

## АНАЛИЗ АССОЦИИ ГАПЛОТИПОВ С БОЛЕЗНЬЮ АЛЬЦГЕЙМЕРА И УМЕРЕННЫМИ КОГНИТИВНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ В РУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

© 2020 г. К. В. Вагайцева<sup>1, \*</sup>, А. В. Бочарова<sup>1</sup>, Е. А. Колесникова<sup>2</sup>, В. В. Маркова<sup>1</sup>, О. А. Макеева<sup>1</sup>, Л. И. Минайчева<sup>1</sup>, И. А. Жукова<sup>3</sup>, Н. Г. Жукова<sup>3</sup>, В. А. Степанов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, 634050 Россия

<sup>2</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, 634050 Россия

<sup>3</sup>Сибирский государственный медицинский университет, Томск, 634050 Россия

\*e-mail: kseniya.simonova@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 27.12.2019 г.

После доработки 20.01.2020 г.

Принята к публикации 21.01.2020 г.

Проведен анализ ассоциаций гаплотипов 894 образцов ДНК пожилых людей из русского населения г. Томска по 49 SNP. В качестве анализируемых маркеров были отобраны SNP, показавшие ранее ассоциации с болезнью Альцгеймера или вариабельностью когнитивных способностей в широкогеномных ассоциативных исследованиях. В результате проведенного анализа выявлены блоки сцепления на хромосомах 1, 2, 6, 8, 11, 19, 20. Показаны значимые ассоциации, полученные с учетом 50000 пермутаций, для гаплотипов, локализованных на 1-й и 19-й хромосомах в генах *CR1* и *APOE*, *APOC1* соответственно. Полученные нами результаты подтверждают роль генов *APOE* и *CR1* в патогенезе болезни Альцгеймера в русской популяции.

**Ключевые слова:** анализ ассоциаций, структура неравновесия по сцеплению, болезнь Альцгеймера, гаплотипы, русская популяция.

**DOI:** 10.31857/S0016675820100136

Болезнь Альцгеймера (БА) – нейродегенеративное заболевание, наиболее распространенная форма деменции. Изменения, лежащие в основе клинических проявлений заболевания, возникают задолго до проявления первых симптомов, развиваются медленно в ходе досимптоматической фазы. Данная фаза сопровождается когнитивными нарушениями, которые чаще всего описываются как умеренные когнитивные нарушения (УКН). В ходе ухудшения когнитивных способностей человека фаза УКН переходит в клиническую деменцию альцгеймеровского типа [1]. Многочисленные широкогеномные ассоциативные исследования (GWAS) болезни Альцгеймера и вариабельности когнитивных способностей выявили несколько тысяч генетических маркеров, при этом вклад их в наследственную компоненту невелик [2, 3]. Подавляющее большинство маркеров, найденных в GWAS, за исключением структурных вариантов аполипопротеина Е (*APOE*), вносят лишь минорный вклад в подверженность к БА с поздним проявлением. К тому же только некоторые из показанных ассоци-

аций воспроизводятся в репликативных исследованиях [4, 5].

Одной из продуктивных стратегий выявления генетических маркеров, лежащих в основе многофакторных признаков, является анализ структуры неравновесия по сцеплению в области генов-кандидатов и поиск ассоциированных с заболеванием гаплотипов. Такой подход может существенно повысить статистическую мощность ассоциативного исследования [6]. При этом важно учитывать тот факт, что структура неравновесия по сцеплению является результатом генетико-демографической истории популяции [7, 8].

В данной публикации представлены результаты анализа ассоциаций гаплотипов SNP-маркеров, локализованных в генах, вовлеченных в формирование и развитие болезни Альцгеймера и вариабельность когнитивных способностей.

В работе были использованы две выборки из популяции русских г. Томска. Было обследовано 704 человека, средний возраст которых составил  $71.8 \pm 5.6$  года, собранных в ходе когортного ис-

следования по первичной профилактике БА без диагноза БА [9]. Подробная характеристика выборки представлена ранее [10]. В выборке было проведено нейропсихологическое тестирование с использованием Монреальской шкалы оценки когнитивных функций (MoCA). На основе результатов тестирования выборка была разделена на две подвыборки. В выборку с умеренными когнитивными нарушениями или недиагностированной деменцией вошли 86 пожилых людей, набравших менее 18 баллов теста MoCA. Контрольную выборку составили 618 обследуемых. Группа больных БА (190 обследуемых) была набрана из пациентов с диагнозом БА (код G30 по МКБ-10), обследованных на кафедре неврологии и нейрохирургии Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск). Диагноз устанавливали в соответствии с критериями МКБ-10, DSM-IV и NINCDS/ADDA1.

В качестве анализируемых маркеров были отобраны однонуклеотидные полиморфные варианты, показавшие ассоциацию с болезнью Альцгеймера или вариативностью когнитивных способностей в широкогеномных ассоциативных исследованиях, проведенных на выборках европейцев или при полноэкзомном ассоциативном анализе, выполненном для русской популяции (табл. 1) (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>, В.А. Степанов и др., неопубликованное). Распределение частот генотипов изучаемых полиморфных вариантов в выборках соответствовало равновесию Харди–Вайнберга, за исключением rs6051449 ( $p = 0.0016$ ), rs4629318 ( $p = 0.0239$ ), rs599255 ( $p = 0.025$ ) в контрольной выборке и rs12989701 ( $p = 0.0193$ ), rs6051449 ( $p = 0.0109$ ) в выборке БА.

Структуру неравновесия по сцеплению определяли с помощью Haploview 4.2. Частоты гаплотипов определяли с помощью EM алгоритма. LD между парами SNP оценивалось с помощью коэффициента  $D'$  и коэффициента корреляции  $r^2$  Пирсона. Блочная структура определялась посредством алгоритма "Solidspine LD". Для анализа ассоциаций гаплотипов с уровнем когнитивных способностей использовали пермутационный тест, количество пермутаций составило 50000.

В результате проведенного анализа блоки сцепления были выявлены на хромосомах: 1, 2, 6, 8, 11, 19, 20 (рис. 1). Блоки сцепления, локализованные на 6-й хромосоме, выявленные на выборке пожилых людей без диагноза болезни Альцгеймера и с поставленным диагнозом, различаются по своей структуре. В выборке больных сцепление показано для двух маркеров из трех (rs17693963, rs1635) (рис. 1, табл. 2).

Результаты анализа ассоциации выявленных гаплотипов с УКН и БА представлены в табл. 2. Значимые ассоциации, полученные с учетом 50000 пермутаций, показаны для блоков сцепления, локализованных на 1-й и 19-й хромосомах. Блок сцепления, расположенный на 1-й хромосоме, локализован в гене *CR1*. Белок CR1 является трансмембранным гликопротеином I типа, играет свою роль при клиренсе бета-амилоида, нейровоспалении и тауопатии. Впервые ассоциация данного гена с болезнью Альцгеймера была показана в 2009 г., на настоящий момент 17 широкогеномных ассоциативных исследований выявили ассоциацию с БА для шести SNP, локализованных в гене *CR1* [3, 11].

Блоки сцепления, локализованные на хромосоме 19, для русской популяции описаны ранее и включают в себя SNP нескольких генов: *NECTIN2*, *TOMM40*, *APOE*, *APOC1*. Значимая ассоциация с болезнью Альцгеймера показана для гаплотипа второго блока, включающего в себя полиморфные варианты генов *APOE* и *APOC1*. При этом маркеры гена *APOE* также показали ассоциацию с БА индивидуально (rs769449,  $p = 0.0000$ ; rs429358,  $p = 0.0005$ ). *APOE* на настоящий момент остается ведущим фактором риска для наиболее распространенной формы болезни Альцгеймера с поздним проявлением. Предполагаются два механизма влияния *APOE* на развитие БА. С одной стороны, он способствует накоплению бета-амилоида, с другой, – повреждает цитоскелет и митохондрии нейронов при стрессе [12].

Ассоциации анализируемых гаплотипов с УКН при выбранных условиях анализа (50000 пермутаций) выявлены не были. Вероятно, свою роль в этом также сыграл объем выборки пожилых людей, набравших менее 18 баллов теста MoCA.

Таким образом, полученные нами результаты подтверждают роль генов *APOE* и *CR1* в патогенезе болезни Альцгеймера в русской популяции.

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

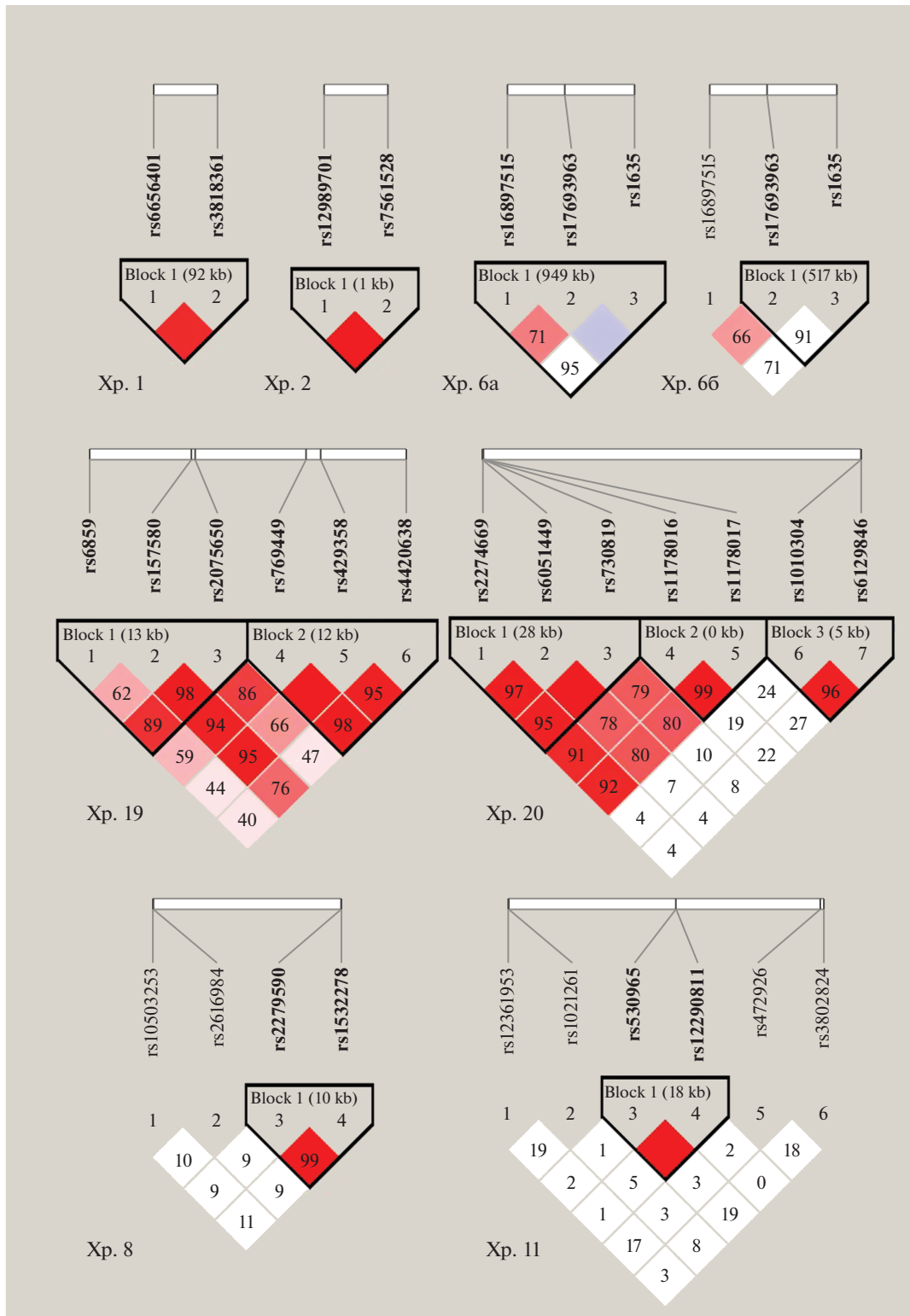
От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

**Таблица 1.** Характеристика анализируемых маркеров (по данным National Center for Biotechnology Information)

Локус	Хромосома	Замена	Ген	Локализация/тип мутации
rs6656401	1	<u>A</u> /G/T	<i>CR1</i>	Интрон
rs3818361	1	A/ <u>G</u>	<i>CR1</i>	»
rs12989701	2	<u>C</u> /A	<i>LOC105373605</i>	Регуляторная область
rs7561528	2	G/ <u>A</u>	<i>LOC105373605</i>	Межгенная область
rs4629318	3	<u>G</u> /A	<i>LOC105376926, CNTN4</i>	Интрон
rs2120609	3	<u>T</u> /C	<i>LRRN1, LOC107986007</i>	Синонимичная замена
rs17518584	3	<u>C</u> /T	<i>CADM2</i>	Интрон
rs17194490	3	G/ <u>T</u>	<i>CNTN4</i>	»
rs339285	3	T/ <u>C</u>	<i>CNTN4-AS1, CNTN4</i>	Синонимичная замена
rs12494658	3	<u>T</u> /C	<i>CADM2-AS2, CADM2</i>	Интрон
rs3214684	4	<u>T</u> /–	<i>TMEM131L</i>	»
rs1466662	4	<u>A</u> /T	<i>DCHS2</i>	»
rs16897515	6	<u>C</u> /A	<i>LOC105375107, POM121L2</i>	Миссенс-мутация
rs17693963	6	<u>A</u> /C/G	–	Регуляторная область
rs1635	6	<u>C</u> /A/T	<i>ZKSCAN4, NKAPL</i>	Миссенс-мутация
rs1553960	7	A/C/ <u>G</u>	<i>RADIL, PAPOLB</i>	»
rs12674330	7	G/ <u>A</u>	<i>RBAK-RBAKDN, RBAK</i>	Синонимичная замена
rs3750009	7	A/ <u>C</u>	<i>RADIL, PAPOLB</i>	Миссенс-мутация
rs10503253	8	<u>C</u> /A	<i>CSMD1</i>	Интрон
rs2616984	8	<u>A</u> /G	<i>CSMD1</i>	»
rs2279590	8	<u>T</u> /C	<i>CLU</i>	Некодирующая область
rs1532278	8	<u>T</u> /C	<i>CLU</i>	»
rs12361953	11	<u>C</u> /G/T	<i>LUZP2</i>	Интрон
rs1021261	11	<u>G</u> /T	<i>LUZP2</i>	»
rs530965	11	<u>C</u> / <u>T</u>	<i>TENM4</i>	»
rs12290811	11	<u>T</u> /A	<i>TENM4</i>	»
rs1472926	11	<u>C</u> / <u>T</u>	<i>CDON</i>	»
rs3802824	11	<u>C</u> /G/T	<i>KIRREL3</i>	5'UTR
rs599255	13	<u>C</u> /T	<i>FARP1</i>	Интрон
rs3783006	13	<u>G</u> /C	<i>STK24</i>	»
rs58079876	16	<u>G</u> /A/T	<i>CDH15</i>	Некодирующая область
rs2279349	16	G/ <u>A</u> /C	<i>ANKRD11</i>	Синонимичная замена
rs17594526	18	<u>C</u> /T	<i>TCF4</i>	Интрон
rs17512836	18	<u>T</u> /C	<i>TCF4</i>	»
rs6859	19	<u>A</u> /G	<i>NECTIN2</i>	3'UTR
rs769449	19	<u>G</u> /A	<i>APOE</i>	Некодирующая область
rs429358	19	<u>T</u> /C	<i>APOE</i>	Миссенс-мутация
rs4420638	19	<u>A</u> /G	<i>APOC1</i>	Межгенная область
rs157580	19	<u>G</u> /A	<i>TOMM40</i>	Интрон
rs2075650	19	<u>A</u> /G	<i>TOMM40</i>	»
rs730819	20	<u>G</u> /A	<i>PTPRA, VPS16</i>	»
rs1178017	20	<u>G</u> /T	<i>PTPRA</i>	»
rs1178016	20	<u>C</u> /T	<i>PTPRA</i>	Сплайсинг
rs2274669	20	<u>C</u> /G/T	<i>PCED1A</i>	Синонимичная замена
rs6051449	20	<u>A</u> /C	<i>VPS16</i>	Интрон
rs1010304	20	<u>A</u> /G	<i>CHD6</i>	»
rs6129846	20	<u>C</u> /A/G/T	<i>CHD6</i>	»
rs138880	22	A/ <u>C</u>	<i>BRD1</i>	»
rs61746062	22	<u>C</u> /T	<i>KLHDC7B</i>	Синонимичная замена

Примечание. В столбце “Замена” подчеркнут предковый аллель.



**Рис. 1.** Блоки сцепления на хромосомах 1, 2, 6, 8, 11, 19, 20: Хр. 1 – блок сцепления на 1-й хромосоме, Хр. 2 – блок сцепления на 2-й хромосоме, Хр. 6а – блок сцепления на 6-й хромосоме в выборке здоровых пожилых, Хр. 6б – блок сцепления на 6-й хромосоме в выборке больных БА, Хр. 8 – блок сцепления на 8-й хромосоме, Хр. 11 – блок сцепления на 11-й хромосоме, Хр. 19 – блок сцепления на 19-й хромосоме, Хр. 20 – блок сцепления на 20-й хромосоме. Цветовая гамма отображает силу сцепления между SNP: ярко-красный – сильное сцепление ( $D' = 1$ ,  $LOD > 2$ ), красный и розовый – значительное сцепление ( $D' < 1$ ,  $LOD > 2$ ), белый – слабое сцепление ( $D' < 1$ ,  $LOD < 2$ ). Ячейка сиреневого цвета обозначает невозможность расчета неравновесия по сцеплению вследствие низкой частоты минорного аллеля полиморфизма ( $D' = 1$ ,  $LOD < 2$ ).

**Таблица 2.** Результаты анализа ассоциации выявленных гаплотипов с болезнью Альцгеймера и умеренными когнитивными нарушениями

Хромосома (маркеры, составляющие блок)	Низкие баллы МоСА			Болезнь Альцгеймера		
	гаплотип	$\chi^2$	<i>p</i>	гаплотип	$\chi^2$	<i>p</i>
Хр. 1 (rs6656401, rs3818361)	GG	0.881	0.78	<b>GG</b>	<b>6.831</b>	<b>0.028</b>
	AA	1.316	0.589	<b>AA</b>	<b>6.871</b>	<b>0.027</b>
	GA	0.515	0.864	GA	1.322	0.6
	AG	0.055	0.998	AG	1.023	0.687
Хр. 2 (rs12989701, rs7561528)	CG	0.252	0.887	CG	0.198	0.904
	CA	0.147	0.917	CA	4.256	0.079
	AA	1.134	0.517	AA	2.922	0.187
Хр. 6 (rs16897515*, rs17693963, rs1635)	CAG	0.128	0.994			
	AAG	0.124	0.995	AG	0.367	0.807
	CAT	0.017	1	AT	0.398	0.794
	ACG	3.044	0.279	CG	0.037	0.977
	CCG	2.244	0.465			
Хр. 8 (rs2279590, rs1532278)	CC	0.239	0.828	CC	3.219	0.143
	TT	0.8	0.685	TT	3.52	0.115
	TC	2.693	0.242	TC	0.074	0.964
Хр. 11 (rs530965, rs12290811)	CT	0.231	0.885	CT	0.217	0.899
	TT	0.088	0.957	TT	0.576	0.727
	TA	1.353	0.5	TA	0.156	0.919
Хр. 19 (rs6859, rs157580, rs2075650)	GGA	3.423	0.377	GGA	0.052	1
	GAA	0.015	1	GAA	3.153	0.424
	AAA	1.056	0.933	AAA	0.285	0.999
	AAG	0.858	0.963	AAG	2.786	0.52
	AGA	0.015	1	AGA	1.21	0.913
	GAG	0.13	1	GAG	1.584	0.833
Хр. 19 (rs769449, rs429358, rs4420638)	GTA	2.911	0.47	<b>GTA</b>	<b>14.562</b>	<b>0.001</b>
	ACG	6.008	0.101	ACG	4.391	0.22
	GTG	0.897	0.956	GTG	0.431	0.997
	GCG	0.087	1	GCG	0.388	0.998
Хр. 20 (rs2274669, rs6051449, rs730819)	CAG	1.985	0.55	CAG	1.693	0.712
	TCA	1.122	0.839	TCA	2.008	0.643
	CCA	0.139	1	CCA	0.065	1
Хр. 20 (rs1178016, rs1178017)	CG	0.808	0.897	CG	1.462	0.8
	TT	1.103	0.852	TT	1.439	0.805
Хр. 20 (rs1010304, rs6129846)	AC	0.466	0.981	AC	0.017	1
	GT	1.303	0.696	GT	0.025	1

Примечание. Полужирным шрифтом выделены ассоциации с анализируемым признаком, значимые при  $p = 0.05$ ; \* rs16897515 входит в блок сцепления только в выборке с низкими баллами МоСА.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Cummings J.L.* Alzheimer's disease // *N. Engl. J. Med.* V. 351. № 1. P. 56–67.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMra040223>
2. *Zhu Z., Lin Y., Li X. et al.* Shared genetic architecture between metabolic traits and Alzheimer's disease: a large-scale genome-wide cross-trait analysis // *Hum. Genet.* 2019. V. 138. № 3. P. 271–285.  
<https://doi.org/10.1007/s00439-019-01988-9>
3. *Jansen I.E., Savage J.E., Watanabe K. et al.* Genome-wide meta-analysis identifies new loci and functional pathways influencing Alzheimer's disease risk // *Nat. Genet.* 2019. V. 51. № 3. P. 404–413.  
<https://doi.org/10.1038/s41588-018-0311-9>
4. *Zhu X.C., Yu J.T., Jiang T. et al.* CR1 in Alzheimer's disease // *Mol. Neurobiol.* 2015. V. 51. № 2. P. 753–765.  
<https://doi.org/10.1007/s12035-014-8723-8>
5. *Zhang S., Li X., Ma G. et al.* Polymorphism contributes to Alzheimer's disease susceptibility in Caucasian but not East Asian populations // *Mol. Neurobiol.* 2016. V. 53. № 3. P. 1446–1451.  
<https://doi.org/10.1007/s12035-015-9098-1>
6. *Трифоновна Е.А., Спиридонова М.Г., Габидулина Т.В. и др.* Анализ структуры неравновесия по сцеплению и ассоциации полиморфных вариантов гена *MTFR* с коронарным атеросклерозом // *Генетика.* 2012. Т. 48. № 10. С. 1207–1220.
7. *Slatkin M.* Linkage disequilibrium—understanding the evolutionary past and mapping the medical future // *Nat. Rev. Genet.* 2008. V. 9. № 6. P. 477–485.  
<https://doi.org/10.1038/nrg2361>
8. *Lawson D.J., Hellenthal G., Myers S., Falush D.* Inference of population structure using dense haplotype data // *PLoS Genet.* 2012. V. 8. № 1. E.1002453.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002453>
9. *Makeeva O., Markova V., Zhukova I. et al.* A comparison of neuropsychological performance between US and Russia: Preparing for a global clinical trial // *Alzheimers Dement.* 2014. V. 10. № 6. P. 760–768.  
<https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.02.008>
10. *Степанов В.А., Боcharова А.В., Вагайцева К.В. и др.* Редкий вариант в гене сортилинподобного рецептора 1: связь с показателями когнитивных функций у пожилых // *Журн. неврол. и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2018. Т. 118. № 5. С. 92–95.
11. *Lambert J.C., Heath S., Even G. et al.* Genome-wide association study identifies variants at *CLU* and *CR1* associated with Alzheimer's disease // *Nat. Genet.* 2009. V. 41. № 10. P. 1094–1099.  
<https://doi.org/10.1038/ng.439>
12. *Fulmer T.* APOE in AD // *Science-Business eXchange.* 2012. V. 5. № 9. P. 221.  
<https://doi.org/10.1038/scibx.2012.221>

## Analysis of the Association of Haplotypes with Alzheimer's Disease and Moderate Cognitive Disorders in the Russian Population

K. V. Vagaitseva<sup>a, \*</sup>, A. V. Bocharova<sup>a</sup>, E. A. Kolesnikova<sup>b</sup>, V. V. Markova<sup>a</sup>, O. A. Makeeva<sup>a</sup>,  
L. I. Minaycheva<sup>a</sup>, I. A. Zhukova<sup>c</sup>, N. G. Zhukova<sup>c</sup>, and V. A. Stepanov<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Medical Research Center, Tomsk, 634050 Russia

<sup>b</sup>Tomsk State University, Tomsk, 634050 Russia

<sup>c</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, 634050 Russia

\*e-mail: kseniya.simonova@medgenetics.ru

Haplotype associations of 894 DNA samples of elderly people from the Russian population of Tomsk were analyzed using 49 SNPs (single nucleotide polymorphisms). As the analyzed markers, SNPs were selected that showed an association with Alzheimer's disease or variability of cognitive abilities in genome-wide association studies. As a result of the analysis, blocks on 1, 2, 6, 8, 11, 19, 20 chromosomes were identified. Significant associations are shown, taking into account 50,000 permutations, for haplotypes localized on chromosomes 1 and 19 in the genes *CR1* and *APOE*, *APOC1* respectively. Our results confirm the role of the *APOE* and *CR1* genes in the pathogenesis of Alzheimer's disease in the Russian population.

**Keywords:** analysis of associations, linkage disequilibrium, Alzheimer's disease, haplotypes, Russian population.