

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ ԿԵՆՍԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ԱՎԵՏՅԱՆ ԴԻԱՆԱ ԳԱԳԻԿԻ

ՍԻՆԱՊՏԻԿ ՊԼԱՍՏԻԿՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԱՊՈՊՏՈՑԻ
ԿԱՐԳԱՎՈՐԻՉՆԵՐԻ ՖՈՒՆԿՑԻՈՆԱԼ ԿԱՐԳԱՎԻՃԱԿԸ
ՀԵՏՏՐԱՎՄԱՏԻԿ ՍԹՐԵՍՍԱՅԻՆ ԽԱՆԳԱՐՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

Գ.00.03 – «Մոլեկուլային և բջջային կենսաբանություն» մասնագիտությամբ
կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի
հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ – 2019

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
ИНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

АВЕТЯН ДИАНА ГАГИКОВНА

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ
СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ И АПОПТОЗА
ПРИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ СТРЕССОВОМ РАССТРОЙСТВЕ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности
03.00.03 – “Молекулярная и клеточная биология”

ЕРЕВАН - 2019

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության
ինստիտուտի գիտական խորհրդում:

Գիտական ղեկավարներ՝

ՀՀ ԳԱԱ թղթ. անդամ, կենս. գիտ. դոկտոր,
պրոֆ. Ա.Ս. Բոյաջյան

կենս. գիտ. թեկնածու Գ.Մ. Մկրտչյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆ. Լ.Մ. Եպիսկոպոսյան
բժշկ. գիտ. թեկնածու Ա.Ֆ. Սողոյան


Առաջատար կազմակերպություն՝ Երևանի պետական համալսարան

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2019թ. հունիսի 21-ին, ժամը
14⁰⁰-ին ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտում, 042
մասնագիտական խորհրդում (ՀՀ, 0014, ք. Երևան, Հասրաթյան 7):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության
ինստիտուտի գրադարանում և <http://molbiol.sci.am> կայքում:

Սեղմագիրն առաքվել է 2019թ. մայիսի 10-ին:

042 մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար,
կենս. գիտ. թեկնածու



Գ.Մ. Մկրտչյան

Тема диссертации утверждена на заседании ученого совета Института молекулярной
биологии НАН РА.

Научные руководители:

член корр. НАН РА, доктор биол. наук,
проф. Бояджян А.С.

канд. биол. наук Мкртчян Г.М.

Официальные оппоненты:

доктор биол. наук, проф. Епископосян Л.М.
канд. мед. наук Согоян А.Ф.

Ведущая организация:

Ереванский государственный университет

Защита диссертации состоится 21 июня 2019г. в 14⁰⁰ часов на заседании
специализированного совета 042, в Институте молекулярной биологии НАН РА (РА,
0014, г. Ереван, ул. Асратяна 7).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института молекулярной биологии
НАН РА и на сайте <http://molbiol.sci.am>.

Автореферат разослан 10 мая 2019 г.

Ученый секретарь специализированного совета 042,
кандидат биол. наук

Мкртчян Г.М.



ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР, МКБ-10 код: F43.1; DSM-V код: 309.81) – это комплексное, тяжелое, хроническое психическое заболевание, которое возникает как затянувшийся ответ на событие исключительно угрожающего или катастрофического характера. Для хронических стадий ПТСР характерно клинически значимое тяжелое эмоциональное состояние, снижение адаптивных возможностей организма, нарушение социальной, профессиональной и других важных сфер жизнедеятельности, а также способности к усвоению информации. У многих больных возникает зависимость от алкоголя и наркотиков, что в ряде случаев становится причиной десоциализации и суицидальных исходов. Ассоциированные с заболеванием биомаркеры до настоящего времени не идентифицированы; болезнь выявляется лишь на поздних этапах развития, а ее лечение исключительно симптоматическое [Тарабрина, 2001; Волошин, 2004; Miao et al., 2018; PTSD Alliance, 2019].

Мировые показатели распространенности ПТСР в среднем колеблются в диапазоне 1-14%. Согласно статистическим данным, 70% населения Земли сегодня подвергается воздействию факторов, способствующих развитию данной патологии, и 20% из них заболевают им. При этом установлено, что каждый год число больных ПТСР возрастает в среднем на 3.6% [APA, 1994; Тарабрина, 2001; PTSD Alliance, 2019]. Таким образом, очевидно, что заболевание представляет огромную угрозу современному обществу, являясь одной из важных и требующих безотлагательного решения проблем здравоохранения и социально-экономической сферы, в целом. Исследование ПТСР имеет особо важную роль для Армении, поскольку значительная часть населения страны длительное время находилась в способствующих развитию данной патологии экстремальных условиях – землетрясение, война и депортация (беженцы).

Недавние исследования показывают, что ПТСР клинически проявляется не только в форме психического расстройства, но и приводит к соматическим нарушениям – в первую очередь сердечно-сосудистой этиологии [Edmondson et al., 2013; Kibler et al., 2018]. Кроме того, болезнь ассоциирована также с легочными заболеваниями [Abrams et al., 2015], повышенным артериальным давлением, ожирением, дислипидемией и сахарным диабетом [Koch & Distler, 2007; Davis et al., 2008; Graves & Kayal, 2009; Hori & Kim, 2019].

ПТСР характеризуется также ослаблением когнитивных функций: согласно литературным данным, это состояние может быть обусловлено, в частности, апоптозом и/или нарушением синаптической пластичности (СП) [Seal et al., 2016].

СП – это возможность изменения силы связи между двумя нейронами или синапсами в ответ на активацию постсинаптических рецепторов. Она легко нарушается при воздействии хронического стресса, существенно отражаясь на когнитивных функциях [He et al., 2018]. При некоторых психических расстройствах, таких как ПТСР, в процессах обучения и памяти воспоминания о страхе имеют решающее значение. Задержка реакции на страх, наряду с дисфункцией памяти, рассматривается как важный патогенный фактор заболевания [Andero & Ressler, 2012; Flor & Nees, 2014]. В исследовании нервной системы на животных моделях ПТСР центральная роль в развитии и сохранении основных симптомов заболевания отводится миндалине, гиппокампу и медиальной префронтальной коре (мПФК) – важным областям головного мозга, связанным с эмоциями, обучением и памятью, в которых СП играет решающую роль в передаче нервного импульса [Chhatwal et al., 2006; Pace & Heim, 2011; Burghardt et al., 2012; Hoffman et al., 2014]. Показано, что мПФК имеет пониженную чувствительность к

реакциям, связанным как с травмой, так и с другими негативными раздражителями, а слабый ответ обусловлен более высокой степенью выраженности симптомов [Heldt et al., 2007; Siwak-Tapp et al., 2007]. Структурные исследования нейровизуализации выявили уменьшение объема гиппокампа у больных ПТСР, что может служить как маркером, способствующим развитию заболевания, так и его следствием [Lindauer et al., 2005; Kitayama et al., 2005]. Сведения об объеме миндалины являются более противоречивыми, так как при ПТСР наблюдаются как малый, так и большой объем этой структуры [Morey et al., 2012; Kuo et al., 2012]. Таким образом, можно прийти к заключению, что механизмы, вызывающие указанные морфологические и функциональные изменения у пациентов с ПТСР, все еще недостаточно изучены. В частности, одним из таких механизмов возникновения и развития заболевания может быть апоптоз.

Предполагается, что психосоциальный стресс и дистресс способствуют также укорочению теломер посредством хронической активации соответствующих биологических процессов, включая окислительный стресс, воспаление и снижение активности теломеразы [Epel et al., 2004]. Теломеры являются защитными некодирующими участками на концах хромосом и участвуют в поддержании геномной стабильности, регуляции экспрессии генов и предотвращении хромосомных слияний [Weinrich et al., 1997; Chan & Blackburn, 2004]. Они могут укорачиваться во время повторных клеточных делений, старения и в ответ на некоторые факторы окружающей среды, такие как психологический [Epel et al., 2004] и физиологический стресс [Lindqvist et al., 2015], курение, ожирение и преклонный возраст родителей [Morla et al., 2006; Malaspina et al., 2014]. Недавние исследования показывают, что длина теломер может служить биомаркером ускоренного старения и повышенного риска раннего развития хронических заболеваний [Roberts et al., 2017]. Однако точные механизмы, лежащие в основе данных процессов, все еще недостаточно изучены.

Следует отметить, что на протяжении последнего десятилетия биологические исследования ПТСР были сосредоточены в направлении трех основных систем (нервная, эндокринная и иммунная), которые формируют основу физиологической реакции на стресс. Наряду с этим, эпидемиологические данные свидетельствуют о том, что, помимо влияния окружающей среды, в развитии заболевания важную роль играют также наследственные факторы, являющиеся полигенными по природе. Однако вопрос о конкретных генах, вовлеченных в патогенез болезни, до настоящего времени остается недостаточно изученным, а молекулярно-генетические патомеханизмы развития заболевания еще не выяснены. Вместе с тем, можно надеяться, что исследование роли СП, апоптоза и ускоренного старения при ПТСР позволит пролить свет на этиологию и патогенез данной патологии, что станет важной предпосылкой для разработки объективных диагностических критериев и лечения данного заболевания.

Цель и задачи исследования. Цель настоящей работы заключалась в выяснении роли молекулярно-генетических регуляторов синаптической пластичности, апоптоза и ускоренного клеточного старения в патогенезе развития посттравматического стрессового расстройства.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

- выявление функциональных полиморфизмов генов, кодирующих маркеры синаптической пластичности, апоптоза и регуляции длины теломер у больных ПТСР и здоровых лиц;
- выявление различия между уровнями исследуемых белков, маркеров синаптической пластичности и апоптоза у пациентов и контрольной группы;

- установление степени ассоциации между определенными генотипами функциональных генетических полиморфизмов и уровнями исследуемых белков;
- выяснение характера изменения относительной длины теломер в лейкоцитах больных ПТСР.

Научная новизна и научно-практическая значимость работы. В работе была исследована ассоциация ПТСР с однонуклеотидными полиморфизмами генов, кодирующих маркеры апоптоза и СП, а также основными компонентами теломеразы – TERT и TERC. Показано, что полиморфизмы генов, вовлеченных в процесс апоптоза (полиморфизмы rs956572 и rs1801018 гена *BCL2*, rs1057369 гена *BAX*, rs1049550 гена *ANXA11*), ассоциированы с риском развития ПТСР. Выявлено также, что гены, вовлеченные в процесс СП, ассоциированы как с высоким (полиморфизмы rs1366116 гена *CPLX2*, rs6330 гена *NGF*), так и с пониженным (rs6265 гена *BDNF*, rs4839435 гена *NGF*, rs734194 гена *NGFR*) риском развития этого заболевания. Наконец, выявлено, что полиморфизмы rs7101 и rs1063169 гена *FOS*, кодирующего транскрипционный фактор c-Fos, модулируют риск развития ПТСР.

Установлено, что для ПТСР, по сравнению с нормой, характерны низкое соотношение Вах/Bcl-2, содержание белков аннексина-A5 и комплексина 2 в периферической крови, что может свидетельствовать о нарушении процессов апоптоза и СП.

Нами также показано, что патогенез ПТСР ассоциирован с укорочением относительной длины теломер в лейкоцитах больных. При этом, для носителей минорного аллеля локуса rs734194 гена *NGFR* характерны относительно длинные теломеры, что указывает на протекторную роль данного полиморфизма при ПТСР.

Фундаментальная значимость данной работы состоит в том, что ее результаты в значительной степени обогащают и дополняют существующие представления о молекулярных этиопатомеханизмах ПТСР как в целом, так и на уровне нарушений, связанных с СП и апоптозом, с акцентом на признаки ускоренного старения. Результаты настоящего исследования также существенно расширяют современные знания о роли генетических факторов, ответственных за развитие ПТСР: нами выявлены новые кандидатные гены, лежащие в основе наследственной предрасположенности и обуславливающие специфическое течение рассматриваемой патологии.

Практическое значение полученных в рамках данного исследования результатов связано с их дальнейшим использованием в процессе разработки и последующего применения новых эффективных подходов дифференциальной диагностики, основанных на методах доказательной медицины, и лечения ПТСР.

Объем и структура работы. Работа изложена на 117 страницах машинописного текста, иллюстрирована 13 таблицами, 14 рисунками. Состоит из списка использованных сокращений и обозначений, введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой литературы (268 источников).

Апробация работы. Основные результаты настоящего исследования были доложены и обсуждены на III международной конференции молодых ученых «Перспективы развития молекулярной и клеточной биологии» (Армения, 2012), конференции молодых ученых «Новые аспекты молекулярной биотехнологии и биохимии» (Армения, 2013), международном симпозиуме по нейронауке и биологической психиатрии ПТСР «Стресс и Поведение: Ереван-2013» (Армения, 2013), 27-м, 28-м и 29-м конгрессах Европейского колледжа по нейропсихофармакологии (Германия, 2014; Нидерланды, 2015; Австрия, 2016), конгрессе Всемирной ассоциации по

стрессовым и тревожным расстройствам (Германия, 2017), семинарах и заседаниях ученого совета Института молекулярной биологии НАН РА (2011-2019).

Публикации. Основные результаты настоящего исследования отражены в 15 научных работах: две главы в изданных зарубежом книгах, пять статей в зарубежных журналах, одна статья в отечественном журнале и семь публикаций в материалах международных конференций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в лаборатории геномики и иммуномики имени проф. А.С. Бояджян Института молекулярной биологии Национальной академии наук Республики Армения (НАН РА) и в отделе патологической физиологии факультета медицины и стоматологии университета Палацкого (Оломоуц, Чехия).

Субъектами исследования являлись больные ПТСР, а также психически и физически здоровые лица (ЗЛ), вошедшие в контрольную группу.

Диагностика пациентов проводилась психiatрами отделения реабилитации психического здоровья «Стресс» Медицинского реабилитационного центра "АртМед" МЗ РА в соответствии с клинической симптоматикой, для чего использовались структурное клиническое диагностическое интервью в соответствии с диагностическим и статистическим руководством по психическим заболеваниям DSM-IV-TR (SCID-I) [Spitzer et al., 1994], клиническая диагностическая шкала (Clinical-administered PTSD Scale; CAPS) [Blake et al., 1995], а также Миссисипская шкала для оценки посттравматических реакций. ЗЛ в прошлом и во время исследований не имели психических травм, для оценки чего также использовались вышеотмеченные методы. Все субъекты, вовлеченные в данное исследование, представлены этническими армянами, не состоящими в родственных связях друг с другом и проживающими на территории Армении и Арцаха.

На проведение настоящего исследования было получено разрешение комитета по этике Института молекулярной биологии НАН РА (IRB #00004079).

В эксперименты по исследованию концентрации белков плазмы было вовлечено 40 больных ПТСР (средний возраст (годы, $M \pm \sigma$) 48 ± 7.6) и 40 ЗЛ (средний возраст (годы, $M \pm \sigma$) 46 ± 3). Как больные ПТСР, так и ЗЛ были мужского пола. В эксперименты по генотипированию полиморфизмов было вовлечено 200 больных ПТСР (средний возраст (годы, $M \pm \sigma$) 44.2 ± 9.8 ; средняя длительность заболевания (годы, $M \pm \sigma$) 20 ± 3.8) и 200 ЗЛ (средний возраст (годы, $M \pm \sigma$) 42.6 ± 9.2). Как больные ПТСР, так и ЗЛ были мужского пола.

Объектами исследования являлись образцы плазмы крови и геномной ДНК лейкоцитов периферической крови больных ПТСР и ЗЛ, которые были собраны в течение 2011-2015гг.

Генотипирование образцов ДНК. Выбор однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism, SNP) исследуемых генов был основан на функциональной значимости полиморфизмов, частоте встречаемости минорного аллеля и результатах «tagging»-анализа (табл. 1). Анализ выбранных полиморфизмов исследуемых генов, включая *BCL2* rs956572, rs1801018; *BAX* rs1057369; *ANXA5* rs11575945; *ANXA11* rs1049550; *CPLX2* rs1366116, rs3892909; *BDNF* rs6265; *NTNG1* rs628117; *NGF* rs6330, rs4839435; *NGFR* rs11466155, rs734194; *CHN1* rs14228, rs2646153; *FOS* rs7101, rs1063169; *JUN* rs11688; *IER5* rs6425663; *TERC* rs12696304; *TERT* rs7726159 и rs2736100, проводили при использовании PCR-SSP [Bunce et al., 1995]. **Анализ относительной длины теломер в лейкоцитах (одТЛ; соотношение (T / S), где (T) – число амиконов повторов теломер,**

а (S) – число амликонов гена представленного одной копией в геноме) осуществлен при применении монохромного мультиплексного количественного PCR (MMqPCR) [Cawthon, 2009]. Концентрацию белков **Bcl-2**, **Vax**, **ANXA5** и **CPLX2** в плазме крови определяли методом ИФА на основе коммерческого набора реагентов (Usn Life Science Inc., КНР), согласно инструкции производителя.

Таблица 1. Краткая характеристика исследуемых генов и их однонуклеотидных полиморфизмов.

Ген			SNP			
Название	ID*	Локализация	ID	Нукл./амк. замена	Позиция	Локализация (тип мутации)
<i>BCL2</i>	596	18q21.33	rs956572	G>A	60820571	интрон
			rs1801018	A>G	60985879	экзон (синонимная)
<i>BAX</i>	581	19q13.33	rs1057369	A>G	49464866	интрон
<i>ANXA5</i>	308	4q27	rs11575945	-1C>T	122617745	Козак последовательность
<i>ANXA11</i>	311	10q21-23	rs1049550	G>A, Arg230Cys	81916682	экзон (миссенс)
<i>CPLX2</i>	10814	5q35.2	rs1366116	C>T	175297531	интрон
			rs3892909	C>T	175305591	интрон
<i>NTNG1</i>	22854	1p13.3	rs628117	A>G	107997106	интрон
<i>BDNF</i>	627	11p13	rs6265	G>A, Val66Met	27679916	экзон (миссенс)
<i>NGF</i>	4803	1p13.1	rs6330	G>A, Ala35Val	115829313	экзон (миссенс)
			rs4839435	G>A	115858104	интрон
<i>NGFR</i>	4804	17q21-q22	rs11466155	C>T	44942998	экзон (синонимная)
			rs734194	T>G	47591609	3'-UTR
<i>CHN1</i>	1123	2q31.1	rs14228	C>T	175711942	интрон, 5'- UTR
			rs2646153	A>G	175666656	интрон
<i>FOS</i>	2353	14q24.3	rs7101	C>T	75745626	5'- UTR
			rs1063169	G>T	75747118	интрон
<i>JUN</i>	3725	1p32.1	rs11688	G>A	59247993	экзон (синонимная)
<i>IER5</i>	51278	1q25.3	rs6425663	G>T	181057874	5'- UTR
<i>TERC</i>	7012	3q26.2	rs12696304	C>G	169763483	downstream область
<i>TERT</i>	7015	5p15.33	rs7726159	G>T	1282204	интрон
			rs2736100	G>T	1286401	интрон

*ID – идентификатор (код гена в базе данных «GenBank», www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/)

Данные, полученные при изучении уровней белков в плазме крови анализировали с помощью t-критерия Стьюдента или U-теста Манна-Уитни. Распределение генотипов при анализе данных генотипирования проверяли на соответствие закону Харди-Вайнберга. Достоверность различий по отмеченным параметрам между больными ПТСП и ЗЛ определяли по χ^2 -критерию Пирсона, рассчитывая отношение шансов (Odds ratio, OR), 95%-й доверительный интервал (95% CI) и доверительную вероятность Пирсона (*p*). Значения *p*, скорректированные с помощью поправки множественного сравнения Бонферрони. Величины *p*<0.05 принимали как статистически значимые. Анализ и аннотацию исследуемых геномных вариаций проводили с использованием набора инструментов Ensembl Variant Effect Predictor (VEP). Дифференциальный анализ генов общедоступных наборов данных был проведен с использованием статистической модели “limma” (Linear Models for Microarray Data), реализованной в программном пакете «R 3.5.1» (R Foundation for Statistical Computing, Австрия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Маркеры апоптоза при ПТСР. Согласно полученным результатам, уровень белков Вах и Bcl-2 в плазме крови был, соответственно, в 1.6 ($p = 0.002$) и 2.1 ($p = 0.0002$) раза выше у больных ПТСР в сравнении с группой ЗЛ.

Недавние исследования свидетельствуют о снижении количества белка Bcl-2 и экспрессии мРНК в лобной коре головного мозга больных биполярным расстройством [Machado-Vieira et al., 2009a; Kim et al., 2010]. Было также показано, что однонуклеотидный полиморфизм гена *BCL2* (rs956572 генотип AA), ассоциированный со значимым понижением уровня Bcl-2 и экспрессии мРНК, повышает базальный и стимулирует цитозольный уровни Ca^{2+} в лимфоцитах у больных биполярным расстройством [Hashimoto et al., 2002; Machado-Vieira et al., 2011, Soeiro-de-Souza et al., 2013]. Ряд *in vitro* экспериментов показывает, что избыточная экспрессия белка Вах может стимулировать апоптоз [Matter-Reissmann et al., 2002; Chang et al., 2002], в то время как избыточная экспрессия белка Bcl-2 ингибирует этот процесс [Sun et al., 2002; Tilli et al., 2002]. Таким образом, соотношение Вах/Bcl-2 является более важным параметром для оценки апоптоза [Jarskog et al., 2004; Li et al., 2013].

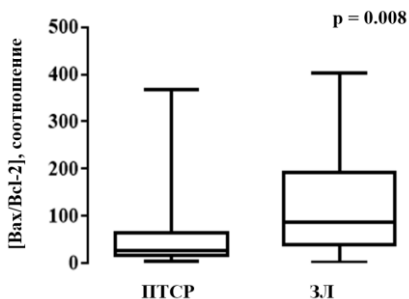


Рис. 1. Соотношение белков Вах/Bcl-2 в плазме крови больных ПТСР и ЗЛ.

Данные представлены в виде диаграмм размаха (box-whiskers), где прямоугольники отображают интерквартильные расстояния (размах от 25-го до 75-го перцентилей); вертикальные отрезки вне прямоугольников – размах от 10-го до 90-го перцентилей; медиана представлена горизонтальной линией.

Несмотря на то, что концентрация Вах и Bcl-2 в плазме крови больных ПТСР была повышена, результаты наших исследований показали, что у пациентов соотношение этих белков в 1.96 ($p = 0.008$) раз ниже по сравнению со ЗЛ (рис. 1), что соответствует данным о пониженном уровне апоптоза.

На следующем этапе мы исследовали вовлеченность белков семейства аннексинов в патомеханизм ПТСР, чему в последние годы уделяется большое внимание. Аннексин-A5, как и другие аннексины, не выделяется из нормальных клеток; источником внеклеточного (растворимого) аннексина-A5 являются апоптотические и разрушенные клетки [Reutelingsperger & van Heerde, 1997]. В механизме действия аннексина-A5, как и других аннексинов, большое значение имеет их свойство связываться с отрицательно заряженными фосфолипидами, в том числе с фосфатидилсерин, экспозиция которого на клеточной мембране является одним из ранних признаков апоптоза [Swairjo et al., 1995; Vanags et al., 1996; Hong et al., 2014]. Другой член семейства, аннексин-A11, участвует в передаче сигналов по кальциевым каналам, а также в апоптозе, везикулярном транспорте, клеточном росте и терминальной фазе клеточного деления [Shibata et al., 2015].

Согласно нашим исследованиям, уровень аннексина-A5 был в 2.3 раза ниже ($p = 0.0001$) у больных ПТСР по сравнению со ЗЛ (рис. 2).

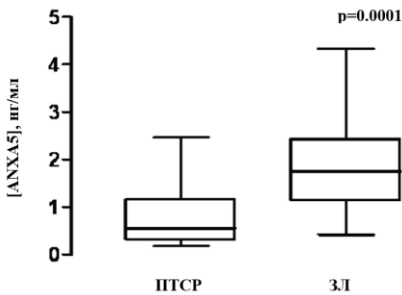


Рис. 2. Содержание аннексина-A5 в плазме крови больных ПТСР и ЗЛ.

Данные представлены в виде диаграмм размаха (box-whiskers), где прямоугольники отображают интерквартильные расстояния (размах от 25-го до 75-го перцентиля); вертикальные отрезки вне прямоугольников – размах от 10-го до 90-го перцентилей; медиана представлена горизонтальной линией.

Таким образом, пониженное содержание растворимого аннексина-A5 в плазме крови больных ПТСР, по сравнению с нормой, свидетельствует о том, что для пациентов характерен низкий уровень апоптоза. В этой связи интересно отметить результаты недавнего исследования, показавшего, что длительный прием нейрорептиков приводит к повышению концентрации аннексина-A5, коррелирующего с возрастанием уровня TNF- α у хронических больных шизофренией [Francesconi et al., 2011]. Согласно нашим предыдущим исследованиям, концентрации ряда провоспалительных (IL-1 β , IL-6 и TNF- α) и хемотаксических (IL-8 и MCP-1) цитокинов были значительно повышены у больных ПТСР [Оганесян и др., 2012]. Следовательно, отмеченный низкий уровень апоптоза может быть одним из факторов, ассоциированных с развитием вялотекущего воспалительного процесса, характерного для ПТСР.

Вместе с тем следует отметить, что зависимость между уровнем аннексина-A5 в крови и определенными генотипами однонуклеотидного функционального полиморфизма rs11575945 (-1C/T) консенсусной последовательности Козак регуляторного участка гена аннексина-A5 при ПТСР не изучена.

Далее нами была исследована возможная ассоциация однонуклеотидных полиморфизмов генов *BCL2* rs956572, rs1801018; *BAX* rs1057369; *ANXA5* rs11575945 и *ANXA11* rs1049550 вышеупомянутых белков с ПТСР. Согласно полученным данным генотипирования, частота минорного аллеля полиморфизма rs956572*А гена *BCL2* была выше у больных по сравнению с контрольной группой (0.64 vs. 0.41, $p_{\text{nominal}} = 6.02\text{E-}11$). Число носителей данного аллеля было также больше у больных ПТСР по сравнению со ЗЛ (0.87 vs. 0.65, $p_{\text{nominal}} = 4.11\text{E-}7$). Кроме того, мы обнаружили, что частота минорного аллеля rs1801018*G гена *BCL2* ниже у больных по сравнению со ЗЛ (0.4 vs. 0.5, $p_{\text{nominal}} = 0.0036$). А число носителей минорного аллеля rs1801018*G было ниже у больных ПТСР по сравнению со ЗЛ (0.61 vs. 0.79, $p_{\text{nominal}} = 8.6\text{E-}5$). В соответствии с полученными данными, частота минорного аллеля полиморфизма rs1057369*G гена *BAX* была ниже у больных ПТСР по сравнению со ЗЛ (0.445 vs. 0.555, $p_{\text{nominal}} = 0.003$). Однако нами не выявлено значимых отличий числа носителей данного аллеля в группах больных ПТСР и ЗЛ. (Значения p после коррекции по Бонферрони приведены в таблице 2.)

Согласно полученным данным, частота минорного аллеля полиморфизма rs1049550*А гена *ANXA11* была ниже у больных ПТСР по сравнению со ЗЛ (0.33 vs. 0.42, $p_{\text{nominal}} = 0.013$). И в данном случае не обнаружено значимых отличий числа носителей данного аллеля (доминантная модель) в группах больных ПТСР и ЗЛ.

Таблица 2. Ассоциация полиморфизмов исследуемых генов и риска возникновения ПТСР.

Ген, SNP	ПТСР	ЗЛ	OR	95% CI	P _{corrected}	
<i>BCL2</i> rs956572						
Генотип	GG	27 (0.135)	71 (0.355)			
	GA	89 (0.445)	94 (0.47)			
	AA	84 (0.42)	35 (0.175)			
Аллели	G	143 (0.36)	236 (0.59)			
	A	257 (0.64)	164 (0.41)	2.59	[1.94 – 3.44]	1.20E-10
Доминантная модель	A	173 (0.87)	129 (0.65)	3.53	[2.14 – 5.81]	8.22E-07
Рецессивная модель	A	84 (0.42)	35 (0.175)	3.41	[2.15 – 5.41]	2.26E-07
<i>BCL2</i> rs1801018						
Генотип	AA	78 (0.39)	42 (0.21)			
	AG	83 (0.415)	114 (0.57)			
	GG	39 (0.195)	44 (0.22)			
Аллели	A	239 (0.6)	198 (0.5)			
	G	161 (0.4)	202 (0.5)	0.66	[0.50 – 0.87]	0.0072
Доминантная модель	G	122 (0.61)	158 (0.79)	0.42	[0.27 – 0.65]	1.70E-04
Рецессивная модель	G	39 (0.195)	44 (0.22)	0.86	[0.53 – 1.39]	0.54
<i>BAX</i> rs1057369						
Генотип	AA	32 (0.16)	36 (0.18)			
	AG	155 (0.775)	106 (0.53)			
	GG	13 (0.065)	58 (0.29)			
Аллели	A	220 (0.55)	178 (0.445)			
	G	180 (0.445)	222 (0.555)	0.66	[0.50 – 0.87]	0.003
Доминантная модель	G	168 (0.84)	164 (0.82)	0.87	[0.52 – 1.46]	0.59
Рецессивная модель	G	13 (0.065)	58 (0.29)	0.17	[0.09 – 0.32]	<0.1E-06
<i>ANXA5</i> rs11575945						
Генотип	CC	63 (0.79)	53 (0.71)			
	CT	14 (0.17)	21 (0.28)			
	TT	3 (0.04)	1 (0.01)			
Аллели	C	140 (0.875)	127 (0.85)			
	T	20 (0.125)	23 (0.15)	0.79	[0.41 – 1.50]	0.47
Доминантная модель	T	17 (0.21)	22 (0.29)	0.65	[0.31 – 1.35]	0.25
Рецессивная модель	T	3 (0.04)	1 (0.01)	0.35	[0.04 – 3.41]	0.34
<i>ANXA11</i> rs1049550						
Генотип	GG	83 (0.415)	68 (0.34)			
	GA	101 (0.505)	97 (0.485)			
	AA	16 (0.08)	35 (0.175)			
Аллели	G	267 (0.67)	233 (0.58)			
	A	133 (0.33)	167 (0.42)	0.70	[0.52 – 0.93]	0.013
Доминантная модель	A	117 (0.59)	132 (0.66)	0.73	[0.48 – 1.09]	0.12
Рецессивная модель	A	16 (0.08)	35 (0.175)	0.41	[0.22 – 0.77]	0.004

* Данные представлены в абсолютных и относительных (в скобках) значениях.

Маркеры синаптической пластичности при ПТСР. Способность изменений пластичности является фундаментальной характеристикой нервной системы и лежит в основе многих аспектов развития, гомеостаза, обучения и памяти. Комплексы как

маркеры СП представляют собой небольшие цитозольные белки, которые связываются со SNARE комплексом для регуляции экзоцитоза синаптических пузырьков [Tang, 2009]. Значительные изменения уровней экспрессии комплексина 2 наблюдаются в ряде неврологических и психических расстройств [Eastwood & Harrison, 2000; Brose, 2008].

Согласно полученным результатам концентрация комплексина 2 в плазме крови больных была в 1.2 ($p = 0.03$) раза значимо ниже по сравнению со ЗЛ (рис. 3).

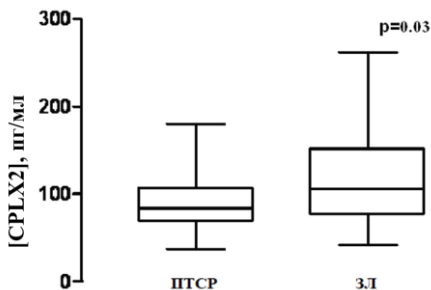


Рис. 3. Содержание комплексина 2 в плазме крови больных ШТСП и ЗЛ.

Данные представлены в виде диаграмм размаха (box-whiskers), где прямоугольники отображают интерквартильные расстояния (размах от 25-го до 75-го перцентиля); вертикальные отрезки вне прямоугольников – размах от 10-го до 90-го перцентиля; медиана представлена горизонтальной линией.

На основе данных генотипирования было показано, что частота минорного аллеля полиморфизма rs1366116*Т гена *CPLX2* была 1.8 раза выше у больных ШТСП по сравнению со ЗЛ (0.4 vs 0.24, $p_{\text{nominal}} = 0.002$). Число носителей данного аллеля было в 1.5 раза больше у больных ШТСП по сравнению со ЗЛ (0.61 vs 0.4, $p_{\text{nominal}} = 0.008$). (Значения p после коррекции по Бонферрони приведены в таблице 3.)

Интересно, что обнаруженные различия в уровне белка комплексина 2 в плазме крови больных ШТСП зависят от генотипов полиморфизма rs1366116 гена *CPLX2*: у носителей минорного аллеля Т уровень белка в 1.6 раза ниже ($p = 0.0029$), по сравнению с гомозиготами по мажорному аллелю (рис. 4).

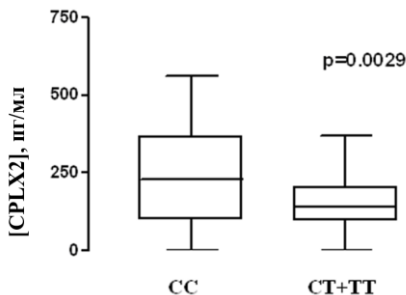


Рис. 4. Содержание комплексина 2 в плазме крови больных ШТСП в зависимости от генотипов полиморфизма rs1366116 гена *CPLX2*.

Данные представлены в виде диаграмм размаха (box-whiskers), где прямоугольники отображают интерквартильные расстояния (размах от 25-го до 75-го перцентиля); вертикальные отрезки вне прямоугольников – размах от 10-го до 90-го перцентиля; медиана представлена горизонтальной линией.

Известно, что факторы роста и их рецепторы играют важную роль в процессах развития нервной системы и СП и вовлечены в патогенез ШТСП. С учетом этого, нами была определена возможная ассоциация однонуклеотидных полиморфизмов генов *CPLX2* rs1366116, rs3892909; *BDNF* rs6265; *NTNG1* rs628117; *NGF* rs6330, rs4839435; *NGFR* rs11466155, rs734194; и *CHN1* rs14228, rs2646153 с ШТСП. Согласно данным генотипирования, частота минорного аллеля полиморфизма rs6265*А гена *BDNF* была ниже у больных ШТСП по сравнению со ЗЛ (0.13 vs 0.19, $p_{\text{nominal}} = 0.026$). Число носителей данного аллеля также было меньше у больных ШТСП по сравнению со ЗЛ (0.25 vs 0.36, $p_{\text{nominal}} = 0.02$).

Таблица 3. Ассоциация полиморфизмов исследуемых генов и риска возникновения ПТСР.

Ген, SNP		ПТСР	ЗЛ	OR	95% CI	p _{corrected}
<i>BDNF</i> rs6265						
Генотип	GG	150 (0.75)	129 (0.645)			
	GA	48 (0.24)	67 (0.335)			
	AA	2 (0.01)	4 (0.02)			
Аллели	G	348 (0.87)	325 (0.81)			
	A	52 (0.13)	75 (0.19)	0.65	[0.44 – 0.95]	0.03
Доминантная модель	A	50 (0.25)	71 (0.36)	0.39	[0.61 – 0.93]	0.02
Рецессивная модель	A	2 (0.01)	4 (0.02)	0.50	[0.09 – 2.73]	0.41
<i>CPLX2</i> rs1366116						
Генотип	CC	34 (0.39)	45 (0.6)			
	CT	36 (0.41)	24 (0.32)			
	TT	17 (0.2)	6 (0.08)			
Аллели	C	104 (0.6)	114 (0.76)			
	T	70 (0.4)	36 (0.24)	2.13	[1.32 – 3.45]	0.006
Доминантная модель	T	53 (0.61)	30 (0.4)	2.34	[1.24 – 4.40]	0.02
Рецессивная модель	T	17 (0.2)	6 (0.08)	2.79	[1.04 – 7.50]	0.1
<i>CPLX2</i> rs3892909						
Генотип	CC	16 (0.18)	15 (0.2)			
	CT	45 (0.52)	41 (0.55)			
	TT	26 (0.3)	19 (0.25)			
Аллели	C	77 (0.44)	71 (0.47)			
	T	97 (0.56)	79 (0.53)	1.13	[0.73 – 1.76]	0.58
Доминантная модель	T	71 (0.82)	60 (0.8)	1.11	[0.51 – 2.43]	0.8
Рецессивная модель	T	26 (0.3)	19 (0.25)	1.26	[0.63 – 2.51]	0.52
<i>NTNG1</i> rs628117						
Генотип	AA	47 (0.36)	36 (0.34)			
	AG	66 (0.5)	43 (0.41)			
	GG	19 (0.14)	26 (0.25)			
Аллели	A	160 (0.6)	115 (0.55)			
	G	104 (0.4)	95 (0.45)	1.27	[0.88 – 1.84]	0.2
Доминантная модель	G	85 (0.64)	69 (0.66)	1.06	[0.62 – 1.82]	0.8
Рецессивная модель	G	19 (0.14)	26 (0.25)	0.51	[0.27 – 0.97]	0.04
<i>NGF</i> rs6330						
Генотип	GG	66 (0.33)	130 (0.65)			
	GA	106 (0.53)	58 (0.29)			
	AA	28 (0.14)	12 (0.06)			
Аллели	G	238 (0.6)	318 (0.8)			2.04E-09
	A	162 (0.4)	82 (0.2)	2.64	[1.93 – 3.61]	
Доминантная модель	A	134 (0.67)	70 (0.35)	3.77	[2.49 – 5.7]	4.2E-10
Рецессивная модель	A	28 (0.14)	12 (0.06)	2.55	[1.25 – 5.2]	0.015
<i>NGF</i> rs4839435						
Генотип	GG	130 (0.65)	85 (0.425)			
	GA	66 (0.33)	97 (0.485)			
	AA	4 (0.02)	18 (0.09)			
Аллели	G	326 (0.8)	267 (0.67)			4.00E-06
	A	74 (0.2)	133 (0.33)	0.46	[0.33 – 0.63]	
Доминантная модель	A	70 (0.35)	115 (0.58)	0.4	[0.27 – 0.6]	1.20E-05
Рецессивная модель	A	4 (0.02)	18 (0.09)	0.21	[0.07 – 0.6]	0.004

Таблица 3. (продолжение)

Ген, SNP		ПТСП	ЗЛ	OR	95% CI	$p_{corrected}$
NGFR rs11466155						
Генотип	CC	109 (0.545)	110 (0.55)			
	CT	82 (0.41)	75 (0.375)			
	TT	9 (0.045)	15 (0.075)			
Аллели	C	300 (0.75)	295 (0.74)			
	T	100 (0.25)	105 (0.26)	0.94	[0.68 – 1.29]	0.69
Доминантная модель	T	91 (0.46)	90 (0.45)	1.02	[0.69 – 1.51]	1
Рецессивная модель	T	9 (0.045)	15 (0.075)	0.58	[0.25 – 1.36]	0.2
NGFR rs734194						
Генотип	TT	164 (0.82)	109 (0.545)			
	TG	34 (0.17)	74 (0.37)			
	GG	2 (0.01)	17 (0.085)			
Аллели	T	362 (0.9)	292 (0.73)			
	G	38 (0.1)	108 (0.27)	0.28	[0.19 – 0.42]	2.74E-10
Доминантная модель	G	36 (0.18)	91 (0.46)	0.26	[0.17 – 0.42]	8.82E-09
Рецессивная модель	G	2 (0.01)	17 (0.085)	0.11	[0.03 – 0.48]	8.4E-04
CHNI rs14228						
Генотип	CC	79 (0.395)	82 (0.41)			
	CT	86 (0.43)	62 (0.31)			
	TT	35 (0.175)	56 (0.28)			
Аллели	C	244 (0.61)	226 (0.565)			0.39
	T	156 (0.39)	174 (0.435)	0.83	[0.63 – 1.1]	
Доминантная модель	T	121 (0.6)	118 (0.59)	1.06	[0.71 – 1.59]	0.76
Рецессивная модель	T	35 (0.175)	56 (0.28)	0.55	[0.34 – 0.88]	0.025
CHNI rs2646153						
Генотип	AA	50 (0.25)	57 (0.285)			
	AG	86 (0.43)	90 (0.45)			
	GG	64 (0.32)	53 (0.265)			
Аллели	A	186 (0.465)	204 (0.51)			0.2
	G	214 (0.535)	196 (0.49)	1.20	[0.90 – 1.60]	
Доминантная модель	G	150 (0.75)	143 (0.72)	1.20	[0.77 – 1.86]	0.43
Рецессивная модель	G	64 (0.32)	53 (0.265)	1.31	[0.85 – 2.01]	0.23

* Данные представлены в абсолютных и относительных (в скобках) значениях.

Кроме того, обнаружено, что минорный аллель rs6330*A гена *NGF* был представлен значительно чаще (0.4 vs 0.2, $p_{nominal} = 1.02E-9$) у пациентов с ПТСП по сравнению со ЗЛ. А число носителей данного аллеля было больше у больных ПТСП по сравнению со ЗЛ (0.67 vs 0.35, $p_{nominal} = 2.1E-10$). С другой стороны, частота (0.2 vs 0.33, $p_{nominal} = 2.0E-6$) и число носителей (0.35 vs 0.58, $p_{nominal} = 6.0E-6$) минорного аллеля rs4839435*A гена *NGF* были меньше у больных ПТСП по сравнению со ЗЛ. А частота минорного аллеля полиморфизма rs734194*T гена *NGFR* была также ниже у больных ПТСП по сравнению со ЗЛ (0.1 vs 0.27, $p_{nominal} = 1.37E-10$). То же самое относится к числу носителей rs734194*T аллеля (0.18 vs 0.46, $p_{nominal} = 4.41E-9$). (Значения p после коррекции по Бонферрони приведены в таблице 3.)

Факторы транскрипции при ПТСП. Факторы транскрипции являются важными регуляторами экспрессии генов, которые индуцируются в ответ на различные стимулы и широко используется в качестве маркера активации нейронов в результате воздействия

стресса. Они также принимают участие в механизмах обучения и памяти [Alberini, 2009]. До настоящего времени опубликовано лишь ограниченное число исследований, связанных с ролью этих факторов при ПТСР; эти работы, в основном, проведены на моделях животных [Hoffman et al., 2014].

Согласно данным генотипирования, частота минорного аллеля полиморфизма rs7101*Т гена *FOS* была выше при ПТСР по сравнению со ЗЛ (0.76 vs 0.31, $p_{\text{nominal}} = 2.02\text{E-}37$). Число носителей данного аллеля было больше у больных ПТСР по сравнению со ЗЛ (0.94 vs 0.53, $p_{\text{nominal}} = 6.57\text{E-}22$). С другой стороны, частота (0.1 vs 0.34, $p_{\text{nominal}} = 7.48\text{E-}16$) и число носителей (0.2 vs. 0.54, $p_{\text{nominal}} = 8.51\text{E-}13$) минорного аллеля rs1063169*Т гена *FOS* были меньше у больных ПТСР по сравнению со ЗЛ. Наши результаты не выявили ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов генов *JUN* rs11688 и *IER5* rs6425663 с ПТСР. (Значения p после коррекции по Бонферрони приведены в таблице 4.)

Таблица 4. Ассоциация полиморфизмов генов *FOS*, *JUN*, *IER5* и риска возникновения ПТСР.

Ген, SNP		ПТСР	ЗЛ	OR	95% CI	$P_{\text{corrected}}$
<i>FOS</i> rs7101						
Генотип	CC	12 (0.06)	94 (0.47)			
	CT	71 (0.355)	85 (0.43)			
	TT	117 (0.585)	21 (0.1)			
Аллели	C	95 (0.24)	273 (0.68)			
	T	305 (0.76)	127 (0.31)	6.9	[5.05 – 9.43]	4.04E-37
Доминантная модель	T	188 (0.94)	106 (0.53)	13.9	[7.3 – 26.5]	1.31E-21
Рецессивная модель	T	117 (0.585)	21 (0.1)	12.0	[7.06 – 20.5]	2.0E-07
<i>FOS</i> rs1063169						
Генотип	GG	161 (0.8)	92 (0.46)			
	GT	36 (0.18)	80 (0.4)			
	TT	3 (0.02)	28 (0.14)			
Аллели	G	358 (0.9)	264 (0.66)			
	T	42 (0.1)	136 (0.34)	0.23	[0.16 – 0.33]	1.50E-15
Доминантная модель	T	39 (0.2)	108 (0.54)	0.21	[0.13 – 0.32]	1.70E-12
Рецессивная модель	T	3 (0.02)	28 (0.14)	0.09	[0.03 – 0.31]	2.1E-06
<i>JUN</i> rs11688						
Генотип	GG	34 (0.17)	47 (0.24)			
	GA	113 (0.565)	111 (0.56)			
	AA	53 (0.265)	42 (0.2)			
Аллели	G	181 (0.45)	205 (0.51)			
	A	219 (0.55)	195 (0.49)	1.27	[0.96 – 1.68]	0.09
Доминантная модель	A	166 (0.83)	153 (0.77)	1.5	[0.92 – 2.46]	0.11
Рецессивная модель	A	53 (0.265)	42 (0.2)	1.36	[0.85 – 2.16]	0.2
<i>IER5</i> rs6425663						
Генотип	GG	29 (0.145)	20 (0.1)			
	GT	78 (0.39)	74 (0.37)			
	TT	93 (0.465)	106 (0.53)			
Аллели	G	136 (0.34)	114 (0.285)			
	T	264 (0.66)	286 (0.715)	0.77	[0.57 – 1.0]	0.09
Доминантная модель	T	171 (0.86)	180 (0.9)	0.66	[0.36 – 1.20]	0.17
Рецессивная модель	T	93 (0.465)	106 (0.53)	0.77	[0.52 – 1.14]	0.19

* Данные представлены в абсолютных и относительных (в скобках) значениях.

Относительная длина теломер (одТЛ) при ПТСП. Длина теломер в здоровых клетках строго регулируется ткане- и клеточно-специфическим образом и зависит от скорости митотического цикла, активности теломеразы и других факторов, связанных с данным ферментом. Теломераза состоит из двух основных компонентов – обратной транскриптазы (TERT) и теломеразной РНК (TERC), служащей в качестве матрицы [Weinrich et al., 1997]. В здоровом организме человека теломераза имеет высокую активность в зародышевых и стволовых клетках и проявляет слабую активность в лейкоцитах [Xu et al., 2017]. До настоящего времени опубликовано лишь ограниченное число исследований, связанных с длиной теломер при ПТСП. Анализ генетических ассоциаций между вариантами *TERT* и *TERC* и ПТСП ранее не был изучен.

Согласно полученным данным, было показано, что одТЛ в 1.5 раза короче (0.91 ± 0.07 vs. 1.33 ± 0.14 , $p = 0.03$) у больных ПТСП по сравнению со ЗЛ (рис. 5).

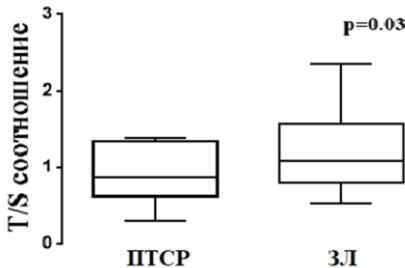


Рис. 5. одТЛ у больных ПТСП и ЗЛ.

Данные представлены в виде диаграмм размаха (box-whiskers), где прямоугольники отображают интерквартильные расстояния (размах от 25-го до 75-го процентиля); вертикальные отрезки вне прямоугольников – размах от 10-го до 90-го процентиля; медиана представлена горизонтальной линией.

Таблица 5. Ассоциация полиморфизмов генов *TERC*, *TERT* и риска возникновения ПТСП.

Ген, SNP		ПТСП	ЗЛ	OR	95% CI	$P_{corrected}$
<i>TERC</i> rs12696304						
Генотип	CC	16 (0.39)	24 (0.49)			
	CG	19 (0.46)	19 (0.39)			
	GG	6 (0.15)	6 (0.12)			
Аллели	C	51 (0.62)	67 (0.68)			
	G	31 (0.38)	31 (0.32)	1.31	[0.71 – 1.4]	0.39
Доминантная модель	G	25 (0.51)	25 (0.61)	1.5	[0.65 – 3.48]	0.34
Рецессивная модель	G	6 (0.12)	6 (0.15)	1.23	[0.42 – 4.15]	0.74
<i>TERT</i> rs7726159						
Генотип	GG	17 (0.41)	17 (0.35)			
	GT	18 (0.44)	25 (0.51)			
	TT	6 (0.15)	7 (0.14)			
Аллели	G	52 (0.63)	59 (0.60)			
	T	30 (0.37)	39 (0.40)	0.87	[0.48 – 1.60]	0.66
Доминантная модель	T	24 (0.59)	32 (0.65)	0.75	[0.32 – 1.77]	0.51
Рецессивная модель	T	6 (0.15)	7 (0.14)	1.03	[0.32 – 3.34]	1
<i>TERT</i> rs2736100						
Генотип	GG	8 (0.20)	20 (0.41)			
	GT	14 (0.34)	19 (0.39)			
	TT	19 (0.46)	10 (0.20)			
Аллели	G	30 (0.37)	59 (0.60)			
	T	52 (0.63)	39 (0.40)	2.62	[1.43 – 4.8]	0.005
Доминантная модель	T	33 (0.81)	29 (0.59)	2.85	[1.09 – 7.43]	0.09
Рецессивная модель	T	22 (0.54)	39 (0.80)	0.29	[0.14 – 0.61]	0.027

* Данные представлены в абсолютных и относительных (в скобках) значениях.

Далее были рассчитаны ассоциации между полиморфизмами *BCL2* rs956572, rs1801018; *BAX* rs1057369; *ANXA5* rs11575945; *ANXA11* rs1049550; *CPLX2* rs1366116, rs3892909; *BDNF* rs6265; *NTNG1* rs628117; *NGF* rs6330, rs4839435; *NGFR* rs11466155, rs734194; *CHN1* rs14228, rs2646153; *FOS* rs7101, rs1063169; *JUN* rs11688; и *IER5* rs6425663 и одТЛ.

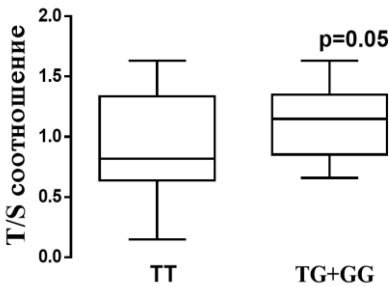


Рис. 6. одТЛ у больных ПТСП в зависимости от генотипов полиморфизма rs734194 гена *NGFR*.

Данные представлены в виде диаграмм размаха (box-whiskers), где прямоугольники отображают интерквартильные расстояния (размах от 25-го до 75-го процентиля); вертикальные отрезки вне прямоугольников – размах от 10-го до 90-го процентиля; медиана представлена горизонтальной линией.

Согласно полученным данным, обнаруженные различия в одТЛ у больных ПТСП ассоциированы с генотипами полиморфизма rs734194 гена *NGFR*: у носителей минорного аллеля данного полиморфизма одТЛ была в 1.4 раза длиннее ($p = 0.05$), по сравнению с гомозиготами по мажорному аллелю (рис. 6). Таким образом, данные результаты подтверждают, что однонуклеотидный полиморфизм rs734194 гена *NGFR* вовлечен в патомеханизм ПТСП и имеет протективное значение.

Характеристика и роль геномных вариаций при ПТСП. С завершением проекта «Генома человека» исследование меж- и внутрипопуляционных генетических вариаций представляет большой интерес как с точки зрения популяционной генетики, так и персонифицированной медицины. Было выявлено, что примерно 99.9% последовательности ДНК идентично у всех людей, а из оставшихся 0.1% примерно 80% представляют из себя однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) [McVean et al., 2005; Feuk et al., 2006]. Прогнозирование эффектов различных SNP чрезвычайно важно для понимания механизмов развития комплексных заболеваний, прогноза их течения и разработки новых терапевтических препаратов.

Однако многие SNP, встречающиеся в интронах или экзонах, являются «молчаливыми» (нейтральными) и составляют 30–45% всех SNP, обнаруженных в экзонных областях человеческого генома [Komar, 2007]. Было показано, что данные SNP могут влиять на конформацию и активность белка без изменения уровня мРНК и самого белка [Kimchi-Sarfaty et al., 2007]. Следовательно, возникает необходимость изучения всех SNP при определении вероятности развития различных заболеваний и для их дальнейшего использования в персонализированных программах лечения и разработки лекарств.

Анализ и аннотация геномных вариаций. Для анализа и аннотации геномных вариаций в кодирующих и некодирующих участках использован специальный набор инструментов Ensembl Variant Effect Predictor (VEP) [McLaren et al., 2016]. Аннотация SNP – это процесс прогнозирования эффекта или функции отдельного полиморфизма.

С помощью VEP было проведено сравнение распространенности минорных аллелей исследуемых нами SNP между армянской популяцией здоровых лиц и других популяций по данным проекта «1000 геномов». Частота распределения минорных аллелей многих полиморфизмов, а именно *BCL2* rs956572, rs1801018; *ANXA11* rs1049550; *BDNF* rs6265; *NTNG1* rs628117; *NGFR* rs11466155; *CHN1* rs14228, rs2646153 и *TERC* rs12696304

совпадала с соответствующими данными проекта «1000 геномов» в европейской популяции. Для *ANXA5* rs11575945 полученные частоты минорного аллеля совпадали с американской, для *NGF* rs6330 и rs4839435 – с южноазиатской и африканской популяциями, соответственно, для *NGFR* rs734194 и *TERT* rs7726159 – с популяцией Восточной Азии, в случае *TERT* rs2736100 – с южноазиатской популяцией. Для *CPLX2* rs1366116, rs3892909, *FOS* rs7101, rs1063169 и *JUN* rs11688 частота минорного аллеля у армян отличалась от всех популяций, вошедших в проект «1000 геномов» (табл. 6).

Таблица 6. Частота встречаемости минорного аллеля исследуемых SNP в различных популяциях.

Ген	SNP ID	Аллель	Арм	AF	AFR AF	AMR AF	EAS AF	EUR AF	SAS AF	AA AF	EA AF
<i>BCL2</i>	rs956572	G	0.59	0.65	0.79	0.60	0.54	0.59	0.68	-	-
	rs1801018	C	0.5	0.24	0.03	0.39	0.09	0.48	0.34	0.09	0.42
<i>BAX</i>	rs1057369	G	0.555	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>ANXA5</i>	rs11575945	A	0.15	0.20	0.30	0.15	0.17	0.11	0.24	0.27	0.12
<i>ANXA11</i>	rs1049550	A	0.42	0.39	0.16	0.47	0.64	0.45	0.34	0.20	0.41
<i>CPLX2</i>	rs1366116	T	0.4	0.56	0.30	0.68	0.82	0.59	0.54	-	-
	rs3892909	T	0.53	0.66	0.44	0.74	0.91	0.63	0.67	-	-
<i>BDNF</i>	rs6265	T	0.19	0.20	0.01	0.15	0.49	0.20	0.20	0.04	0.19
<i>NTNG1</i>	rs628117	T	0.55	0.61	0.54	0.64	0.70	0.55	0.67	-	-
<i>NGF</i>	rs6330	A	0.2	0.25	0.16	0.32	0.16	0.46	0.19	0.21	0.45
	rs4839435	A	0.33	0.18	0.37	0.17	0.17	0.03	0.07	-	-
<i>NGFR</i>	rs11466155	T	0.26	0.23	0.05	0.31	0.08	0.32	0.47	0.09	0.33
	rs734194	G	0.27	0.11	0.08	0.07	0.22	0.10	0.06	-	-
<i>CHN1</i>	rs14228	T	0.435	0.38	0.35	0.65	0.29	0.43	0.26	-	-
	rs2646153	A	0.49	0.57	0.79	0.72	0.43	0.48	0.39	-	-
<i>FOS</i>	rs7101	T	0.31	0.71	0.92	0.65	0.57	0.74	0.57	-	-
	rs1063169	T	0.34	0.11	0.01	0.07	0.26	0.15	0.09	-	-
<i>JUN</i>	rs11688	T	0.49	0.09	0.25	0.05	0.02	0.04	0.02	0.20	0.05
<i>IER5</i>	rs6425663	G	0.285	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>TERC</i>	rs12696304	G	0.32	0.47	0.58	0.44	0.68	0.27	0.37	-	-
<i>TERT</i>	rs7726159	T	0.4	0.32	0.17	0.32	0.38	0.35	0.45	-	-
	rs2736100	T	0.4	0.52	0.53	0.57	0.59	0.50	0.39	-	-

* AF – частота варианта по данным проекта «1000 геномов»; AFR_AF – частота варианта по данным проекта «1000 геномов» в африканской популяции; AMR_AF – частота варианта по данным проекта «1000 геномов» в американской популяции; EAS_AF – частота варианта по данным проекта «1000 геномов» в популяции Восточной Азии; EUR_AF – частота варианта по данным проекта «1000 геномов» в европейской популяции; SAS_AF – частота варианта по данным проекта «1000 геномов» в южноазиатской популяции; AA_AF – частота варианта по данным проекта NHLBI-ESP в афроамериканской популяции; EA_AF – частота варианта по данным проекта NHLBI-ESP в американской популяции европейского происхождения.

Таким образом, полученные данные указывают, что распределение минорных аллелей генов, связанных с формированием генетического риска развития ПТСР в армянской популяции отличается от всех выборок, вошедших в проект «1000 геномов». Это, в свою очередь, указывает на нецелесообразность использования в клинической диагностике генетических тестов, разработанных с учетом распределения частот в других популяциях, и подчеркивает необходимость проведения широкомасштабных исследований генетической вариабельности на популяционном уровне и идентификации генетических маркеров развития комплексных полигенных заболеваний в армянской популяции.

Анализ сети взаимодействия исследуемых генов/белков. Моделирование сетей, включающих белок-белковые взаимодействия (ББВ), являются относительно новым способом изучения генов, связанных с заболеваниями [Gaire et al., 2013].

Для визуализации функционального взаимодействия ББВ на сетевом уровне между исследуемыми нами генами мы использовали общедоступную базу данных STRING [Szklarczyk et al., 2013] (рис. 6).

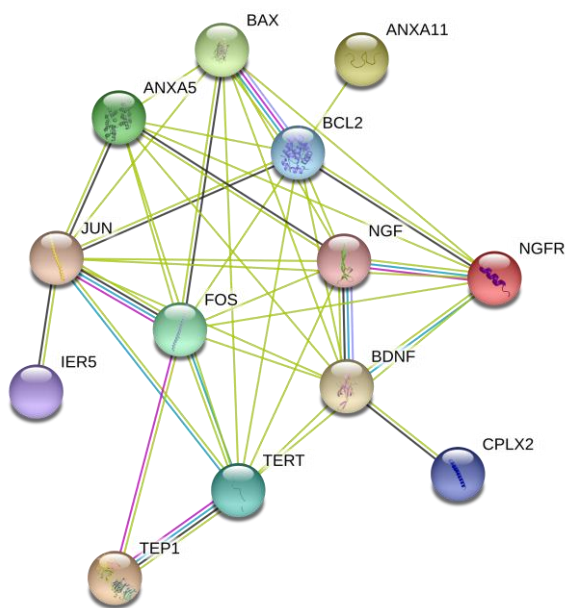


Рис. 6. Визуализация прогнозируемой сети белок-белковых взаимодействий (ББВ) с помощью STRING.

Узлы сети являются белками. Линии представляют собой предсказанные функциональные ассоциации ББВ. Известные взаимодействия: из курируемых баз данных; экспериментально выявленные. Предсказанные взаимодействия: близость генов в геноме (gene neighborhood); геновые слияния; совместное нахождение генов (gene co-occurrence); Другие: интеллектуальный анализ текста (text mining); ко-экспрессия; гомология белка

Сетевой анализ генов-кандидатов, основанный на известных и предсказанных ББВ, подтвердил, что белки, кодируемые генами, полиморфизмы которых были ассоциированы с ПТСР и которые регулируют процессы синаптической пластичности, апоптоза и ускоренного старения, являются частью одной белковой сети, что является еще одним свидетельством их вовлечения в патогенез ПТСР. Таким образом, полученные данные способствуют обогащению современных представлений о молекулярных механизмах, лежащих в основе патофизиологии ПТСР, и позволяют идентифицировать возможные гены-кандидаты для последующих функциональных исследований, что, в свою очередь, может способствовать дальнейшей разработке методов дифференциальной диагностики и лечения ПТСР.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время молекулярно-генетические механизмы ПТСР, в частности апоптоз и синаптическая пластичность, недостаточно изучены, а существующие данные немногочисленных исследований недостаточно убедительны [Pape & Pare, 2010; Mahan & Ressler, 2012; Li et al., 2013].

Результаты проведенных исследований показали, что у людей с тревожными расстройствами ухудшение физического здоровья или когнитивных функций может отчасти быть результатом ускоренного клеточного старения и нейропрогрессии [Perna et al., 2016]. Нейропрогрессия – это патологическая перестройка ЦНС, сопровождающаяся тяжелыми психическими расстройствами, приводящими к структурным и функциональным изменениям головного мозга, обусловленное сочетанием повышенной нейродегенерации, нейронального апоптоза или нейротоксической восприимчивости и пониженной нейропластичности [Berk et al., 2011].

До настоящего времени опубликовано лишь ограниченное число исследований о молекулярных мишенях, вовлеченных в процесс апоптоза, и их потенциальном вкладе в этиологию ПТСР; более того, эти работы проведены лишь на животных моделях [Li et al., 2010a; Kung et al., 2010; Li et al., 2013; Hoffman et al., 2014]. Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что для патогенеза ПТСР характерен пониженный уровень апоптоза, что совпадает с нашими предыдущими результатами о наличии вялотекущего воспалительного процесса у больных данной патологией, так как известно, что цитокины играют важную роль в регуляции и запуске сигнальных путей данного процесса [Оганесян и др., 2012]. Это заключение основано на следующих результатах: в крови больных ПТСР, по сравнению с нормой, регистрируется низкое соотношение белков Вах/Vcl-2 и низкое содержание белка аннексина-A5. Последние, как известно, являются ключевыми регуляторами апоптоза. Кроме того, показано, что данные нарушения могут быть генетически обусловленными, а именно, функциональные однонуклеотидные полиморфизмы генов, вовлеченных в процесс апоптоза (rs956572 и rs1801018 гена *BCL2*, rs1057369 гена *BAX*, rs1049550 гена *ANXA11*), ассоциированы с риском развития ПТСР.

С другой стороны, важнейшими регуляторами синаптической и морфологической пластичности нейронов являются белки комплексин 2, нетрин G1, нейротрофический фактор мозга, фактор роста нервов и его рецептор; ключевыми транскрипционными факторами этих процессов являются c-Fos, IER5 и c-Jun.

Обнаружено, что гены, вовлеченные в процесс синаптической пластичности, ассоциированы как с высоким (полиморфизмы rs1366116 гена *CPLX2*, rs6330 гена *NGF*), так и с пониженным (rs6265 гена *BDNF*, rs4839435 гена *NGF*, rs734194 гена *NGFR*) риском развития ПТСР. Установлено также, что функциональные однонуклеотидные полиморфизмы rs7101 и rs1063169 гена *FOS* модулируют риск развития заболевания. Показано, что патогенез ПТСР характеризуется нарушением процесса синаптической пластичности, что проявляется в снижении в периферической крови уровня белка комплексина 2.

При исследовании армянской популяции выявлен также ряд функциональных однонуклеотидных полиморфизмов генов, вовлеченных в процессы апоптоза, синаптической пластичности и ускоренного старения, ассоциированных как с высоким, так и с пониженным риском развития ПТСР. Эти результаты обобщенно представлены на рисунке 7.

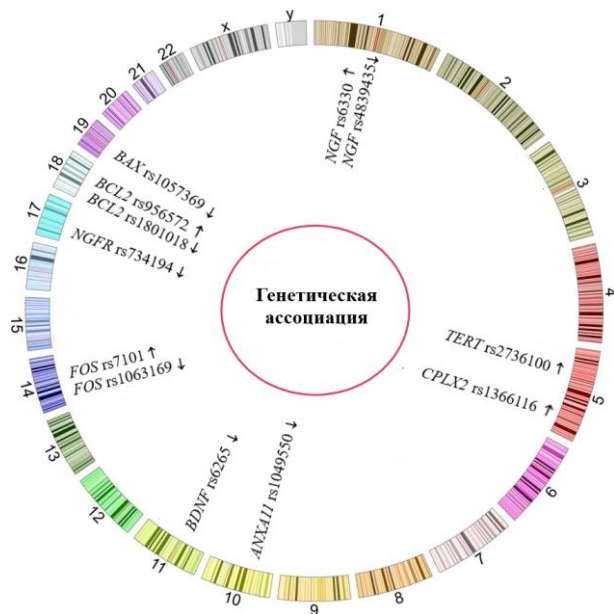


Рис. 7. Однонуклеотидные полиморфизмы генов (кодирующих маркеры апоптоза, синаптической пластичности и ускоренного старения), ассоциированные с риском развития ПТСР.

Таким образом, результаты настоящего исследования позволяют прояснить ряд вопросов, связанных с дисфункцией апоптоза и синаптической пластичности при ПТСР, и существенно обогащают современные представления о молекулярно-генетических факторах развития данной патологии.

ВЫВОДЫ

1. Полиморфизмы генов, вовлеченных в процесс апоптоза (полиморфизм rs956572 и rs1801018 гена *BCL2*, rs1057369 гена *BAX*, rs1049550 гена *ANXA11*), ассоциированы с риском развития посттравматического стрессового расстройства.
2. Гены, вовлеченные в процесс синаптической пластичности, ассоциированы как с высоким (полиморфизмы rs1366116 гена *CPLX2*, rs6330 гена *NGF*), так и с пониженным (rs6265 гена *BDNF*, rs4839435 гена *NGF*, rs734194 гена *NGFR*) риском развития посттравматического стрессового расстройства.
3. Полиморфизмы rs7101 и rs1063169 гена *FOS* модулируют риск развития посттравматического стрессового расстройства.
4. Пониженное соотношение *Bax/Bcl-2*, а также снижение содержания белков аннексина-A5 и комплекса 2 в периферической крови больных свидетельствуют о нарушении процессов апоптоза и синаптической пластичности при посттравматическом стрессовом расстройстве.
5. Патогенез посттравматического стрессового расстройства ассоциирован с укорочением относительной длины теломер в лейкоцитах больных.
6. Носители минорного аллеля локуса rs734194 гена *NGFR* обладают относительно длинными теломерами, что указывает на протекторную роль данного полиморфизма при посттравматическом стрессовом расстройстве.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Главы в книгах

- 1 Boyajyan A., **Avetyan D.**, Hovhannisyan L., Mkrtychyan G. Genetics of posttraumatic stress disorder: candidate genes and their implication in the disease-associated molecular pathomechanisms. Chapter 4. In: A Fresh Look at Anxiety Disorders (Editor: F. Durbano), InTech, EU, 2015, pp. 65-88. doi:[10.5772/60443](https://doi.org/10.5772/60443)
- 2 Boyajyan A., Mkrtychyan G., Hovhannisyan L., **Avetyan D.** Alterations in the immune response, apoptosis and synaptic plasticity in posttraumatic stress disorder: molecular indicators and relation to clinical symptoms. Chapter 5. In: New Insights Into Anxiety Disorders (Editor: F. Durbano), InTech, Croatia, EU, pp.105-133. doi:[10.5772/60443](https://doi.org/10.5772/60443)

Статьи

3. **Avetyan D.**, Zakharyan R., Petrek M., Arakelyan A. Telomere shortening in blood leukocytes of patients with posttraumatic stress disorder. // Journal of Psychiatric Research. 2019; 111:83-88. doi:[10.1016/j.jpsychires.2019.01.018](https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2019.01.018)
4. **Avetyan D.**, Arakelyan A., Mkrtychyan G. Association of Bax and Bcl-2 functional polymorphisms and protein levels with posttraumatic stress disorder. // Journal of Biosciences and Medicines. 2018; 6:23-32. doi:[10.4236/jbm.2018.62003](https://doi.org/10.4236/jbm.2018.62003)
5. **Avetyan D.**, Arakelyan A., Mkrtychyan G. Genetic polymorphisms of nervous system development and the risk of posttraumatic stress disorder. // American Journal of Molecular Biology. 2018; 8:58-68. doi:[10.4236/ajmb.2018.81005](https://doi.org/10.4236/ajmb.2018.81005)
6. Boyajyan A., Stepanyan A., **Avetyan D.**, Ghazaryan H., Atshemyan S., Zakharyan R., Pirumyan K., Tsakanova G. Genetic variations associated with brain disorders: Focus on synaptic plasticity and apoptosis regulatory genes in schizizophrenia, posttraumatic stress disorder and ischemic stroke. // International Journal of Genetics and Genomics. 2014; 2(2):19-29. doi:[10.11648/j.ijgg.20140202.12](https://doi.org/10.11648/j.ijgg.20140202.12)
7. Mkrtychyan G.M., Boiadzhyan A.S., **Avetyan D.G.**, Sukiasyan S.G. Involvement of anomalous apoptosis in impairments to synaptic plasticity in post-traumatic stress disorder. // Neuroscience and Behavioral Physiology. 2014; 44(4):442-446.
8. **Avetyan D.** Changes in apoptotic rate and synaptic plasticity in patients with posttraumatic stress disorder. // Electronic Journal of Natural Sciences. 2013; 2(21):70-73.

Материалы конференций

9. **Avetyan D.**, Mkrtychyan G. Epigenetic alterations of the brain derived neurotrophic factor (BDNF) gene in combat veterans with posttraumatic stress disorder. Abstracts of the WASAD Congress 2017, in conjunction with the Collaborative Research Centers SFB-TRR 58, Fear, Anxiety, Anxiety Disorders 14–16 September, Würzburg, Germany, Journal of Neural Transmission. 2017; 124(10):1297-1298. doi:[10.1007/s00702-017-1777-9](https://doi.org/10.1007/s00702-017-1777-9)
10. **Avetyan D.**, Mkrtychyan G. The role of genes encoding the transcription factors c-Fos, c-Jun and Ier5 in posttraumatic stress disorder. 29th ECNP Congress. Vienna, Austria, 17-20 September, 2016. European Neuropsychopharmacology. 26(Suppl.2):S595–S596. doi:[10.1016/S0924-977X\(16\)31668-6](https://doi.org/10.1016/S0924-977X(16)31668-6)

11. **Avetyan D.**, Mkrтчyаn G. The role of nerve growth factor and its receptor in posttraumatic stress disorder., 28th ECNP Congress. Amsterdam, The Netherlands, 29 August - 1 September, 2015. European Neuropsychopharmacology. 25(Suppl.2):S555–S556. doi:[10.1016/S0924-977X\(15\)30774-4](https://doi.org/10.1016/S0924-977X(15)30774-4)
12. **Avetyan D.**, Mkrтчyаn G., Boyajyan A. Synaptic plasticity changes in combat veterans with posttraumatic stress disorder., 27th ECNP Congress. Berlin, Germany, 18-21 October, 2014. European Neuropsychopharmacology. 24(Suppl.2):S585. doi:[10.1016/S0924-977X\(14\)70937-X](https://doi.org/10.1016/S0924-977X(14)70937-X)
13. Boyajyan A., **Avetyan D.**, Atshemyan S., Sukiasyan S., Gevorgyan A., Mkrтчyаn G., Zakharyan R., Chavushyan A., Melkumova M., Torosyan S. Molecular and genetic indicators of apoptotic and synaptic plasticity alterations in posttraumatic stress disorder and schizophrenia. Abstracts of the International Symposium on Neuroscience and Biological Psychiatry “Stress and Behavior: Yerevan-2013”, Yerevan, Armenia, 20-21 September, 2013, p. 18.
14. Boyajyan A., **Avetyan D.**, Mkrтчyаn G., Sukiasyan S., Zakharyan R., Atchemyan S., Gevorgyan A., Melkumova M., Torosyan S. Population genomics study of molecular pathomechanisms responsible for apoptotic and synaptic plasticity dysfunction in posttraumatic stress disorder and schizophrenia. Armenian Journal of Mental Health. 2013; 4(suppl.1):s66-s67.
15. **Avetyan D.G.**, Hovhannissyan L.P., Mkrтчyаn G.M., Boyajyan A.S. Pathogenesis of posttraumatic stress disorder is characterized by decreased rate of apoptosis. Abstracts of the International Young Scientists Conference “Perspectives for development of molecular and cellular biology”, Yerevan, Armenia, 26-29 September, 2012, p. 45-48.

ԱՎԵՏՅԱՆ ԴԻԱՆԱ ԳԱԳԻԿԻ

ՍԻՆԱՊՏԻԿ ՊԼԱՍՏԻԿՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԱՊՈՊՏՈՋԻ ԿԱՐԳԱՎՈՐԻՉՆԵՐԻ ՖՈՒՆԿՑԻՈՆԱԼ ԿԱՐԳԱՎԻՃԱԿԸ ՀԵՏՏՐԱՎՄԱՏԻԿ ՍԹՐԵՍՍՅՈՒՆ ԽԱՆԳԱՐՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

ԱՄՓՈՓԱԳԻՐ

Հանգուցային բառեր՝ սինապտիկ պլաստիկություն, ապոպտոզ, թելոմերների հարաբերական երկարություն, եզակի նուկլեոտիդային պոլիմորֆիզմներ, հետտրավմատիկ սթրեսային խանգարում (ՀՏԽ)։

Հետտրավմատիկ սթրեսային խանգարումը (ՀՏԽ, ICD-10 F43.1; DSM-V 309.81) քրոնիկ, ծանր հոգեկան հիվանդություն է, որը զարգանում է կյանքին ու առողջությանը սպառնացող, արտակարգ իրավիճակներում հայտնված անձանց մոտ։ Հիվանդության քրոնիկ ընթացքին բնորոշ է ծանր հուզական վիճակ, օրգանիզմի հարմարվողականության անկում, սոցիալ, մասնագիտական և այլ կարևոր ոլորտների, ինչպես նաև ինֆորմացիայի ընկալման ունակության խաթարում։ ՀՏԽ-ն այսօր մեծ վտանգ է ներկայացնում ժամանակակից հասարակությանը՝ հանդիսանալով առողջապահության և սոցիալ-տնտեսական ոլորտի կարևոր և անհապաղ լուծում պահանջող հիմնախնդիրներից մեկը։

ՀՏԽ-ն բնութագրվում է ճանաչողական ֆունկցիայի խանգարումներով, որի զարգացման գործընթացներում կարող են էական դեր խաղալ սինապտիկ պլաստիկության (ՄՊ) և/կամ ապոպտոզի խաթարումները։

Համաճարակաբանական տվյալները վկայում են, որ ՀՏԽ-ի զարգացման գործում բացի շրջակա միջավայրի գործոններից կարևոր դեր է խաղում ժառանգական նախատրամադրվածությունը և, որ այն պատկանում է պոլիգենային հիվանդությունների շարքին։ Սակայն ՀՏԽ-ի թեկնածու գեների վերաբերյալ տեղեկությունները սակավաթիվ են և այս հիվանդության զարգացման մոլեկուլա-գենետիկական պաթոմեխանիզմները դեռևս պարզաբանված չեն։ Այնուամենայնիվ, սինապտիկ պլաստիկության, ապոպտոզի և արագացված բջջային ծերացման ուսումնասիրությունը թույլ կտա բացահայտել այս հիվանդության էթիոպաթոգենեզը, ինչը կարևոր նախապայման կարող է հանդիսանալ հիվանդության ախտորոշման չափորոշիչների և բուժման արդյունավետ եղանակների մշակման համար։

Աշխատանքում ուսումնասիրվել է սինապտիկ պլաստիկության և ապոպտոզի կարգավորիչները, ինչպես նաև թելոմերագի հիմնական բաղադրիչները (TERT և TERC) կողավորող գեների եզակի նուկլեոտիդային պոլիմորֆիզմների կապը ՀՏԽ-ի հետ։ Որպես սինապտիկ պլաստիկության կարգավորիչներ են ընտրվել կոմպլեքսին 2-ը, նյարդերի աճի գործոնը և դրա ռեցեպտորը, ուղեղի նեյրոտրոֆիկ գործոնը, նետրին G1-ը, քիմերին 1-ը, ինչպես նաև մի շարք տրանսկրիպցիայի գործոններ (c-Fos, IER5, c-Jun)։ Որպես ապոպտոզի կարգավորիչներ ընտրվել են

Bcl-2, Bax, անեքսին A5 և A11 սպիտակուցները: Աշխատանքի ընթացքում որոշվել են նաև թելոմերների հարաբերական երկարությունը և թելոմերագի ակտիվության կարգավորիչները՝ որպես բջջային ծերացման գործընթացում կարևոր գործոններ:

Հետազոտության օբյեկտ են հանդիսացել ՀՏՄԻ-ով տառապող հիվանդների և առողջ անձանց արյան պլազմայի և գենոմային ԴՆԹ-ի նմուշները: Կիրառվել են ELISA, PCR-SSP և MMqPCR, ինչպես նաև վիճակագրական վերլուծության մի շարք մեթոդներ:

Ցույց է տրվել, որ ապոպտոզի գործընթացում ներգրավված գեների պոլիմորֆիզմները (*BCL2* գենի rs956572 և rs1801018, *BAX* գենի rs1057369, *ANXA11* գենի rs1049550 պոլիմորֆիզմները) հանդիսանում են ՀՏՄԻ-ի զարգացման ռիսկի գործոններ: Պարզվել է նաև, որ ՍՊ գործընթացում ներգրավված գեների պոլիմորֆիզմները ասոցացված են հիվանդության ինչպես բարձր (*CPLX2* գենի rs1366116, *NGF* գենի rs6330 պոլիմորֆիզմներ), այնպես էլ ցածր (*BDNF* գենի rs6265, *NGF* գենի rs4839435, *NGFR* գենի rs734194 պոլիմորֆիզմներ) ռիսկի հետ: Ավելին, հայտնաբերվել է, որ c-Fos տրանսկրիպցիայի գործոնը կոդավորող *FOS* գենի rs7101 և rs1063169 պոլիմորֆիզմները կարգավորում են ՀՏՄԻ-ի զարգացումը:

Հայտնաբերվել է, որ ՀՏՄԻ-ով տառապող հիվանդներին բնորոշ է Bax/Bcl-2 ցածր հարաբերություն, ինչպես նաև անեքսին A5 և կոմպլեքսին 2 սպիտակուցների մակարդակի իջեցում, համեմատած նորմայի հետ, ինչը կարող է վկայել ՍՊ-ի և ապոպտոզի գործընթացների խաթարման մասին:

Ցույց է տրվել նաև, որ ՀՏՄԻ-ի պաթոգենեզը ասոցացվում է լեյկոցիտներում թելոմերների հարաբերական երկարության կրճատման հետ: Ընդ որում, *NGFR* գենի rs734194 միևնույնիստ պել կրողներին բնորոշ է համեմատաբար երկար թելոմերներ, որը վկայում է այս պոլիմորֆիզմի պաշտպանական դերի մասին ՀՏՄԻ-ի ժամանակ:

Աշխատանքի հիմնարար նշանակությունը կայանում է նրանում, որ ստացված արդյունքները հարստացնում և լրացնում են ՀՏՄԻ-ի հիմքում ընկած մոլեկուլային էթիոպաթոմեխանիզմների վերաբերյալ պատկերացումները ինչպես ընդհանուր առմամբ, այնպես էլ ապոպտոզի, սինապտիկ պլաստիկության և արագված բջջային ծերացման գործընթացների մասին: Բացի այդ, հետազոտության արդյունքները ընդլայնում են ՀՏՄԻ-ի զարգացմանը պատասխանատու թեկնածու գեների ցանկը, մասնավորապես հայկական պոպուլյացիայի համար:

Աշխատանքի գործնական նշանակությունը կայանում է նրանում, որ հետազոտության արդյունքները հիմք են հանդիսանում հիվանդության վաղ ախտորաշման և հետագա արդյունավետ բուժման եղանակների մշակման համար:

FUNCTIONAL STATE OF REGULATORS OF SYNAPTIC PLASTICITY AND
APOPTOSIS IN POSTTRAUMATIC STRESS DISORDER

SUMMARY

Keywords: synaptic plasticity, apoptosis, relative leukocyte telomere length, single nucleotide polymorphism, posttraumatic stress disorder (PTSD).

Posttraumatic stress disorder (PTSD; ICD-10 code: F43.1; DSM-V code: 309.81) is a chronic, complex severe psychiatric illness that develops in people whose life or health have been endangered. Chronic stages of the disorder are characterized by a severe emotional state, decrease of adaptive behavior, impairment in social, professional and other important areas of life activity, as well as distortion of learning ability. Being an important problem in health care and socioeconomic sphere, PTSD nowadays poses a high threat for society and requires immediate solution.

PTSD is characterized by cognitive dysfunction, which may result from altered processes of synaptic plasticity and/or apoptosis. Epidemiological data suggest that besides environmental factors, hereditary predisposition also plays an important role in the development of PTSD and that the disease has polygenic nature. However, information on candidate genes is still scarce and molecular genetic pathomechanisms of the disease are not yet clarified. Nonetheless, study of synaptic plasticity, apoptosis and accelerated aging will probably reveal the etiopathogenesis of the disease, which can be an important prerequisite for the development of the diagnostic criteria and effective methods of treatment of PTSD.

In the present study, we have investigated the association between PTSD and single nucleotide polymorphisms of genes encoding regulators of synaptic plasticity and apoptosis, as well as the main components of telomerase (TERT and TERC). As regulators of synaptic plasticity complexin 2, nerve growth factor (NGF), nerve growth factor receptor (NGFR), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), netrin G1, chimerin 1, as well as a number of transcriptional factors (c-Fos, IER5, c-Jun) were selected. Bcl-2, Bax, annexin-A5 and A11 proteins were considered as regulators of apoptosis. Additionally, the relative leukocyte telomere length and regulators of telomerase activity were identified as markers of cellular aging.

The study was performed using blood plasma and genomic DNA samples of the patients with PTSD and healthy subjects (controls) by ELISA, PCR-SSP, MMqPCR, with applying a number of statistical analysis methods.

It has been shown that the polymorphisms of genes involved in apoptosis (*BCL2* gene rs956572 and rs1801018, *BAX* gene rs1057369, and *ANXA11* gene rs1049550 polymorphisms) are associated with the development of PTSD. It has also been found that polymorphisms of genes involved in synaptic plasticity are associated with high (*CPLX2* gene rs1366116, *NGF* gene rs6330 polymorphisms) and low (*BDNF* gene rs6265, *NGF* gene rs4839435, *NGFR* gene rs734194 polymorphisms) risk of PTSD. Furthermore, we have also found that the rs7101 and rs1063169 polymorphisms of the *FOS* gene, encoding c-Fos transcription factor, regulate the development of this disorder.

We have observed that patients with PTSD are characterized with decreased Bax/Bcl-2 ratio, annexin-A5 and complexin 2 protein levels compared with controls, which can be attributed to the alteration of synaptic plasticity and apoptosis.

It has also been shown that the pathogenesis of PTSD is associated with a shortening of relative leukocyte telomere length. Moreover, the carriers of *NGFR* rs734194 minor allele are associated with longer relative telomere length, which affirms the protective role of this polymorphism against PTSD.

The fundamental value of the present study is that the obtained results enrich our knowledge about the molecular etiopathomechanisms of PTSD in general and synaptic plasticity, apoptosis and accelerated cellular aging in particular. In addition, the results of this study extend the number of candidate genes responsible for the development of PTSD, particularly for the Armenian population.

From the practical point of view, the results of the study create a strong background for development of early diagnostics strategies and further effective treatment methods for PTSD.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'M. J. ...', written over a large, stylized, hand-drawn arrow pointing to the left.