

Генотипирование аллелей $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ гена *APOE* в выборках коренных популяций Восточной Сибири

Тийс Р.^{1*}, Табиханова Л.¹, Личман Д.¹, Воронина Е.², Осипова Л.¹, Филипенко М.²

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

* kruosana@mail.ru

Ключевые слова: апополипротеин-Е; липиды; ген *APOE*; *rs7412 C>T* и *rs429358 T>C*; $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$; болезнь Альцгеймера; сердечно-сосудистые и онкологические заболевания; старение; коренные народы Сибири

Мотивация и цель: Аполипопротеин-Е участвует в метаболизме липидов, витамина D, в процессах старения, а также во многих других важных биологических механизмах в организме человека [1]. Полиморфизм в гене *APOE* имеет огромное влияние на риск развития и тяжесть течения многих серьезных заболеваний, включая болезнь Альцгеймера, гиперпротеинемию III типа, ишемическую болезнь сердца, атеросклероз, онкологические и многие другие заболевания [2–5]. Поэтому важность исследования этого полиморфизма в человеческих популяциях не вызывает сомнений. Однако для некоторых коренных популяций такие данные скудны или вовсе отсутствуют. В связи с этим целью нашего исследования явилось изучение распределения частот полиморфных вариантов гена *APOE rs7412C>T* (*Arg158Cys*) и *rs429358T>C* (*Cys112Arg*), приводящих к образованию трех аллелей, $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$, которые, в свою очередь, дают шесть *APOE*-генотипов: $\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 4/\epsilon 4$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 2/\epsilon 4$, $\epsilon 3/\epsilon 4$, в популяциях коренных народов, проживающих на территориях Восточной Сибири (якутов Нюрбинского (N = 102) и Усть-Алданского (N = 99) улусов, восточных (N = 132) и западных (N = 280) бурятов и русских (N = 121)), а также проведение межпопуляционных сравнений между изученными нами и некоторыми мировыми популяциями.

Методы и алгоритмы: Для выделения геномной ДНК из лейкоцитарной фракции применялся стандартный метод фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование однонуклеотидных полиморфизмов *rs7412* и *rs429358* проводилось методом Real-time ПЦР с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК. Структуру праймеров и зондов подбирали по последовательностям, доступным в базе данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), с использованием программ UGENE (version 1.14, <http://ugene.unipro.ru/>) и OligoAnalyzer (version 1.0.3, <https://eu.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer>). Популяционные частоты полиморфных вариантов вычисляли на основе наблюдаемых частот генотипов. Соответствие эмпирически наблюдаемого распределения частот генотипов теоретически ожидаемому распределению, равновесному по закону Харди–Вайнберга, проверяли с использованием критерия Пирсона (χ^2 ; при p (H–W) > 0.05 равновесие выполняется, где p (H–W) – значение вероятности отклонения от равновесного распределения Харди–Вайнберга). Оценку достоверности различий в частотах

полиморфных вариантов между исследованными выборками проводили по критерию χ^2 с применением поправки Йейтса на непрерывность; при $p < 0.025$ (с поправкой на множественность сравнения: $0.025 = 0.05/2$) результаты считали статистически значимыми.

Результаты: Полученные нами частоты *APOE*-генотипов и $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ аллелей в изученных выборках коренных народов приведены в табл. 1 и 2 соответственно.

Таблица 1. Распределение частот *APOE*-генотипов в исследованных популяциях

Генотипы	Популяции/Частоты генотипов, %				
	Якуты, Нюрб. улус	Якуты, Усть-Алд. улус	Восточные буряты	Западные буряты	Русские
$\epsilon 2/\epsilon 2$	0	1 (1)	0	0	0.8 (1)
$\epsilon 2/\epsilon 3$	16.7 (17)*	13.1 (13)	7.6 (10)	3.2 (9)	11.6 (14)
$\epsilon 2/\epsilon 4$	0.9 (1)	4 (4)	1.5 (2)	1.4 (4)	0.8 (1)
$\epsilon 3/\epsilon 3$	65.7 (67)	63.6 (63)	59.1 (78)	61.4 (172)	62 (75)
$\epsilon 3/\epsilon 4$	16.7 (17)	16.2 (16)	25 (33)	31.1 (87)	23.1 (28)
$\epsilon 4/\epsilon 4$	0	2 (2)	6.8 (9)	2.9 (8)	1.7 (2)
Всего чел.	102	99	132	280	121

* Количество человек в выборке с соответствующим генотипом.

Таблица 2. Частоты аллелей $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ гена *APOE* в популяциях коренных народов Восточной Сибири

Популяция	Частота $\epsilon 2$, %	Частота $\epsilon 3$, %	Частота $\epsilon 4$, %
Якуты, Нюрбинский улус (N=102)	8.8	82.4	8.8
Якуты, Усть-Алданский улус (N=99)	9.6	78.3	12.1
Буряты восточные (N=132)	4.5	75.4	20.1
Буряты западные (N=280)	2.3	78.6	19.1
Русские (N=121)	7.0	79.4	13.6

Наше исследование показало, что среди пяти изученных популяций значения частот полиморфных вариантов гена *APOE* заметно варьируют для $\epsilon 2$ и $\epsilon 4$. При этом по частотам $\epsilon 2$ заметно различаются две выборки якутов, имеющих наибольшие значения среди остальных популяций, что достоверно отличает якутов и западных бурят. Частоты варианта $\epsilon 4$ имеют наивысшие значения среди восточных и западных бурят, что значимо отличает эти выборки от якутов. По частотам варианта $\epsilon 3$ наблюдается наименьший разброс между популяциями. Отдельно стоит сказать о русских Восточной Сибири. Полученные частоты всех трех изученных полиморфных варианта гена *APOE* в этой выборке схожи и не имеют достоверных отличий от таковых для других европеоидов. Среди остальных изученных выборок коренных народов от русских достоверно отличаются западные буряты в частотах варианта $\epsilon 2$ и западные и восточные буряты в частотах $\epsilon 4$. По $\epsilon 3$ значимых различий между русскими и коренными народами не наблюдается.

Выводы: Если применить понятие «нормального» и «дисфункционального» полиморфных вариантов *APOE* гена, то совместная распространенность дисфункциональных $\epsilon 4$ и $\epsilon 3$, или, условно говоря, генетический груз, в процентном содержании довольно высок во всех пяти изученных нами популяциях. В связи с этим можно предполагать, что в этих популяциях вероятен риск развития тех заболеваний, с которым ассоциирован полиморфизм в гене

APOE, особенно это может касаться сердечно-сосудистых заболеваний (атеросклероза, ожирения, ИБС) в случае, если коренные народы «отходят» от своего привычного уклада жизни, от привычного способа питания в пользу употребления пищи, богатой быстрыми углеводами и/или насыщенными жирами. Если брать во внимание адаптивное значение $\epsilon 4$, в том плане, что его носители лучше усваивают витамин D из пищи [6], то можно предположить, что высокие значения частот этого варианта среди западных и восточных бурят, живущих в Восточной Сибири, по сравнению с другими коренными народами нашего исследования, также имеют адаптивное значение для данных популяций, проживающих в условиях резко континентального климата. В то же время вариант $\epsilon 4$ связан с более высоким уровнем холестерина в крови у его носителей, а в условиях Восточной Сибири, когда требуются высокие энергозатраты для лиц, ведущих преимущественно сельский образ жизни, наличие такого варианта может быть адаптивным. Однако, чтобы подтвердить все наши предположения о влиянии полиморфизма гена *APOE* на изученные нами популяции, необходимо увеличить количество выборок коренных жителей, живущих в других климатических условиях, а также провести рандомизированное исследование среди групп больных и здоровых лиц. Тем не менее полученные на данный момент результаты важны и могут применяться в интересах персонализированной медицины, исследования истории расселения коренных популяций по территории Сибири, процессов их адаптации к суровым условиям среды.

Финансирование: Исследование выполнено в рамках государственного задания ИЦиГ СО РАН (№ FWNR-2022-0021).

Genotyping of the $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ alleles of the *APOE* gene in samples of indigenous populations of Eastern Siberia

Tiis R.^{1*}, Tabikhanova L.¹, Lichman D.¹, Voronina E.², Osipova L.¹, Filipenko M.²

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk, Russia

* kruosana@mail.ru

Key words: apolipoprotein-E; lipids; *APOE* gene; rs7412 C > T and rs429358T > C; $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$; Alzheimer's disease; cardiovascular and oncological diseases; aging; indigenous peoples of Siberia

Motivation and Aim: Apolipoprotein-E is involved in lipid metabolism, vitamin D metabolism, aging, and many other important biological mechanisms in the human body [1]. Polymorphism in the *APOE* gene has a huge impact on the risk of developing and severity of the course of many serious diseases, including Alzheimer's disease, type III hyperproteinemia, coronary heart disease, atherosclerosis, cancer and many other diseases [2–5]. Therefore, the importance of investigating this polymorphism in human populations is unquestionable. However, these data are scarce or absent for some indigenous populations. Therefore, the aim of our study was to investigate the frequency distribution of polymorphic variants of the *APOE* gene rs7412C>T (*Arg158Cys*) and rs429358T>C (*Cys112Arg*) resulting in three alleles, $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$, which in turn yield six *APOE*-genotypes: $\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 4/\epsilon 4$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 2/\epsilon 4$, $\epsilon 3/\epsilon 4$, in populations of indigenous peoples living in the territories of Eastern Siberia (Yakuts of Nyurbinsky (N=102) and Ust-Aldansky (N=99) Uluses, Eastern (N=132) and Western (N=280) Buryats and

Russians (N = 121)), as well as interpopulation comparisons between the populations we studied and some world populations.

Results: The frequencies of *APOE*-genotypes and $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ alleles in the studied indigenous samples are shown in Tables 1 and 2, respectively.

Table 1. Frequency distribution of *APOE* genotypes in the studied population samples

Genotypes	Populations/Genotype frequencies, %				
	Yakuts, Nyurba	Yakuts, Ust-Aldan	Eastern Buryats	Western Buryats	Russians
$\epsilon 2/\epsilon 2$	0	1 (1)	0	0	0.8 (1)
$\epsilon 2/\epsilon 3$	16.7 (17)*	13.1 (13)	7.6 (10)	3.2 (9)	11.6 (14)
$\epsilon 2/\epsilon 4$	0.9 (1)	4 (4)	1.5 (2)	1.4 (4)	0.8 (1)
$\epsilon 3/\epsilon 3$	65.7 (67)	63.6 (63)	59.1 (78)	61.4 (172)	62 (75)
$\epsilon 3/\epsilon 4$	16.7 (17)	16.2 (16)	25 (33)	31.1 (87)	23.1 (28)
$\epsilon 4/\epsilon 4$	0	2 (2)	6.8 (9)	2.9 (8)	1.7 (2)
Total persons	102	99	132	280	121

* Number of people in the sample with the corresponding genotype.

Table 2. Allele frequencies of $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ alleles of the *APOE* gene in the populations of indigenous peoples of Eastern Siberia

Population	Frequency of $\epsilon 2$, %	Frequency of $\epsilon 3$, %	Frequency of $\epsilon 4$, %
Yakuts, Nyurbinsky ulus(N=102)	8.8	82.4	8.8
Yakuts, Ust-Aldansky ulus(N=99)	9.6	78.3	12.1
Eastern Buryats (N=132)	4.5	75.4	20.1
Western Buryats (N=280)	2.3	78.6	19.1
Russians (N=121)	7.0	79.4	13.6

Our study showed that among the 5 populations studied, the frequencies of polymorphic variants of the *APOE* gene vary markedly for $\epsilon 2$ and $\epsilon 4$. The frequencies of $\epsilon 2$ differ markedly between the two samples of Yakuts, which have the highest values among the other populations, which reliably distinguishes Yakuts and Western Buryats. The frequencies of the $\epsilon 4$ variant have the highest values among Eastern and Western Buryats, which significantly distinguishes these samples from Yakuts. The frequencies of the $\epsilon 3$ variant show the smallest variation between the populations. It is worth mentioning the Russians of Eastern Siberia separately. The obtained frequencies of all three studied polymorphic variants of the *APOE* gene in this sample are similar and have no significant differences from those of other Caucasians. Among the other studied samples of indigenous peoples, Western Buryats reliably differ from Russians in the frequencies of the variant $\epsilon 2$ and Western and Eastern Buryats in the frequencies of $\epsilon 4$; no significant differences between Russians and indigenous peoples are observed for $\epsilon 3$. **Conclusion:** If we apply the concept of “normal” and “dysfunctional” polymorphic variants of *APOE* gene, then the joint prevalence of dysfunctional $\epsilon 4$ and $\epsilon 3$, or conditionally speaking, genetic load, in percentage content is rather high in all 5 populations studied by us. In this regard, it can be assumed that in all these populations there is a probable risk of developing those diseases associated with the polymorphism in the *APOE* gene, especially cardiovascular diseases (atherosclerosis, obesity, CHD) if indigenous peoples “depart” from their usual way of life, from the usual way of eating in favor of eating food rich in fast carbohydrates and/or saturated fats. If we take into account the adaptive significance of $\epsilon 4$, in that its carriers better absorb vitamin D from food [6], we can assume that the high frequency values of this variant among Western and Eastern Buryats living in Eastern Siberia, compared to other indigenous peoples of

our study, also have an adaptive significance for these populations living in a sharply continental climate. At the same time, the $\epsilon 4$ variant is associated with higher blood cholesterol levels in its carriers, and in the conditions of Eastern Siberia, when high energy expenditures are required for individuals leading a predominantly rural lifestyle, the presence of such a variant may be adaptive. However, to confirm all our assumptions about the influence of the *APOE* gene polymorphism on the populations we studied, it is necessary to increase the number of samples of indigenous people living in other climatic conditions, as well as to conduct a randomized study among groups of sick and healthy individuals. Nevertheless, the results obtained so far are important and can be used in the interests of personalized medicine, the study of the history of settlement of indigenous populations in Siberia, and the processes of their adaptation to harsh environmental conditions.

Funding: the research was carried out within the framework of a state assignment of Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia (No. FWNR-2022-0021).

Список литературы/References

1. Mahley R.W., Rall S.C. Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2000;1:507-537
2. Mahley R.W., Weisgraber K.H., Huang Y. Apolipoprotein E4: a causative factor and therapeutic target in neuropathology, including Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103:5644-5651
3. Григорьева И.Н., Нотова Т.Е. Полиморфизм гена аполипопротеина Е, желчнокаменная болезнь, сахарный диабет 2 типа и нарушения липидного обмена. *Атеросклероз.* 2023;19(1):47-56. doi 10.52727/2078-256X-2023-19-1-47-56
[Grigorieva I.N., Notova T.E. Polymorphism of the apolipoprotein E gene, gallstone disease, type 2 diabetes mellitus and lipid metabolism disorders. *Atherosclerosis.* 2023;19(1):47-56 (in Russian)]
4. Зуева И.Б., Улитина А.С., Гораб Д.Н., Москаленко М.В., Дубин М.В. Полиморфизм гена ApoE у пациентов с метаболическим синдромом и когнитивными расстройствами. *Артериальная гипертензия.* 2012;18(5):421-428
[Zueva I.B., Ulitina A.S., Gorab D.N., Moskalenko M.V., Dubin M.V. Polymorphism of the ApoE gene in patients with metabolic syndrome and cognitive disorders. *Arterial Hypertension.* 2012;18(5):421-428 (in Russian)]
5. Кох Н.В., Воронина Е.Н., Лифшиц Г.И. Полиморфизм гена *APOE*, как фактор риска дислипидемии, атеротромбоза и потенциальный фармакогенетический маркер терапии статинами у пациентов высокого риска сердечно-сосудистых осложнений. *Атеросклероз и дислипидемии.* 2016;3:107-115
[Kokh N.V., Voronina E.N., Lifshits G.I. *APOE* gene polymorphism is a risk factor for dyslipidemia and potential pharmacogenetic marker of lipid-lowering therapy. *Ateroskleroz i Dislipidemii.* 2016;3:107-115 (in Russian)]
6. Боровкова Н.П., Шереметьева В.А., Евсюков А.Н., Спицын В.А. Закономерности распределения аллелей аполипопротеина Е (*APOE*) среди мирового населения. *Вестник Московского университета. Серия XXIII. Антропология.* 2010;2:21-35
[Borovkova N.P., Sheremetyeva V.A., Evsyukov A.N., Spitsyn V.A. Patterns of distribution of apolipoprotein E (*APOE*) alleles among the world population. *Moscow University Anthropology Bulletin.* 2010;2:21-35 (in Russian)]