

РОЛЬ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ОКСИТОЦИНА (OXTR) В РАЗВИТИИ АГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ У ЗДОРОВЫХ ИНДИВИДОВ

© 2020 г. Ю. Д. Давыдова^{1, *}, А. В. Казанцева¹, Р. Ф. Еникеева¹, Р. Н. Мустафин²,
М. М. Лобаскова³, С. Б. Малых³, И. Р. Гилязова^{1, 2}, Э. К. Хуснутдинова^{1, 2}

¹Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра
Российской академии наук, Уфа, 450054 Россия

²Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, 450008 Россия

³Психологический институт Российской академии образования, Москва, 125009 Россия

*e-mail: julia.dmitrievna@list.ru

Поступила в редакцию 04.10.2019 г.

После доработки 17.12.2019 г.

Принята к публикации 14.01.2020 г.

Одним из ключевых элементов регуляции социального и агрессивного поведения является окситоцин, действие которого контролируется одноименным рецептором (OXTR). Учитывая многофакторную природу формирования агрессивности, дана оценка основных эффектов полиморфных локусов гена OXTR (*rs53576*, *rs237911*, *rs7632287*, *rs2254298*, *rs2228485*, *rs13316193*), а также эффекта гаплотипов и ген-средовых взаимодействий на фенотипические вариации агрессивности у 623 психически здоровых индивидов с учетом половой и этнической принадлежности. Была обнаружена ассоциация аллелей *rs2228485*G* ($P_{FDR} = 0.046$) и *rs237911*G* ($P_{FDR} = 0.046$) с пониженным уровнем агрессивности в группе индивидов татарской этнической принадлежности. Гаплотипический анализ выявил ассоциацию гаплотипа *G*G*G* (на основе полиморфных локусов *rs53576*, *rs2228485* и *rs237911*) с пониженным уровнем агрессивности ($P_{perm} = 0.020$) у татар. В результате множественного регрессионного анализа был выявлен значимый модулирующий эффект таких средовых факторов, как “табакокурение” и “уровень отцовской опеки”, в случае ассоциации полиморфного локуса *rs2228485* с уровнем агрессивности в общей выборке ($P = 0.029$ и $P = 0.014$ соответственно).

Ключевые слова: агрессивное поведение, ген-средовые взаимодействия, окситоцин, анализ ассоциаций, гаплотип.

DOI: 10.31857/S0016675820090052

Изучение агрессивного поведения (АП) человека как составной части психического здоровья приобретает сегодня все большую актуальность, что обусловлено его серьезными деструктивными последствиями для общества и широким кругом отдельных проявлений агрессии. АП — это комплексный признак, который подразумевает действия, нацеленные на причинение морального, физического или иного ущерба другому существу или объекту, а также самому себе (аутоагрессия) [1]. Согласно данным службы Росстат за 2018 г. в РФ от преступных посягательств различного характера пострадало около 1.5 млн человек (в том числе получили тяжкий вред здоровью — 40 тыс. индивидов, погибли — 26 тыс.) [2] и подобная картина экстраполируется на большинство стран мира [3]. Наряду с существованием клинических форм АП опасность представляет и излишняя агрессивность, варьирующая в пределах нормы

реакции, которая может выражаться в приступах агрессии в повседневной жизни.

Многофакторная природа, лежащая в основе этиопатогенеза АП, предполагает вовлеченность как генетического, так и средового компонента. Согласно результатам близнецовых исследований, коэффициент наследуемости агрессии составляет около 50% [4]. Наряду с участием генов моноаминергических систем, семейства нейротрофинов и нейронального апоптоза [5] в регуляцию АП на генном уровне вовлечена гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система (ГГНС). Важная роль в регуляции этой системы принадлежит окситоцину — половому гормону и нейромедиатору, который синтезируется в магноцеллюлярных нейронах паравентрикулярных и супраоптических ядер гипоталамуса, а также в многочисленных нейронах центральной нервной системы (ЦНС). Окситоцин участвует в контроле различных функций организ-

ма, направленных на сохранение вида, включая реализацию просоциального поведения и стрессового ответа [6, 7]. Нарушения в работе окситоцинергической системы были продемонстрированы на модельных животных с излишне агрессивным поведением [7], а снижение концентрации окситоцина в ЦНС являлось предиктором агрессивного поведения у человека [6]. Кроме того, снижение уровня гиперагрессивности наблюдалось у мышей в ответ на введение им окситоцина и антагониста рецептора окситоцина (OXTR) [8], который определяет уровень активности окситоцина и прежде всего зависит от его взаимодействия с соответствующим рецептором, кодируемым геном *OXTR*.

Ассоциативные исследования также указывают на взаимосвязь риска развития антисоциального и агрессивного поведения с полиморфными вариантами гена *OXTR* (3p25.3) [9, 10]. Одним из наиболее изучаемых полиморфных локусов в гене *OXTR* является *rs53576* в 3-м интроне, который был ассоциирован с различными формами социального поведения [11], расстройствами аутистического спектра (РАС) [11], важными характеристиками которого являются дефицит социальной активности и агрессивное поведение. Ранее сообщалось об ассоциации вариантов *rs2254298* в 3-м интроне, *rs7632287* в 3'-некодирующей области с социальным поведением [11], *rs237911* в промоторном регионе и *rs2228485* (*p.Asn57*) в 3-м экзоне гена *OXTR* с риском развития антисоциальных действий [9, 10]. Ранее при изучении АП у мужчин, совершивших какие-либо антисоциальные действия, был проведен анализ ассоциаций нескольких полиморфных локусов в гене *OXTR* в клинических формах АП [10], однако оценки вариантов гена *OXTR* в отношении индивидуальных вариаций в уровне агрессивности у психически здоровых индивидов с учетом социальных факторов ранее не проводилось.

Известно, что ряд средовых факторов может выступать в качестве триггера для развития излишней агрессивности посредством механизмов эпигенетической регуляции. Результаты близнецовых исследований свидетельствуют о том, что проявление фенотипа, связанного с расстройством поведения, варьируется в зависимости от места проживания в городских или сельских районах, от характера детско-родительских взаимоотношений, наличия хронических заболеваний и аддикций, а также этнической и половой принадлежности индивида, что может быть обусловлено различиями в деятельности нервной и эндокринной систем, а также в транскрипционных профилях генов мужчин и женщин [12]. Интересными представляются данные, сообщаемые о влиянии психопатологии матери, девиантного поведения у близкого окружения [13] и употребления психоактивных веществ в период внутриутробного развития на эпигенетический статус индивида и, как следствие, на уровень экс-

прессии гена *OXTR*, манифестацию проблемного поведения в детстве и развитие АП уже в более позднем возрасте [14]. С целью хорошего покрытия гена *OXTR* и учитывая лучшую прогностическую силу гаплотипического анализа, в настоящем исследовании было проведено генотипирование шести полиморфных вариантов гена *OXTR*. Таким образом, целью данного исследования является оценка основного эффекта полиморфных локусов гена *OXTR* (*rs53576*, *rs237911*, *rs7632287*, *rs2254298*, *rs2228485*, *rs1331619*), а также эффекта гаплотипов и ген-средовых ($G \times E$, Gene \times Environment interaction) взаимодействий в развитии АП у здоровых индивидов в возрасте 17–25 лет с учетом социо-демографических параметров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 623 здоровых индивида (81.11% женщин) – студенты ВУЗов Республики Башкортостан и Удмуртской Республики (средний возраст 19.53 ± 1.75 лет), из них: русских – 225, удмуртов – 218, татар – 141, индивидов смешанной этнической принадлежности – 39. Все индивиды, включенные в исследование, не состояли на учете у психиатра и нарколога и отрицали у себя отягощенную наследственность по психическим заболеваниям. Участники исследования прошли психологическое тестирование и анкетирование, идентифицирующее национальную принадлежность до трех поколений, а также ряд вопросов социального характера, включая особенности детско-родительских отношений (стиль родительского воспитания, эпизоды плохого обращения в детстве, воспитание в полной/неполной семье), уровень доходов семьи, возраст матери и отца при рождении ребенка, место воспитания (городская/сельская местность), число детей в семье и порядок рождения, наличие у респондентов и их близких родственников хронических заболеваний и табакокурения.

Для оценки уровня агрессивности была использована русскоязычная версия опросника уровня агрессивности Басса-Перри (Buss-Perry Aggression Questionnaire, BPAQ-29), состоящего из 29 вопросов. В качестве материала для молекулярно-генетического исследования послужили образцы ДНК, выделенные из лимфоцитов периферической крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфных локусов гена *OXTR* (*rs53576*, *rs237911*, *rs7632287*, *rs2254298*, *rs2228485*, *rs13316193*) проводили методом ПЦР с флуоресцентной детекцией (FLASH/RTAS, ФГУП “ГосНИИгенетика”, Москва) на амплификаторе “CFX96” (BioRad, США) с возможностью проведения анализа флуоресценции по конечной точке.

Проверка на подчинение количественных данных нормальному распределению (распреде-

лению Гаусса) проводилась с помощью *W*-теста Шапиро–Уилка ($P > 0.05$). Для выявления взаимосвязи между средовыми параметрами и уровнем агрессивности были использованы непараметрические методы оценки (тест Манна–Уитни). Оценка основного эффекта полиморфных локусов, эффекта гаплотипов в вариациях уровня агрессивности проводилась с помощью линейного регрессионного анализа с использованием различных статистических моделей (аддитивной, доминантной, рецессивной) в программе PLINK v.1.07. В качестве независимых переменных в $G \times E$ -анализе выступали генотипы и средовые факторы, а в качестве зависимой переменной – уровень агрессивности. Гаплотипические блоки были сконструированы на основе метода доверительных интервалов. Оценка неравновесия по сцеплению между маркерами была проведена с использованием программы Haploview 4.2. В случае выявления статистически значимой модели $G \times E$ взаимодействие нами был проведен множественный регрессионный анализ с включением половой и этнической принадлежности в качестве ковариаты (STATA 11.0). Для коррекции на множественность сравнений была осуществлена процедура FDR (False Discovery Rate) или использован метод перестановок (10000 permutation) при гаплотипическом анализе (PLINK v.1.07).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе выполненного исследования был проведен анализ полиморфных локусов гена *OXTR* (*rs53576*, *rs237911*, *rs7632287*, *rs2254298*, *rs2228485*, *rs13316193*) и проведена оценка их вовлеченности в вариации уровня агрессивности у индивидов без клинической картины психических нарушений в зависимости от ряда социальных факторов с учетом половой и этнической принадлежности. Результаты оценки распределения частот аллелей и генотипов полиморфных локусов гена *OXTR* соответствовали распределению Харди–Вайнберга ($P = 1.000$ для *rs53576*, $P = 0.559$ для *rs237911*, $P = 1.000$ для *rs7632287*, $P = 0.299$ для *rs2254298* и $P = 0.147$ для *rs2228485*), кроме *rs13316193* ($P < 0.005$). Значения показателей уровня агрессивности в изученной выборке подчинялись закону нормального распределения Гаусса ($P = 0.200$). В связи с отсутствием статистически значимых различий в распределении частот аллелей и генотипов изученных локусов между индивидами различной этнической и половой принадлежности ($P > 0.05$) анализ ассоциаций был проведен как в общей выборке, так и в отдельных этнических группах, а также среди мужчин и женщин.

Характеристика изученной выборки с учетом различий в уровне агрессивности по каждому из средовых параметров показана в табл. 1. В ходе анализа были выявлены различия в средних зна-

чениях показателя агрессивности в зависимости от этнической принадлежности ($P < 0.001$), порядка рождения ($P = 0.029$), числа детей в семье ($P = 0.031$), наличия случаев жесткого обращения в детстве ($P = 0.001$), табакокурения ($P = 0.022$), уровня материнской заботы ($P = 0.001$) и опеки ($P < 0.001$). Для оценки влияния возраста индивидов, веса при рождении (1500–4950 г) и возраста матери при рождении (16–44 лет) на показатель агрессии был проведен линейный регрессионный анализ с включением этих средовых факторов в качестве независимых переменных, а уровня агрессивности – в качестве зависимой переменной. В ходе анализа не было выявлено статистически значимых моделей регрессии с включением этих факторов: возраста (19.45 ± 1.48 лет; $\beta = -0.353$; $P = 0.462$), веса при рождении (3381 ± 533 г; $P = 0.932$), возраста матери при рождении (25.61 ± 5.43 ; $\beta = -0.191$; $P = 0.183$).

В результате линейного регрессионного анализа после FDR-коррекции была выявлена ассоциация минорных аллелей локусов *rs2228485* ($\beta = -8.412$; $P = 0.014$; $P_{FDR} = 0.046$) и *rs237911* ($\beta = -8.771$; $P = 0.015$; $P_{FDR} = 0.046$) с пониженным уровнем агрессивности в группе индивидов татарской этнической принадлежности в доминантной статистической модели (*G/G + G/A vs. A/A*) (табл. 2). При анализе аддитивного (*G/G vs. G/A vs. A/A*) и рецессивного (*G/G vs. G/A + A/A*) эффектов минорного аллеля *rs2228485*G* была обнаружена ассоциация с пониженными показателями агрессивности как в общей выборке ($\beta = -4.538$; $P = 0.011$; $P_{FDR} = 0.065$ и $\beta = -8.569$; $P = 0.015$; $P_{FDR} = 0.091$ соответственно), так и в группе женщин ($\beta = -4.322$; $P = 0.040$; $P_{FDR} = 0.240$ и $\beta = -8.228$; $P = 0.049$; $P_{FDR} = 0.243$ соответственно), однако данные ассоциации не достигли уровня статистической значимости после FDR коррекции ($P_{FDR} > 0.05$).

Учитывая половой диморфизм в отношении уровня рецептора окситоцина и необходимость включения половой принадлежности в модель множественной регрессии наряду с анализируемыми независимыми переменными, нами был проведен анализ ген-средовых взаимодействий, оценивающий, наряду с полиморфными локусами в гене *OXTR*, эффект 21 социального фактора. Было обнаружено, что “табакокурение” ($\beta = -10.38$; $r^2 = 0.020$; $P = 0.029$) и “отцовская опека” ($\beta = 7.985$; $r^2 = 0.020$; $P = 0.014$) модулируют ассоциацию локуса *rs2228485* с уровнем агрессивности (рис. 1). Дальнейший однофакторный дисперсионный анализ позволил выявить, что среди курящих носителей мажорного генотипа *rs2228485*A/A* наблюдались более высокие средние значения в уровне агрессивности по сравнению с некурящими индивидами ($P = 0.021$). Кроме того, у носителей аллеля *rs2228485*G*, воспитывавшихся в условиях сильной опеки со стороны отца, отмечалось

Таблица 1. Характеристика изученной выборки с учетом социальных факторов, средний уровень агрессивности в каждой группе и тест Манна–Уитни между группами

Параметр	<i>N</i> (%) ^a	Ср. знач. ± CO ^b	Тест Манна–Уитни (<i>P</i>) ^c
Пол			
мужчины	117 (18.89)	75.91 ± 16.64	0.923
женщины	504 (81.11)	75.76 ± 17.86	
Этническая принадлежность			
русские	225 (36.11)	77.37 ± 18.01	0.086
татары	141 (22.63)	71.72 ± 18.67	0.001
удмурты	218 (35.00)	76.22 ± 15.42	0.412
метисы	39 (6.26)	78.03 ± 21.39	0.703
Место воспитания			
городская местность	329 (52.81)	74.29 ± 17.55	0.642
сельская местность	294 (47.19)	75.11 ± 17.51	
Порядок рождения			
1-й	367 (58.91)	74.93 ± 17.69	0.905
2-й	195 (31.30)	76.39 ± 17.25	0.127
>3	61 (9.79)	69.23 ± 17.38	0.029
Число детей в семье			
1	130 (20.87)	77.33 ± 18.45	0.087
2	302 (48.47)	73.82 ± 16.47	0.553
>3	191 (30.66)	69.88 ± 18.56	0.031
Уровень дохода			
ниже среднего	78 (12.52)	76.74 ± 17.41	0.416
средний	503 (80.74)	74.44 ± 17.89	0.277
выше среднего	42 (6.74)	76.20 ± 14.65	0.525
Состав семьи			
полная семья	510 (81.86)	74.7 ± 17.33	0.709
неполная семья	113 (18.14)	75.16 ± 18.72	
Жестокое обращение в детстве			
да	81 (13.00)	81.39 ± 15.06	0.001
нет	542 (87.00)	72.99 ± 17.92	
Билингвизм			
да	326 (52.33)	72.40 ± 17.95	0.193
нет	297 (47.67)	74.78 ± 16.95	
Наличие хронических заболеваний			
да	172 (27.61)	76.52 ± 16.99	0.058
нет	451 (72.39)	73.36 ± 17.97	
Табакокурение			
да	42 (6.74)	74.48 ± 17.37	0.133
ранее	58 (9.31)	78.92 ± 16.84	0.113
никогда	523 (83.95)	73.98 ± 17.38	0.022

Таблица 1. Окончание

Параметр	<i>N</i> (%) ^a	Ср. знач. ± СО ^b	Тест Манна–Уитни (<i>P</i>) ^c
Уровень материнской заботы			
высокий	452 (72.55)	72.90 ± 17.83	0.001
низкий	171 (27.45)	79.32 ± 17.40	
Уровень материнской опеки			
высокий	361 (57.95)	77.50 ± 17.50	<0.001
низкий	262 (42.05)	70.76 ± 17.81	
Уровень отцовской заботы			
высокий	331 (53.13)	75.09 ± 17.84	0.641
низкий	292 (46.87)	74.16 ± 17.99	
Уровень отцовской опеки			
высокий	282 (45.27)	75.46 ± 18.41	0.854
низкий	341 (54.73)	74.03 ± 17.47	

Примечание. ^a – число проанализированных индивидов; ^b – среднее значение уровня агрессивности ± стандартное отклонение; ^c – тест Манна–Уитни (*P*-value) для выявления различий в средних значениях уровня агрессивности между группами. В случае наличия более двух групп категориальных переменных было проведено создание фиктивных переменных (dummy variables).

статистически значимое повышение уровня агрессивности по сравнению с низко-опекаемыми индивидами (*P* = 0.020) (рис. 1).

В ходе анализа было обнаружено неравновесие по сцеплению между маркерами *rs53576*, *rs2228485*, *rs237911* во всех исследуемых группах (*D'* > 0.720), которые сформировали один гаплотипический блок (рис. 2). Частоты гаплотипов во всех изученных группах указаны на рис. 2. В результате регрессионного анализа гаплотипов была обнаружена ассоциация гаплотипа **G***G***G* (на основании локусов *rs53576*, *rs2228485*, *rs237911* соответственно) с пониженным уровнем агрессивности в группе индивидов татарской этнической принадлежности (β = -9.761; *P* = 0.003; *P*_{perm} = 0.020). Кроме того, была выявлена тенденция к повышению уровня агрессии у мужчин с гаплотипом **G***A***A* (β = 4.964; *P* = 0.027; *P*_{perm} = 0.160).

ОБСУЖДЕНИЕ

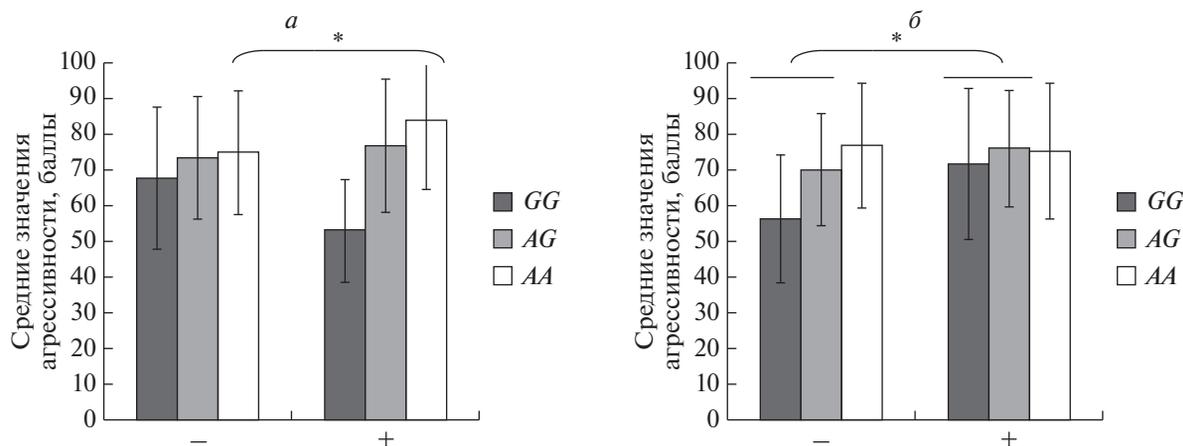
В настоящей работе был выявлен этно-специфичный характер ассоциации полиморфных локусов *rs2228485* и *rs237911* в гене *OXTR* с уровнем агрессивности у психически здоровых индивидов. Функциональные исследования гена *OXTR* у нокаутированных мышей указывают на увеличение у них уровня агрессивности [15]. Молекулярно-генетические исследования, посвященные изучению гена *OXTR* у человека, также свидетельствуют об его участии в регуляции нейробиологических процессов, в том числе лежащих в основе

АП. Изученные в настоящей работе полиморфные локусы *rs2228485* (*c.171C>T*, *p.Asn57*) и *rs237911* (*c.-135C>T*) не приводят к аминокислотной замене, и их функциональная значимость остается еще не до конца изученной. На сегодняшний день опубликовано лишь одно исследование, вовлекающее данные локусы в развитие АП. Так, генотип *rs2228485***G*/*G* ранее был ассоциирован с пониженным, а аллель *rs237911***A* – с повышенным риском развития АП у мужчин с психическими расстройствами татарской этнической принадлежности [10]. Данные результаты согласуются с выявленным характером ассоциаций минорных аллелей *rs2228485***G* и *rs237911***G*, продемонстрированным в нашей работе, с пониженным уровнем агрессивности у здоровых индивидов в татарской этнической группе, а также на уровне тенденции в общей группе и у женщин (*P* < 0.05; *P*_{FDR} > 0.05). На основании этого можно предположить, что аллели *rs2228485***G* и *rs237911***G* являются маркерами пониженного риска развития АП у индивидов татарской этнической принадлежности вне зависимости от наличия психических расстройств, однако существует ряд потенциальных социо-демографических параметров, оказывающих модулирующий эффект на ассоциацию локусов с уровнем агрессивности. Среди них – табакокурение и уровень отцовской опеки, детерминирующие вариации уровня агрессивности. В первом случае различия в уровне агрессивности наблюдались в зависимости от наличия или отсутствия табакокурения только при наличии генотипа *rs2228485***A*/*A*, носители которого в среднем харак-

Таблица 2. Результаты линейного регрессионного анализа ассоциации полиморфных локусов гена OXTR с показателями агрессивности

Группа	Модель	№ ^a	rs237911			rs2228485			rs53576			rs7632287			rs2254298		
			G/A ^b			G/A			A/G			G/A			G/A		
			β^c	P^d	P_{FDR}^e	β	P	P_{FDR}	β	P	P_{FDR}	β	P	P_{FDR}	β	P	P_{FDR}
Общая выборка	ADD	623	-3.987	0.060	0.180	-4.538	0.011	0.065	0.543	0.592	0.710	-1.938	0.286	0.573	-4.761	0.446	0.670
	DOM		-0.998	0.519	0.731	-2.633	0.080	0.482	0.983	0.528	0.731	0.640	0.664	0.731	-1.410	0.459	0.731
	REC		-7.905	0.061	0.182	-8.569	0.015	0.091	0.492	0.777	0.920	-4.280	0.234	0.469	-9.317	0.456	0.684
Женщины	ADD	506	-4.977	0.082	0.247	-4.322	0.040	0.240	1.129	0.282	0.563	-0.745	0.738	0.762	-4.874	0.441	0.662
	DOM		-0.685	0.699	0.838	-2.315	0.177	0.358	2.348	0.179	0.358	1.091	0.512	0.768	-3.108	0.156	0.358
	REC		-9.957	0.081	0.243	-8.228	0.049	0.243	1.026	0.605	0.660	-1.943	0.659	0.660	-9.297	0.463	0.660
Мужчины	ADD	117	-2.99	0.338	0.406	-5.304	0.109	0.396	-2.449	0.253	0.406	-4.697	0.132	0.396	- ^f	-	1
	DOM		-2.241	0.485	0.818	-3.965	0.209	0.485	-5.162	0.135	0.485	-1.142	0.695	0.818	4.469	0.242	0.485
	REC		-5.534	0.366	0.582	-9.625	0.139	0.418	-1.525	0.670	0.805	-9.560	0.117	0.416	-	-	1
Русские	ADD	225	-1.905	0.643	0.686	-5.556	0.139	0.418	1.388	0.445	0.667	-3.043	0.261	0.522	-13.70	0.130	0.418
	DOM		-0.113	0.965	0.965	-3.438	0.170	0.812	2.491	0.316	0.812	0.873	0.733	0.965	-0.156	0.982	0.965
	REC		-3.859	0.637	0.794	-10.14	0.174	0.417	1.453	0.662	0.794	-6.732	0.208	0.417	-27.50	0.128	0.417
Удмурты	ADD	218	-1.85	0.509	1	-1.270	0.651	1	0.531	0.727	1	0.962	0.733	1	-	-	1
	DOM		1.381	0.550	0.87	1.770	0.432	0.870	0.471	0.844	0.870	0.946	0.655	0.87	-2.832	0.381	0.870
	REC		-4.256	0.445	1	-3.218	0.563	1	0.914	0.718	1	1.583	0.776	1	-	-	1
Татары	ADD	141	-7.332	0.119	0.359	-5.172	0.092	0.359	1.466	0.508	0.676	-1.582	0.742	0.742	5.460	0.563	0.676
	DOM		-8.771	0.015	0.046	-8.412	0.014	0.046	3.090	0.375	0.562	0.170	0.959	0.959	-1.795	0.651	0.781
	REC		-12.84	0.176	0.528	-8.423	0.170	0.528	0.969	0.798	0.798	-3.316	0.728	0.798	11.36	0.546	0.798

Примечание. ^a – число проанализированных индивидов; ^b – минорный/мажорный аллель; ^c – коэффициент регрессии; ^d – P -value; ^e – P -value после FDR-коррекции; ^f – невозможность проведения статистического анализа в связи с малочисленностью групп. Статистически значимые различия (до или после FDR-коррекции) выделены полужирным шрифтом. Указаны данные, полученные в аддитивной (ADD), доминантной (DOM) и рецессивной (REC) статистических моделях.



Переменные в линейной регрессионной модели	β	P
<i>rs2228485</i>	-2.18	0.13
Статус курения	10.17	0.008
Пол	0.074	0.97
Этнос (татары)	-4.774	0.012
Этнос (русские)	-1.126	0.529
<i>rs2228485</i> * “статус курения”	-10.38	0.029

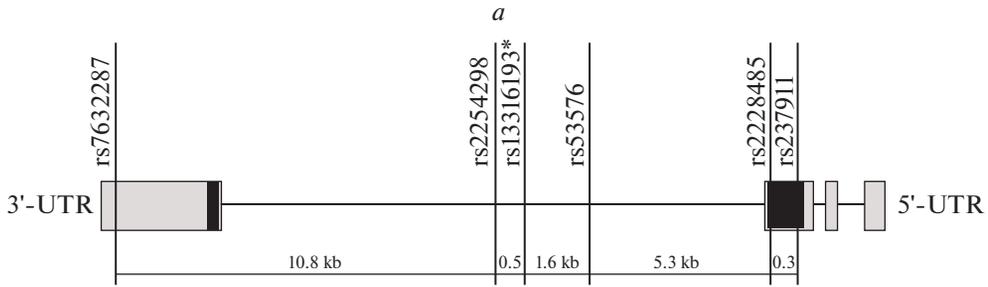
Переменные в линейной регрессионной модели	β	P
<i>rs2228485</i>	-16.29	0.001
Уровень отцовской опеки	-1.507	0.546
Пол	-2.378	0.528
Этнос (татары)	3.04	0.312
Этнос (русские)	-1.362	0.174
<i>rs2228485</i> * “уровень отцовской опеки”	7.985	0.014

Рис. 1. Множественный линейный регрессионный анализ, модулирующий эффект ген-средовых взаимодействий – *rs2228485** “статус курения” (а), *rs2228485** “уровень отцовской опеки” (б) – на индивидуальные различия в уровне агрессивности с включением половой и этнической принадлежности в качестве ковариат. Знаки “-” и “+” указывают отсутствие (-) или наличие (+) табакокурения (а), низкий (-) или высокий (+) уровень отцовской опеки (б). На графиках показаны средние значения уровня агрессивности в зависимости от генотипа локуса *rs2228485* и стандартные отклонения средних значений. Дугой отмечены группы сравнения в однофакторном дисперсионном анализе. Указаны переменные, входившие в регрессионную модель. β – коэффициент регрессии; P – уровень значимости (P -value). * $P < 0.05$.

теризуются более высоким уровнем агрессии по сравнению с носителями других генотипов. Таким образом, можно предположить, что генетически детерминированный высокий уровень агрессии (у индивидов с генотипом *rs2228485**A/A) будет статистически значимо выше у курящих по сравнению с некурящими индивидами. Из литературных источников известно о влиянии табакокурения на индивидуальные изменения, выражающиеся в увеличении агрессивности, даже в случае пассивного курения [16]; в частности, за счет воздействия никотина на эпигенетический профиль индивидов [17]. Во втором случае были детектированы различия в уровне агрессивности только среди носителей высокого аллеля *rs2228485**G; при этом более высокие значения по шкале агрессии наблюдались у индивидов, которые воспитывались в семьях с высоким уровнем отцовской опеки, по сравнению с низко-опекаемыми индивидами. Согласно опубликованным данным, уровень от-

цовской опеки также прямо коррелировал с уровнем социальной агрессии [18], что согласуется с полученными нами результатами.

Несмотря на отсутствие исследований по функциональной значимости полиморфного локуса *rs2228485* (с.171C>T, р.Asn57), его локализация в одном из CpG островков (согласно Methyl Primer Express Software v. 1.0, Applied Biosystems) промоторного региона гена может указывать на потенциальное участие в тонкой регуляции экспрессии гена вследствие аллель-специфичного дифференциального метилирования. Кроме того, большое количество генов перекрываются с другими генами и некодирующими РНК, транскрибируемыми в обратном направлении. В частности, ранее нами был изучен полиморфный локус *Taq1A* (*rs1800497*) в гене рецептора D2 дофамина (*DRD2*), который фактически находится в перекрывающемся с ним гене *ANKK1*, и была выявлена вовлеченность этого полиморфного варианта в

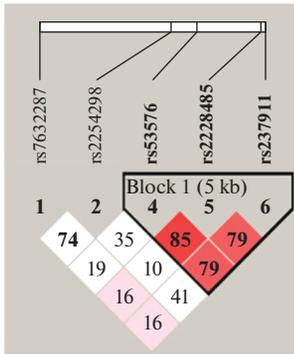


б

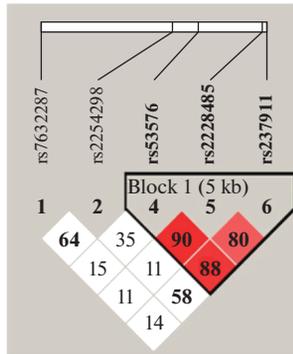
<i>I</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	Freq	$P(P_{perm})$
(1)	A	A	0.438	0.413
(2)	G	A	0.348	0.461
(3)	G	G	0.130	0.109
(4)	G	G	0.044	0.371
(5)	G	A	0.017	0.430
(6)	A	A	0.011	0.282
(7)	A	G	—	—

<i>I</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	Freq	$P(P_{perm})$
(1)	A	A	0.439	0.141
(2)	G	A	0.359	0.831
(3)	G	G	0.126	0.257
(4)	G	G	0.044	0.459
(5)	G	A	0.017	0.701
(6)	A	A	—	—
(7)	A	G	—	—

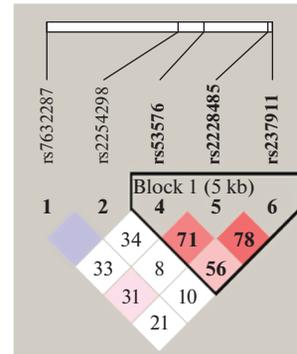
<i>I</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	Freq	$P(P_{perm})$
(1)	A	A	0.431	0.226
(2)	G	A	0.302	0.027(0.16)
(3)	G	G	0.152	0.154
(4)	G	G	0.042	0.786
(5)	G	A	0.016	0.347
(6)	A	A	0.024	0.243
(7)	A	G	0.025	0.291



Общая выборка

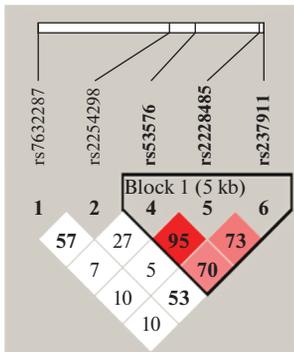


Женщины



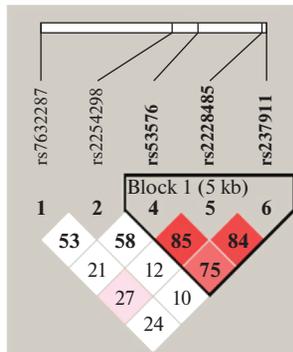
Мужчины

<i>I</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	Freq	$P(P_{perm})$
(1)	A	A	0.370	0.410
(2)	G	A	0.399	0.829
(3)	G	G	0.134	0.629
(4)	G	G	0.056	0.059
(5)	G	A	0.022	0.805
(6)	A	A	0.015	0.352
(7)	A	G	—	—



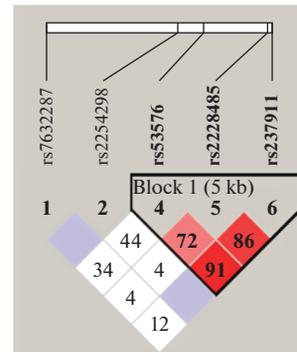
Русские

<i>I</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	Freq	$P(P_{perm})$
(1)	A	A	0.493	0.819
(2)	G	A	0.309	0.866
(3)	G	G	0.131	0.697
(4)	G	G	0.032	0.569
(5)	G	A	—	—
(6)	A	A	0.012	0.921
(7)	A	G	0.010	0.569



Удмурты

<i>I</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	Freq	$P(P_{perm})$
(1)	A	A	0.447	0.222
(2)	G	A	0.354	0.484
(3)	G	G	0.118	0.003 (0.02)
(4)	G	G	0.042	0.377
(5)	G	A	0.015	0.529
(6)	A	A	—	—
(7)	A	G	—	—



Татары

формирование различий в уровне эмоциональной неустойчивости [19]. Исследованный в настоящей работе локус *rs2228485* в гене *OXTR* в то же время локализован в последовательности гена кавеолина 3 (*CAV3*), кодирующего одноименный белок и некодирующую РНК (нкРНК) и вовлеченного в транспорт рецептора другого полового гормона — эстрогена (ER) к клеточной мембране [20]. Кавеолин 3 относится к вспомогательным белкам, участвующим в функционировании активируемых поляризацией циклических нуклеотидных ионных каналов. Последние регулируют тонкую настройку нейрональной возбудимости, а нарушения в их функционировании могут быть связаны с развитием психопатологий [21].

К настоящему времени наиболее изученным из всех полиморфных локусов в гене *OXTR*, несмотря на его расположение в интронной области (рис. 2), является *rs53576*. Тем не менее аллель *rs53576*G* связывают с увеличением транскрипции гена *OXTR* и, следовательно, с повышенной чувствительностью рецептора к окситоцину [22]. Ранее он был широко изучен при ряде психопатологий (шизофрения, биполярное расстройство, депрессия и СП) и особенностях социального поведения [11, 22]. Учитывая отрицательную корреляцию, обнаруженную между уровнем окситоцина в спинномозговой жидкости, историей попыток самоубийства и АП у пациентов в одном из исследований [23], предполагается, что повышенная экспрессия гена *OXTR*, связанная с аллелем *rs53576*G*, может служить маркером пониженного риска развития АП ввиду компенсации низкого уровня окситоцина [22]. Несмотря на то что нами не было выявлено ассоциации локуса *rs53576* с различиями в уровне агрессивности, этот локус был связан с пониженными показателями в составе гаплотипа (**G*G*G* по локусам *rs53576*, *rs2228485*, *rs237911*), продемонстрированными в группе татар, что согласуется с опубликованными ранее работами [10, 22, 23]. Одним из возможных механизмов регуляции уровня экспрессии гена *OXTR* может являться аллель-зависимое метилирование гена *OXTR*, дифференциальные уровни которого связаны с вариантами локуса *rs53576*. В частности, выявлено, что у гомозигот *rs53576*G/G* уровень метилирования вто-

рого экзона гена *OXTR* значительно ниже по сравнению с носителями аллеля *rs53576*A* [24], что соответствует обратной корреляции уровня метилирования и генной экспрессии.

Предполагается, что изученный в настоящей работе полиморфный локус *rs7632287* является функциональным, поскольку располагается в сайте связывания с транскрипционными факторами COUP-TF (при наличии аллеля *rs7632287*A*) и N-MYC, ARNT, USF (при наличии аллеля *rs7632287*G*), однако вопрос о характере воздействия на уровень экспрессии гена *OXTR* остается открытым [25]. Несмотря на опубликованные ранее данные об ассоциации аллеля *rs7632287*A* с АП в группе юношей [9], а также у мужчин независимо от наличия психических расстройств [10], в настоящей работе не было выявлено ассоциации этого локуса с вариациями в уровне агрессивности. Схожие результаты были отмечены в исследовании Johansson с соавт. [26], которые также не обнаружили ассоциации локуса *rs7632287* с риском развития АП у мужчин.

Существующие к настоящему времени данные свидетельствуют о вовлеченности полиморфного локуса *rs2254298*, локализованного в 3-м интроне, в регуляцию процессов, связанных с социальными функциями [9, 11]. Ранее было показано, что аллель *rs2254298*A* ассоциирован с тяжелым социальным дефицитом при РАС и менее тяжкими социальными нарушениями при СДВГ [11], в то время как носители аллеля *rs2254298*G* характеризовались повышенным риском развития АП при наличии психопатологий [10]. В нашем исследовании не было выявлено ассоциации полиморфного локуса *rs2254298* с вариациями в уровне агрессивности, что может быть обусловлено различиями между исследуемыми выборками, поскольку участники данного исследования не включали клинические формы агрессивного поведения.

В результате настоящего исследования впервые установлена этнически опосредованная вовлеченность гена *OXTR* (на основе полиморфных локусов *rs53576*, *rs2228485*, *rs237911*) в вариации индивидуального уровня агрессивности у психически здоровых индивидов, что согласует-

Рис. 2. Расположение изученных полиморфных локусов в гене *OXTR*, частоты гаплотипов, сконструированных на основе полиморфных локусов *rs53576*, *rs2228485*, *rs237911*, и результаты линейного регрессионного анализа гаплотипов в исследуемых группах. *a* — схематичная структура гена *OXTR*, расположение изученных полиморфных локусов и расстояние между ними (в kb). * — исключенный из анализа локус в связи с его отклонением от равновесия Харди—Вайнберга. UTR — нетранслируемый регион гена (Untranslated Region). *b* — частоты гаплотипов в каждой из изученных групп (в общей выборке, у женщин, мужчин, индивидов русской, татарской, удмуртской этнических принадлежностей). 1 — *rs53576*, 2 — *rs2228485*, 3 — *rs237911*. Freq — частота гаплотипа (frequency). *P* (P_{perm}) — уровень значимости (*P*-value) до и после теста перестановок (значение приведено только для гаплотипов, ассоциированных с уровнем агрессивности). Прочерком отмечены результаты анализа гаплотипов с частотой менее 0.01. Статистически значимые различия (до или после теста 10000 permutation) выделены полужирным шрифтом. (1)–(7) — последовательные номера гаплотипов. Сконструированы гаплотипические блоки (выделены треугольниками) в изученных группах на основании показателя Левонтина (*D'*) в программе Haploview v.4.2.

ся с ранее опубликованным этно-специфичным характером ассоциаций генов-кандидатов с индивидуальными личностными характеристиками [27]. Кроме того, выявлен модулирующий эффект табакокурения и уровня отцовской опеки при анализе ассоциации варианта *rs2228485* гена *OXTR* с изученным личностным конструктом.

Несмотря на ряд преимуществ данной работы (гомогенность выборки по возрасту и уровню образования, анализ нескольких полиморфных локусов в одном гене, учет достаточного числа социодемографических параметров, которые могут напрямую или косвенно участвовать в регуляции экспрессии генов, введение поправки на множественность сравнений), нами не были учтены другие важные компоненты ГГНС (в частности, ген окситоцина (*OXT*), аргинин-вазопрессина (*AVP*) и соответствующих рецепторов (*AVPR1A*, *AVPR1B*)), участвующих в регуляции гормонального и нейромедиаторного функционирования в целом. Исходя из этого, дальнейшие исследования в данном направлении необходимо проводить с учетом взаимодействия генов как гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой, так и других систем, а также на выборках большего масштаба, что позволит преодолеть существующие в данной работе ограничения (средний размер имеющейся выборки и отсутствие независимой).

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки РФ (№ АААА-А16-116020350032-1) при частичной поддержке гранта РФФИ-офи-м (№ 17-29-02195). Образцы ДНК взяты из ЦКП “Коллекция биологических материалов человека” ИБГ УФИЦ РАН, поддержанного Программой биоресурсных коллекций ФАНО России (соглашение № 007-030164/2).

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бэрн Р., Ричардсон Д. Агрессия. СПб.: Питер, 2001. 352 с.
2. Росстат: Федеральная служба государственной статистики. 2018. Режим доступа: http://www.gks.ru/free_doc/new_site/population/pravo/10-05.doc.
3. United Nations Office on Drugs and Crime “UNODC”: Reports on world crime trends. 2017. Available at <https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/statistics/reports-on-world-crime-trends.html>.
4. Porsch R.M., Middeldorp C.M., Cherny S.S. et al. Longitudinal heritability of childhood aggression // *Am. J. Med. Genet B. Neuropsychiatr. Genet.* 2016. V. 171. № 5. P. 697–707. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32420>
5. Давыдова Ю.Д., Литвинов С.С., Еникеева П.Ф. и др. Современные представления о генетике агрессивного поведения // Вавиловский журн. генетики и селекции. 2018. Т. 22. № 6. С. 716–725. <https://doi.org/10.18699/VJ18.415>
6. Lee R., Ferris C., Van de Kar L.D., Coccaro E.F. Cerebrospinal fluid oxytocin, life history of aggression, and personality disorder // *Psychoneuroendocrinology.* 2009. V. 34. № 10. P. 1567–1573. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2009.06.002>
7. Lucht M.J., Barnow S., Sonnenfeld C. et al. Associations between the oxytocin receptor gene (*OXTR*) and affect, loneliness and intelligence in normal subjects // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2009. V. 33. № 5. P. 860–866. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.04.004>
8. Tan O., Musullulu H., Raymond J.S. et al. Oxytocin and vasopressin inhibit hyper-aggressive behaviour in socially isolated mice // *Neuropharmacology.* 2019. V. 156. P. 107573. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.03.016>
9. Hovey D., Lindstedt M., Zettergren A. et al. Antisocial behavior and polymorphisms in the oxytocin receptor gene: findings in two independent samples // *Mol. Psychiatry.* 2016. V. 21. № 7. P. 983–988. <https://doi.org/10.1038/mp.2015.144>
10. Валуцкина А.П. Изучение роли генов нейропептидов и нейротрансмиттерных систем в развитии агрессивного поведения человека: Дис. ... канд. биол. наук. Уфа: Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, 2013. 159 с.
11. Baribeau D.A., Dupuis A., Paton T.A. et al. Oxytocin receptor polymorphisms are differentially associated with social abilities across neurodevelopmental disorders // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. № 1. P. 11618. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10821-0>
12. Мустафин П.Н., Казанцева А.В., Еникеева П.Ф. и др. Эпигенетика агрессивного поведения // *Генетика.* 2019. Т. 55. № 9. С. 987–997. <https://doi.org/10.1134/S0016675819090091>
13. Fragkaki I., Cima M., Verhagen M. et al. Oxytocin receptor gene (*OXTR*) and deviant peer affiliation: A gene-environment interaction in adolescent antisocial behavior // *J. Youth Adolesc.* 2019. V. 48. № 1. P. 86–101. <https://doi.org/10.1007/s10964-018-0939-x>
14. Cecil C.A., Lysenko L.J., Jaffee S.R. et al. Environmental risk, oxytocin receptor gene (*OXTR*) methylation and youth callous-unemotional traits: a 13-year longitudinal study // *Mol. Psychiatry.* 2014. V. 19. № 10. P. 1071–1077. <https://doi.org/10.1038/mp.2014.95>
15. Caldwell H.K., Aulino E.A., Freeman A.R. et al. Oxytocin and behavior: Lessons from knockout mice // *Dev. Neurobiol.* 2017. V. 77. № 2. P. 190–201. <https://doi.org/10.1002/dneu.22431>
16. Khorasanchi Z., Bahrami A., Avan A. et al. Passive smoking is associated with cognitive and emotional im-

- pairment in adolescent girls // *J. Gen. Psychol.* 2019. V. 146. № 1. P. 68–78.
<https://doi.org/10.1080/00221309.2018.1535485>
17. *Sikdar S., Joehanes R., Joubert B.R. et al.* Comparison of smoking-related DNA methylation between newborns from prenatal exposure and adults from personal smoking // *Epigenomics.* 2019.
<https://doi.org/10.2217/epi-2019-0066>
 18. *Tisak J., Tisak M.S., Baker E.R. et al.* The association among parental bonding, depression, social aggression, and criminal assault: are there gender differences between male and female youth offenders? // *J. Interpers. Violence.* 2017.
<https://doi.org/10.1177/0886260517744192>
 19. *Kazantseva A., Gaysina D., Malykh S., Khusnutdinova E.* The role of dopamine transporter (SLC6A3) and dopamine D2 receptor/ankyrin repeat and kinase domain containing 1 (DRD2/ANKK1) gene polymorphisms in personality traits // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2011. V. 35. № 4. P. 1033–1040.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2011.02.013>
 20. *Wong A.M., Scott A.K., Johnson C.S. et al.* ER α Δ 4, an ER α splice variant missing exon4, interacts with caveolin-3 and mGluR2/3 // *J. Neuroendocrinol.* 2019. V. 31. № 6. P. e12725.
<https://doi.org/10.1111/jne.12725>
 21. *DiFrancesco J.C., Castellotti B., Milanese R. et al.* HCN ion channels and accessory proteins in epilepsy: genetic analysis of a large cohort of patients and review of the literature // *Epilepsy Res.* 2019. V. 153. P. 49–58.
<https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2019.04.004>
 22. *Parris M.S., Grunebaum M.F., Galfalvy H.C. et al.* Attempted suicide and oxytocin-related gene polymorphisms // *J. Affect. Disord.* 2018. V. 238. P. 62–68.
<https://doi.org/10.1016/j.jad.2018.05.022>
 23. *Jokinen J., Chatzittofis A., Hellström C. et al.* Low CSF oxytocin reflects high intent in suicide attempters // *Psychoneuroendocrinology.* 2012. V. 37. № 4. P. 482–490.
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2011.07.016>
 24. *Reiner I., Van IJzendoorn M.H., Bakermans-Kranenburg M.J. et al.* Methylation of the oxytocin receptor gene in clinically depressed patients compared to controls: The role of OXTR rs53576 genotype // *J. Psychiatr. Res.* 2015. V. 65. P. 9–15.
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2015.03.012>
 25. *Campbell D.B., Datta D., Jones S.T. et al.* Association of oxytocin receptor (OXTR) gene variants with multiple phenotype domains of autism spectrum disorder // *J. Neurodev. Disord.* 2011. V. 3. № 2. P. 101–112.
<https://doi.org/10.1007/s11689-010-9071-2>
 26. *Johansson A., Bergman H., Corander J. et al.* Alcohol and aggressive behavior in men—moderating effects of oxytocin receptor gene (OXTR) polymorphisms // *Genes Brain. Behav.* 2012. V. 11. № 2. P. 214–221.
<https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2011.00744.x>
 27. *Казанцева А.В., Кутлумбетова Ю.Ю., Мальных С.Б. и др.* Ассоциация полиморфных маркеров генов аргинин-вазопрессиновых рецепторов (AVPR1A, AVPR1B) с чертами личности // *Генетика.* 2014. Т. 50. № 3. С. 341–352.

The Role of Oxytocin Receptor (OXTR) Gene Polymorphisms in the Development of Aggressive Behavior in Healthy Individuals

Yu. D. Davydova^{a,*}, A. V. Kazantseva^a, R. F. Enikeeva^a, R. N. Mustafin^b,
 M. M. Lobaskova^c, S. B. Malykh^c, I. R. Gilyazova^{a,b}, and E. K. Khusnutdinova^{a,b}

^a*Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054 Russia*

^b*Bashkir State Medical University, Ufa, 450008 Russia*

^c*Psychological Institute, Russian Academy of Education, Moscow, 125009 Russia*

*e-mail: julia.dmitrievna@list.ru

Oxytocin represents one of the key elements regulating social activity and aggressive behavior via its binding to oxytocin receptor (OXTR). Considering the multifactorial nature of developing aggression, the present study aimed to assess the main effects of the *OXTR* (*rs53576*, *rs13316193*, *rs237911*, *rs7632287*, *rs2254298*, *rs2228485*, *rs13316193*) gene polymorphisms together with haplotypic and G \times E effects on individual differences in aggression level in 623 mentally healthy individuals with gender and ethnicity as covariates. The association of *rs2228485**G ($P_{\text{FDR}} = 0.046$) и *rs237911**G ($P_{\text{FDR}} = 0.046$) and decreased aggression level was observed in Tatars by ethnicity. Haplotype analysis revealed an association of *OXTR* G*G*G-haplotype (*rs53576*, *rs2228485* and *rs237911*) and diminished aggression level ($P_{\text{perm}} = 0.020$) in Tatars. As a result of multiple regression analysis we observed the modulating effect of smoking and paternal overprotection significantly affected association of *OXTR*rs2228485 and aggression level ($P = 0.029$ and $P = 0.014$ respectively) in the total sample.

Keywords: aggressive behavior, Gene \times Environment interactions, oxytocin, association analysis, haplotype.