

УДК 575.22:616.89-008.47

Д. Н. Дроздов¹, А. В. Гулаков²¹Кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биологии,
УО «Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины», г. Гомель, Республика Беларусь²Кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биологии,
УО «Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины», г. Гомель, Республика Беларусь**ПОКАЗАТЕЛИ ТОЧНОСТИ, ПРОДУКТИВНОСТИ И УСТОЙЧИВОСТИ ВНИМАНИЯ У ЛЮДЕЙ РАЗНЫХ ПОЛИМОРФНЫХ ГРУПП ГЕНА АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА**

В данной работе рассматриваются связь полиморфизма гена ACE с показателями точности, продуктивности и устойчивости внимания в выборке студентов. Путем ДНК-анализа установлено, что в выборочной совокупности частота аллеля D у юношей составляет 43,5 %, аллеля I – 56,5 %; у девушек частота аллеля D – 46,5 %, аллеля I – 53,5 %; $\chi^2 = 0,47$. Сравнительный анализ показал, что у студентов из разных генотипических групп полиморфизм гена ACE вносит 10,5 % вклада в вариацию показателей внимания ($p = 0,02$). Для гетерозиготной группы с инсерционно-делеционным генотипом в период утомления (после 150 с) установлены достоверно более низкие показатели устойчивости внимания ($p < 0,05$).

Ключевые слова: ген ACE; полиморфизм; внимание; инсерция; делеция; проба Бурдона.

Введение

К настоящему времени сложились представления о том, что когнитивные процессы генетически детерминированы и ассоциированы с полиморфизмом некоторых генов. В ряде работ предложен перечень генов, полиморфные варианты которых ассоциируются с когнитивными способностями человека и наследуются в поколениях.

Проведенный анализ показал, что наибольший вклад в формирование интеллектуальных способностей человека вносят гены, детерминирующие регуляцию нейрогенеза и синаптическую пластичность, а также гены дофаминергических и серотонинергических нейронов [1–4]. Полногеномный поиск ассоциаций аллельных вариантов и когнитивных признаков показал, что уровень предопределенности когнитивных функций и генетических факторов составляет около 80 %. Однако, степень влияния конкретного гена на развитие того или иного когнитивного признака не превышает 1–2 %. Вместе с тем в ряде обзорных и клинических публикаций показано, что поражение такой когнитивной функции, как внимание, связано с состоянием системы кровообращения головного мозга. Научный и практический интерес представляет изучение влияния аллельных вариантов гена ангиотензин-превращающего фермента на когнитивные процессы внимания и памяти.

ACE кодирует ангиотензин-превращающий протеолитический фермент, который катализирует превращение ангиотензина-I в ангиотензин-II. Ген локализован в q23.3 локусе 17-й хромосомы, имеет размер в 45 тысяч пар нуклеотидов, содержит 26 экзонов; в 16-м интроне возможна инсерция или делеция нуклеотидной последовательности; Alu-повтор 287 пар нуклеотидов (Alu Ins/Del). В связи с чем структурный полиморфизм этого локуса называют инсерционно-делеционным и рассматривают три генотипа гена ACE (II, ID, DD). Делеция Alu-повтора приводит к повышению экспрессии гена ACE. Делеционный генотип отличается высоким уровнем циркулирующего фермента и высокой тканевой активностью; инсерционный генотип связывают с тканевой устойчивостью к гипоксии. Гормон ангиотензин II вызывает сужение сосудов при увеличении объема циркулируемой крови. Под действием ангиотензина II кора надпочечников выделяет в кровяное русло все большие порции альдостерона, вызывающего задержку натрия и потерю клеточного калия. Кроме того, ангиотензин II является мощным деактиватором брадикинина [5–7].

У разных людей уровень ангиотензин-превращающий фермент в плазме может варьировать от 1 до 5 раз, что связывают с полиморфизмом гена ACE. Делеция Alu-повтора приводит к повышению экспрессии гена ACE и увеличению концентрации фермента в крови, лимфе и тканях. В этой связи можно предположить, что лица с разным генотипом гена ACE могут иметь различия в скорости адаптации не только к условиям физической, но и умственной нагрузки. Конечный продукт экспрессии гена ACE обладает выраженным системным действием на васкулярные эндотелиальные клетки, следовательно, полиморфизм гена ACE может в определенной степени быть ассоциирован с когнитивными процессами, обеспечивающими устойчивость и концентрацию внимания.

Цель исследования – провести сравнительный анализ показателей внимания у молодых людей с разным генотипом гена *ACE*.

Методы и методология исследования

Исходя из обозначенных предпосылок, обследовано 75 студентов разных факультетов УО «Гомельский государственный университет имени Ф. Скорины» в возрасте от 18 до 22 лет, из них – 30 юношей и 45 девушек. Сбор материала проводился в соответствии с единым протоколом и на основании информированного согласия. В качестве биологического материала для выделения ДНК у студентов брали соскоб буккальных клеток слизистой оболочки ротовой полости. Буккальный соскоб наносился на стерильные ватные тампоны. Предварительно человек, у которого проводился забор образца, прополаскивал рот чистой кипяченой водой. Ватную палочку несколько раз проводили по внутренней поверхности щеки с легким нажимом и помещали в целлофановый пакет. От каждого человека получены три пробы с образцами буккального эпителия. Выделение ДНК проводили упрощенным СТАВ-методом по стандартной схеме [8].

Для амплификации гена *ACE* использовали выделенную ранее ДНК, реакционную стандартную ПЦР-смесь (PCR-Mix), праймеры следующего состава:

прямой (F) – 5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3',

обратный (R) – 5'-GATGTGGCCATCACATTC-GTCAGAT-3'.

Реакционная стандартная ПЦР-смесь (PCR-Mix): 10x буфер – 2,6 мкл, MgCl₂ (50 Mm) – 1,3 мкл, смесь нуклеотидтрифосфатов (dNTP) – 0,5 мкл, Prime Taq-ДНК полимеразы – 0,2 мкл, праймер 1 (F) – 0,8 мкл, праймер 2 (R) – 0,8 мкл, вода деионизированная (milliQ) – 17,8 мкл.

Общий объем реакционной ПЦР-смеси должен составить 24 мкл.

ПЦР проводили на амплификаторе «Терцик» (ДНК-технология).

Условия ПЦР: предварительная денатурация 94 °С (7 мин); 30 циклов амплификации: 94 °С (1 мин), 62 °С (1 мин), 72 °С (1 мин 10 с). Заключительный синтез 72 °С (5 мин). Размер ПЦР продукта гена *ACE*: I аллель – 477 п. о. и D аллель – 190 п. о. [5; 8].

Электрофорез проводили в электрофоретической камере SE-2 (Helicon) в 2 % агарозном геле с последующей окраской в этидий бромиде. Для визуальной детекции ПЦР продуктов применяли трансиллюминатор WUV-M10 с системой видеонаблюдения.

Для оценки когнитивных функций студентов использовали широко распространенный нейропсихологический тест-пробу Бурдона (Durchstreich – Test), направленный на оценку точности, продуктивности и устойчивости внимания [9–11]. Задача испытуемого состоит в том, чтобы обнаружить заданный стимул среди других стимулов и зафиксировать его тем или иным способом [11]. В данном случае понятие устойчивости внимания рассматривали как способность удерживать высокий уровень внимания в течение относительно длительного времени при выполнении определенного задания (типа корректурной пробы) [12] или как способность выполнять некоторую аттенциональную функцию в определенном интервале времени с определенной точностью [13].

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 («StatSoft Inc.», США). Для определения достоверности полученных результатов уровень значимости принимали за 0,05; значения достоверной вероятности, оцененную 0,05–0,10, рассматривали как тенденцию. Для проведения сравнительного анализа результатов тестирования между группами использовали t-критерий Стьюдента; для анализа влияния генетического фактора на вариации данных использовали однофакторный дисперсионный анализ. Для оценки скорости снижения эффективности выполнения тестовых заданий использовали методику регрессионного анализа и сравнение угловых коэффициентов наклона линейной регрессии. Достоверность различий между наблюдаемыми и ожидаемыми значениями рассчитывалась, используя χ^2 критерий Пирсона, который показал, что проанализированная выборка студентов по гену *ACE* находится в равновесном состоянии по Харди-Вайнбергу.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе анализа образцов ДНК установлено, что количество студентов с генотипами гена *ACE* распределилось в соотношении II 32 % : ID 49 % : DD 19 % среди юношей и II 31 % : ID 45 % : DD 24 % среди девушек. Данные нейропсихологического тестирования студентов распределены по генотипам на группе юношей и девушек. В каждой группы получен вариационный ряд данных результатов тестирования.

В результате анализа исходных данных корректурной пробы Бурдона получены коэффициенты точности, продуктивности и устойчивости внимания юношей и девушек с разным генотипом

гена *ACE*. Результаты оценки показателей точности и продуктивности внимания юношей и девушек с разным генотипом представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели точности и продуктивности внимания

Генотип	Пол	Коэффициент точности, усл. ед.	Коэффициент продуктивности, усл. ед.
<i>II</i>	Юноши	0,24 ± 0,09	999 ± 336
	Девушки	0,31 ± 0,07	1237 ± 165
<i>DD</i>	Юноши	0,34 ± 0,04	1455 ± 140
	Девушки	0,35 ± 0,03	1592 ± 137
<i>ID</i>	Юноши	0,18 ± 0,05	806 ± 286
	Девушки	0,32 ± 0,10	1344 ± 147

Из таблицы 1 видно, что в группе юношей средний коэффициент точности внимания имеет максимальное значение в группе с делеционным генотипом и достоверно отличается от этого показателя в группе юношей с гетерозиготным инсерционно-делеционным генотипом ($p < 0,05$). Достоверных различий между юношами с генотипами *II* и *DD* не установлено ($p > 0,1$).

В группе девушек максимальное значение среднего коэффициента точности внимания также имеет место в группе с делеционным генотипом, но достоверных различий и какой-либо тенденции между группами с разным генотипом не установлено ($p > 0,1$).

Минимальные значения коэффициента точности имеют юноши с гетерозиготным генотипом *ID*, в этой группе имеет место наибольшее число ошибок. Схожие результаты получены для коэффициента продуктивности как в группе юношей, так и в группе девушек.

Сравнительный анализ коэффициентов точности и продуктивности внимания в группах юношей и девушек показал, что достоверные различия у лиц разного пола по генотипу гена *ACE* отсутствуют ($p = 0,12$).

Поскольку достоверных различий между юношами и девушками не установлено, данные показателей точности и продуктивности внимания были объединены, и далее сравнительный анализ производился только по генотипам гена *ACE*. На основании данных количества правильно и ошибочно определенных символов за равные интервалы времени в группах с разным генотипом проведена оценка устойчивости внимания. Результаты оценки устойчивости внимания в группах с разным генотипом представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Устойчивость внимания студентов, секунды

Генотип	Время, секунды				
	37	74	111	148	185
<i>DD</i>	25,3 ± 2,2	26,8 ± 1,8	25,8 ± 1,6	24,8 ± 1,8	19,2 ± 2,1
<i>II</i>	30,3 ± 3,5	29,7 ± 2,2	28,2 ± 2,6	30,3 ± 2,3	25,1 ± 2,3
<i>ID</i>	22,5 ± 1,5	24,9 ± 1,6	23,6 ± 1,7	21,7 ± 2,0	16,6 ± 2,5

Из таблицы 2 видно, что после 2,5 минут устойчивость внимания начинает снижаться во всех группах. Наибольшее количество ошибок наблюдается в группе с инсерционно-делеционным генотипом. Анализ вариации количества правильных решений студентов разных групп от начала выполнения пробы до достижения 150 секунд показал, что в группе с инсерционным генотипом наблюдается 33 % вариации значений, в группе с делеционным генотипом наблюдается 39 % вариации, в группе с инсерционно-делеционным генотипом – 41 % вариации. Здесь можно предположить, что студенты с инсерционным генотипом отличаются большей устойчивостью в эффективном выполнении задания.

После 2,5 минут в динамике правильных решений во всех трех группах наблюдается снижение эффективности решений и увеличение количества ошибок и/или пропущенных символов. Этот момент мы рассматриваем как период «утомления», и здесь имеются достоверные различия между показателями студентов с разными генотипами.

Наибольшую устойчивость показала инсерционная группа, где эффективность выполнения заданий упала на 15,2 %. Наименьшую устойчивость показала инсерционно-делеционная группа, где эффективность выполнения заданий упала на 28,5 %; в делеционной группе эффективность выполнения заданий упала на 25,3 %.

Снижение эффективности выполнения задания и увеличение количества ошибок хорошо описывается линейным уравнением регрессии вида $y = ax + b$ с коэффициентом детерминации, близким к единице ($R^2 > 0,95$): в инсерционной группе регрессионное уравнение имеет вид $y = -0,139x + 50,8$, в делеционной группе – $y = -0,151x + 47,2$, в инсерционно-делеционной группе – $y = -0,139x + 42,4$. Угловые коэффициенты наклона инсерционной и делеционной групп равны, что свидетельствует об отсутствии различий в скорости снижения эффективности выполнения задания. В инсерционно-делеционной группе угловой коэффициент больше, чем в остальных группах, что свидетельствует о более интенсивном снижении эффективности выполнения задания.

Установленные различия скорости снижения эффективности решенных заданий подтверждаются и сравнительным анализом коэффициентов вариации количества верных решений в период «утомления». В инсерционно-делеционной группе наблюдается максимальное значение коэффициента вариации (83,9 %), которое превосходит коэффициент вариации делеционной группы в 1,375 раза, а инсерционной группы – в 2,446 раз. В ходе проведения однофакторного дисперсионного анализа установлено, что генетический фактор оказывает достоверное влияние на вариацию целевых показателей, однако его вклад в общую дисперсию составляет 10,5 % ($p = 0,0182$).

Заклучение

ДНК-анализ клеток буккального эпителия студентов показал, что среди юношей распределение аллеля D – 43,5 %, аллеля I – 56,5 %; среди девушек аллеля D – 46,5 %, аллеля I – 53,5 %. По генотипу распределение гомо- и гетерозигот среди юношей имеет следующее соотношение II 32 % : ID 49 % DD 19 %; среди девушек II 31 % : ID 45 % : DD 24 %. Значение $\chi^2(0,47)$ показало, что выборочная совокупность находится в равновесном состоянии по Харди-Вайнбергу. В ходе сравнительного анализа данных корректурной пробы Бурдона установлено достоверное влияние генотипа по гену ACE на точность выполнения заданий и устойчивость внимания. Вклад генетического фактора в вариацию показателей внимания студентов из разных генетических групп составил 10,5 %, $p = 0,02$.

Наблюдаемые различия в точности выполнения заданий имеют место между юношами с делеционным и инсерционно-делеционным генотипом ($p < 0,05$). В группе девушек каких-либо различий или общей тенденции в точности выполнения заданий не установлено ($p > 0,10$); кроме того, не установлено достоверных различий показателей точности, продуктивности и устойчивости между юношами и девушками ни в одной из групп. Наиболее выразительные различия получены в период «утомления», когда наблюдалось снижение эффективности выполнения задания и увеличение количества ошибок ($p < 0,05$). Методом регрессионного анализа установлено, что в гетерозиготной группе интенсивность снижения эффективности выполнения задания больше, чем в других группах. Методом дисперсионного анализа показано, что в гетерозиготной группе в период «утомления» наблюдается более резкое увеличение коэффициента вариации и дисперсии выборочных значений.

Полученные результаты позволяют говорить о том, что на внимание как сложный аттенционный процесс оказывают влияние не только гены, ассоциированные с регуляцией нейрогенеза, но и гены, оказывающие опосредованное действие на систему кровообращения головного мозга. Зависимость носит сложный, многокомпонентный характер, выявление которого требует создания определенных условий, в которых происходит реализация действия такой многокомпонентной системы факторов.

СПИСОК ОСНОВНЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Ахметов, И. И. Анализ комбинаций генетических маркеров мышечной деятельности / И. И. Ахметов // Генетические, психофизические и педагогические технологии подготовки спортсменов : сб. науч. тр. – СПб., 2006. – С. 95–103.
2. Солодков, А. С. Физиология человека. Общая, Спортивная, Возрастная : учеб. / А. С. Солодков, Е. Б. Сологуб. – М. : Олимпия-Пресс, 2005. – 528 с.
3. The Human Gene Map for Performance and Health-Related Fitness Phenotypes: The 2006-2007 Update / M. S. Bray [et al.] // Med. Sei. Sports. Exerc. – 2009. – V. 41. – P. 35–73.
4. Human gene for physical performance / H. E. Montgomery [et al.] // Nature. – 1998. – Vol. 393 (6682). – P. 221–222.
5. Ахметов, И. И. Молекулярная генетика спорта / И. И. Ахметов. – М. : Советский спорт, 2009. – 268 с.
6. The angiotensin converting enzyme I/D polymorphism in Russian athletes / I. B. Nazarov [et al.] // Eur. J. Hum. Genet. – 2001. – Vol. 9. – P. 797–801.

7. An insertion deletion polymorphism in the angiotensin-1-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels / B. Rigat [et al.] // J. Clin. Invest. – 1990. – Vol. 86. – P. 1343–1346.
8. Маниатис, Т. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук. – М. : Мир, 1984. – 480 с.
9. Сысоев, В. П. Методика диагностики работоспособности / В. П. Сысоев. – СПб. : ИМАТОН, 1996. – 29 с.
10. Воронин, А. Н. Методики диагностики свойств внимания / А. Н. Воронин // Методы психологической диагностики / под ред. В. Н. Дружинина, Т. В. Галкиной. – М. : ИПРАН, 1993. – С. 16–31.
11. Крылов, А. А. Практикум по общей, экспериментальной и прикладной психологии / А. А. Крылов, С. А. Маничев. – СПб. : Питер, 2000. – 560 с.
12. Русалов, В. М. О связи устойчивости внимания при работе с корректурной таблицей с частотой альфа-ритма фоновой ЭЭГ / В. М. Русалов, Л. Мекаччи // Вопросы психологии. – 1973. – № 3. – С. 32–44.
13. Когнитивная психология : учеб. для вузов / под ред. В. Н. Дружинина, Д. В. Ушакова. – М. : ПЕРСЭ, 2002. – 480 с.

Поступила в редакцию 18.04.2024

E-mail: drozdov@gsu.by; Gulakov@gsu.by

D. N. Drozdov, A. V. Gulakov

INDICATORS OF ACCURACY, PRODUCTIVITY AND ATTENTION SPAN-PERSISTENCE IN PEOPLE OF DIFFERENT POLYMORPHIC GROUPS OF THE ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME GENE

The article examines the association of ACE gene polymorphism with the indicators of accuracy, productivity, and attention span-persistence in a sample of students. DNA analysis has revealed that in the sample population, the frequency of allele D in young men is 43,5%, allele I – 56,5 %; in young women, the frequency of allele D is 46,5 %, allele I – 53,5 %; $\chi^2 = 0,47$. According to the results of comparative analysis, polymorphism of ACE gene contributes 10.5 % to the variation of attention indices ($p = 0.02$) in students from different genotypic groups. In the heterozygote group with the insertion-deletion genotype, low indicators of attention span-persistence have been established significantly ($p < 0,05$) during the fatigue period (after 150 s).

Keywords: ACE gene; polymorphism; attention; insertion; deletion; Bourdon sample.