

10. Baas P.W. Axonal transport of microtubules: the long and short of it / P.W. Baas, C. Vidya Nadar, K.A. Myers // *Traffic*. – 2006. – Vol. 7(5). – P. 490-498. DOI:10.1111/j.1600-0854.2006.00392.x
11. Blackstone C. Hereditary spastic paraplegia / C. Blackstone // *Handbook of clinical neurology*. – 2018. – Vol. 148. – P. 633-652. DOI:10.1016/B978-0-444-64076-5.00041-7
12. Bladder dysfunction in hereditary spastic paraplegia: a clinical and urodynamic evaluation / M. Fourtassi, S. Jacquin-Courtois, M. Scheiber-Nogueira [et al.] // *Spinal Cord*. – 2012. – Vol. 50(7). – P. 558-562. DOI:10.1038/sc.2011.193
13. Boukhris A. Tunisian hereditary spastic paraplegias: clinical variability supported by genetic heterogeneity / A. Boukhris, G. Stevanin, I. Feki // *Clin Genet*. – 2009. – Vol. 75(6). – P. 527-536. DOI:10.1111/j.1399-0004.2009.01176.x
14. Expanding the clinical spectrum of SPG11 gene mutations in recessive hereditary spastic paraplegia with thin corpus callosum / A. Al-eem, N. Abu-Shahba, D. Swistun [et al.] // *Eur J Med Genet*. – 2011. – Vol. 54(1). – P. 82-85. DOI:10.1016/j.ejmg.2010.10.006
15. Functional effects of botulinum toxin type-A treatment and subsequent stretching of spastic calf muscles: a study in patients with hereditary spastic paraplegia / M. Niet, S. Bot, B. Warrenburg [et al.] // *J Rehabil Med*. – 2015. – Vol. 47(2). – P. 147-153. DOI:10.2340/16501977-1909
16. Hereditary spastic paraplegia: clinical and genetic hallmarks / P. Souza, W. Rezende Pinto, G. Rezende Batistella [et al.] // *Cerebellum*. – 2017. – Vol. 16(2). – P. 525-551. DOI:10.1007/s12311-016-0803-z
17. Hereditary spastic paraplegia: clinical-genetic characteristics and evolving molecular mechanisms / T. Giudice, F. Lombardi, F. Santorelli [et al.] // *Exp Neurol*. – 2014. – Vol. 261. – P. 518-539. DOI:10.1016/j.expneurol.2014.06.011
18. Klebe S. Clinical and genetic heterogeneity in hereditary spastic paraplegias: from SPG1 to SPG72 and still counting / S. Klebe, G. Stevanin, C. Depienne // *Rev Neurol (Paris)*. – Vol. 171(6-7). – P. 505-530. DOI:10.1016/j.neurol.2015.02.017
19. Loureiro J. Autosomal dominant spastic paraplegias: a review of 89 families resulting from a Portuguese survey / J.L. Loureiro, E. Brandão, L. Ruano // *JAMA Neurol*. – 2013. – Vol. 70(4). – P. 481-487. DOI:10.1001/jamaneurol.2013.1956
20. Neuroimaging in hereditary spastic paraplegias: current use and future perspectives / F. Graça, T. Rezende, L. Vasconcellos [et al.] // *Front Neurol*. – 2019. – Vol. 10. – P. 1-10. DOI:10.3389/fneur.2018.01117
21. Rajakulendran S. Thinning of the corpus callosum and cerebellar atrophy is correlated with phenotypic severity in a family with spastic paraplegia type 11 / S. Rajakulendran, C. Paisán-Ruiz, H. Houlden // *J Clin Neurol*. – 2011. – Vol. 7(2). – P. 102-104. DOI:10.3988/jcn.2011.7.2.102
22. Schüle R. Hereditary spastic paraplegia: clinicogenetic lessons from 608 patients / R. Schüle, S. Wiethoff, P. Martus // *Ann Neurol*. – 2016. – Vol. 79(4). – P. 646-658. DOI:10.1002/ana.24611
23. Shribman S. Hereditary spastic paraplegia: from diagnosis to emerging therapeutic approaches / S. Shribman, E. Reid, A. Crosby // *Lancet Neurol*. – 2019. – Vol. 18(12). – P. 1136-1146. DOI:10.1016/S1474-4422(19)30235-2
24. Solowska J.M. Hereditary spastic paraplegia SPG4: What is known and not known about the disease / J.M. Solowska, P.W. Baas // *Brain*. – 2015. – Vol. 138(9). – P. 2471-2484. DOI:10.1093/brain/awv178
25. Spinal direct current stimulation (ts-DCS) in hereditary spastic paraplegias (HSP): a sham-controlled crossover study / G. Ardolino, T. Bocci, M. Nigro [et al.] // *J Spinal Cord Med*. – 2018. DOI:10.1080/10790268.2018.1543926
26. The effects of functional electrical stimulation on walking in hereditary and spontaneous spastic paraparesis / J. Marsden, V. Stevenson, C. McFadden [et al.] // *Neuromodulation Technol Neural Interface*. – 2013. – Vol. 16(3). – P. 256-260. DOI:10.1111/j.1525-1403.2012.00494.x
27. The global epidemiology of hereditary ataxia and spastic paraplegia: a systematic review of prevalence studies / L. Ruano, C. Melo, M. Silva [et al.] // *Neuroepidemiology*. – 2014. – Vol. 42(3). – P. 174-183. DOI:10.1159/000358801

Н.А. Соловьева, А.Т. Дьяконова, Н.И. Павлова,
Х.А. Куртанов

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ДОФАМИНТРАНСПОРТНОГО БЕЛКА *SLC6A3/DAT1* С РИСКОМ НИЗКОГО АДАПТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА В ЯКУТСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

DOI 10.25789/YMJ.2020.71.02

УДК 575.22

В статье представлены результаты пилотного исследования впервые проведенного молекулярно-генетического анализа ассоциации полиморфного варианта rs27072 гена дофаминтранспортного белка *SLC6A3/DAT1* с риском низкого адаптационного потенциала в якутской популяции.

Установлено, что большинство участников исследования нуждались в дополнительных источниках положительных эмоций для восстановления психоэмоционального состояния после стресса, что предполагает пониженный уровень адаптационных резервов. Молекулярно-генетический анализ распределения частоты генотипов и аллелей убедительно продемонстрировал, что среди указанных индивидов преобладали носители генотипа GG и аллеля G, тогда как индивиды, не использующие для преодоления стресса дополнительных мер, характеризовались преобладанием гетерозиготного генотипа AG и аллеля A.

Ключевые слова: ген *SLC6A3/DAT1*, полиморфизм, транспорт дофамина, адаптационный потенциал, стресс, якуты.

The article presents the results of the first molecular genetic study of the association of the polymorphic variant rs27072 of the dopamine transport protein gene *SLC6A3/DAT1* with a risk of low adaptive potential in the Yakut population.

It was found that most of the study participants needed additional sources of positive emotions to restore their psychoemotional state after stress, which suggests a lower level of adaptive reserves in the population.

Molecular genetic analysis of the frequency distribution of genotypes and alleles convincingly demonstrated that among individuals in need of additional correction of their psychoemotional state, carriers of the GG and G allele prevailed, while individuals who did not use additional measures to overcome stress were characterized by the predominance of the heterozygous AG genotype and allele A.

Keywords: *SLC6A3/DAT1* gene, polymorphism, dopamine transport, adaptive potential, stress, Yakuts.

СОЛОВЬЕВА Наталья Алексеевна – к.м.н., с.н.с. Института биологических проблем криолитозоны ФИЦ ЯНЦ СО РАН, sonata608@yandex.ru; ЯНЦ комплексных медицинских проблем: **ДЬЯКОНОВА Александра Тимофеевна** – м.н.с., **ПАВЛОВА Надежда Ивановна** – к.б.н., в.н.с.-руковод. лаб., **КУРТАНОВ Харитон Алексеевич** – к.м.н., гл.н.с.-руковод. отдела.

Адаптация человека к окружающим условиям обеспечивает его нормальную жизнедеятельность. Впервые феномен адаптации наиболее подробно был описан в работах физиологов

Г. Селье, И.П. Павлова, И.М. Сеченова [5]. Они рассматривали адаптацию как физиологический процесс поддержания гомеостаза и приспособления организма к внешним меняющимся

условиям. Профессор психофизиологии Ф.Б. Березин под адаптацией понимал процесс сохранения не только физиологического, но и психического гомеостаза; оптимальное постоянное взаимодействие человека с окружающей средой и установку наиболее эффективного соответствия между физиологическими и психологическими факторами, в процессе формирования относительно стабильных психофизиологических отношений [1]. Согласно теории профессора А.Г. Маклакова, адаптация - это не только процесс, но и свойство живого организма [2].

Таким образом, адаптация – это обширное понятие, которое включает в себя приспособление организма к меняющимся или, по-другому, «стрессовым» условиям на всех уровнях организма: физиологическом, психофизиологическом и психологическом, и понимается не только как процесс, но и как свойство личности.

Впервые понятие стресса в медицину ввел американский психофизиолог Уолтер Бредфорд Кенон. Он обратил внимание на то, что организм реагирует на воздействия извне особым образом и это влияет на постоянство его внутренней среды.

Позже канадский физиолог, эндокринолог Ганс Селье использовал понятие стресс в концепции адаптационного синдрома. По его теории, стресс – это неспецифическая реакция адаптации (приспособления) организма на изменившиеся или экстремальные условия. Неспецифичность заключается в том, что организму безразлично, какой раздражитель на него действует: жара или холод, радость или горе - ответная реакция одинакова. Ведущую роль Селье отводил эндокринной системе. При стрессе происходит активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. По цепочке от высших эндокринных органов (гипоталамуса, гипофиза), расположенных в головном мозге, команда поступает к двум небольшим железам, расположенным над почками, – надпочечникам. Они вырабатывают и выделяют в кровь гормоны стресса: глюкокортикоиды (главный из них кортизол) и катехоламины (адреналин и норадреналин). Позднее стало понятно, что в реакции стресса участвует не только эндокринная, но и нервная система [5].

В силу индивидуальных (генетических) особенностей нервной системы каждый человек имеет свой уровень устойчивости к стрессам. На одинаковую ситуацию разные люди реагируют по-разному, все зависит от вну-

тренного состояния человека. Одной из причин низкой стрессоустойчивости, а следовательно и низкого адаптационного потенциала, может быть не только первичное снижение уровня такого нейромедиатора, как дофамин, но и его вторичная недостаточность, опосредованная малым количеством дофаминовых рецепторов. Дофамин - это нейромедиатор, относящийся к «системе вознаграждения» головного мозга, передающий сигналы от одного нейрона к другому, способный вызывать чувство наслаждения или удовлетворения. Известно, что люди с такой недостаточностью чаще склонны к пагубным привычкам, в том числе к «заеданию стресса», им сложнее преодолевать стрессовые ситуации самостоятельно, не прибегая к дополнительным стимуляторам. Предполагается, это связано с тем, что дефицит нейромедиатора обуславливает, во-первых, изначальный низкий эмоциональный фон, а во-вторых - таким людям для получения положительных эмоций необходима более сильная (выраженная) мотивация [6]. Они вынуждены восполнять недостаток положительных эмоций всеми доступными для них способами, только таким образом им удаётся адаптироваться к меняющимся условиям.

Кроме того, немаловажная роль в развитии патологических процессов, связанных с низким адаптационным потенциалом, принадлежит белку-переносчику дофамина, осуществляющему трансмембранный перенос дофамина из синаптической щели обратно в нейроны для повторного использования. Именно его активность определяет количество и длительность пребывания дофамина в синаптической щели, что, в свою очередь, делает данный белок важнейшим регулятором передачи сигналов дофамина в мозге [7].

Работа переносчика дофамина кодируется геном дофамин-транспортного белка *SLC6A3/DAT1*. У человека ген переносчика дофамина *SLC6A3/DAT1* локализован на хромосоме 5 в области p15.3, содержит 12 экзонов и имеет длину 4,2 тыс. п.о. [3, 4]. Механизм

передачи дофамина представлен на рис.1.

Принимая во внимание, что в современном мире проблема появления стресса приобретает особую актуальность, а успешность адаптации человека определяется гено-фенотипическими особенностями его организма, **целью настоящего исследования** явился поиск ассоциации полиморфного варианта rs27072 гена дофамин-транспортного белка *SLC6A3/DAT1* с риском развития низкого адаптационного потенциала в якутской популяции.

Материалы и методы исследования. Всего в исследование было включено 240 индивидов, из которых 177 (73,75%) чел. женского пола и 63 (26,25 %) – мужского. Средний возраст участников исследования составил $44,59 \pm 17,99$ года, средний возраст лиц мужского пола – $44,29 \pm 17,92$ (от 20 до 84 лет), женского пола – $44,71 \pm 18,04$ года (от 20 лет до 81 года). Все участники исследования были отобраны методом «случайной» выборки, проживали на территории Республики Саха (Якутия), являлись якутами и не имели родственных связей между собой. Этническая принадлежность учитывалась до третьего поколения. Исследование проводилось с письменного информированного согласия каждого участника.

Анализ анкетных данных, касающихся психофизиологических характеристик индивидов, был проведен в лаборатории экологической и медицинской биохимии, биотехнологии и радиобиологии Института биологических проблем криолитозоны ФИЦ ЯНЦ СО РАН. Работа по генотипированию полиморфизма rs27072 гена *SLC6A3/DAT1* проводилась в лаборатории наследственной патологии отдела молекулярной генетики Якутского научного

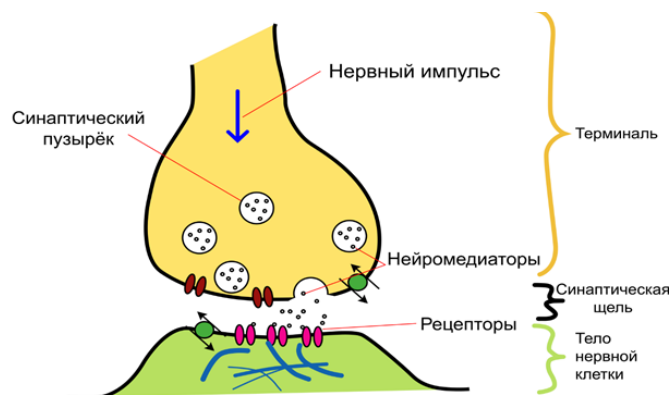


Рис.1. Механизм передачи дофамина

центра комплексных медицинских проблем.

Все участники исследования в зависимости от необходимости дополнительных источников для преодоления стресса и их вида были разделены на 4 группы (в 1-ю вошли те, кто использовал дополнительный прием пищи, во 2-ю – кто восстанавливался с помощью курения, в 3-ю – кто посещал спортзал, в 4-ю – индивиды, не испытывающие необходимость в дополнительных источниках положительных эмоций).

Молекулярно-генетический анализ проводили методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом рестрикционных фрагментов, условия проведения реакций представлены в табл. 1. Анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов проводили с использованием эндонуклеазы *MspI* («СибЭнзим», Россия), согласно инструкции (табл. 2).

Результаты амплификации фракционировали в 2 %-ном агарозном геле, с бромистым этидием, при напряжении 120-300 В, в течение 30-45 мин. Документирование и визуализацию ПЦР-амплификата проводили посредством фотографирования в UV-свете с помощью гель-документирующего прибора VilberLourmat (рис. 2). Оценка бэндов проводилась с помощью ДНК-маркера «Pus19» («Thermo Fisher Scientific», USA).

Статистическую обработку данных проводили при помощи программы Statistica 13 for Windows. Распределение генотипов проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью точного теста Фишера. Для сравнения частоты аллелей между различными группами использовали критерий χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Опрос показал, что порядка 80 % респондентов испытывали стрессовые ситуации более 4 раз в течение одной недели. Чаще всего, по мнению респондентов, они были связаны с повышенной психоэмоциональной и физической нагрузкой на работе, а также конфликтными ситуациями в семье (коллективе). На вопрос – каким образом участники исследования восстанавливали своё психоэмоциональное состояние, 63,75 % респондентов ответили, что прибегали к дополнительному приему пищи, предпочитая в этот момент мясные блюда или кондитерские изделия; 22,92 % опрошенных восстанавливались с помощью курения; 5 % посещали спортзал; остальные 8,33 % не

Таблица 1

Температурная программа амплификации

Стадия	Температура, °C	Время	Цикл
Первичная денатурация ДНК	95	5 мин	1
Денатурация ДНК	94	30 с	35
Отжиг (присоединение праймеров)	62	30 с	
Элонгация (первичное копирование цепей ДНК)	72	30 с	
Наращивание количества копий цепей ДНК	72	7 мин	1

испытывали необходимость в дополнительных источниках положительных эмоций.

Анализ возрастных показателей индивидов в зависимости от пола и способа восстановления психоэмоционального состояния не выявил достоверных различий. Средний возраст индивидов, использующих в качестве источника положительных эмоций пищу/курение (группа 1) и занятия в спортзале (группа 2), составил $44,1 \pm 17,15$ и $43,77 \pm 17,06$ года соответственно, для индивидов, не использующих источники дополнительных эмоций (группа 3), – $44,19 \pm 16,44$ года.

Результаты сравнительного анализа распределения генотипов и аллелей исследуемого полиморфизма в группах в зависимости от способа восстановления психоэмоционального состояния представлены в табл. 3. Анализ показал, что значимых различий в распределении частоты генотипов и аллелей при сравнении показателей групп 1, 2 и 3 получено не было, наиболее часто в них встречался гомозиготный генотип GG (от 71,1 до 75,0 %). В свою очередь индивиды из группы 4 характеризовались преобладанием носителей гетерозиготного генотипа AG (45%). Статистически значимые отличия в распределении частоты генотипов и аллелей были получены

Таблица 2

Характеристика длины рестрикционных фрагментов rs27072 гена *SLC6A3/DAT1*

Аллель	Длина фрагмента, п.н.
<i>DAT1</i> *A	217
<i>DAT1</i> *G	80 и 137
AA	217
AG	217, 137, 80
GG	137, 80

при сравнении объединённых данных групп 1-3 с данными группы 4 ($p \leq 0,001$). Так, индивиды из первых трех групп характеризовались преобладающим носительством аллеля G (0,775), а индивиды из группы 4 чаще являлись носителями аллеля A (0,525). Высокая частота носительства аллеля G в группах индивидов, нуждающихся в дополнительных источниках положительных эмоций для восстановления своего психоэмоционального состояния, может свидетельствовать о его негативном влиянии на работу переносчика дофамина, тогда как наличие аллеля A скорее всего выполняет протективную функцию в работе данного переносчика.

Закключение. В результате впервые проведенного в якутской популяции пилотного исследования анализа

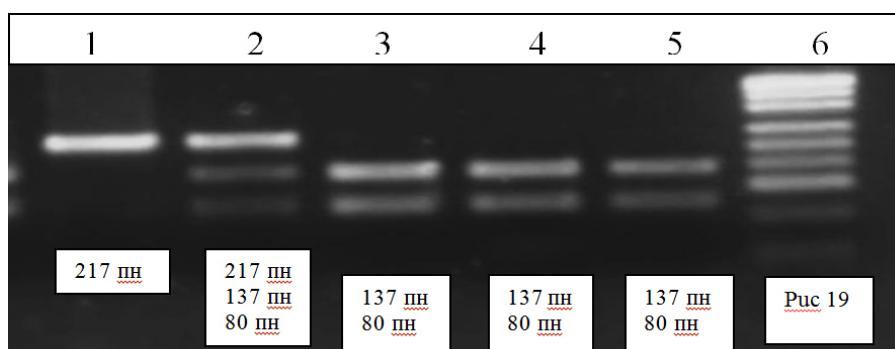


Рис. 2. Электрофореграмма продукта амплификации rs27072 гена *SLC6A3/DAT1* в 2%-ном агарозном геле: п.н. – пар нуклеотидов; 1 – AA генотип (217 п.н.); 2 – AG генотип (217, 137, 80 п.н.); 3, 4, 5 – GG генотип (137, 80 п.н.). Внутренний контроль: 6 – ДНК маркер «Pus19»

Таблица 3

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма rs27072 гена *SLC6A3/DAT1* в зависимости от способа восстановления психоэмоционального состояния, абс.число (%)

Генотип	Объединенные данные групп 1 и 2 n=208	Группа 3 n=12	Группа 4 n=20
AA	35 (16,83)	1 (8,33)	6 (30)
AG	25 (12,02)	2 (16,67)	9 (45)
GG	148 (71,15)	9 (75)	5 (25)

ассоциации полиморфизма rs27072 гена *SLC6A3/DAT1* с риском развития снижения адаптационного потенциала установлено, что большинство участников исследования нуждались в дополнительных источниках положительных эмоций для восстановления психоэмоционального состояния после стресса, что предполагает пониженный уровень адаптационных резервов в популяции. Также о пониженном уровне адаптационного потенциала свидетельствуют и способы его коррекции: порядка 70% выбирали дополнительное употребление высококалорийной пищи или курение, и лишь 5% исследуемых выбирали спортивные нагрузки.

Молекулярно-генетический анализ распределения частоты генотипов и аллелей убедительно продемонстрировал, что среди индивидов, нуждающихся в дополнительной коррекции своего психоэмоционального состояния, преобладали носители генотипа GG и аллеля G. Тогда как индивиды,

не использующие для преодоления стресса дополнительных мер, характеризовались преобладанием гетерозиготного генотипа AG и аллеля A.

Таким образом, поиск ассоциации полиморфизма rs27072 гена *SLC6A3/DAT1* с риском развития низкого адаптационного потенциала выявил, что аллель G может служить в качестве генетического фактора риска, определяющего более низкий уровень адаптационного потенциала у индивидов якутской популяции, и быть использован как маркер для обоснованного проведения персонализированной коррекции адаптационного потенциала по средствам применения биопрепаратов из тканей растений и животных Якутии. В свою очередь, аллель A может быть использован в качестве маркера, характерного для лиц с более высоким адаптационным потенциалом.

Исследование было проведено в рамках проекта VI.62.1.8. «Разработка биопрепаратов из тканей растений и животных Якутии на основе изучения особенностей их биохимического состава и механизмов адаптации к условиям Севера» (№ 0376-2019-0005 регистрационный номер АААА-А17-117020110055-3) Института биологических проблем криолитозоны ФИЦ ЯНЦ СО РАН и НИР Якутского научного центра комплексных медицинских проблем «Изучение генетической структуры и груза наследственной патологии популяций Республики Саха (Якутия)».

Литература

1. Березин Ф. Б. Психологическая и психофизическая адаптация челове-

ка/ Ф.Б. Березин. -Л.: Наука, 1988. - 260 с.
Berezin F. B. Psychological and psychophysical adaptation of man / F.B. Berezin. - L.: Nauka, 1988. - 260 p.

2. Маклаков А.Г. Личностный адаптационный потенциал: его мобилизация и прогнозирование в экстремальных условиях/ А.Г. Маклаков // Психологич. журнал. - 2001. - Т. 22, № 1. - С.16-24.

Maklakov A.G. Personal adaptive potential: its mobilization and forecasting in extreme conditions /A.G. Maklakov // Psychological Journal. - 2001.- Vol. 22. - № 1. - P. 16-24.

3. Марусин А.В. Ассоциация генов подверженности алкоголизму, шизофрении и болезни Альцгеймера с психодиагностическими признаками в популяции русских / А.В. Марусин, А.Н. Корнетов, М.Г. Сваровская // Бюл. сибирской медицины. - 2016. - № 15 (5). - С. 83-96.

Marusin A.V. Association of genes for susceptibility to alcoholism, schizophrenia, and Alzheimer's disease with psychodiagnostic traits in the Russian population / A.V. Marusin, A.N. Kornetov, M.G. Swarovskaya // Bulletin of Siberian medicine. - 2016. - № 15 (5). - P. 83-96.

4. Новикова Е.А. Связь tandemного повтора 48BP VNTR гена DRD4 с избыточной массой тела / Е.А. Новикова, Е.А. Баирова, Л.В. Рычкова // Acta biomedica scientifica. - 2017. - Т. 2, № 5, ч. 1. - С.63-68.

Novikova E.A. The relationship of the tandem repeat 48BP VNTR of the DRD4 gene with overweight /E.A. Novikova, T.A. Bairova, L.V. Rychkova // Acta biomedica scientifica. - 2017. - Vol. 2. - № 5. - Part 1 - P. 63-68.

5. Сороко С. И. Индивидуальные стратегии адаптации человека в экстремальных условиях / С.И. Сороко // Физиология человека. - 2012. - Т. 38, № 6. - С. 78-86.

Soroko S.I. Individual strategies of human adaptation in extreme conditions / S.I. Soroko // Human Physiology. - 2012. - Vol. 38. - № 6. - P. 78-86.

6. Dalley J. Nucleus Accumbens D2/3 Receptors Predict Trait Impulsivity and Cocaine Reinforcement / J. Dalley //Science. - 2007. - Vol. 315. - P. 1267-1270.

7. Ferreri Laura. Dopamine modulates the reward experiences elicited by music / Laura Ferreri, Ernest Mas-Herrero, Robert J. Zatorre // PNAS. - February 26, 2019. - Vol.116 (9). - P. 3793-3798.