

Гены семейства нейрексинов (*CNTNAP2* и *NRXN1*): их роль в развитии математической тревожности*

Казанцева А.В.¹, Еникеева Р.Ф.², Романова А.Р.³, Башкатов С.А.²,
Галаяутдинова С.И.², Тихомирова Т.Н.⁴, Малых С.Б.⁴, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹ — Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г.Уфа, 450054; e-mail: Kazantsa@mail.ru

² — Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный университет», г.Уфа, 450074; e-mail: kanzafarova.renata@yandex.ru

³ — Стерлитамакский филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный университет», г.Стерлитамак, 453103; e-mail: albina_far_81@mail.ru

⁴ — Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Психологический институт Российской Академии Образования», г.Москва, 125009; e-mail: malykhsb@mail.ru

Математика с каждым годом приобретает все большее значение в современном обществе. Она широко используется в физике, астрономии, биологии, инженерном деле, организации производства и многих других областях теоретической и прикладной деятельности. Однако многие люди намеренно избегают выбора специальностей, связанных с математикой. Это отчасти может быть объяснено математической тревожностью (МТ), выражающейся в чувстве сильного беспокойства и неловкости, связанном со сложностями в манипулировании числами как в академических, так и в бытовых ситуациях. Белки, кодируемые генами нейрексина 1 (*NRXN1*) и контактин-ассоциированного белка (*CNTNAP2*), вовлечены в регуляцию синаптической пластичности, являющейся одним из механизмов формирования рабочей памяти, а значит, способностью справиться со стрессовой ситуацией. Целью данной работы являлась оценка вовлеченности полиморфных вариантов генов *NRXN1* (rs4971648, rs1045881) и *CNTNAP2* (rs2710102, rs2530310) в развитие МТ. В исследовании приняли участие 523 здоровых индивида из Республики Башкортостан (средний возраст $20,3 \pm 3,87$ года), прошедшие оценку МТ с использованием опросника MARS-E. Генотипирование проводили методом ПЦР-ПДРФ. Статистический анализ был осуществлен с использованием программы Plink v.1.07. Анализ ген-средовых взаимодействий позволил установить, что индивиды, родившиеся не вторыми в семье ($\beta = -6,77$; $P = 0,021$) и/или воспитанные в семье менее чем с тремя детьми ($\beta = -10,37$; $P = 0,012$) при наличии у них аллеля rs2530310*А в гене *CNTNAP2* демонстрировали повышение МТ. Полученные данные указывают на модифицирующий эффект таких средовых факторов, как «порядок рождения» индивида и «число детей в семье» на ассоциации гена *CNTNAP2* с различиями в уровне МТ.

Ключевые слова: трудности в обучении математике, гены-кандидаты, средовые факторы, нейрексины, синаптическая пластичность

Введение

В последнее время интерес ученых направлен на изучение математической тревожности (МТ), которая представляет собой одну из причин возникновения трудностей в обучении математике. МТ — состояние, при котором индивиды испытывают отрицательные эмоции (избегание, тревожность, стресс) и даже болезненные ощущения при необходимости решения задач, требующих использования математических навыков. Трудности при использовании математических операций негативно сказываются на успешности человека, поскольку математика в современном мире является неотъемлемой частью его жизнедеятельности. Необходимо отметить, что когнитивное развитие в детстве влияет на социально-экономический статус в будущем и связано с показателями здоровья во взрослом возрасте [1].

МТ представляет собой сложный и многофакторный феномен, обусловленный влиянием как генетических, так и средовых факторов. Несмотря на то, что повышен-

ная МТ встречается у 4% студентов высшей школы и около 85% студентов отмечают у себя умеренные ее проявления [2], к настоящему времени нет опубликованных работ, демонстрирующих конкретные системы и гены, модулирующие развитие высокой МТ. Согласно «гипотезе универсальных генов» (Generalist genes hypothesis) [3], гены, ассоциированные с формированием когнитивных способностей и когнитивных нарушений, успешности и трудностей в обучении, являются кандидатами при МТ. Большое количество исследований, направленных на выявление генов и систем, участвующих в формировании когнитивных способностей и нарушений посредством регуляции синаптической пластичности, косвенно указывает на возможную вовлеченность генов семейства нейрексинов (в частности, нейрексина 1 и контактин-ассоциированно-подобного белка-2) [4] в формирование МТ.

Семейство нейрексинов представляет собой группу трансмембранных белков, обеспечивающих взаимо-

* Работа выполнена при частичной поддержке грантов Российского гуманитарного научного фонда (№13-06-00583а, 15-46-93051к и 15-16-02007 а(р)) и Российского научного фонда (№15-18-30055).

действие нервных клеток, их дифференцировку в коре головного мозга и экспрессию в ионных каналах, путём участия в стабилизации аксональной проводимости и поддержании потенциалов действия. Нейрексин 1 является важнейшим модулятором таких нейрональных процессов как созревание и дифференцировка нейронов [4]. В связи с известной функцией нейрексина 1 в регуляции синаптической пластичности, были проведены многочисленные исследования, показавшие взаимосвязь мутаций сдвига рамки считывания и миссенс-мутаций в гене нейрексина 1 (*NRXN1*, 2p16.3) с риском развития широкого спектра нейрокогнитивных расстройств, включая аутизм, болезнь Альцгеймера, умственную отсталость и шизофрению [5]. К настоящему времени известно большое количество интронных полиморфных локусов, которые приводят к экспрессии различных изоформ нейрексина 1, что в дальнейшем определяет различия в синаптической пластичности и, следовательно, в когнитивных функциях. Полиморфный локус rs1045881 находится в 3'-нетранслируемом регионе гена *NRXN1*, что, в свою очередь, предполагает возможность его влияния на эффективность транскрипции и стабильность полученной мРНК, а также на изменение в регуляции гена специфическими микроРНК [6].

Контактин-ассоциированно-подобный белок-2, или нейрексин 4 (contactin associated protein-like 2, *Caspr2*, кодируется геном *CNTNAP2*, 7q35), взаимосвязан с калиевыми каналами и другими молекулами адгезии, способствует созданию функциональных субдоменов миелинизированных аксонов. Эксперименты по изучению транскриптома, проведенные на микрочипах, обнаружили экспрессию гена *CNTNAP2* в лобно-височных подкорковых структурах мозга, связанных с речевыми и исполнительными функциями [7]. Кроме того, недавно методом функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) была показана значимость полиморфного варианта rs2710102 в гене *CNTNAP2*: активация префронтальных регионов мозга наблюдалась у индивидов-носителей «рискового» аллеля в ответ на выполнение лингвистического задания [8]. К настоящему времени нет работ, посвященных взаимосвязи другого полиморфного варианта в гене *CNTNAP2* — rs2530310 — с формированием когнитивных и психиатрических фенотипов. Однако его изучение представляет интерес, поскольку данный полиморфный локус находится в 3'-нетранслируемой области гена, что обуславливает его возможную функциональную значимость. Поскольку многочисленные молекулярно-генетические исследования указывают на вовлеченность гена *CNTNAP2* в развитие некоторых психических расстройств, связанных с лингвистическими трудностями, расстройством речи, задержкой речевого развития [8], и основываясь на «гипотезе универсальных генов», мы предположили, что ген *CNTNAP2* может также участвовать в формировании трудностей в обучении математике, обусловленных высокой МТ.

В последнее время в психогенетических исследованиях все большее внимание уделяется средовым факторам, модулирующим генетический эффект в формировании определенного признака, что объясняется изменениями в эпигенетической регуляции работы генов под воздействием этих средовых факторов [9].

Ранее изучения вовлеченности генов *CNTNAP2* и *NRXN1* в формировании тревожности, связанной с необходимостью выполнения математических задач, не проводилось. В связи с этим, целью данного исследования являлась оценка основного эффекта полиморфных локусов генов *CNTNAP2* (rs2710102 и rs2530310) и *NRXN1* (rs1045881 и rs4971648), а также эффекта гаплотипов, GxE взаимодействий в формирование МТ у здоровых индивидов.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 523 здоровых индивида (75% женщин) из Республики Башкортостан (средний возраст $20,3 \pm 3,87$ года), из них русских — 119 чел, татар — 143 чел, башкир — 94 чел, удмуртов — 25 чел, метисов — 142 чел. Все обследованные являлись студентами ВУЗов без наследственной отягощенности по психическим заболеваниям, прошли психологическое тестирование и анкетирование (учитывавшее порядок и сезон рождения, место воспитания — городская/сельская местность, число детей в семье, возраст матери, вес при рождении, стиль родительского воспитания). От всех участников было получено добровольное согласие на участие в данном исследовании.

Для оценки уровня МТ был использован опросник MARS-E (Revised Mathematics Anxiety Rating Scale of Elementary Students), адаптированный для студентов ВУЗов и состоящий из 25 вопросов. Участникам было предложено прочитать ряд утверждений относительно уроков математики и оценить беспокойство, нервозность и волнение, которые они испытывали, с использованием 5-балльной шкалы Ликерта (1 = менее тревожный, 3 = довольно тревожный, 5 = очень тревожный).

ДНК выделена из лимфоцитов периферической крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Полиморфные локусы rs2530310 и rs2710102 в гене *CNTNAP2* выявляли методом ПЦР-ПДРФ с использованием олигонуклеотидных праймеров 5'-CAGCACGCATTTACAAGTTTATTTTC-3' и 5'-ACAGCCATCTCCGAAAGCAG-3' (для rs2530310); и 5'-CTGGCTGGTACCTGCAAACT-3' и 5'-ACACATGGATGGACTGACCG-3' (для rs2710102). Полиморфные локусы rs1045881 и rs4971648 в гене *NRXN1* выявляли методом ПЦР-ПДРФ с использованием олигонуклеотидных праймеров 5'-AAGTCTTTCCTTCTGATTGCAGTC-3' и 5'-CAACCCAGCAGTGCAGAAAAG-3' (для rs1045881), 5'-GGGCTTAACTCCCTTGGGT-3' и

5'-CCAGCTTCAGTAAGATGGTGTATCGA-3' (для rs4971648). После начальной денатурации (94°C, 4 мин) выполняли 33 цикла амплификации в следующем режиме: денатурация 94°C — 30 с; отжиг праймеров 58°C — 30 с; синтез ДНК 72°C — 30 с. Затем пробы выдерживали 7 мин. при 72°C и охлаждали. Для выявления аллелей изученных полиморфных локусов 10 мкл реакционной смеси обрабатывали 3 ед. акт. эндонуклеазы рестрикции BstDEI (rs2530310, 60°C), Aha87I (rs2710102, 37°C), BstMAI (rs1045881, 55°C) или Bsa29I (rs4971648, 37°C) (Сибэнзим, Россия) в течение 16 ч. В результате рестрикции и последующего разделения в 7%-ном полиакриламидном геле в локусе rs2530310 выявляются аллель *A (25, 41 и 60 п.н.) и аллель *G (41 и 85 п.н.), в локусе rs2710102 — аллель *T (104 п.н.) и аллель *C (56 и 48 п.н.), в локусе rs1045881 — аллель *G (86 и 115 п.н.) и аллель *A (28, 58 и 115 п.н.), в локусе rs4971648 — аллель *G (137 п.н.) и аллель *A (112 и 25 п.н.).

Для оценки основного эффекта полиморфных локусов генов-кандидатов, эффекта гаплотипов, ген-средовых (GxE) взаимодействий в вариации уровня МТ был проведен линейный регрессионный анализ в программе PLINK v.1.07. В качестве независимых переменных в анализе GxE выступали генотипы и демографические параметры, а в качестве зависимой переменной — уровень МТ. Гаплотипические блоки были сконструированы на основе метода доверительных интервалов; оценка неравновесия по сцеплению между маркерами (по критерию Левонтина, D') проведена с использованием программы Haploview 4.2. В случае выявления статистически значимой модели ген-средового взаимодействия, нами был проведен множественный регрессионный анализ с включением половой принадлежности в качестве ковариаты (согласно [10]) в программе STATA 9.0.

Результаты

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфных локусов генов *CNTNAP2* и *NRXN1* соответствовало равновесию Харди-Вайнберга: $p = 0,43$ для rs2710102, $p = 0,93$ для rs2530310, $p = 0,991$ для rs1045881, $p = 0,176$ для rs4971648. Значения показателей по шкале МТ в изученной выборке подчинялись закону нормального распределения.

В результате линейного регрессионного анализа не было выявлено ассоциации изученных полиморфных локусов в генах *CNTNAP2* и *NRXN1* с уровнем МТ. Не обнаружено неравновесия по сцеплению между локусами rs2710102 и rs2530310 в гене *CNTNAP2* и между локусами rs1045881 и rs4971648 в гене *NRXN1* ($D' < 0,1$), что обусловлено большим расстоянием между локусами (более 540 и 190 т.п.н. соответственно). В связи с этим, гаплотипический анализ не проводился.

Анализ ген-средовых взаимодействий позволил установить, что «порядок рождения» индивида и общее число детей в семье оказывают модулирующий эффект на выявление ассоциации между полиморфным вариантом rs2530310 в гене *CNTNAP2* и уровнем МТ.

Стратификационный анализ показал, что лица, родившиеся не вторыми в семье ($\beta = -6,77$; $p = 0,021$) и/или воспитанные в семье менее чем с тремя детьми ($\beta = -0,37$; $p = 0,012$) при наличии у них аллеля rs2530310*A в гене *CNTNAP2* демонстрировали повышенный уровень МТ (таблица, рисунок).

При проведении анализа ген-средовых взаимодействий не было обнаружено модулирующего эффекта средовых факторов на ассоциацию полиморфных локусов rs1045881 и rs4971648 в гене *NRXN1* с вариациями уровня МТ.

Таблица

Эффект средовых факторов на ассоциацию полиморфного локуса rs2530310 в гене *CNTNAP2* с МТ

Модель	Переменные в линейной регрессионной модели	β	P	r^2
<i>CNTNAP2</i> *ПР	rs2530310	8,33	0,354	0,022
	ПР2	0,21	0,964	
	Пол	5,71	0,192	
	rs2530310*ПР2	-6,99	0,045	
	rs2530310*пол	1,39	0,692	
	ПР*пол	-0,96	0,846	
<i>CNTNAP2</i> *ЧД	rs2530310	6,93	0,446	0,013
	ЧД3	-0,55	0,913	
	Пол	5,40	0,214	
	rs2530310*ЧД3	-5,21	0,119	
	rs2530310*пол	2,31	0,547	
	ЧД3*пол	-0,70	0,889	

Примечание. ПР2 — порядок рождения индивида (второй в семье), ЧД3 — число детей в семье более трех. Статистически значимые модели показаны жирным шрифтом. r^2 — коэффициент детерминации.

Обсуждение

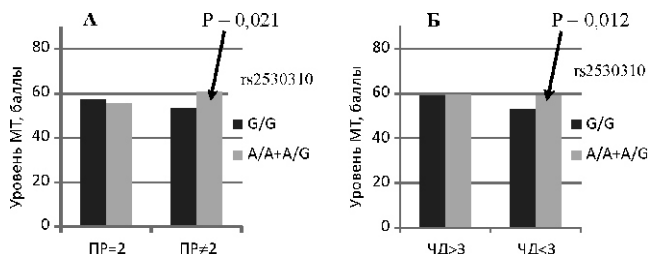
К настоящему времени были проведены многочисленные исследования, которые продемонстрировали, что полиморфные варианты в гене *CNTNAP2* ассоциированы с различными фенотипами, в первую очередь связанными с лингвистическими функциями, включая расстройства аутистического спектра (РАС), дислексию, лингвистические нарушения, задержку речевого развития [11]. Существуют данные, указывающие на вовлеченность изменений в одном и том же генетическом регионе (22q11.2DS) и/или гене в развитие как трудностей в обучении математике, так и лингвистических нарушений у школьников [12]. В подтверждение данных Carvalho и соавторов [12] в настоящей работе впервые продемонстрирована ассоциация полиморфных вариантов в гене *CNTNAP2* с МТ, причем большую роль в данной взаимосвязи играет порядок рождения индивида и число sibсов.

Стоит отметить, что ген *CNTNAP2* у человека и млекопитающих высоко экспрессируется в стриатуме, таламусе, миндалевидном комплексе, фронтальной коре — отделах мозга, вовлеченных в регуляцию высших функций, включая лингвистические и когнитивные [7]. Интересно, что активация париетальной и фронтальной долей мозга характерна для индивидов с дискалькулией — заболеванием, характеризующим трудностями в обучении математике, в частности, трудностями в обработке числовой информации. В то же время, повышенная активация височной доли и нижней лобной извилины в правом полушарии — регионах мозга, участвующих в регуляции когнитивных функций и стрессового поведения [13], характерна для носителей аллеля риска в гене *CNTNAP2* [8]. Эти функциональные исследования позволяют предположить участие контактин-ассоциированного белка (Caspr2) не только в регуляции речевых, но и когнитивных функций, включая способность к обучению математике.

Недавно была проведена работа с использованием клеточных линий, полученных от мышей-нокадаунов по гену *cntnap2*, показавшая, что Caspr2 присутствует в синаптических компартментах дендритов и важен для морфологии дендритных шипиков, а его удаление приводит

к образованию агрегатов, содержащих субъединицу GluA1 глутаматного AMPA-рецептора [14]. Стоит отметить, что изменения в количестве и морфологии шипиков совместно с наличием глутаматных рецепторов в синапсе определяют функциональные взаимосвязи в синаптических сетях. В то же время гипofункция глутаматных NMDA-рецепторов (селективно связывающих N-метил-D-аспартат) играет важную роль в формировании когнитивных нарушений. С другой стороны, Caspr2 необходим для созревания и поддержания шипиковых синапсов, кроме ранних стадий развития пирамидальных нейронов, когда уровень экспрессии этого белка наименьший [14]. Эти наблюдения могут свидетельствовать в пользу того, что различные фенотипические характеристики, связанные с геном *CNTNAP2*, в частности РАС, интеллектуальные нарушения, а также МТ проявляются не с постнатального периода, а позднее в онтогенезе.

Ранее молекулярно-генетические исследования в основном были направлены на изучение полиморфных локусов в интронах 13-14 (в частности, rs2710102) гена *CNTNAP2* и продемонстрировали ассоциацию аллеля rs2710102*С с задержкой речевого развития и развитием аутизма, с поздним возрастом первого слова у пациентов с РАС [7], и гаплотипа С*G*А*G (локусов rs2710102, rs759178, rs17236239, rs2538976) — с более низким уровнем развития речи у детей в возрасте 2 лет [15]. Кроме однонуклеотидных полиморфных локусов было показано, что вариации числа копийности и делеции определенных участков гена *CNTNAP2* ассоциированы с нарушениями лингвистических функций и социального поведения, умственной отсталостью, эпилепсией и шизофренией [15]. Другие авторы на основе гаплотипического анализа указывают на ассоциацию аллеля rs2710102*А с тревожностью при социальных контактах и риском развития селективного мутизма, характеризующегося отказом ребенка от речевого общения (а иногда и от общения вовсе) в ситуациях, являющихся для него психотравмирующими. Стоит отметить, что тревожность при социальных контактах часто наблюдается у лиц с РАС (около 29,2% детей с РАС имеют социальное тревожное расстройство в коморбиде) [16]. Поэтому учеными было предположено, что ген *CNTNAP2* скорее вовлечен в регуляцию социальной тревожности, чем лингвистических функций [9]. В нашей работе была обнаружена ассоциация аллеля rs2530310*А полиморфного локуса, находящегося в 3'-регионе гена *CNTNAP2*, с повышенной МТ у лиц, воспитанных в семье с небольшим числом детей или первых детей в семье. Поскольку селективный мутизм (по МКБ-10) коррелирует с эмоциональными и тревожными расстройствами, то полученные нами результаты в определенной мере согласуются с данными Stein и соавторов [9]. Наряду с выявленной нами ролью гена *CNTNAP2* в формировании когнитивных способностей, отдельные группы ученых также продемонстрировали вовлеченность вариаций в гене *CNTNAP2* в развитие когнитивных нарушений [4].



Средние значения уровня МТ, обусловленные наличием определенного полиморфного варианта в локусе rs2530310 в зависимости от «порядка рождения» (А) и числа детей в семье (Б) на основании результатов GxE анализа. PR — порядок рождения; ЧД — число детей в семье; МТ — математическая тревожность.

Согласно базе данных PolymiRTS (Polymorphism-microRNAs and their Target Sites) (<http://compbio.uthsc.edu/miRSNP>), позволяющей предсказывать различия в связывании мкРНК с мРНК гена-мишени *in silico*, замена аллеля G (предковый) на аллель A в локусе rs2530310 создает новый сайт связывания нескольких мкРНК (hsa-miR-3200-5p, hsa-miR-4766-5p) с мРНК CNTNAP2, что, предположительно, в итоге снижает экспрессию гена CNTNAP2. Ранее сообщалось, что снижение уровня Caspr2 приводит к образованию AMPA-содержащих агрегатов, которые были обнаружены в тканях мозга пациентов с нейродегенеративными заболеваниями [17]. В нашей работе продемонстрировано, что более высокий уровень МТ (а значит и трудностей в обучении математике) ассоциирован с аллелем rs2530310*A (предположительно ассоциированным со сниженной экспрессией гена CNTNAP2), а более низкий уровень МТ — с генотипом rs2530310*G/*G, что согласуется с вышеуказанными работами.

Выявленные в настоящем исследовании различия в ассоциации полиморфного локуса rs2530310 в гене CNTNAP2 с уровнем МТ в зависимости от порядка рождения и числа детей в семье не удивительны. Еще в 1970 г. Eysenck и Cookson [18], изучившие около 4000 учеников начальной школы, обнаружили, что дети, воспитанные в семьях с небольшим числом sibсов, демонстрировали более высокий уровень когнитивных способностей, экстраверсии и меньший — эмоциональной неустойчивости. Дальнейшие исследования в этой области подтвердили, что порядок рождения ребенка негативно нелинейно коррелирует с умственными способностями и успеваемостью, причем более слабый эффект порядка рождения на способности ребенка отмечается в семьях с большим числом детей. Эти заключения были основаны на том, что первый ребенок в семье имеет свободный доступ к такому ресурсу как время, которое родители проводят с ребенком, тогда как каждый последующий ребенок требует от родителей больше ресурсов, чем те могут предоставить (теория истощения ресурсов). Таким образом, существуют различия в объеме родительских ресурсов в зависимости от порядка рождения индивида, что выражается в существенных различиях в уровне когнитивных способностей. В то же время, семейные и близнецовые исследования указывают на существенные различия sibсов, обусловленные вариациями в факторах индивидуальной среды [3]. Наряду с когнитивными характеристиками известны и различия в уровне тревожности и коморбидных с ней психических расстройств, обусловленные порядком рождения. У первого ребенка, согласно ряду исследований, повышен риск развития негативного поведения, ситуативной тревожности, в то время как средние дети демонстрируют повышенную независимость. Полученные нами данные, указывающие на различия в уровне МТ, обусловленные наличием определенного генотипа в локусе rs2530310 гена CNTNAP2, как раз и были выявлены

у старших и у младших детей, в то время как средние дети в семье (порядок рождения = 2) не демонстрировали генотип-зависимую ассоциацию с уровнем МТ. Эти данные также согласуются с преимущественным статусом старших детей, а также стремлением родителей посвятить себя младшему ребенку как последнему произведенному ими наследнику, самому слабому и уязвимому в силу возраста. С другой стороны, мы также обнаружили генотип-средовой эффект в различиях уровня МТ лишь у индивидов, имеющих менее одного sibса, что также указывает на нивелирование эффекта порядка рождения в семьях с большим числом детей.

Полученные нами данные о ген-средовом взаимодействии могут быть объяснены с эпигенетической точки зрения, поскольку некоторые средовые факторы могут приводить к изменениям в эпигенетической регуляции. Один из механизмов дифференциальной регуляции экспрессии гена CNTNAP2 включает изменения в метилировании промоторной области гена. В частности, при сравнении паттернов метилирования ортологов гена CNTNAP2, Scheiderer соавторами [19] обнаружили различия между человеком и шимпанзе в степени метилирования региона, расположенного на 300 п.н. выше локуса rs7794745, а также обнаружили в 1,6 раза более высокий уровень экспрессии одного из вариантов сплайсинга (CNTNAP2-201) в коре мозга человека по сравнению с шимпанзе. Эти данные свидетельствуют о межвидовых генетических и эпигенетических различиях, коррелирующих с индивидуальными различиями в развитии мозга и его функционировании. Кроме того, недавно были обнаружены различия в профиле метилирования гена CNTNAP2 между новорожденными, родившимися у курящих и некурящих матерей [20]. Интересно, что курение матери во время гестации оказывало влияние на вес ребенка при рождении посредством изменения количества сайтов метилирования в гене CNTNAP2, причем профиль метилирования в гене CNTNAP2, характерный для индивидов, родившихся у курящих матерей, остается постоянным на определенное время (вплоть до подросткового периода) [20]. В семьях с единственным ребенком в семье или с двумя детьми может иметь место подобный механизм регуляции экспрессии гена CNTNAP2 посредством дифференциального изменения профиля метилирования, хотя к настоящему времени таких данных не опубликовано.

Несмотря на то, что литературные данные указывают на вовлеченность изменений нуклеотидной последовательности (делетий, в частности) в гене NRXN1 в риск развития аффективных расстройств и изменение когнитивных характеристик, включая ухудшение рабочей памяти и когнитивной гибкости [4], нами не было обнаружено ассоциации полиморфных локусов в гене NRXN1 с вариациями уровня МТ. Однако недавнее исследование, включавшее полногеномный анализ ассоциаций (N > 100 000 индивидов) и биоинформатический анализ, выявило четыре основных кандидата при изучении ког-

нитивных характеристик и успешности обучения, включая ген *NRXN1*. Модельные животные также указывают на важную роль нейрексина в нарушении обучения и памяти. В частности, мыши-нокауты по гену *NRXN1* демонстрировали дефицит в когнитивной деятельности по сравнению с мышами «дикого типа» [20]. Возможно, изменения, затрагивающие большие участки (в частности, делеции) по сравнению с однонуклеотидными заменами в гене *NRXN1*, в большей степени обуславливают различия в когнитивных характеристиках, что и объясняет негативные результаты, полученные относительно локусов гена *NRXN1* в нашей работе.

Заключение

В результате проведенного исследования нами были выявлены модели ген-средовых взаимодействий, демонстрирующие вовлеченность таких средовых факторов как «порядок рождения» и «число детей в семье» в модуляцию эффекта гена семейства нейрексина (*CNTNAP2*) на формирование межиндивидуальных различий в уровне МТ. Несмотря на ряд преимуществ данной работы (гомогенность выборки по возрасту и уровню образования, проведение анализа с учетом большого числа социо-демографических факторов), в дальнейших исследованиях необходимо увеличивать размер выборки во избежание получения ложноположительных и ложноотрицательных результатов. Кроме того, дальнейшие исследования должны быть направлены на выявление влияния средовых факторов («порядка рождения» и «числа детей в семье») на изменения эпигенетической регуляции (метилования, изменения регуляции под действием мкРНК) генов семейства нейрексина.

Список литературы

1. Ashcraft MH, Moore AM. Mathematics anxiety and the affective drop in performance. *Journal of Psychoeducational Assessment*. 2009;27(3):197-205.
2. Chin S. Mathematics anxiety in secondary students in England. *Dyslexia*. 2009;15(1):61-68.
3. Plomin R., Kovas Y., Haworth CM. Generalist Genes: Genetic Links Between Brain, Mind, and Education. *Mind Brain Educ*. 2007;1(1):11-19.
4. Voineskos AN, Lett TA, Lerch JP, et al. Neurexin-I and frontal lobe white matter: an overlapping intermediate phenotype for schizophrenia and autism spectrum disorders // *PLoS One*. 2011;6(6):20982.
5. Todarello G, Feng N, Kolachana BS, et al. Incomplete penetrance of *NRXN1* deletions in families with schizophrenia. *Schizophrenia Res*. 2014;155(1-3):1-7.
6. Presutti C, Rosati J, Vincenti S, Nasi S. Non coding RNA and brain. *BMC Neurosci*. 2006;7(1):5.
7. Presutti C, Rosati J, Vincenti S, Nasi S. Non coding RNA and brain. *BMC Neurosci*. 2006;7(1):5.
8. Whalley HC, O'Connell G, Sussmann JE, et al. Genetic variation in *CNTNAP2* alters brain function during linguistic processing in healthy individuals. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet*. 2011;156(B):941-948.
9. Stein MB, Yang BZ, Chavira DA, et al. A common genetic variant in the neurexin superfamily member *CNTNAP2* is associated with increased risk for selective mutism and social anxiety-related traits. *Biol. Psychiatry*. 2011;69(9):825-831.
10. Keller MC. Gene x environment interaction studies have not properly controlled for potential confounders: the problem and the (simple) solution. *Biol. Psychiatry*. 2014;75(1):18-24.
11. Rodenas-Cuadrado P, Ho J, Vernes SC. Shining a light on *CNTNAP2*: complex functions to complex disorders. *Eur. J. Hum. Genet*. 2014;22(2):171-178.
12. Carvalho MR, Vianna G, Oliveira Lde F, et al. Are 22q11.2 distal deletions associated with math difficulties? *Am. J. Med. Genet. A*. 2014;164A(9):2256-2262.
13. Kizilirmak JM, Rusler F, Bien S, Khader PH. Inferior parietal and right frontal contributions to trial-by-trial adaptations of attention to memory. *Brain Res*. 2015;1614:14-27.
14. Varea O, Martin-de-Saavedra MD, Kopeikina KJ, et al. Synaptic abnormalities and cytoplasmic glutamate receptor aggregates in contactin associated protein-like 2/Caspr2 knockout neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2015;112(19):6176-6181.
15. Whitehouse AJ, Bishop DV, Ang QW, et al. *CNTNAP2* variants affect early language development in the general population. *Genes Brain Behav*. 2011;10(4):451-456.
16. Simonoff E, Pickles A, Charman T, et al. Psychiatric disorders in children with autism spectrum disorders: prevalence, comorbidity, and associated factors in a population-derived sample. *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry*. 2008;47:921-929.
17. Ross CA, Poirier MA. Protein aggregation and neurodegenerative disease. *Nat. Med*. 2004;10(Suppl):10-17.
18. Eysenck HJ, Cookson D. Personality in primary school children: 3. — Family background. *British Journal of Educational Psychology*. 1970;40: 117-131.
19. Schneider E, El Hajj N, Richter S, et al. Widespread differences in cortex DNA methylation of the «language gene» *CNTNAP2* between humans and chimpanzees. *Epigenetics*. 2014;9(4):533-545.
20. Kupers LK, Xu X, Jankipersadsing SA, et al. DNA methylation mediates the effect of maternal smoking during pregnancy on birthweight of the offspring. *Int. J. Epidemiol*. 2015;44(4):1224-37.

Neurexin family genes (*CNTNAP2* and *NRXN1*): their involvement in mathematics anxiety

Kazantseva A.V.^{1*}, Enikeeva R.F.^{2*}, Romanova A.R.³, Bashkatov S.A.²,
Galyautdinova S.I.², Tikhomirova T.T.⁴, Malykh S.B.⁴, Khusnutdinova E.K.^{1,2}

¹ — Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center of Russian Academy of Sciences, 450054 Ufa, Russia,
e-mail: Kazantseva@mail.ru

² — Bashkir State University, 450074 Ufa, Russia, e-mail: kanzafarova.renata@yandex.ru

³ — Sterlitamak branch of Bashkir State University, 453103 Sterlitamak, Russia

⁴ — Psychological Institute of Russian Academy of Education, 125009 Moscow, Russia

* These authors contributed equally to this work

Mathematics is acquiring ever greater significance in the modern society. Mathematics represents an everyday tool in physics, astronomy, biology, engineering, management and other fields of theoretical and applied activities. However, many people deliberately avoid choosing courses including mathematics operations. This observation might partly be explained by an increased mathematical anxiety (MA) manifested as a sense of high anxiety and awkwardness connected with difficulties in manipulations with numbers in both academic and everyday situations. The proteins encoded by contactin associated protein-like 2 (CNTNAP2) and neurexin-1 genes (NRXN1) are involved in the regulation of synaptic plasticity representing one of the mechanisms of working memory and, hence, in resistance to stressful life events. The present study aimed to examine the role of NRXN1 (rs4971648, rs1045881) and CNTNAP2 (rs2710102, rs2530310) gene polymorphisms in math anxiety. The study involved 523 healthy individuals from Republic of Bashkortostan (75% women) (mean age 20.3 ± 3.87 years). MA level was assessed via Mathematics Anxiety Rating Scale- Elementary Form (MARS-E). SNPs genotyping was performed via PCR-RFLP. Statistical analysis was conducted with Plink v.1.07. According to the analysis of gene-environment interactions, individuals with the highest or lowest order of birth ($\beta = -6.77$; $p = 0.021$) and/or with less than one sibling ($\beta = -10.37$; $P = 0.012$) demonstrated an increased MA in the presence of CNTNAP2 rs2530310 A-allele. Revealed findings evidence in modulating effect of environmental factors (i.e. «birth order» and «number of siblings in the family») in association of CNTNAP2 gene with individual variations in MA.

Key words: mathematics disability, candidate genes, environmental factors, neurexin, synaptic plasticity