ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *EPHX2* АССОЦИИРОВАН С УВЕЛИЧЕНИЕМ ВЕРОЯТНОСТИ РАЗВИТИЯ НАРКОТИЧЕСКОЙ ЗАВИСИМОСТИ

EPHX2 GENE POLYMORPHISM ASSOCIATED WITH THE INCREASED DEVELOPMENT PROBABILITY OF DRUG DEPENDENCE

Е. В. Снытков¹, В. Н. Кипень², Т. В. Сорокина³, С. Б. Мельнов¹
E. V. Snytkov¹, V. N. Kipen², T. V. Sorokina³, S. B. Melnov¹

¹Беларусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь

²Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси,
г. Минск, Республика Беларусь

³Минский областной клинический центр «Психиатрия – наркология», г. Минск, Республика Беларусь
evsnytkov@gmail.com

¹Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

³Minsk Regional Clinical Center "Psychiatry - Narcology", Minsk, Republic of Belarus

Наркотическая зависимость является актуальной проблемой, которая имеет отражение как в социальной сфере, так и в медицине. В данной работе была предпринята попытка определить вклад генетического фактора в развитие наркотической зависимости. Лица, вошедшие в основную и контрольную группы, были прогенотипированы по 13 однонуклеотидным полиморфизмам. Нами была выявлена статистически значимая связь между генотипом полиморфного локуса rs73229090 гена *EPHX2* и риском развития наркотической зависимости.

Drug dependence is an urgent problem, which is reflected both in the social sphere and in medicine. In this work, an attempt was made to determine the contribution of a genetic factor to the development of drug addiction. Persons included in the main and control groups were progenotyped according to 13 single nucleotide polymorphisms. We have identified a statistically significant relationship between the genotype of the polymorphic locus rs73229090 of the *EPHX2* gene and development risk of drug addiction.

Ключевые слова: наркомания, генотипирование, ПЦР-ПДРФ, HRM-анализ, MDR-анализ.

Keywords: drug dependence, genotyping, PCR-PLRF, HRM analysis, MDR analysis.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2020-2-168-170>

Наркотическая зависимость представляет собой аддиктивное состояние (аддикция, англ. addiction), которое развивается при регулярном употреблении психоактивных веществ и приводит к развитию синдрома отмены в случае прекращения приема наркотиков. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, в настоящее время в мире насчитывается 185 миллионов потребителей запрещенных наркотиков [1]. Патогенез зависимости включает в себя ряд сложных взаимодействий между биологическим фактором (генетическая предрасположенность, пол, физиологический и поведенческий отклик на экспериментирование и употребление наркотиков, вызванные наркотиками изменения в экспрессии генов и получающихся в результате белков), окружающей средой (законность, приемлемость, доступность), психологическим фактором (поиск новизны, особенности характера) и лекарственным фактором (доза препарата, способ применения) [2, 3]. Общей чертой всех наркотических веществ является их способность активировать мезолимбический путь вознаграждения и повышать уровень дофамина в прилежащем ядре [4]. Это может происходить путем облегчения высвобождения дофамина из пресинаптических нейронов или ингибирования его обратного захвата или путем увеличения активности дофаминергических нейронов. В то время как дофамин играет важную роль в формировании наркотической зависимости, другие нейротрансмиттеры, включая серотонин, опиоидные пептиды, γ -аминомасляную кислоту, ацетилхолин, эндоканнабиноиды и глутамат, также вносят свой вклад. Генетические факторы и факторы окружающей среды взаимодействуют с критическими этапами развития в жизни человека, влияя на риск наркомании. Хотя употребление наркотиков в любом возрасте может привести к зависимости, чем раньше начнется употребление наркотиков, тем больше вероятность того, что оно перерастет в зависимость. Это особенно проблематично для подростков. Поскольку области их мозга, которые контролируют принятие решений, суждение и самоконтроль, все еще развиваются, подростки могут быть особенно склонны к рискованному поведению, включая употребление наркотиков. В дополнение к более традиционным подходам генотипирования, в последнее время стали широко распространены исследования поиска геномной ассоциации (GWA, genome-wide association studies), где изучается вклад большого количества полиморфных локусов, которые не являются классическими кандидатами, в развитие наркотической зависимости.

Цель работы: оценить влияние полиморфных вариантов rs6902771 (*ESR1*), rs7085104 (*AS3MT*), rs7590720 (*PECR*), rs11191580 (*NT5C2*), rs56205728 (*BUB1B-PAK6*), rs73229090 (*EPHX2*), rs237238 (*HIP1*), rs1109501 (*MUC7*), rs2007044 (*CACNA1C*), rs2273500 (*CHRNA4*), rs3735025 (*DGKI*), rs4356203 (*PIK3C2A*) и rs17504622 на увеличение риска развития наркотической зависимости среди резидентов из Республики Беларусь.

Данная работа является исследованием типа «случай-контроль». В работе были проанализированы биологические образцы (ДНК, выделенная из букального эпителия) 83 человек с клинически подтвержденной наркотической зависимостью, которые стоят на учете в Минском областном клиническом центре «Психиатрия-наркология» (Минск, Республика Беларусь), а также – 126 человек без какой-либо формы аддиктивного поведения (по результатам анкетирования). Праймеры для исследуемых полиморфных вариантов были смоделированы с использованием Primer-BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) (табл.1). Генотипирование по полиморфным вариантам проводилось с использованием наборов Precision Melt Supermix (Bio-Rad, США) [5], согласно рекомендациям производителя, на приборе CFX96 Touch (Bio-Rad). Концентрацию ДНК определяли с использованием спектрофотометра NanoDrop 1000 (PeqLab, Германия). Валидация генотипов была проведена с использованием ПЦР-ПДРФ (табл.1). При проведении статистического анализа был использован метод χ^2 -квадрат (точный критерий Фишера).

Анализ межгенных взаимодействий проводился биоинформатическим методом многофакторного сокращения размерности (Multifactor Dimensionality Reduction, MDR) с использованием размещенного в открытом доступе (англ. open-source software) программного обеспечения MDR v.3.0.2. (<http://www.multifactor dimensionalityreduction.org/>) [2, 3]. В процессе моделирования были использованы высоко консервативные настройки поиска конфигурации модели, которые позволили однозначно дифференцировать наличие/отсутствие статистически значимых эффектов: количество атрибутов (attribute count range) – от 1 до n (где n – количество переменных в модели); воспроизводимость модели (cross-validation count) – 100; анализ топ-моделей (track top models) – 1000; поиск конфигурации модели (search method configuration) – всесторонний (exhaustive); метод сравнения (ambiguous cell analysis) – точный тест Фишера (Fisher's exact test); классификация ячеек (ambiguous cell assignment) – неклассифицированные (unclassified). Математической базой данной программы является непараметрический кластерный анализ для обнаружения и описания нелинейного типа взаимодействия между дискретными генетическими атрибутами.

Нами было изучено распределение генотипов для тринадцати полиморфных вариантов у лиц с наркотической зависимостью и лиц из группы сравнения. Распределение генотипов по всем полиморфным вариантам соответствовало распределению Харди-Вайнберга ($p > 0,05$). Статистически значимые различия были выявлены только при анализе полиморфного варианта rs73229090 гена *EPHX2* ($p = 0,041$), тогда как исследование иных полиморфных вариантов не выявило статистически значимых различий. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 1 – Последовательности праймеров и соответствующие эндонуклеазы рестрикции

Полиморфизм	Последовательность олигонуклеотидов	Эндонуклеаза рестрикции
rs6902771	F-primer 5'-AGTGCCATGAAAAACAAGTATAGGG-3' R-primer 5'-CTCCCTCATCAATCAAGTCCCC-3'	RsaI
rs7085104	F-primer 5'-TTGGTCTCCGTTTTGGTGATGTA-3' R-primer 5'-TCCATCTTTCTTCAGTGTGCAGTT-3'	MspI
rs7590720	F-primer 5'-ATCCAAAATAGCCTAGAGATTTGGC-3' R-primer 5'-ATGCTACGTCAAACTAGCGA-3'	DdeI
rs11191580	F-primer 5'-TGTTTTCTTATGGGCTTGC-3' R-primer 5'-TTTGCCCTCTCAAAAAGCAC-3'	TspRI
rs17504622	F-primer 5'-AGTAACATCCAACGGCTCACAG-3' R-primer 5'-GGGCATGGCAGCTCTAAGGAG-3'	AluI
rs56205728	F-primer 5'-CAACAGGAAACATCTTCCAAGACA-3' R-primer 5'-TTATATGCTAATTTGGGGTTAGCG-3'	Acil
rs73229090	F-primer 5'-CTCCAGTCCCAGCCCTATTATG-3' R-primer 5'-TGCTAATCCCTCCCATCGC-3'	DpnI
rs237238	F-primer 5'-AGCCACTTACAAGTTGTTCACGTC-3' R-primer 5'-AGGCAACCTGCAGATGAGTGAC-3'	MspI
rs1109501	F-primer 5'-TGGCTTTAACACCGTAAGAACA-3' R-primer 5'-AATGGTACCTTCTTGTGTGTCC-3'	Acil
rs2007044	F-primer 5'-CAGGTAGGAGCAGTCCGGTG-3' R-primer 5'-GCAAAGTGGAAGTGAATAATGGAAC-3'	Acil
rs2273500	F-primer 5'-GGGTCTGATGGCGAAAAGCAC-3' R-primer 5'-GTCTTTGCCCCCACCCTTGA-3'	AluI
rs3735025	F-primer 5'-ACCTAAAATGGGGCTCCTCTCAC-3' R-primer 5'-TTGGAATGTTGCACAGAGGCTAAT-3'	AluI
rs4356203	F-primer 5'-TTTTCCTCAGCCTAGAGGTGACA-3' R-primer 5'-CAACCCTACTCTAAGGGGTCC-3'	HhaI

Таблица 2 – Результаты статистической обработки данных

Полиморфизм	Генотип/аллель	Контрольная группа	Основная группа	р-уровень значимости	ОШ (95% ДИ)
rs6902771 (<i>ESR1</i>)	C/C	46 (36.51%)	18 (24.66%)	0,146	0.58 (0.3-1.09)
	C/T	50 (39.68%)	30 (41.1%)		1.06 (0.59-1.9)
	T/T	30 (23.81%)	25 (34.25%)		1.66 (0.89-3.12)
rs7085104 (<i>AS3MT</i>)	A/A	50 (39.68%)	41 (56.16%)	0,054	1.93 (1.08-3.46)
	A/G	55 (43.65%)	26 (35.62%)		0.72 (0.4-1.3)
	G/G	21 (16.67%)	6 (8.22%)		0.47 (0.19-1.2)
rs7590720 (<i>PECR</i>)	A/A	63 (50.0%)	26 (35.62%)	0,135	0.56 (0.31-1.01)
	A/G	52(41.27%)	38 (52.05%)		1.54 (0.86-2.74)
	G/G	11 (8.73%)	9 (12.33%)		1.48 (0.59-3.68)
rs11191580 (<i>NT5C2</i>)	C/C	- (0.0%)	1 (1.37%)	0,485	4.99 (0.2-124.04)
	C/T	16 (8.33%)	10 (13.7%)		1.74 (0.7-4.32)
	T/T	110 (91.67%)	62 (84.93%)		0.52 (0.21-1.26)
rs17504622	C/C	114 (90.48%)	65(89.04%)	0,848	0.84 (0.33-2.12)
	C/T	10 (7.94%)	6 (8.22%)		1.07 (0.38-2.97)
	T/T	2 (1.59%)	2 (2.74%)		1.74 (0.29-10.29)
rs56205728 (<i>BUB1B-PAK6</i>)	A/A	20 (15.87%)	17 (23.29%)	0,16	1.61 (0.79-3.29)
	A/G	39 (30.95%)	27 (36.99%)		1.31 (0.72-2.39)
	G/G	67(53.17%)	29 (39.73%)		0.58 (0.33-1.05)
rs73229090 (<i>EPHX2</i>)	A/A	- (0.0%)	3 (4.11%)	0,041	12.59 (0.51-312.71)
	A/C	21 (16.67%)	16 (21.92%)		1.41 (0.68-2.91)
	C/C	105 (83.33%)	54 (73.97%)		0.58 (0.29-1.17)
rs237238 (<i>HIP1</i>)	A/A	100 (79.37%)	56 (76.71%)	0,553	0.85 (0.43-1.69)
	A/G	24 (19.05%)	14 (19.18%)		1.02 (0.49-2.1)
	G/G	2 (1.59%)	3 (4.11%)		2.47 (0.48-12.86)
rs1109501 (<i>MUC7</i>)	A/A	9 (7.14%)	6 (8.22%)	0,949	1.19 (0.42-3.38)
	A/G	52 (41.27%)	30 (41.1%)		0.99 (0.56-1.78)
	G/G	65 (51.59%)	37 (50.68%)		0.96 (0.54-1.71)
rs2007044 (<i>CACNA1C</i>)	A/A	57 (45.24%)	31 (42.47%)	0,343	0.9 (0.5-1.6)
	A/G	40 (31.75%)	30 (41.1%)		1.5 (0.83-2.71)
	G/G	29 (23.02%)	12 (16.44%)		0.67 (0.32-1.4)
rs2273500 (<i>CHRNA4</i>)	C/C	2 (1.59%)	4 (5.48%)	0,202	3.22 (0.67-15.56)
	C/T	43 (34.13%)	19 (26.03%)		0.69 (0.36-1.29)
	T/T	81 (64.29%)	50 (68.49%)		1.2 (0.65-2.21)
rs3735025 (<i>DGKI</i>)	C/C	20 (15.87%)	15 (20.55%)	0,068	1.38 (0.66-2.86)
	C/T	49 (38.89%)	37 (50.68%)		1.61 (0.9-2.87)
	T/T	57 (45.24%)	21 (28.77%)		0.49 (0.27-0.91)
rs4356203 (<i>PIK3C2A</i>)	A/A	40 (31.75%)	14 (19.18%)	0,106	0.52 (0.26-1.03)
	A/G	57 (45.24%)	43 (58.9%)		1.72 (0.97-3.08)
	G/G	29 (23.02%)	16 (21.92%)		0.95 (0.48-1.88)

ЛИТЕРАТУРА

1. The World Health Organization. Substance Abuse Facts and Figures: The Global Burden. – 2002.
2. Ho, M. K. Breaking barriers in the genomics and pharmacogenetics of drug addiction. / M.K. Ho [et al.] // Clin Pharmacol Ther. – 2010. – № 88. – P.779-791.
3. Reynolds, E. K., Magidson, J. F., Mayes, L. C., Lejuez, C. W. Risk-taking behaviors across the transition from adolescence to young adulthood. Young adult mental health. 2010. – P.40–63.
4. Ross, S. The neurobiology of addictive disorders. / Clin Neuropharmacol. – 2009. – №32. – P.269-276.
5. melt-supermix-for-high-resolution-melt-hrm-analysis-1000-x-20-ul-reactions-10-x-1-ml?ID=1725112).

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МОЧЕПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ У ЖЕНЩИН

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF PATTERNS OF INFECTIOUS DISEASES OF THE URINOIDAL SYSTEM IN WOMEN

Е. Тарасова, П. Харитон, В. Пажиток
E. Tarasova, P. Khariton, V. Pajitok

Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь
polinakhariton@mail.ru

Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

В результате проведенных исследований у пациентов с хроническими инфекциями мочеполовой системы были выявлена *Gardnerella vaginalis* в виде моноинфекции и в сочетании с другими микроорганизмами (*Escherichia coli*, *Streptococcus spp*, *Staphylococcus aureus*). Было установлено, что при моноинфекции наблюдается более значительное снижение количества *Lactobacillus spp.*, чем при микстинфекции. *Gardnerella vaginalis* как в виде моноинфекции, так и сочетании с различными возбудителями обладает разнонаправленной чувствительностью к исследуемым антибиотикам. При смешанной инфекции устойчивость к ряду антибиотиков увеличивается.

As a result of studies in patients with chronic infections of the reproductive system, *Gardnerella vaginalis* was identified as a mono-infection and in combination with other microorganisms (*Escherichia coli*, *Streptococcus spp*, *Staphylococcus aureus*). It was found that with mono-infection, there is a more significant decrease in the number of *Lactobacillus spp.*, than with mixed infection. *Gardnerella vaginalis*, as a mono- and mixed infection with various pathogens, has multidirectional sensitivity to the studied antibiotics. With mixed infections, resistance to a number of antibiotics increases.

Ключевые слова: гарднерелла, бактериальный вагиноз (далее – БВ), антибиотикорезистентность микроорганизмов, лактобактерии, диско - диффузионный метод (далее – ДДМ).

Keywords: gardnerella, bacterial vaginosis (BV), antibiotic resistance of microorganisms, lactobacilli, disco-diffusion method (DDM).

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2020-2-171-174>

В настоящее время заболевания мочевыделительной системы относятся к группе наиболее распространенных болезней, возникающих чаще всего в молодом и среднем возрасте. Распространенность инфекций мочевых путей составляет около 80% всех болезней органов мочевой системы.

Инфекции мочевыводящих путей (далее – ИМП) – это воспалительные заболевания мочевыделительной системы человека, вызываемые инфекционными микроорганизмами, имеющие рецидивирующее течение с возможным развитием осложнений. Общая заболеваемость в нашей стране составляет около 7% всего населения, в столице этот процент достигает 12%. Среди инфекций мочевыделительной системы у женщин наиболее заметными являются такие, как пиелонефрит, цистит, уретрит, бактериальный вагиноз. Не менее 20-25% женщин в течение жизни один или несколько раз переносят цистит, а 10% страдают хроническим циститом. Пиелонефрит встречается у 35 % женщин. Число болеющих уретритом за последние 10 лет увеличилось более чем в 4 раза. Распространённость бактериального вагиноза в различных популяциях женщин и в разных странах составляет от 15 до 80% и более. По официальным данным медицинской статистики в странах Запада, симптомы вагиноза ежегодно обнаруживают более чем у 10 млн. женщин [1, 5, 6]. Одной из причин развития бактериального вагиноза является *Gardnerella vaginalis* (гарднереллёз). Важное значение в лечении бактериальных вагинозов принадлежит химиотерапии, эффективность которой в значительной степени зависит от чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Главным препятствием для эффективной антибиотикотерапии является устойчивость возбудителей бактериальных вагинозов к антибиотикам [2, 3].

В связи с этим целью данного исследования было идентификация *Gardnerella vaginalis* микроскопическим и культуральным методами, и определение антибиотикорезистентности данного микроорганизма.

В качестве исследуемого материала использовали мазки из эндоцервикального канала и влагалища 600 пациенток детородного возраста (женщины 19–44 лет), обратившихся в различные медицинские центры г.Минска.

Для идентификации бактериальных вагинозов использовались классические лабораторные методы диагностики: культуральный посев и микроскопия [4]. Чувствительность метода световой микроскопии находится на уровне выявления микроорганизмов в количестве 4 - 5 lg КОЕ/мл и более. Поэтому этиологически значимые микроорганизмы в ряде случаев могут быть обнаружены уже при микроскопии.