

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра биохимии**

КИСЕЛЬ
Мария Сергеевна

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ДЕТЕКЦИИ ПОЛИМОРФИЗМОВ Cys23Ser
ГЕНА *HTR2C* И Val66Met ГЕНА *BDNF***

Дипломная работа

Научный руководитель:
кандидат химических наук
Гилеп А.А.

Допущена к защите
«__» _____ 2018 г.
Зав. кафедрой биохимии
к.б.н., доцент И.В. Семак

Минск, 2018

Реферат

Дипломная работа, 64 страницы, 14 рисунков, 10 таблиц, 56 источников.

ПОЛИМОРФИЗМ Cys23Ser, РЕЦЕПТОР СЕРОТОНИНА 5-HT_{2C}, ПОЛИМОРФИЗМ Val66Met, НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЙ ФАКТОР МОЗГА, ШИЗОФРЕНИЯ, АНТИПСИХОТИКИ

Цель работы: разработка методик детекции полиморфизма Cys23Ser гена *HTR2C* и полиморфизма Val66Met гена *BDNF*, применение полученной методики детекции Cys23Ser для определения возможной связи данного полиморфизма с патогенезом шизофрении, а также с эффективностью лекарственного лечения антипсихотиками (клозапином, галоперидолом).

Методы исследования: молекулярно-биологические, ПЦР-ПДРФ, статистические.

Разработана методика детекции полиморфизма Cys23Ser гена *HTR2C*, основанная на принципе метода ПДРФ. Определены генотипы 163 человек, из которых 97 человек составили контрольную группу здоровых добровольцев, 66 – исследуемую группу пациентов РНПЦ ПЗ, страдающих шизофренией. Частоты аллелей полиморфизма Cys23Ser в контрольной группе и группе пациентов РНПЦ ПЗ составили: 78 % – аллель G, 22 % – аллель C и 80 % – аллель G, 20 % – аллель C соответственно. Определенные частоты аллелей соответствуют частотам в европейской популяции ($p = 0,275$ и $p = 0,457$ соответственно). Распределение частот генотипов в группе пациентов и контрольной группе без учета половой принадлежности ($p = 0,771$) и при стратифицированном анализе (мужчины и женщины отдельно, $p = 0,176$ и $p = 0,342$ соответственно) не отличаются статистически достоверно.

Не выявлена ассоциация аллелей полиморфизма с ответом на лечение клозапином. Возможна тенденция к связи G-аллеля с отсутствием ответа на клозапин у мужчин ($p = 0,083$). В группе женщин G-аллель был значимо взаимосвязан ($p = 0,05$) с отсутствием ответа и проявлением побочных эффектов при лечении галоперидолом.

Разработана методика определения полиморфизма Val66Met гена *BDNF*, основанная на принципе метода ПДРФ, которая может быть использована в дальнейшем для генотипирования ДНК с целью определения распределения частот аллелей и генотипов в конкретной популяции, выявления связи с тем или иным психическим расстройством, осуществления фармакогеномных исследований.

Область применения результатов исследования: фармакогеномика, психофармакология, медицина.

Рэферат

Дыпломная работа, 64 старонкі, 14 малюнкаў, 10 табліцы, 56 крыніц.
ПАЛІМАРФІЗМ Cys23Ser, РЭЦЭПТАР СЕРАТАНІНУ 5-НТ2С,
ПАЛІМАРФІЗМ Val66Met, НЕЙРАТРАФІЧНЫ ФАКТАР МОЗГУ,
ШЫЗАФРЭНІЯ, АНТЫПСІХОТЫКІ

Мэта работы: распрацоўка метадык дэтэкцыі палімарфізму Cys23Ser гену *HTR2C* і палімарфізму Val66Met гену *BDNF*, прымяненне атрыманай метадыкі дэтэкцыі Cys23Ser для вызначэння магчымай сувязі дадзенага палімарфізму з патагенэзам шызафрэнніі, а таксама з эфектыўнасцю лекавага лячэння антыпсіхатыкамі (клазапінам, галаперыдолам).

Метады даследавання: малекулярна-біялагічныя, ПЦР-ПДРФ, статыстычныя.

Распрацавана метадыка дэтэкцыі палімарфізму Cys23Ser гену *HTR2C*, заснаваная на прынцыпе метаду ПДРФ. Вызначаны генатыпы 163 чалавек, з якіх 97 чалавек саставілі кантрольную групу здаровых добраахвотнікаў, 66 – доследную групу пацыентаў РНПЦ ПЗ, хворых шызафрэніяй. Частоты алелей палімарфізму Cys23Ser у кантрольнай групе і групе пацыентаў РНПЦ ПЗ саставілі 78% алель G, 22 % алель C і 80 % – G, 20% – алель C адпаведна. Вызначаныя частоты алелей адпавядаюць частотам у еўрапейскай папуляцыі ($p = 0,275$ і $p = 0,457$ адпаведна). Размеркаванне частот генатыпаў у групе пацыентаў і кантрольнай групе без уліку палавой прыналежнасці ($p = 0,771$) і пры стратыфіцыраваным аналізе (мужчыны і жанчыны асобна, $p = 0,176$ і $p = 0,342$ адпаведна) не адрозніваюцца статыстычна значна.

Не выяўлена асацыяцыя алелей палімарфізму з адказам на лячэнне клазапінам. Магчыма тэндэнцыя да сувязі G-алелі з адсутнасцю адказу на клазапін у мужчын ($p = 0,083$). У групе жанчын G-алель была значна ўзаемазлучана ($p = 0,05$) з адсутнасцю адказу і праяўленнем пабочных эфектаў пры лячэнні галаперыдолам.

Распрацавана метадыка вызначэння палімарфізму Val66Met гену *BDNF*, заснаваная на прынцыпе метаду ПДРФ, якая можа быць выкарыстаная ў далейшым для генатыпавання ДНК з мэтай выяўлення размеркавання частот алелей і генатыпаў у пэўнай папуляцыі, знаходжаньня сувязі з тым ці другім псіхічным разладам, ажыццяўлення фармакагеномных даследаванняў.

Вобласць выкарыстання вынікаў даследавання: фармакагеноміка, псіхафармакалогія, медыцына.

Abstract

Graduate work, 64 pages, 14 drawings, 10 tables, 56 sources.

POLYMORPHISM Cys23Ser, SEROTONIN RECEPTOR 5-HT_{2C}, POLYMORPHISM Val66Met, BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR, SCHIZOPHRENIA, ANTIPSYCHOTICS.

Objective: development of methods for detecting of the Cys23Ser polymorphism of the *HTR2C* gene and Val66Met polymorphism of the *BDNF* gene, applying the developed Cys23Ser detection technique to determine the possible association of this polymorphism with the pathogenesis of schizophrenia, and the efficacy of drug treatment with antipsychotics (clozapine, haloperidol).

Methods: molecular-biological, PCR-RFLP, statistical.

A method for detecting Cys23Ser polymorphism of the *HTR2C* gene was developed, based on the principle of the RFLP method. 163 genotypes were identified, 97 of them were healthy volunteers (control group), 66 were patients with schizophrenia. The allele frequencies of Cys23Ser polymorphism in the control and patient group were 78 % allele G, 22% allele C and 80 % allele G, 20 % allele C, respectively. Certain allele frequencies correspond to frequencies in the European population ($p = 0,275$ and $p = 0,457$, respectively). The distribution of genotype frequencies in the group of patients and the control group without regard for gender ($p = 0,771$) and in stratified analysis (men and women separately, $p = 0,176$ and $p = 0,342$, respectively) do not differ statistically.

There was no association of Cys23Ser polymorphism with a response to treatment with clozapine. There is a tendency to link the G-allele with a lack of response to clozapine in men ($p = 0,083$). In the group of women, the G-allele was significantly interrelated ($p = 0,05$) with no response and the appearance of side effects in the treatment with haloperidol.

A methodology for detecting Val66Met polymorphism of the *BDNF* gene based on the principle of the RFLP method has been developed. It can be used for DNA genotyping in order to determine the frequency distribution of alleles and genotypes in a specific population, to identify the connection with a particular psychiatric disorder, and to carry out pharmacogenomic studies.

Scope survey results: pharmacogenomics, psychopharmacology, medicine.