

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА *DRD4* НА РАЗВИТИЕ И ТЕЧЕНИЕ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

© 2011 Г.Н. Ахмадеева<sup>1</sup>, И.М. Хидиятова<sup>1,2</sup>, А.З. Садыкова<sup>2</sup>, И.Р. Гилязова<sup>1</sup>, А.Р. Байтимеров<sup>3</sup>, Р.В. Магжанов<sup>4</sup>, Э.К. Хуснутдинова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г. Уфа

<sup>2</sup>ГОУ ВПО «Башкирский государственный университет», г. Уфа

<sup>3</sup>Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова, г. Уфа

<sup>4</sup>ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа

Поступила 13.07.2011

Представлено исследование влияния полиморфных вариантов гена *DRD4* (120 bp VNTR в 5'-UTR, 48 bp VNTR в экзоне 3, -616C/G) на развитие и течение болезни Паркинсона. Установлены полиморфные варианты гена, являющиеся маркерами риска (аллель \*7 48bp-VNTR в 3-м экзоне) и протективными маркерами (аллель \*2 48bp-VNTR в 3-м экзоне) в отношении развития БП для жителей Республики Башкортостан. Выявлено модифицирующее влияние определенных генотипов и аллелей данного гена на характер клинического течения заболевания.

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона, рецепторы дофамина, ген *DRD4*.

Болезнь Паркинсона (БП) – хроническое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, обусловленное дегенерацией дофаминсодержащих пигментных нейронов структур ствола мозга, сопровождающейся резким снижением содержания дофамина и дисфункцией дофаминергических путей центральной нервной системы. Распространенность заболевания в различных популяциях мира составляет от 60 до 187 на 100 000 населения, а среди лиц старше 50 лет его частота достигает 2-4% [1]. Клинически БП проявляется замедлением произвольных движений в виде сочетания гипокинезии с ригидностью и/или тремором покоя и, в более поздней стадии, - с постуральной неустойчивостью. В большинстве случаев БП носит спорадический характер и имеет многофакторную природу с определенной генетической предрасположенностью, но существуют и моногенные формы заболевания. Одним из современных направлений в исследовании патогенеза БП является поиск генетических маркеров предрасположенности к развитию заболевания. На сегодняшний день идентифицировано семь генов, ответственных за развитие моногенных форм заболевания. Для выяснения роли генетических факторов в развитии спорадической БП активно исследуются как гены-кандидаты, продукты которых тем или иным образом могут быть задействованы в различных звеньях патогенеза заболевания, так и гены, выявленные на основе полигеномного анализа ассоциаций БП с сотнями тысяч

маркеров – однонуклеотидных полиморфных вариантов ДНК (SNP) [10]. Однако при таких исследованиях результаты разных авторов часто оказываются противоречивыми, что может быть связано как с недостаточным объемом исследуемых выборок, так и с популяционной неоднородностью распределения частот аллелей генов и, возможно, слабым, лишь модифицирующим влиянием определенных аллельных вариантов на развитие или течение БП. Поэтому важным моментом при проведении подобных исследований является формирование выборки больных с учетом этнической принадлежности, а также наиболее четкое подразделение больных по клиническим критериям заболевания.

Среди генов-кандидатов развития БП особое место занимают гены дофаминергической системы, ответственные за синтез белков и ферментов метаболизма, транспорта и рецепции дофамина (*TH*, *COMT*, *DAT1*, *DRD1-DRD5*); исследованию их роли в развитии БП посвящен целый ряд работ, проведенных в различных этнических группах, однако данные разных авторов так же достаточно противоречивы.

Целью настоящей работы являлось исследование влияния полиморфных вариантов трех локусов гена *DRD4* (VNTR в 5'UTR; VNTR в 3 экзоне; -616C/G) на развитие БП и характер ее клинического течения.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использован банк ДНК пациентов с идиопатической болезнью Паркинсона (средний возраст начала болезни 58,6±0,39 лет) (625 образцов) и ДНК здоровых доноров (528 образцов). В группу больных не вошли пациенты с признаками вторичного паркинсонизма, вызванного травмами или опухолями головного мозга, энцефалитом, воздействием токсинов и антипсихотических лекарств.

При анализе частот генотипов и аллелей каждого локуса учитывались этническая принадлежность

Ахмадеева Гульнара Наилевна, e-mail: nevrolog.ufa@gmail.com; Хидиятова Ирина Михайловна, докт. биол. наук, проф., e-mail: imkhid@mail.ru; Садыкова Альбина Zufаровна, e-mail: magna-08@mail.ru; Гилязова Ирина Ришатовна, канд. биол. наук, e-mail: gilyasova\_irina@mail.ru; Байтимеров Азамат Рамзович, канд. мед. наук, e-mail: baynevto@rambler.ru; Магжанов Рим Валеевич, докт. мед. наук, проф., e-mail: mcjanoff@yandex.ru; Хуснутдинова Эльза Камилевна, докт. биол. наук, проф., e-mail: ekkh@anrb.ru

больных и здоровых доноров, а также возраст манифестации, форма заболевания и его тяжесть, определенная на основании унифицированной шкалы, предложенной Хеном и Яром (Hoehn and Yahr Rating Scale) и унифицированной оценочной шкалы болезни Паркинсона (Unified Parkinson's Disease Rating Scale) [8].

Выборка здоровых доноров соответствовала группе больных по возрасту, этнической принадлежности (русские, татары, башкиры) и территории проживания (Республика Башкортостан, РБ).

Все пациенты и здоровые индивидуумы дали добровольное согласие на участие в исследовании.

ДНК выделяли из периферической крови стандартным методом фенол-хлороформной экстракции [13].

Анализ полиморфизма исследуемых генов проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК на амплификаторе ДНК-технология (Россия).

Для анализа VNTR – полиморфизма 5'-UTR области гена *DRD4* использовали праймеры, описанные [2]; VNTR-полиморфизма в 3 экзоне – праймеры, представленные в работе [7]; полиморфного локуса -616G/C – праймеры, описанные в [4] и рестриктазу AvaII.

Для детекции полиморфных вариантов генов продукты амплификации разделяли электрофоретически в 7% ПААГ.

Достоверность различий оценивали как значимую при статистическом критерии  $P < 0,05$  по критерию  $\chi^2$ , 95% доверительный интервал (95% CI) рассчитан по общепринятой методике.

Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя отношения шансов (odds ratio, OR), рассчитанных по таблице сопряженности 2x2. Статистическую обработку результатов исследования проводили в операционной среде Windows XP с применением программного обеспечения Microsoft Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Рецепторы дофамина D4 – типа локализируются на постсинаптических мембранах, преимущественно в гиппокампе, гипоталамусе, энторинальной и префронтальной области коры, лимбической системе и черной субстанции, управляют сигнальным эффектом, модулируя моторные функции и эмоциональный статус [14]. Ген *DRD4* расположен на 11-й хромосоме (11p15.5) [9] и содержит в своей нуклеотидной последовательности несколько полиморфных участков, влияющих на его функциональную активность, в связи с чем привлекает внимание многих исследователей при изучении генетических механизмов формирования темперамента, некоторых расстройств нейropsychической сферы, а также таких нейродегенеративных заболеваний, как болезнь Альцгеймера и БП.

**Анализ полиморфизма VNTR-локуса в 5'-нетранслируемой области гена *DRD4*.** Данный полиморфный локус представляет собой дубликацию участка длиной 120 пар нуклеотидов (пн) в промоторном регионе (5'-UTR) гена *DRD4* (1,24 кб выше от иницирующего кодона). Он содержит сайты связывания нескольких транскрипционных факторов [18], что обуславливает его влияние на экспрессию гена [5; 12]. Этот локус может содержать 1 или 2 [18], очень редко 3 [20] и 4 копии 120-нуклеотидного фрагмента [12], число которых влияет на уровень экспрессии гена: показано ее уменьшение при увеличении числа копий повтора [5; 12]. Чаще всего выявляются два варианта аллелей – короткий, содержащий одну копию повтора (S), и длинный, представляющий собой его дубликацию (L). Существуют единичные исследования данного полиморфного локуса гена *DRD4* в отношении развития БП [11].

Мы провели анализ полиморфизма данного локуса гена *DRD4* у 613 пациентов с БП и 528 контрольных индивидуумов. Частоты генотипов и аллелей приведены в таблице 1.

**Таблица 1.** Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса VNTR в 5'-UTR области гена *DRD4* у пациентов с БП и в контрольной группе

DRD4 VNTR 5-UTR	Аллели				Генотипы						N
	*L		*S		*L/*L		*S/*L		*S/*S		
Контроль	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p	
Башкиры	47	90,38%	5	9,62%	21	80,76%	5	19,23%	0	0,00%	26
Русские	150	81,52%	34	18,47%	63	68,47%	24	26,08%	5	5,43%	92
Татары	657	83,58%	129	16,41%	273	69,46%	111	28,24%	9	2,29%	393
<b>В целом все этносы</b>	<b>881</b>	<b>83,42%</b>	<b>175</b>	<b>16,57%</b>	<b>367</b>	<b>69,50%</b>	<b>147</b>	<b>27,84%</b>	<b>14</b>	<b>2,65%</b>	<b>528</b>
<b>БП</b>											
Башкиры	122	80,26%	30	19,74%	50	64,93%	23	29,87%	4	5,19%	77
Русские	304	84,92%	54	15,08%	134	74,44%	39	21,66%	7	3,88%	180
Татары	350	84,54%	64	15,46%	149	72,33%	49	23,78%	8	3,88%	206
<b>В целом все этносы</b>	<b>1035</b>	<b>84,42%</b>	<b>191</b>	<b>15,57%</b>	<b>444</b>	<b>72,43%</b>	<b>147</b>	<b>23,98%</b>	<b>22</b>	<b>3,58%</b>	<b>613</b>
<b>Формы БП</b>											

Акинетики-ригидно-дрожательная	261	86,42%	41	13,58%	116	76,82%	29	19,21%	6	3,97%	151
Акинетики-ригидная	106	84%	20	15,87%	45	71,43%	16	25,40%	2	3,18%	63
Ригидно-дрожательная	275	85,40%	39	14,59%	120	74,53%	35	21,73%	6	3,72%	161
<b>Возраст манифестации</b>											
До 40 лет и 40-60	268	82,71%	56	17,28%	112	69,13%	44	27,16%	6	3,70%	162
Более 60 лет	226	91,12%	22	8,94%	102	82,25%	22	17,74%	0	0,00%	124
<b>Степень тяжести</b>											
1,5-3	324	79,51%	62	20,49%	141	73,05%	42	21,76%	10	5,18%	193
4-5	325	86,89%	49	13,10%	142	75,93%	41	21,92%	4	2,13%	187

Во всех исследованных этнических группах, как контрольной выборки, так и больных, распределение частот генотипов данного локуса соответствует равновесию Харди-Вайнберга ( $p > 0.05$ ). По распределению частот генотипов и аллелей достоверных различий между исследованными этническими группами, как среди контрольных выборок, так и среди больных БП, не выявлено ( $p > 0,05$ ). Не обнаружено различий по данным показателям и между обобщенными по этносу выборками больных и контроля. Наиболее частым во всех исследованных группах является аллель *DRD4*\*L (120bp dup): его частота у жителей РБ составляет примерно 83-84%. При разделении больных на клинические формы БП и по степени тяжести заболевания статистически значимое различие было выявлено между группой больных с акинетики-ригидно-дрожательной формой заболевания и контрольной выборкой: частота генотипа \*S\*L среди больных оказалась значительно ниже, чем в контрольной группе (19,2% и 23,9%, соответственно) ( $OR=0,62$ ;  $95\%CI=0,38-0,98$ ;  $\chi^2=4,122$ ,  $p=0,04$ ).

Кроме того, мы проанализировали характер распределения частот аллелей и генотипов данного локуса в зависимости от возраста начала заболевания. В связи с малочисленностью выборки больных с началом заболевания ранее 40 лет, пациенты были разделены на 2 группы: с возрастом манифестации БП до 60 и после 60 лет.

В результате сравнительного анализа была установлена достоверно более высокая частота гено-

типа \*L\*L ( $OR=2,03$ ;  $95\%CI=1,20-3,45$ ;  $\chi^2=7,47$ ;  $p=0,01$ ) и более низкая частота генотипа \*S\*L ( $OR=0,56$ ;  $CI=0,32-0,94$ ;  $\chi^2=4,8$ ;  $p=0,03$ ) в группе больных с возрастом начала заболевания старше 60 лет, по сравнению с контролем.

Таким образом, исходя из полученных результатов, можно предположить, что генотип \*L\*L и аллель \*L, определяющие более низкую транскрипционную активность гена *DRD4*, являются маркерами генетического риска развития БП у людей в возрасте старше 60 лет, а генотип \*S\*L, определяющий среднюю активность гена *DRD4*, оказывает протективное влияние, снижая как риск развития БП у людей старше 60 лет, так и риск развития наиболее развернутой – акинетики-ригидно-дрожательной формы болезни. Следует отметить, что при исследовании данного полиморфного локуса гена *DRD4* в отношении развития БП, Juyal R. *et al.* [11] получили противоположный результат, выявив ассоциацию короткого аллеля \*S (120bp WT) с БП в двух популяциях Индии, что может быть связано как с различным распределением частот аллелей данного локуса в популяциях нашего региона и в индийских популяциях, так и с возможным существованием других, как генетических, так и не генетических факторов, взаимодействие которых может формировать риск к развитию заболевания.

**Таблица 2.** Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса -616G/C гена *DRD4* у пациентов с БП и в контрольной группе

DRD4 616c	Аллели				Генотипы						
	*L		*S		*L/*L		*S/*L		*S/*S		N
Контроль	n	p	n	p	n	p	n	p	n	p	
Башкиры	36	75,00%	12	25,00%	12	50,00%	12	50,00%	0	0,00%	24
Русские	93	64,58%	51	35,42%	27	37,50%	39	54,17%	6	8,33%	72
Татары	475	62,66%	283	37,34%	144	37,99%	187	49,34%	48	12,67%	379
В целом	627	63,46%	361	36,54%	188	38,06%	251	50,81%	55	11,13%	494
<b>БП</b>											
Башкиры	56	63,64%	32	36,36%	18	40,91%	20	45,45%	6	13,64%	44
Русские	134	58,77%	94	41,23%	31	27,19%	72	63,16%	11	9,65%	114

Татары	167	63,26%	97	36,74%	51	38,64%	65	49,24%	16	12,12%	132
В целом	424	60,57%	276	39,43%	119	34,00%	186	53,14%	45	12,86%	350
<b>Формы БП</b>											
Акинетики-ригидно-дрожательная	123	59,13%	85	40,87%	33	31,73%	57	54,81%	14	13,46%	104
Акинетики-ригидная	60	63%	36	37,50%	18	37,50%	24	50,00%	6	12,50%	48
Ригидно-дрожательная	28	66,67%	14	33,33%	9	42,86%	10	47,62%	2	9,52%	21
Дрожательно-ригидная	95	60,13%	63	39,87%	27	34,18%	41	51,90%	11	13,92%	79
<b>Возраст манифестации</b>											
До 40 лет	26	68,42%	12	31,58%	7	36,84%	12	63,16%	0	0	19
40-60 лет	123	58,02%	89	41,98%	35	33,02%	53	50,00%	18	16,98%	106
Более 60 лет	127	63,50%	73	36,50%	39	39,00%	49	49,00%	12	12,00%	100
<b>Степень тяжести</b>											
1,5-2,5	49	68,06%	23	31,94%	19	52,78%	11	30,56%	6	16,67%	36
3	110	59,78%	74	40,22%	29	31,52%	52	56,52%	11	11,96%	92
4	122	63,54%	70	36,46%	38	39,58%	46	47,92%	12	12,50%	96
5	48	54,55%	40	45,45%	10	22,72%	28	63,64%	6	13,64%	44

**Анализ полиморфизма -616G/C гена DRD4.** Данный полиморфный локус также находится в промоторной области гена DRD4 и оказывает влияние на его экспрессию: аллель DRD4\*C приводит к потере AP-2-сайта связывания и репрессирует транскрипцию гена [3].

При исследовании частот генотипов и аллелей полиморфного локуса -616G/C гена DRD4 у 350 больных БП и 494 контрольных индивидуумов из РБ было установлено, что во всех трех этнических группах, как среди здоровых, так и среди больных индивидов, преобладающим по частоте являлся аллель \*G (частота составляет примерно 60-63%) (табл. 2). При сравнении частот генотипов и аллелей между этносами внутри групп контроля и больных, а также при сравнении соответствующих по этнической принадлежности групп больных с группами контроля достоверных различий не выявлено ( $p > 0,05$ ).

При разделении больных по клиническим формам, степени тяжести и возрасту манифестации БП статистически значимое различие было выявлено только между более легкими формами (до третьей степени тяжести) и контрольной группой: среди

больных наблюдается более низкая частота генотипа \*C\*G (OR=0,43; 95%CI=0,19-0,93,  $\chi^2=4,73$ ,  $p=0,03$ ). Однако, поскольку группа больных с относительно легким течением БП довольно малочисленна, из полученного результата пока трудно сделать определенный вывод.

**Анализ полиморфизма VNTR-локуса в 3 экзоне гена DRD4.** Маркер, обозначаемый 48 bp VNTR в экзоне 3, в большей степени обеспечивающий высокую структурную вариабельность гена DRD4, может быть представлен 8 вариантами аллелей, включающими от 2 до 11 повторов нуклеотидной последовательности из 48 пар нуклеотидов. В ряде работ показано влияние данного полиморфизма на формирование черт темперамента [15; 19], зависимость от психоактивных веществ [21], развитие синдрома дефицита внимания с гиперактивностью у детей [6], эндогенных психозов, в том числе шизофрении [16], установлена обратная взаимосвязь между числом повторов в 3 экзоне гена и чувствительностью рецепторов к дофамину: чем длиннее вставка, тем ниже чувствительность рецепторов.

**Таблица 3.** Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса 48 bp VNTR в 3 экзоне гена DRD4 у пациентов с БП и в контрольной группе

DRD4 48bp VNTR		башкиры		татары		русские		в целом	
контроль		п	р	п	р	п	р	п	р
аллели	*2	5	11,91%	77	10,72%	17	10,00%	99	10,26%
	*3	1	2,38%	36	5,01%	12	7,05%	55	5,70%
	*4	36	85,71%	559	77,85%	128	75,29%	751	77,90%
	*5	0	0,00%	23	3,20%	8	4,70%	31	3,21%
	*6	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
	*7	0	0,00%	22	3,06%	5	2,94%	27	2,80%
	*8	0	0,00%	1	0,13%	0	0,00%	1	0,10%
	*11	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%

	*2/*2	2	9,52%	17	4,73%	5	5,88%	24	4,97%
	*2/*3	1	4,76%	4	1,11%	0	0,00%	5	1,03%
	*2/*4	0	0,00%	38	10,58%	6	7,05%	44	9,12%
	*2/*5	0	0,00%	1	0,27%	1	1,17%	2	0,41%
	*2/*7	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
	*3/*3	0	0,00%	8	2,22%	3	3,52%	13	2,69%
	*3/*4	0	0,00%	13	3,62%	6	7,05%	21	4,35%
	*3/*5	0	0,00%	2	0,55%	0	0,00%	2	0,41%
	*3/*7	0	0,00%	1	0,27%	0	0,00%	1	0,20%
<b>генотипы</b>	*4/*4	18	85,71%	242	67,40%	55	64,70%	328	68,04%
	*4/*5	0	0,00%	9	2,50%	3	3,52%	12	2,48%
	*4/*6	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
	*4/*7	0	0,00%	14	3,89%	3	3,52%	17	3,52%
	*4/*8	0	0,00%	1	0,27%	0	0,00%	1	0,20%
	*4/*11	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
	*5/*5	0	0,00%	5	1,39%	2	2,35%	7	1,45%
	*5/*7	0	0,00%	1	0,27%	0	0,00%	1	0,20%
	*6/*7	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
	*7/*7	0	0,00%	3	0,83%	1	1,17%	4	0,82%
*8/*8	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	
<b>N</b>	<b>21</b>		<b>359</b>		<b>85</b>		<b>482</b>		
<b>DRD4 48bp VNTR</b>		<b>башкиры</b>		<b>татары</b>		<b>русские</b>		<b>в целом</b>	
<b>БП</b>	<b>п</b>	<b>р</b>	<b>п</b>	<b>р</b>	<b>п</b>	<b>р</b>	<b>п</b>	<b>р</b>	
<b>аллели</b>	*2	11	7,23%	32	7,44%	34	9,34%	106	8,48%
	*3	16	10,52%	15	3,48%	12	3,29%	58	4,64%
	*4	101	66,44%	345	80,23%	297	81,59%	981	78,48%
	*5	10	6,57%	15	3,48%	5	1,37%	37	2,96%
	*6	0	0,00%	1	0,23%	1	0,27%	2	0,16%
	*7	14	9,21%	19	4,41%	15	4,12%	61	4,88%
	*8	0	0,00%	2	0,46%	0	0,00%	3	0,24%
	*11	0	0,00%	1	0,23%	0	0,00%	2	0,16%
<b>генотипы</b>	*2/*2	2	2,63%	6	2,79%	7	3,84%	23	3,68%
	*2/*3	0	0,00%	3	1,39%	1	0,54%	5	0,80%
	*2/*4	7	9,21%	16	7,44%	18	9,89%	53	8,48%
	*2/*5	0	0,00%	1	0,46%	0	0,00%	1	0,16%
	*2/*7	0	0,00%	0	0,00%	1	0,54%	1	0,16%
	*3/*3	2	2,66%	2	0,93%	2	1,09%	11	1,76%
	*3/*4	9	12,00%	8	3,72%	7	3,84%	28	4,48%
	*3/*5	1	1,31%	0	0,00%	0	0,00%	1	0,16%
	*3/*7	2	2,63%	0	0,00%	0	0,00%	2	0,32%
	*4/*4	38	50,00%	149	69,30%	131	71,97%	422	67,52%
	*4/*5	5	6,57%	8	3,72%	4	2,19%	20	3,20%
	*4/*6	0	0,00%	1	0,46%	0	0,00%	1	0,16%
	*4/*7	4	5,26%	13	6,04%	6	3,29%	32	5,12%
	*4/*8	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	1	0,16%
	*4/*11	0	0,00%	1	0,46%	0	0,00%	2	0,32%
	*5/*5	2	2,63%	2	0,93%	0	0,00%	6	0,96%
	*5/*7	0	0,00%	2	0,93%	1	0,54%	3	0,48%
	*6/*7	0	0,00%	0	0,00%	1	0,54%	1	0,16%
	*7/*7	4	5,26%	2	0,93%	3	1,64%	11	1,76%
	*8/*8	0	0,00%	1	0,46%	0	0,00%	1	0,16%
<b>N</b>	<b>76</b>		<b>215</b>		<b>182</b>		<b>625</b>		

Мы провели исследование частот генотипов и аллелей полиморфного 48 bp VNTR локуса в 3 эк- зоне гена *DRD4* у 625 больных и 482 здоровых лиц. Было установлено, что наиболее частым во всех

трех исследованных этнических группах, как среди больных, так и в контрольной выборке, является аллель с 4 копиями повторов, и гомозиготный генотип \*4\*4 (табл. 3). Аллель \*4 также встречается с большой частотой и в других популяциях мира, его имеют от 16% до 96% людей. Также частыми в наших популяциях являются генотипы \*2\*4, \*2\*2, \*3\*4 и \*4\*7. Данные результаты согласуются с результатами исследования, проведенными в китайской популяции, где также преобладающими являются генотипы \*4\*4 (47,6%), \*2\*4 (38,6%), \*4\*7 (7,6%) и \*2\*2 (3,0%) (Wan et al., 1999).

По частотам генотипов и аллелей данного локуса сравнение этнических групп контроля между собой не выявило каких – либо статистически достоверных различий ( $p > 0,05$ ), хотя среди больных БП обнаружено значимое отличие башкир от русских и татар по частоте аллелей: увеличение частоты аллелей \*3 и \*7 ( $\chi^2 = 31,6584$ ,  $p = 0,0005$  для \*3;  $\chi^2 = 3,9675$ ,  $p = 0,0465$  для \*7) и уменьшение частоты аллеля \*4 по сравнению с татарами ( $\chi^2 = 11,1606$ ,  $p = 0,0016$  для \*4), а также увеличение частоты аллеля \*4 ( $\chi^2 = 13,1003$ ,  $p = 0,001$ ) и уменьшение частоты аллелей \*3 ( $\chi^2 = 9,5577$ ,  $p = 0,0029$ ), \*5 ( $\chi^2 = 8,5323$ ,  $p = 0,0044$ ), \*7 ( $\chi^2 = 4,3214$ ,  $p = 0,0378$ ) по сравнению с русскими. В то же время, учитывая малочисленность выборки башкир и однородность этнических групп в выборке здоровых лиц, можно предположить, что выявленное различие является случайным. При сравнении частот генотипов между общей группой БП и общей контрольной выборкой достоверных различий не выявлено ( $p > 0,05$ ), однако при анализе распределения частот аллелей установлено статистически значимое увеличение частоты аллеля с 7 копиями повторов в группе БП (OR=1,78, 95%CI=1,10-2,90;  $\chi^2 = 5,63$ ,  $p = 0,02$ ).

При разделении пациентов по клинической форме БП достоверные различия выявлены между группой больных с ригидно-дрожательной формой заболевания и контрольной выборкой: частота аллеля \*4 среди больных оказалась выше, а аллелей \*2 и \*3 ниже, чем в контроле (OR=1,44, 95%CI=1,03-2,03,  $\chi^2 = 4,6$ ,  $p = 0,03$  для \*4; OR=0,58, 95%CI=0,34-0,97,  $\chi^2 = 4,34$ ,  $p = 0,04$  для \*2; OR=0,45, 95%CI=0,20-0,96,  $\chi^2 = 4,25$ ,  $p = 0,04$  для \*3).

Анализ распределения частот генотипов и аллелей данного полиморфного локуса у больных с различной степенью тяжести БП выявил статистически значимое увеличение частоты аллеля \*7 в группе пациентов со степенью тяжести 1,5-3 (5,47%) по сравнению с контролем (2,80%) (OR=2,01, 95%CI=1,09-3,70,  $\chi^2 = 5,11$ ,  $p = 0,02$ ). У пациентов с 4-5-й степенью тяжести БП наблюдалось статистически значимое уменьшение частоты аллеля \*2 (6,02% против 10,26% в контроле) (OR=0,56, 95%CI=0,34-0,92,  $\chi^2 = 5,37$ ,  $p = 0,02$ ).

При разделении больных по возрасту манифестации БП в группе больных с возрастом начала заболевания до 60 лет наблюдалось значимое увеличение частоты аллеля с \*7 копиями повторов по

сравнению с контрольной группой (5,62% и 2,8%, соответственно) (OR=2,07, 95%CI=1,09-3,91,  $\chi^2 = 5,04$ ,  $p = 0,03$ ); в группе с возрастом манифестации БП после 60 лет - достоверное уменьшение частоты аллеля с 2 копиями повторов по сравнению с контролем (4,72% и 10,26% соответственно) (OR=0,43, 95%CI=0,22-0,83,  $\chi^2 = 6,8094$ ,  $p = 0,01$ ).

Таким образом, сравнительный анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфного локуса 48 bp VNTR в 3 экзоне гена *DRD4* в выборках больных с различными клиническими характеристиками в сравнении с группой контроля дал возможность предположить, что аллель с 7 копиями повторов может являться фактором, предрасполагающим к развитию заболевания у жителей РБ, а аллель с 2 копиями повторов оказывает протективное влияние, снижая риск развития БП у его носителей.

Исследования ассоциации с БП, проведенные в различных популяциях мира, обнаруживают противоречивые результаты. Результаты нашего исследования в определенной степени согласуются с данными Ricketts *et al.* (1998) [17], установившими более высокую частоту аллеля с 6 и более копиями повторов в группе БП по сравнению с контролем. В аналогичных исследованиях, проведенных в Китае (Wan et al., 1999) и Индии [11], какой-либо ассоциации полиморфных вариантов данного локуса с БП не обнаружено.

Обобщая полученные результаты, можно сделать вывод, что полиморфные варианты гена *DRD4* вносят определенный вклад в генетическую предрасположенность к БП, оказывают влияние на возраст манифестации и течение заболевания. Однако в силу многофакторности БП, существования различных ген-генных и ген-средовых взаимодействий, популяционной неоднородности по частотам аллелей и других региональных факторов, могут наблюдаться популяционные различия и по данным ассоциативных исследований заболевания с теми или иными генетическими маркерами. В нашем исследовании установлены полиморфные варианты гена *DRD4*, являющиеся маркерами риска (аллель \*7 48bp-VNTR в 3-м экзоне) и протективными маркерами (аллель \*2 48bp-VNTR в 3-м экзоне) в отношении развития БП для жителей РБ, большая часть населения которого представлена этническими группами русских, татар и башкир. Выявлено модифицирующее влияние определенных генотипов и аллелей данного гена на характер клинического течения заболевания.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №10-04-01282а и гранта Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине».

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Голубев В.Л., Левин Я.И., Вейн А.М. Болезнь Паркинсона и синдром паркинсонизма. М., 1999. С. 12.

2. *Казанцева А.В.* Молекулярно-генетические основы черт темперамента и личности: Дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 2008. 219 с.
3. *Barr CL et al.* 5'-Untranslated region of the dopamine D4 receptor gene and attention-deficit hyperactivity disorder // *Am. J. Med. Genet.* 2001. V. 105. P. 84-90.
4. *Bookman E.B., Taylor R.E., Adams-Campbell L. et al.* DRD4 promoter SNPs and gender effects on Extraversion in African Americans. // *Mol. Psychiatry.* 2002. V. 7. N 7. P. 786-789.
5. *D'Souza U.M. et al.* Functional effects of a tandem duplication polymorphism in the 5' flanking region of the *DRD4* gene. // *Biol. Psychiatry.* 2004. V. 56. N 9. P.691-697.
6. *DiMaio S., Grizenko N., Joobar R.* Dopamine genes and attention-deficit hyperactivity disorder: a review. // *J. Psychiat. Neurosci.* 2003. V. 28. N 1. P.27-38.
7. *Ding Y.C., Chi H.C., Grady D.L. et al.* Evidence of positive selection acting at the human dopamine receptor D4 gene locus // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. V. 99. N 1. P.309-314.
8. *Fahn S, Elton R.* MacMillan health care information. Recent developments in Parkinson's disease // *Florham. Park. N. Y.,* 1987. V. 2.
9. *Gelernter J. et al.* The D4 Dopamine receptor (*DRD4*) maps to distal 11p close to *HRAS* // *Genomics.* 1992. V. 13. P. 208.
10. International Parkinson Disease Genomics Consortium Imputation of sequence variants for identify cation of genetic risks for Parkinson's disease: a meta-analysis of genome-wide association studies // *Lancet.* 2011. P. 641-649.
11. *Juyal R.C. et al.* Genetic susceptibility to Parkinson's disease among South and North Indians: I. Role of polymorphisms in dopamine receptor and transporter genes and association of *DRD4* 120-bp duplication marker // *Neurogenetics.* 2006. V. 7. P. 223-229.
12. *Kereszuri H. et al.* Association between the 120-bp duplication of the dopamine D4 receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder: genetic and molecular analyses // *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* 2007. V. 144B (2). P. 231-236.
13. *Mathew C.C.* The isolation of high molecular weight eucariotic DNA // *Methods in molecular biology.* V. 2. N.Y., 1984. P. 31-34.
14. *Missale C. et al.* Dopamine receptors: from structure to function // *Physiol. Rev.* 1998. V. 78. P. 1189.
15. *Munafò M.R. et al.* Genetic polymorphisms and personality in healthy adults: a systematic review and meta-analysis // *Mol. Psychiat.* 2003. V. 8. P. 471-484.
16. *Niznik H.B., van Tol H.H.* Dopamine receptor genes: new tools for molecular psychiatry // *J. Psychiat. Neurosci.* 1992. V. 17. N 4. P. 158-180.
17. *Ricketts M.H. et al.* Association of long variants of the dopamine D4 receptor exon 3 repeat polymorphism with Parkinson's disease // *Clin. Genet.* 1998. V. 54. N. 1. P. 33-38.
18. *Seaman M.I. et al.* Tandem duplication polymorphism upstream of the dopamine D4 receptor gene (*DRD4*) // *Am. J. Med. Genet.* 1999. V. 88. N 6. P. 705-709.
19. *Schinka J.A., Letsch E.A., Crawford F.C.* *DRD4* and novelty seeking: results of meta-analyses // *Am. J. Med. Genet.* 2002. V. 114. N 6. P. 643-648.
20. *Todd R.D. et al.* Lack of association of dopamine D4 receptor gene polymorphisms with ADHD subtypes in a population sample of twins // *Am. J. Med. Genet. Neuropsychiatric Genetics.* 2001. V. 105. P. 432-438.
21. *Vandenbergh D.J. et al.* Long forms of the dopamine receptor (*DRD4*) gene VNTR are more prevalent in substance abusers: no interaction with functional alleles of the catechol-o-methyltransferase (*COMT*) gene // *Am. J. Med. Genet.* 2000. V. 96. N 5. P. 678-683.

## RESEARCH OF THE EFFECT POLYMORPHIC VARIANTS OF THE *DRD4* GENE FOR DEVELOPMENT AND PROGRESS PARKINSON'S DISEASE

© 2011 G.N. Akhmadeeva<sup>1</sup>, I.M. Khidiyatova<sup>1,2</sup>, A.Z. Sadyikova<sup>2</sup>, I.R. Gilyzova<sup>1</sup>, A.R. Baytимерov<sup>3</sup>, R.V. Magjzanov<sup>4</sup>, E.K. Khusnutdinova<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Sci. Centre of RAS, Ufa

<sup>2</sup>Bashkir State University, Ufa

<sup>3</sup>Kuvatov Republican Clinical Hospital, Ufa

<sup>4</sup>Bashkir Medical State University, Ufa

In this article, we presented research of effect polymorphic variants of the *DRD4* gene (120 bp VNTR in 5'-UTR, 48 bp VNTR in 3 exon, -616C/G) for development and progress Parkinson's disease. Established polymorphic variants of the gene are markers of risk (allele \*7 48bp-VNTR in 3 exon) and protective markers (allele \*2 48bp-VNTR in 3 exon) for development Parkinson's disease for the residents of the Republic of Bashkortostan, most of the population which is represented by ethnic groups of Russian, Tatar and Bashkir. Identified the modifying effect of certain genotypes and alleles of the gene on the nature of the clinical course of disease.

**Key words:** Parkinson's disease, dopamine receptors, gene *DRD4*.

---

*Akhmadeeva Gulnara Nailevna,* e-mail: [nevrolog.ufa@gmail.com](mailto:nevrolog.ufa@gmail.com); *Khidiyatova Irina Mikhaylovna,* Doctor of Biology, Professor, e-mail: [imkhid@mail.ru](mailto:imkhid@mail.ru); *Sadyikova Albna Zufarovna,* e-mail: [magna-08@mail.ru](mailto:magna-08@mail.ru); *Gilyazova Irina Rishatovna,* Candidate of Biology, e-mail: [gilyasova\\_irina@mail.ru](mailto:gilyasova_irina@mail.ru); *Baytимерov Azamat Ramzovich,* Candidate of Medicine, e-mail: [baynevro@rambler.ru](mailto:baynevro@rambler.ru); *Magjzanov Rim Valeevich,* Doctor of Medicine, Professor, e-mail: [mcjanoff@yandex.ru](mailto:mcjanoff@yandex.ru); *Khusnutdinova Elza Kamilevna,* Doctor of Biology, Professor, e-mail: [ekkh@anrb.ru](mailto:ekkh@anrb.ru)