

РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА *PIP5K2A* В ПАТОГЕНЕЗЕ ДЕПРЕССИВНЫХ РАССТРОЙСТВ

Вялова Н. М.¹, Османова Д. З.¹, Пожидаев И. В.¹, Симуткин Г. Г.¹, Федоренко О. Ю.^{1,2}, Иванова С. А.^{1,2}, Бохан Н. А.^{1,3}

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт психического здоровья», Томск, Россия (634024, Томск, ул. Алеутская, 4), e-mail: Natarakitina@yandex.ru;

²Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия;

³Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Россия

Представленная работа посвящена исследованию роли функциональных полиморфизмов rs8341, rs746203, rs10828317, rs11013052, rs10430590, rs1417374, rs1132816, rs946961, rs943190 гена *PIP5K2A* в патогенезе депрессивных расстройств. Показано, что частота *T* аллеля полиморфного варианта rs10430590 гена *PIP5K2A* в выборке больных депрессивными расстройствами в 1,5 раза выше, чем в группе здоровых доноров, генотипы *A/T* и *T/T* по полиморфизму rs10430590 гена *PIP5K2A* в выборке больных депрессивными расстройствами встречаются статистически значимо чаще, чем в группе здоровых индивидов. Также выявлено, что частота аллеля *T* по полиморфизму rs10828317 гена *PIP5K2A* в выборке больных депрессивными расстройствами в 1,5 раза ниже, чем в группе психически здоровых индивидов. Выявленные ассоциации полиморфных вариантов rs10430590 и rs10828317 гена *PIP5K2A* с депрессивными расстройствами подтверждает нашу гипотезу об участии *PIP5K2A* киназы в патогенезе депрессивных расстройств.

Ключевые слова: депрессивное расстройство, фосфатидилинозитол-4-фосфат 5-киназа типа II-альфа, полиморфизм генов, ген *PIP5K2A*.

ROLE OF *PIP5K2A* GENE POLYMORPHIC VARIANTS IN THE PATHOGENESIS OF DEPRESSIVE DISORDERS

Vyalova N. M.¹, Osmanova D. Z.¹, Pozhidaev I. V.¹, Simutkin G. G.¹, Fedorenko O. Yu.^{1,2}, Ivanova S. A.^{1,2}, Boxan N. A.^{1,3}

¹Mental Health Research Institute, Tomsk, Russia (634014, Tomsk, street Aleutskaya, 4), e-mail: Natarakitina@yandex.ru;

²National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia;

³National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia

This work is devoted to the study of the role of functional polymorphisms rs8341, rs746203, rs10828317, rs11013052, rs10430590, rs1417374, rs1132816, rs946961, rs943190 *PIP5K2A* gene in the pathogenesis of depressive disorders. It is shown that the frequency of the *T* allele of the polymorphic variant rs10430590 *PIP5K2A* gene in patients with depressive disorders sample is 1.5 times higher than in the group of healthy donors genotypes *A / T* and *T / T* polymorphism rs10430590 *PIP5K2A* gene in a sample of depressed patients found statistically significant more frequently than in healthy individuals. It is also revealed that the frequency of the *T* allele polymorphism rs10828317 *PIP5K2A* gene in a sample of patients with depressive disorders is 1.5 times lower than in the group of mentally healthy individuals. Identified associations of polymorphic variants rs10430590 and rs10828317 *PIP5K2A* gene with depressive disorders confirms our hypothesis about participation *PIP5K2A* kinase in the pathogenesis of depressive disorders.

Keywords: depressive disorder, phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase type II-alpha, gene polymorphism, *PIP5K2A* gene.

Молекулярные механизмы, опосредующие нейробиологические изменения при аффективных расстройствах, в полной мере не расшифрованы. Изучение киназных сигнальных путей, в частности фосфатидилинозитол 4,5-бифосфат (PIP_2)-опосредованных сигнальных путей, представляет собой новое и быстро развивающееся направление в области нейрональной сигнальной трансдукции, которое связано с нарушением нейробиологических процессов при психических расстройствах [1;10].

Результаты молекулярных и фармакологических исследований указывают на участие гена, кодирующего фосфатидилинозитол-4-фосфат 5-киназу типа II-альфа (PIP5K2A) в развитии шизофрении и биполярных аффективных расстройств. На клеточном уровне PIP5K2A является ферментным компонентом метаболизма инозитфосфата, который был рассмотрен как потенциальная мишень для терапевтического действия у пациентов с биполярными аффективными расстройствами [5; 7]. Ген PIP5K2A локализован в хромосомном регионе 10p12, ассоциированном с шизофренией и биполярным аффективным расстройством [4].

PIP5K2A играет важную роль в фосфоинозитидной модуляции мембранных белков нейронов, оказывая существенный эффект на нейрональную возбудимость и синаптическую нейротрансмиссию [2; 3]. Нами было высказано предположение, что нарушение функций PIP5K2A в результате повышенной частоты функциональных полиморфизмов данного гена могут быть вовлечены в патогенетические механизмы, ассоциированные с нарушением дофаминергической и глутаматергической нейротрансмиссии при социально значимых психических и поведенческих расстройствах, в том числе и депрессивных. Пациенты с депрессивными расстройствами, как с острым эпизодом, так и во время ремиссии имеют повышенный уровень глутамата в разных областях мозга. Предполагают, что при депрессии именно эти механизмы ответственны за атрофические изменения в ряде структур головного мозга и более всего – в гиппокампе. Современные гипотезы поддерживают идею, что действие глутамата, особенно того, что находится вне синапса, могут быть вредными для работы нейронов и могут приводить к депрессии [6].

Научный анализ современных литературных данных позволяет сделать заключение, что в отечественной литературе полностью отсутствуют исследования ассоциации полиморфизмов гена PIP5K2A киназы с психическими расстройствами в русской популяции, в связи с чем представляется актуальным изучение ассоциации полиморфизмов гена *PIP5K2A* с депрессивными расстройствами на русской популяции.

Целью данного исследования явилось изучение роли функциональных полиморфизмов гена *PIP5K2A* в патогенезе депрессивных расстройств.

Материал и методы. Нами были обследованы 218 пациентов с депрессивными расстройствами русской популяции Сибирского региона (Томск и Томская область) в возрасте от 20 до 60 лет. Пациенты проходили лечение в отделении аффективных состояний клиник НИИ психического здоровья (научный руководитель отделения – д.м.н. Е.Д. Счастный). Основными критериями включения в группу обследуемых лиц являлись получение информированного согласия пациента или уполномоченного лица на обследование, наличие установленного диагноза текущего депрессивного эпизода различной

степени тяжести в рамках F32-F33 в соответствии с диагностическими критериями МКБ-10 (депрессивный эпизод, рекуррентное депрессивное расстройство), возраст пациентов от 20 до 60 лет, этническая принадлежность к европеоидной расе, отсутствие органических или неврологических расстройств. Диагностическая оценка и клиническая верификация расстройств осуществлены врачами-психиатрами с применением клинко-психопатологического, клинко-катамнестического и экспериментально-психопатологического методов. Группу контроля составили 147 психически и соматически здоровых доноров русской популяции Сибирского региона (Томск и Томская область) в возрасте от 20 до 50 лет. В качестве материала для исследования была использована венозная кровь. Венозную кровь брали из локтевой вены в период с 8.00 до 9.00 натощак в пробирки фирмы BD Vacutainer с антикоагулянтом ЭДТА. Полученную кровь использовали для выделения ДНК стандартным фенол-хлороформным микрометодом.

Генотипирование по полиморфным вариантам rs8341, rs746203, rs943190, rs946961, rs1417374, rs11013052, rs1132816, rs10828317, rs10430590 гена *PIP5K2A* проводили методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с помощью флуоресцентных Taqman зондов с использованием на боров реагентов TaqMan® SNP Genotyping Assay фирмы Applied Biosystems (США) на амплификаторе «Step One Plus» фирмы Applied Biosystems (США).

Статистическую обработку результатов проводили при помощи программы SPSS 20.0. Распределение частот генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди – Вайнберга с помощью критерия χ^2 . Сравнение частот генотипов и аллелей в исследуемых группах проводили по критерию χ^2 . Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение. Для выбора функционально значимых SNP в гене *PIP5K2A* были использованы данные, представленные в литературе. SNP подбирались с помощью биоинформационных программ для поиска и оценки фенотипической значимости SNPs. Критериями отбора послужили: расположение SNP в промоторной или интронной области гена, аллельная частота, изменение количества сайтов связывания для факторов транскрипции, содержащих анализируемые SNP. После проведенного отбора в поле зрения попали следующие полиморфные варианты гена *PIP5K2A*: rs8341, rs746203, rs943190, rs946961, rs1417374, rs11013052, rs1132816, rs10828317, rs10430590.

Анализ полиморфных вариантов гена *PIP5K2A* в контрольной выборке показал соответствие наблюдаемого распределения генотипов для всех изученных вариантов гена ожидаемому при равновесии Харди – Вайнберга. Определены частоты генотипов и аллелей полиморфных вариантов rs8341, rs746203, rs10828317, rs11013052, rs10430590, rs1417374,

rs1132816, rs946961, rs943190 гена *PIP5K2A* у больных с депрессивными расстройствами и психически и соматически здоровых лиц, представителей русского этноса. Статистически значимых различий по частотам генотипов и аллелей 7 исследованных полиморфных вариантов rs8341, rs746203, rs1417374, rs1132816, rs946961, rs943190rs11013052 гена *PIP5K2A* между группами больных депрессивными расстройствами и психически и соматически здоровых доноров выявлено не было. Однако показаны достоверные различия в частотах встречаемости аллелей и генотипов по двум полиморфным вариантам rs10430590 и rs10828317 гена *PIP5K2A* в группах здоровых лиц и больных депрессивными расстройствами.

В результате анализа ассоциации исследуемых полиморфизмов было показано, что частота *T* аллеля полиморфного варианта rs10430590 гена *PIP5K2A* в выборке больных депрессивными расстройствами в 1,5 раза выше, чем в группе здоровых доноров (ОШ=1,58, 96 % ДИ=1,06-2,36, $p=0,03$). Соответственно, генотипы *A/T*/*T/T* по полиморфизму rs10430590 гена *PIP5K2A* в выборке больных депрессивными расстройствами встречаются статистически значимо чаще, чем в группе здоровых индивидов (ОШ=1,65, 95 % ДИ=0,96-2,85, $p=0,04$). Также нами показано, что частота аллеля *T* по полиморфизму rs10828317 гена *PIP5K2A* в выборке больных депрессивными расстройствами в 1,5 раза ниже, чем в группе психически здоровых индивидов (ОШ=1,42, 95% ДИ=1,04-1,93, $p=0,03$).

Полиморфизм rs10828317, расположенный в экзоне 7, вызывает несинонимичную аминокислотную замену аспарагина на серин в 251-м положении (N251S)-*PIP5K2A* белка [2]. Мутация (N251S)-*PIP5K2A* препятствует нормальной функциональной регуляции нейрональных глутаматных транспортёров *EAAT3*, что играет роль в нарушении метаболизма глутамата в мозге у носителей этой мутации. Механизмом нарушения является снижение электрогенного глутаматного тока *EAAT3* транспортёров и экспрессии белка *EAAT3* на плазматической мембране в отличие от дикого типа *PIP5K2A* киназы. Мутантная форма проявляет доминантный ингибирующий эффект по отношению к дикому типу *PIP5K2A* киназы [8].

Таблица 1

Частоты встречаемости генотипов и аллелей полиморфных вариантов гена *PIP5K2A* у пациентов с депрессивными расстройствами

dbSNP-ID	Генотипы, аллели	Пациенты депрессивными расстройствами (n=218)	Здоровые лица (n=147)	χ^2, p
rs8341	CC	26,7	31,7	$\chi^2=0,70, p=0,71$
	CT	58,1	52,4	
	TT	15,1	15,9	
	C	55,8	57,9	
	T	44,2	42,1	
	HWE	$\chi^2=2,92, p=0,09$	$\chi^2=0,13, p=0,71$	
rs11013052	AA	8,1	6,5	$\chi^2=1,14, p=0,56$

	AC	47,4	42,4	
	CC	44,5	51,1	
	A	31,8	27,7	
	C	68,2	72,3	
	HWE	$\chi^2=0,93, p=0,34$	$\chi^2=0,14, p=0,71$	
rs1417374	AA	10,3	8,9	$\chi^2=0,86p=0,65$
	AG	48,6	44,4	
	GG	41,1	46,7	
	A	34,6	31,1	
	G	65,4	68,9	
	HWE	$\chi^2=0,66, p=0,42$	$\chi^2=0,08, p=0,78$	
rs1132816	AA	52,3	55,4	$\chi^2=0,25p=0,88$
	AG	43,0	40,2	
	GG	4,7	4,3	
	A	73,8	75,5	
	G	26,2	24,5	
	HWE	$\chi^2=1,57, p=0,21$	$\chi^2=0,56, p=0,45$	
rs10430590	AA	32,8	49,5	$\chi^2=6,18p=0,04^*$
	AT	53,1	40,7	
	TT	14,1	9,9	
	A	59,4	69,8	
	T	40,6	30,2	
	HWE	$\chi^2=0,61, p=0,43$	$\chi^2=0,08, p=0,78$	
rs10828317	CC	14,9	10,2	$\chi^2=5,00p=0,03^*$
	CT	49,8	44,2	
	TT	35,3	45,6	
	C	40,4	32,3	
	T	59,6	67,7	
	HWE	$\chi^2=0,06, p=0,81$	$\chi^2=0,00, p=0,95$	
rs943190	CC	18,8	14,6	$\chi^2=1,40p=0,50$
	CT	54,5	52,8	
	TT	26,8	32,6	
	C	46	41	
	T	54	59	
	HWE	$\chi^2=0,95, p=0,33$	$\chi^2=0,39, p=0,53$	
rs946961	CC	7,5	10,3	$\chi^2=0,67p=0,72$
	CG	44,9	43,7	
	GG	47,7	46,0	
	C	29,9	32,2	
	G	70,1	67,8	
	HWE	$\chi^2=0,49, p=0,48$	$\chi^2=0,00, p=1$	
rs746203	CC	17,3	14,3	$\chi^2=1,40p=0,50$
	CT	58,4	54,3	
	TT	24,3	31,4	
	C	46,5	41,4	
	T	53,5	58,6	
	HWE	$\chi^2=2,47, p=0,12$	$\chi^2=0,49, p=0,48$	

Примечание: HWE-равновесие по закону Харди – Вайнберга; * – уровень значимости менее 0,05.

Полученные нами результаты, свидетельствующие об участии PIP5K2A киназы в патогенезе депрессивных расстройств, подтверждают данные P. Stopkova с соавторами (2003) о локализации числа генов, вовлеченных в процессы синтеза и дефосфорилирования фосфатидилинозитол 4,5-бифосфата (PIP₂) в регионах генома, ассоциированных с биполярными аффективными расстройствами, включая 10p12, 21q22 и 22q11, а также другие. Механизмы, лежащие в основе терапевтического эффекта лития при хроническом лечении биполярных аффективных расстройств, связывают с дифференциальной экспрессией генов,

ассоциированных с фосфоинозитидным метаболизмом, включая и PIP5K2A (SeelanR.S. et al., 2008).

Выводы. Полученные результаты подтверждают нашу гипотезу об участии PIP5K2A киназы в патогенезе депрессивных расстройств. Выявлена статистически значимая ассоциация полиморфных вариантов rs10430590 и rs10828317 гена *PIP5K2A* с депрессивными расстройствами. Предполагается, что дальнейший поиск генетических маркеров, ассоциированных с развитием и течением депрессивных расстройств, позволит разработать эффективные методы диагностики и лечения заболевания.

Исследование выполнено при поддержке Стипендии Президента РФ №СП-1786.2015.4.

Список литературы

1. Ассоциация (N251S)-PIP5K2A с расстройствами шизофренического спектра: исследование русской популяции сибиряков / О.Ю. Федоренко, Е.В. Рудиков, В.А. Гаврилова, Е.Г. Боярко, А.В. Семке, С.А. Иванова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2013. – Т. 113, № 5. – С. 58-61.
2. Ассоциация генетических полиморфизмов PIP5K2A с шизофренией: обзор литературы / О. Ю. Федоренко, Е. В. Рудиков, С. А. Иванова // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2011. – № 4. – С. 111-113.
3. Влияние фосфатидилинозитол-4-фосфат-5-киназы (тип 2 альфа) на активность нейрональных KCNQ калиевых каналов в ооцитах *XenopusLaevis* / О. Ю. Федоренко, С. А. Иванова, В. Я. Семке // Сибирский научный медицинский журнал. – 2009. – Т. 29, № 2. – С. 59-64.
4. Изучение ассоциации полиморфизмов гена *PIP5K2A* с депрессивными расстройствами / Н. М. Вялова, О. Ю. Федоренко, И. С. Лосенков, Г. Г. Симуткин, С. А. Иванова, Н. А. Бохан // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 12-1. – С. 107-110.
5. Нарушение функционирования мутантной ассоциированной с шизофренией формы PIP5K2A киназы / О. Ю. Федоренко, Ф. Ланг, С. А. Иванова, А. В. Семке, В. Я. Семке // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2008. – № 1. – С. 131-132.
6. Федоренко О.Ю. Генетические нарушения протеинкиназ при психических расстройствах на модели PIP5K2A, SGK1 и GSK-3 β / О. Ю. Федоренко, С. А. Иванова, Н. А. Бохан. Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing, 2013. – 85 с.
7. Association study between genetic variants at the PIP5K2A gene locus and schizophrenia and bipolar affective disorder / R.A.Jamra, K. Klein, A.W.Villela et al. // Am. J. Med. Genet. B.

Neuropsychiatr. Genet. – 2006. – Vol. 141B(6). – P. 663-665.

8. Fedorenko O. PIP5K2A-dependent regulation of excitatory amino acid transporter EAAT3 / O. Fedorenko, C. Tang, M. Sopjani, M. Foller, E. M. Gehring, N. Strutz-Seebohm, O. N. Ureche, S. Ivanova, A. Semke, F. Lang, G. Seebohm, U. E. Lang // Psychopharmacology. – 2009. – Vol. 206, № 3. – P. 429-435.

9. Polymorphism screening of PIP5K2A: a candidate gene for chromosome 10p-linked psychiatric disorders / P. Stopkova, T. Saito, C.S. Fann et al. // Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet. – 2003. – Vol. 123B(1). – P. 50-58.

10. Proteins of Akt1/GSK-3 β -signaling pathway in peripheral blood mononuclear cells of patients with affective disorders / I.S. Losenkov, N.M. Vyalova, G.G. Simutkin, N.A. Bokhan, S.A. Ivanova // Neurochemical Journal. – 2014. – Vol. 8(3). – P. 208-213.

Рецензенты:

Семке А.В., д.м.н., профессор кафедры психиатрии, наркологии и психотерапии ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск;

Аксенов М.М., д.м.н., профессор кафедры психологии развития личности ФГБОУ ВПО «Томский государственный педагогический университет» Министерства образования и науки Российской Федерации, г. Томск.