

ГЕНОТИПЫ И ФЕНОТИПЫ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

GENOTYPES AND PHENOTYPES OF ALZHEIMER'S DISEASE

Волобуев А.Н.
Пятин В.Ф.
Романчук Н.П.
Александрова Н.Н.

Volobuev AN
Pyatin VF
Romanchuk NP
Aleksandrova NN

ФГБОУ ВО «Самарский государственный
медицинский университет» Минздрава России

Samara State
Medical University

Цель — исследование гена АРОЕ для установления аллельной структуры фенотипов человеческой популяции относительно риска болезни Альцгеймера.

Материалы и методы. Использование теории Харди — Вайнберга и статистических исследований распределения аллелей гена АРОЕ в человеческой популяции.

Результаты. Исследованы принципы формирования аллельной структуры фенотипов относительно риска болезни Альцгеймера. Показана целесообразность нахождения этих фенотипов. На основе полученного распределения фенотипов в человеческой популяции исследована зависимость частот фенотипов от риска болезни Альцгеймера. Выявлены наиболее опасные фенотипы.

Заключение. На основе представления о доминантной и рецессивной структуре аллелей гена АРОЕ показано, что в человеческой популяции должно существовать три фенотипа, которые определяют риск болезни Альцгеймера. Исследовано распространение этих фенотипов в популяции.

Ключевые слова: хромосома, ген АРОЕ, нуклеотидная последовательность, аллели, фенотип, генотип, секвенирование, болезнь Альцгеймера.

Конфликт интересов: не заявлен.

Aim — research of gene APOE for definition of allele structures of the human population phenotypes resulting in risk of Alzheimer's disease.

Materials and methods. Use of the Hardy—Weinberg theory and statistical researches of the alleles distribution of gene APOE in a human population.

Results. Principles of the phenotype allele structures formation resulting in risk of Alzheimer's disease are investigated. The expediency of these phenotypes finding is shown. On the basis of the received phenotypes distribution in human population the dependence of phenotype frequencies on risk of Alzheimer's disease is investigated. The most dangerous phenotypes are revealed.

Conclusion. On the basis of representation about dominant and recessive structure of gene APOE alleles it is shown that in a human population exists three phenotypes which determine the risk of Alzheimer's disease. Distribution of these phenotypes in populations is investigated.

Keywords: chromosome, APOE gen, nucleotide sequence, alleles, phenotype, genotype, sequencing, Alzheimer's.

Conflicts of Interest: nothing to declare.

■ ВВЕДЕНИЕ

В России и во многих других странах мира наблюдается процесс старения населения. В 2015 году ожидаемая продолжительность жизни в России достигла для женщин 76,71 года, а для мужчин 65,92 года. При этом доля населения старше 60 лет составила 19,87% [1].

Для людей пожилого и старческого возрастов характерны заболевания, ведущие к различным когнитивным

нарушениям. Среди этих заболеваний выделяются болезнь Альцгеймера и сенильные дементные состояния. До настоящего времени полного излечения от этих заболеваний не наблюдалось. При этом болезнь Альцгеймера приводит к летальному исходу примерно через 5–8 лет.

Болезнь Альцгеймера как отдельная нозологическая форма берет свое начало с 1906 года, когда немецкий психиатр Алоис Альцгеймер представил на конференции пациентку с характерным набором симптомов.

Болезнь Альцгеймера обычно возникает после 65 лет, однако наблюдаются случаи этого заболевания и в более раннем возрасте. Возникновение определенных элементов деменции альцгеймеровского типа различной степени тяжести довольно обычный итог позднего периода развития организма. Считается, что после 65 лет это заболевание поражает до 5% людей, а после 80 лет до 20%. По экспертным оценкам, в России проживает не меньше 2,4 млн человек старше 65 лет со старческим слабоумием (сенильной деменцией). Болезнью Альцгеймера страдают 1,8 млн человек.

Клиническую картину болезни Альцгеймера характеризует триада симптомов: нарушение памяти, нарушение ориентировки в пространстве, нарушение речи [1]. По мере развития заболевания эти симптомы усугубляются, становятся все более выраженными вплоть до невозможности самостоятельной жизнедеятельности пациента.

Установлено, что болезнь Альцгеймера и сенильные дементные состояния являются следствием одной и той же причины — нарушения нейронной структуры головного мозга, чаще всего в заключительный период жизни человека. Различие только в глубине и характере нарушений.

По современным представлениям болезнь Альцгеймера может возникать в результате различных нарушений в функционировании головного мозга.

1. Дефицит медиатора ацетилхолина — так называемая холинергическая гипотеза. Ацетилхолин является одним из медиаторов, участвующих в передаче сигналов между нейронами головного мозга.

2. Возникновение амилоидных бляшек. Эти бляшки состоят из бета-амилоидного пептида, который возникает в результате расщепления белка APP (amyloid precursor protein). Предполагается, что бета-амилоидные бляшки механически разрывают синаптические связи между нейронами.

3. Накопление одной из модификаций тау-белка. В норме этот белок участвует в образовании микротрубочек — важного элемента цитоплазматической структуры нейронов. Однако одна из модификаций этого белка с большим количеством фосфатных групп накапливается в виде фибриллярных клубочков, прикрепляющихся к структурам нейронов и способствующих нарушению работы мозга.

К сожалению, до сих пор четкого и последовательного механизма развития болезни Альцгеймера и сенильной деменции альцгеймеровского типа не определено.

Однако имеется один твердо установленный факт, что болезнь Альцгеймера частично связана с генной структурой ДНК, в частности с геном APOE. Причем наиболее опасна ситуация, когда в хромосомах имеется гомозигота аллелей $\epsilon 4$.

Далее рассмотрим только генетическую составляющую риска болезни Альцгеймера. Эта составляющая важна тем, что характеризует элемент наследственной природы болезни Альцгеймера.

Гены кодируют информацию о строении белков. В частности ген APOE кодирует информацию о строении одного из белков аполипопротеинов.

Аллельный полиморфизм гена APOE определяет индивидуальные и межэтнические вариации липидного спектра крови, в том числе связан с гиперхолестеринемией, гиперлипопротеинемией, обуславливает генетическую предрасположенность к различным патологиям: атеросклерозу, ИБС, нарушениям памяти у пожилых, рассеянному склерозу, в том числе и к болезни Альцгеймера. Анализ индивидуального полиморфизма гена APOE учитывают при назначении статинов.

■ ЦЕЛЬ

Определение фенотипической структуры болезни Альцгеймера.

■ СТРОЕНИЕ ГЕНОМА ПРИМЕНИТЕЛЬНО К ГЕНУ APOE

Любой ген состоит из комплементарной последовательности пар нуклеотидов. Но лишь определенные последовательности нуклеотидов в гене кодируют информацию о белке. Эти последовательности называются экзонами (expression regions). Между экзонами находятся промежуточные последовательности, которые называются интронами (intervening sequences). Интроны не кодируют информацию о структуре белка. Более 75–95% последовательностей нуклеотидов в ДНК человека представляют собой интроны.

Ген APOE (ApoE) расположен на длинном плече хромосомы (аутосомы) 19 (19q13.32), **рисунок 1** [2]. Показана только одна хроматида. Вторая хроматида идентична первой и соединена с ней в центромере. Обозначение в скобках обозначает положение локуса в хромосоме. Буква q указывает на длинное плечо хромосомы, цифра 1 — номер региона (в 19 хромосоме по 1 региону на коротком и длинном плечах), 3 — номер полосы (длинное плечо 19 хромосомы содержит 3 или 4 полосы). Полосы нумеруются последовательно от центромеры к теломере. Полосы подразделяются на субполосы. Субполосы также нумеруются последовательно от центромеры к теломере. Цифра 3 после точки — номер субполосы, 2 — номер суб-субполосы.

Ген APOE состоит из 4 экзонов и 3 интронов, 3597 пар нуклеотидов [3]. В соответствии с генетическим кодом [4] три пары нуклеотидов кодируют одну аминокислоту в белке. Эти кодирующие триплеты называются кодонами. Следовательно, в гене APOE находится $3597 / 3 = 1199$ кодонов, которые могут кодировать последовательность из 1199 аминокислот. Но за счет интронов аминокислот в белке значительно меньше.

Структура 4 экзонов гена APOE показана на **рисунок 2**.

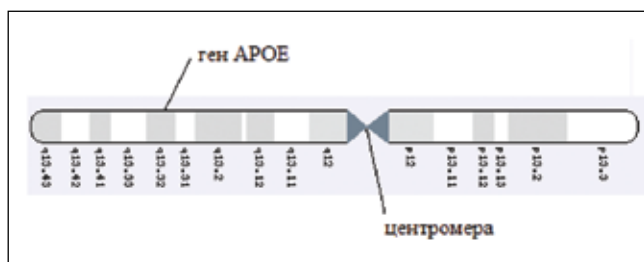


Рисунок 1. Структура хроматиды 19-й аутосомы.

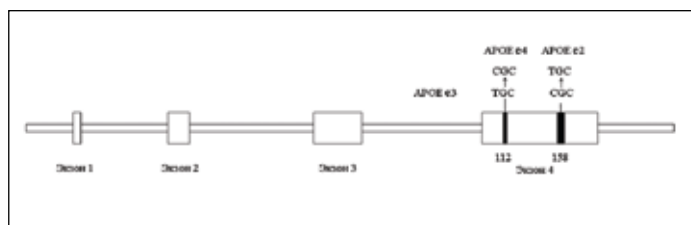


Рисунок 2. Структура аллелей гена APOE.

Ген APOE имеет три разновидности – три аллеля (полиморфизм), которые обозначаются e2, e3, e4.

Аллели e2 и e3 доминантные, аллель e4 – рецессивный.

На рисунке 2 показано отличие в нуклеотидной последовательности аллелей e2 и e4 от аллеля e3.

В соответствии со схемой рисунка 2 в экзоне 4 в 112 кодоне (от начала экзона) аллеля e3 имеется последовательность нуклеотидов TGC, которая кодирует аминокислоту Cys в аминокислотной последовательности белка. Комплементарные нуклеотиды в цепочке ДНК ($A \leftrightarrow T$, $C \leftrightarrow G$) для кодонов не показаны. Замена нуклеотидов в аллелях сопровождается заменой комплементарных нуклеотидов.

В экзоне 4 в кодоне 112 аллеля e4 она заменена последовательностью CGC, которая кодирует аминокислоту Arg.

В экзоне 4 в кодоне 158 аллеля e3 имеется последовательность нуклеотидов CGC, кодирующая аминокислоту Arg.

В экзоне 4 в кодоне 158 аллеля e2 она заменена последовательностью TGC, которая кодирует аминокислоту Cys.

Во всех кодонах изменяется первый нуклеотид. Обычно в соответствии с генетическим кодом только первый и второй нуклеотиды в кодонах определяют кодируемую аминокислотную последовательность белка.

Эти аллели встречаются в двух парных 19 хромосомах человека в виде трех гомозигот e2/e2, e3/e3, e4/e4 и трех гетерозигот e2/e3, e2/e4, e3/e4.

Распространенность генотипов у европейцев показана в таблице 1 [5].

Анализ справедливости результатов в таблице 1 исследуем, следуя закону Харди – Вайнберга [6]. Для удобства преобразований частоты аллелей e2, e3 и e4 обозначим p , q , и r , так что $p + q + r = 1$.

В соответствии с законом Харди – Вайнберга частоты генотипов (гомозигот и гетерозигот) распределяются по закону [6]:

$$p^2 (e2/e2) + q^2 (e3/e3) + r^2 (e4/e4) + 2pq (e2/e3) + 2pr (e2/e4) + 2qr (e3/e4) = 1. \quad (1)$$

Генотипы APOE	Частоты генотипов
e2/e2	0,4%
e2/e3	13,7%
e3/e3	63,9%
e2/e4	1,3%
e3/e4	19,0%
e4/e4	1,7%

Таблица 1. Распространенность генотипов у европейцев

Используя таблицу 1 и распределение (1) по частотам гомозигот, найдем частоты аллелей:

$$p(e2/e2) = \sqrt{0,004} = 0,063 = 6,3\%$$

$$q(e3/e3) = \sqrt{0,639} = 0,8 = 80\%$$

$$r(e4/e4) = \sqrt{0,017} = 0,13 = 13\%$$

Проверка закона $p + q + r = 1$ приводит к равенству $0,063 + 0,8 + 0,13 = 0,993 \approx 1$, что указывает на точность данных по гомозиготам в таблице 1, соответствующую 0,7%.

Найдем расчетные значения для частот гетерозигот.

В соответствии с распределением (1) имеем частоты гетерозигот:

$$2pq(e2/e3) = 2 \cdot 0,063 \cdot 0,8 = 0,1 = 10\%$$

$$2pr(e2/e4) = 2 \cdot 0,063 \cdot 0,13 = 0,0164 = 1,64\%$$

$$2qr(e3/e4) = 2 \cdot 0,88 \cdot 0,13 = 0,229 = 22,9\%$$

Таким образом, частоты гетерозигот в таблице 1 примерно соответствуют распределению Харди – Вайнберга.

Выделим 3 фенотипа. Фенотип болезни Альцгеймера связываем с заболеваемостью этой болезнью, что проявляется внешним образом. При этом руководствуемся следующими соображениями. Доминирование аллеля e4, который чаще всего ответственен за болезнь Альцгеймера, над аллелями e2 и e3 вряд ли возможно, так как в этом случае чрезмерная распространенность болезни Альцгеймера привела бы к опасности вырождения человеческой популяции. Поэтому предполагаем, что в популяции возникают три фенотипа в результате доминирования аллелей e2 и e3 над аллелем e4.

В соответствии с данным предположением в таблице 2 показаны три фенотипа с их частотами, следующими из закона Харди – Вайнберга.

Фенотипы	Ф1	Ф2	Ф3
Генотипы в фенотипах	e4/e4	e2/e2+e3/e3+ +2e2/e3	e2/e4+e3/e4
Частоты фенотипов	r^2	$p^2 + q^2 + 2pq$	$2pr + 2qr$
	1,69%	75,7%	22,6%

Таблица 2. Фенотипы с частотами, следующими из закона Харди – Вайнберга

Частоты фенотипов в соответствии с таблицей 2 можно вычислить по формулам: $\Phi 2 = (p + q)^2 = (1 - r)^2$ и $\Phi 3 = 2r(p + q) = 2r(1 - r)$.

Таким образом, используя данные частоты аллеля, находим частоты фенотипов:

$$\Phi 1 = r^2 = 0,13^2 = 0,0169 = 1,69\%$$

$$\Phi 2 = (1 - r)^2 = (1 - 0,13)^2 = 0,757 = 75,7\%$$

$$\Phi 3 = 2r(1 - r) = 2 \cdot 0,13 \cdot (1 - 0,13) = 0,226 = 22,6\%$$

В соответствии с таблицей 3 имеем сумму частот фенотипов $\Phi 1 + \Phi 2 + \Phi 3 = r^2 + 1 - 2r + r^2 + 2r - 2r^2 = 1$.

Аллель e4 определяет предрасположенность к болезни Альцгеймера.

Генотипы APOE	Мужчины	Женщины
e2/e2 или e2/e3	4–5%	6–8%
e3/e3	7–8%	10–12%
e2/e4	18–20%	27–31%
e3/e4	22–23%	30–35%
e4/e4	51–52%	60–68%

Таблица 3. Вероятность заболевания болезнью Альцгеймера для мужчин и женщин

В таблице 3 [7] показана вероятность заболевания болезнью Альцгеймера для мужчин и женщин.

Определение фенотипа человека относительно генетической составляющей болезни Альцгеймера возможно только путем секвенирования генома, то есть определения конкретной нуклеотидной последовательности гена APOE. По-видимому, это направление будет во многом определять тенденцию развития диагностики болезни Альцгеймера.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя таблицу 3, приходим к следующим выводам. Несмотря на то что для фенотипа Ф1 очень высока вероятность заболеть болезнью Альцгеймера (51–52% у мужчин и 60–68% у женщин), его распро-

страненность в популяции очень невелика $\Phi 1 = 1,69\%$. Попадание человека в эту группу (фенотип) можно считать личной неудачей. Человек попадает в группу риска.

Для фенотипа Ф2 вероятность заболеть болезнью Альцгеймера составляет для мужчин $(4-5)\% + (7-8)\% = (11-13)\%$, для женщин $(6-8)\% + (10-12)\% = (16-20)\%$. Распространенность фенотипа Ф2 в популяции очень высокая $\Phi 2 = 75,7\%$. Попадание людей в эту группу (фенотип), по-видимому, можно считать наибольшей удачей, хотя это не гарантирует от развития болезни Альцгеймера.

Фенотип Ф3 достаточно распространен в популяции. Его частота $\Phi 3 = 22,6\%$. Вероятность заболеть болезнью Альцгеймера для этого фенотипа высокая. Для мужчин эта вероятность $(18-20)\% + (22-23)\% = (40-43)\%$, для женщин $(27-31)\% + (30-35)\% = (57-66)\%$. По вероятности заболевания фенотип Ф3 приближается к фенотипу Ф1, но его распространенность в популяции более чем в 13 раз выше.

Нужно отметить, что в таблице 3 дана общая вероятность заболеть болезнью Альцгеймера для данного генотипа, а не вследствие этого генотипа. Но тенденцию риска заболеваемости за счет генотипа таблица 3, по-видимому, отражает правильно. ■

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ткачева О.Н., Рунихина Н.К., Котовская Ю.В. Диагностика, профилактика и лечение старческой астении и других гериатрических синдромов. М.: ФГБУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 2017. [Tkacheva ON, Runikhina NK, Kotovskaia YuV. Diagnostika, profilaktika i lechenie starcheskoj astenii i drugikh geriatricheskikh simptomov. M.: FGOBU VO RNIMU im. N.I. Pirogova Vinzdrava Rossii, 2017. (In Russ.).]
2. Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека. Т.1. Пер. с англ. М.: Мир, 1989. [Vogel F, Motulsky AG. Human Genetics. V. 1. Springer – Verlag, Berlin, New York, 1979. (In Russ.).]
3. Железнякова А.В. Генетические факторы развития хронической болезни почек у больных сахарным диабетом 2 типа. Диссертация на соискание ученой степени канд. мед. наук. Москва: ФГБУ «Эндокринологический научный центр» МЗ РФ, 2015. [Zhelezniakova AV. Geneticheskie factory razvitiia khronicheskoi bolezni pochek u bolnikh sakharnym diabetom 2 tipa. Dissertatsia na soiskanie uchenoi stepeni kand. med. nauk. Moskva: FGBU "Endokrinologicheskii nauchnyi tsentr" MZ RF, 2015. (In Russ.).]
4. Козлов Н.Н. Математический анализ генетического кода. М.: БИНОМ, 2015. [Kozlov NN. Matematicheskij analiz geneticheskogo koda. M.: BINOM, 2015. (In Russ.).]
5. Lahoz C, Schaefer EJ, Cupples LA, Wilson PW, Levy D et al. Apolipoprotein E genotype and cardiovascular disease in the Framingham Heart Study. *Atherosclerosis*, 2001;154:529–537.
6. Волобуев А.Н. Основы медицинской и биологической физики. Самара: ООО «Самарский дом печати», 2011. [Volobuev AN. Osnovy meditsinskoi i biologicheskoi fiziki. Samara: OOO "Samarski dom pečati", 2011. (In Russ.).]
7. Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA et al. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA*, 1997;278(16):1349–56.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Волобуев А.Н. – д.т.н., профессор, заведующий кафедрой физики, математики и информатики СамГМУ. E-mail: volobuev47@yandex.ru

Романчук Н.П. – аспирант кафедры физиологии с курсом безопасности жизнедеятельности и медицины катастроф СамГМУ. E-mail: romanchuknp@mail.ru

Пятин В.Ф. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой физиологии с курсом безопасности жизнедеятельности и медицины катастроф СамГМУ. E-mail: pyatin_vf@list.ru

Александрова Н.Н. – старший преподаватель кафедры медицинской физики, математики и информатики СамГМУ. E-mail: grecova71@mail.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Volobuev AN – PhD, Professor, Head of the Department of medical physics, mathematics and informatics of SamSMU. E-mail: volobuev47@yandex.ru

Romanchuk NP – post-graduate of the Department of physiology with the course of life safety of vital activity and medicine of catastrophes of SamSMU. E-mail: romanchuknp@mail.ru

Pyatin VF – PhD, Professor, Head of the Department of physiology with the course of life safety of vital activity and medicine of catastrophes of SamSMU. E-mail: pyatin_vf@list.ru

Aleksandrova NN – senior lecturer of the Department of medical physics, mathematics and informatics of SamSMU. E-mail: grecova71@mail.ru

■ Автор для переписки

Волобуев Андрей Николаевич
Адрес: а/я 1423, г. Самара, Россия, 443079.
Телефон: +7 (927) 016 46 95
E-mail: volobuev47@yandex.ru

■ Corresponding Author

Volobuev Andrei Nikolaevich
Address: postbox 1423, Samara, Russia, 443079.
Phone: +7 (927) 016 46 95
E-mail: volobuev47@yandex.ru