбергу для групп мужчин и женщин.

При сравнении частот генотипов и аллелей полиморфизма rs2241766 гена ADIPOQ у мужчин и женщин с ИМТ=25,15-27,4 не выявлены

достоверные различия ни в одном из генотипов и аллелей. Расчеты указаны в табл. 2.

Генотип TG встречается больше у женщин (89,66 %), чем у мужчин (87,5 %), т. к. женщины больше подвержены избыточному весу тела по данным ВОЗ.

А генотип TT встречается только в этой группе. Они представляют собой тех, кто не имеет предрасположенности к ожирению, но имеет повышенный ИМТ. Это результат того, что на значение ИМТ влияют и другие показатели, которые в этой статье не описаны, такие как индекс НОМА, характеризующий инсулинорезистентность, возраст и пол человека (Танянский, 2008).

У женщин генотип TT составляет 6,9%, у мужчин – 12,5 %. Это еще раз подтверждает то, что мужчины меньше подвержены ожирению.

Генотип GG имеется только у женщин с ИМТ=27 (3,47%). Это говорит о том, что имеется избыточная масса тела, судя по значению ИМТ, но на генетическом уровне имеется предрасположенность к ожирению, если не соблюдать диеты, то может перерасти в ожирение 1, 2, 3, 4 степени. Для таких случаев необходимы ряд исследований на биохимическом, молекулярном (исследование других генов, отвечающих за развитие МС) уровнях. После них устанавливаются разные диетологические процедуры, такие как составление диет для каждого человека. Это все перерастает в такую науку как нутригенетика, целью которой является определение оптимальных вариантов питания.

Таблица 2

Распределения частот генотипов и аллелей полиморфного варианта

rs2241766 гена ADIPOQ женщин и мужчин с ИМТ= 25,15-27,4

ДНК-локус	Генотипы/аллели	Женщины		Мужчины		p(χ^2)
		n	p, %	n	p, %	
	TT	2	6,9	2	12,5	0,9331 (0,0077)
	TG	26	89,66	14	87,5	1,0005 (0,0005)

ADIPOQ rs2241766	GG	1	3,45	0	0	1,0005 (0,0005)
	T	30	51,72	18	56,26	0,8491 (0,0370)
	G	28	48,28	14	43,75	0,8491 (0,0370)

При сравнении частот генотипов и аллелей полиморфизма rs2241766 гена ADIPOQ у мужчин и женщин с ИМТ>27,5 также не выявлены достоверные различия. Расчеты показаны в табл. 3.

Среди женщин имеется только генотип TG. Независимо от степени ожирения, преобладает гетерозиготный генотип, в то время как предполагалось, что должны были преобладать генотипы гомозиготные по рецессивному аллелю (GG).

У мужчин генотип TG занимает 94,44 %, а генотип GG – 5,56 %. Генотип TT не встречается в этой выборке, т. к. выборка состоит только из тех, у кого ИМТ>27,5. Это подтверждается путем исследований и по литературным данным (Reddy, 2012; Jochmanová, 2013).

Таблица 3

Распределения частот генотипов и аллелей полиморфного варианта rs2241766 гена ADIPOQ женщин и мужчин с ИМТ> 27

ДНК- локус	Генотипы/ аллели	Женщины		Мужчины		p(χ^2)
		N	p, %	n	p, %	
ADIPOQ rs2241766	TT	0	0	0	0	1,0005 (0,0005)
	TG	40	100	17	94,44	0,1715 (0,6793)
	GG	0	0	1	5,56	0,6793 (0,1715)
	T	40	50	17	47,22	0,9402 (0,0062)
	G	40	50	19	52,78	0,9402 (0,0062)

Исследование генетической структуры группы людей с ИМТ=25,15-27,4 и ИМТ>27,5 показало, что повышенные показатели ИМТ имеют в большинстве случаев генотипы TG (гетерозиготы). По литературным данным понижение концентрации адипонектина в крови косвенно влияет на уровень ИМТ, т. к. на ИМТ влияют и другие показатели, такие как показатели:

уровень сахара в крови, возраст, пол, концентрации показателей липидного обмена (общий холестерин, триглицериды, липопротеины низкой и высокой плотности, индекс атерогенности). Имеются также ряд других генов, которые участвуют в развитии МС, и влияют на значения ИМТ (Танянский, 2008).

ЛИТЕРАТУРА.

1. Бурко, И. Проблемы лишнего веса: развитие ожирения и подходы к его лечению// И. Бурко// научно-парктический журнал «Наука и инновации». – 2013. - № 10 (128). – с. 4-7.
2. Марри, Р. Биохимия человека/ Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл/ Т. 1 пер. с англ: - М.: Мир, 1993. -384 с.
3. Танянский, Д. А. Связь уровня адипонектина с обменом липидов и углеводов у женщин: роль массы тела// Д. А. Танянский, Э. М. Фирова, Л. В. Шатилина, А. Д. Денисенко// вестник Санкт-Петербургского университета. – 2008. – № 4(1). – с. 53-61.
4. Бутыгина, В. Л. Адипонектин и лептин в сыворотке крови крупновесных новорожденных детей с различной прибавкой массы тела в первый месяц жизни [Электронный ресурс]/ В. Л. Бутыгина, А. В. Солнцева, А. В. Сукало, А. Н. Горячко. – Режим доступа: https://www.google.ru/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0CCcQFjAC&url=http%3A%2F%2Fwww.bsmu.by%2Ffiles%2Fde553ff7d54691c029a2209ee7d93750%2F&ei=rhjyVI21K43VaqaIgpAJ&usg=AFQjCNE7aejaCRSLYFdi8GYr9iIQ950ksw&sig2=pKqUOfIq0nfPDF_WrjFmkg&bvm=bv.87269000,d.d2s
5. Катрухи, И. А. Исследование адипонектина человека с помощью моноклональных антител [Текст]: дипломная работа студента 5-го курса МГУ им. М. В. Ломоносова: защищена 2009 г./ И. А. Катрухи. - Москва, 2009. – 63 с.
6. Николаев, И. В. Молекулярно-генетический анализ взаимодействия аллелей генов липидного обмена (LEP, LEPR, LPL, PPARG) при

- дислипидемии// И. В. Николаев, Р. В. Мулюкова, Л. Р. Каюмова, Е. В. Воробьева, В. Ю. Горбунова// БГПУ им. М. Акмуллы, Уфа, Россия. – 2014. – УДК 578.8.57.017.73.
7. Атраментова, Л. А. Однонуклеотидный полиморфизм +276 G→Т гена адипонектина (APM1) у доноров Харькова// Л. А. Атраментова, В. В. Полторац, Т. В. Тыжненко, М. Ю. Горшунская, А. К. Почерняев// журнал «Цитология и генетика». – 2010. – № 6. – с. 40-43.
 8. Караченцев, Ю. И. Клиническая эндокринология. Значение однонуклеотидных полиморфизмов +45T/G гена адипонектина (ADIPOQ) в формировании риска сахарного диабета второго типа// Ю. И. Караченцев, М. Ю. Горшунская, Л. А. Атраментова, Н. А. Кравчун, О. О. Хижняк, Т. В. Тыжненко, Т. С. Гринченко, А. И. Гладких, Ж. А. Лещенко, Ю. А. Шевченко, А. К. Почерняев, И. П. Романова, В. В. Полторац// журнал «Проблемы эндокринной патологии». - 2010.- № 4. – с. 5-12.
 9. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA // C. C. Mathew// Methods in molecular biology N.Y. 1984 V. 2. P. 31-34.
 10. Mullis K.B. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia // K. B. Mullis, R. K. Saiki, S. Scharf et al.// Science. – 1987. – V. 230. – N 4732. – p. 487-491.
 11. Маниатис, Т. Молекулярное клонирование (Методы генетической инженерии)/ Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук/- М.: Мир, 1984. С. 220-228.
 12. Warde-Farley, D. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function// D. Warde-Farley, S.L. Donaldson, O. Comes, K. Zuberi, R. Badrawi, P. Chao, M. Franz, C. Grouios, F. Kazi, C.T. Lopes, A. Maitland, S. Mostafavi, J. Montojo, Q. Shao, G. Wright, G.D. Bader, Q Morris// Nucleic Acids Res. – 2010. – № 38.

13. Reddy, M. N. Association of Adiponectin Gene Functional Polymorphisms (+45T/G and +276 G/T) with Obese Breast Cancer// M. N. Reddy, K. Kumar. K. Jamil// Molecular Biomarkers & Diagnosis. - 2012. – № 3. – p. 2-6.
14. Jochmanova, I. T45G and G276T Adiponectin Gene Polymorphisms in Primary Aldosteronism and Healthy Controls in an East Slovak Population// I. Jochmanova, V. Habalova, H. Wagnerova, A. Galovicova, I. Lazurova// Physiological Research. – 2013. – № 62. – p. 413- 420.

«Вавиловские чтения - 2015»

Труды Межвузовской научной конференции молодых ученых

Лиц. на издат. деят. Б848421 от 03.11.2000 г. Подписано в печать 03.12.2015.

Формат 60X84/16. Компьютерный набор. Гарнитура Times New Roman.

Отпечатано на ризографе. Усл. печ. л. – 4,4. Уч.-изд. л. – 4,2.

Тираж 100 экз. Заказ №

ИПК БГПУ 450000, г. Уфа, ул. Октябрьской революции, За