

Функциональное значение полиморфизмов генов PLA2G12A, CFH, ARMS2 и C3, ассоциированных с развитием возрастной макулярной дегенерации

Румянцева Ю.В.*, Кожевникова О.С.

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

* Rumyantseva@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: SNP; возрастная макулярная дегенерация; система комплемента

Мотивация и цель: Возрастная макулярная дегенерация, наиболее распространенная причина потери зрения, представляет собой сложное многофакторное заболевание, в патогенезе которого играют роль старение, окружающая среда/образ жизни и генетические/эпигенетические факторы. Полногеномные ассоциативные исследования показали, что в патогенезе ВМД могут быть задействованы различные генетические локусы, содержащие гены трех основных путей: пути комплемента, метаболизма липидов и ремоделирования внеклеточного матрикса. Варианты этих генов могут взаимодействовать, и их эффект может модулироваться факторами риска ВМД. Полиморфизмы rs10490924 (ARMS2), rs800292 (CFH) и rs6677604 (CFH) тесно связаны с экссудативной ВМД в российской популяции, а ответ на антиангиогенную терапию различался в зависимости от конкретного генотипа rs2285714 (CFI) и rs2230199 (C3) пациента [1].

Цель исследования – провести анализ *in silico* функционального значения полиморфных локусов генов PLA2G12A (rs2285714), CFH (rs800292, rs6677604), ARMS2 (rs10490924) и C3 (rs2230199), ассоциированных с ответом на анти-VEGF терапию ВМД.

Методы и алгоритмы: На основании баз данных (SIFT, SNPinfo, PolyPhen-2, HaploReg, GTExportal, RegulomeDB) проведена оценка функционального значения этих полиморфных локусов (несинонимические замены, эпигенетические эффекты, связь с экспрессией генов, ассоциации с альтернативным сплайсингом транскриптов генов).

Результаты: Среди пяти исследованных полиморфизмов rs2285714 (CFI) является синонимичной заменой, полиморфизм rs6677604 (CFH) вариантом интрона, а 3 SNP rs800292 (CFH), rs2230199 (C3) и rs10490924 (ARMS2) являются не синонимичными. Полиморфизмы rs80029 и rs2230199 не приводят к структурным изменениям белка и нарушениям его функции, а rs10490924 по данным PolyPhen-2 вероятно является вредоносным с показателем 0,994 (чувствительность 0,69, специфичность 0,97). По данным базы данных HaploReg, rs2285714 расположен в эволюционно консервативной области, rs2230199 — в области меток промоторных гистонов, а rs6677604 и rs2230199 — в области меток гистонов энхансера в различных тканях. Полиморфизмы rs6677604, rs10490924 и rs2230199 затрагивают сайты гиперчувствительные к ДНКазе1. Каждый из полиморфизмов затрагивает регионы регуляторных мотивов ДНК целого ряда тканей. Полиморфизм rs6677604 затрагивает регуляторные мотивы Ets_known1,

GATA_disc3, Hsf_known1, MZF1, RFX5_known1 и SPIB, а rs10490924 – AP-4_3, Ascl2, HEN1_2 и LBP-1_2. Также были определены SNP в сильном неравновесии по сцеплению с изученными полиморфизмами: от 6 SNP для rs2230199 до более 30 SNP для rs10490924. По данным базы данных SNPinfo, полиморфизмы rs2230199 C3 и rs2285714 CFI обладают наиболее значимым регуляторным потенциалом (0,33 и 0,36 соответственно). Те же SNP имеют самые высокие показатели вероятности RegulomeDB (0,86 и 0,6). Примечательно, что оба SNP расположены в областях энхансера экзонного сплайсинга (ESE) и сайленсера экзонного сплайсинга (ESS), а следовательно, могут влиять на процесс сплайсинга и изменять частоту альтернативного сплайсинга. Ранее нами было показано снижение уровня фактора FI, кодируемого геном CFI, во внутриглазной жидкости пациентов с ВМД [1]. Одной из причин данного эффекта может быть влиянием rs2285714 на тканеспецифический сплайсинг. По данным базы данных GTExportal, все пять SNP риска AMD в значительной степени включены в локусы экспрессии количественных признаков (eQTL), связанные с транскрипцией 18 генов-мишеней. rs10490924 может влиять на экспрессию трех генов (HTRA1, PLEKHA1 и ARMS2). Также rs10490924 относится к локусам сплайсинга количественных признаков (sQTL) для PLEKHA1 и ARMS2. rs2230199 имеет значение цис-eQTL, потенциально влияющее на экспрессию генов GPR108 и CTD-3128G10.7. rs2285714 имеет ассоциации тканеспецифичных транскриптов с 4 генами (CASP6, MCUB, CFI и PLA2GA12A) и представляет собой sQTL, имеющий большое значение для генов CFI и PLA2A12A.

rs6677604 может влиять на количество транскриптов мРНК 4 генов (CFHR1, CFHR2, CFHR3, ZBTB41) во многих тканях и органах и относится к sQTL для генов CFH и CFHR1. rs800292 может влиять на экспрессию 5 генов (CFH, CFHR1, CFHR3, CFHR4, KCNT2) и влияет на сплайсинг генов CFH, CFHR1, CFHR2 и F13B.

Выводы: Полиморфизмы ассоциированные с неоваскулярным ВМД в российской популяции и ответом на терапию обладают регуляторным потенциалом: участвуют в реализации эпигенетических механизмов, участвуют в контроле экспрессии генов и альтернативного сплайсинга.

Functional significance of polymorphisms of the PLA2G12A, CFH, ARMS2 and C3 genes, associated with the development of age-related macular degeneration

Rumyantseva Y.V.*, Kozhevnikova O.S.

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

** rumyantseva@bionet.nsc.ru*

Key words: SNP; age-related macular degeneration; complement

Motivation and Aim: Age-related macular degeneration the most common cause of vision loss, This complex, multifactorial disease, a major role in its pathogenesis play aging, different genetic/epigenetic factors, environment and lifestyle. Genome-wide association studies indicate that various genetic loci containing genes for three major pathways may be involved in the pathogenesis of AMD: the complement pathway, lipid

metabolism, and extracellular matrix remodeling. Variants of these genes may interact and their effect may modulate AMD risk factors. Polymorphisms rs10490924 (ARMS2), rs800292 (CFH) and rs6677604 (CFH) are closely associated with exudative AMD in the Russian population, and the response to antiangiogenic therapy differed depending on the specific genotype of rs2285714 (CFI) and rs2230199 (C3) of the patient [1]. Purpose of the study: To conduct an in silico analysis of the functional significance of the polymorphic loci of the PLA2G12A (rs (rs2285714), CFH (rs rs800292, rs6677604), ARMS2 (rs10490924) and C3 genes (rs2285714, rs800292, rs6677604, rs10490924 and rs2230199) associated with response to anti-VEGF therapy in AMD.

Methods and Algorithms: According to the databases (SIFT, SNPinfo, PolyPhen-2, HaploReg, GTExportal, RegulomeDB), we assessed the functional significance of these polymorphic loci (nonsynonymous substitutions, epigenetic effects, association with gene expression, associations with alternative splicing of gene transcripts).

Results: Among the five studied SNP, rs2285714 (CFI) is a synonymous substitution, the rs6677604 (CFH) polymorphism is an intron variant, and 3 SNPs rs800292 (CFH), rs2230199 (C3) and rs10490924 (ARMS2) are non-synonymous. Polymorphisms rs800292 and rs2230199 do not lead to structural changes in the protein or impairment of its function, and rs10490924, according to PolyPhen-2, is probably damaging with a score of 0.994 (sensitivity: 0.69; specificity: 0.97). According to the HaploReg database, rs2285714 is located in an evolutionarily conserved region, rs2230199 is located in the region of promoter histone marks region, and rs6677604 and rs2230199 are located in the region of enhancer histone marks in various tissues. The rs6677604, rs10490924 and rs2230199 polymorphisms affect DNase1 hypersensitive sites. Each of the polymorphisms affects regions of regulatory DNA motifs in a number of tissues. The rs6677604 polymorphism affects the regulatory motifs Ets_known1, GATA_disc3, Hsf_known1, MZF1, RFX5_known1, and SPIB, and the rs10490924 affects AP-4_3, Ascl2, HEN1_2, and LBP-1_2. SNPs in strong linkage disequilibrium with the studied polymorphisms were also identified: from 6 SNPs for rs2230199 to more than 30 SNPs for rs10490924. According to the SNPinfo database, the rs2230199 C3 and rs2285714 CFI polymorphisms have the most significant regulatory potential (0.33 and 0.36, respectively). The same SNPs had the highest RegulomeDB probability scores (0.86 and 0.6). Notably, both SNPs are located in the exonic splicing enhancer (ESE) and exonic splicing silencer (ESS) regions, and therefore can influence the splicing process and change the frequency of alternative splicing. Previously, we showed a decrease in the level of factor FI, encoded by the CFI gene, in the intraocular fluid of patients with AMD [1]. One of the reasons for this effect may be the influence of rs2285714 on tissue-specific splicing. According to the GTExportal database, all five AMD risk SNPs are significantly included in the expression quantitative trait loci (eQTL) associated with transcription of 18 target genes. rs10490924 might affect the expression of 3 genes (HTRA1, PLEKHA1 and ARMS2). Also the rs10490924 refers to splicing quantitative trait loci (sQTL) for PLEKHA1 and ARMS2 genes. rs2230199 has the cis-eQTL significance potentially affecting the expression of GPR108 and CTD-3128G10.7 genes. rs2285714 has the tissue-specific transcript associations with 4 genes (CASP6, MCUB, CFI and PLA2GA12A) and is sQTL with strong significance for CFI and PLA2GA12A genes. rs6677604 can affect mRNA transcript abundance of 4 genes (CFHR1, CFHR2, CFHR3, ZBTB41) in many tissues and organs and refers to sQTL for CFH and CFHR1 genes. rs800292 might affect the expression of 5 genes (CFH, CFHR1, CFHR3, CFHR4, KCNT2) and cause sQTL for CFH, CFHR1, CFHR2 and F13B genes.

Conclusion: Polymorphisms associated with neovascular AMD in the Russian population and response to therapy have regulatory potential: they are involved in the implementation of epigenetic mechanisms, and participate in the control of gene expression and alternative splicing.

Список литературы/References

1. Kozhevnikova O.S., Fursova A.Z., Derbeneva A.S., Nikulich I.F., Tarasov M.S., Devyatkin V.A., Rumyantseva Y.V., Telegina D.V., Kolosova N.G. Association between Polymorphisms in CFH, ARMS2, CFI, and C3 Genes and Response to Anti-VEGF Treatment in Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Biomedicines*. 2022;10(7):1658. doi 10.3390/biomedicines10071658