

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА VAL66MET ГЕНА BDNF НА СЫВОРОТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ МОЗГОВОГО НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА У БОЛЬНЫХ ПАРАНОИДНОЙ ШИЗОФРЕНИЕЙ

Колесниченко Е.В.¹, Барыльник Ю.Б.¹, Голимбет В.Е.², Бородулин В.Б.¹, Федотов Э.А.³

¹ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Минздрава России», Саратов, Россия (410012, Саратов, ГСП ул. Большая Казачья, 112), e-mail:elena7610@yandex.ru

²Научный центр психического здоровья РАМН, Москва, Россия (115522, Москва, Каширское шоссе, 34)

³Центр ДНК исследований, Саратов, Россия (410005, Саратов, ул. Рахова, 280)

Было проведено исследование влияния генетического полиморфизма Val66Met гена мозгового нейротрофического фактора (BDNF) на сывороточный уровень BDNF у больных параноидной шизофренией на примере популяции Саратовской области (Россия). В исследовании принимали участие больные параноидной шизофренией (n = 94) и группа здоровых испытуемых (n = 41). Исследовали полиморфизм Val66Met (аллели Val и Met) для гена мозгового нейротрофического фактора BDNF (rs6265 G>A). Концентрацию BDNF в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа. Средние показатели уровня мозгового нейротрофического фактора у больных параноидной шизофренией статистически значимо не отличались от аналогичных показателей здоровых лиц. В ходе проведённого исследования была впервые обнаружена ассоциация полиморфизма Val66Met гена BDNF с уровнем белка BDNF в сыворотке крови больных параноидной шизофренией. Аллель Met для полиморфизма Val66Met гена BDNF связана с увеличением периферического уровня мозгового нейротрофического фактора.

Ключевые слова: шизофрения, ген BDNF, мозговой нейротрофический фактор.

RESEARCH OF INFLUENCE OF VAL66MET POLYMORPHISM OF THE BDNF GENE ON THE BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR SERUM LEVEL IN PATIENTS WITH PARANOID SCHIZOPHRENIA

Kolesnichenko E.V.¹, Barylnik Y.B.¹, Golimbet V.E.², Borodulin V.B.¹, Fedotov E.A.³

¹Saratov State Medical University named V.I.Razumovsky, Saratov, Russia, (410012, Saratov, BolshayaKazachiast., 112),e-mail:elena7610@yandex.ru

²Mental Health Research Center Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia (115522, Moscow, Kashirskoye sh. 34)

³DNA Research Centre, Saratov, Russia (410005, Saratov, Rakhovast., 280)

We investigated the influence of Val66Met polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor gene (BDNF gene) on the serum BDNF levels in patients with paranoid schizophrenia as an example of the population of the Saratov region (Russia). The study involved patients with paranoid schizophrenia (n = 94) and a group of healthy subjects (n = 41). We investigated Val66Met polymorphism (Val allele and Met) for BDNF gene (rs6265 G> A). The BDNF concentration in the serum was measured by ELISA. Average indicators of BDNF serum concentration in patients with paranoid schizophrenia were not significantly different from those in healthy persons. In the course of the study was first discovered association Val66Met polymorphism BDNF gene with the level of BDNF protein in the serum of patients with paranoid schizophrenia. Met allele for Val66Met polymorphism BDNF gene is associated with increased peripheral serum levels of brain-derived neurotrophic factor.

Keywords: schizophrenia, BDNF gene, brain-derived neurotrophic factor.

Проблема шизофрении является одной из наиболее актуальных как для современной клинической психиатрии, так и для науки о мозге человека в целом. По оценкам специалистов этому заболеванию подвержено около 1% всего населения индустриально развитых стран. Во всем мире ежегодно регистрируется около 2 млн новых случаев заболевания шизофренией [8]. Современный этап в изучении шизофрении характеризуется

значительным расширением исследований, направленных на выявление биологических процессов, определяющих возникновение и развитие шизофренического процесса.

Белок, называемый мозговым нейротрофическим фактором (brain-derived neurotrophic factor – BDNF), синтезируется глиальными клетками, в норме присутствует в мозге, регулируя рост и деление нейроцитов. В соответствии с одной из современных гипотез патогенеза шизофрении, мозговой нейротрофический фактор может быть причастен к некоторым нейропластическим изменениям мозговой ткани и нарушениям синаптической передачи, встречающимся при шизофрении [11]. Существуют исследования, подтверждающие вовлеченность BDNF в патогенез параноидной формы шизофрении. Снижение сывороточного уровня мозгового нейротрофического фактора коррелирует с тяжестью, длительностью заболевания и результативностью лечения [3, 4].

Активно изучается влияние гена BDNF на развитие и проявления шизофрении [1, 2, 5, 9]. В доступной литературе нам не встретились данные об исследовании влияния генетического полиморфизма гена BDNF на сывороточный уровень мозгового нейротрофического фактора у больных шизофренией. Механизмы генетической регуляции секреции мозгового нейротрофического фактора в норме и патологии требуют уточнения, что делает актуальным настоящее исследование.

Цель исследования: определение влияния Val66Met полиморфизма гена BDNF на сывороточный уровень мозгового нейротрофического фактора у больных параноидной шизофренией.

Материалы и методы

В исследование были включены 94 пациента (средний возраст – $28,9 \pm 0,8$ лет), страдающих параноидной шизофренией (F 20.0 по критериям МКБ-10), проходивших лечение по поводу обострения психотической симптоматики в психиатрических стационарах г. Саратова и Саратовской области. Из них 44 женщины, 50 мужчин.

Контрольную группу составили соматически и психически здоровые лица, не имеющие семейной отягощенности по шизофрении (всего 41 человек, из них женщин – 20, мужчин – 21), сопоставимые по возрасту, из числа жителей Саратова и Саратовской области.

Исследование было одобрено Этическим комитетом ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» (протокол № 2 от 13.10.2009 г). Все больные и лица контрольной группы дали информированное согласие на участие в исследовании.

Материалом исследования являлась периферическая венозная кровь пациентов, взятая из кубитальной вены. Материалы для генотипирования отправлялись в лабораторию клинической генетики НЦПЗ РАМН (зав. лабораторией – д.б.н. В.Е. Голимбет), где из

образцов крови выделяли ДНК с помощью фенол-хлороформного метода. Исследовали полиморфизм Val66Met (аллели Val и Met) – для гена BDNF(rs6265 G>A). Генотипирование проводили путем амплификации ДНК в полимеразной цепной реакции с использованием термоциклера Терцик (ДНК технологии)

Концентрацию BDNF в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с использованием набора ChemiKine™ Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Sandwich ELISA Kit (ИФА, США/Канада) согласно методике производителя. Биохимические исследования выполнены в лаборатории ООО «Центр ДНК исследований» г. Саратова (зав. лабораторией – к.м.н. Э.А. Федотов).

Статистический анализ данных выполнен в Центре «Биостатистика» (руководитель – к.т.н. В.П. Леонов). Процедуры статистического анализа выполнялись с помощью статистических пакетов SAS 9.3, STATISTICA 10 и IBM-SPSS-21. Критическое значение уровня статистической значимости (p) при проверке нулевых гипотез принималось, равным 0,05. В случае превышения достигнутого уровня значимости статистического критерия этой величины, принималась нулевая гипотеза. Для сравнения центральных параметров распределений признаков в группах сравнения использовались непараметрические методы: дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса с ранговыми метками Вилкоксона и критерий Ван дер Вардена [7]. Для всех количественных признаков в сравниваемых группах производилась оценка средних арифметических и среднеквадратических (стандартных) ошибок среднего. Эти дескриптивные статистики в тексте представлены как $M \pm m$, где M – среднее, а m – ошибка среднего.

Результаты

На первом этапе исследования проведено сравнение сывороточного уровня BDNF между группами больных шизофренией и здоровых лиц. Средний уровень мозгового нейротрофического фактора у больных параноидной шизофренией статистически значимо не отличался от аналогичного показателя здоровых лиц ($976,05 \pm 1679$ пг/мл и $1019,91 \pm 830,5$ пг/мл соответственно; $\chi^2 = 1,8$; $p = 0,17$).

В ходе генотипирования среди страдающих параноидной шизофренией генотип ValVal гена BDNF был обнаружен у 66 человек, генотип ValMet – у 25, генотип MetMet – у 3. Частоты аллелей составили 0,86 (Val) и 0,16 (Met). В группе здоровых лиц генотип ValVal гена BDNF был обнаружен у 21 человека, генотип ValMet – у 20, генотип MetMet отсутствовал. В связи с малочисленностью гомозигот MetMet и с целью снижения вероятности получения ложноположительных результатов было проведено объединение групп с выявленными генотипами. Подобное объединение генотипов считается корректным и ранее использовалось в ряде работ [2, 5]. Генотипы ValMet и MetMet гена BDNF

объединили в группу, обозначенную Met+, генотип ValVal, соответственно, получил обозначение Met-. Среди больных шизофренией в группу Met- вошли 66 человек, группу Met+ составили 28 человек. Среди здоровых лиц в группу Met- вошли 21 человек, группу Met+ составили 20 человек.

Среднее содержание в сыворотке мозгового нейротрофического фактора у носителей генотипа Met+ было выше как у здоровых лиц, так и у больных параноидной шизофренией. В группе страдающих шизофренией сывороточный уровень белка BDNF у носителей аллеля Met статистически значимо превосходил аналогичный показатель пациентов с отсутствием данного аллеля в генотипе. Полученные результаты наглядно представлены в таблице 1.

Таблица 1

Средние значения сывороточного уровня BDNF(пг/мл) у больных шизофренией и здоровых лиц в зависимости от аллельного варианта гена BDNF(полиморфизм Val66Met)

Группы	Генотипы гена BDNF		p-value Критерий Ван дер Вардена
	Met-	Met+	
Больные параноидной шизофренией (n = 94)	700,3±512,2	1594,2±2862,0	0,043
Здоровые лица (n = 41)	846,9±760,9	1201,5±880,4	0,176

Полученные нами данные согласуются с результатами исследования LangU.E. с соавторами [12], проведённого на репрезентативной выборке из числа здоровых добровольцев, свидетельствующего о снижении сывороточной концентрации BDNF у носителей ValValгенотипов в сравнении с носителями генотипа ValMet. В другом исследовании Met аллель гена BDNF была связана с аномальной внутриклеточной секрецией BDNF и с нарушениями структуры и функции гиппокампа [10]. Современные данные нейровизуализации свидетельствуют о структурно-функциональной патологии гиппокампа при шизофрении [6]. Можно предположить, что увеличение периферического уровня BDNF, определяемого в сыворотке крови страдающих шизофренией носителей аллеля Metгена BDNF, является компенсаторным ответом на дефектную секрецию внутриклеточного BDNF в центральной нервной системе. Механизмы генетической регуляции синтеза белка BDNF у больных параноидной шизофренией аналогичны таковым у здоровых лиц.

Выводы

В ходе проведённого исследования была впервые обнаружена ассоциация полиморфизма Val66Metгена BDNFс уровнем белка BDNF в сыворотке крови больных

параноидной шизофренией. Аллель Met для полиморфизма Val66Met гена BDNF связана с увеличением периферического уровня мозгового нейротрофического фактора.

Список литературы

1. Галактионова Д.Ю., Гра О.А., Низамутдинов И.И., Шершов В.Е., Кузнецова В.Е., Чудинов А.В., Гареева А.В., Закиров Д.Ф., Хуснутдинова Э.К., Лысов Ю.П., Наседкина Т.В. Анализ ассоциации полиморфизма генов HTR2A, BDNF и SLC6A4 с развитием параноидной формы шизофрении и суицидального поведения // Журнал неврологии и психиатрии. – 2012. – № 10. – С. 39-44.
2. Алфимова М. В., Лежейко Т. В., Голимбет В. Е., Коровайцева Г.И., Лаврушина О.М., Колесина Н.Ю., Фролова Л.П., Муратова А.А., Абрамова Л.И., Каледва В.Г. Исследование связи полиморфных маркеров генов мозгового нейротрофического фактора и рецептора серотонина типа 2A с показателями произвольного и непроизвольного зрительного внимания при шизофрении // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2008. – № 4. – С. 62-69.
3. Колесниченко Е.В., Вильянов В.Б. Особенности перекисного окисления липидов и нейротрофической регуляции при параноидной шизофрении // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2008. – Т. 4. – № 3. – С. 81-83.
4. Колесниченко Е.В. Клинико-терапевтические аспекты дифференцированного применения нейролептиков с учетом показателей перекисного окисления липидов и мозгового нейротрофического фактора: дис. ... канд. мед. наук. – М., 2009. – С. 52-104.
5. Колесниченко Е.В., Барыльник Ю.Б., Голимбет В.Е. Эффективность краткосрочной купирующей терапии у больных параноидной шизофренией с ранним началом с учётом полиморфизма гена BDNF // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 6; URL: www.science-education.ru/113-11406 (дата обращения: 07.11.2014).
6. Коломеец Н.С. Патология гиппокампа при шизофрении // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2007. – Т. 107. – № 12. – С. 108-113.
7. Леонов В.П. Обработка экспериментальных данных на программируемых микрокалькуляторах. – Томск: ИЗД-ВО ТГУ, 1990. – 376 с.
8. Сэдок Б., Каплан Г.И. Клиническая психиатрия. – М.: Медицина, 2002. – С. 162.
9. Association analysis of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene Val66Met polymorphism in schizophrenia and bipolar affective disorder / Skibinska M, Hauser J, Czerski PM, Leszczynska-Rodziewicz A, Kosmowska M, Kapelski P, Slopian A, Zakrzewska M, Rybakowski JK. // World J Biol Psychiatry. – 2004. – Vol. 5, N 4. – P. 215-20.

10. Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance / Hariri AR, Goldberg TE, Mattay VS, Kolachana BS, Callicott JH, Egan MF, Weinberger DR // J Neurosci. – 2003. – Vol. 23, N 17. – P. 6690–6694.
11. Sanfeliu N. Exposure to NMDA increases release of arachidonic acid in primary cultures of rat hippocampal neurons and not in astrocytes // Brain Res. – 1990. – Vol. 259, N 2. – P. 241-248.
12. The Met allele of the BDNF Val66Met polymorphism is associated with increased BDNF serum concentrations / Lang UE, Hellweg R, Sander T, Gallinat J. // Mol Psychiatry. – 2009. – Vol. 14, N 14 – P. 120–122.

Рецензенты:

Семке А.В., д.м.н., профессор, заведующий отделением эндогенных расстройств ФГБУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья» Сибирского отделения РАМН, г. Томск.

Каледа В.Г., д.м.н., главный научный сотрудник отдела по изучению эндогенных психозов и аффективных состояний ФГБУ «Научный центр психического здоровья» РАМН, г. Москва.