Вовлеченность генов медиаторов воспаления в формирование невербального интеллекта: эффект аполипопротеина Е

© Еникеева Р.Ф.^{1,2*}, Казанцева А. В.^{1,2}, Давыдова Ю. Д.¹, Мустафин Р. Н.³, Тахирова З.Р.², Лобаскова М.М.⁴, Михайлова А. В.⁵, Федореева К.С.⁵, Малых С.Б.⁴, Хуснутдинова Э.К.^{1,3}

¹*Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук
450054 г. Уфа, проспект Октября, 71 лит. Е.*

²*Российская академия образования, Центр междисциплинарных исследований в сфере наук об образовании
119121 г. Москва, ул. Погодинская, 8.*

³*Башкирский государственный медицинский университет
450008 г. Уфа, ул. Ленина, 3.*

⁴*Психологический институт Российской академии образования
125009 г. Москва, ул. Моховая, 9/4.*

⁵*Башкирский государственный университет
450076 г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32.*

**Email: Enikeevarf@gmail.com*

В результате оценки основного эффекта полиморфных вариантов генов воспалительного ответа организма и эффекта ген-средовых взаимодействий в формирование когнитивных характеристик у индивидов без когнитивных нарушений была показана ассоциация гаплотипа *TNF*AA* (rs1041981, rs1800629) ($\beta=1.53$; $P=0.033$; $P_{perm}=0.047$) с повышенными показателями невербального интеллекта у индивидов без когнитивных нарушений - носителей варианта $\epsilon 4$ гена *APOE*.

Ключевые слова: медиаторы воспаления, фактор некроза опухолей альфа; аполипопротеин Е; когнитивные способности; линейная регрессия; ген-средовые взаимодействия.

В течение последнего десятилетия особый интерес в области когнитивных наук и генетики комплексных признаков направлен на выявление молекулярно-генетических предикторов, связанных с развитием особенностей когнитивного функционирования. Изучение последнего приобретает особую актуальность, поскольку уровень когнитивного функционирования лежит в основе жизненного успеха, трудоспособности и самореализации каждого человека. Одним из показателей когнитивного функционирования является невербальный интеллект, который связывают с успехами в использовании математических навыков и в STEM-дисциплинах (от англ. Science, Technology, Engineering, Mathematics).

Известно, что механизмы, лежащие в основе формирования индивидуального уровня когнитивных способностей, являются комплексными, причем генетические и эпигенетические факторы при этом играют существенную роль (Mustafin et al., 2020). В течение

последнего десятилетия особое распространение получила гипотеза о вовлеченности нейронального воспаления в развитие когнитивных нарушений, включая болезнь Альцгеймера и другие деменции (Flex et al., 2014). К системе провоспалительного ответа организма относят белки, кодируемые генами С-реактивного белка (*CRP*), интерлейкина 1 α (*IL1a*), интерлейкина 1 β (*IL1B*), фактора некроза опухолей альфа (*TNF*), пуринергического рецептора *P2X7* (*P2X7R*) и ряда других. Кроме того, группы исследователей продемонстрировали необходимость введения индивидуального варианта в гене аполиipoproteина E (*APOE*) (в частности, ϵ 4-аллеля) в качестве ковариаты при оценке генетического эффекта системы медиаторов воспаления на снижение когнитивного функционирования (Licastro et al., 2007; Sasayama et al., 2020). Таким образом, учитывая гипотезу непрерывного континуума развития когнитивных нарушений, можно предположить, что определенные варианты генов провоспалительного ответа организма совместно с геном *APOE* могут быть также связаны со снижением когнитивных функций (невербального интеллекта, в частности) в популяции в более раннем возрасте. Кроме того, к настоящему времени число исследований, включающих анализ вышеуказанных генов в развитие особенностей когнитивного функционирования у здоровых людей без когнитивного дефицита, немногочисленно.

Таким образом, целью настоящего исследования являлась оценка основного эффекта полиморфных вариантов генов воспалительного ответа организма и эффекта ген-средовых взаимодействий в формирование невербального интеллекта у индивидов без когнитивных нарушений.

Материалом для исследования послужила ДНК 1011 индивидов без когнитивных нарушений (80% женщин) в возрасте 18-25 лет (средний возраст: 19.79 $\pm$ 1.69 лет) – студентов ВУЗов РФ разной этнической принадлежности (535 русских, 231 татар, 160 удмуртов, 85 индивидов смешанной этнической принадлежности). Включенные в исследование индивиды отрицали у себя отягощенную наследственность по психическим заболеваниям и не состояли на учёте у психиатра и нарколога. Оценка невербального интеллекта производилась с использованием прогрессивных матриц Равена на основе цифровой платформы, разработанной сотрудниками Российской академии образования. У всех индивидов была собрана информация социального характера, включающая этническую принадлежность до трёх поколений, особенности детско-родительских отношений (стиль родительского воспитания, эпизоды плохого обращения в детстве, воспитание в полной/неполной семье), уровень доходов семьи, возраст матери и отца при рождении ребёнка, вес ребёнка при рождении, место воспитания, число детей в семье и порядок рождения, знание своего родного языка (билингвизм), наличие хронических заболеваний и табакокурения. Все участники заполнили добровольное согласие на участие в исследовании. Исследование было одобрено биоэтическим комитетом ИБГ УФИЦ РАН.

Для молекулярно-генетического анализа полиморфных локусов была использована ДНК, выделенная методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование восьми полиморфных локусов генов *CRP* (rs3093077), *IL1a* (rs1800587), *IL1B* (rs16944), *TNF* (rs1041981, rs1800629), *P2X7R* (rs2230912), *APOE* (rs7412, rs429358) проводилось методом ПЦР в реальном времени с использованием коммерческих наборов (LGC Genomics, UK) на амплификаторе «CFX96» (BioRad, США) с возможностью проведения анализа флуоресценции по конечной точке. Генотипы в гене *APOE* были сгруппированы на основании наличия аллелей ϵ 2, ϵ 3, ϵ 4.

Статистическая обработка результатов включала проверку на нормальность распределения количественных данных, соответствие распределения частот аллелей и генотипов тесту Харди-Вайнберга. Линейный регрессионный анализ с включением половой, этнической принадлежности и наличия «рискового» аллеля *APOE* ϵ 4 в качестве ковариат был использован для оценки основного эффекта полиморфного локуса

(PLINK v.1.09). Анализ проводился с использованием аддитивной, доминантной и рецессивной статистических моделей. Чтобы оценить эффект ген-средовых взаимодействий была проведена серия множественных линейных регрессионных анализов, в которых полиморфные локусы, социальные характеристики, половая и этническая принадлежность выступала в качестве независимых переменных, а уровень невербального интеллекта – в качестве зависимой. Последующий стратификационный анализ был проведен с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни (SPSS 23). Для коррекции на множественность сравнений была осуществлена процедура FDR (False Discovery Rate) или способ перестановок (permutation test) (PLINK v.1.09).

В результате регрессионного анализа, оценивавшего эффект восьми изученных полиморфных локусов генов системы воспалительного ответа организма, был выявлен основной эффект минорных аллелей А полиморфных локусов rs1800629 ($\beta=1.79$; $P=0.019$) и rs1041981 ($\beta=1.49$; $P=0.019$) в гене фактора некроза опухоли альфа (*TNF*) на проявление более высокого уровня невербального интеллекта в доминантной модели. Однако после коррекции на множественность сравнений данный эффект оказался статистически незначимым. Тем не менее, после обнаружения неравновесия по сцеплению между двумя локусами rs1800629 и rs1041981, находящимися в промоторном регионе гена *TNF*, был проведен гаплотипический анализ. Последний продемонстрировал ассоциацию гаплотипа *TNF**AA (rs1041981, rs1800629) ($\beta=1.53$; $P=0.033$; $P_{perm}=0.047$) с повышенными показателями невербального интеллекта у индивидов без когнитивных нарушений, которая осталась значимой после коррекции на множественность.

В результате анализа ген-средовых взаимодействий, учитывающего, наряду с генетическими вариантами, эффект различных социальных параметров, было показано, что табакокурение модулирует ассоциацию локуса rs2230912 в гене *P2X7R* ($\beta = -1.70$; $P = 0.022$) с индивидуальными вариациями показателя невербального интеллекта. В частности, среди курящих индивидов носители минорного аллеля G в гене *P2X7R* демонстрировали снижение уровня невербального интеллекта ($\beta=-1.64$; $P=0.025$) по сравнению с носителями мажорного генотипа A/A. Кроме того, модель ген-средовых взаимодействий, включающая полиморфный локус rs1041981 в гене *TNF* и число детей в семье ($\beta = -1.39$; $P = 0.025$), позволила выявить ассоциацию с уровнем невербального интеллекта. Стратификационный анализ показал, что при воспитании в многодетной семье индивиды с минорным аллелем А локуса rs1041981 характеризовались в среднем более высоким уровнем невербального интеллекта по сравнению с носителями генотипа C/C ($\beta=0.248$, $P=0.002$).

Согласно литературным данным, аллель А полиморфного локуса rs1800629 в гене *TNF* ассоциирован с улучшением процессов внимания, способности к пространственному вращению 3D-предметов, скоростью обработки информации (Beste et al., 2010). В то же время, мажорный аллель G в этом локусе был связан с увеличением риска развития когнитивных нарушений, в частности, за счет увеличения уровня белка p-TAU в спинномозговой жидкости (который является биомаркером такого нейродегенеративного заболевания как болезнь Альцгеймера) (Babic Leko et al., 2020; Culjak et al., 2020). Полученные нами данные об ассоциации гаплотипа AA в гене *TNF* с улучшением невербального интеллекта согласуются с вышеотмеченными. С другой стороны, модель ген-средовых взаимодействий указывает на важный вклад количества детей в семье на вовлеченность другого локуса в гене *TNF* (rs1041981) в формирование особенностей когнитивного развития. На основании опубликованных данных, можно предположить, что воспитание в семье с большим количеством сиблингов оказывает определенный эффект, связанный с активацией системы воспалительного ответа, при котором носительство аллеля С в локусе rs1041981 гена *TNF* будет приводить к усилению воспалительного ответа организма, приводя к снижению уровня интеллекта.

Известно, что пуриnergический рецептор P2X7 (P2X7R) участвует в регуляции высвобождения интерлейкина 1 β и других цитокинов, что позволило выявить его участие в развитии некоторых психических нарушений на уровне полиморфного локуса rs2230912 (миссенс мутация Gln460Arg) (Deussing and Arzt, 2018). В частности, был продемонстрирован негативный эффект наличия минорного аллеля G на увеличение тяжести депрессивной симптоматики (Vereczkei et al., 2019). В нашей работе данный аллель G локуса rs2230912 был связан со снижением уровня интеллекта, но только среди индивидов, отмечавших наличие табакокурения в настоящий период жизни. Известно, что аддиктивное поведение (включая табакокурение) может использоваться для нивелирования тревожного состояния, которое, в свою очередь, коррелирует с депрессивностью. Кроме того, литературные данные также указывают на вовлеченность гена P2X7R в манифестацию когнитивного дефицита вследствие увеличения его экспрессии как у людей, так и у модельных животных (Francistiova et al., 2020).

Полученные нами данные свидетельствуют об эпистатическом эффекте генов медиаторов воспаления, на уровне генов TNF и P2X7R) и апополипротенина E в развитие не только когнитивных нарушений, но и индивидуальных вариаций в уровне невербального интеллекта.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки РФ (№АААА-А21-121011990119-1). Образцы ДНК взяты из ЦКП "Коллекция биологических материалов человека" ИБГ УФИЦ РАН, поддержанного Программой биоресурсных коллекций ФАНО России (соглашение № 007-030164/2).

Литература

1. Mustafin R.N., Kazantseva A.V., Malykh S.B. Khusnutdinova E.K. Genetic mechanisms of cognitive development // Russian Journal of Genetics. 2020. V. 56(8). P. 891-902.
2. Flex A., Giovannini S., Biscetti F. et al. Effect of proinflammatory gene polymorphisms on the risk of Alzheimer's disease // Neurodegener. Dis. 2014. V. 13(4). P. 230-236.
3. Licastro F., Porcellini E., Caruso C. et al. Genetic risk profiles for Alzheimer's disease: integration of APOE genotype and variants that up-regulate inflammation // Neurobiol. Aging. 2007. V. 28(11). P. 1637-1643.
4. Sasayama D., Hattori K., Yokota Y. et al. Increased apolipoprotein E and decreased TNF- α in the cerebrospinal fluid of nondemented APOE- ϵ 4 carriers // Neuropsychopharmacol. Rep. 2020. V. 40(2). P. 201-205.
5. Beste C., Heil M., Domschke K. et al. Associations between the tumor necrosis factor alpha gene (-308G $\rightarrow$ A) and event-related potential indices of attention and mental rotation // Neuroscience. 2010. V. 170(3). P. 742-748.
6. Babić Leko M., Nikolac Perković M., Klepac N. et al. IL-1 β , IL-6, IL-10, and TNF α Single Nucleotide Polymorphisms in Human Influence the Susceptibility to Alzheimer's Disease Pathology // J. Alzheimers Dis. 2020. V. 75(3). P. 1029-1047.
7. Culjak M., Perkovic M.N., Uzun S. et al. The Association between TNF-alpha, IL-1 alpha and IL-10 with Alzheimer's Disease // Curr. Alzheimer. Res. 2020. V. 17(11). P. 972-984.

8. Deussing J.M., Arzt E. P2X7 Receptor: A Potential Therapeutic Target for Depression? // Trends Mol. Med. 2018. V. 24(9). P. 736-747.
9. Vereczkei A., Abdul-Rahman O., Halmai Z. et al. Association of purinergic receptor P2RX7 gene polymorphisms with depression symptoms // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. 2019. V. 92. P. 207-216.
10. Francistiová L., Bianchi C., Di Lauro C. et al. The Role of P2X7 Receptor in Alzheimer's Disease // Front. Mol. Neurosci. 2020. V. 13. P. 94.

The involvement of inflammatory system genes in individual variance in non-verbal intelligence: the effect of apolipoprotein E

R.F. Enikeeva^{1,2*}, A.V. Kazantseva^{1,2}, Yu. D. Davydova¹, R.N. Mustafin³, Z.R. Takhirova², M.M. Lobaskova⁴, A.V. Mikhailova⁵, K.S. Fedoreeva⁵, S.B. Malykh⁴, E.K. Khusnutdinova^{1,3}

¹*Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences
71 Prospekt Oktyabrya, 450054 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

²*Russian Academy of Education, Centre of interdisciplinary research in education
8 Pogodinskaya Street, 119121 Moscow, Russia.*

³*Bashkir State Medical University
3 Lenin Street, 450008 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

⁴*Psychological Institute of Russian Academy of Education
9/4 Mokhovaya Street, 125009 Moscow, Russia.*

⁵*Bashkir State University
32 Zaki Validi Street, 450076 Ufa, Russia.*

*Email: Enikeevarf@gmail.com

The assessment of the main effect of inflammatory system gene polymorphisms and the effect of gene-by-environment interactions in individual differences in cognitive abilities conducted in mentally healthy individuals without cognitive decline revealed the association of the TNF AA-haplotype (rs1041981, rs1800629) ($\beta=1.53$; $P=0.033$; $P_{perm}=0.047$) with higher non-verbal intelligence score in individuals carrying the APOE $\epsilon 4$ variant.

Keywords: inflammation, tumor necrosis factor alpha, apolipoprotein E, cognitive abilities, linear regression, gene-environment interactions.