

атаксия 1 типа / Т.С. Неустроева, Ф.А. Платонов, Д.Г. Тихонов // Проблемы виллюозного энцефаломиелита и других нейродегенеративных заболеваний: современные вопросы этиологии и патогенеза: тез. V Международной научно-практической конф., посв. 95-летию П.А. Петрова. – Якутск: ООО Издательский информационно-технический центр «Алаас», 2016. – С.68-71.

Neustroeva T.S. Violations of social contacts in patients with spinocerebellar ataxia type 1 / T.S. Neustroeva, F.A. Platonov, D.G. Tikhonov // Abstracts of the 5th International scientific-practical conference dedicated to the 95th anniversary of P.A. Petrov «The problem of the Vilyuisk encephalomyelitis and other neurodegenerative diseases: current issues of etiology and pathogenesis». Yakutsk: Publishing information centre Alaas. – 2016. – P. 68-71.

10. Новик А.А. Руководство по исследованию качества жизни в медицине / А.А. Новик, Т.И. Ионова. – СПб., 2002. – С.37-315.

Novik A.A. Guide to the study of quality of life in medicine / A.A. Novik, T.I. Ionova. – SPb, 2002.

– P. 37-315.

11. Платонов Ф.А. Спинocerebellарная атаксия в Якутии: автореф. дисс.... д-ра мед. наук / Ф.А. Платонов. – М., 2003. – 29 с.

Platonov F. A. Spinocerebellar ataxia in Yakutia: Abstract. Diss. MD / F.A. Platonov. – M., 2003. – 29 p.

12. Погосова Н.В. Качество жизни больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями: современное состояние проблемы / Н.В. Погосова, И.Х. Байчоров, Ю.М. Юферева // Кардиология. – 2010. – №4. HTML-версия документа от 23.11.2015.

Pogosova N. V. Quality of life in patients with cardiovascular diseases: current status of the problem / N.V. Pogosova, I.H. Baichorov, Yu.M. Yufereva // Cardiology. – 2010. – № 4/ HTML version of the document from 23.11.2015.

13. Iwasaki Yasushi, Mori Keiko, Ito Masumi. Presenile onset of spinocerebellar ataxia type 1 presenting with conspicuous psychiatric symptoms and widespread anti-expanded polyglutamine antibody- and fused in sarcoma antibody-immunopositive pathology //

Psychogeriatrics. Sep. 2015. vol. 15. p. 213-217.

14. Genetic fitness and selection intensity in a population affected with high-incidence spinocerebellar ataxia type 1. / F.A. Platonov, K. Tyryshkin, D.G. Tikhonov [et al.] // Neurogenetics. – 2016. – №17. – P.179-185, DOI 10-1007, s10048-016-0481-5.

15. Olivopontocerebellar atrophy in large Yakut kinship in Eastern Siberia / L.G. Golfard, M.P. Chumakov, P.A. Petrov [et al.] // Neurology. – 1989. – Vol.39, №11. – P.1527-1530.

16. Rakowicz M. Prospective study of motor cortex excitability and conduction of pyramidal tracts in the presymptomatic spinocerebellar ataxia type 1 gene carriers / M. Rakowicz, A. Sulek, A. Sobanska // Journal of the Neurological Sciences. – 2015. – Oct. Supplement 1, Vol. 357. – P.284-e284.

17. Ware J.E. SF-36 Physical and Mental Health Summary Scales: A User's Manual / J.E. Ware, M. Kosinski, S.D. Keller // The Health Institute, New England Medical Center. Boston, Mass. – 1994.

В.М. Николаев, Е.З. Засимова, Е.Н. Александрова, Л.В. Григорьева, Ф.Г. Иванова, А.С. Гольдерова, П.М. Иванов, С.А. Федорова

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ 481С>Т, 590G>АИ 857G>А ГЕНА ФЕРМЕНТА N-АЦЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ 2 (NAT2) С РИСКОМ РАЗВИТИЯ РАКА ЛЕГКОГО У ЯКУТОВ

УДК 577.21

Впервые проведен поиск полиморфных вариантов гена *NAT2*, ассоциированных с развитием рака легкого в Якутии. Выявлены генетические маркеры повышенного и пониженного риска развития рака легкого у якутов. Установлено, что маркерами повышенного риска развития рака легкого для якутов являются аллель *NAT2*857A* и генотип *NAT2*857G/A*, маркерами пониженного риска – аллель *NAT2*857G*, генотип *NAT2*857G/G*.

Ключевые слова: рак легкого, полиморфные варианты, N-ацетилтрансфераза-2.

For the first time the search of polymorphic options of a gene of *NAT2* associated with the development of lung cancer in Yakutia has been carried out. Genetic markers of the increased and lowered risk of development of lung cancer in the Yakuts have been revealed. It is established that markers of the increased risk of development of lung cancer for the Yakuts are the allele of *NAT2*857A* and a genotype of *NAT2*857G/A*, markers of the lowered risk – *NAT2*857G* allele, *NAT2*857G/G* genotype.

Keywords: lung cancer, polymorphic options, N-acetyltransferase-2.

ЯНЦ комплексных медицинских проблем:
НИКОЛАЕВ Вячеслав Михайлович – к.б.н., с.н.с., Nikolaev1126@mail.ru, **АЛЕКСАНДРОВА Елена Николаевна** – н.с., **ГОЛЬДЕРОВА Айталиа Семеновна** – д.м.н., гл.н.с.-зав. отделом, hoto68@mail.ru, **ИВАНОВ Петр Михайлович** – д.м.н., вед.н.с.-зав. лаб., проф. МИ ЯГУ; СВФУ им. М.К. Аммосова: **ГРИГОРЬЕВА Лена Валерьевна** – к.м.н., в.н.с., lenagrigor@rambler.ru, **ФЕДОРОВА Сардана Аркадьевна** – д.б.н., зав. лаб., sardaanafedorova@mail.ru; **ЗАСИМОВА Екатерина Захаровна** – зам. гл. врача по клинико-экспертной работе, Якутская больница ФГБУЗ ДВОМЦ ФМБА, ekazas15@yandex.ru; **ИВАНОВА Феодосия Гаврильевна** – к.м.н., зав. отд. Якутского республиканского онкологич.диспансера, feodossiaiv@inbox.ru.

Введение. В структуре онкологической заболеваемости в России рак легкого занимает лидирующие позиции – заболеваемость им за последние 20 лет увеличилась более чем в 2 раза и находится на первом месте среди злокачественных новообразований [5]. Ежегодно в России данная патология диагностируется более чем у 63 тыс. пациентов. Проблема рака легкого актуальна и для Якутии, где данная форма рака на протяжении многих лет занимает первое место в структуре онкопатологии. В Республике Саха (Якутия) с населением в 982,1 тыс. чел. ежегодно раком легкого заболевают более 300 чел. [2]. Острота проблемы

обусловлена не только высокой распространенностью заболевания, но и поздней диагностикой, так как на ранней стадии рак лёгких удаётся диагностировать не более чем в 15% случаев [4]. Это делает актуальным изучение всех факторов, причастных к канцерогенезу.

Рак легкого, как и многие онкологические заболевания, является многофакторным заболеванием, в развитии которого важную роль играют как внешнесредовые (курение, асбест, радон, мышьяк и др.), так и генетические факторы [7, 9, 11, 17]. Некоторыми авторами показано, что полиморфные варианты гена *NAT2* вносят вклад в

развитие онкологических заболеваний, в том числе и рака легкого [8, 13, 18].

Ген *NAT2* локализован на коротком плече хромосомы 8 (8p23.1), имеет протяженность около 9900 пн., содержит 2 экзона и преимущественно экспрессируется в печени и кишечнике [3, 14]. Фермент N-ацелилтрансфераза-2, кодируемый данным геном представляет собой белок с молекулярной массой 33 кД, состоящий из 290 аминокислотных остатков. Этот фермент, локализованный в цитоплазме, участвует в процессе биотрансформации ароматических аминов, которые присутствуют в окружающей среде. Источником ароматических аминов являются промышленные отходы, загрязнение воды, воздуха, и ряд лекарственных препаратов [3, 15].

Материал и методы. В настоящей статье произведено сравнительное изучение полиморфизма гена *NAT2* фермента ариламин N-ацетилтрансферазы у больных раком легкого и у здоровых лиц, жителей Республики Саха (Якутия). Нами обследовано 60 больных раком легкого, якутской этнической принадлежности, из которых 43 мужчины, 17 женщин, получавших лечение в Якутском республиканском онкологическом диспансере. Средний возраст пациентов составил $58,86 \pm 8,72$ года. Диагноз рака легкого был подтвержден морфологически, эндоскопически и рентгенологически. В качестве контроля исследована группа здоровых индивидов, соответствующая группе больных по этническому происхождению и полу, не имеющая онкологических заболеваний, состоящая из 60 чел. (средний возраст $49,5 \pm 5,75$).

Для выделения ДНК использовался стандартный метод фенольно-хлороформной экстракции [12]. Выделенную ДНК замораживали при температуре -400C до проведения генотипирования.

Анализ полиморфных вариантов 481C>T, 590G>A и 857G>A гена *NAT2* проводился с использованием методов полимеразной цепной реакции на амплификаторах «Терцик» компании «ДНК-технология» (Россия) и T100 компании «Bio-Rad» (США).

Для амплификации использовали реакционную смесь объемом 25 мкл, которая содержала 2,5 мкл 10xTaq-буфера (67 мМтрис-HCl (pH 8,8), 16,6 мМ (NH₄)₂ SO₄, 2,5 мМ MgCl₂, 0,01% Tween-20), 0,1 мкг геномной ДНК, смесь dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP по 150 мкМ каждого), 1 ед. ДНК-полимеразы

Thermusaquaticus (Синтол, Россия) и 5-10 пМ олигонуклеотидных праймеров (F 5'-GCTGGGTCTGGAAGCTCCTC; R 5'-TTGGGGTGATACATACACAAGGG). Режим амплификации был следующим: предварительная денатурация (940C, 5 мин.), 28 циклов амплификации: денатурация – 940C, 45 с.; отжиг – 600C, 45 с.; синтез – 720C, 45 с., завершающий синтез (720C, 7 мин.).

Для определения нуклеотидных замен проводили гидролиз амплифицированного фрагмента следующими рестриктазами: *KpnI* (481C>T), *VamHI* (857G>A), *TaqI* (590G>A) (рис. 1-3).

Продукты ферментативного гидролиза разделяли вертикальным электрофорезом в 7%-ном полиакриламидном геле с последующей обработкой бромистым этидием. Визуализацию бэндов и сканирование геля проводили в проходящем УФ-свете с помощью видеосистемы «DNAAnalyzer» (Москва).

При сравнении частоты генотипов использовался стандартный критерий χ^2 с поправкой Йейтса. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Относительный риск (OR) развития заболевания при определенном генотипе рассчитывался по стандартной формуле $OR = a/bxd/c$, где a и b – количество больных, имеющих и не имеющих мутантный генотип соответственно, и d, c – количество человек в контрольной группе, имеющих и не имеющих мутантный генотип. OR указан с 95%-ным доверительным интервалом.

Результаты. Проведенный нами анализ распределения частот аллелей и генотипов по трем полиморфным локусам 481C>T, 590G>A и 857G>A гена *NAT2* у больных и здо-

ровых индивидов якутской этнической принадлежности выявил ряд особенностей распределения частот аллелей исследуемого гена.

Частота аллеля *NAT2**481T в группе здоровых индивидов якутской этнической принадлежности составила 23,4%. Ранее было установлено, что распространенность данного полиморфного варианта в различных популяциях варьирует от 2-43% [16]. В популяциях Европы частота аллеля

KpnI

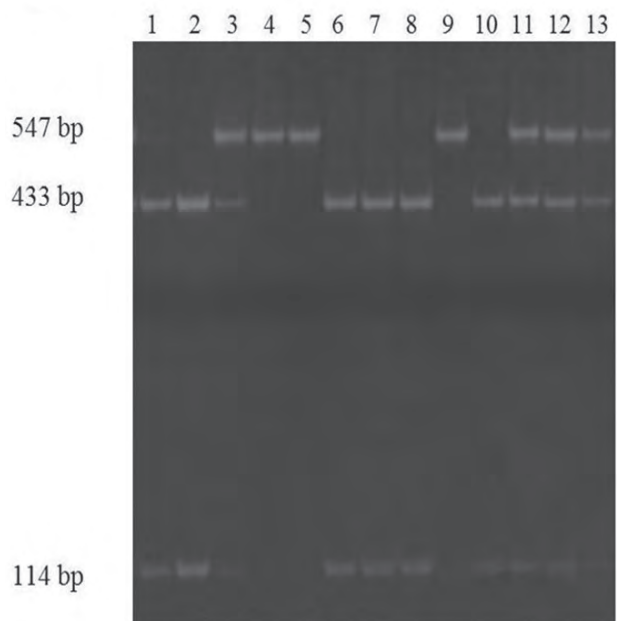


Рис.1. Обнаружение полиморфизма 481C>T гена *NAT2* методом ПДРФ-анализа (T/T – гомозиготный «дикий» генотип (4,5,9); T/C – гетерозиготный генотип (3,11,12,13); C/C – гомозиготный мутантный генотип (1,2,6,7,8,10))

TaqI

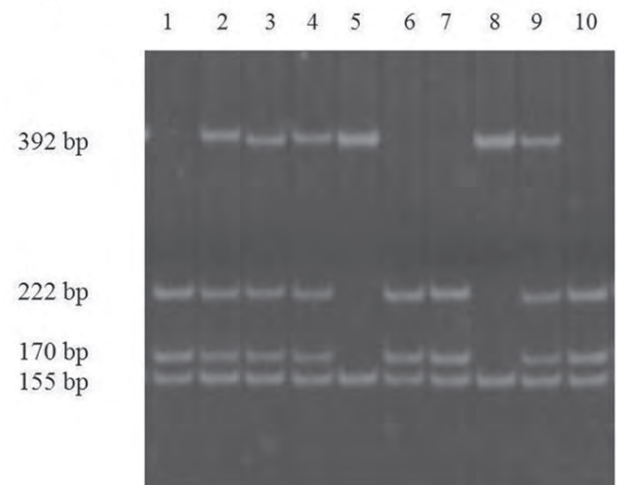


Рис.2. Обнаружение полиморфизма 590G>A гена *NAT2* методом ПДРФ-анализа (G/G – гомозиготный «дикий» генотип (1,6,7,10); A/G – гетерозиготный генотип (2,3,4,9); A/A – гомозиготный мутантный генотип (5,8))

$\chi^2=42,52$; $p=0,000...$; $OR=2,02$; 95% $CI=1,10 - 3,78$ и увеличение частоты встречаемости дикого NAT2*857A аллеля 35,8 и 21,7% соответственно $\chi^2=42,52$; $p=0,000...$; $OR=6,47$; 95% $CI=3,52 - 11,98$ (рис. 6).

В группе больных увеличивалась частота аллеля NAT2*857A (35,8%; $\chi^2=42,52$; $p=0,000...$; $OR=6,47$; 95% $CI=3,52-11,98$) и гетерозиготного генотипа NAT2*857G/A (71,6%; $\chi^2=13,43$; $p=0,0002$; $OR=0,23$; 95% $CI=0,10-0,53$), а частота гомозиготного генотипа уменьшалась NAT2*857G/G (28,4%; $\chi^2=10,95$; $p=0,0009$; $OR=3,79$; 95% $CI=1,66-8,78$) по сравнению с контролем 21,7; 36,6 и 60,1% соответственно.

Таким образом, при анализе ассоциаций полиморфных вариантов 481C>T, 590G>A и 857G>A гена NAT2 с развитием раком легкого в Якутии были установлены аллельные варианты и генотипы гена NAT2, вносящие вклад в развитие рака легкого у лиц якутской этнической принадлежности. Маркерами повышенного риска развития рака легкого у якутов являются аллель NAT2*857A и генотип NAT2*857G/A, маркерами пониженного риска – аллель NAT2*857G, генотип NAT2*857G/G.

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного задания Министерства образования и науки РФ №6.1766.2017/4.6 "Генетически изолированные популяции Восточной Сибири: эволюция генофонда, адаптация к холоду, распространенность некоторых наследственных и инфекционных заболеваний".

Литература

1. Ассоциация полиморфизма NAT2 с риском развития псориаза в Московской популя-

ции / Ж.М. Кожекбаева, О.А. Гра, В.С. Фадеев [и др.] // Молекулярная биология. – 2009. – Т.43 (1). – С. 62-76.

Association of polymorphism NAT2 with the risk of psoriasis in the Moscow population / Zh.M. Kozhekbaeva, O.A. Gra, V.S. Fadeev [et al.] // Molecular biology. – 2009. – V.43 (1). – P. 62-76.

2. Иванов П.М. Злокачественные новообразования в Якутии на рубеже веков / П.М. Иванов, М.И. Томский, П.Д. Каратаев. – Якутск: Сфера, 2008. – 268 с.

Ivanov P.M. Malignant neoplasms in Yakutia at the turn of the century / P.M. Ivanov, M.I. Tomsky, P.D. Karataev. – Yakutsk: Sphere, 2008. – 268 p.

3. Клиническая фармакогенетика / Сычев Д.А. [и др.] под ред. В.Г. Кукеса, Н.П. Бочкова. – М.: Гэотар-Медиа, 2007. – 248 с.

Clinical pharmacogenetics / Sychev D.A. [et al.], ed. V.G. Kukes, N.P. Bochkov. – M.: Geotar-Media, 2007. – 248 p.

4. Кривоногов Н.Г. Состояние альвеолярно-капиллярной проницаемости у пациентов раком легких по данным вентилационной пульмоноосцинтиграфии / Н.Г. Кривоногов, Н.Ю. Демьяненко, Е.Л. Дубоделов // Современные наукоемкие технологии. – 2008. – № 5. – С. 65-66.

Krivanogov N.G. The condition of alveolar-capillary permeability in patients with lung cancer according to ventilation pulmonary scintigraphy / N.G. Krivanogov N.Yu. Dem'yanenko E.L. Dubodelov // Modern high technologies. – 2008. – №5. – P. 65-66.

5. Трахтенберг А.Х. Клиническая онкопульмонология / А.Х. Трахтенберг, В.И. Чистов. – М.: Медицина, 2000. – 379 с.

Trakhtenberg A.G. Clinical oncology / A.Kh. Trakhtenberg, V.I. Chistov. – M.: Medicina, 2000. – 379 p.

6. Arias I. Lecompte N. Visbal L. [et al.] NAT2 gene polymorphisms in three indigenous groups in the Colombian Caribbean Coast region, Colombia Médica. – 2014. – Vol. 45(4). – P. 148-153.

7. Fraumeni J.F. Jr. Respiratory carcinogenesis: an epidemiologic appraisal, Journal of the National Cancer Institute. – 1975. – Vol. 55(5). – P.1039-1046.

8. Garcia-Closas M. Malats N. Silverman D. [et al.]. NAT2 slow acetylation, GSTM1 null genotype, and risk of bladder cancer: results from the Spanish Bladder Cancer Study and meta-analyses, The Lancet. – 2005. – Vol. 366(9486).

– P.649–59.

9. Ginsberg R.J. Vokes E.E. Rosenzweig K. Non-small cell lung cancer. Cancer principles and practice of oncology. Ed. V.T. Jr. DeVita, S. Hellman, S.A. Rosenberg. 6th ed. Philadelphia, Lippincott Williams Wilkins, 2001. – P. 925-983.

10. Henry J. L. Chun-Ya H. Bruce K. L. [et al.]. Slow Acetylator Mutations in the Human Polymorphic N-acetyltransferase Gene in 786 Asians, Blacks, Hispanics, and Whites: Application to Metabolic Epidemiology, The American Journal of Human Genetics. – 1993. – Vol. 52. – P.827-834.

11. Janerich D.T. Thompson W.D. Varela L.R. [et al.]. Lung cancer and exposure to tobacco smoke in the household, The New England Journal of Medicine. – 1990. – Vol. 323(10). – P.632-636.

12. Johns M. Paulus-Thomas J. Purification of human genomic DNA from whole blood using sodium perchlorate in place of phenol, Analytical Biochemistry. – 1989. – Vol. 80(2). – P. 276-278.

13. Katoh T. [et al.]. A pilot study testing the association between N-acetyltransferases 1 and 2 and risk of oral squamous cell carcinoma in Japanese people, Carcinogenesis. – 1998. – Vol. 19. – P.1803–1807.

14. Kozhekbaeva Zh.M. Glotov A.S. Gra O.A. [et al.]. Analysis of NAT2 Point Mutations with Biological Microchips, Molecular Biology. – 2007. – Vol. 41(4). – P.656–664.

15. Pompeo F. Brooke E. Kawamura A. Mushtaq A. Sim E. The pharmacogenetics of NAT: structural Aspects, Pharmacogenomics. – 2002. – Vol. 3(1). – P.19-30.

16. Rabstein S. Unfried K. Ranft U. [et al.]. Variation of the N-acetyltransferase 2 gene in a Romanian and a Kyrgyz population, Cancer. Epidemiol. Biomarkers. Prev. – 2006. – Vol. 15(1). – P.138-141.

17. Steinmaus C. Moore L.E. Shipp M. Kalman D. Rey O.A. Biggs M.L. Hoppenhayn C. Bates M.N. Zheng S. Wiencke J.K. Smith A.H. Genetic polymorphisms in MTHFR 677 and 1298, GSTM1 and T1, and metabolism of arsenic, Journal Toxicol Environ Health. – 2007. – Vol. 70(2). – P.159-70.

Wikman H. Thiel S. Jager B. [et al.]. Relevance of N-acetyltransferase 1 and 2 (NAT1, NAT2) genetic polymorphisms in non-small cell lung cancer susceptibility. Pharmacogenetics. – 2001. – Vol. 11. – P.157–68.

В.Л. Осаковский, Т.М. Сивцева

ГЕНОМ И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗДОРОВЬЕ ЯКУТСКОГО ЭТНОСА

УДК 575.113(=512.157)

В статье представлен обзор результатов исследований этногенеза народов Сибири в аспекте генетического здоровья якутского этноса, адаптированного к экстремальным перепадам сезонных изменений высокоширотной зоны. В последние годы популяция испытывает увеличение груза болезней с метаболическими нарушениями. Основная причина роста негативного груза нарушений здоровья современной якутской популяции – последнее генетического дрейфа и консерватизма генома.

Ключевые слова: этногенез, якутская популяция, геном, метаболические нарушения, нейродегенеративные заболевания.

The article reports the results of studies of the ethnogenesis of the peoples of Siberia in the aspect of the genetic health of the Yakut ethnos, adapted to the extreme changes in seasonal changes in the high-latitude zone. In recent years, the population is experiencing an increase in the burden of diseases with metabolic disorders. The main reason for the growth of the negative load of health disorders of the modern Yakut population is the consequence of genetic drift and conservatism of the genome.

Keywords: ethnogenesis, Yakut population, genome, metabolic disorders, neurodegenerative diseases.

НИИ здоровья СВФУ им. М.К. Аммосова: **ОСАКОВСКИЙ Владимир Леонидович** – к.б.н., зав. лаб., iz_labgene@mail.ru, **СИВЦЕВА Татьяна Михайловна** – к.б.н., с.н.с., tm.sivtseva@s-vfu.ru.