

УДК: 575.113:616.89-008.454:616-001.28

І.В. Абраменко, Н.І. Білоус, С.А. Чумак, К.М. Логановський✉

Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», вул. Мельникова, 53, м. Київ, 04050, Україна

ВПЛИВ ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНА *SLC6A4* НА ЧАСТОТУ ВИЯВЛЕННЯ ДЕПРЕСИВНИХ СТАНІВ В ГРУПІ УЛНА НА ЧАЕС У ВІДДАЛЕНОМУ ПЕРІОДІ ПІСЛЯ ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ КАТАСТРОФИ

Порушення психічного здоров'я постраждалих осіб є одним з важливих медичних наслідків Чорнобильської аварії. Відомо також, що в реалізації патогенезу депресивних станів суттєва роль належить гену транспортера серотоніну (*SLC6A4*).

Мета роботи – встановити вплив поліморфних варіантів гена *SLC6A4* на частоту виявлення депресивних станів у групі учасників ліквідації наслідків аварії (УЛНА) у віддаленому періоді після Чорнобильської катастрофи.

Методи. Дослідження проведено в групі 59 постраждалих внаслідок аварії на ЧАЕС, розподілених на дві групи (без депресії та з депресивною симптоматикою). Діагностика депресивних розладів базувалась на комплексній оцінці скарг обстежених, даних клініко-психопатологічного дослідження, показниках шкали самооцінки депресії Зунга (SDS), короткої психіатричної оціночної шкали (BPRS), опитувальника загального здоров'я (GHQ-28). З мононуклеарів периферичної крові виділяли ДНК, поліморфізм 5-HTTLPR визначали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

Результати. Депресивна симптоматика частіше була виявлена серед реконвалесцентів гострої променевої хвороби (ГПХ), ніж в УЛНА без ГПХ в анамнезі: ($p = 0,006$). Виявлені тенденції до асоціації отриманої дози зовнішнього опромінення з кількістю балів за шкалою SDS ($r = 0,284$; $p = 0,043$), сумою балів за шкалою BPRS ($r = 0,686$; $p = 0,001$), наявністю депресії ($r = 0,323$; $p = 0,017$) та її важкістю ($r = 0,273$; $p = 0,051$). Серед обстежених УЛНА у порівнянні з великою групою європейців без психічних відхилень виявлено збільшення кількості носіїв генотипу *S/S SLC6A4* ($p = 0,03$). Тільки для носіїв генотипу *S/S* виявлена зворотна асоціація між розвитком депресії та віком пацієнта: $r = -0,503$ ($p = 0,033$), між розвитком депресії та часом від аварії на ЧАЕС: $r = -0,581$ ($p = 0,011$), а також позитивна кореляція розвитку депресії з дозою опромінення: $r = 0,515$ ($p = 0,025$). Серед осіб віком 55 років і старше розвиток депресії був асоційований зі зниженням частоти високофункціонального генотипу L_A/L_A до 4,76 % проти 31,25 % за відсутності депресивних рис ($p = 0,042$). В групі більш молодих пацієнтів розподіл генотипів залежно від ознак депресії не розрізнявся ($p = 0,476$).

Висновок. Пілотний аналіз розподілу генотипів гена *SLC6A4* за поліморфізмами 5-HTTLPR і rs25531 в групі УЛНА показав перспективність подальших досліджень внеску генотипів L_A/L_A і *S/S* в розвиток депресивних станів в комбінації з дією радіаційного чинника.

Ключові слова: депресивні розлади, поліморфізм гена *SLC6A4*, гостра променева хвороба, аварія на ЧАЕС.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2017. Вип. 22. С. 282–291.

✉ Логановський Костянтин Миколайович, e-mail: loganovsky@windowlive.com

I.V. Abramenko, N.I. Bilous, S.A. Chumak, K.M. Loganovsky✉

State Institution «National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 53 Melnykova str., Kyiv, 04050, Ukraine

Influence of polymorphic variants of the *SLC6A4* gene on the frequency of detection of depressive states in the group of the clean-up workers of consequences of Chernobyl accident in the remote period after the Chernobyl catastrophe

Mental disorders of the victims are one of the important medical consequences of the Chernobyl accident. It is also known that in the implementation of the pathogenesis of depressive states a significant role belongs to the serotonin transporter gene (*SLC6A4*).

Objective. To determine the effect of polymorphic variants of the *SLC6A4* gene on the frequency of detection of depression in a group of clean-up workers in the remote period after the Chernobyl catastrophe.

Methods. The study was conducted in a group of 59 victims of the Chernobyl NPP accident, divided into two groups (without depression and with depressive symptoms). The diagnosis of depressive disorders was based on a comprehensive assessment of the complaints of the surveyed, the clinical and psychopathological data, the values of the Zung Self-Rating Depression Scale (SDS), the Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS), the General Health Questionnaire (GHQ-28). DNA from the peripheral blood mononuclear cells was isolated, and the 5-HTTLPR polymorphism was determined by polymerase chain reaction (PCR).

Results. Depressive symptoms were more often found among convalescents of acute radiation sickness (ARS) than in the clean-up workers without ARS: ($p = 0.006$). The tendencies of the association of the received dose of external exposure with the number of points on the SDS scale ($r = 0.284$; $p = 0.043$), the sum of scores on the BPRS scale ($r = 0.686$; $p = 0.001$), depression ($r = 0.323$, $p = 0.017$) and its severity ($r = 0.273$; $p = 0.051$) were found. Among the examined clean-up workers, in comparison with a large group of Europeans without mental disorders, an increase in the number of carriers of the genotype S/S *SLC6A4* was found ($p = 0.03$). Only for the carriers of the S/S genotype, the reciprocal association between the development of depression and the age of the patient was found: $r = -0.503$ ($p = 0.033$), between the development of depression and the time from the ChNPP accident: $r = -0.581$ ($p = 0.011$), as well as positive correlation of development of depression with dose of irradiation: $r = 0.515$ ($p = 0.025$). Among people aged 55 and older, the development of depression was associated with a decrease in the frequency of highly functional genotype L_A/L_A to 4.76% versus 31.25% in the absence of depressed symptoms ($p = 0.042$). In the group of younger patients, the distribution of genotypes did not differ depending on the signs of depression ($p = 0.476$).

Conclusion. The pilot analysis of the distribution of genotypes of the *SLC6A4* gene for polymorphisms of 5-HTTLPR and rs25531 in the clean-up workers group showed the promise of further studies of the contribution of LA/LA i S/S genotypes to the development of depressive states in combination with the action of the radiation factor..

Key words: depressive disorders, *SLC6A4* gene polymorphism, acute radiation sickness, Chernobyl NPP accident.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2017;22:282–291.

ВСТУП

Одним з найважливіших медичних наслідків Чорнобильської аварії є порушення психічного здоров'я осіб, які безпосередньо зазнали впливу іонізуючого опромінення та дії стресорних факторів, пов'язаних з аварією та її ліквідацією. В більшості досліджень встановлено підвищення частоти депресивних станів, суїцидальних ідецій, розвитку алкогольної залежності в групі учасників ліквідації наслідків аварії (ЛНА) як у ранній, так і у віддалений період після інциденту [1–5]. Водночас накопичуються дані щодо вагомого внеску генетичного чинника у

INTRODUCTION

One of the most important medical consequences of the Chernobyl accident is the disturbance of the mental health of individuals who have been directly exposed to ionizing radiation and the effects of the stressors associated with the accident and its elimination. In most studies, an increase in the frequency of depressive states, suicidal ideations, and the development of alcohol dependence in the group of clean-up workers in the early and remote period after the incident [1–5] has been established. At the same time, data on the significant contribution of the genetic fac-

патогенез депресивних та інших афективних станів, який є підґрунтям до реалізації негативного впливу стресорних факторів [6]. В якості вірогідних мішеней розглядається низка генів, серед яких значна увага приділяється гену транспортера серотоніну (*SLC6A4*).

Серотонін (5-гідрокситриптамін) – важливий медіатор, який регулює відповідь на стресорні фактори через гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникову вісь. Він накопичується у везикулах пресинаптичних нейронів, при деполаризації мембрани надходить до синапсу та бере участь у передачі нервового імпульсу. Його надлишок за допомогою транспортера серотоніну повертається до пресинаптичного нейрону, де розщеплюється моноамінооксидазою до 5-гідроксиіндолоцтової кислоти. Таким чином, транспортер серотоніну зупиняє активуючу дію медіатора [7].

Ген *SLC6A4* розташований у ділянці 17q11.1-q12 хромосоми 17. На рівень його експресії істотно впливає наявність поліморфізмів у промоторній ділянці. Найбільш відомим є поліморфізм, обумовлений вставкою/делецією послідовності тандемних повторів (44 пари нуклеотидів), який отримав назву 5-HTTLPR (the serotonin transporter-linked polymorphic region). За наявності вставки синтезується довга (L, long) аллель, за її відсутності – коротка (S, short) аллель [8].

Пізніше у складі вставки (і відповідно, L-алеля) був виявлений поліморфізм одного нуклеотиду (SNP, single nucleotide polymorphism) – rs25531, у вигляді заміни аденіну (A) на гуанін (G) у шостому нуклеотиді вставки [9].

Поліморфізми 5-HTTLPR і rs25531 впливають на рівень експресії гена *SLC6A4*. Низька експресія характерна для S-алеля і L_G-алеля (присутність гуаніну за поліморфізмом rs25531), висока – для L_A-алеля (присутність аденіну за поліморфізмом rs25531) [10]. Це обумовлено наявністю сайтів приєднання кофакторів транскрипції у ділянці тандемних повторів. Відповідно, у носіїв різних алелів розрізняється концентрація транспортера серотоніну в клітині, що впливає на метаболізм медіатора. Тому зазначені поліморфізми є функціонально значущими і асоційованими з різними формами психічних розладів.

Насамперед, було виявлено підвищення частоти S-алеля серед дітей, підлітків та дорослих молодого віку, які страждають на депресію та мають суїцидальну поведінку [11, 12]. Однак, в інших дослідженнях значущої асоціації між полі-

tor in the pathogenesis of depressive and other affective states, which is the basis for the implementation of the negative impact of stress factors [6], is being accumulated. A number of genes are considered as probable targets, among which considerable attention is paid to the serotonin transporter gene (*SLC6A4*).

Serotonin (5-hydroxytryptamine) is an important mediator that regulates the response to stress factors through the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. It accumulates in the vesicles of presynaptic neurons, with depolarization of the membrane enters the synapse and participates in the transmission of the nerve impulse. Its surplus with the help of the serotonin transporter is returned to the presynaptic neuron, which splits with monoamine oxidase to 5-hydroxyindoloacetic acid. Thus, the serotonin transporter stops the activating action of the mediator [7].

The *SLC6A4* gene is located in the 17q11.1-q12 region of chromosome 17. The presence of polymorphisms in the promoter region is significantly affected on its level of expression. The most commonly known polymorphism is the insertion / deletion of the sequence of tandem repeats (44 pairs of nucleotides), called the 5-HTTLPR (the serotonin transporter-linked polymorphic region). In the presence of an insert, a long (L) allele is synthesized; in its absence, a short (S) allele [8] is synthesized.

Later in the insert (and, accordingly, L-allele), the polymorphism of a single nucleotide (SNP, single nucleotide polymorphism) – rs25531 was found, in the form of replacing adenine (A) with guanine (G) in the sixth nucleotide of the insert [9].

The polymorphisms of 5-HTTLPR and rs25531 affect the expression level of the *SLC6A4* gene. Low expression is characteristic for S-allele and L_G –alleles (presence of guanine by polymorphism rs25531), high – for L_A allele (presence of adenine by polymorphism rs25531) [10]. This is due to the presence of attachment sites for transcription cofactors in the tandem repetitions area. Accordingly, carriers of different alleles differ in the concentration of the serotonin transporter in the cell, which affects the metabolism of the mediator. Therefore, these polymorphisms are functionally significant and associated with various forms of mental disorders.

First of all, an increase in the frequency of S-alleles among children, adolescents and young adults who were depressed and suicidal was found [11, 12]. However, in other studies, no significant association was found between the polymorphisms of

морфізмами гена *SLC6A4* та ризиком розвитку депресії виявлено не було [13]. В подальшому було показано, що вплив *SLC6A4* реалізується тільки за умов дії стресорних факторів, причому має значення не лише тип, сила, тривалість дії стресорного фактору, але й вік індивідуума. Тому в іншому мета-аналізі, проведеному на значній вибірці з урахуванням зазначених чинників, внесок поліморфізмів гену *SLC6A4* у розвиток депресії у дітей був підтверджений [14].

Дослідження депресивних станів у постраждалих внаслідок Чорнобильської аварії з урахуванням генетичної компоненти не проводились.

МЕТА

Встановити вірогідний вплив поліморфних варіантів гена *SLC6A4* на частоту виявлення депресивних станів в групі учасників ліквідації наслідків аварії (УЛНА) у відділеному періоді після аварії на Чорнобильській АЕС.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено в групі 59 постраждалих внаслідок аварії на ЧАЕС (всі чоловіки, середній вік $59,26 \pm 0,98$ років, середній вік на момент аварії $34,84 \pm 0,98$ років), які проходили обстеження на базі відділу радіаційної психоневрології Інституту клінічної радіології ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України» (ННЦРМ) в рамках періодичних оглядів в клініко-епідеміологічного реєстру (КЕР) ННЦРМ. Дослідження проводилось за інформованої згоди пацієнтів та схвалення Комітетом з медичної етики ННЦРМ. В групу входило 17 реконвалесцентів гострої променевої хвороби (ГПХ), 37 УЛНА 1986 року та 5 УЛНА інших періодів. Доза опромінення була відома в 41 УЛНА ($25,33 \pm 3,58$ сЗв, медіана 18,71 сЗв) і в усіх реконвалесцентів ГПХ (100–200 сЗв – 12 осіб; 200–300 сЗв – 3 осіб, > 300 сЗв – 2 осіб).

Діагностика депресивних розладів базувалась на комплексній оцінці скарг обстежених, даних клініко-психопатологічного дослідження, показниках шкали самооцінки депресії Зунга (SDS), короткої психіатричної оціночної шкали (BPRS), опитувальника загального здоров'я (GHQ-28) – [5].

ДНК для проведення молекулярних досліджень виділяли з мононуклеарів периферичної крові з використанням набору QIAamp Blood Mini Kit (Qiagen, Crawley, Велика Британія). Поліморфізм 5-HTTLPR визначали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), яку проводили з використан-

the *SLC6A4* gene and the risk of developing depression [13]. Subsequently, it was shown that the effect of *SLC6A4* is realized only under conditions of stress factors, with the importance not only of the type, strength, duration of the stress factor, but also the age of the individual. Therefore, in another meta-analysis, conducted on a significant sample, taking into account these factors, the contribution of *SLC6A4* gene polymorphisms to the development of depression in children was confirmed [14].

The studies of depressions in the victims of the Chernobyl accident, taking into account the genetic component, previously were not conducted.

OBJECTIVE

The objective of the work was to determine the probable effect of polymorphous variants of the *SLC6A4* gene on the frequency of detection of depression in a group of clean-up workers in the remote period after the Chernobyl accident.

MATERIAL AND METHODS

The research was conducted in the group of 59 victims of the Chernobyl catastrophe (all men, mean age 59.26 ± 0.98 years, mean age at the time of the accident 34.84 ± 0.98 years) who were examined on the basis of the Department of Radiation Psychoneurology of the Institute of Clinical Radiology of the NRCRM NAMS of Ukraine within the framework of periodic reviews in the Clinical and Epidemiological Registry (CER) of the NRCRM. The informed consent of the patients was received and approved by the Committee on Medical Ethics of the NRCRM. The group consisted of 17 convalescents of acute radiation sickness (ARS), 37 clean-up workers in 1986 and 5 clean-up workers of other periods. Radiation doses were known in 41 clean-up workers (25.33 ± 3.58 cSv, median 18.71 cSv) and in all ARS convalescents (100–200 cSv – 12 people, 200–300 cSv – 3 people, > 300 cSv – 2 persons).

The diagnosis of depressive disorders was based on a comprehensive assessment of the complaints of the surveyed, the clinical and psychopathological data, the values of the Zung Self-Rating Depression Scale (SDS), the Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS), the General Health Questionnaire (GHQ-28) [5].

The DNA for molecular studies was isolated from peripheral blood mononuclear cells using QIAamp Blood Mini Kit (Qiagen, Crawley, UK). The polymorphism of 5-HTTLPR was determined by the polymerase chain reaction (PCR) method, which was performed using

ням праймерів, що маркують границі тандемної послідовності:

➤ прямиий: 5'-TTGCCGTCCCAAGCAATGGATGA-3';

➤ зворотний: 5'-TCTGGGAAGGGACAGAAGATGAC-3'

ПЛР проводили в наступному режимі: ініціація: – 94 °C, 7 хв, потім 35 циклів ампліфікації (94 °C – 30 сек., 67,5 °C – 45 сек, 72 °C – 45 сек), фінальна елонгація 72 °C – 10 хв. Склад суміші для ампліфікації (загальний об'єм 20 мкл): зразок ДНК – 3 мкл, праймери – 0,5 мкл, суміш для ампліфікації Master Mix («Біолабтех», Україна) – 10 мкл, вода деіонізована – 6 мкл.

При проведенні електрофорезу в 3% агарозному гелі S-алель (485 п.н.) і L-алель (528 п.н.) розрізнялись за рухомістю.

Для визначення поліморфізму rs25531 6 мкл отриманого ПЛР-продукту розщеплювали 5 од. рестриктазою HpaII у відповідному буфері («Біолабтех», Україна) протягом 3 годин при температурі 37 °C та ідентифікували алелі за допомогою електрофорезу в 3% агарозному гелі [15]. Слід зазначити, що всі ампліфіковані алелі мали один ідентичний сайт рестрикції, тому після обробки рестриктазою їх рухомість змінювалась. Крім того, у складі L_G-алеля знаходився додатковий сайт рестрикції, що призводило до розщеплення алелі приблизно навпіл. Розміри продуктів реакції після рестрикції наведено у табл. 1.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили у програмі SPSS Statistics 17.0.

Таблиця 1

Довжина ампліфікованих алелів при визначенні поліморфізмів 5-HTTLPR і rs25531 гена SLC6A4

Table 1

Length of amplified alleles in determining of the polymorphisms of 5-HTTLPR and rs25531 of the SLC6A4 gene

Алель / allele	Довжина до рестрикції Length before restriction	Довжина після рестрикції HpaII Length after restriction by HpaII
S-алель / S-allele	485	297
L _G -алель / L _G -allele	528	166
L _A -алель / L _A -allele	528	340

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Залежно від наявності депресивної симптоматики, обстежені особи були розподілені на основну (n = 36, є ознаки депресії) та контрольну групу (n = 23, ознаки депресії відсутні). Оскільки у всіх пацієнтів в групі з депресивною симптоматикою були наявні коморбідні серйозні цереброваскулярні порушення (ХНМК 2–3 ст., наслідки перенесених інсультів), а в клінічній симптоматиці, нарівні з депресивними,

primers that mark the boundaries of the tandem sequence:

➤ forward: 5'-TTGCCGTCCCAAGCAATGGATGA-3';

➤ reverse: 5'-TCTGGGAAGGGACAGAAGATGATGAC-3'

The PCR was performed in the following mode: initiation: – 94 °C, 7 minutes, then 35 cycles of amplification (94 °C – 30 seconds, 67.5 °C – 45 seconds, 72 °C – 45 seconds), final elongation 72 °C – 10 min. Composition of the mix for amplification (total volume of 20 µl): DNA sample – 3 µl, primers – 0.5 µl, PCR Master Mix (Biolabtech, Ukraine) – 10 µl, water deionized – 6 µl.

When conducting an electrophoresis in 3% agarose gel, S-alleles (485 bp) and L-alleles (528 bp) differed by moving.

To determine the polymorphism of rs25531, 6 µl of the obtained PCR product were cleaved with 5 units restriction enzyme HpaII in appropriate buffer («Biolabtech», Ukraine) for 3 hours at a temperature of 37 °C and the alleles were identified by electrophoresis in 3% agarose gel [15]. It should be noted that all amplified alleles had one identical restriction site, therefore, after processing by restriction, their mobility were changed. In addition, in the L_G-allele, there was an additional restriction site, which led to splitting the allele by about half. The sizes of reaction products after restriction are shown in Table 1.

Statistical processing of the obtained results was carried out in the SPSS Statistics 17.0 program.

RESULTS AND DISCUSSION

Depending on the presence of depressive symptoms, the subjects were divided into the main (n = 36, with depressive symptoms) and control group (n = 23, without depressive symptoms). All patients in the group with depressive symptoms had comorbid serious cerebrovascular disorders (chronic cerebrovascular disease of 2–3 degree, consequences of strokes), and in clinical symptomatology, along with depressive

відмічалися і психоорганічні симптоми різного ступеня вираженості (від церебрастенічного до дементного), тому депресивні розлади у цих осіб розглядались в рамках органічного депресивного розладу – F06.32. Пацієнти основної групи були молодшими ($54,61 \pm 1,18$ років), ніж контроль ($58,86 \pm 1,59$ років; $p = 0,034$). Виявлена зворотна кореляція між віком пацієнтів та частотою виявлення депресивних рис ($r = -0,276$; $p = 0,034$).

Пацієнти двох груп достовірно розрізнялись ($p = 0,001$ в усіх випадках) за показниками шкал SDS, BPRS та GHQ-28 (рис. 1). Водночас, спектр соматичної патології (аналізували наявність ішемічної хвороби серця, інфаркту міокарда та інсульту в анамнезі, артеріальної гіпертензії II та III ступеня, хронічних захворювань шлунково-кишкового тракту та бронхолегеневої системи, ендокринної патології) був ідентичним в обох групах (рис. 2). Не виявлено також суттєвих розбіжностей у середніх показниках SDS, BPRS та GHQ-28 у хворих з окремими нозологічними формами. Таким чином, депресивні стани у обстежених УЛНА не були безпосередньо пов'язані з соматичною патологією. Слід також зазначити, що більшість обстежених мали значну кількість соматичних захворювань, що притаманно групі УЛНА в цілому.

Депресивна симптоматика частіше була виявлена серед реконвалесцентів ГПХ (88,2 %, у 15 з 17 обстежених), ніж в УЛНА без ГПХ в анамнезі (50,0 %, у 21 з 42 обстежених); $p = 0,006$. При аналізі всіх обстежених виявлені тенденції до асоціації отриманої дози зовнішнього опромінення з кількістю балів за шка-

symptoms, there were also psycho-organic symptoms of varying degrees of severity (from cerebroasthenic to dementia). Therefore depressive disorders here were considered within the framework of an organic depressive disorder – F06.32. Patients in the main group were younger (54.61 ± 1.18 years) than control (58.86 ± 1.59 years; $p = 0.034$). The inverse correlation between age of patients and incidence of depression symptoms was revealed ($r = -0.276$; $p = 0.034$).

Patients in the two groups significantly differed ($p = 0.001$ in all cases) on the scales of SDS, BPRS and GHQ-28 (Fig. 1). However, the spectrum of somatic disease (analyzed the presence of coronary heart disease, myocardial infarction and stroke in history, arterial hypertension grade II and III, chronic diseases of the gastrointestinal tract and the bronchopulmonary system, endocrine pathology) was identical in both groups (Fig. 2). Also there were no significant differences in the mean scores of SDS, BPRS and GHQ-28 in patients with certain nosological forms. Thus, depressive states in the examined clean-up workers were not directly related to somatic pathology. Notably, that the majority of surveyed patients had a significant number of somatic diseases inherent to the clean-up workers group as a whole.

Depressive symptoms were more common among the ARS convalescents (88.2%, 15 of 17 surveyed) than in clean-up workers without ARS (50.0%, 21 of 42 patients); $p = 0.006$. Among all the surveyed, there was a trend towards association of the received external dose with SDS scale values ($r = 0.284$; $p = 0.043$);

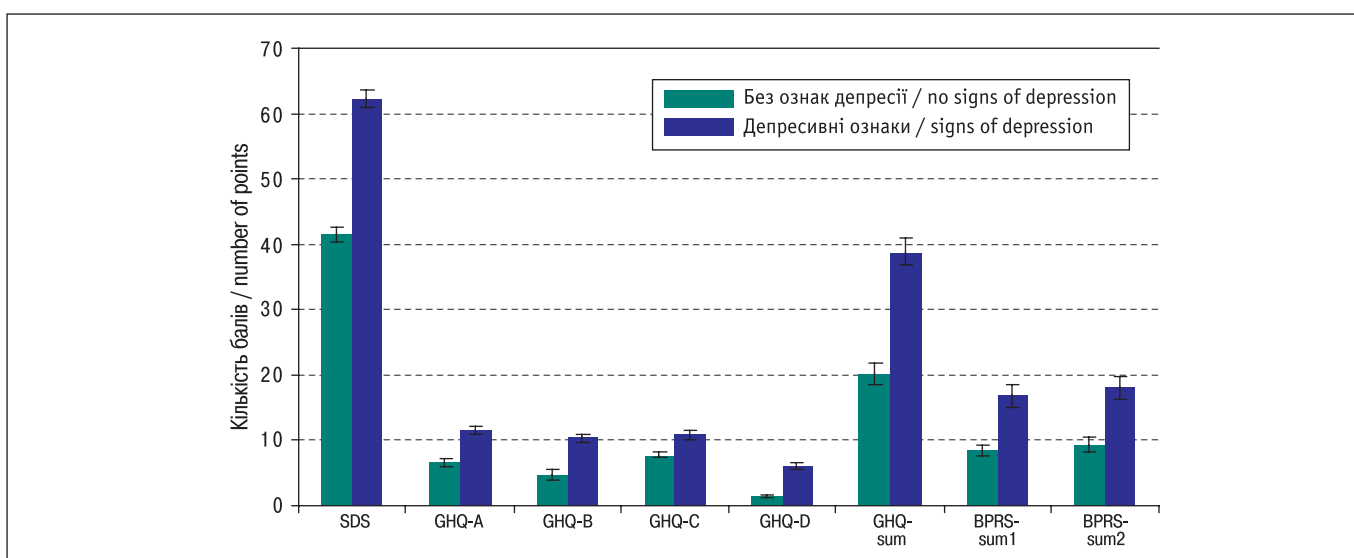


Рисунок 1. Кількість балів за шкалами опитувальників у обстежених учасників ЛНА залежно від ознак депресії.

Figure 1. Number of points on the questionnaires scales in the examined clean-up workers, depending on the signs of depression.

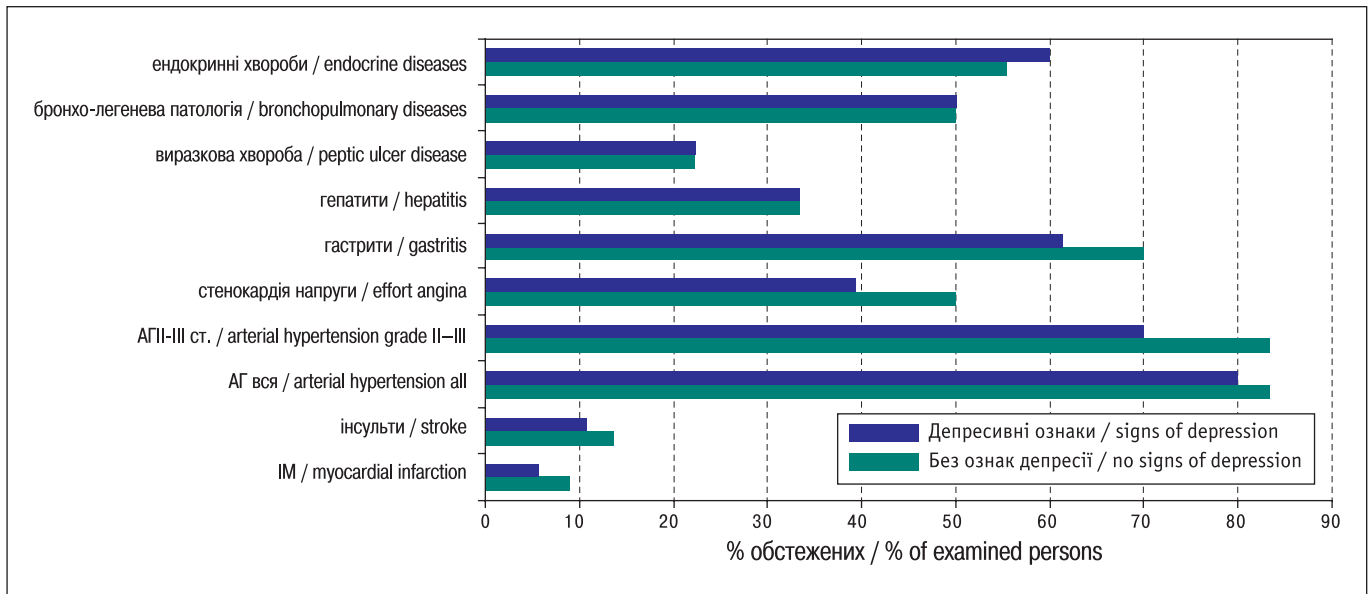


Рисунок 2. Кількість окремих соматичних захворювань у обстежених учасників ЛНА залежно від наявності ознак депресії. АГ - артеріальна гіпертензія, ІМ - інфаркт міокарда.

Figure 2. Number of somatic diseases in the clean-up workers depending on the presence of signs of depression. АГ - артеріальна гіпертензія, ІМ - інфаркт міокарда.

лою SDS ($r = 0,284$; $p = 0,043$), сумою балів за шкалою BPRS ($r = 0,686$; $p = 0,001$), наявністю депресії ($r = 0,323$; $p = 0,017$) та її важкістю ($r = 0,273$; $p = 0,051$). Однак, при аналізі окремо УЛНА та реконвалесцентів ГПХ ці асоціації були незначущими.

При порівнянні частоти окремих генотипів *SLC6A4* у обстежених нами УЛНА з великою групою європейців без психічних відхилень, виявлено збільшення кількості носіїв генотипу S/S ($p = 0,03$). Частота генотипу S/S наближалась до нормальних показників тільки у пацієнтів без психічної патології (25 %) та перевищувала її в усіх інших випадках (32 %). Ці дані співпадають з результатами інших дослідників, які виявили підвищену частоту генотипу S/S при значному спектрі психологічних порушень та психіатричних захворювань [18–21]. За розподілом генотипів *SLC6A4* УЛНА з ознаками депресії та без депресивної симптоматики не розрізнялись ($p = 0,749$) (табл. 2).

with the BPRS scale sum of scores ($r = 0.686$; $p = 0.001$); with depression ($r = 0.323$; $p = 0.017$) and its severity ($r = 0.273$; $p = 0.051$). But considering separately the clean-up workers and ARS convalescents these associations were insignificant.

When comparing the frequency of certain *SLC6A4* genotypes in the examined clean-up workers with a large group of Europeans without mental disorders, an increase in the number of carriers of the genotype S/S was detected ($p = 0.03$). The frequency of the genotype S/S was close to normal in patients without mental illness (25%) and exceeded it in all other cases (32%). These data coincide with the results of other researchers who found an increased frequency of the genotype S/S with a significant spectrum of psychological deviations and mental disorders [18–21]. According to the distribution of *SLC6A4* genotypes clean-up workers with and without depressive symptoms did not differ ($p = 0.749$) (Table 2).

Таблиця 2

Генотипи обстежених осіб за поліморфізмами 5-HTTLPR і rs25531 гена *SLC6A4*

Table 2

Genotypes of the examined patients for the polymorphisms of 5-HTTLPR and rs25531 of the *SLC6A4* gene

Обстежені групи / allele	Генотип / genotype					
	L _A /L _A	L _A /S	L _A /L _G	L _G /L _G	L _G /S	S/S
Основна / main	7 (19,4)	14 (38,9)	3 (8,3)	0	1 (2,8)	11 (30,6)
Контроль / control	6 (26,1)	6 (26,1)	2 (8,7)	0	2 (8,7)	7 (30,4)
Всі обстежені / all surveyed	13 (22,0)	20 (33,9)	5 (8,5)	0	3 (5,1)	18 (30,5)
Європейська популяція / European population n = 822 [17]	208 (25,30)	330 (40,15)	61 (7,42)	1 (0,12)	64 (7,79)	158 (19,22)

Враховуючи дані щодо функціональної значущості окремих алелів та за принципами, викладеними Hu et al. [16], ми провели розподіл пацієнтів на носіїв високоактивних форм гена *SLC6A4* (генотип L_A/L_A), проміжної (генотипи L_A/S , L_A/L_G) та низької активності (генотипи L_G/L_G , L_G/S , S/S). Співвідношення носіїв функціональних форм гена *SLC6A4* в основній групі та в контролі співпадало ($p = 0,629$) (рис.3).

Хоча частота низькофункціонального генотипу S/S вірогідно не розрізнялась у осіб основної та контрольної груп, тільки для носіїв цього генотипу була виявлена зворотна асоціація між розвитком депресії та віком пацієнта: $r = -0,503$ ($p = 0,033$), між розвитком депресії та часом від аварії на ЧАЕС: $r = -0,581$ ($p = 0,011$), а також позитивна кореляція розвитку депресії з дозою опромінення: $r = 0,515$ ($p = 0,025$).

Враховуючи взаємозв'язок між розвитком депресії та віком обстежених, ми також проаналізували розподіл генотипів *SLC6A4* в окремих вікових групах пацієнтів (до 50 років, 50–54 роки, 55–59 років, 60 років та старше). Виявилось, що серед осіб віком 55 років і старше розвиток депресії був асоційований зі зниженням частоти високофункціонального генотипу L_A/L_A : його частота становила 4,76 % за наявності депресивних рис та 31,25 % за їх відсутності ($p = 0,042$), причому розбіжності спостерігались незалежно від психіатричного діагнозу обстежених. В групі більш молодих пацієнтів розподіл генотипів залежно від ознак депресії не розрізнявся ($p = 0,476$).

Комбінований вплив віку та генотипу L_A/L_A на розвиток депресій був підтверджений уніваріантним аналізом: $F = 5,883$ ($p = 0,019$), окремо вплив віку:

Taking into account the data of the functional significance of distinct alleles and the principles set out by Hu et al. [16], we performed the distribution of patients on high-activity forms of the *SLC6A4* gene (genotype L_A/L_A), intermediate (genotypes L_A/S , L_A/L_G) and low activity (genotypes L_G/L_G , L_G/S , S/S). The ratio of carriers of functional forms of the *SLC6A4* gene in the main group and in the control coincided ($p = 0.629$) (Fig. 3).

Although the frequency of the low-function genotype S/S probably did not differ in the main and control groups, only in carriers of this genotype a reverse association between the development of depression and the age of the patient: $r = -0,503$ ($p = 0,033$), between the development of depression and the time from the accident on ChNPP: $r = -0.581$ ($p = 0.011$), as well as the positive correlation of depression with irradiation dose: $r = 0.515$ ($p = 0.025$) were revealed.

Taking into account the relationship between the development of depression and the age of the subjects, we also analyzed the distribution of *SLC6A4* genotypes in separate age groups of patients (up to 50 years, 50–54 years, 55–59 years, 60 years and older). Among people aged ≥ 55 , the development of depression was associated with a decrease in the frequency of highly functional genotype L_A/L_A : its frequency was 4.76% in the presence of depressive symptoms and 31.25% in their absence ($p = 0.042$). The differences were observed irrespective of the psychiatric diagnosis of the subjects. In the group of younger patients, the distribution of genotypes did not differ depending on the signs of depression ($p = 0.476$).

The combined effect of age and genotype L_A/L_A on development of depression was confirmed by a univariate analysis: $F = 5.883$ ($p = 0.019$), separately the

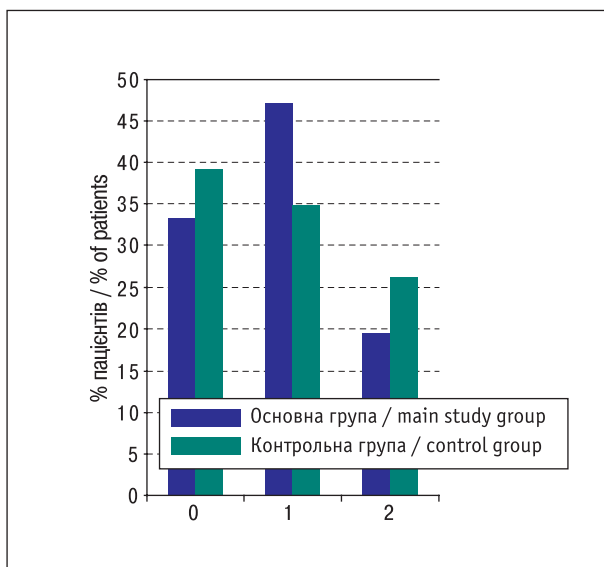


Рисунок 3. Розподіл носіїв окремих генотипів гена *SLC6A4* за функціональним принципом в основній і в контрольній групах обстежених осіб.

0 – експресія генотипів L_G , L_G/S , S/S низької активності, 1 – експресія генотипів L_A/S , L_A/L_G проміжної активності, 2 – експресія генотипу L_A/L_A високої активності) в основній і в контрольній групах обстежених осіб.

Figure 3. Distribution of carriers of certain genotypes of the *SLC6A4* gene according to the functional principle in the main and in the control groups of the examined persons.

0 – expression of genotypes L_G , L_G/S , S/S of low activity, 1 – expression of genotypes L_A/S , L_A/L_G of intermediate activity, 2 – expression of genotype L_A/L_A high activity.

$F = 4,527$ ($p = 0,038$), окремо вплив генотипу незначущий ($F = 0,533$; $p = 0,469$).

ВИСНОВОК

Таким чином, пілотний аналіз розподілу генотипів гена *SLC6A4* за поліморфізмами 5-HTTLPR і rs25531 в групі учасників ЛНА показав перспективність подальших досліджень внеску генотипів L_A/L_A і S/S в розвиток депресивних станів в комбінації з дією радіаційного чинника, наявністю коморбідної патології та посттравматичних розладів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Laidra K., Rahu K., Kalas K. E., Tekkel M., Leinsalu M. Mental disorders among Chernobyl cleanup workers from Estonia: A clinical assessment. *Psychol. Trauma*. 2017. Vol. 9, Suppl. 1. P. 93-97.
- Loganovsky K., Havenaar J. M., Tintle N. L., Guey L. T., Kotov R., Bromet E. J. The mental health of clean-up workers 18 years after the Chernobyl accident. *Psychol. Med*. 2008. Vol. 38, no. 4. P. 481-488.
- Bromet E. J., Havenaar J. M. Psychological and perceived health effects of the Chernobyl disaster: a 20-year review. *Health Phys*. 2007. Vol. 93, no. 5. P. 516-521.
- Панченко О. А., Табачников С. И., Кутько И. И. Психические расстройства у участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. 1996. Т. 96, № 5. С. 29-33.
- Логановский К. Н., Василенко З. Л. Депрессия и ионизирующее излучение. *Проблеми радіаційної медицини та радіобіології*. 2013. Вип. 18. С. 200-219.
- Otowa T., Kawamura Y., Tsutsumi A., Kawakami N., Kan C., Shimada T., Umekage T., Kasai K., Tokunaga K., Sasaki T. The First Pilot Genome-Wide Gene-Environment Study of Depression in the Japanese Population. *PLoS One*. 2016. Vol. 11, no. 8.
- Glick A. R. The role of serotonin in impulsive aggression, suicide, and homicide in adolescents and adults: a literature review. *Int. J. Adolesc. Med. Health*. 2015. Vol. 27, no. 2. P. 143-150.
- Lesch K. P., Bengel D., Heils A., Sabol S. Z., Greenberg B. D., Petri S., Benjamin J., Muller C. R., Hamer D. H., Murphy D. L. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science*. 1996. Vol. 274 (5292). P. 1527-1531.
- Praschak-Rieder N., Kennedy J., Wilson A. A., Hussey D., Boovariwala A., Willeit M., Ginovart N., Tharmalingam S., Masellis M., Houle S., Meyer J. H. Novel 5-HTTLPR allele associates with higher serotonin transporter binding in putamen: a [(11)C] DASB positron emission tomography study. *Biol. Psychiatry*. 2007. Vol. 62, no. 4. P. 327-331.
- Duman E. A., Canli T. Influence of life stress, 5-HTTLPR genotype, and SLC6A4 methylation on gene expression and stress response in healthy Caucasian males. *Biol. Mood Anxiety Disord*. 2015. Vol. 5. P. e2.
- Cervilla J. A., Molina E., Rivera M., Torres-Gonzalez F., Bellon J. A., Moreno B., Luna J. D., Lorente J. A., Mayoral F., King M., Nazareth I;

effect of age: $F = 4.527$ ($p = 0.038$), separately the effect of genotype is negligible ($F = 0.533$; $p = 0.469$).

CONCLUSION

The pilot analysis of the distribution of genotypes of the *SLC6A4* gene for the polymorphisms of 5-HTTLPR and rs25531 in the group of clean-up workers showed the prospect of further research into the contribution of L_A/L_A and S/S genotypes to the development of depressive states in combination with the action of the radiation factor, the presence of comorbid pathology and post-traumatic disorders.

REFERENCES

- Laidra K, Rahu K, Kalas KE, Tekkel M, Leinsalu M. Mental disorders among Chernobyl cleanup workers from Estonia: A clinical assessment. *Psychol Trauma*. 2017;9(Suppl 1):93-7.
- Loganovsky K, Havenaar JM, Tintle NL, Guey LT, Kotov R, Bromet EJ. The mental health of clean-up workers 18 years after the Chernobyl accident. *Psychol Med*. 2008;38(4):481-8.
- Bromet EJ, Havenaar JM. Psychological and perceived health effects of the Chernobyl disaster: a 20-year review. *Health Phys*. 2007;93(5):516-21.
- Panchenko OA, Tabachnikov SI, Kut'ko II. [Mental disorders in the participants in the cleanup of the aftermath of the accident at the Chernobyl Atomic Electric Power Station]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 1996;96(5):34-7.
- Loganovsky K. N., Vasilenko Z. L. Depression and ionizing radiation. *Probl Radiac Med Radiobiol*. 2013;18:200-19.
- Otowa T, Kawamura Y, Tsutsumi A, Kawakami N, Kan C, Shimada T, Umekage T, Kasai K, Tokunaga K, Sasaki T. The First Pilot Genome-Wide Gene-Environment Study of Depression in the Japanese Population. *PLoS One*. 2016;11(8).
- Glick AR. The role of serotonin in impulsive aggression, suicide, and homicide in adolescents and adults: a literature review. *Int J Adolesc Med Health*. 2015;27(2):143-50.
- Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg BD, Petri S, et al. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science*. 1996;274(5292):1527-31.
- Praschak-Rieder N, Kennedy J, Wilson AA, Hussey D, Boovariwala A, Willeit M, et al. Novel 5-HTTLPR allele associates with higher serotonin transporter binding in putamen: a [(11)C] DASB positron emission tomography study. *Biol Psychiatry*. 2007;62(4):327-31.
- Duman EA, Canli T. Influence of life stress, 5-HTTLPR genotype, and SLC6A4 methylation on gene expression and stress response in healthy Caucasian males. *Biol Mood Anxiety Disord*. 2015;5:e2.
- Cervilla JA, Molina E, Rivera M, Torres-Gonzalez F, Bellon JA, Moreno B, et al. The risk for depression conferred by stressful life

- PREDICT Study Core Group, Gutierrez B. The risk for depression conferred by stressful life events is modified by variation at the serotonin transporter 5HTTLPR genotype: evidence from the Spanish PREDICT Gene cohort. *Mol. Psychiatry.* 2007. Vol. 12. P. 748-55.
12. Xie P., Kranzler H. R., Poling J., Stein M. B., Anton R. F., Brady K., Weiss R. D., Farrer L., Gelernter J. Interaction effect of stressful life events and the serotonin transporter 5-HTTLPR genotype on posttraumatic stress disorder diagnosis in 2 independent populations. *Arch. Gen. Psychiatry.* 2009. Vol. 66. P. 1201-9.
13. Risch N., Herrell R., Lehner T., Liang K. Y., Eaves L., Hoh J., Griem A., Kovacs M., Ott J., Merikangas K. R. Interaction between the serotonin transporter gene (5-HTTLPR), stressful life events, and risk of depression: a meta analysis. *JAMA.* 2009. Vol. 301. P. 2462-71.
14. Karg K., Burmeister M., Shedden K., Sen S. The serotonin transporter promoter variant (5-HTTLPR), stress, and depression meta-analysis: revisited evidence of genetic moderation. *Arch. Gen. Psychiatry.* 2011. Vol. 68. P. 444-54.
15. Wendland J. R., Martin B. J., Kruse M. R., Lesch K. P., Murphy D. L. Simultaneous genotyping of four functional loci of human SLC6A4, with a reappraisal of 5-HTTLPR and rs25531. *Mol. Psychiatry.* 2006. Vol. 11, no. 3. P. 224-226.
16. Hu X., Oroszi G., Chun J., Smith T. L., Goldman D., Schuckit M. A. An expanded evaluation of the relationship of four alleles to the level of response to alcohol and the alcoholism risk. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2005. Vol. 29. P. 8-16.
17. Konneker T. I., Crowley J. J., Quackenbush C. R., Keefe R. S., Perkins D. O., Stroup T. S. et al. No association of the serotonin transporter polymorphisms 5-HTTLPR and RS25531 with schizophrenia or neurocognition. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 2010. Vol. 153B, no. 5. P. 1115-1117.
18. Petito A., Altamura M., Iuso S., Padalino F. A., Sessa F., D'Andrea G., Margaglione M., Bellomo A. The relationship between personality traits, the 5HTT polymorphisms, and the occurrence of anxiety and depressive symptoms in elite athletes. *PLoS One.* 2016. Vol. 11, no. 6. P. e0156601. doi: 10.1371/journal.pone.0156601.
19. Guo W. Y., Zhang Z. H., Mu J. L., Liu D., Zhao L., Yao Z. Y., Song J. G. Relationship between 5-HTTLPR polymorphism and post-stroke depression. *Genet. Mol. Res.* 2016. Vol. 15, no. 1. doi: 10.4238/gmr.15017460.
20. van der Doelen R. H., Deschamps W., D'Annibale C., Peeters D., Wevers R. A., Zelena D., Homberg J. R., Kozicz T. Early life adversity and serotonin transporter gene variation interact at the level of the adrenal gland to affect the adult hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Transl. Psychiatry.* 2014. Vol. 4. P. e409.
21. Wiggins J. L., Peltier S. J., Bedoyan J. K., Carrasco M., Welsh R. C., Martin D. M., Lord C., Monk C. S. The impact of serotonin transporter genotype on default network connectivity in children and adolescents with autism spectrum disorders. *Neuroimage Clin.* 2012. Vol. 2. P. 17-24.
- events is modified by variation at the serotonin transporter 5HTTLPR genotype: evidence from the Spanish PREDICT Gene cohort. *Mol Psychiatry.* 2007;12:748-55.
12. Xie Pingxing, Kranzler Henry R., Poling James, Stein Murray B., Anton Raymond F., Brady Kathleen, et al. Interaction effect of stressful life events and the serotonin transporter 5-HTTLPR genotype on posttraumatic stress disorder diagnosis in 2 independent populations. *Arch Gen Psychiatry.* 2009;66:1201-9.
13. Risch N, Herrell R, Lehner T, Liang KY, Eaves L, Hoh J, et al. Interaction between the serotonin transporter gene (5-HTTLPR), stressful life events, and risk of depression: a meta analysis. *JAMA.* 2009;301:2462-71.
14. Karg K, Burmeister M, Shedden K, Sen S. The serotonin transporter promoter variant (5-HTTLPR), stress, and depression meta-analysis: revisited evidence of genetic moderation. *Arch Gen Psychiatry.* 2011;68:444-54.
15. Wendland JR, Martin BJ, Kruse MR, Lesch KP, Murphy DL. Simultaneous genotyping of four functional loci of human SLC6A4, with a reappraisal of 5-HTTLPR and rs25531. *Mol Psychiatry.* 2006;11(3):224-6.
16. Hu X, Oroszi G, Chun J, Smith TL, Goldman D, Schuckit MA. An expanded evaluation of the relationship of four alleles to the level of response to alcohol and the alcoholism risk. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29:8-16.
17. Konneker TI, Crowley JJ, Quackenbush CR, Keefe RS, Perkins DO, Stroup TS, et al. No association of the serotonin transporter polymorphisms 5-HTTLPR and RS25531 with schizophrenia or neurocognition. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2010;153B(5):1115-7.
18. Petito A, Altamura M, Iuso S, Padalino FA, Sessa F, D'Andrea G, et al. The relationship between personality traits, the 5HTT polymorphisms, and the occurrence of anxiety and depressive symptoms in elite athletes. *PLoS One.* 2016;11(6):e0156601. doi: 10.1371/journal.pone.0156601.
19. Guo WY, Zhang ZH, Mu JL, Liu D, Zhao L, Yao ZY, Song JG. Relationship between 5-HTTLPR polymorphism and post-stroke depression. *Genet Mol Res.* 2016;15(1). doi: 10.4238/gmr.15017460.
20. van der Doelen RH, Deschamps W, D'Annibale C, Peeters D, Wevers RA, Zelena D, Homberg JR, Kozicz T. Early life adversity and serotonin transporter gene variation interact at the level of the adrenal gland to affect the adult hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Transl Psychiatry.* 2014;4:e409.
21. Wiggins JL, Peltier SJ, Bedoyan JK, Carrasco M, Welsh RC, Martin DM, Lord C, Monk CS. The impact of serotonin transporter genotype on default network connectivity in children and adolescents with autism spectrum disorders. *Neuroimage Clin.* 2012;2:17-24.