

Vol. 37(10). – P. 1335-1341. DOI: 10.1111/j.1447-0756.2010.01523.x.

27. Pre-eclampsia: pathophysiology and clinical implications / G.J. Burton [et al.] // BMJ. – 2019. – Vol. 366(12381). – P. 1-15. DOI:10.1136/bmj.12381.

28. Pregnancy, parturition and preeclampsia in women of African ancestry / A. Nakimuli [et al.] // Am J Obstet Gynecol. – 2014. – Vol. 210(6).

– P. 510-520.e1. DOI:10.1016/j.ajog.2013.10.879 pmid:24184340.

29. Racial disparity in hypertensive disorders of pregnancy in New York State: a 10-year longitudinal population-based study / M. Tanaka [et al.] // Am J Public Health. – 2007. – Vol. 97(1). – P. 163-170.

30. The G20210A prothrombin-gene mutation and the plasminogen activator inhibitor (PAI-1)

5G/5G genotype are associated with early onset of severe preeclampsia / A. Gerhardt [et al.] // J Thromb Haemost. – 2005. – Vol. 3(4). – P. 686-691.

31. The significance of genetic polymorphisms of factor V Leiden and prothrombin in the preeclamptic Polish women / A. Seremak-Mrozikiewicz [et al.] // J Thromb Thrombolysis. – 2010. – Vol. 30(1). – P. 97-104. DOI: 10.1007/s11239-009-0432-1.

DOI 10.25789/YMJ.2019.68.04

УДК 14.03.03,14.01.02

Ю.А. Соловьева, Х.А. Куртанов, Н.И. Павлова,
Н.А. Соловьева, Н.В. Борисова, С.С. Слепцова,
А.Т. Дьяконова, Т.Н. Александрова, Н.П. Филиппова

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА NOS3 В ЯКУТСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Проведено изучение полиморфизма rs1799983 гена NOS3 у здоровых лиц в якутской популяции. В результате генотипирования установлено преобладание среди якутской популяции аллеля G. Анализ частоты встречаемости генотипов полиморфного варианта rs1799983 гена NOS3 выявил, что среди всех обследованных лиц преобладали носители гомозиготного генотипа GG (83,56%). Таким образом, изучение полиморфизма rs1799983 гена NOS3 в различных этнических группах может иметь перспективу в развитии персонализированной медицины для прогнозирования фиброзных изменений в печени.

Ключевые слова: ген синтазы оксида азота 3, оксид азота, полиморфизм, NOS3, G894T, эндотелиальная дисфункция, фиброз печени, якутская популяция.

The study of polymorphism rs1799983 of the NOS3 gene in healthy individuals in the Yakut population was carried out. Genotyping revealed the predominance of the G allele among the Yakut population. Analysis of the frequency of occurrence of the genotypes of the polymorphic variant rs1799983 of the NOS3 gene revealed that carriers of the homozygous GG genotype prevailed among all examined individuals (83.56%). Thus, the study of polymorphism rs1799983 of the NOS3 gene in various ethnic groups may have the prospect of developing personalized medicine to predict fibrotic changes in the liver.

Keywords: nitric oxide synthase 3 gene, nitric oxide, polymorphism, NOS3, G894T, endothelial dysfunction, liver fibrosis, Yakut population.

Введение. Фиброз печени (ФП) является ключевым звеном патогенеза заболеваний печени, в частности, степень ФП четко связана с прогрессированием клинических проявлений таких социально-значимых заболеваний, как хронические вирусные гепатиты (ХВГ) [12]. Несмотря на целый комплекс проводимых как профилактических, так и терапевтических мер в борьбе с вирусными гепатитами, число лиц с ХВГ неуклонно растет. Так, с 2013 по 2016 г. в Республике Саха

(Якутия) частота госпитализаций лиц с ХВГ выросла на 130 %, с циррозом печени - на 141 %. Отмечается предрасположенность лиц коренной национальности к прогрессирующему течению ХВГ с частым формированием цирроза и рака печени, в основном в исходе HDV-инфекции – 52,2 % [2].

Поэтому остро стоит вопрос поиска новых неинвазивных методов диагностики и прогнозирования фиброзных изменений ткани печени. Известно, что патогенез ФП тесно связан с оксидативным стрессом, вследствие которого отмечается повышение выработки свободных радикалов, одним из которых выступает оксид азота (NO). NO является активным свободным радикалом, который действует как ключевой медиатор вазодилатации и способствует воспалительному процессу в ткани печени, пораженной вирусом гепатита [8, 12].

Ряд исследований подтверждают роль NO в развитии воспалительных и фиброзных изменений в паренхиме печени [10-11]. Однако остается неясной роль гена синтазы оксида азота NOS3 (eNOS, nitric oxide synthase 3) в формировании ФП. Синтаза оксида азота индуцирует превращение L-аргинина в эндогенный монооксид азота. На дан-

ный момент изучены полиморфизмы в 11 локусах, описано 8 полиморфизмов NOS3, связанных с сердечно-сосудистыми заболеваниями, одним из которых является однонуклеотидный полиморфизм rs1799983 (Glu298Asp, E298D, G894T), действие аллеля риска Т можно связать с дисфункцией эндотелия [3, 13].

Полиморфизм rs1799983 гена NOS3 изучен в многих популяциях человека, но в якутской популяции данный полиморфизм не был достаточно изучен.

Целью нашего исследования явилось изучение полиморфизма rs1799983 гена NOS3 у здоровых лиц в якутской популяции.

Материалы и методы исследования. Экспериментальная часть работ была проведена в лаборатории наследственной патологии отдела молекулярной генетики Якутского научного центра комплексных медицинских проблем (ЯНЦ КМП). Для исследования использованы образцы ДНК из коллекции биоматериала ЯНЦ КМП. Всего было исследовано 146 образцов ДНК здоровых добровольцев якутов по этнической принадлежности (включены якуты в третьем поколении). Из них 31 образец ДНК принадлежал индивидам мужского пола и 115 образцов – инди-

МИ СВФУ им. М.К. Аммосова: СОЛОВЬЕВА Юлия Алексеевна – ст. преподаватель, аспирант, md.por@mail.ru, БОРИСОВА Наталья Владимировна – д.м.н., проф., borinat@yandex.ru, СЛЕПЦОВА Снежана Спиридоновна – д.м.н., зав. кафедрой, sssleptsova@yandex.ru; ЯНЦ КМП: КУРТАНОВ Харитон Алексеевич – к.м.н., гл.н.с. –руковод. отдела, hariton_kurtanov@mail.ru, ПАВЛОВА Надежда Ивановна – к.б.н., в.н.с. – руковод. лаб., solnishko_84@inbox.ru, СОЛОВЬЕВА Наталья Алексеевна – к.м.н., с.н.с., sonata608@yandex.ru, ДЬЯКОНОВА Александра Тимофеевна – м.н.с., dyakonovaa@bk.ru, АЛЕКСАНДРОВА Туяара Никоновна – м.н.с., alexandrova_tuayara@mail.ru, ФИЛИПОВА Наталья Павловна – к.б.н., с.н.с., inniah1970@list.ru.

Таблица 1

Протокол амплификации

SNP	Праймер	Условия проведения ПЦР	Длина амплификата
rs1799983	F: TCACGGAGACCCAGCCAATGAG R: TCCATCCACCCAGTCAATCCC	1. 95°C – 5 мин 2. (95°C – 35 с; 64°C – 35 с; 72°C – 35 с) * 35 циклов 3. 72°C – 5 мин	292 п.н.

видам женского пола. Средний возраст участников исследования составил 30,51±10,92. Критериями исключения из исследования были: возраст до 18 лет, хронические сердечно-сосудистые заболевания, онкологические заболевания, вирусные гепатиты, злоупотребление алкоголем. Все исследованные лица заполняли анкету с информированным согласием на проведение генетического исследования, одобренную локальным комитетом по биомедицинской этике при ЯНЦ КМП.

рестрикционных фрагментов (рестриков) путем гель-электрофореза на 2%-ном агарозном геле с этидия бромидом (3,8-диамино-5-этил-6-фенилфенантридиум бромид, Ethidium bromide) при 120 В в стандартном трис-ацетатном буфере в течение 1 ч. Визуализировали результаты с использованием гель-документирующей системы в UV-лучах (Vilber Lourmat, Франция) (рис. 1).

Обработку данных исследования проводили статистическими програм-

сравнивали с использованием критерия χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность. Результаты считались значимыми, при значении p меньше, чем 0,05 ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение. В результате генотипирования полиморфизма rs1799983 гена NOS3 среди якутской популяции установлено преобладание аллеля G (91,44%), что соответствует ранее опубликованным результатам исследования, проведенного Е.Н. Местниковой и соавторами (2018) [1], согласно которым популяция якутов также характеризовалась преобладанием аллеля G. Анализ частоты встречаемости генотипов полиморфного варианта rs1799983 гена NOS3 выявил, что среди всех обследованных лиц преобладали носители гомозиготного генотипа GG (83,56%), гетерозиготный генотип GT составил 15,75%, тогда как гомозиготный генотип по аллелю Т встречался только в 0,69% случаев (табл. 3).

Анализ распределения генотипов в зависимости от половой принадлежности не выявил достоверных различий ($\chi^2=1,131$, $p=0,288$). Установлено, что как среди женщин, так и в группе мужчин преобладали носители гомозиготного генотипа GG (83,87, 83,48% соответственно). Генотип GT был обнаружен у 16,13% мужчин и 15,65% женщин. Частота встречаемости аллеля Т составила в группе мужчин 8,07%, в группе женщин 8,7%, также без статистически значимых различий (табл. 4).

По данным открытых источников проекта «1000 геномов» [15], высокая частота встречаемости аллеля Т наблюдалась в европейской популяции (коренные жители Северной Европы

Таблица 2

Протокол рестрикции

SNP	Рестриктаза	Условия проведения	Длины рестрикционных фрагментов
rs1799983	<i>MboI</i>	37 °C в течение 15 мин	292 п.н. - GG 197 и 95 п.н. - TT 292, 197 и 95 п.н. - GT

ДНК выделяли стандартным методом из замороженной цельной крови. Однонуклеотидный полиморфизм (SNP) определяли с помощью полимеразной цепной реакции (амплификации специфических участков гена) с последующим ПДРФ анализом.

В табл. 1 представлены протокол проведения амплификации, использовавшиеся последовательности олигонуклеотидных праймеров, температуры ПЦР и длина амплификата. Для ПЦР использовали 1 мкл ДНК, по 1 мкл прямого и обратного праймеров rs1799983F и rs1799983R (Lumiprobe, Германия), 12,5 мкл Taq 2X Master Mix (New England Biolabs Inc., США) и 9,5 мкл деионизированной воды [9].

Условия рестрикции, используемая рестриктаза и длины рестрикционных фрагментов представлены в табл. 2. Для рестрикции использовали 5 мкл амплификата, 1 мкл рестрикционного буфера, 0,2 мкл эндонуклеазы рестрикции *MboI* (New England Biolabs Inc., США) и 8,8 мкл деионизированной воды.

Получившиеся генотипы определяли при помощи анализа длин

мами «Office Microsoft Excel 2010» и «IBM SPSS Statistics 23». Частоту аллелей и генотипов полиморфизма rs1799983 гена NOS3 проверяли на соответствие равновесию Харди - Вайнберга. Частоту аллелей и генотипов между группами мужчин и женщин

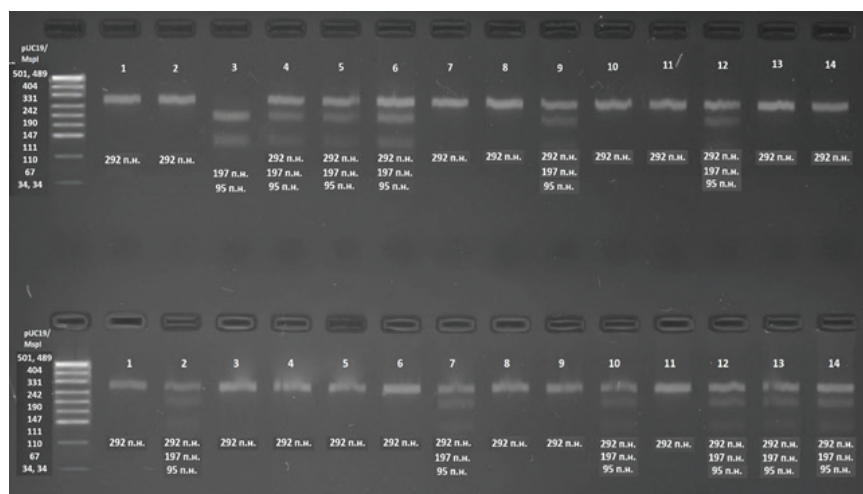


Рис. 1. Электрофореграмма результатов ПЦР-ПДРФ анализа М - маркер PUC19/+Msp I. Ряд 1: 1, 2, 7, 8, 10, 11, 13, 14 – генотип GG, 4, 5, 6, 9, 12 – генотип GT, 3 – генотип TT. Ряд 2: 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 11 – генотип GG, 2, 7, 10, 12, 13, 14 – генотип GT. п.н. – пар нуклеотидов

Таблица 3

Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма rs1799983 гена NOS3 среди якутской популяции

Группа	Распр	Генотип, n (%)			Аллель, n (%)		χ^2	p
		GG	GT	TT	G	T		
n=146	Н	122 (83,56)	23 (15,75)	1 (0,69)	267 (91,44)	25 (8,56)	0,06	0,94
	О	122,07 (83,61)	22,86 (15,66)	1,07 (0,73)				

Примечание. Н – наблюдаемое распределение, О – ожидаемое распределение.

Таблица 4

Распространенность генотипов и аллелей в группах мужчин и женщин

Группа исследуемых	Генотип, n (%)			Аллель, n (%)		χ^2	p
	GG	GT	TT	G	T		
Мужчины (n=31)	26 (83,87)	5 (16,13)	0	57 (91,93)	5 (8,07)	1,131	0,288
Женщины (n=115)	96 (83,48)	18 (15,65)	1 (0,87)	210 (91,3)	20 (8,7)		

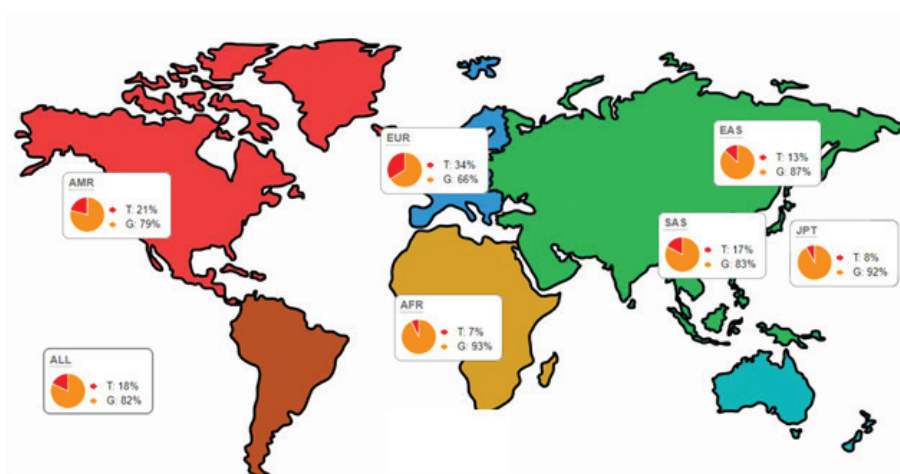


Рис. 2. Частота встречаемости аллелей, по данным «1000 геномов»

– 36%, финны – 23, британцы – 34, испанцы 38, тосканцы – 40%), а также у колумбийцев – 27%, мексиканцев – 20, пуэрториканцев – 28%. Реже всего аллель Т встречается в популяции африканцев (кенийцы – 4%, жители Сьерра-Леоне – 5, Йоруба, Нигерия – 6%). Среди азиатских популяций аллель Т чаще встречается среди вьетнамцев – 16%, китайцев – 15, реже – у японцев (8%) (рис. 2).

При сравнении с популяциями мира, по данным «1000 геномов», аллель Т среди якутов встречается реже, чем среди населения Северной Америки, Южной Америки, Европы, Индии, Океании и Китая. Значения распространенности данного аллеля сопоставимы с Японией, где аллель Т встречается у 8% населения [15].

При сравнении результатов настоящего исследования аллель Т полиморфизма rs1799983 гена NOS3 в якутской популяции встречался реже, чем в предыдущих популяционных ис-

следованиях. Так, в исследовании Вае и соавторов (2010) частота встречаемости аллеля Т в популяции коренных жителей Кореи составила 18,6% [7]. В японской популяции аллель Т встречался в 15,6%, как показывает исследование Tamemoto и соавторов (2008) [14]. Ню и соавторы в 2015 г. исследовали 420 молодых здоровых китайцев и обнаружили аллель Т у 28,09% исследованных [5]. Схожие результаты получили индонезийские генетики Thaha и соавторы, аллель Т был обнаружен у 28,84% [6], тогда как у азиатского населения Индии – у 32,89% [4] (табл. 5).

Таким образом, изучение полиморфизма rs1799983 гена NOS3 в различных этнических группах может иметь перспективу в развитии персонализированной медицины для прогнозирования патологических состояний, связанных с эндотелиальной дисфункцией: фиброза печени, сердечно-сосудистых заболеваний, акушерско-гинекологической патологии, нарушений функции различных органов и систем.

Заключение. По результатам настоящего исследования установлено, что популяция здоровых якутов, проживающих на территории Республики Саха (Якутия), характеризуется значительным преобладанием носителей аллеля G (91,44%) и генотипа GG (83,56%) полиморфного варианта rs1799983 гена NOS3.

Благодарности.

Исследование было проведено в рамках НИР «Изучение генетической структуры и груза наследственной патологии популяций Республики Саха (Якутия) с использованием УНУ «Геном Якутии»» (рег. №USU_507512).

Исследование было проведено при поддержке Фонда содействия инновациям (Договор №13755ГУ/2018 от 02.04.2019 (код 0045258), заявка №53541, конкурс УМНИК-18 (а), Республика Саха (Якутия) – 2018).

Таблица 5

Распространенность аллеля G полиморфного варианта rs1799983 гена NOS3 в азиатских популяциях мира

Популяция	Генотип			p	Ссылка
	GG	GT	TT		
Якуты (n=146)	122	23	1	-	-
Корея (n=161)	131	30	0	0,192	[7]
Япония (n=211)	181	27	3	0,101	[14]
Китай (n=420)	315	92	13	0,047	[5]
Индонезия (n=104)	76	26	2	0,845	[6]
Индия (n=152)	114	46	2	0,263	[4]

Литература

1. Взаимосвязь полиморфизма генов *ACE* и *NOS3* с уровнем артериального давления у спортсменов Республики Саха (Якутия) / Е.Н. Местникова [и др.] // Педагогико-психологические и медико-биологические проблемы физической культуры и спорта. – 2018; – 18(2). – С. 244–251.

The relationship of *ACE* and *NOS3* gene polymorphism with the level of blood pressure in athletes of the Republic of Sakha (Yakutia) / E.N. Mestnikova [et al.] // Pedagogiko-psihologicheskie i mediko-biologicheskie problemy fizicheskoy kultury i sporta. – 2018. – №18(2). – P. 244–251.

2. Причины прогрессирования хронических вирусных гепатитов в Якутии / А.Р. Софронова [и др.] // Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова. Серия: Медицинские науки. – 2016. – №3 (4). – С. 92–95.

Causes of the progression of chronic viral hepatitis in Yakutia / A.R. Sofronova [et al.] // Vestnik Severo-Vostochnogo federal'nogo universiteta im. M.K. Ammosova. Seriya: Medicinskie nauki. 2016; 3 (4): 92–95 (In Russ.).

3. Caracul L [et al.] Acute-on-chronic liver disease enhances phenylephrine-induced endothelial nitric oxide release in rat mesenteric resis-

tance arteries through enhanced PKA, PI3K/AKT and cGMP signalling pathways. *Scientific Reports*. 2019; 9(1): 69–93. DOI: 10.1038/s41598-019-43513-y

4. Name P [et al.] Association Analysis of Polymorphisms in Genes Related to Oxidative Stress in South Indian Type 2 Diabetic Patients with Retinopathy. *Ophthalmic Genetics*. 2016; 37(1): 1–8. DOI: 10.3109/13816810.2014.895015

5. Huo P [et al.] Association between genetic polymorphisms of *ACE* & *eNOS* and diabetic nephropathy. *Molecular Biology Reports*. 2015; 42(1): 27–33. DOI: 10.1007/s11033-014-3736-y

6. Thaha M [et al.] Association of endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp polymorphism with end-stage renal disease. *Clin Nephrol*. 2008; 70: 144–154. DOI: 10.5414/CNP70144

7. Bae J [et al.] Association of endothelial nitric oxide synthase polymorphisms with coronary artery disease in Korean individuals with or without diabetes mellitus. *Exp Ther Med*. 2010; 1(4): 719–724. DOI: 10.3892/etm.00000111

8. Dong J, Ping Y, Wang Y, Zhang Y. The roles of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in diabetes mellitus and its associated vascular complications: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine*. 2018; 62(2): 412–422. DOI: 10.1007/s12020-018-1683-4

9. Heidari MM, Khatami M, Tahamtan Y. Molecular Analysis of rs2070744 and rs1799983

Polymorphisms of *NOS3* Gene in Iranian Patients With Multiple Sclerosis. *Basic Clin Neurosci*. 2017; 8(4): 279–284. DOI: 10.18869/bcn.8.4.279

10. Iwakiri Y. Nitric oxide in liver fibrosis: The role of inducible nitric oxide synthase. *Clinical and Molecular Hepatology*. 2015; 21(4): 319–325. DOI: 10.3350/cmh.2015.21.4.319

11. Zhang X [et al.] Nitric oxide inhibits autophagy and promotes apoptosis in hepatocellular carcinoma. *Cancer Science*. 2019; 110(3): 1054–1063. DOI: 10.1111/cas.13945

12. Li H [et al.] Regulation of endothelial-type NO synthase expression in pathophysiology and in response to drugs. *Nitric Oxide*. 2002; (7): 149–164

13. Jin L [et al.] Role and regulation of autophagy and apoptosis by nitric oxide in hepatic stellate cells during acute liver failure. *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2017; 37(11): 1651–1659. DOI: 10.1111/liv.13476

14. Tamemoto H, Ishikawa S-E, Kawakami M. Association of the Glu298Asp polymorphism of the *eNOS* Gene with ischemic heart disease in Japanese diabetic subjects. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2008; 80(2): 275–279. DOI: 10.1016/j.diabres.2007.12.019

15. Сайт «1000 геномов» [Электронный ресурс]: <http://www.internationalgenome.org/>

DOI 10.25789/YMJ.2019.68.05

УДК 615.033.1

Н.М. Краснова, А.И. Фёдоров, О.А. Суворова,
А.Ф. Кравченко, Н.Е. Евдокимова, Е.Н. Ефремова,
Я.В. Чертовских, Е.А. Алексеева, З.А. Рудых,
О.Л. Васильева, Д.А. Сычев

МЕЖЭТНИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЧАСТОТЫ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА *NAT2* У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

КРАСНОВА Наталия Михайловна – к.м.н., доцент МИ СВФУ им. М.К. Аммосова, krasnova14@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4811-7801>; **ФЁДОРОВ Афанасий Иванович** – к.б.н., с.н.с. НИЦ, доцент МИ СВФУ; **СУВОРОВА Ольга Александровна** – студентка ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России; **КРАВЧЕНКО Александр Федорович** – д.м.н., директор НПЦ «Фтизиатрия», <http://orcid.org/0000-0002-9210-3407>; **ЕВДОКИМОВА Надежда Евстафьевна** – врач фтизиатр НПЦ «Фтизиатрия»; **ЕФРЕМОВА Ефросинья Николаевна** – врач фтизиатр НПЦ «Фтизиатрия»; **ЧЕРТОВСКИХ Яна Валерьевна** – гл. внештат. клинический фармаколог МЗ РС(Я), зав. Центром персонализированной медицины «Республиканской больницы №3»; **АЛЕКСЕЕВА Елизавета Александровна** – биолог Центра персонализированной медицины РБ №3; **РУДЫХ Зоя Александровна** – врач Центра персонализированной медицины РБ №3; **ВАСИЛЬЕВА Ольга Лукинична** – врач клинический фармаколог Центра персонализированной медицины РБ №3; **СЫЧЕВ Дмитрий Алексеевич** – д.м.н., проф., член-корр. РАН, проф. РАН, ректор ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, <http://orcid.org/0000-0002-4496-3680>.

Изучены межэтнические различия частоты аллелей и распределения генотипов полиморфных вариантов гена *NAT2* (*NAT2**5, *NAT2**6, *NAT2**7) среди этнических групп якутов и русских с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания. В результате исследования впервые была установлена частота аллелей и генотипов полиморфных вариантов гена *NAT2* (*NAT2**5, *6, *7) среди этнических групп якутов и русских, постоянно проживающих на территории РС(Я). Определена распространенность полиморфизмов *NAT2**5, *6, *7 среди якутов и русских. Выявлены межэтнические различия частоты аллелей и распределения генотипов полиморфных вариантов rs1801280 (341T>C), rs1799930 (590G>A) и rs1799931 (857G>A) гена *NAT2*.

Ключевые слова: полиморфизм гена *NAT2*, туберкулез, нежелательные побочные реакции.

Ethnic differences in allele frequencies and genotype distribution for polymorphic variants of *NAT2* gene (*NAT2**5, *NAT2**6, *NAT2**7) were studied among ethnic Yakuts and Russians with newly diagnosed pulmonary tuberculosis. This is the first study to establish allele and genotype frequencies for polymorphic variants of *NAT2* gene (*NAT2**5, *6, *7) among ethnic Yakuts and Russians, who permanently reside in the Sakha Republic (Yakutia). Prevalence of *NAT2**5, *6, *7 polymorphisms among Yakuts and Russians was determined, and ethnic differences were shown in allele frequencies and genotype distribution of *NAT2* polymorphic variants: rs1801280 (341T>C), rs1799930 (590G>A), and rs1799931 (857G>A).

Keywords: *NAT2* gene polymorphism, tuberculosis, adverse drug effects.

В России индикаторы эффективности лечения туберкулеза (ТБ) остаются на низком уровне. По данным офици-

альной статистики, эффективный курс химиотерапии всех случаев лечения впервые выявленного ТБ органов ды-