

УДК 575.191:616.895

ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИИИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА PIP5K2A С ДЕПРЕССИВНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ

¹Вялова Н.М., ^{1,2}Федоренко О.Ю., ¹Лосенков И.С., ¹Симуткин Г.Г.,
^{1,2}Иванова С.А., ¹Бохан Н.А.

¹ФГБУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, Томск, e-mail: Natarakitina@yandex.ru;
²Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск

Изучение киназных сигнальных путей представляет собой новое и быстро развивающееся направление в области нейрональной сигнальной трансдукции, которое связано с нарушением нейробиологических процессов при психических расстройствах. Нарушения функций фосфатидилинозитол-4-фосфат 5-киназы типа II-альфа (PIP5K2A) в результате повышенной частоты функциональных полиморфизмов данного гена могут быть вовлечены в патогенетические механизмы, ассоциированные с нарушением дофаминергической и глутаматергической нейротрансмиссии при депрессивных расстройствах. Целью исследования явилось выявление ассоциации полиморфных вариантов rs943190, rs1417374, rs11013052, rs1132816 гена PIP5K2A с депрессивными расстройствами. Обследованы 218 пациентов с депрессивными расстройствами (F31-F33, МКБ-10) в возрасте от 20 до 60 лет. Группу контроля составили 85 психически и соматически здоровых доноров, соответствующих по полу и возрасту обследуемой группе больных. Генотипирование проводили методом ПЦР в реальном времени с помощью флуоресцентных Taq-man-зондов с использованием наборов реагентов TaqMan® SNP Genotyping Assay фирмы Applied Biosystems (США). Полученные результаты не подтверждают нашу гипотезу об ассоциации полиморфных rs943190, rs1417374, rs11013052, rs1132816 гена PIP5K2A с развитием депрессивных расстройств. Возможно, это связано с недостаточно большими выборками пациентов и здоровых доноров, что диктует необходимость проведения дальнейших исследований.

Ключевые слова: фосфатидилинозитол-4-фосфат 5-киназа типа II-альфа, PIP5K2A, депрессивные расстройства

STUDY OF ASSOCIATION OF PIP5K2A GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH DEPRESSIVE DISORDERS

¹Vyalova N.M., ^{1,2}Fedorenko O.Y., ¹Losenkov I.S., ¹Simutkin G.G.,
^{1,2}Ivanova S.A., ¹Bokhan N.A.

¹Mental Health Research Institute SB RAMSci, Tomsk, e-mail: Natarakitina@yandex.ru;
²National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk

Study of kinase signaling pathways which involved in neurobiological processes dysregulation in psychiatric disorders is a rapidly developing field of research. Dysfunction of phosphatidylinositol 5-phosphate 4-kinase 2-alpha (PIP5K2A) as a result of high frequency of its functional gene polymorphisms can be pathogenetic mechanism underlying a disturbance of dopaminergic and glutamatergic neurotransmission in depressive disorders. The aim of this study was to find an association of PIP5K2A gene polymorphisms rs943190, rs1417374, rs11013052, rs1132816 with depressive disorders. 218 patients with depressive disorders (F31-F33, ICD-10) in an age of 20 to 60 years were investigated. Control group was presented by 85 physically and mentally healthy donors. For genotyping was chosen real-time PCR based on Taq-man probes and TaqMan® SNP genotyping assay kits (Applied Biosystems, USA). Research findings don not confirm our hypothesis that PIP5K2A gene polymorphisms rs943190, rs1417374, rs11013052 are associated with depressive disorders. Possible reason could be insufficiently large size of groups of patients and healthy donors, further studies needed.

Keywords: phosphatidylinositol-4-phosphste 5-kinase type II-alpha, PIP5K2A, depressive disorders

Нейробиологические и молекулярно-генетические исследования патогенеза депрессии представляют собой быстро развивающееся направление в области биологической психиатрии в связи с высокой актуальностью и социальной значимостью психических и поведенческих расстройств [3, 5, 8]. 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 [2, 4, 6, 11]. На клеточном уровне PIP5K2A является ферментным компонентом метаболизма инозитфосфата, который был рассмотрен как потенциальная мишень

для терапевтического действия у пациентов с биполярными аффективными расстройствами [9]. Нарушение функционирования PIP5K2A в результате повышенной частоты функциональных полиморфизмов данного гена может быть вовлечено в патогенетические механизмы, ассоциированные с нарушением дофаминергической и глутаматергической нейротрансмиссии при депрессивных расстройствах. Возможное участие PIP5K2A киназы в патогенезе депрессий подтверждают данные P. Stopkova с соавторами о локализации числа генов, вовлеченных в процессы синтеза и дефосфорилирования фосфатидилинозитол 4,5-бифосфата (PIP₂) в регионах генома, ассоциированных с биполярными

расстройствами, включая 10p12, 21q22 и 22q11, а также другие [11]. Механизмы, лежащие в основе терапевтического эффекта лития при хроническом лечении биполярных расстройств, связывают с дифференциальной экспрессией генов, ассоциированных с фосфоинозитидным метаболизмом, включая и PIP5K2A [10].

В связи с открытием в последние годы новых механизмов функционирования PIP5K2A (влияние на KCNQ каналы и глутаматные транспортеры EAAT3) [6; 7], мы предполагаем, 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.

Целью нашего исследования являлось изучение ассоциации полиморфных вариантов rs943190, rs1417374, rs11013052, rs1132816 гена PIP5K2A с депрессивными расстройствами.

Материалы и методы исследования

Нами были обследованы 218 пациентов с депрессивными расстройствами (F31-F33, МКБ-10) русской популяции Сибирского региона (Томск и Томская область) в возрасте от 20 до 60 лет. Пациенты проходили лечение в отделении аффективных состояний клиник ФГБУ НИИПЗ СО РАМН (научный руководитель отделения – д.м.н., профессор Е.Д. Счастный). Группу контроля составили 85 психически и соматически здоровых доноров русской популяции Сибирского региона (Томск и Томская область), соответствующих по полу и возрасту обследуемой группе больных, не имеющих хронических заболеваний и не стоящих на диспансерном учете, без признаков перенесенных острых инфекционных заболеваний на момент обследования. Отбор здоровых лиц планируется проводить, используя углубленный опрос с помощью специальной анкеты, разработанной в ФГБУ НИИПЗ СО РАМН.

В качестве материала для исследования была использована венозная кровь. Венозную кровь брали из локтевой вены в период с 8.00 до 9.00 натошак в пробирки фирмы BD Vacutainer с антикоагулянтом ЭДТА. ДНК выделяли из лейкоцитов цельной периферической крови индивидов. Для получения ДНК использовался стандартный фенол-хлороформный микрометод.

В рамках исследования было проведено генотипирование 218 больных с депрессивными расстройствами по 4 полиморфным вариантам гена PIP5K2A: rs943190, rs1417374, rs11013052, rs1132816. Генотипирование проводили методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с помощью флуоресцентных Taq-манзондов с использованием наборов реагентов TaqMan® SNP Genotyping Assay фирмы Applied Biosystems (США). Амплификацию ДНК проводили в объеме реакционной смеси, равной 15 мкл и содержащей 1 мкл ДНК матрицы и 14 мкл реакци-

онной смеси набора в следующем режиме: первичный прогрев и регистрация флуоресцентных сигналов – 30 с при 60°C; начальная денатурация – 10 мин при 95°C; затем 45 циклов: денатурация – 15 с при 95°C; отжиг – 15 с при 60°C для пар праймеров; элонгация – 45 с при 60°C; регистрация флуоресцентных сигналов – 15 с при 60°C; после чего конечная элонгация и регистрация флуоресцентных сигналов в конечной точке – 30 с при 60°C. Для проведения полимеразно-цепной реакции использовали Real-Time ДНК амплификатор «Step One Plus» фирмы Applied Biosystems (США).

Статистическую обработку результатов проводили при помощи программы SPSS 20.0. Распределение частот генотипов по исследованному полиморфному локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью критерия χ^2 . Сравнение частот генотипов в исследуемых группах проводили по критерию χ^2 . Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$ [1].

Результаты исследования и их обсуждение

Для выбора функционально значимых SNP в гене PIP5K2A использовали биоинформационные программы 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: rs943190, rs1417374, rs11013052, rs1132816.

Анализ исследуемых полиморфных вариантов гена PIP5K2A в контрольной выборке показал соответствие наблюдаемого распределения генотипов для всех изученных вариантов гена ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга. Такое равновесие говорит о том, что на генетическую структуру популяции по изучаемым полиморфизмам не оказывают никакого влияние различные воздействия (не действует отбор, не идет мутационный процесс, отсутствует обмен особями с другими популяциями, не происходит дрейф генов, все скрещивания случайны).

Нами были определены частоты полиморфизмов гена PIP5K2A у пациентов с депрессивными расстройствами и здоровых лиц. В группе контроля частоты генотипов по полиморфному варианту rs943190 гена PIP5K2A составили: СС – 19,90%, СТ – 52,50%, ТТ – 27,60%, что соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 1,03$, $p = 0,31$). В группе больных с депрессивными расстройствами частота генотипа СС составила 15,3%, СТ – 51,8% и ТТ – 32,9%. Достоверных различий между группами больных депрессивными расстройствами

и здоровых доноров в отношении распределения частот генотипов ($\chi^2 = 1,310, p = 0,51$) и аллелей ($\chi^2 = 0,53, p = 0,47$) полиморфного варианта rs943190 гена PIP5K2A выявлено не было.

В отношении полиморфного варианта rs1417374 гена PIP5K2A в группе больных депрессивными расстройствами были получены следующие частоты генотипов: AA – 9,40%, AG – 44,70%, GG – 45,90%, что соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($\chi^2 = 0,21, p = 0,65$). В группе контроля частоты генотипов по данному полиморфному варианту составили: AA – 10,40%, AG – 48,90%, GG – 40,70%, что также соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($\chi^2 = 0,001, p = 1$). Статистических различий между группами в отношении распределения частот генотипов ($\chi^2 = 0,670, p = 0,71$) полиморфного варианта rs1417374 гена PIP5K2A не обнаружено.

Анализ распределения генотипов полиморфного варианта rs1132816 гена PIP5K2A

у больных депрессивными расстройствами выявил следующие частоты: AA – 55,30%, AG – 40,00%, GG – 4,70%, что соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($\chi^2 = 0,01, p = 0,94$). В группе контроля частоты генотипов по данному полиморфному варианту составили: AA – 51,60%, AG – 43,90%, GG – 4,50%, что также соответствовало равновесию Харди–Вайнберга ($\chi^2 = 1,62, p = 0,2$). Достоверных различий между группами больных депрессивными расстройствами и здоровых доноров в отношении распределения частот генотипов ($\chi^2 = 0,382, p = 0,82$) полиморфного варианта rs1132816 гена PIP5K2A выявлено не было.

Оценка распределения частот генотипов полиморфного варианта rs11013052 гена PIP5K2A показала отсутствие различий между группами больных депрессивными расстройствами и здоровых доноров (таблица).

Распределение генотипов полиморфных вариантов гена PIP5K2A в группах больных депрессивными расстройствами и здоровых индивидов

Ген	Генотипы	Контроль	Больные	χ^2 (p)
rs943190	CC	19,9%	15,3%	1,310 $p = 0,51$
	CT	52,5%	51,8%	
	TT	27,6%	32,9%	
rs1417374	AA	10,4%	9,4%	0,670 $p = 0,71$
	AG	48,9%	44,7%	
	GG	40,7%	45,9%	
rs11013052	AA	52,5%	56,5%	0,391 $p = 0,53$
	AC	47,5%	43,5%	
rs1132816	AA	51,6%	55,3%	0,382 $p = 0,82$
	AG	43,9%	40,0%	
	GG	4,5%	4,7%	

Таким образом, при сравнении больных с депрессивными расстройствами и здоровых лиц не выявлено ассоциации ни с одним из исследуемых полиморфных вариантов гена PIP5K2A: rs943190, rs1417374, rs11013052, rs1132816, что может быть связано с особенностями генофонда обследуемой популяции. Полученные результаты не подтверждают нашу гипотезу об ассоциации полиморфных вариантов гена PIP5K2A с развитием депрессивных расстройств. Возможно, это связано с недостаточно большими выборками пациентов и здоровых доноров, что диктует необходимость проведения дальнейших исследований.

Заключение

Показано отсутствие ассоциации полиморфных вариантов rs943190, rs1417374, rs11013052, rs1132816 гена PIP5K2A

с депрессивными расстройствами в русской популяции Сибирского региона.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта ФЦП «Разработка комплекса маркеров основных социально значимых психических расстройств на основе изучения молекулярно-генетических механизмов дизрегуляции нейрональных протеинкиназных сигнальных путей» соглашение от 24 августа 2012 г. № 8140 и гранта РФФИ 11-04-01102-а «Изучение ассоциации полиморфизма гена PIP5K2A киназы с социально значимыми психическими и поведенческими расстройствами».

Список литературы

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
2. Иванова С.А., Федоренко О.Ю., Смирнова Л.П., Семке А.В. Поиск биомаркеров и разработка фармакогенетических подходов к персонализированной терапии больных

шизофренией // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2013. – № 1. – С. 12–16.

3. Иванова С.А., Гуткевич Е.В., Семке В.Я., Рядовая Л.А., Ракитина Н.М., Перчаткина О.Э., Епанчинцева Е.М. Методологические подходы к оценке биологических факторов психической дезадаптации (на примере невротических расстройств): методические рекомендации. – Томск, 2006. – 33 с.

4. Федоренко О.Ю., Рудиков Е.В., Гаврилова В.А., Боярко Е.Г., Семке А.В., Иванова С.А. Ассоциация (N251S)-PIP5K2A с расстройствами шизофренического спектра: исследование русской популяции Сибири // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2013. – Т. 113. – № 5. – С. 58–61.

5. Семке В.Я., Гуткевич Е.В., Иванова С.А. Психосоциальные и биологические факторы психической дезадаптации (на модели невротических расстройств). – Томск, 2008. – 204 с.

6. Fedorenko O., Strutz-Seebohm N., Henrion U., Ureche O. N., Lang F., Seebohm G., Lang U. E. A schizophrenia-linked mutation in PIP5K2A falls to activate neuronal M channels // *Psychopharmacology*. – 2008. – Vol. 199, № 1. – P. 47–54.

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

8. Ivanova S.A., Semke V.Ya., Vetlugina T.P., Rakitina N.M., Kudyakova T.A., Simutkin G.G. Signs of apoptosis of immunocompetent cells in patients with depression // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2007. – Т. 37. – № 5. – P. 527–530.

9. Jamra R.A. Association study between genetic variants at the PIP5K2A gene locus and schizophrenia and bipolar affective disorder // *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. – 2006. – Vol. 141. – P. 663–665.

10. Seelan R.S., Khalyfa A., Lakshmanan J., Casanova M.F., Parthasarathy R.N. Deciphering the lithium transcriptome: microarray profiling of lithium-modulated gene expression in human neuronal cells // *Neuroscience*. – 2008. – Vol. 151(4). – P. 1184–1197.

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

References

1. Glants S. *Mediko-biologicheskaya statistika*. Moscow: Praktika, 1999. 459 p.

2. Ivanova S.A., Fedorenko O.Y., Smirnova L.P., Semke A.V. *Sibirskiy vestnik psihiatrii i narkologii*, 2013, no. 1, pp. 12–16.

3. Ivanova S.A., Gutkevich E.V., Semke V.Y., Ryadova L.A., Rakitina N.M., Perchatkina O.E., Epanchincheva E.M. Methodological approaches to assessment of biological factors of mental disadaptation (on example of neurotic disorders): methodical recommendations. Tomsk, 2006, 33 p.

4. Fedorenko O., Rudikov E.V., Gavrilova V.A., Boyarko E.G., Semke A.V., Ivanova S.A. *Zhurnal neurologii i psihiatrii im. S.S. Korsakova*, 2013, T. 113, no. 5, pp. 58–61.

5. Semke V.Y., Gutkevich E.V., Ivanova S.A. Psychosocial and biological factors of mental disadaptation (on model of neurotic disorders). Tomsk, 2008, 204 p.

6. Fedorenko O., Strutz-Seebohm N., Henrion U., Ureche O. N., Lang F., Seebohm G., Lang U. E. *Psychopharmacology*, 2008, Vol. 199, no. 1, pp. 47–54.

7. Fedorenko O., Tang C., Sopjani M., Föller M., Gehring E. M., Strutz-Seebohm N., Ureche O.N., Lang F., Seebohm G., Ivanova S., Semke A., Lang U.E. *Psychopharmacology*, 2009, Vol. 206, no.3, pp. 429–435

8. Ivanova S.A., Semke V.Ya., Vetlugina T.P., Rakitina N.M., Kudyakova T.A., Simutkin G.G. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 2007, T. 37, no. 5, pp. 527–530.

9. Jamra R.A. Association study between genetic variants at the PIP5K2A gene locus and schizophrenia and bipolar affective disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2006, Vol. 141, pp. 663–665.

10. Seelan R.S., Khalyfa A., Lakshmanan J., Casanova M.F., Parthasarathy R.N. *Neuroscience*, 2008, Vol. 151(4), pp. 1184–1197.

11. Stopkova P., Saito T., Fann C.S., Papolos D.F. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2003, Vol. 123B(1). pp. 50–58

Рецензенты:

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;

Невидимова Т.И., д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии, ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, г. Томск.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.