

На правах рукописи

Кондратьева Наталья Сергеевна

**ХАРАКТЕРИСТИКА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ
МАРКЕРОВ ПАТОГЕНЕЗА МИГРЕНИ**

03.02.07 – генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

МОСКВА – 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», биологический факультет

Научный руководитель:

доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник кафедры генетики биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», г. Москва

КЛИМОВ Евгений Александрович

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, рук. группы геномного анализа сигнальных систем клетки отдела геномики и постгеномных технологий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, г. Москва

БУЗДИН Антон Александрович

доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией клинической генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Научный центр психического здоровья", г. Москва

ГОЛИМБЕТ Вера Евгеньевна

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук», г. Москва

Защита состоится «___» _____ 2017 г. в ___:___ часов на заседании Диссертационного учёного совета Д 002.214.01 в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук – ИОГен РАН по адресу: 119991, ГСП-1, Москва, ул. Губкина, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИОГен РАН и на сайте Института www.vigg.ru, тел. 8-(499)-135-14-31.

Автореферат разослан «__» _____ 2017 г.

Учёный секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Синельщикова Т.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

По данным ВОЗ, мигрень является одной из ведущих причин потери трудоспособности (9 место). По данным эпидемиологических исследований, распространённость мигрени в мире за 1 год среди взрослого населения составляет в среднем от 10.2% (Stovner et al., 2007) до 14.7% (Steiner et al., 2013). В России цифры распространённости мигрени превышают мировые показатели почти в 1.5-2 раза – 20.3%, а ежегодные косвенные расходы (потеря дней трудоспособности) по причине первичных головных болей составляют 22.8 млрд долларов США (1.75% от валового внутреннего продукта России) (Auzenberg et al., 2014). Таким образом, мигрень является не только медицинской, но и значимой экономической проблемой.

До сих пор диагноз «мигрень» является исключительно клиническим, и любые диагностические тесты направлены лишь на исключение других причин головной боли (Осипова, 2010). Несмотря на наличие большого количества специфических противомигренозных препаратов, терапия пациентов с мигренью все ещё недостаточно эффективна. Значимой клинической проблемой является хронификация приступов мигрени и развитие хронической ежедневной головной боли, которая возникает у 1% пациентов в год (Katzarava and Limmroth, 2006). При этом около 10% пациентов с мигренью в популяции и 40-60% пациентов, обращающихся в специализированные центры головной боли, являются резистентными к стандартной терапии (Loder, 2009).

Соответственно, поиск биомаркёров мигрени, подтверждающих данный диагноз, а не опровергающих другие, является ведущим вектором развития в данном научном направлении.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время роль наследственного фактора в развитии мигрени не вызывает сомнения. Родственники пациентов с мигренью страдают от этого заболевания достоверно чаще, чем в общей популяции (Russell and Olesen, 1993). Популяционные исследования семей с мигренью выявили повышение в 1.5 раза риска развития заболевания у ближайших родственников (Russell and Olesen, 1995; Stewart et al., 1997). Изучение генов моногенных форм мигрени в популяции пациентов с классической мигренью с аурой и мигренью без ауры не дало результатов. Одним из подходов изучения мигрени является проведение ассоциативных исследований генов-кандидатов, способных повышать риск заболевания или определять особенности его течения. Показана ассоциация с мигренью многих генов, в частности регулирующих активность серотонинергической и дофаминергической систем, уровень женских половых гормонов и т.д.

В настоящее время активно ведутся исследовательские работы по поиску генов-кандидатов предрасположенности к мигрени. В 2010 году началась новая эра изучения генетики мигрени – закончено первое полногеномное исследование (GWAS), которое выявило мутацию в регуляторной

последовательности гена *MTDH* (регулятор транскрипционной активности гена белка-транспортера глутамата, *EAAT-2*) (Anttila et al., 2010). Тем не менее, данный ген не оказывал значимого влияния на формирование клинической картины самой мигрени (Esserlind et al, 2011).

Изучение потенциальных биохимических маркеров мигрени (белков и малых молекул) – также не показало однозначных результатов. Отмечено изменение уровня некоторых основных медиаторов при мигрени (Loder and Rizzoli, 2006; Durham and Papapetropoulos, 2013). Однако эти изменения по большей части выявлены в период приступа и не могут претендовать на роль инициирующих процесс молекул, т.к. являются скорее последствием приступа, а не его причиной.

Таким образом, современное состояние научных знаний в области молекулярной природы мигрени не даёт полного понимания причинно-следственной связи её патогенеза. Поэтому, представляется разумным вывод, что на сегодняшний день единственным адекватным подходом для изучения молекулярных механизмов патогенеза мигрени является анализ имеющейся литературы с использованием современных программных средств и построение схем сигнальных путей межмолекулярных взаимодействий на основе данных литературы с последующей экспериментальной проверкой молекулярно-генетических и биохимических изменений у пациентов с мигренью.

Цель исследования: характеристика молекулярно-генетических маркеров патогенеза мигрени с использованием схем сигнальных путей развития заболевания и ассоциативных исследований ключевых генов. Исходя из цели, были поставлены следующие **задачи исследования:**

1) Обработать имеющиеся в мировой литературе данные и определить список генов и белков, связанных с мигренью. На основании литературных данных построить схемы гипотетических сигнальных путей межмолекулярных взаимодействий, описывающие формирование приступа мигрени. Исходя из полученной информации, выбрать гены и функциональные полиморфные варианты в них для дальнейшего молекулярно-генетического анализа.

2) Определить частоты генотипов и аллелей полиморфных сайтов в отобранных генах в выборке пациентов с мигренью и в контрольной выборке, провести поиск ассоциаций исследуемых генов с мигренью.

3) Провести поиск ассоциаций комплексных генотипов исследуемых генов с мигренью.

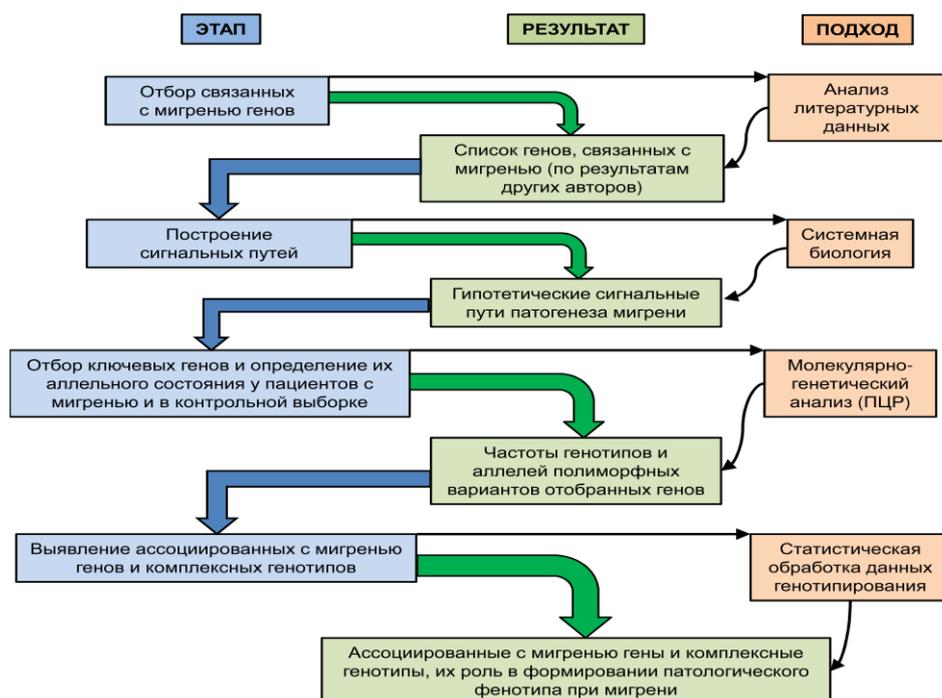
4) Соотнести выявленные ассоциации с изменениями в сигнальных путях, приводящих к формированию мигренозного приступа.

Положения, выносимые на защиту

- 147 генов, отобранных в результате анализа литературы, имеют связь с мигренью.
- Построенные уникальные схемы сигнальных путей межмолекулярных взаимодействий описывают возможные молекулярные механизмы патогенеза заболевания.

- Полиморфные варианты генов *CCAR* (rs1800857 генотипы CT+CC), *CKBR* (rs1805000 генотипы CT+TT), *MTHFR* (rs1801133 генотипы CT+TT), *NOS3* (rs2070744 генотип CC) и *ACE* (rs4646994 генотипы II+ID) имеют статистически значимые ассоциации с мигренью.
- Выявленные комплексные генотипы подтверждают значительный вклад в развитие заболевания аллеля С гена *CCAR* (rs1800857), увеличивающего риск развития в 21 раз.
- Результаты экспериментальных и биоинформационных исследований свидетельствуют в пользу дофаминовой теории патогенеза мигрени.

Общий план работы представлен в виде схемы:



Степень обоснованности научных результатов. Экспериментальная часть работы (выделение ДНК, ПЦР, гельэлектрофорез) сделана на сертифицированном оборудовании. Генотипирование с использованием ПЦР-ПДРФ проводилось в двух повторностях в случаях неоднозначной трактовки результатов. Генотипирование с использованием ПЦР в реальном времени проводилось в двух повторностях для всех образцов. Выбор исследуемых генов основан на анализе функций этих генов и их возможной роли в патогенезе мигрени; выбор полиморфных вариантов исследуемых генов основан на литературных данных. Частоты аллелей исследованных в работе генов в контрольной выборке соответствуют частотам минорных аллелей, представленных в NCBI (данные проекта 1000 Геномов), что свидетельствует о корректности полученных результатов. Статистическая обработка экспериментальных данных осуществлялась с использованием признанных программ. Схемы сигнальных путей межмолекулярных взаимодействий строились с использованием курируемой базы данных ResNet11 и коммерческой программы PathwayStudio 9.0 (Elsevier).

Апробация работы. Материалы работы докладывались на российских и международных конференциях: 17^{ой}, 18^{ой}, 19^{ой} и 20^{ой} Международной Пущинской школе-конференции молодых учёных «Биология – наука XXI века» в 2013, 2014, 2015, 2016 гг. (Россия, г.Пушино-на-Оке); VII Московском международном конгрессе «Биотехнология: состояния и перспективы развития» в 2013 г. (Россия, г.Москва); IX Международном Междисциплинарном Конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» в 2013 г. (Украина, г.Судак); XXII съезде физиологического общества им. И.П. Павлова в 2013 г. (Россия, г.Волгоград); VI Съезде Вавиловского Общества Генетиков и Селекционеров (ВОГиС) в 2014 г. (Россия, г.Ростов-на-Дону); Европейском конгрессе «8th Congress of the European Federation of IASP Chapters (EFIC)» в 2013 г. (Италия, г.Флоренция); Европейском конгрессе «Joint Congress of European Neurology» в 2014 г. (Турция, г.Стамбул); Европейском конгрессе «4th European Headache and Migraine Trust International Congress: ENMTIC 2014» в 2014 г. (Дания, г.Копенгаген,); VII съезде Российского общества медицинских генетиков в 2015 г. (Россия, г.Санкт-Петербург); Международном конгрессе «17th Congress of the International Headache Society (IHS 2015)» в 2015 г. (Испания, г.Валенсия); II Международной научной конференции «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы» в 2015 г. (Белоруссия, г.Минск).

Личный вклад автора в проведённые исследования. В диссертации представлены результаты исследований, выполненных самим автором. Автором самостоятельно проведён анализ литературных данных. Схемы сигнальных путей построены совместно с Е.А. Климовым. Экспериментальная часть исследования выполнена лично автором, за исключением: при анализе полиморфизма гена *MTHFR* использованы данные, получены ранее к.б.н. Коробейниковой Л.А.; 2 SNV в гене *DBH* проанализированы совместно с А.А. Анучиной, 3 SNV в гене *BDNF* – совместно с Т.О. Кочетковой. Статистическая обработка выполнена совместно с Е.А. Климовым. Полученные результаты обсуждались совместно с Е.А. Климовым и Ю.Э. Азимовой.

Структура и объем диссертации. Диссертация включает в себя список сокращений, введение, обзор литературы, экспериментальную часть (методы исследований, результаты и обсуждение), выводы, список цитируемой литературы. Работа изложена на 173 страницах машинописного текста, содержит 9 таблиц и 15 рисунков. Список литературы включает 370 источников, в том числе 8 на русском и 362 на английском языках. Диссертация содержит 4 приложения.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 36 публикаций в отечественных и зарубежных изданиях, из которых 7 – в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК МОН РФ для защиты диссертаций, 5 статей в других изданиях, 24 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях (в том числе 11 опубликованных в ведущих российских и зарубежных изданиях).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1 «Обзор литературы» состоит из двух частей. В первой части дается подробное описание патогенезу, этиологии, классификации и эпидемиологии мигрени. Во второй части обсуждаются данные молекулярно-генетических исследований по выявлению генных мутаций в моногенных подтипах мигрени, данные ассоциативных исследований генов-кандидатов из различных функциональных семейств генов и дается описание шести полногеномных ассоциативных исследований, проведенных международными консорциумами.

Материалы и методы

Формирование выборки больных

В исследование включены 146 неродственных пациентов с диагнозом мигрень с аурой или мигрень без ауры, проживающих в Москве и Московской области. Диагноз установлен в соответствии с критериями Международной классификации головной боли III (ICHD III, 2013г). Все пациенты проходили клинические исследования в Лаборатории неврологии и клинической нейрофизиологии НИЦ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова и в Университетской клинике головной боли. Для учёта клинических характеристик пациентов разработана «Индивидуальная карта пациента с головной болью». Средний возраст пациентов с мигренью 41.6 ± 12.5 лет. В качестве популяционного контроля в работе использовали образцы ДНК, выделенной из цельной крови необследованных жителей Москвы (363 человека). Работа одобрена Локальным этическим комитетом ИОГен РАН.

Молекулярно-генетические методы

Для выделения ДНК из цельной крови использовали коммерческий набор ДНК Magna™ DNA Prep 200 (ООО «Лаборатория ИзоГен», Москва).

Оценку аллельного состояния генов *CCK* (rs1157184), *CCK1R* (rs1799723, rs1800908, rs1800857), *CCK2R* (rs1805002, rs1805000), *DBH* (rs1611115, rs2097629), *MTHFR* (rs1801133), *MTR* (rs1805087), *BDNF* (rs2049046, rs6265, rs11030107), *CGRP* (rs1553005) осуществляли методом ПЦР-ПДРФ с использованием ферментов Bsc4I, HinfI, PstI, Bst4CI, BstDEI, FauI, BstMAI, HaeIII, PspCI, TaqI, MnlI. Продукты рестрикции разделяли в 2% агарозном геле.

Аллельное состояние генов *ACE* (rs4646994) и *DBH* (rs141116007) оценивали с помощью ПЦР (набор «HS Taq ДНК полимераз», ЗАО «Евроген», Москва) с последующим разделением продуктов амплификации в 2% и 3% агарозном геле, соответственно.

Для замен в генах *NOS1* (rs41279104), *NOS2* (rs2779249), *NOS3* (rs2070744), *MTDH* (rs1835740), *SNAP25* (rs11547859) аллельное состояние определяли с помощью ПЦР в реальном времени, используя коммерческий набор qPCR mix (ЗАО «Евроген», Москва) и аллель-специфичные TaqMan-зонды, синтезированные в ООО «ДНК-синтез».

Методы статистического анализа

Статистическую обработку проводили с помощью программ WinPeri и APSampler v3.6. Для построения генных сетей (signaling pathways)

использовались программный продукт PathwayStudio (версия 9.0) и реферативная база ResNet11.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поиск в базах данных научной литературы генов, ассоциированных с мигренью

Достоверные биомаркёры мигрени, особенно генетические маркёры, могут позволить прогнозировать предрасположенность к болезни и тяжести её течения. В ходе работы произведён поиск информации о генетических маркёрах, ассоциированных с мигренью. Исходный список генов составлен с использованием программы PathwayStudio9® и реферативной базы данных ResNet11® компании Elsvier (США). В результате анализа отобраны все гены, для которых программа нашла связь GeneticChange с мигренью.

Далее детально анализировались статьи из списка. Учитывались оригинальные статьи, со статистически значимыми результатами, а также обзоры, включающие значимую информацию (указание, каким образом ген связан с мигренью, наличие ссылки на статью с оригинальным исследованием). На основе полученных результатов была построена таблица, включающая информацию: название гена, возможные причины связи с мигренью, маркёры, метод детекции, параметры выборки, комментарии, ссылка (PubMedID).

В результате анализа найдено 147 генов, связанных с мигренью. Далее эти гены, для удобства, распределены по их участию в выполнении различных процессов (тонус сосудов, метаболизм нейротрансмиттеров, транспорт и рецепция нейротрансмиттеров, мембранный потенциал, нейрогенез, воспаление, другое) и функционировании разных систем (глутаматергическая, серотонинергическая, дофаминергическая, цикл фолатов, половые гормоны, сосуды, ионные каналы, иммунная система, внеклеточный матрикс, болевая чувствительность, другие), задействованных в патогенезе мигрени.

Гипотетические схемы сигнальных путей мигрени

Одна из основных проблем в изучении механизмов патогенеза мигрени – отсутствие моделей данного заболевания у животных (за исключением СГМ). СГМ значимо отличается от классической мигрени по клиническим характеристикам и сопутствующим заболеваниям, а также по типу наследования. Сходными являются только несколько симптомов, из которых на наш взгляд следует обратить внимание на ауру, распространяющуюся корковую депрессию (РКД), вазодилатацию и боль.

Гипотетические схемы сигнальных путей патогенеза семейной гемиплегической мигрени

На данном этапе работы мы провели анализ молекулярных и межклеточных процессов при патогенезе 3-х форм семейной гемиплегической мигрени. Особенности СГМ являются большая частота ауры, нейрональная гипервозбудимость и РКД.

Ген *CACNA1A* кодирует основную субъединицу вольтаж-зависимых нейрональных кальциевых каналов (Cav2.1, функция - модуляция выхода глутамата) (Catterall, 1998). Мутации гена *CACNA1A* вызывают развитие СГМ I типа (ФНМ1) и связаны с различными вариантами каналопатий: нарушение проводимости ионного канала, изменение его кинетики или структуры (Сао et al., 2004; Hans et al., 1999; Kraus et al., 2000; Tottene et al., 2002), что приводит к усилению тока ионов кальция через вольтаж-зависимые каналы и выбросу нейромедиаторов.

Ген *ATP1A2* кодирует $\alpha 2$ субъединицу глиальной и нейрональной K^+/Na^+ -АТФазы, и мутации в этом гене приводят к развитию СГМ II типа (ФНМ2) (Maagdenberg et al., 2010). Снижение активности K^+/Na^+ -АТФазы приводит к нарушению обратного захвата клетками глии глутамата из синаптической щели.

Ген *SCN1A*, мутации в котором приводят к развитию СГМ III типа (ФНМ3), кодирует структуру формирующей пору $\alpha 1$ -субъединицы вольтаж-зависимых натриевых каналов (Nav1.1). Этот тип ионных каналов представлен преимущественно в теле и проксимальной части дендритов ингибирующих вставочных нейронов (Yu et al., 2006). Подобное специфическое расположение Nav1.1-каналов играет ключевую роль в развитии гипервозбудимости дендритов, важнейшего компонента синаптической передачи.

Исходя из этих данных, были построены схемы гипотетических молекулярных сигнальных путей, описывающие причины и возможные механизмы для развития ауры и РКД, в случае СГМ. Результат представлен на рисунке 1.

В случае СГМ1 происходит повышение внутриклеточного кальция, что приводит к слиянию везикул с мембраной и выбросу глутамата в синаптическую щель. При СГМ2 снижение или потеря активности активации K^+/Na^+ -АТФазы приводит к накоплению калия в межклеточном пространстве, а натрия внутри клетки. Это нарушает работу транспортеров глутамата и увеличивает концентрацию глутамата в синаптической щели. Мутация в гене СГМ3 приводит к изменению транспорта натрия через мембрану, что ведет к увеличению внутриклеточного кальция и выбросу глутамата в синаптическую щель. Таким образом, ключевым моментом в нашей схеме является патологическое увеличение при всех типах СГМ концентрации глутамата в синаптической щели. Дальше при всех типах СГМ молекулярные процессы идут одинаково.

Глутамат активирует NMDA рецепторы на постсинаптических нейронах. Активация NMDA рецепторов приводит к деполяризации мембраны, посредством выброса калия на поверхность клетки из внутриклеточного пространства. Гипердеполяризация является основой для возникновения РКД – распространяющейся деполяризации клеток мозга. Аура, предшествующая мигренозному приступу, является следствием РКД.

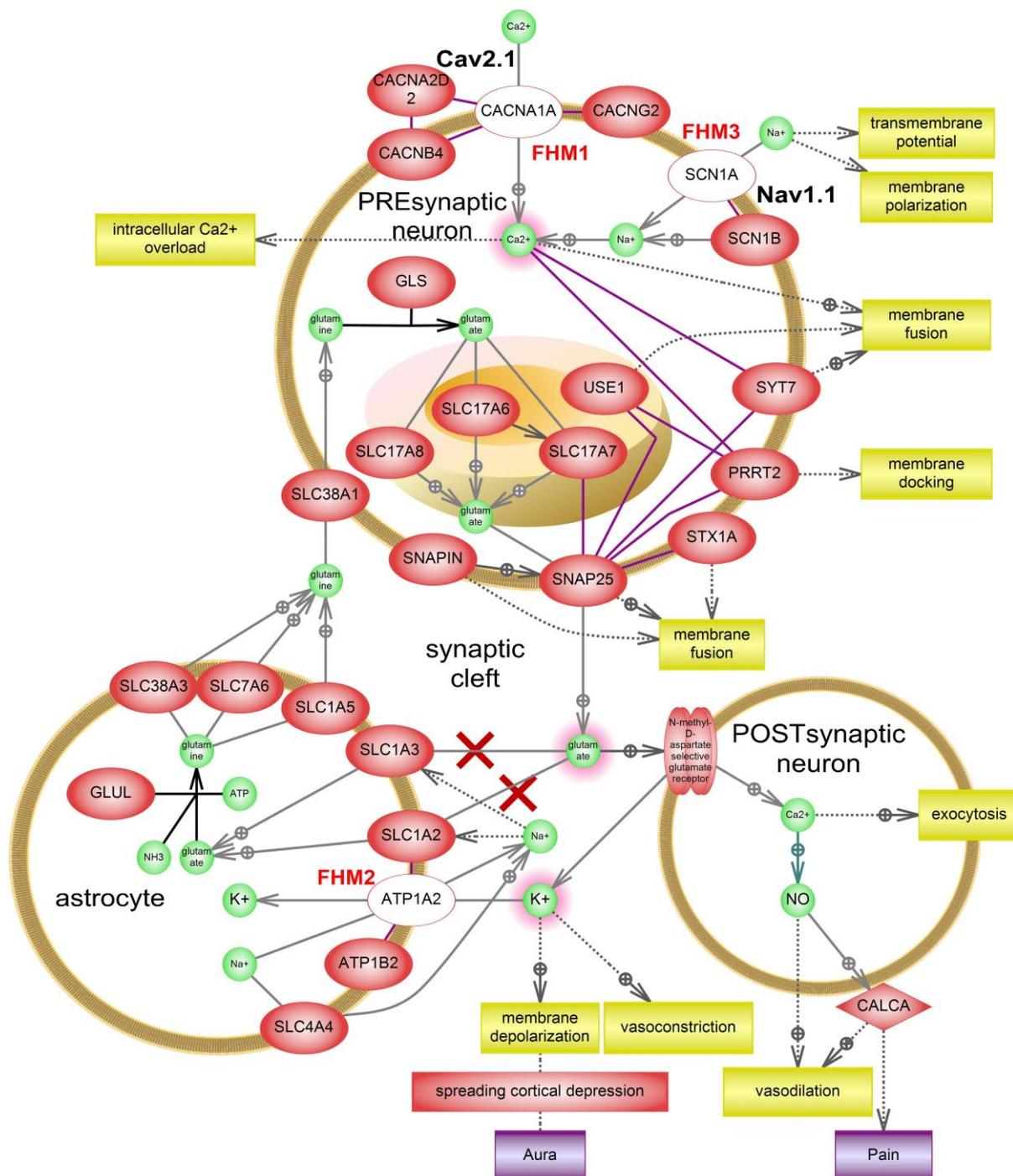


Рисунок 1. Сигнальные пути, ведущие к развитию корковой распространяющейся депрессии => ауре и вазодилатации + боли. Выбелены – белки с потерей функциональности. Подсвечены красным – молекулы с патологическим увеличением концентрации.

Также выброс калия приводит к вазоконстрикции ближайших сосудов. По данным некоторых авторов, вазоконстрикция предшествует боли и вазодилатации и происходит параллельно с РКД (Gunner et al., 2008; Viola et al., 2012). Далее в постсинаптических нейронах происходит индукция синтеза оксида азота (NO), который в свою очередь приводит к выбросу CGRP (CALCA), что соответственно и приводит к развитию вазодилатации и боли.

Слева изображён цикл глутамат-глутамин-глутамат. Синтез глутамата происходит в пресинаптических нейронах (фермент GLS – глутаминаза). Удаление глутамата из синаптической щели осуществляют астроциты. В астроцитах происходит перевод глутамата в глутамин с участием АТФ, NH_3 и фермента GLUL (глутамат-аммоний лигаза). Далее глутамин транспортируется во внеклеточное пространство, а затем захватывается нейронами, где снова переводится в глутамат.

Таким образом, в настоящем исследовании впервые предложена модель сигнальных путей всех форм семейной гемиплегической мигрени. Новизна данной модели заключается в выявлении общей точки пересечения патологических молекулярных процессов – избытка глутамата в синаптической щели, далее реализующего процессы, ведущие к основным симптомам мигрени. Данная модель может быть использована как отправная точка для создания схем сигнальных путей обычной мигрени.

Гипотетические схемы сигнальных путей классической мигрени

При построении схем сигнальных путей классической мигрени мы опирались на имеющиеся у нас схемы сигнальных путей СГМ. Основные теоретические предпосылки: сосудистая теория мигрени, роль распространяющейся корковой депрессии на начальных этапах приступа, участие в патогенезе мигрени глутамата и дофамина. Другой критерий, также определивший стратегию работы, - поместить на схемы сигнальных путей как можно больше молекул из созданного списка ассоциированных с мигренью генов и белков.

Всего построено 8 схем сигнальных путей: «Цикл фолатов», «Синтез и циркуляция дофамина», «Эффекты дофамина в постсинаптическом нейроне», «Выброс и циркуляция глутамата», «Эффект глутамата в постсинаптическом нейроне», «Активация эндотелиальной NO-синтазы в клетках эндотелия сосудов», «Процессы, происходящие в клетке гладкой мускулатуры сосуда» и «Активация выброса CGRP (CALCA), приводящая к возникновению боли и расширению сосудов». Первые 7 вошли в автореферат в обобщённом виде в связи с ограниченностью места.

На рисунке 2 представлена обобщённая и сокращённая схема сигнальных путей патогенеза начальных стадий мигрени. На данной схеме отображены следующие процессы. **1.** Активация выброса и обратного захвата дофамина в дофаминергическом нейроне (dopaminergic neuron) посредством активации рецепторов холецистокинина. Рецептор CCKAR расположен на теле нейрона (neuron body) и контролирует выброс дофамина, рецептор CCKBR располагается на пресинаптической терминали (presynaptic terminal), контролируя обратный захват дофамина, опосредованный D2 рецептором дофамина. Также отражены белки, участвующие в синтезе и деградации дофамина.

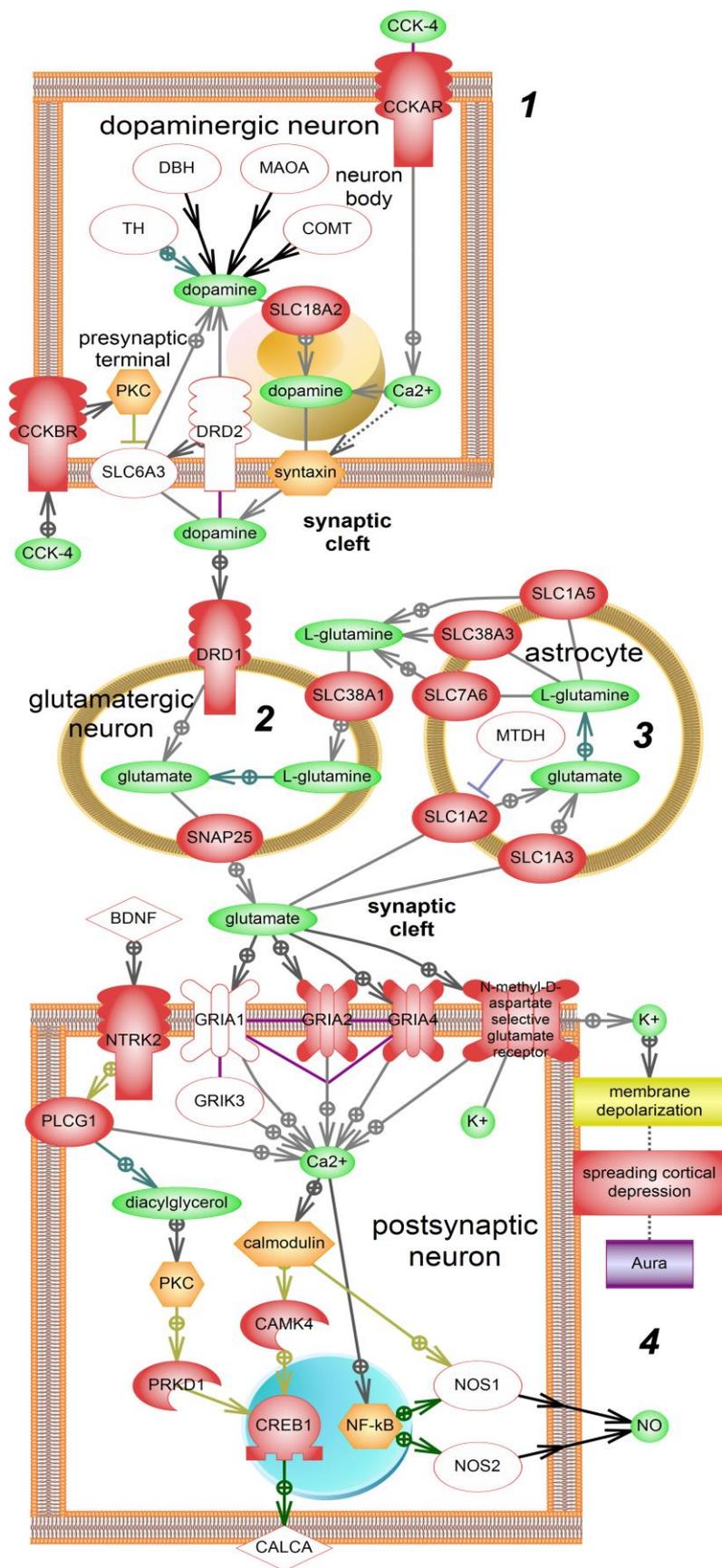


Рисунок 2. Обобщённая и сокращённая (в связи с ограниченностью места в автореферате) схема сигнальных путей патогенеза мигрени. Выбелены белки, кодируемые ассоциированными с мигренью генами (по данным литературы).

2. На глутаматергическом нейроне (glutamatergic neuron) находятся D1 рецепторы дофамина, опосредующие выброс глутамата, контролируемый, в том числе, белком SNAP25.

3. Астроциты (astrocyte) изымают избыток глутамата из синапса (synaptic cleft) и переводят его в глутамин, передавая последний нейронам.

4. Постсинаптический нейрон (postsynaptic neuron) несёт рецепторы глутамата: ионотропные (N-methyl-D-aspartate selective glutamate receptor) и метаботропные (GRIA1, GRIA2 и GRIA4). Их активация приводит к накоплению кальция (Ca²⁺) в клетке и активации множества процессов, в том числе экспрессии CGRP (CALCA), нейрональной (NOS1) и индуцибельной синтаз азота (NOS2). Также активация ионотропных рецепторов глутамата приводит к выбросу калия (K⁺) из клетки и деполяризации мембраны (membrane depolarization), что является началом РКД (spreading cortical depression) и ауры (Aura).

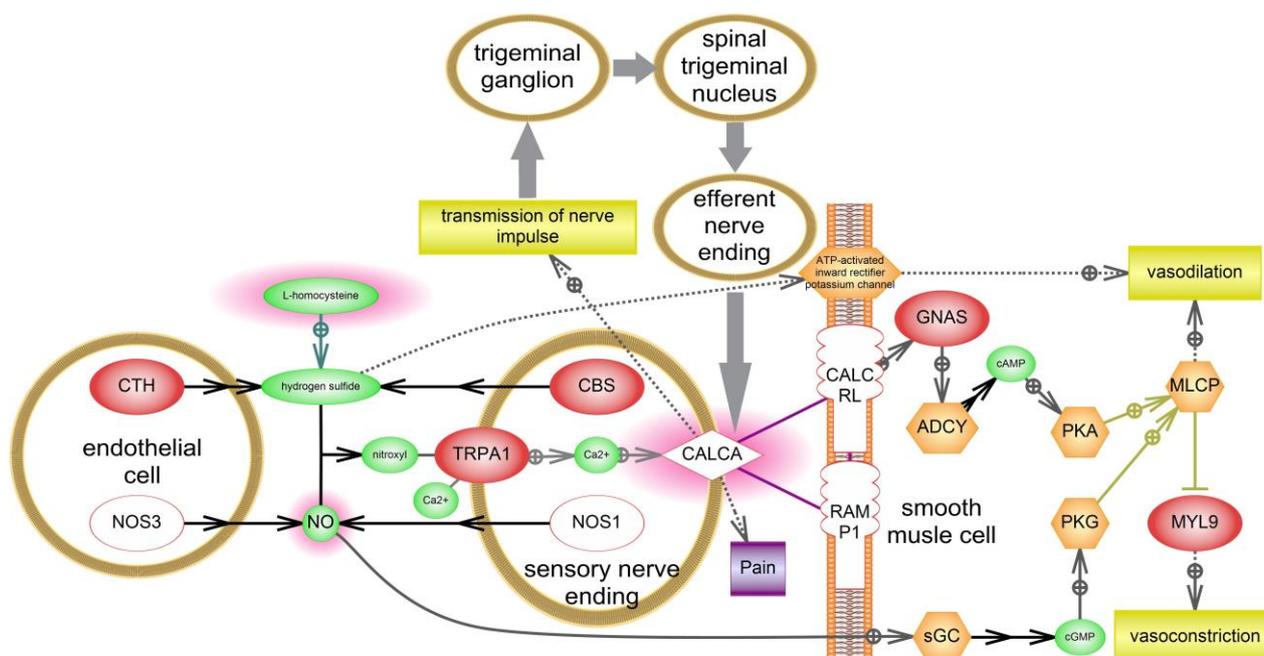


Рисунок 3. Активация выброса CGRP (CALCA), приводящая к возникновению боли и расширению сосудов. Выделены белки, кодируемые ассоциированными с мигренью генами (по данным литературы).

В работах последних лет (Eberhardt et al., 2014; Dux et al., 2015) выявлены механизмы, способные активировать одновременно два процесса, ассоциированных с мигренью: расширение менингеальных сосудов (вазодилатация) и боль. В клетках эндотелия сосудов и в нервных окончаниях синтезируются оксид азота (NO) и гидроген сульфид (H_2S). Эндогенный H_2S производится преимущественно посредством метаболизма серосодержащих аминокислот: начиная с метионина и его преобразования в гомоцистеин. В организме образование H_2S происходит с участием: цистатионин- γ -лиазы (cystathionine- γ -lyase, CTH), цистатионин- β -синтазы (cystathionine- β -synthase, CBS). Белок CTH локализован в основном в эндотелиальных клетках сосудов, а CBS – в нейронах. Оба фермента используют цистеин в качестве основного субстрата при продукции H_2S (Huang et al., 2015). Также H_2S действует на АТФ-чувствительные калиевые каналы (ATP-activated inward rectifier potassium channel) гладкомышечных клеток, что также способствует вазодилатации.

Стоит отметить, что при нарушениях в цикле фолатов имеет место избыток гомоцистеина, а большинство рассмотренных сигнальных путей ведёт к активации NO-синтаз. Оба вещества (NO и H_2S) свободно проникают через мембраны клеток, взаимодействуя, они образуют молекулу нитроксил (HNO), которая активирует на окончаниях тройничного нерва TRPA1 рецептор, это приводит к притоку кальция в клетку. Внутриклеточный кальций активирует экзоцитоз и выброс CGRP (CALCA). Последний активирует вазодилатацию за счёт релаксации гладкой мускулатуры сосудов, и боль, взаимодействуя с афферентом тройничного нерва. При этом сигнал возвращается на окончание

нерва и повторно активизирует приток кальция и выброс CGRP. Соответственно, приводя к образованию единожды запущенного цикла, выброс CGRP запускает цикл реакций, приводящих к возникновению самого приступа боли и сопутствующей ему вазодилатации. Завершение мигренозной атаки является собой затухание этого циклического сигнала и может быть связано с истощением CGRP.

Впервые построенные нами схемы молекулярных сигнальных путей патогенеза мигрени имеют большое значение для фундаментальных исследований причин развития приступа. Практическое использование полученных схем – выявление новых точек лекарственного воздействия для терапии мигрени.

Поиск ассоциаций генов *ACE*, *BDNF*, *ССК*, *ССКАR*, *ССКВR*, *СGRP*, *DBH*, *MTDH*, *MTHFR*, *MTR*, *NOS1*, *NOS2*, *NOS3* и *SNAP25* с мигренью

Для данных генов отобраны ранее изученные в работах других исследователей полиморфные варианты (кроме гена *SNAP25*, SNV в котором ранее не исследовалась). Исследования ассоциаций генов *ССК*, *ССКАR*, *ССКВR*, *SNAP25* с мигренью не проводилось, для генов *MTR*, *NOS1*, *NOS2*, *NOS3* имелись единичные работы. Одним из критериев отбора полиморфных сайтов в данных генах являлась частота минорного аллеля не менее 5% (исключением явились замены в генах *ССКВR*, *DBH* и *SNAP25*). Практически все отобранные для анализа полиморфные сайты несут функциональное значение. Это поможет в дальнейшем оценить их роль в изменении молекулярных сигнальных путей.

Критерии отбора генов и замен в них для молекулярно-генетического анализа:

1. Поиск ассоциаций полиморфных вариантов гена *MTHFR* с мигренью проводился многими исследователями на разных выборках, кроме российской. Замена аланина на валин (rs1801133) приводит к уменьшению активности *MTHFR* (Rozen, 1997). Для полной картины был включен ген, кодирующий другой фермент фолатного цикла – *MTR*. Замена аспарагиновой кислоты на глицин (rs1805087) уменьшает активность фермента *MTR*, что приводит к повышению гомоцистеина (Matsuo et al., 2001).
2. Принимая во внимание сосудистую теорию патогенеза мигрени, мы включили в анализ ген *ACE*, продукт которого участвует в регуляции кровяного давления. Полиморфный вариант (289BP ALU)/- (FWD), вставка / делеция ALU элемента) связан с существенным повышением уровня *ACE* в плазме (Agerholm-Larsen et al., 2000; Staessen et al., 1997) и экспрессии мРНК *ACE* в тканях (Mizuiru et al., 2001; Suehiro et al., 2004) у носителей D аллеля или DD генотипа.
3. Гены *BDNF*, *DBH*, *NOS1*, *NOS2*, *NOS3* показали перспективными исходя из построенных схем сигнальных путей. Аллель Т (rs41279104, *NOS1*) ассоциирован со снижением экспрессии гена (Saur et al., 2004). Аллель А (rs2779249, *NOS2*) и аллель С (rs2070744, *NOS3*) – с увеличением и снижением транскрипционной активности *NOS2* (Fu et al., 2009) и *NOS3*

(Nakayama et al., 1999), соответственно. Замена rs6265 в гене *BDNF* – аллель Met ассоциирован с аномальной внутриклеточной упаковкой предшественника BDNF и снижением продукции зрелого BDNF в клетках (Chen et al., 2004; Egan et al., 2003). Для замен rs2049046 и rs11030107 в гене *BDNF* функциональное значение не определено. Гомозиготы del/del гена *DBH* (rs141116007) – с низким уровнем активности DBH в плазме (Cubells et al., 2000). Замена С на Т (rs1611115) изменяет транскрипционную активность гена и снижает уровень DBH в плазме. Замена р.Arg535Cys (rs6271) может привести к изменению активности DBH путем образования дисульфидного мостика (Ates et al., 2013).

4. Ген *CGRP* (*CALCA*) отобран для молекулярно-генетического анализа, т.к. в крови пациентов с мигренью выявлен повышенный уровень белка CGRP.
5. Для гена *MTDH* найдена ассоциация с мигренью в ходе GWAS. Аллель Т (rs1835740) ассоциирован с повышенной экспрессией *MTDH* (Anttila et al., 2010)
6. Причина изучения генов *ССК*, *ССКАR*, *ССКВR* – ассоциация данных генов с паническим расстройством, коморбидным мигрени. Концентрация ССК пептидов у носителей генотипов СТ и ТТ (rs11571842, *ССК*) значительно ниже, чем у носителей генотипа СС (Shindo and Yoshioka, 2005). Полиморфные варианты rs1799723 и rs1800908 гена *ССКАR* находятся в области, участвующей в регуляции функции промотора (Takata et al., 2002). Аллель С (rs1800857) может влиять на эффективность сплайсинга первичного транскрипта *ССКАR*, что может привести к изменению уровня белка ССКАR (Ocklenburg et al., 2013). Замена валина на изолейцин (rs1805002) в гене *ССКВR* может повлиять на аффинность рецептора к его лигандам (Kato et al., 1996). Замена р.Leu37Phe (rs1805000) изменяет аминокислотную последовательность рецептора (Okubo and Harada, 2001).
7. Ген *SNAP25* не изучался при мигрени. Его продукт, белок SNAP25, является мишенью для Ботокса, инъекция которого помогает 70% пациентов с мигренью.

Определение частот генотипов и аллелей в выборке пациентов и случайной выборке

Соответствие равновесию Харди-Вайнберга в контрольной выборке (тест χ^2) не соблюдается только для замен: rs1805002 (*ССКВR*, $p=7.0E-5$), rs1801133 (*MTHFR*, $p=0.008$), rs2049046 (*BDNF*, $p=0.0006$), rs1611115, rs141116007 и rs6271 (*DBH*, $p=0.007$, $p=0.04$, $p=0.01$), rs4646994 (*ACE*, $p=0.01$), rs2070744 (*NOS3*, $p=0$).

При изучении полиморфного варианта rs11547859 (с.227А>G) в гене *SNAP25* не обнаружено минорного аллеля G в Московской популяции, вследствие чего эта замена далее не исследовалась.

Поиск ассоциаций полиморфных вариантов исследуемых генов с мигренью

Для поиска ассоциаций полиморфных вариантов исследуемых генов с мигренью проводился статистический анализ с использованием программы WinPeri. Анализировались доминантная и рецессивная модель наследования

для каждой замены. Учитывалось значение критерия Пирсона (χ^2) и критерий Фишера (F). Статистически значимыми считались результаты со значением $p < 0.05$. В автореферате представлены только статистически значимые ассоциации (таблица 1).

Таблица 1. Выявленные ассоциации генотипов генов с мигренью.

Ген, замена	Генотипы	МИГР	КОНТР	χ^2 , p	F(p)	OR	CI95%	МОД
<i>MTHFR</i> rs1801133	CC	0,386	0,570	10.405	0.001	0.48	0.29-0.77	дом.
	CT+TT	0,614	0,430	0.001		2.10	1.30-3.40	
<i>CCKAR</i> rs1800857	TT	0,124	0,749	165.305	9.2E-9	0.05	0.03-0.08	дом.
	CT+CC	0,876	0,251	0.000		21.09	11.94-38.56	
<i>CCKBR</i> rs1805000	CC	0,655	0,900	44.054	1.7E-9	0.21	0.13-0.35	дом.
	CT+TT	0,345	0,100	3.2E-11		4.75	2.84-7.96	
<i>NOS3</i> rs2070744	CT+TT	0,822	0,897	5.220	0.026	0.53	0.30-0.96	рец.
	CC	0,178	0,103	0.022		1.88	1.04-3.35	
<i>ACE</i> rs4646994	DD	0,226	0,327	5.027	0.030	0.60	0.37-0.96	дом.
	II+ID	0,774	0,673	0.025		1.67	1.04-2.70	

χ^2 , p – значение хи-квадрат и p-value, F(p) – критерий Фишера (значение p-value), OR – отношение шансов; CI95% – 95% доверительный интервал; МОД – модели наследования: дом. – доминантная модель наследования; рец. – рецессивная модель наследования.

Таким образом, нами **выявлены ассоциации замен в генах *CCKAR*, *CCKBR*, *MTHFR*, *NOS3* и *ACE* с мигренью**, для каждой из данных замен определён характер наследования. Найденная ранее другими группами исследователей из разных стран ассоциация с мигренью аллеля Т замены rs1801133 в гене *MTHFR* подтверждена нами и на выборке из Москвы и Московской области. Для гена *ACE* (Ins/Del) литературные данные противоречивы, что, по-видимому, зависит от популяционной выборки и критериев отбора пациентов. Нами показано доминантное наследование рискового аллеля I (инсерция). Ассоциация генотипа CC гена *NOS3* показана ранее другими авторами в составе комплексных генотипов. Однако её значение не обсуждается. Ассоциация с мигренью генов *CCKAR* и *CCKBR* показана нами впервые. Относительный риск (RR) для носителей генотипов CT+CC замены rs1800857 гена *CCKAR* равен 9.39. Для остальных ассоциированных замен RR не превышает 2.60. Не найдено ассоциаций для замен в генах *BDNF*, *CGRP*, *DBH*, *CCK*, *MTDH*, *MTR*, *NOS1* и *NOS2* с мигренью.

Поиск ассоциаций комплексных генотипов исследуемых генов с мигренью

Поиск полигенных ассоциаций, предсказывающих индивидуальную предрасположенность к многофакторному заболеванию, осуществлялся с помощью программы APSampler. Данная программа разработана для поиска составных генетических биомаркеров методом Монте-Карло Марковскими цепями (MCMC). Этот метод не чувствителен к равновесию Харди-Вайнберга, ибо он обладает большей мощностью за счёт применения Байесовской статистики.

Проведён полигенный анализ предрасположенности к мигрени у жителей Москвы и Московской области. В анализ взяты данные о генотипах 146 пациентов и 363 контролей по 21 полиморфным участкам 13 генов-кандидатов (SNV в гене *SNAP25* не включён в полигенный анализ).

В результате анализа выявлен 41 комплексный генотип, ассоциированный с мигренью, которые характеризовались уровнем значимости $p_{(Westfall-Young)} \leq 0.01$ (на 1000 пермутаций) (Westfall, Young, 1993), $FDR \leq 5 \cdot 10^{-5}$, $p_{perm} \leq 5 \cdot 10^{-5}$, p -value с поправкой Бонферрони (Bland, Altman, 1995) не превышала $p_{Bonf} \leq 2.3 \cdot 10^{-6}$. Это свидетельствует о высокой достоверности полученных ассоциаций.

Из всех выявленных ассоциаций паттернов аллелей и генотипов отобраны сочетания аллелей, которые повышали риск развития мигрени более чем в 10 раз (таблица 2), т.к. на наш взгляд меньший уровень ассоциации не столь интересен для применения в клинической практике. В ходе исследования протекторных комплексных генотипов ($OR < 1$) не обнаружено.

Таблица 2. Результат анализа ассоциаций сочетаний аллелей, повышающих риск развития мигрени, рассчитан программой APSampler.

Паттерн информативных аллелей	Мигр, %	Контр, %	F(p)	OR	CI(95%)	Perm, p
ССКАR_rs1800857:C; ССКBR_rs1805002:G; NOS1_rs41279104:G	86.9	21.7	1.28e-42	23.93	13.85 - 41.34	<1/1000
ССКАR_rs1800857:C; NOS1_rs41279104:G	87.6	22.5	1.58e-42	24.28	13.94 - 42.30	<1/1000
DBH_rs6271:C; ССКАR_rs1800857:C; ССКBR_rs1805002:G	86.8	22.1	5.67e-42	23.34	13.52-40.31	<1/1000
DBH_rs6271:C; ССКАR_rs1800857:C	87.6	22.9	6.91e-42	23.70	13.61-41.27	<1/1000
ССКАR_rs1800857:C; ССКBR_rs1805002:G; NOS3_rs2070744:C	86.2	22.5	7.84e-41	21.55	12.62 - 36.81	<1/1000
DBH_rs1611115:C; ССКАR_rs1800857:C; NOS3_rs2070744:C	85.5	21.8	8.71e-41	21.13	12.47 - 35.82	<1/1000
ССКАR_rs1800857:C; NOS3_rs2070744:C	86.9	23.3	9.23e-41	21.86	12.70 - 37.61	<1/1000
ССКАR_rs1800857:C	87.6	25.1	6.96e-40	21.09	12.20 - 36.47	<1/1000

F(p) – значение p -value, критерий Фишера; *Perm, p* – значение p -value после пермутационного теста (Westfall-Young), *OR* – отношение шансов; *CI95%* – 95% доверительный интервал.

Всего нашим параметрам ($OR > 10$) соответствовало 7 ассоциированных с мигренью комплексных генотипов. Во всех случаях имеет место наличие аллеля ССКАR_rs1800857:C, для которого OR более 21. Полученные данные полигенного анализа указывают на участие доминантного аллеля ССКАR_rs1800857:C в развитии мигрени, как и результаты анализа одиночных

маркёров. Минорные маркеры (аллели генов *ССКАR*, *NOS3*, *NOS1* и *DBH*) усиливают действие *ССКАR_rs1800857:C*. Данные о влиянии замен на функцию генов и их продуктов суммированы в таблице 3.

В остальные 34 комплексных генотипа входят аллели генов: *ССКАR_rs1800857:T*, *MTDH_rs1835740:C*, *ССКАR_rs1800908:G*, *ССКАR_rs1799723:A*, *ССКBR_rs1805000:T*, *BDNF_rs6265:G* ($OR \leq 6$). Во всех случаях отсутствуют основной аллель предрасположенности *ССКАR_rs1800857:C*. Отдельную группу составляют комплексные генотипы, содержащие аллель *MTHFR_rs1801133:T* в комплексе с аллелями других генов – *DBH_INDEL:D*, *DBH_rs2097629:T*, *BDNF_rs2049046:T*, *ACE_rs4646994:I* ($OR < 4,5$). Наличие этих аллелей незначительно увеличивает негативные эффекты *MTHFR_rs1801133:T*.

Таблица 3. Эффекты замен, входящих в состав комплексных генотипов.

Замена	Эффект
<i>ССКАR_rs1800857:C</i>	↓ ?
<i>ССКBR_rs1805002:G</i>	WT
<i>NOS1_rs41279104:G</i>	↑
<i>DBH_rs6271:C</i>	WT
<i>NOS3_rs2070744:C</i>	↓
<i>DBH_rs1611115:C</i> ;	WT

Примечание: Стрелка вниз – снижение функции белка или активности гена, вверх – увеличение, WT – аллель «дикого типа» (не меняющий активности гена или белка), ? – эффект не доказан (предположение).

Для наглядного отображения эффектов ассоциированных замен из 7 комплексных генотипов была построена схема сигнального пути только с участием основных нейротрансмиттеров (определённых ранее с помощью построенных схем сигнальных путей патогенеза мигрени) и продуктов генов, входящих в состав комплексных генотипов (рисунок 4). Также на рисунке представлены болезни и клинические параметры / клеточные процессы, которые имеют место при развитии мигренозной головной боли.

Ассоциированный с заболеванием аллель *ССКАR_rs1800857:C* вероятно приводит к снижению эффективности сплайсинга мРНК гена *ССКАR* и, как следствие, к уменьшению количества рецепторов на мембране. Ассоциированные с мигренью аллели генов *ССКBR* (*rs1805002:G*) и *DBH* (*rs6271:C* и *rs1611115:C*) представляют «дикий тип», т.е. не имеют негативного эффекта.

При таком сочетании аллелей генов *ССКАR*, *ССКBR* и *DBH* получается, что эффективно происходит обратный захват и деградация дофамина, но, вероятно, нарушен его выброс. Т.е. имеет место снижение дофамина в синаптической щели и уменьшение функциональности дофаминовой передачи сигнала. Это согласуются с дофаминовой теорией патогенеза мигрени.

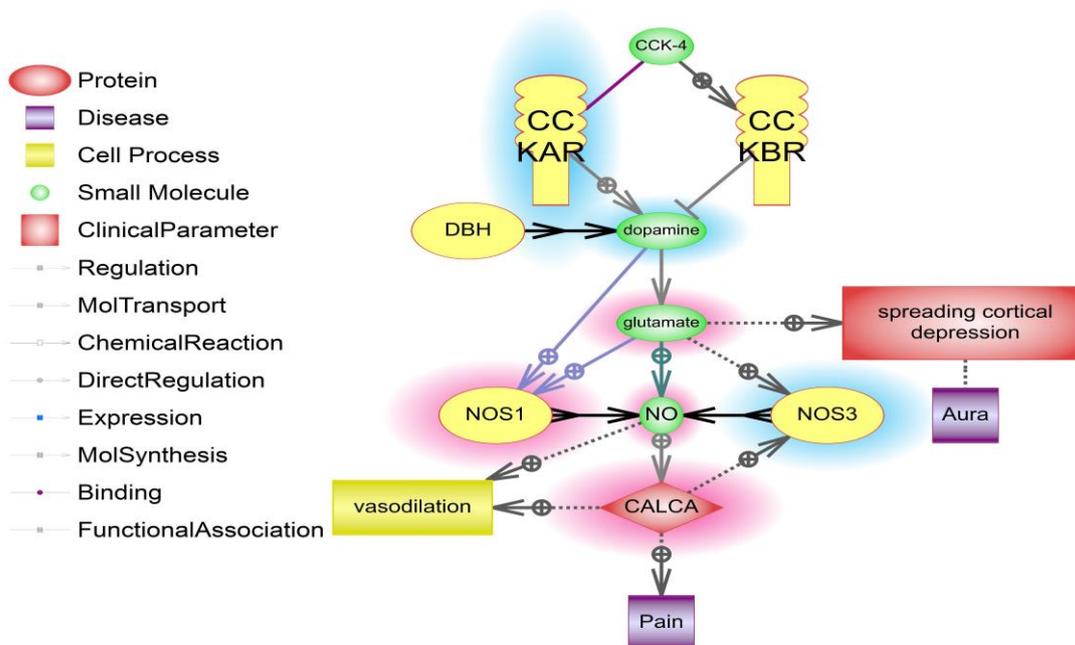


Рисунок 4. Схема патогенеза мигрени с учётом полученных нами данных по ассоциации с заболеванием комплексных генотипов. Описание в тексте.

Между тем, снижение уровня дофамина, как и любого другого нейромедиатора, компенсируется увеличением чувствительности его рецепторов – ответ превышает нормальные значения. В таком случае, при возникновении внешнего стимула достаточной силы для выброса большего, чем в обычном состоянии, количества дофамина, происходит более сильная активация сигнальных путей ниже рецепторов дофамина. В частности, это приводит к увеличенному выбросу глутамата, который инициирует синтез оксида азота, а также увеличение его содержания, что способно вызвать РКД и ауру.

Замены в генах NO-синтаз также входят в состав комплексных генотипов. Аллель G нейрональной NO-синтазы (*NOS1*) влияет на транскрипционную активность гена, увеличивая количество белка. Как следствие, увеличивается выход оксида азота. Аллель С эндотелиальной NO-синтазы (*NOS3*) напротив снижает эффективность транскрипции гена. В составе комплексных генотипов этот аллель уменьшает OR. Однако влияние *NOS3* на патогенез мигрени имеет место, нами также показано, что аллель С уменьшает вероятность хронификации мигрени в 2 раза (Klimov et al., 2016).

Активация синтеза оксида азота приводит к вазодилатации и выбросу CGRP (CALCA), который не только усиливает вазодилатацию, но и активирует эндотелиальную NO-синтазу и вызывает боль.

Таким образом, результаты нашей работы доказывают, что в основе развития мигрени может лежать дофаминовая теория патогенеза – дисфункция дофаминергической системы может быть причиной последующих молекулярных событий в ходе приступа мигрени. Между тем, центральным нейромедиатором, по всей видимости, является глутамат, т.к. его избыток при СГМ не связан с гипофункцией дофамина.

Молекулы NO и CGRP являются ответственными за основные симптомы мигрени – вазодилатацию и боль.

ВЫВОДЫ

1) Впервые построены схемы молекулярных сигнальных путей, описывающие гипотетические механизмы патогенеза мигрени, на основе созданного нами по литературным данным списка из 147 генов, функционально ассоциированных с мигренью. Отобрано 14 генов (22 полиморфных сайта) для дальнейшего молекулярно-генетического анализа.

2) Определены частоты генотипов и аллелей замен в генах *ACE*, *BDNF*, *ССК*, *ССКАR*, *ССКВR*, *CGRP*, *DBH*, *MTDH*, *MTHFR*, *MTR*, *NOS1*, *NOS2*, *NOS3* и *SNAP25* у пациентов (n=146), страдающих мигренью, и контрольной группы (n=363). Статистически значимые ассоциации с мигренью выявлены для полиморфных вариантов генов *ССКАR* (rs1800857 TC+CC, p=9.2E-9), *ССКВR* (rs1805000 CT+TT, p=1.7E-9), *MTHFR* (rs1801133 CT+TT, p=0.001), *NOS3* (rs2070744 генотип CC, p=0.026) и *ACE* (rs4646994 II+ID, p=0.030). Наибольший вклад в развитие заболевания вносит аллель *ССКАR_rs1800857:C*, повышающий риск развития мигрени более чем в 9 раз (RR=9.39).

3) Выявлено 7 значимых комплексных генотипов (OR>10), в которых представлен ассоциированный с мигренью аллель *ССКАR_rs1800857:C*. Новых ассоциаций с мигренью не выявлено.

4) Оценена роль аллелей 5 генов, входящих в состав 7 значимых комплексных генотипов, в изменении молекулярных сигнальных путей. Полученные нами данные свидетельствует в пользу дофаминовой теории патогенеза мигрени.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в зарубежных изданиях и изданиях, рекомендованных ВАК МОН РФ:

1. Julia E. Azimova, Alexey V. Sergeev, Liubov A. Korobeynikova, **Natalia S. Kondratieva**, Zarema G. Kokaeva, Gadji O. Shaikhaev, Kirill V. Skorobogatykh, Natalia M. Fokina, Gyusal R. Tabeeva, and Eugene A. Klimov. Effects of MTHFR gene polymorphism on the clinical and electrophysiological characteristics of migraine // BMC Neurology. 2013. 13:103. DOI: [10.1186/1471-2377-13-103](https://doi.org/10.1186/1471-2377-13-103)
2. З.Г. Кокаева, Т.О. Кочеткова, Е.В. Афончикова, **Н.С. Кондратьева**, Е.А. Климов. Исследование полиморфизма гена нейротрофического фактора головного мозга (BDNF) у жителей Москвы // Генетика. 2013. Т.49. №12. С.1432–1435. DOI: [10.7868/S0016675813120047](https://doi.org/10.7868/S0016675813120047)
3. Azimova J., **Kondratieva N.**, Sergeev A., Skorobogatykh K., Kochetkova T., Kokaeva Z., Rachin A., Tabeeva G., Klimov E. The role of polymorphism of regulatory region of MTDH gene (rs1835740) in migraine and other forms of primary headaches // Journal of Neurology & Stroke. 2015. V.3. №4. 00101. С.1-5. DOI: [10.15406/jnsk.2015.02.00101](https://doi.org/10.15406/jnsk.2015.02.00101)

4. Azimova J., **Kondratieva N.**, Sergeev A., Skorobogatykh K., Kokaeva Z., Rachin A., Tabeeva G., Klimov E. The Role of BDNF Gene Polymorphism in Formation of Clinical Characteristics of Migraine // Journal of Neurology & Stroke. 2016. V.4. №2. 00123. DOI: [10.15406/jnsk.2016.04.00123](https://doi.org/10.15406/jnsk.2016.04.00123)
5. **Кондратьева Н.С.**, Анучина А.А., Кокаева З.Г., Наумова Е.А., Азимова Ю.Э., Сергеев А.В., Скоробогатых К.В., Табеева Г.Р., Климов Е.А. Генетика мигрени // Медицинская генетика. 2016. Т.15. №1. С.3-12.
6. E. Klimov, N. **Kondratieva**, K. Skorobogatykh, J. Azimova, A. Sergeev, Z. Kokaeva, E. Naumova, A. Rachin, G. Tabeeva. The polymorphism of regulatory region of NOS3 gene (rs2070744, genotype CC) protect patients from chronic migraine // British Journal of Medicine & Medical Research. 2016. V.16. №10. P.1-7. DOI: [10.9734/BJMMR/2016/26738](https://doi.org/10.9734/BJMMR/2016/26738)
7. **Natalia Kondratieva**, Julia Azimova, Kirill Skorobogatykh, Alexey Sergeev, Elena Naumova, Zarema Kokaeva, Arina Anuchina, Olga Rudko, Gyuzyal Tabeeva, Eugene Klimov. Biomarkers of migraine: Part 1 – Genetic markers // Journal of the Neurological Sciences. 2016. V.369. P.63–76. DOI: [10.1016/j.jns.2016.08.008](https://doi.org/10.1016/j.jns.2016.08.008)

Публикации в других изданиях:

8. Климов Е., Рудько О., **Кондратьева Н.**, Кокаева З., Азимова Ю., Сергеев А., Скоробогатых К., Табеева Г. Семейная гемиплегическая мигрень: гипотетические сигнальные пути патогенеза // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация. Сборник статей под редакцией В.П. Зинченко, А.В. Бережнова. 2013. Т.1. С.269-274. DOI: [10.13140/RG.2.1.1322.6328](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1322.6328)
9. **Кондратьева Н.**, Климов Е., Кокаева З., Азимова Ю., Скоробогатых К., Сергеев А., Табеева Г. Анализ частоты аллелей замены А/Г (rs11547859) в гене SNAP25, являющимся мишенью Ботокса, у пациентов с мигренью и в контрольной выборке из московского региона // Журнал Международный Научный Институт "Educatio". 2014. №7. С.84-86. DOI: [10.13140/RG.2.1.1224.3285](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1224.3285)
10. Климов Е.А., Рудько О.И., **Кондратьева Н.С.**, Кокаева З.Г., Азимова Ю.Э., Скоробогатых К.В., Сергеев А.В., Табеева Г.Р. Гипотетические сигнальные пути патогенеза семейной гемиплегической мигрени I типа // Журнал Научный фонд "Биолог". 2015. № 6. С.25-28. DOI: [10.13140/RG.2.1.1471.9447](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1471.9447)
11. Анучина А.А., **Кондратьева Н.С.**, Афончикова Е.В., Наумова Е.А., Кокаева З.Г., Азимова Ю.Э., Скоробогатых К.В., Сергеев А.В., Табеева Г.Р., Рудько О.И., Климов Е.А. Полиморфизм гена DBH-AS1 в патогенезе мигрени и панических расстройств // Журнал Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe. 2016. №5-5. С.11-16. DOI: [10.13140/RG.2.1.1083.1761](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1083.1761)
12. Наумова Е.А., Азимова Ю.Э., **Кондратьева Н.С.**, Анучина А.А., Сергеев А.В., Скоробогатых К.В., Кокаева З.Г., Рудько О.И., Табеева Г.Р., Климов Е.А. Связь аллеля Т замены XR_928434.1:N.1748+4013T>C с мигренью, пучковой и

хронической головными болями // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. №10 часть 2, С.258-262.

Тезисы докладов:

13. **N. Kondratyeva**, J. Azimova, E. Klimov, A. Sergeev, N. Fokina, Z. Kokaeva, O. Rudko, G. Tabeeva. Association of cholecystokinin receptor 1 gene polymorphism and migraine // Journal of the Neurological Sciences. 2013. V.333. Suppl.1. P.e481. DOI: [10.1016/j.jns.2013.07.1707](https://doi.org/10.1016/j.jns.2013.07.1707)
14. J. Azimova, A. Sergeev, N. Fokina, G. Tabeeva, Z. Kokaeva, **N. Kondratyeva**, T. Kochetkova, E. Klimov. The rs1835740 variant on 8q22.1 in episodic and chronic migraine // European Journal of Neurology. 2014. V.21. Suppl.1. P.414.
15. Azimova J., Sergeev A., Fokina N., Tabeeva G., Kokaeva Z., **Kondratyeva N.**, Kochetkova T., Klimov E. THE rs1835740 variant on 8q22.1 in episodic and chronic migraine // Journal of Neurology. 2014. Vol. 261, Suppl.1. P. S276-S277.
16. A. Sergeev, J. Azimova, E. Klimov, K. Skorobogatykh, Z. Kokaeva, **N. Kondratyeva**, T. Kochetkova, G. Tabeeva. Positive association between -1021C/T polymorphism of dopamine-b-hydroxylase gene and level substance dependence in medication-overuse headache // The Journal of Headache and Pain. 2014. V.15. Suppl.1. B33.
17. **N.S. Kondratyeva**, J.E. Azimova, A. Sergeev, K. Skorobogatykh, N.M. Fokina, Z.G. Kokaeva, G.R. Tabeeva, E.A. Klimov. Association of polymorphisms of genes of NO synthases and migraine in Moscow // Cephalalgia. 2015. V.35(6S). P.266. (Abstracts from the 17th Congress of the International Headache Society (IHC 2015)) DOI: [10.13140/RG.2.1.1478.3761](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1478.3761)
18. K. Skorobogatykh, **N. Kondratyeva**, J. Azimova, A. Sergeev, N. Fokina, Z. Kokaeva, G. Tabeeva, E. Klimov. Investigation of BDNF and CGRP gene variants in migraine // Cephalalgia. 2015. V.35(6S). P.267. (Abstracts from the 17th Congress of the International Headache Society (IHC 2015)) DOI: [10.13140/RG.2.1.4099.8160](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4099.8160)
19. A. Sergeev, J. Azimova, K. Skorobogatykh, E. Klimov, **N. Kondratyeva**, Z. Kokaeva, G. Tabeeva. Association of angiotensin-converting enzyme (ACE) gene (insertion/deletion) polymorphism (rs4646994) with migraine // Cephalalgia. 2015. V.35(6S). P.268. (Abstracts from the 17th Congress of the International Headache Society (IHC 2015)) DOI: [10.13140/RG.2.1.3149.5447](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3149.5447)
20. **Н.С. Кондратьева**, З.Г. Кокаева, Т.О. Кочеткова, Е.В. Афончикова, Е.А. Климов. Анализ полиморфизма гена BDNF у жителей Москвы // Материалы VII Московского международного конгресса «Биотехнология: состояния и перспективы развития». Москва, 19-22.03.2013. С.133-134.
21. **Кондратьева Н.С.**, Кочеткова Т.О., Афончикова Е.В., Азимова Ю.Э., Сергеев А.В., Скоробогатых К.В., Кокаева З.Г., Климов Е.А. Поиск ассоциации полиморфизма гена SCK1R с мигренью // Сборник тезисов 17^{ой} Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых “Биология – наука XXI века”. Пущино, 21-26.04.2013. С.204.
22. Кочеткова Т.О., Азимова Ю.Э., **Кондратьева Н.С.**, Кокаева З.Г., Сергеев А.В., Скоробогатых К.В., Табеева Г.Р., Климов Е.А. Молекулярные механизмы патогенеза мигрени: анализ литературных данных и построение генных сетей //

- Сборник тезисов 17^{ой} Международной Пушинской школы-конференции молодых ученых “Биология – наука XXI века”. Пушино, 21-26.04.2013. С.209.
23. **Кондратьева Н.С.**, Кочеткова Т.О., Кокаева З.Г., Рудько О.И., Азимова Ю.Э., Сергеев А.В., Скоробогатых К.В., Табеева Г.Р., Климов Е.А. Молекулярные механизмы патогенеза мигрени // Сборник тезисов IX Международного Междисциплинарного Конгресса «Нейронаука для медицины и психологии». Судак, Украина, 3-13.06.2013. С.182.
24. Климов Е.А., **Кондратьева Н.С.**, Кочеткова Т.О., Кокаева З.Г., Азимова Ю.Э., Сергеев А.В., Скоробогатых К.В., Табеева Г.Р. Сигнальные пути патогенеза мигрени // Тезисы XXII съезда физиологического общества им. И.П. Павлова. Волгоград. 16-20.09.2013. С.232.
25. A. Sergeev, J. Azimova, E. Klimov, Z. Kokaeva, **N. Kondratieva**, T. Kochetkova, G. Tabeeva. Association between medication overuse headache and 1021C/T polymorphism of the dopamine-beta-hydroxylase gene // Abstract Book of the 8th Congress of the European Federation of IASP Chapters (EFIC). Florence, Italy. 9-12.10.2013. P.531.
26. **Кондратьева Н.С.**, Азимова Ю.Э., Сергеев А.В., Скоробогатых К.В., Табеева Г.Р., Кокаева З.Г., Климов Е.А. Поиск ассоциации генов холецистокининергической и дофаминергической системы с мигренью // Сборник тезисов 18^{ой} Международной Пушинской школы-конференции молодых ученых “Биология – наука XXI века”. Пушино, 21-25.04.2014. С.256.
27. Климов Е.А., Рудько О.И., Кокаева З.Г., Соболев В.В., **Кондратьева Н.С.**, Афончикова Е.В., Кочеткова Т.О. Ассоциативные исследования в медицинской генетике: будущие перспективы // Тезисы докладов VI Съезда Вавиловского Общества Генетиков и Селекционеров и ассоциированные генетические симпозиумы. Ростов-на-Дону, 15-20.06.2014. С.93.
28. Анучина А.А., Скоробогатых К.В., Сергеев А.В., Афончикова Е.В., **Кондратьева Н.С.** Вклад полиморфизма гена DBH-AS1 в патогенез панических расстройств и мигрени // Сборник тезисов 19^{ой} Международной Пушинской школы-конференции молодых ученых “Биология – наука XXI века”. Пушино, 20-24.04.2015. С.216-217.
29. **Кондратьева Н.С.**, Азимова Ю.Э., Скоробогатых К.В., Сергеев А.В., Кокаева З.Г., Табеева Г.Р., Климов Е.А. Анализ полиморфных вариантов генов ACE, BDNF, CCK, CCK1R, CCK2R, CGRP, DBH, MTDH, MTHFR, MTR, NOS1, NOS2, NOS3 с мигренью // Сборник тезисов 19^{ой} Международной Пушинской школы-конференции молодых ученых “Биология – наука XXI века”. Пушино, 20-24.04.2015. С.240.
30. Анучина А.А., Азимова Ю.Э., Скоробогатых К.В., Сергеев А.В., Фокина Н.М., Кокаева З.Г., **Кондратьева Н.С.**, Афончикова Е.В., Табеева Г.Р., Климов Е.А. Полиморфизм гена DBH-AS1 в патогенезе мигрени и панических расстройств // Медицинская генетика. 2015. Т.14. №2. С.9-10. Материалы VII съезда Российского общества медицинских генетиков. Санкт-Петербург. 19-23.05.2015.
31. Климов Е.А., Скоробогатых К.В., Сергеев А.В., Азимова Ю.Э., Соболев В.В., **Кондратьева Н.С.**, Афончикова Е.В., Наумова Е.А., Кокаева З.Г., Рудько

О.И. Ген-симптом – новый подход в ассоциативных исследованиях многофакторных заболеваний на примере мигрени // Медицинская генетика. 2015. Т.14. №3. С.13-14. Материалы VII съезда Российского общества медицинских генетиков. Санкт-Петербург. 19-23.05.2015.

32. **Кондратьева Н.С.**, Азимова Ю.Э., Скоробогатых К.В., Сергеев А.В., Кокаева З.Г., Табеева Г.Р., Климов Е.А. NO-синтазы и мигрень: роль полиморфных вариантов генов в патогенезе заболевания // Медицинская генетика. 2015. Т.14. №3. С.18. Материалы VII съезда Российского общества медицинских генетиков. Санкт-Петербург. 19-23.05.2015.

33. Наумова Е.А., Афончикова Е.В., Азимова Ю.Э., Фокина Н.М., **Кондратьева Н.С.**, Рудько О.И., Кокаева З.Г., Климов Е.А. Роль полиморфных вариантов генов холецистокининергической системы мозга в патогенезе панических расстройств // Медицинская генетика. 2015. Т.14. №3. С.51. Материалы VII съезда Российского общества медицинских генетиков. Санкт-Петербург. 19-23.05.2015.

34. Климов Е.А., **Кондратьева Н.С.**, Скоробогатых К.В., Сергеев А.В., Азимова Ю.Э., Анучина А.А., Кокаева З.Г., Рудько О.И. Молекулярно-генетические основы патогенеза мигрени // Материалы II Международной научной конференции «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы». Минск, 13-16.10.2015. С.226.

35. Анучина А.А., **Кондратьева Н.С.**, Наумова Е.А. Конструирование биохимических путей мигрени // Сборник тезисов 20^{ая} Международной Пущинской школы-конференции молодых учёных «Биология – наука XXI века». Пущино, 18-22.04.2016. С.104.

36. **Кондратьева Н.С.**, Анучина А.А., Наумова Е.А., Скоробогатых К.В., Сергеев А.В., Азимова Ю.Э. Поиск ассоциаций с мигренью комплексных генотипов генов ACE, BDNF, CCK, CCKAR, CCKBR, CGRP, DBH, MTDH, MTHFR, MTR, NOS1, NOS2, NOS3 // Сборник тезисов 20^{ая} Международной Пущинской школы-конференции молодых учёных «Биология – наука XXI века». Пущино, 18-22.04.2016. С.130.

Список сокращений

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

МКБ-10 – Международная классификация болезней 10-го пересмотра

МКГБ-3 – Международная классификация головных болей 3 (ICHD-III)

РКД – распространяющаяся корковая депрессия

ПДРФ – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов

СГМ (ФНМ) – семейная гемиплегическая мигрень (familial hemiplegic migraine)

GWAS – genome-wide association study (полногеномное ассоциативное исследование)

SNV – single nucleotide variation (однонуклеотидная вариация)