

МАТЕРИАЛЫ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ «СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ЯКУТИИ»

Г.Н. Ахмадеева, И.М. Хидиятова, Т.Р. Насибуллин,
А.Р. Байтимеров, Р.В. Магжанов, Э.К. Хуснутдинова

ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИИАЦИИ ПОЛИ- МОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ДОФАМИ- НЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ (*DRD1*, *DRD2*, *DRD3*, *DRD4*, *TH*, *COMT* И *MAO-B*) С ИДИО- ПАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

УДК 616.858-008.6

Изучено влияние полиморфных вариантов генов дофаминергической системы: локусов rs4532 гена *DRD1*, Taq1 и rs6275 гена *DRD2*, rs6280 гена *DRD3*, VNTR 120bp, VNTR 48bp и rs747302 гена *DRD4* (рецепторов дофамина), (TCAT)n-повторов гена *TH* (тирозингидроксилазы), rs4680 гена *COMT* (катехол-орто-метилтрансферазы) и rs1799836 гена *MAO-B* (моноаминоксидазы типа Б) на развитие болезни Паркинсона (БП) у татар. В исследование включены пациенты с идиопатической БП и здоровые индивиды татарской этнической принадлежности, проживающие на территории Республики Башкортостан. Обнаружена ассоциация аллеля rs4680*G и генотипа rs4680*G/G гена *COMT* с развитием БП, особенно ее смешанной акинетико-ригидно-дрожательной формы и в возрасте после 60 лет. Выявлена ассоциация аллеля rs1799836*С гена *MAO-B* с развитием акинетико-ригидно-дрожательной формы БП у мужчин. Комплексный анализ с помощью алгоритма APSampler показал, что наиболее значимым сочетанием, ассоциированным с повышенным развитием БП, является сочетание аллелей rs4680(*COMT*)*G и (TCAT)nTH*8 с аллелями генов рецепторов серотонина rs6311(*HTR2A*)*A и rs6296(*HTR1B*)*G. Единственным защитным сочетанием оказалось триаллельное сочетание rs4532(*DRD1*)*T + rs4680(*COMT*)*A + rs1800532(*TPH1*)*T.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, дофамин, полиморфные варианты гена, катехол-орто-метилтрансфераза, тирозингидроксилаза, моноаминоксидаза типа Б, рецепторы дофамина.

We analyzed the polymorphic variants of the genes of the dopaminergic system: the rs4532 of the *DRD1* gene, Taq1 and rs6275 of the *DRD2* gene, rs6280 of the *DRD3* gene, VNTR 120bp, VNTR 48bp and rs747302 of the *DRD4* gene (dopamine receptors), (TCAT)n-repeats of the *TH* gene (tyrosine hydroxylase), rs4680 of the *COMT* gene (catechol-O-methyltransferase) and rs1799836 of the *MAO-B* gene (monoamine oxidase B). The study included patients with idiopathic PD and healthy individuals of the Tatar ethnicity living on the territory of the Republic of Bashkortostan (RB). There is the association of the allele rs4680*G and the genotype rs4680*G/G of the *COMT* gene with PD development ($p=0,5 \cdot 10^{-5}$; OR=1,73 and $p=0,36 \cdot 10^{-4}$; OR=2,22, respectively), especially its akinesic-rigid-trembling form ($p=10^{-6}$; OR=2,86 and $p=0,3 \cdot 10^{-5}$; OR=4,87, respectively) and its manifestation after 60 years ($p=0,12 \cdot 10^{-3}$; OR=2,03 and $p=0,14 \cdot 10^{-2}$; OR=2,51, respectively) in Tatar ethnicity. There is the association of allele rs1799836*С of the *MAO-B* gene with PD development in Tatar men ($p=0,7 \cdot 10^{-3}$; OR=2,88). A complex analysis using the APSampler algorithm showed that the most significant combination associated with increased PD development was the combination of rs4680(*COMT*)*G and (TCAT)nTH*8 alleles with rs6311(*HTR2A*)*A and rs6296(*HTR1B*)*G alleles of the genes of serotonin receptors. The only protective combination was triallelic combination of rs4532(*DRD1*)*T, rs4680(*COMT*)*A and rs1800532(*TPH1*)*T alleles.

Keywords: Parkinson's disease, dopamine, polymorphic variants of the gene, dopamine receptors, monoamine oxidase B, tyrosine hydroxylase, catechol-O-methyltransferase.

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН: **АХМАДЕЕВА Гульнара Наилевна** – заочный аспирант, врач невролог Республиканского консультативно-диагностического центра экстрапирамидной патологии и ботулинотерапии ООО «Национальный медицинский холдинг «Медстандарт», nevrolog.ufa@gmail.com, **ХИДИЯТОВА Ирина Михайловна** – д.б.н., проф., зав. лаб., molgen@anrb.ru, **НАСИБУЛЛИН Тимур Русланович** – к.б.н., с.н.с., **ХУСНУТДИНОВА Эльза Камилевна** – д.б.н., проф., врм директора; **БАЙТИМЕРОВ Азамат Рамонович** – к.м.н., врач невролог, руковод. Республиканского КДЦ экстрапирамидной патологии и ботулинотерапии ООО «Национальный медицинский холдинг «Медстандарт», gamza30@bk.ru; **МАГЖАНОВ Рим Валеевич** – д.м.н., проф., зав. кафедрой Башкирского ГМУ МЗ РФ, гл. специалист Республиканского КДЦ экстрапирамидной патологии и ботулинотерапии ООО «Национальный медицинский холдинг «Медстандарт», mcjanoff@yandex.ru.

Введение. Болезнь Паркинсона (БП) представляет собой спорадическое многофакторное заболевание с определенной генетической предрасположенностью. Во всем мире проводятся исследования по поиску возможных ассоциаций генов с развитием БП и её различных клинических особенностей, при этом работ, изучающих возможную генетическую основу развития нейрорепродуктивных расстройств при БП, немного. Имеются данные, подтвердившие наличие ассоциаций когнитивных нарушений при БП с аллельными вариантами гена катехол-орто-метилтрансферазы (*COMT*) [6] и гена белка тау (*MAPT*) [14]. В нашей лаборатории ранее были проведены исследования роли митохондриальной ДНК [1], полиморфных вариантов генов дофаминергической системы:

транспортера дофамина, тирозингидроксилазы и катехол-орто-метилтрансферазы [3, 4], рецептора *DRD4* [2] в развитии БП. В связи с этим большой интерес представляет изучение возможных ассоциаций генов с развитием БП в таком многонациональном регионе, как Республика Башкортостан (РБ).

Цель: исследовать влияние 10 полиморфных вариантов генов дофаминергической системы: рецепторов дофамина (*DRD1*, *DRD2*, *DRD3* и *DRD4*), ферментов моноаминоксидазы типа Б (*MAO-B*), тирозингидроксилазы (*TH*) и катехол-орто-метилтрансферазы (*COMT*) на развитие БП и особенности клинического течения заболевания у татар.

Материалы и методы исследования. Нами обследовано 264 пациен-

Таблица 1

Распределение частоты аллелей и генотипов исследованных полиморфных локусов генов дофаминергической системы у пациентов с БП и в контрольной группе

Выборки	Частота аллелей, n (p,%)		Частота генотипов, n (p,%)			N
	*С	*Т	*С/С	*С/Т	*Т/Т	
1	2	3	4	5	6	7
DRD1 (rs4532)						
Контроль	192 (28,15)	490 (71,85)	26 (7,62)	140 (41,06)	175 (51,32)	341
Пациенты с БП	120 (27,27)	320 (72,73)	19 (8,64)	82 (37,27)	119 (54,09)	220
РД форма	47 (27,98)	121 (72,02)	10 (11,9)	27 (32,14)	47 (55,95)	84
АР форма	19 (31,67)	41 (68,33)	4 (13,33)	11 (36,67)	15 (50)	30
АРД форма	26 (26)	74 (74)	2 (4)	22 (44)	26 (52)	50
Маниф. до 45 лет	10 (26,32)	28 (73,68)	2 (10,53)	6 (31,58)	11 (57,89)	19
Маниф. 45-60 лет	34 (27,42)	90 (72,58)	6 (9,68)	22 (35,48)	34 (54,84)	62
Маниф. после 60 лет	53 (26,77)	145 (73,23)	8 (8,08)	37 (37,37)	54 (54,55)	99
DRD2 (Taq1, или 32806C>T)						
	*A1	*A2	*A1/A1	*A1/A2	*A2/A2	
Контроль	176 (22,56)	604 (77,44)	17 (4,36)	142 (36,41)	231 (59,23)	390
Пациенты с БП	107 (24,21)	335 (75,79)	14 (6,33)	79 (35,75)	128 (57,92)	221
РД форма	28 (19,44)	116 (80,56)	5 (6,94)	18 (25)	49 (68,06)	72
АР форма	16 (25)	48 (75)	1 (3,12)	14 (43,75)	17 (53,12)	32
АРД форма	32 (25,4)	94 (74,6)	4 (6,35)	24 (38,1)	35 (55,56)	63
Маниф. до 45 лет	8 (19,05)	34 (80,95)	2 (9,52)	4 (19,05)	15 (71,43)	21
Маниф. 45-60 лет	30 (24,19)	94 (75,81)	3 (4,84)	24 (38,71)	35 (56,45)	62
Маниф. после 60 лет	48 (23,76)	154 (76,24)	6 (5,94)	36 (35,64)	59 (58,42)	101
DRD2 (rs6275 или NcoI)						
	*A	*G	*A/A	*A/G	*G/G	
Контроль	331 (39,4)	509 (60,6)	70 (16,67)	191 (45,48)	159 (37,86)	420
Пациенты с БП	214 (41,47)	302 (58,53)	46 (17,83)	122 (47,29)	90 (34,88)	258
РД форма	76 (41,3)	108 (58,7)	19 (20,65)	38 (41,3)	35 (38,04)	92
АР форма	32 (47,06)	36 (52,94)	7 (20,59)	18 (52,94)	9 (26,47)	34
АРД форма	52 (39,39)	80 (60,61)	10 (15,15)	32 (48,48)	24 (36,36)	66
Маниф. до 45 лет	15 (32,61)	31 (67,39)	3 (13,04)	9 (39,13)	11 (47,83)	23
Маниф. 45-60 лет	61 (42,96)	81 (57,04)	15 (21,13)	31 (43,66)	25 (35,21)	71
Маниф. после 60 лет	99 (42,67)	133 (57,33)	20 (17,24)	59 (50,86)	37 (31,9)	116
DRD3 (rs6280 или Ser9Gly)						
	*С	*Т	*С/С	*С/Т	*Т/Т	
Контроль	179 (25,07)	535 (74,93)	27 (7,56)	125 (35,01)	205 (57,42)	357
Пациенты с БП	120 (24,39)	372 (75,61)	16 (6,51)	88 (35,77)	142 (57,72)	246
РД форма	44 (23,66)	142 (76,34)	6 (6,45)	32 (34,41)	55 (59,14)	93
АР форма	15 (24,19)	47 (75,81)	2 (6,45)	11 (35,48)	18 (58,06)	31
АРД форма	31 (26,27)	87 (73,73)	4 (6,78)	23 (38,98)	32 (54,24)	59
Маниф. до 45 лет	9 (22,5)	31 (77,5)	2 (10)	5 (25)	13 (65)	20
Маниф. 45-60 лет	33 (23,57)	107 (76,43)	2 (2,86)	29 (41,43)	39 (55,71)	70
Маниф. после 60 лет	54 (24,11)	170 (75,89)	8 (7,14)	38 (33,93)	66 (58,93)	112
DRD4 (VNTR 120bp)						
	*S	*L	*S/S	*S/L	*L/L	
Контроль	124 (15,9)	656 (84,1)	8 (2,05)	108 (27,69)	274 (70,26)	390
Пациенты с БП	68 (15,39)	374 (84,61)	9 (4,07)	50 (22,62)	162 (73,31)	221
РД форма	20 (14,09)	122 (85,91)	3 (4,23)	14 (19,72)	54 (76,06)	71
АР форма	7 (10,94)	57 (89,06)	0 (0)	7 (21,88)	25 (78,12)	32
АРД форма	22 (17,19)	106 (82,81)	4 (6,25)	14 (21,88)	46 (71,88)	64
Маниф. до 45 лет	8 (19,05)	34 (80,95)	2 (9,52)	4 (19,05)	15 (71,43)	21
Маниф. 45-60 лет	16 (12,90)	108 (87,10)	1 (1,61)	14 (22,58)	47 (75,81)	62
Маниф. после 60 лет	30 (14,85)	172 (85,15)	5 (4,95)	20 (19,80)	76 (75,25)	101
DRD4 (rs747302 или 616C>T)						
	*С	*G	*С/С	*С/Г	*G/Г	
Контроль	285 (37,4)	477 (62,6)	48 (12,6)	189 (49,61)	144 (37,8)	381
Пациенты с БП	168 (37)	286 (63)	30 (13,22)	108 (47,58)	89 (39,21)	227
РД форма	59 (37,82)	97 (62,18)	12 (15,38)	35 (44,87)	31 (39,74)	78
АР форма	23 (38,33)	37 (61,67)	5 (16,67)	13 (43,33)	12 (40)	30
АРД форма	44 (36,07)	78 (63,93)	6 (9,84)	32 (52,46)	23 (37,7)	61
Маниф. до 45 лет	12 (31,58)	26 (68,42)	1 (5,26)	10 (52,63)	8 (42,11)	19

та с идиопатической спорадической болезнью Паркинсона (диагноз был установлен согласно клиническим диагностическим критериям Банка мозга общества болезни Паркинсона Великобритании). Учитывались клиническая форма и возраст манифестации заболевания. В качестве контрольной группы было привлечено 420 здоровых добровольцев, соответствовавших выборке больных по полу и среднему возрасту. Все исследуемые лица принадлежат этнической группе татар, проживающих на территории РБ.

Выделение ДНК проводили методом последовательной фенольно-хлороформной экстракции [10]. Выделенную ДНК использовали для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК и дальнейшего рестриционного анализа (ПДРФ). При статистической обработке результатов применялись критерий χ^2 (с введением поправки Йетса) и двусторонний вариант критерия Фишера (с поправкой Бонферрони). Ассоциацию полиморфных вариантов с БП анализировали с помощью программы PLINK 1.07 [11]. Поиск сочетаний аллелей и генотипов, ассоциированных с БП, осуществлялся в программе APSampler 3.6.1 [8]. Уровень значимости считался достоверным при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Распределение частоты генотипов и аллелей исследованных локусов приведено в табл. 1 и 2, а сравнительный анализ по полученным данным – в табл. 3. Во всех исследованных группах как контрольной выборки, так и больных распределение частоты генотипов исследованных полиморфных вариантов соответствует равновесию Харди-Вайнберга ($p > 0,05$).

Рецепторы дофамина (пре- и постсинаптические) участвуют в механизмах дофаминергической передачи и являются главной мишенью для большинства противопаркинсонических препаратов. Исследованный нами полиморфный вариант rs4532 (-48G>A) гена DRD1 (рецептора дофамина D1) представляет собой однонуклеотидную замену С/Т в области 5'-UTR (-48G>A) [7] и, изменяя посттранскрипционную регуляцию, воздействует на стабильность мРНК белка. Анализ данного полиморфизма у 220 пациентов с БП и 341 контрольного индивидуума достоверных ассоциаций с развитием БП не выявил.

Полиморфный вариант rs1800497 (Taq1A) гена DRD2 (рецептора дофамина D2), представляющий собой

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6	7
Маниф. 45-60 лет	53 (40,15)	79 (59,85)	11 (16,67)	31 (46,97)	24 (36,36)	66
Маниф. после 60 лет	66 (33,33)	132 (66,67)	11 (11,11)	44 (44,44)	44 (44,44)	99
MAO-B (rs1799836) (мужчины)						
	*С	*Т	*С/С	*С/Т	*Т/Т	N
Контроль	74 (29,13)	180 (70,87)	37 (29,13)	0	90 (70,87)	127
Пациенты с БП	76 (35,19)	140 (64,81)	38 (35,19)	0	70 (64,81)	108
РД форма	24 (27,91)	62 (72,09)	12 (27,91)	0	31 (72,09)	43
АР форма	10 (35,71)	18 (64,29)	5 (35,71)	0	9 (64,29)	14
АРД форма	26 (54,17)	22 (45,83)	13 (54,17)	0	11 (45,83)	24
Маниф. до 45 лет	6 (33,33)	12 (66,67)	3 (33,33)	0	6 (66,67)	9
Маниф. 45-60 лет	16 (40)	24 (60)	8 (40)	0	12 (60)	20
Маниф. после 60 лет	38 (34,55)	72 (65,45)	19 (34,55)	0	36 (65,45)	55
MAO-B (rs1799836) (женщины)						
Контроль	171 (36,69)	295 (63,31)	33 (14,16)	105 (45,06)	95 (40,77)	233
Пациенты с БП	96 (35,56)	174 (64,44)	21 (15,56)	54 (40)	60 (44,44)	135
РД форма	28 (27,45)	74 (72,55)	5 (9,8)	18 (35,29)	28 (54,91)	51
АР форма	16 (50)	16 (50)	4 (25)	8 (50)	4 (25)	16
АРД форма	21 (30,88)	47 (69,12)	5 (14,71)	11 (32,35)	18 (52,94)	34
Маниф. до 45 лет	7 (31,82)	15 (68,18)	1 (9,1)	5 (45,45)	5 (45,45)	11
Маниф. 45-60 лет	31 (32,98)	67 (67,02)	5 (10,2)	21 (42,86)	23 (46,94)	49
Маниф. после 60 лет	41 (36,61)	71 (63,39)	11 (19,64)	19 (33,93)	26 (46,43)	56
COMT (rs4680 или 1947G>A)						
	*H (G)	*L (A)	*H/*H (G/G)	*L/*H (G/A)	*L/*L (A/A)	N
Контроль	306 (48,73)	322 (51,27)	67 (21,34)	172 (54,78)	75 (23,89)	314
Пациенты с БП	328 (62,12)	200 (37,88)	100 (37,8)	128 (48,48)	36 (13,64)	264
РД форма	100 (56,82)	76 (43,18)	30 (34,09)	40 (45,45)	18 (20,45)	88
АР форма	40 (58,82)	28 (41,18)	11 (32,35)	18 (52,94)	5 (14,71)	34
АРД форма	95 (73,08)	35 (26,92)	37 (56,92)	21 (32,31)	7 (10,77)	65
Маниф. до 45 лет	17 (50)	17 (50)	5 (29,41)	7 (41,18)	5 (29,41)	17
Маниф. 45-60 лет	56 (50,91)	54 (49,09)	16 (29,10)	24 (43,64)	15 (27,27)	55
Маниф. после 60 лет	104 (65,82)	54 (34,18)	32 (40,51)	40 (50,63)	7 (8,86)	79

Примечание. В табл. 1 и 2 n – число хромосом, p – частота (%), N – число индивидов; рд – ригидно-дрожательная форма; ар – акинетико-ригидная форма; ард – акинетико-ригидно-дрожательная форма.

однонуклеотидную замену 32806C>T, также способен изменять экспрессию белка. Показано, что у носителей аллеля rs1800497*Т (Таq1А*А1) отмечается дефицит дофамина. Второй исследованный нами полиморфный вариант гена *DRD2* – rs6275 (NcoI или His313His), однонуклеотидная замена 939C>T в 6-м экзоне, влияет на уровень экспрессии гена *DRD2*: аллель rs6275*С способствует его повышению. Проведенный нами анализ данных двух полиморфных вариантов статистически значимых результатов не обнаружил.

Локус rs6280 гена *DRD3* (рецептора дофамина D3) представляет собой однонуклеотидную замену, приводящую к замене серина на остаток глицина (Ser9Gly). У носителей генотипа *DRD3**Gly/Gly отмечается самая высокая активность рецептора [5]. Проведенный нами анализ полиморфизма у 246 пациентов с БП и 357 здоровых добровольцев ассоциаций с основными клиническими характеристиками

БП в этнической группе татар не обнаружил.

Ген *DRD4* (рецептора дофамина D4) широко исследуется во всем мире как один из вероятных генов-кандидатов развития различных психоневрологических и психиатрических синдромов и заболеваний. В наше исследование мы включили три его полиморфных варианта, модифицирующих экспрессию гена. Первый – участок с повторяющейся последовательностью в 48 п.н. с числом повторов от 2 до 11 копий в 3-м экзоне (VNTR 48bp). Считается, что у носителей «длинных» (7 и более повторов) аллелей чувствительность рецептора к дофамину ниже, чем у носителей «коротких» (6 и менее) аллелей. В ходе проведенного нами анализа локуса у 229 пациентов с БП и 379 контрольных индивидов ассоциаций с клиническими характеристиками БП не найдено.

Второй полиморфный вариант гена *DRD4*, представляющий собой дупликацию участка 120 п.н. в промоторном

регионе гена (*DRD4* 120bp), может содержать 1-4 копии [12]; при этом с увеличением числа копий отмечается уменьшение экспрессии гена. В обследованных нами выборках в данном локусе было выявлено два типа аллелей: *DRD4**L – «длинный» (с 2 копиями повтора), и *DRD4**S – «короткий» (с 1 копией). Анализ ассоциаций полиморфного варианта с развитием БП и её различными клиническими характеристиками у 221 пациента с БП и 390 здоровых лиц не обнаружил статистически достоверных различий.

Третий полиморфный вариант гена *DRD4* – rs747302 (однонуклеотидная замена 616C>T) – в случае наличия аллеля *DRD4**С может приводить к потере AP-2-сайта связывания и репрессировать транскрипцию гена. Проведенный нами анализ данного локуса у 227 пациентов с БП и 381 контрольного индивидуума выявил ассоциации с развитием БП.

Тирозингидроксилаза (ТН) является ферментом, катализирующим превращение тирозина в L-ДОФА и, таким образом, ограничивающим скорость биосинтеза дофамина из катехоламинов. Исследуемый нами полиморфный локус тетра-нуклеотидных повторов (*TCAT*)_n в интроне 1 (*HUMTH01*) выполняет роль регуляторного элемента в экспрессии гена, обладая количественным эффектом [12]. Поэтому, предположительно, факторами генетического риска развития заболевания могут являться более «длинные» аллели (ТН*9, ТН*9,3), обуславливающие пониженную экспрессию гена. Однако проведенный нами анализ данного полиморфизма у 210 пациентов с БП и 298 контрольных индивидов не обнаружил каких-либо значимых результатов, свидетельствующих о влиянии этого полиморфизма на развитие БП. При этом ранее при анализе числа тетра-нуклеотидных повторов (*TCAT*)_n в гене *TH*, проведенном в нашей лаборатории на значительно меньших по количеству выборках больных и контроля, была показана ассоциация генотипа *6/*8 данного гена с акинетико-ригидной формой БП (p=0,007; OR=4,75; 95%CI=1,43-15,33) [3].

Фермент катехол-О-метилтрансфераза (*COMT*) катализирует первую стадию метаболической деградации дофамина, при этом *COMT* может существовать в двух вариантах – с высокой и низкой активностью. Уровень активности фермента детерминирован однонуклеотидным полиморфным вариантом rs4680 (1947G>A) в 4-м экзоне гена *COMT* и определяется генотипом человека: генотип 1947A/A

Таблица 2

Распределение частоты аллелей и генотипов локусов у пациентов с БП и в контрольной группе

Аллель	Контроль		БП		Генотип	Контроль		БП	
	п	р (%)	п	р (%)		п	р (%)	п	р (%)
DRD4 (VNTR 48bp)									
*2R	78	10,29	33	7,21	*2R/2R	17	4,49	7	3,06
					*2R/3R	3	0,79	3	1,31
					*2R/4R	41	10,82	15	6,55
*3R	29	1,19	17	3,71	*2R/5R	0	0	1	0,44
					*2R/7R	0	0	0	0
					*2R/8R	0	0	0	0
*4R	605	79,82	367	80,13	*3R/3R	4	1,06	2	0,87
					*3R/4R	16	4,22	10	4,37
					*4R/4R	261	68,87	159	69,43
*5R	21	2,77	17	3,71	*4R/5R	9	2,38	8	3,49
					*4R/7R	16	4,22	13	5,68
					*4R/8R	1	0,26	1	0,44
*7R	24	3,17	19	4,15	*5R/5R	5	1,32	3	5,68
					*5R/7R	1	0,26	1	0,44
					*7R/7R	3	0,79	2	0,88
*8R	1	0,13	3	0,66	*8R/8R	8	2,11	1	0,44
					N	379		229	
TH (повторы (TCAT)n)									
*6	159	26,68	109	25,95	*6/6	18	6,04	14	6,67
					*6/7	33	11,07	27	12,86
					*6/8	19	6,38	16	7,62
*7	99	16,61	86	20,48	*6/9	24	8,05	13	6,19
					*6/9,3	46	15,44	24	11,43
					*6/10	1	0,34	1	0,48
*8	66	11,07	48	11,43	*7/7	2	0,68	6	2,86
					*7/8	11	3,69	4	1,91
					*7/9	17	5,71	15	7,14
*9	101	16,95	71	16,91	*7/9,3	33	11,07	28	13,33
					*7/10	1	0,34	0	0
					*8/8	1	0,34	1	0,48
*9,3	165	27,69	105	25	*8/9	13	4,36	15	7,14
					*8/9,3	20	6,71	11	5,24
					*8/11	1	0,34	0	0
*10	22	3,69	16	3,81	*9/9	10	3,41	4	1,91
					*9/9,3	26	8,73	20	9,52
					*9,3/9,3	20	6,71	11	5,24
*11	2	0,34	0	0	*10/10	1	0,34	0	0
					N	298		210	

Таблица 3

Сравнительный анализ частоты генотипов и аллелей исследованных полиморфных локусов генов дофаминергической системы с развитием БП, ее клинических форм и возрастом манифестации

Генотип, аллель	Сравниваемые группы	р	χ^2	OR	95% CI
MAO-B (rs1799836) (мужчины)					
*C/*C	АРД форма / контроль	0,0169* (0,051**)	5,71	2,58	1,18-6,70
*T/*T		0,0169* (0,051**)	5,71	2,58	1,18-6,70
C		0,0007	11,42	2,88	1,53-5,39
T		0,0007	11,42	0,35	0,19-0,65
COMT (rs4680 или 1947G>A)					
*H/*H (G/G)	БП / контроль	0,000012* (0,000036**)	19,10	2,22	1,56-3,25
*L/*H (G/A)		0,13	2,28	0,78	0,56-1,08
*L/*L (A/A)		0,0018* (0,0054**)	9,71	0,50	0,33-0,78
H (G)	АРД форма / контроль	0,000005	20,78	1,73	1,36-2,18
*H/*H (G/G)		0,000001* (0,000003**)	34,25	4,87	2,78-8,53
*L/*H (G/A)		0,00097* (0,0029**)	10,88	0,34	0,22-0,69
*L/*L (A/A)		0,02* (0,06**)	5,46	0,39	0,17-0,88
H (G)	манифестация после 60 лет / контроль	0,000001	25,63	2,86	1,88-4,34
*H/*H (G/G)		0,00045* (0,00135**)	12,31	2,51	1,49-4,24
*L/*H (G/A)		0,51	0,44	0,85	0,52-1,39
*L/*L (A/A)		0,000001* (0,000003**)	53,66	0,08	0,04-0,18
H (G)		0,00012	14,79	2,03	1,41-2,92

Примечание. χ^2 – критерий независимости; OR (odds ratio) – отношение шансов, 95%CI (confidence interval) – 95% доверительный интервал, р – уровень значимости; * – значения $p < 0,005$; ** – уровень значимости p с поправкой Бонферрони.

(108Met/Met), в литературе обозначаемый как COMT*L/*L, определяет вариант с низкой активностью фермента, 1947G/G (108Val/Val, COMT*H/*H) – вариант с высокой активностью. Исследование данного локуса представляло собой репликацию полученных ранее данных [3] на расширенных выборках больных и контроля, в которых лица татарской этнической принадлежности составляли 264 и 314 чел. соответственно. Нами была подтверждена выявленная ранее ассоциация генотипа rs4680*G/G и аллеля rs4680*G, детерминирующих синтез фермента с более высокой активностью, с болезнью Паркинсона, ее акинетико-ригидно-дрожательной формой и возрастом начала заболевания после 60 лет (табл. 3).

Фермент моноаминоксидаза типа В (MAO-B) также регулирует распад дофамина. Полиморфный вариант rs1799836 представляет собой однонуклеотидную замену A/G в 36 bp вверх от 5'-UTR гена MAO-B, при этом аллель rs1799836*G связан с более низкой активностью фермента [9]. Нами проведен анализ полиморфного варианта rs1799836 гена MAO-B у 243 пациентов с БП (108 мужчин) и 360 здоровых лиц (127 мужчин): у мужчин с развернутой формой БП отмечена достоверно более высокая частота аллеля *C ($p=0,0007$) по сравнению с контролем (табл. 3).

В комплексный анализ с помощью алгоритма APSampler были включены 684 татар (264 пациента с БП и 420 чел. в контрольной группе). Получено 13 сочетаний аллелей, ассоциированных с повышенным, и 1 – с пониженным риском развития БП. Негативно влияющие сочетания несут общий аллель rs4680(COMT)*G или генотип rs4680(COMT)*G/G, или аллель rs6311(HTR2A)*A, или аллель (TCAT)nTH*8, или rs1800497(DRD2)*A2. Все сочетания данных аллелей положительно ассоциированы с БП и имеют p меньше 0,0215. В случае, если в сочетании присутствуют хотя бы три аллеля из четырех, ассоциация с развитием БП значительно увеличивается и p имеет значение меньше 0,0172. Если же в сочетании присутствует аллель rs4680(COMT)*G, величина p имеет значение в диапазоне от 0,0136 до 0,0016. Наиболее значимым оказалось сочетание rs4680(COMT)*G + (TCAT)nTH*8 + rs6311(HTR2A)*A + rs6296(HTR1B)*G ($p=0,0083$; OR=9,57; 95%CIOR=2,23-41,12). Единственным протективным сочетанием оказывается триаллельное сочетание rs4532(DRD1)*T + rs4680(COMT)*A

+ rs1800532 (TRH1)*T ($p=0,0042$; $OR=0,42$; $95\%CIOR = 0,28-0,61$).

Заключение. Таким образом, исходя из результатов нашей работы, можно предположить, что основной вклад в генетическую предрасположенность к развитию болезни Паркинсона и определенных ее клинических характеристик вносят полиморфные варианты генов, затрагивающих основные ступени метаболизма дофамина – генов катехол-О-метилтрансферазы (генотип rs4680*G/G и аллель rs4680*G), моноаминоксидазы типа B (аллель rs1799836*C) и тирозингидроксилазы ((TCAT)_n повторы).

Литература

1. Анализ митохондриальной ДНК у пациентов с болезнью Паркинсона и здоровых индивидов татарской этнической принадлежности из Республики Башкортостан / И.Р. Гилязова, Р.И. Хусаинова, Э. Руиз-Песини [и др.] // Медицинская генетика. – 2009. – Т. 8, №3. – С. 39-47.

Analysis of mitochondrial DNA in patients with Parkinson's disease and healthy individuals of Tatar ethnicity from the Republic of Bashkortostan / I.R. Gilyazova, R.I. Khusainova, E. Ruiz-Pescini [et al.] // Medical genetics. – 2009. – V. 8, №3. – P. 39-47.

2. Исследование ассоциации полиморфных вариантов ряда генов метаболизма дофамина с идиопатической болезнью Паркинсона в Республике Башкортостан / И.Р. Гилязова,

И.М. Хидиятова, В.Л. Ахметова [и др.] // Медицинская генетика. – 2008. – Т. 7, № 1. – С. 39-49.

Study of the association of polymorphic variants of a number of dopamine metabolism genes with idiopathic Parkinson's disease in the Republic of Bashkortostan / I.R. Gilyazova, I.M. Khidiyatova, V.L. Akhmetova [et al.] // Medical Genetics. – 2008. – V. 7, №1. – P. 39-49.

3. Исследование влияния полиморфных вариантов гена *DRD4* на развитие и течение болезни Паркинсона / Г.Н. Ахмадеева, И.М. Хидиятова, А.З. Садыкова [и др.] // Научный журнал «Известия Самарского научного центра РАН». 2011. – Т. 13. № 3-5. – С. 228.

Study of the influence of polymorphic variants of the *DRD4* gene on the development and course of Parkinson's disease / G.N. Akhmadeeva, I.M. Khidiyatova, A.Z. Sadykova [et al.] // Scientific Journal «News of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences». – 2011. – V. 13. – № 3-5. – P. 228.

4. Исследование влияния полиморфизма гена *COMT* на характер клинического течения болезни Паркинсона / И.М. Хидиятова, Г.Н. Ахмадеева, И.Р. Гилязова [и др.] // Неврологический журнал. – 2013. – № 3. – С. 22-27.

Study of the influence of polymorphism of the *COMT* gene on the nature of the clinical course of Parkinson's disease / I.M. Khidiyatova, G.N. Akhmadeeva, I.R. Gilyazova [et al.] // Neurological journal. – 2013. – No. 3. – P. 22-27.

5. A serine to glycine substitution at position 9 in the extracellular N-terminal part of the dopamine D3 receptor protein: no role in the genetic predisposition to bipolar affective disorder / M. Rietschel, M.M. Nöthen, L. Lannfelt [et al.] // Psychiatr. Res. – 1993. – Vol. 46, № 3. – P. 253-9.

6. Attentional control in Parkinson's disease is dependent on *COMT* val 158 met genotype / C.H.

Williams-Gray, A. Hampshire, R.A. Barker, A.M. Owen // Brain. – 2008. – Vol. 131, № Pt. 2. – P. 397-408.

7. DNA sequence polymorphisms in genes involved in the regulation of dopamine and serotonin metabolism in rhesus macaques / A. Trefilov, M. Krawczak, J. Berard, J. Schmidtke // Electrophoresis. – 1999. – Vol. 20, № 8. – P. 1771-7.

8. Favorov A.V., Andreevskii T.V., Sudomoina M.A., Favorova O.O., Parmigiani G., Ochs M.F. // Genetics. 2005. V. 171. № 4. P. 2113–2121.

9. Investigation of the functional effect of monoamine oxidase polymorphisms in human brain / J. Balciuniene, L. Emilsson, L. Oreland [et al.] // Hum. Genet. – 2002. – Vol. 110. – P. 1–7.

10. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA / C.C. Mathew // Methods in Molecular Biology / ed. Walker J.M. – N. – Y.: Human Press, – 1984. – Vol.2. – P.31-34.

11. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses / S. Purcell, B. Neale, K. Todd-Brown [et al.] // Am. J. Hum. Genet. – 2007. – Vol. 81, № 3. – P. 559-75.

12. Quantitative effects on gene silencing by allelic variation at a tetranucleotide microsatellite / V. Albanese, N.F. Biguet, H. Kiefer [et al.] // Hum. Mol. Genet. – 2001. – № 10. – P. 1785-1792.

13. Tandem duplication polymorphism upstream of the dopamine D4 receptor gene (*DRD4*) / M.I. Seaman, J.B. Fisher, F. Chang, K.K. Kidd // Am. J. Med. Genet. – 1999. – Vol. 88, № 6. – P. 705-709.

14. The distinct cognitive syndromes of Parkinson's disease: 5 year follow-up of the CamPaIGN cohort / C.H. Williams-Gray, J.R. Evans, A. Goris [et al.] // Brain. – 2009. – Vol. 132, № Pt. 11. – P. 2958-69.

Г.Ф. Гималова, А.С. Карунас, Э.Ф. Хантимерова,
Ш.З. Загидуллин, Э.К. Хуснутдинова

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В РАЗВИТИИ КРАПИВНИЦЫ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

УДК 575:616.514

Целью настоящей работы явилось исследование полиморфных локусов генов интерлейкинов *IL4* (rs2243250), *IL4R* (rs1805010), *IL10* (rs1800872), *IL13* (rs20541) и фактора некроза опухолей *TNF* (rs1800629) у больных крапивницей и в контрольной группе индивидов. В результате проведенного анализа нами показано, что маркерами повышенного риска развития хронической крапивницы являются аллель rs1800629*G и генотип rs1800629*G/G полиморфного локуса гена *TNF*, острой крапивницы – аллель rs2243250*C гена *IL4*, а крапивницы с сопутствующими аллергическими заболеваниями – генотип rs1800629*G/A полиморфного локуса гена *TNF*. Таким образом, в данном исследовании показана ассоциация с развитием крапивницы полиморфных вариантов генов *TNF* и *IL4*.

Ключевые слова: крапивница, анализ ассоциаций, цитокины, гены, полиморфные варианты.

The purpose of this study was to investigate the polymorphic loci of interleukins genes *IL4* (rs2243250), *IL4R* (rs1805010), *IL10* (rs1800872), *IL13* (rs20541) and tumor necrosis factor gene *TNF* (rs1800629) in patients with urticaria and in the control group of individuals. As a result of the analysis, we showed that the rs1800629*G allele and the rs1800629*G/G genotype of the *TNF* gene polymorphism are the markers of an increased risk of developing of chronic urticaria, rs2243250*C allele of the *IL4* gene – of the acute urticaria, and the rs1800629*G/A genotype of the *TNF* gene is a marker of the urticaria with concomitant allergic diseases development. Thus, this study shows an association with the development of urticaria of polymorphic variants of the *TNF* and *IL4* genes.

Keywords: urticaria, association analysis, cytokines, genes, polymorphic variants.

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (г. Уфа): ГИМАЛОВА Галия Фуатовна – к.б.н., н.с. gailyagimalova@gmail.com, КАРУНАС Александра Станиславовна – д.б.н., зам. директора по научной работе, проф. Башкирского ГМУ, carunas@list.ru; ХУСНУТДИНОВА Эльза Камилевна – д.б.н., проф., акад. АН РБ, врио директора, зав. кафедрой БашГУ; Башкирский ГМУ: ХАНТИМЕРОВА Эльмира Фуатовна – к.м.н., ассистент, elmirka_85@mail.ru0075, ЗАГИДУЛЛИН Шамиль Зарифович – д.б.н., проф., зав. кафедрой.

Введение. В настоящее время в мире наблюдается неуклонный рост частоты и распространенности аллергических заболеваний (АЗ) кожи, которыми в разных странах страдает до 25% населения. Аллергодермато-