

УДК 575:591

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА КЛАСТЕРИНА (*CLU/APOJ*) ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА И В НОРМЕ В РОССИЙСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ

© 2010 г. С. А. Голенкина¹, А. Ю. Гольцов², И. Л. Кузнецова¹, А. П. Григоренко^{1,2}, Т. В. Андреева², Д. А. Решетов¹, С. С. Кунижева², Л. И. Шагам¹, И. Ю. Морозова¹, И. В. Голденкова-Павлова¹, Х. Шимшилашвили¹, А. О. Вячеславова¹, Г. Фасхутдинова³, А. Э. Гареева³, А. Г. Зайнуллина³, Э. К. Хуснутдинова³, В. П. Пузырев⁴, В. А. Степанов⁴, А. В. Колотвин⁵, Л. М. Самоходская⁵, Н. Д. Селезнева², С. И. Гаврилова², Е. И. Рogaев^{1,2,6*}

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991

²Научный центр психического здоровья Российской академии медицинских наук, Москва, 115522

³Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, 450054

⁴Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, Томск, 634050

⁵ООО “Университетская медицина”, Москва, 119192

⁶University of Massachusetts Medical School, Department of Psychiatry, BNRI, Worcester, MA 01604

Поступила в редакцию 30.11.2009 г.

Принята к печати 28.01.2010 г.

К настоящему времени известны три гена (*PSEN1*, *PSEN2*, *APP*), мутации в которых вызывают семейные формы болезни Альцгеймера, и ген аполипопротеина Е (*APOE*), полиморфизм которого рассматривается как строгий фактор риска болезни Альцгеймера. Мы оценили распределение частот и генотипов полиморфизма rs11136000 в гене кластерина *CLU* (или аполипопротеина J, *APOJ*) в популяциях из трех российских регионов, а также при болезни Альцгеймера. В недавнем полногеномном анализе ассоциаций с использованием выборки из нескольких европейских популяций получен высокий уровень значимости ассоциации rs11136000 с болезнью Альцгеймера ($p = 8.5 \times 10^{-10}$). Нами показано, что частоты встречаемости аллелей и генотипов данного полиморфизма в гене *CLU* практически одинаковы в популяциях из московского, уральского и сибирского регионов России и примерно соответствуют частотам в европейских популяциях. Анализ генетических ассоциаций с использованием обширной выборки пациентов с болезнью Альцгеймера и контрольной выборки (более 500 человек в каждой группе) не выявил строгой статистически значимой ассоциации данного полиморфного маркера в гене *CLU* с развитием болезни Альцгеймера в российских популяциях. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что полиморфизм rs11136000 в гене *CLU*, по всей видимости, нельзя рассматривать как главный фактор риска распространенных форм болезни Альцгеймера в российских популяциях. Однако нельзя исключить возможности умеренного вклада этого полиморфизма и взаимодействия генотипов генов *CLU* и *APOE* в развитие болезни Альцгеймера.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, ассоциации, полиморфизм, аполипопротеин J (*ApoJ*), кластерин (*CLU*).

ANALYSIS OF CLUSTERIN GENE (*CLU/APOJ*) POLYMORPHISM IN ALZHEIMER'S DISEASE PATIENTS AND IN NORMAL COHORTS FROM RUSSIAN POPULATIONS, by S. A. Golenkina¹, A. Yu. Goltsov², I. L. Kuznetsova¹, A. P. Grigorenko^{1,2}, T. V. Andreeva², D. A. Reshetov¹, S. S. Kunizheva², L. I. Shagam¹, I. Yu. Morozova¹, I. V. Goldenkova-Pavlova¹, H. Shimshilashvili¹, A. O. Vyacheslavova¹, G. Faskhutdinova³, A. E. Gareeva³, A. G. Zainullina³, E. K. Khusnutdinova³, V. P. Puzyrev⁴, V. A. Stepanov⁴, A. V. Kolotvin⁵, L. M. Samokhodskaya⁵, N. D. Selezneva², S. I. Gavrilova², E. I. Rogaev^{1,2,6*} (¹Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Science, Moscow, 119991 Russia, *e-mail: rogaev@vigg.ru; ²Mental Health Russian Research Center, Russian Academy of Medical Science, Moscow, 115522 Russia; ³Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Science, Ufa, 450054 Russia; ⁴Research Institute of Medical Genetics, Siberian Division, Russian Academy of Medical Science, Tomsk, 634050 Russia; ⁵Limited Liability Company University Medicine, Moscow, 119192 Russia; ⁶University of Massachusetts Medical School, Department of Psychiatry, BNRI, Worcester, MA 01604). Three genes mutations in which cause familial forms of Alzheimer's disease are known to date:

Принятые сокращения: БА – болезнь Альцгеймера; *APOE* – аполипопротеин Е; *APOJ* – аполипопротеин J; *CLU* – кластерин; GWAS – полногеномный анализ ассоциаций.

* Эл. почта: rogaev@vigg.ru

PSEN1, *PSEN2* and *APP*; and *APOE* gene polymorphism is a strong risk factor for Alzheimer's disease. We have evaluated allele and genotype frequency distribution of rs11136000 polymorphism in clusterin (*CLU*) gene (or apolipoprotein J, *APOJ*) in populations of three Russian regions and in Alzheimer's disease patients. Genome-wide association studies in samples from several European populations have recently revealed highly significant association of *CLU* gene with AD ($p = 8.5 \times 10^{-10}$). We found no differences in allele and genotype frequencies of rs11136000 between populations from Moscow, Ural and Siberia regions. The allele frequencies are close to those in European populations. The genetic association analysis in cohort of Alzheimer's disease patients and normal individuals (>500 individuals in each group) revealed no significant association of the rs11136000 polymorphism in *CLU* with Alzheimer's disease in Russian populations. Although our results do not confirm the role of *CLU* gene as a major genetic factor for common form of Alzheimer's disease, the data do not rule out the possibility of modest effect of *CLU* and interaction between *CLU* and *APOE* genotypes in etiology of Alzheimer's disease.

Key words: Alzheimer's disease, association analysis, polymorphism, apolipoprotein J (*APOJ*), clusterin (*CLU*).

Болезнь Альцгеймера (БА) — наиболее распространенное у лиц среднего и пожилого возраста нейродегенеративное заболевание, составляет примерно 50–60% всех форм деменций. На сегодняшний день известны четыре гена, изменения в которых вызывают БА. Мутации в гене *APP*, кодирующем амилоидный предшественник, и в генах пресенилинов — *PS1* и *PS2* [1, 2], приводят к развитию ранней семейной формы БА, которая встречается менее чем в 5% всех случаев этого заболевания [3, 4]. Показано также, что аллель $\epsilon 4$ гена *APOE* ассоциирован с поздними формами БА [5, 6]. Ассоциация аллеля $\epsilon 4$ с БА подтверждена в многочисленных исследованиях, проведенных на различных популяционных выборках, и показана как для поздней, так и для ранней формы заболевания, в том числе в российской популяции [7].

Сенильная деменция альцгеймеровского типа, по всей видимости, комплексное заболевание, в патогенез которого могут быть вовлечены сразу множество генов [8]. Несмотря на значительное число работ в данной области, генетические факторы, приводящие к развитию БА, особенно ее поздних форм, до сих пор недостаточно изучены. Поэтому актуальным остается отбор и изучение генов-кандидатов в локусах, сцепленных с БА, а также оценка связи комбинаций полиморфизмов в различных генах с риском развития БА.

Значительный прогресс в выявлении новых генов, потенциальных факторов риска БА, достигнут за последние два года с началом использования полногеномного анализа ассоциаций (GWAS). Недавно в двух независимых GWAS-исследованиях обнаружили значительную ассоциацию БА с полиморфным маркером rs11136000, локализованным в интроне гена кластерина *CLU* (или аполипопротеина J, *APOJ*), картированного на хромосоме 8 [9, 10]. Результаты анализа ассоциаций необходимо подтверждать на разных популяционных выборках. С целью проверки возможной роли данного полиморфного маркера гена *CLU* в развитии БА мы оценили частоты его аллелей и генотипов в выборках из российских

регионов, а также у больных БА по сравнению с психически здоровыми индивидами.

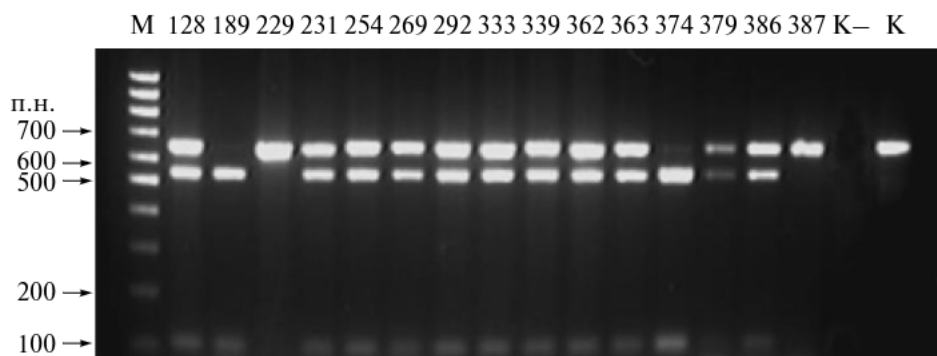
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объект исследования. В работе использовали популяционные выборки из трех российских регионов: московского (343 человека от 35 до 85 лет, средний возраст 60.96 ± 7.94), уральского (160 человек от 69 до 89 лет, средний возраст 73.87 ± 3.87 лет) и сибирского (199 человек от 41 до 96 лет, средний возраст 61 ± 15.34). Выборка из сибирского региона состояла из двух групп: популяционной (157 человек от 41 до 75 лет, средний возраст 54.34 ± 5.61) и группы долгожителей (42 человека от 89 до 96 лет, средний возраст 91.34 ± 1.60 года). Все включенные в исследование индивиды не имели признаков деменции и при анализе ассоциаций составили контрольную группу.

Выборка лиц с БА (деменция альцгеймеровского типа) в основном состояла из больных, наблюдавшихся в Научно-методическом центре по изучению БА и ассоциированных с ней расстройств НЦПЗ РАМН (Москва) — 451 человек. В нее вошли также индивиды, у которых сочетаются альцгеймеровская и сосудистая деменции. Диагноз устанавливали врачи в соответствии с критериями МКБ-10 [11], DSM-IV [12] и NINCDS/ADRDA [13]. Все больные прошли стандартные психоневрологические обследования, диагноз подтверждали с помощью компьютерной томографии и ядерно-магнитного резонанса. Кроме того, в выборку были включены больные деменцией, наблюдавшиеся в Республиканской психиатрической больнице № 1 г. Уфы.

При анализе из общей группы больных выделяли подгруппы с ранней формой БА (возраст к началу заболевания менее 65 лет, 214 человек, средний возраст к началу заболевания — 56.9 ± 5.38 лет) и поздней формой БА (65 лет и старше, 320 человек, средний возраст к началу заболевания — 72.2 ± 5.04).

Генетические исследования одобрены Этическим Комитетом. При сборе образцов получали



Электрофореграмма продуктов рестрикции гена *CLU*. М – маркер; К – отрицательный контроль; К – нерасщепленный ПЦР-продукт. Образцы 229 и 387 – гомозиготы *CC*; образцы 128, 231, 254, 269, 292, 333, 339, 362, 363 – гетерозиготы *CT*; образцы 189 и 374 – гомозиготы *TT*.

информированное согласие от участников исследования или их родственников.

Генотипирование. Геномную ДНК выделяли из периферической венозной крови стандартным фенол–хлороформным методом [14] или с помощью наборов для выделения ДНК (“Qiagen”).

Генотипирование проводили методом ПЦР с последующим анализом длины рестриционных фрагментов (ПЦР–ПДФ). Амплификацию проводили с использованием готовых наборов GenePak™ PCR Core (ООО “Лаборатория Изоген”, Москва) согласно инструкциям производителя на приборах “Терцик” (“ДНК-технологии”, Россия) и GeneAmp PCR System 9700 Thermal Cycler (“Applied Biosystems”).

Локус гена *APOE* типировали с использованием олигонуклеотидных праймеров 5'-CG-GCTGGGCGCGGACATGGAGGA и 5'-TCG-CGGGCCCGGCCTGGTACAC. ПЦР проводили в следующих условиях: предварительная денатурация – 95°C – 4 мин; 5 циклов: 95°C – 45 с, 54°C – 25 с, 72°C – 30 с; 30 циклов: 95°C – 5 с, 58°C – 15 с, 72°C – 5 с. Заключительная стадия достройки концов фрагментов ДНК – 72°C, 3 мин. ПЦР-продукты расщепляли эндонуклеазой *HhaI* или *BstHNI* (НПО “СибЭнзим”, Россия). Продукты рестрикции анализировали в 7.5%-ном полиакриламидном геле.

Полиморфизм rs11136000 в гене *CLU* выявляли с помощью олигонуклеотидных праймеров: 5'-CTTTGTAATGATGTACCATCTACCC и 5'-AGGCTGCAGACTCCCTGAAT. ПЦР проводили в следующих условиях: первоначальная денатурация при 95°C в течение 1 мин; затем 35 циклов: 94°C – 30 с, 57°C – 30 с и 72°C – 1 мин; заключительная стадия достройки концов фрагментов ДНК – 72°C в течение 10 мин. ПЦР-продукт размером 645 п.н. обрабатывали эндонуклеазой рестрикции *AcsI* (“СибЭнзим”). Рестриционные фрагменты анализировали в 2%-ном агарозном геле (рисунок).

Статистический анализ. Достоверность различий в распределении частот аллелей и генотипов оценивали с помощью критерия χ^2 и точного теста Фишера с использованием программы, размещенной на сервере: <http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Мы определили частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма rs11136000 гена *CLU* в выборках из трех российских регионов: московского, уральского и сибирского (табл. 1). С целью обнаружения возможных изменений в распределении частот аллелей и генотипов общие выборки также подразделили на группы по возрасту и полу. Мы учитывали также, что продукты обоих генов – *CLU* и *APOE*, по-видимому, участвуют в регуляции количества внеклеточного А β , перенося его через гематоэнцефалический барьер в противоположных направлениях [15, 16], поэтому для выявления возможной связи между этими генами общие выборки разбили на группы по наличию или отсутствию аллеля $\epsilon 4$ гена *APOE*.

В выборках из различных регионов распределение частот встречаемости аллелей полиморфизма rs11136000 в гене *CLU* было практически одинаковым; частота минорного аллеля *T* составила 0.38–0.39. В проведенных недавно GWAS-исследованиях примерно такие же значения частоты аллеля *T* получены в выборках из Франции, Бельгии, Финляндии, Италии и Испании – от 0.37 до 0.41 в разных популяциях [10]. В московском и уральском регионах распределение частот генотипов маркера rs11136000 соответствовало распределению Харди–Вайнберга. Не обнаружено изменений в частоте встречаемости аллеля *T* в группах различного возраста и пола, а также в группах носителей/неносителей аллеля $\epsilon 4$ гена *APOE* ($p > 0.05$).

В выборке из сибирского региона, включающей долгожителей (старше 89 лет), обнаружено

Таблица 1. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера rs11136000 в гене *CLU* в выборках из российских регионов

Группа (возраст)	Количество	Генотип (частота)			Аллель (частота)		HWE, <i>p</i> -значение
		CC	CT	TT	C	T	
Московский регион							
Всего (от 35 до 85 лет)	343	125 (0.36)	176 (0.51)	42 (0.12)	426 (0.62)	260 (0.38)	0.095297
Моложе 65 лет	170	61 (0.36)	88 (0.52)	21 (0.12)	210 (0.62)	130 (0.38)	0.10823
От 65 лет и старше	173	64 (0.37)	88 (0.51)	21 (0.12)	216 (0.62)	130 (0.38)	0.267346
Мужчины	194	73 (0.38)	97 (0.50)	24 (0.12)	243 (0.63)	145 (0.37)	0.342562
Женщины	141	51 (0.36)	73 (0.52)	17 (0.12)	175 (0.62)	107 (0.38)	0.237944
Носители аллеля ε4 гена <i>APOE</i>	57	14 (0.25)	35 (0.61)	8 (0.14)	63 (0.55)	51 (0.45)	0.067884
Неносители аллеля ε4 гена <i>APOE</i>	167	61 (0.37)	86 (0.51)	20 (0.12)	208 (0.62)	126 (0.38)	0.214750
Уральский регион							
Всего (от 69 до 89 лет)	160	61 (0.38)	76 (0.47)	23 (0.14)	198 (0.62)	122 (0.38)	0.931564
Мужчины	58	21 (0.36)	29 (0.50)	8 (0.14)	71 (0.61)	45 (0.39)	0.687068
Женщины	102	40 (0.39)	47 (0.46)	15 (0.15)	127 (0.62)	77 (0.38)	0.843624
Носители аллеля ε4 гена <i>APOE</i>	39	15 (0.38)	19 (0.49)	5 (0.13)	49 (0.63)	29 (0.37)	0.788636
Неносители аллеля ε4 гена <i>APOE</i>	115	43 (0.37)	55 (0.48)	17 (0.15)	141 (0.61)	89 (0.39)	0.93122
Сибирский регион							
Всего (от 41 до 96 лет)	199	76 (0.38)	89 (0.45)	34 (0.17)	241 (0.61)	157 (0.39)	0.367917
Моложе 65 лет	149	55 (0.37)	73 (0.49)	21 (0.14)	183 (0.61)	115 (0.39)	0.6809
От 65 лет и старше	50	21 (0.42)	16 (0.32)	13 (0.26)	58 (0.58)	42 (0.42)	0.015237
Долгожители (от 89 лет и старше)	42	18 (0.43)	13 (0.31)	11 (0.26)	49 (0.58)	35 (0.42)	0.018561
Мужчины	102	38 (0.37)	44 (0.43)	20 (0.20)	120 (0.59)	84 (0.41)	0.268668
Женщины	97	38 (0.39)	45 (0.46)	14 (0.14)	121 (0.62)	73 (0.38)	0.908567
Носители аллеля ε4 гена <i>APOE</i>	36	9 (0.25)	17 (0.47)	10 (0.28)	35 (0.49)	37 (0.51)	0.742188
Неносители аллеля ε4 гена <i>APOE</i>	139	60 (0.43)	61 (0.44)	18 (0.13)	181 (0.65)	97 (0.35)	0.687508

* *p*-Значение соответствия равновесию Харди–Вайнберга.

отклонение в распределении частот генотипов от равновесия Харди–Вайнберга в группе старше 65 лет и в группе долгожителей. В этих двух группах частота встречаемости аллеля *T* оказалась выше среди лиц старше 65 лет и долгожителей (0.42), чем в группе лиц моложе 65 лет (0.39), а генотип *TT* у них встречается почти в 2 раза чаще (0.26), чем среди лиц моложе 65 лет (0.14). Уровень значимости различий в частотах генотипа *TT* в обеих этих группах по сравнению с группой индивидов моложе 65 лет превышает пороговые значения ($p = 0.01793$, $OR = 0.354$, $CI = 0.147-0.852$ в группе 65 лет и старше и $p = 0.02086$, $OR = 0.340$, $CI = 0.133-0.869$ – в группе долгожителей). Подобные отклонения могут быть связаны с небольшим размером выборки индивидов старше 65 лет из сибирского региона (50 человек), однако нельзя исключить и того, что аллель *T* гена *CLU* чаще встречается у пожилых.

Примечательно, что повышенные частоты аллеля *T* ($p = 0.01027$) и генотипа *TT* ($p = 0.01079$) выявлены также в группах здоровых носителей

аллеля ε4 гена *APOE* (по сравнению с неносителями) в сибирской популяции. Аналогичная тенденция к повышению частоты встречаемости аллеля *T* среди носителей аллеля ε4 гена *APOE* (0.45), по сравнению с группой без этого аллеля (0.38), отмечена и в выборке из московского региона, хотя повышение не достигает статистически значимого уровня ($p = 0.098$).

При попарном сравнении не обнаружено значимых различий в частотах встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма гена *CLU* между всеми выборками из трех российских регионов (московского, уральского и сибирского) ($p > 0.05$ для всех пар), что дало возможность объединить все выборки в одну общую контрольную группу, которую использовали при изучении ассоциации полиморфизма rs11136000 в гене *CLU* с БА. В группу больных с БА вошли больные из московского и уральского регионов. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма rs11136000 в гене *CLU* среди больных БА и здоро-

Таблица 2. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного маркера rs11136000 в гене *CLU* в группах с болезнью Альцгеймера и в контрольных группах без признаков деменций (объединенные группы из московского, уральского и сибирского регионов)

Группа	Количество	Генотип (частота)			Алель (частота)		<i>p</i> -Значение*
		<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>	<i>C</i>	<i>T</i>	
Болезнь Альцгеймера (общая группа)	534	214 (0.40)	262 (0.49)	58 (0.11)	690 (0.65)	378 (0.35)	0.12650
Контроль (общая группа)	702	262 (0.37)	341 (0.49)	99 (0.14)	865 (0.62)	539 (0.38)	
Болезнь Альцгеймера (ранняя форма)	214	80 (0.37)	108 (0.50)	26 (0.12)	268 (0.63)	160 (0.37)	0.737
Контроль (моложе 65 лет)	319	116 (0.36)	161 (0.50)	42 (0.13)	393 (0.62)	245 (0.38)	
Болезнь Альцгеймера (поздняя форма)	320	134 (0.42)	154 (0.48)	32 (0.10)	422 (0.66)	218 (0.34)	0.09376
Контроль (от 65 лет и старше)	383	146 (0.38)	180 (0.47)	57 (0.15)	472 (0.62)	294 (0.38)	

* *p*-Значение ассоциации аллелей гена *CLU* с болезнью Альцгеймера.

Таблица 3. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного маркера rs11136000 в гене *CLU* при болезни Альцгеймера и у здоровых носителей/неносителей аллеля $\epsilon 4$ гена *APOE* (объединенные группы из московского, уральского и сибирского регионов)

Группа	Количество	Генотип (частота)			Алель (частота)		<i>p</i> -Значение*
		<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>	<i>C</i>	<i>T</i>	
Носительство аллеля $\epsilon 4$ гена <i>APOE</i>							
Болезнь Альцгеймера	270	106 (0.39)	132 (0.49)	32 (0.12)	344 (0.64)	196 (0.36)	0.02847
Контроль	132	38 (0.29)	71 (0.54)	23 (0.17)	147 (0.56)	117 (0.44)	
Отсутствие аллеля $\epsilon 4$ гена <i>APOE</i>							
Болезнь Альцгеймера	249	99 (0.40)	125 (0.50)	25 (0.10)	323 (0.65)	175 (0.35)	0.70405
Контроль	421	164 (0.39)	202 (0.48)	55 (0.13)	530 (0.63)	312 (0.37)	

* *p*-Значение ассоциации аллелей гена *CLU*.

вых индивидов из российских популяций представлено в табл. 2.

Частота аллеля *T* в общей группе больных из российских популяций (0.35) не отличается от частоты в европейских популяциях (0.35). В группах как с ранней, так и с поздней формами БА частота аллеля *T* ниже, чем в общей контрольной группе (0.38), однако различия не достигают статистически значимого уровня.

Генотип *TT* среди больных всеми формами БА встречается реже, чем в контрольных группах лиц соответствующего возраста. Максимальные различия по частоте встречаемости генотипа *TT* выявлены между группами больных с поздней формой БА и контрольной группой от 65 лет и старше ($p = 0.04929$, $OR = 0.612$).

Генетическая ассоциация значительно зависит от неконтролируемой ассортативности и гетерогенности сравниваемых групп. Так как при изучении популяционных образцов из сибирского ре-

гиона мы обнаружили, что частоты встречаемости аллелей и генотипов у долгожителей отличаются от частот в остальных группах, дополнительно был проведен анализ ассоциаций с использованием контрольной выборки, из которой исключили группу долгожителей из сибирского региона. После исключения группы долгожителей из анализа БА статистически значимых различий в частоте генотипов и аллелей между группами больных и здоровых индивидов от 65 лет и старше не обнаружено.

Учитывая возможную связь между продуктами генов *CLU* и *APOE* и выявленные нами различия в частотах встречаемости аллеля *T* и генотипа *TT* у носителей и неносителей аллеля $\epsilon 4$ гена *APOE*, дополнительно сравнили частоты аллелей и генотипов полиморфизма rs11136000 в гене *CLU* в группах носителей и неносителей аллеля $\epsilon 4$ гена *APOE* (табл. 3).

Оказалось, что выделенные по носительству аллеля $\epsilon 4$ гена *APOE* группы больных БА и здоровых индивидов статистически значимо различаются по частоте встречаемости аллеля *T* ($p = 0.03255$) и генотипа *TT* ($p = 0.03475$) полиморфизма rs11136000 в гене *CLU*. В группах носителей аллеля $\epsilon 4$ гена *APOE* ассоциация гена *CLU* с БА не обнаружена.

Роль продукта гена *CLU* в развитии БА в настоящее время не ясна. Известно, что при БА повышается уровень экспрессии гена *CLU* в пораженных участках головного мозга [17]. Белковый продукт этого гена, как и *APOE*, обнаружен в составе амилоидных бляшек и в спинномозговой жидкости [18]. Предполагается, что белки *CLU* и *APOE* участвуют в регуляции количества внеклеточного А β , перенося его через гематоэнцефалический барьер в противоположных направлениях [15, 16].

Полученные нами на данных выборках из российских регионов результаты не выявили роль полиморфизма rs11136000 в гене *CLU* как главного фактора риска общей формы БА. Наши первичные данные не исключают, однако, возможного участия аллельного варианта rs11136000 как “умеренного” фактора риска в этиологии поздней формы БА и взаимодействия различных генотипов генов *CLU* и *APOE* как факторов риска или протективных факторов при БА. Следует отметить, что в европейских популяциях [10] уровень значимости ассоциации полиморфизма rs11136000 с БА у носителей аллеля $\epsilon 4$ гена *APOE* был выше, чем у носителей. Обнаруженные нами различия в частотах встречаемости аллелей гена *CLU* в группе индивидов, имеющих в генотипе аллель $\epsilon 4$ гена *APOE*, также не исключают возможного совместного вклада полиморфных маркеров генов *APOE* и *CLU* в развитие БА. А различия в частотах встречаемости аллелей и генотипов rs11136000 у лиц моложе и старше 65 лет указывают на возможность влияния полиморфизма rs11136000 в гене *CLU* на продолжительность жизни. Эти данные требуют дальнейших исследований с использованием обширных популяционных выборок различных возрастных категорий.

Работа поддержана Госконтрактом (02.527.11.0006) в рамках 7 Рамочной программы ЕС. ЕИР получил поддержку NINDS NS045854 и NIA AG029360.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Sherrington R., Rogaev E.I., Liang Y., Rogaeva E.A., Levesque G., Ikeda M., Chi H., Lin C., Li G., Holman K., Tsuda T., Mar L., Foncin J.-F., Bruni A.C., Montesi M.P., Sorbi S., Rainero I., Pinessi L., Nee L., Chumakov I., Pollen D., Brookes A., Sanseau P., Polinsky R.J., Wasco W., Da Silva H.A.R., Haines J.L., Pericak-Vance M.A., Tanzi R.E., Roses A.D., Fraser P.E., Rommens J.M., St George-Hyslop P.H. 1995. Cloning of a gene bearing missense mutation in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature*. **375**, 754–760.
- Rogaev E.I., Sherrington R., Rogaeva E.A., Levesque G., Ikeda M., Liang Y., Chi H., Lin C., Holman K., Tsuda T., Mar L., Sorbi S., Nacmias B., Piacentini S., Amaducci L., Chumakov I., Cohen D., Lannfelt L., Fraser P.E., Rommens J.M., St George-Hyslop P.H. 1995. Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature*. **376**, 775–778.
- Raux G., Guyant-Marechal L., Martin C., Bou J., Penet C., Brice A., Hannequin D., Frebourg T., Campion D. 2005. Molecular diagnosis of autosomal dominant early onset Alzheimer's disease: an update. *J. Med. Genet.* **42**, 793–795.
- Janssen J.C., Beck J.A., Campbell T.A., Dickinson A., Fox N.C., Harvey R.J., Houlden H., Rossor M.N., Collinge J. 2003. Early onset familial Alzheimer's disease: Mutation frequency in 31 families. *Neurology*. **60**, 235–239.
- Strittmatter W.J., Saunders A.M., Schmechel D., Pericak-Vance M., Enghild J., Salvesen G.S., Roses A.D. 1993. Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **90**, 1977–1981.
- Saunders A.M., Strittmatter W.J., Schmechel D., et al. 1993. Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology*. **43**, 1467–1472.
- Коровайцева Г.И., Щербатых Т.В., Селезнева Н.В., Гаврилова С.И., Голимбет В.Е., Воскресенская Н.И., Робаев Е.И. 2001. Генетическая ассоциация между аллелями гена аполипопротеина Е (*APOE*) и различными формами болезни Альцгеймера. *Генетика*. **37**, 529–535.
- Григоренко А.П., Робаев Е.И. 2007. Молекулярные основы болезни Альцгеймера. *Молекуляр. биология*. **41**, 331–345.
- Harold D., Abraham R., Hollingworth P., Sims R., Gerrish A., Hamshere M.L., Pahwa J.S., Moskvin V., Dowzell K., Williams A., et al. 2009. Genome-wide association study identifies variants at *CLU* and *PI-CALM* associated with Alzheimer's disease. *Nat. Genet.* **41**, 1088–1093.
- Lambert J.C., Heath S., Even G., Campion D., Sleegers K., Hiltunen M., Combarros O., Zelenika D., Bullido M.J., Tavernier B., et al. 2009. Genome-wide association study identifies variants at *CLU* and *CRI* associated with Alzheimer's disease. *Nat. Genet.* **41**, 1094–1100.
- Всемирная Организация Здравоохранения. Классификация психических и поведенческих расстройств. 1989. *МКБ-10*. Женева.
- American Psychiatric Association. 1994. *DSM-IV*. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Ed. Washington, DC.
- McKhann G., Drachman D., Folstein M., Katzman R., Price D., Stadlan E.M. 1984. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of

- Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*. **34**, 939–944.
14. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д. 1984. *Молекулярное клонирование*. М.: Мир.
 15. Holtzman D. 2004. *In vivo* effects of ApoE and clusterin on amyloid- β metabolism and neuropathology. *J. Mol. Neurosci.* **4**, 247–254.
 16. DeMattos R.B., Cirrito J.R., Parsadanian M., May P.C., O'Dell M.A., Taylor J.W., Harmony J.A., Aronow B.J., Bales K.R., Paul S.M., Holtzman D.M. 2004. ApoE and clusterin cooperatively suppress a levels and deposition: evidence that ApoE regulates extracellular A β metabolism *in vivo*. *Neuron*. **41**, 193–202.
 17. Calero M., Rostagno A., Matsubara E., Zlokovic B., Frangione B., Ghiso J. 2000. Apolipoprotein J (clusterin) and Alzheimer's disease. *Microsc. Res. Tech.* **50**, 305–315.
 18. Liang W.S., Dunckley T., Beach T.G., Grover A., Mastrotroeni D., Ramsey K., Caselli R.J., Kukull W.A., McKeel D., Morris J.C., Hulette C.M., Schmechel D., Reiman E.M., Rogers J., Stephan D.A. 2008. Altered neuronal gene expression in brain regions differentially affected by Alzheimer's disease: a reference data set. *Physiol. Genomics*. **33**, 240–256.