

Изучение ассоциаций признаков агрессивного поведения с рядом генетических локусов на выборке из представителей современной армянской популяции

Прошаков П.^{1*}, Ревякина Л.¹, Лазебный О.¹, Бутовская М.²

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

² Институт этнологии и антропологии им. Н.Н. Миклухо-Маклая РАН, Москва, Россия

* ub3dco@gmail.com

Ключевые слова: гены-кандидаты; агрессивное поведение; моноэтническая выборка

Мотивация и цель: Агрессивное поведение как количественный признак имеет очень сложную структуру, и контроль со стороны генетических детерминант происходит на фоне определенной этнической и культурной среды [1]. Для более объективного генетического анализа агрессивного поведения необходимо учитывать изменчивость, связанную с этническим происхождением. Ассоциации между полиморфизмом генов и поведенческими признаками оценивали с использованием генов, связанных с функционированием нервной системы, таких как дофаминовая и серотониновая системы, а также генов, связанных с половыми гормонами. Например, такие гены, как *OXTR*, *HTR2A* и *AR*, известны важной ролью в регуляции агрессивного поведения [2–6]. Связь SNP-локуса rs53576 гена *OXTR* с агрессией может быть объяснена влиянием на скорость трансляции белка [7], тогда как SNP-локус rs6311 гена *HTR2A* может влиять на экспрессию гена [8]. Полиморфный микросателлитный локус *AR*(CAG)_n в гене *AR* также имеет значение, влияя на конформацию и активность белка [9]. Окситоцин, важный гормон, регулирует психику и эмоции у млекопитающих [10]. Исследования показывают его связь с агрессией [6], но данные о генотипе GG и эмпатии противоречивы [11]. Локус rs6311 рассматривается как маркер агрессивного поведения [12]. Меньшее количество CAG-повторов в микросателлитном локусе *AR* ассоциируется с агрессивными чертами [13].

Большинство исследований проводилось на традиционных этнических группах, что ограничивает понимание влияния генетических факторов на поведение в современной европейской культуре. Наше исследование направлено на подтверждение влияния трех перечисленных локусов на агрессивное поведение на примере моноэтнической выборки армянских студентов.

Методы и алгоритмы: Исследование проводилось на выборке студентов Ереванского государственного университета в период с 2014 по 2016 гг. Генотипирование проводилось на 231 человеке для локусов *OXTR* rs53576 и *HTR2A* rs6311, а для локуса *AR*(CAG)_n – только на 229 индивидуумах. Оценка агрессивного поведения производилась с помощью опросников Басса–Перри и по реактивной-проактивной агрессии [14, 15]. Генотипирование проводилось методами ПЦР-ПДРФ для SNP-локусов и фрагментным анализом для локуса *AR*(CAG)_n. Статистическая обработка данных выполнена с использованием программ GenAlEx v 6.51 [16], Statistica v.10 (StatSoft, Inc., США), Structure v.2.3.4 [17], APSampler v. 3.61 [18]. Различия считались значимыми при $p < 0.05$, с учетом

поправки Бенжамини–Хохберга на множественные сравнения [19]. При анализе влияния локуса *AR* на признаки агрессии набор аллелей был предварительно ранжирован на «короткие» и «длинные», характеризующиеся 12–21 повтором *CAG* и 22–29 повторами соответственно.

Результаты: В локусе *OXTR* rs53576 преобладает аллель *G* (0.72) с генотипом *GG* у 52 % образцов. В *HTR2A* rs6311 аллели *A* и *G* представлены примерно равно (0.48 и 0.52 соответственно), с генотипом *AG* у 46 % образцов. Распределение генотипов соответствует равновесию, подтвержденному тестом χ^2 . Выявлено 17 аллелей локуса *AR(CAG)_n*, преобладают аллели с 20, 21 и 23 повторами (суммарная частота 0.49). Кластерный анализ (*Structure*) показал однородность выборки – наличие одного кластера.

Были рассчитаны средние, стандартные отклонения, максимальные и минимальные значения признаков агрессии, оцененных опросниками Басса–Перри и реактивной-проактивной агрессии. Распределения шкал агрессии в основном не отличаются от нормального, за исключением физической агрессии у женщин и вербальной и проактивной агрессии в объединенной выборке. Тест Стьюдента показал значимые различия между мужчинами и женщинами по нескольким шкалам агрессии: физическая агрессия ($p = 0.000000028$), враждебность ($p = 0.0327$), проактивная ($p = 0.000000028$) и реактивная агрессия ($p = 0.0151$), которые выше у мужчин. Значения альфа Кронбаха для всех шкал составляют 0.7892, для опросника Басса–Перри – 0.7164, для реактивной-проактивной агрессии – 0.7329.

Проведен ассоциативный анализ как по общим данным, так и отдельно по мужчинам и женщинам. Четырехфакторный дисперсионный анализ подтвердил влияние пола на уровень физической, проактивной и реактивной агрессии, а также показал обратную зависимость враждебности между мужчинами и женщинами.

Трехфакторный дисперсионный анализ выявил влияние полиморфизма локуса *AR(CAG)_n* на физическую агрессию у мужчин и локуса *OXTR* rs53576 на вербальную агрессию у женщин. Также обнаружено влияние взаимодействия локусов *OXTR* rs53576 и *AR(CAG)_n* на различные шкалы агрессии у женщин и ассоциация взаимодействия *OXTR* rs53576 $\times$ *HTR2A* rs6311 с реактивной агрессией у женщин.

Анализ в программе APSampler выявил сочетания генотипов, характерные как для более, так и для менее агрессивной части выборки, как для всех, так и для отдельных групп мужчин и женщин. Для более агрессивных представителей: *OXTR* rs53576 – *AG* + *HTR2A* rs6311 – *A*. Для менее агрессивных представителей: *OXTR* rs53576 – *GG* + *AR(CAG)_n* – 24.

Выводы: Исследовано влияние генетических факторов на агрессивное поведение у мужчин и женщин, подтверждены гендерные различия [20], а также влияние локусов *OXTR* rs53576 и *AR(CAG)_n* на гнев и агрессию. Дальнейшие исследования необходимы для проверки воспроизводимости результатов и уточнения механизмов влияния [21].

У мужчин обнаружен эффект генотипа локуса *AR(CAG)_n* на физическую агрессию, согласующийся с [13]. Однако авторы [22] подвергли этот эффект сомнению. Важность этнического фактора подтверждается [5]. У женщин выявлен независимый эффект локуса *OXTR* rs53576 на вербальную агрессию, противоречащий [11, 23], но согласующийся с нашими данными [5]. Эмпатия и ответ на стресс связаны с этим эффектом [10, 11, 24].

Различия в результатах могут быть обусловлены половой спецификой экспрессии генов у мужчин и женщин, что затрудняет обнаружение отдельных эффектов локусов *OXTR* rs53576 и *AR(CAG)_n* на агрессию. Взаимодействие этих локусов подтверждено как у мужчин на вербальную агрессию, так и у женщин на вербальную, проактивную и реактивную агрессию. Механизм взаимодействия остается неясным из-за различий в физиологических системах, к которым относятся данные локусы.

У женщин наблюдается влияние взаимодействия локусов *OXTR* rs53576 и *HTR2A* rs6311 на реактивную агрессию. Гомозиготные носители локуса *HTR2A* rs6311 с аллелем *A* локуса *OXTR* rs53576 проявляют пониженный уровень агрессии, в то время как гетерозиготные носители генотипа *AG* имеют максимальный уровень. Сочетание генотипа *GG* локуса *OXTR* rs53576 с любым генотипом локуса *HTR2A* rs6311 характеризуется средним уровнем агрессии.

Наблюдаются сложные взаимосвязи между аллелями локуса *HTR2A* rs6311 и между локусами генов *HTR2A* и *OXTR*. Генотип *GG* локуса *HTR2A* rs6311 ассоциируется с повышенным уровнем суицидального поведения и агрессии [12]. Ранее был показан эффект взаимодействия этнической принадлежности и генотипа локуса *HTR2A* rs6311 на агрессию.

На втором этапе, с применением непараметрического ассоциативного анализа, мы выявили комбинации генотипов для двух частей выборки: *OXTR* rs53576 – *GG* + *AR(CAG)_n* – 24 для «менее агрессивных» и *OXTR* rs53576 – *AG* + *HTR2A* rs6311 – *A* для «более агрессивных», что соответствует результатам дисперсионного анализа. Мы подтверждаем влияние локуса *AR(CAG)_n* на уровень физической агрессии у мужчин и локуса *OXTR* rs53576 на уровень вербальной агрессии у женщин в нашей выборке. Все обнаруженные эффекты, особенно взаимодействия локусов, требуют дальнейшей проверки и верификации на выборках из различных культурно-этнических групп, возможно, с привлечением более крупных выборок и применением более мощных методов анализа, таких как GWAS (полногеномный поиск ассоциаций).

Финансирование: Исследование поддержано в рамках раздела государственного задания ИБР РАН 2024 года № 0088-2024-0011.

The study of associations between traits of aggressive behavior and a set of genetic loci in a sample of representatives from the contemporary Armenian population

Proshakov P.^{1*}, Revyakina L.¹, Lazebny O.¹, Butovskaya M.²

¹ Koltzov Institute of Developmental Biology, RAS, Moscow, Russia

² Miklukho-Maklai Institute of Ethnology and Anthropology, RAS, Moscow, Russia

* ub3dco@gmail.com

Key words: candidate genes; aggressive behavior; monoethnic sample

Motivation and Aim: Aggressive behavior, as a quantitative trait, has a very complex structure, and genetic control occurs against the background of specific ethnic and cultural environments [1]. For a more objective genetic analysis of aggressive behavior, it is necessary to consider variability associated with ethnic origin. Associations between

gene polymorphisms and behavioral traits were assessed using genes related to the functioning of the nervous system, such as the dopamine and serotonin systems, as well as genes associated with sex hormones. Genes such as *OXTR*, *HTR2A*, and *AR* are known to play an important role in regulating aggressive behavior [2–6]. The association of the SNP locus rs53576 in the *OXTR* gene with aggression can be explained by its influence on the rate of protein translation [7], while the SNP locus rs6311 in the *HTR2A* may affect gene expression [8]. The polymorphic microsatellite locus *AR*(CAG)_n in the *AR* gene also plays a significant role by influencing protein conformation and activity [9]. Oxytocin, an important hormone, regulates the psyche and emotions in mammals [10]. Research indicates its association with aggression [6], but data regarding the *GG* genotype and empathy are contradictory [11]. The rs6311 locus is considered as a marker for aggressive behavior [12]. A lower number of CAG repeats in the *AR* microsatellite locus is associated with aggressive traits [13].

Most studies have been conducted on traditional ethnic groups, limiting the understanding of the influence of genetic factors on behavior in modern European culture. Our study aims to confirm the influence of the studied loci on aggressive behavior using a mono-ethnic sample of Armenian students.

Methods and Algorithms: The study was conducted on a sample of students from Yerevan State University from 2014 to 2016. Genotyping was performed on 231 individuals for the *OXTR* rs53576 and *HTR2A* rs6311 loci, and only on 229 individuals for the *AR*(CAG)_n locus. Assessment of aggressive behavior was carried out using the Buss-Perry questionnaires and measures of reactive-proactive aggression [14, 15]. Genotyping was conducted using PCR-RFLP methods for SNP loci and fragment analysis for the *AR*(CAG)_n locus. Statistical analysis was performed using GenAlEx v 6.51 [16], Statistica v.10 (StatSoft, Inc., USA), Structure v.2.3.4 [17], and APSampler v. 3.61 [18]. Differences were considered significant at $p < 0.05$, with adjustments made for multiple comparisons using the Benjamini–Hochberg correction [19]. When analyzing the influence of the *AR* locus on aggression traits, the allele set was pre-ranked into 'short' and 'long' categories, characterized by 12–21 and 22–29 CAG repeats, respectively.

Results: In the *OXTR* rs53576 locus, the *G* allele predominates (0.72), with the *GG* genotype present in 52 % of the samples. In *HTR2A* rs6311, alleles *A* and *G* are represented approximately equally (0.48 and 0.52, respectively), with the *AG* genotype in 46 % of the samples. The distribution of genotypes conforms to equilibrium, confirmed by the χ^2 test. Seventeen alleles of the *AR*(CAG)_n locus were identified, with alleles containing 20, 21, and 23 repeats predominating (combined frequency of 0.49). Cluster analysis (Structure) demonstrated sample homogeneity, indicating the presence of a single cluster.

Means, standard deviations, maximum, and minimum values of aggression traits assessed by the Buss–Perry questionnaire and reactive-proactive aggression were calculated. The distributions of aggression scales mostly did not deviate from normal, except for physical aggression in women and verbal and proactive aggression in the combined sample. The Student's *t*-test revealed significant differences between men and women across several aggression scales: physical aggression ($p = 0.000000028$), hostility ($p = 0.0327$), proactive ($p = 0.000000028$), and reactive aggression ($p = 0.0151$), all of which were higher in men. The Cronbach's alpha values for all scales are 0.7892, for the Buss–Perry questionnaire – 0.7164, and for reactive-proactive aggression – 0.7329.

Associative analysis was conducted using separate aggression scales from both questionnaires. An associative analysis was performed using both overall data and separately for men and women. A four-way analysis of variance confirmed the influence of gender on the level of physical, proactive, and reactive aggression, and also showed a reverse relationship of hostility between men and women.

Three-way analysis of variance revealed the influence of polymorphism of the *AR(CAG)_n* locus on physical aggression in men and the *OXTR* rs53576 locus on verbal aggression in women. Additionally, the interaction between the *OXTR* rs53576 and *AR(CAG)_n* loci was found to influence various aggression scales in women, along with an association of the interaction *OXTR* rs53576 × *HTR2A* rs6311 with reactive aggression in women.

The analysis in the APSampler software revealed combinations of genotypes characteristic of both more and less aggressive segments of the sample, both overall and within individual groups of men and women. For more aggressive individuals: *OXTR* rs53576 – AG + *HTR2A* rs6311 – A. For less aggressive individuals: *OXTR* rs53576 – GG + *AR(CAG)_n* – 24.

Conclusion: The influence of genetic factors on aggressive behavior in men and women has been investigated, confirming gender differences [20], as well as the influence of *OXTR* rs53576 and *AR(CAG)_n* loci on anger and aggression. Further research is necessary to confirm the reproducibility of the results and to clarify the mechanisms of influence [21].

An effect of the *AR(CAG)_n* locus on physical aggression in men has been found, consistent with [13]. However, [22] have cast doubt on this effect. The importance of ethnic factors is confirmed by [5]. An independent effect of the *OXTR* rs53576 locus on verbal aggression in women was identified, contradicting [11, 23] but consistent with our data [5]. Empathy and stress response are associated with this effect [10, 11, 24]. Differences in results may be due to gender-specific gene expression in men and women, complicating the detection of individual effects of *OXTR* rs53576 and *AR(CAG)_n* loci on aggression. The interaction of these loci has been confirmed both in men for verbal aggression and in women for verbal, proactive, and reactive aggression. The mechanism of interaction remains unclear due to differences in physiological systems to which these loci belong.

In women, the interaction between *OXTR* rs53576 and *HTR2A* rs6311 loci has been observed to influence reactive aggression. Homozygous carriers of the *HTR2A* rs6311 locus with the A allele of the *OXTR* rs53576 locus exhibit lower levels of aggression, while heterozygous carriers of the AG genotype have the highest level. The combination of the GG genotype of the *OXTR* rs53576 locus with any genotype of the *HTR2A* rs6311 locus is characterized by an intermediate level of aggression.

Complex relationships are observed between alleles of the *HTR2A* rs6311 locus and between loci of the *HTR2A* and *OXTR* genes. The GG genotype of the *HTR2A* rs6311 locus is associated with increased levels of suicidal behavior and aggression [12]. Previously, an interaction effect of ethnic origin and genotype of the *HTR2A* rs6311 locus on aggression has been demonstrated.

In the second stage, using non-parametric associative analysis, we identified genotype combinations for two segments of the sample: *OXTR* rs53576 – GG + *AR(CAG)_n* – 24 for “less aggressive” and *OXTR* rs53576 – AG + *HTR2A* rs6311 – A for “more aggressive”, consistent with the results of the analysis of variance.

We confirm the influence of the $AR(CAG)_n$ locus on the level of physical aggression in men and the $OXTR$ rs53576 locus on the level of verbal aggression in women in our sample. All detected effects, especially the interactions of loci, require further verification and validation in samples from different cultural-ethnic groups, possibly involving larger samples and the use of more powerful analysis methods, such as GWAS (genome-wide association study).

Funding: The study is supported by Government program of basic research in Koltzov Institute of Developmental Biology of the Russian Academy of Sciences in 2024 No. 0088-2024-0011.

Список литературы/References

1. Алфимова М.В., Трубников В.И. Психогенетика агрессивности. *Вопросы психологии*. 2000;(6):112-121
[Alfimova M.V., Trubnikov V.I. Psychogenetics of Aggressiveness. *Voprosy Psikhologii = Issues of Psychology*. 2000;(6):112-121 (in Russian)]
2. Давыдова Ю.Д., Литвинов С.С., Еникеева Р.Ф., Малых С.Б., Хуснутдинова Э.К. Современные представления о генетике агрессивного поведения. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018;22(6):716-725
[Davydova J.D., Litvinov S.S., Enikeeva R.F., Malykh S.B., Khusnutdinova E.K. Recent advances in genetics of aggressive behavior. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(6):716-725 (in Russian)]
3. Ковш Е.М., Воробьева Е.В., Ермаков П.Н. Обзор современных исследований психогенетических факторов агрессивного поведения. *Российский психологический журнал*. 2014;11(4):91-103
[Kovsh E.M., Vorobyeva E.V., Ermakov P.N. Review of current research on psychogenetic factors of aggressive behavior. *Rossiyskiy psikhologicheskiy zhurnal = Russian Psychological Journal*. 2014;11(4):91-103 (in Russian)]
4. Васильев В.А. Молекулярная психогенетика: исследования девиантного агрессивного поведения человека. *Генетика*. 2011;47(9):1157-1168
[Vasilyev V.A. Molecular psychogenetics of deviant aggressive behavior in humans. *Russ J Genet*. 2011;47(9):1157-1168 (in Russian)]
5. Butovskaya M.L., Butovskaya P.R., Vasilyev V.A. et al. Serotonergic gene polymorphisms (5-HTTLPR, 5HTR1A, 5HTR2A), and population differences in aggression: traditional (Hadza and Datoga) and industrial (Russians) populations compared. *J Physiol Anthropol*. 2018;37(1)10. doi 10.1186/s40101-018-0171-0
6. Butovskaya M., Burkova V., Vasilyev V. et al. Fertility and infant survival in men and women from rural regions of Northern Tanzania: gene candidates and sex-specific genetic associations. *J Anthropol Sci*. 2020;98. doi 10.4436/JASS.98018
7. Hartl D.L., Moriyama E.N., Sawyer S.A. Selection intensity for codon bias. *Genetics*. 1994;138(1):227-234. doi 10.1093/genetics/138.1.227
8. Falkenberg V.R., Gurbaxani B.M., Unger E.R., Rajeevan M.S. Functional genomics of serotonin receptor 2A (HTR2A): interaction of polymorphism, methylation, expression and disease association. *Neuromol Med*. 2011;13:66-76. doi 10.1007/s12017-010-8138-2
9. Gelmann E.P. Molecular biology of the androgen receptor. *J Clin Oncol*. 2002;20(13):3001-3015. doi 10.1200/JCO.2002.10.018
10. Carter C.S., Grippio A.J., Pournajafi-Nazarloo H., Ruscio M.G., Porges S.W. Oxytocin, vasopressin and sociality. *Prog Brain Res*. 2008;170:331-336. doi 10.1016/S0079-6123(08)00427-5
11. Rodrigues S.M., Saslow L.R., Garcia N., John O.P., Keltner D. Oxytocin receptor genetic variation relates to empathy and stress reactivity in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106(50):21437-21441. doi 10.1073/pnas.0909579106
12. Giegling I., Hartmann A.M., Möller H.-J., Rujescu D. Anger- and aggression-related traits are associated with polymorphisms in the 5-HT-2A gene. *J Affective Disord*. 2006;96(1-2):75-81. doi 10.1016/j.jad.2006.05.016
13. Butovskaya M.L., Vasilyev V.A., Lazebny O.E. et al. Aggression and polymorphisms in AR, DAT1, DRD2, and COMT genes in Datoga pastoralists of Tanzania. *Sci Rep*. 2013;3:3148. doi 10.1038/srep03148

14. Buss A.H., Perry M. The aggression questionnaire. *J Personal Social Psychol.* 1992;63(3):452-459. doi 10.1037/0022-3514.63.3.452
15. Raine A., Dodge K., Loeber R. et al. The reactive-proactive aggression questionnaire: differential correlates of reactive and proactive aggression in adolescent boys. *Aggress Behav.* 2006;32(2):159-171. doi 10.1002/ab.20115
16. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research--an update. *Bioinformatics.* 2012;28(19):2537-2539. doi 10.1093/bioinformatics/bts460
17. Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics.* 2000;155(2):945-959. doi 10.1093/genetics/155.2.945
18. Favorov A.V., Andreewski T.V., Sudomoina M.A., Favorova O.O., Parmigiani G., Ochs M.F. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans. *Genetics.* 2005;171(4):2113-2121. doi 10.1534/genetics.105.048090
19. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Soc Ser B (Methodol).* 1995;57(1):289-300
20. Ильин Е.П. Психология агрессивного поведения. СПб.: Питер, 2014
[Ilyin E.P. Psikhologiya aggressivnogo povedeniya = The Psychology of Aggressive Behavior. SPb.: Piter, 2014 (in Russian)]
21. Cupaioli F.A., Zucca F.A., Caporale C., Lesch K.P., Passamonti L., Zecca L. The neurobiology of human aggressive behavior: Neuroimaging, genetic, and neurochemical aspects. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2021;106:110059. doi 10.1016/j.pnpbp.2020.110059
22. Valenzuela N.T., Ruiz-Pérez I., Rodríguez-Sickert C., Polo P., Muñoz-Reyes J.A., Yeste-Lizán A., Pita M. The relationship between androgen receptor gene polymorphism, aggression and social status in young men and women. *Behav Sci (Basel).* 2022;12(2):42. doi 10.3390/bs12020042
23. Parris M.S., Grunebaum M.F., Galfalvy H.C. et al. Attempted suicide and oxytocin-related gene polymorphisms. *J Affect Disord.* 2018;238:62-68. doi 10.1016/j.jad.2018.05.022
24. Басова А.Г. Теоретические аспекты взаимосвязи эмпатии и агрессии. *Молодой ученый.* 2012;8(43):256-258
[Basova A. G. Theoretical aspects of the relationship between empathy and aggression. *Molodoy Ucheny = Young Scientist.* 2012;8(43):256-258 (in Russian)]