

На правах рукописи

**КОСЯНКОВА  
ТАТЬЯНА ВЛАДИМИРОВНА**

**ГЕНЫ СИНТАЗ ОКСИДА АЗОТА: ПОЛИМОРФИЗМЫ  
В СИБИРСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ  
И ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ**

03.00.15 – генетика

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**Томск – 2002**

Работа выполнена в лаборатории популяционной генетики НИИ медицинской генетики Томского научного центра Сибирского отделения РАМН, г. Томск

Научный руководитель: академик РАМН,  
доктор медицинских наук, профессор  
**Пузырев Валерий Павлович**

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор  
**Назаренко Сергей Андреевич**

кандидат медицинских наук  
**Салюкова Ольга Александровна**

Ведущая организация: Институт цитологии и генетики  
СО РАН, г. Новосибирск

Защита состоится 11 июня 2002 года на заседании диссертационного совета К 001.045.01 при НИИ медицинской генетики Томского научного центра СО РАМН по адресу: 634050 г. Томск, Набережная р. Ушайки, 10

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН, г. Томск.

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» «\_\_\_\_\_» 2002 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор биологических наук

А.Н. Кучер

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность проблемы.

В настоящее время в научном мире отмечается большой интерес к группе генов синтаз оксида азота (NOS). Это обусловлено той биологической ролью, которую молекула оксида азота (NO) играет в функционировании различных систем организма человека. Установлено ее участие в регуляции центральной нервной и иммунной систем, в работе желудочно-кишечного тракта, органов дыхания и мочеполовой системы [Волин и др., 1998; Зенков и др., 2000; Luscher, 1994, 1999; Zini et al., 1996; Rudic et al., 1999]. Присутствие оксида азота в высоких концентрациях в организме человека обнаруживает цитостатическую/цитотоксическую активность этой молекулы [Hausladen et al., 1998]. Кроме того, показано влияние NO на иницирование и протекание процесса апоптоза [Wang et al., 1997].

Регуляторное действие этой молекулы в организме обеспечивается тремя изоформами синтаз оксида азота (NOS): нейрональной (nNOS), индуцибельной (iNOS) и эндотелиальной (eNOS). Основное различие между изоформами состоит в количестве синтезируемого NO, продолжительности синтеза, индуцируемости и тканевой специфичности [Sessa, 1994; Fostermann et al., 1998; Fischmann et al., 1999]. Ферменты семейства NOS являются продуктами экспрессии соответствующих генов *NOS1*, *NOS2* и *NOS3*. Продуцируемый геном *NOS1* оксид азота известен как нейротрансмиттер нервных синапсов, а также как регулятор физиологических процессов дыхания [Lundberg et al., 1996]. Генетические данные показывают значимость гена *NOS1* в генезисе бронхиальной гиперчувствительности при астме [Grasemann et al., 1999]. Полиморфные варианты гена *NOS2* рассматриваются в патогенезе сахарного диабета [Warpeha et al., 1999], аутоиммунных и неопластических заболеваний [Nussler et al., 1993], а также подверженности к инфекции [Adler et al., 1995; Lundberg et al., 1996; Kelly et al., 1999; Xu et al., 2000]. NO, вырабатываемый эндотелиальной синтазой оксида азота – eNOS, кодируемой геном *NOS3*, является самым мощным из известных эндогенных вазодилататоров [Ванин, 1998; Гомазков, 2000; Wilcox et al., 1997] и его связь с сердечно-сосудистой патологией не вызывает сомнений [Степанов и др., 1998; Чистяков и др., 2000; Ковалев, 2001; Sessa, 1994; Warpeha et al., 1999; Hingorani et al., 1999; Guzik et al., 2001].

Таким образом, пожалуй, ни одно из достижений фундаментальной биологии не нашло столь быстрого приложения к практической медицине, как результаты исследований NO. Однако, анализ литературы показывает множество пробелов в наших современных знаниях по некоторым аспектам исследований генов NOS. В частности, в литературе практически отсутствуют данные о популяционном распространении полиморфизмов генов NOS, их эволюционной специфике, временной динамике и географической изменчивости. Кроме того, данные о роли полиморфизмов генов NOS для сердечно-сосудистых заболеваний представлены лишь ассоциациями на уровне некоторых нозологических форм, а не отдельных патогенетически значимых признаков.

**Цель исследования:** Охарактеризовать популяционно-генетическую изменчивость аллельных вариантов генов синтаз оксида азота и их патогенетическую значимость для сердечно-сосудистых заболеваний человека.

**Задачи исследования:**

1. Изучить генетическое разнообразие населения Сибири (русские, буряты, тувинцы, якуты) по полиморфным вариантам генов *NOS1*, *NOS2*, *NOS3*.
2. Оценить межпопуляционную и межэтническую гетерогенность по полиморфным вариантам генов *NOS* народонаселения Сибири.
3. Изучить полиморфизмы генов *NOS1*, *NOS2* и *NOS3* у больных с сердечно-сосудистой патологией (коронарный атеросклероз, эссенциальная гипертензия, идиопатическая гипертрофическая кардиомиопатия, патология проводящей системы сердца).
4. Исследовать ассоциации полиморфных вариантов генов синтаз оксида азота с клиническими проявлениями сердечно-сосудистой патологии.
5. Оценить роль генов *NOS* в фенотипической изменчивости количественных признаков у здоровых жителей Сибири и больных сердечно-сосудистой патологией.

**Научная новизна:** Впервые на территории Сибири проведено исследование генетического разнообразия генов синтаз оксида азота в расово и этнически различных популяциях. Получены новые знания об особенностях структуры генофонда коренных (тувинцы, буряты, якуты) и пришлых (русские жители Томской области) популяций Сибири. Впервые оценена роль генов *NOS* в изменчивости комплекса количественных, патогенетически значимых признаков у жителей г. Томска. Исследованные в работе полиморфизмы С/Т *NOS1*, G954С *NOS2*, С691Т и С774Т гена *NOS3* ранее не были изучены в мировом народонаселении в связи с их ролью в детерминации сердечно-сосудистой патологии.

Впервые в России проведено исследование взаимосвязи полиморфных вариантов генов *NOS* с распространенными формами сердечно-сосудистой патологии (коронарный атеросклероз, эссенциальная гипертензия, идиопатическая гипертрофическая кардиомиопатия и патология проводящей системы сердца). Установлена взаимосвязь полиморфных вариантов генов *NOS* с клиническими проявлениями сердечно-сосудистой патологии.

**Практическая значимость:** Полученная информация о популяционном разнообразии полиморфизма генов *NOS* может быть использована в эволюционной геномике для анализа структуры, состояния и тенденции развития генофондов коренных и пришлых популяций Сибири, а также в генетической эпидемиологии широко распространенных заболеваний. Сведения о вкладе молекулярно-генетических маркеров в формирование клинического полиморфизма сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений могут быть учтены при формировании групп риска, организации профилактических мероприятий. Анализ прогностической значимости полиморфных вариантов генов в семьях может быть основой для осуществления молекулярно-генетического тестирования подверженности к данным группам патологии, служить ориентиром в выборе вида лекарственной терапии (генотип-специфическая терапия).

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Для этнических групп Сибири характерен широкий диапазон изменчивости частот аллельных вариантов С691Т, G894С гена *NOS3*, транзиции С/Т в гене *NOS1* и полиморфизма G954С гена *NOS2*. Наибольшая гетерогенность по частоте

там проанализированных полиморфизмов генов *NOS* показана для пришлого русского населения Сибири (г. Томск, пос. Каргала).

2. По полиморфизму генов *NOS* среди изученных этно-территориальных групп наиболее близки друг к другу оказались тувинцы с бурятами и русскими, наиболее отдалены друг от друга буряты и якуты.

3. Полиморфизмы G894T гена *NOS3*, G954C гена *NOS2* и транзиция C/T в гене *NOS1* могут служить генетическими маркерами развития дислипидемий у больных коронарным атеросклерозом.

4. Генетическими маркерами подверженности к эссенциальной гипертензии могут быть полиморфные варианты C/T гена *NOS1*, G954C гена *NOS2* и C774T гена *NOS3*.

**Апробация работы:** Основные материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на V научной конференции НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН (Томск, 2000 г.), конференции молодых ученых СО РАМН «Фундаментальные и прикладные проблемы современной медицины» (Новосибирск, 2000 г.), международной конференции «Биоразнообразие и динамика экосистем в Северной Евразии» (Новосибирск, 2000 г.), межлабораторном научном семинаре НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН (Томск, 2001 г., 2002 г.), Втором конгрессе молодых ученых и специалистов "Науки о человеке" (Томск, 2001 г.), межрегиональной научно-практической конференции "Здоровье детей - наше будущее" (Томск, 2001 г.), региональной научно-практической конференции "Проблемы детской кардиологии" (Томск, 2001 г.), 10 международном конгрессе по генетике человека ICHG (Вена, Австрия, 2001 г.), научно-практической конференции "ДНК-диагностика в медицине" (Новосибирск, 2001 г.), Второй Всероссийской школе по экологической генетике "Симбиогенетика и эволюция" (Санкт-Петербург, 2001 г.), IV Международном Всесибирском инновационном форуме (Томск, 2001 г.), Третьем конгрессе молодых ученых и специалистов "Науки о человеке" (Томск, 2002 г.), конференции молодых ученых СО РАМН (Новосибирск, 2002 г.).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 9 работ.

**Структура и объем диссертации:** Диссертационная работа изложена на 140 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, собственных результатов и их обсуждения, заключения и выводов. Данные проиллюстрированы 26 таблицами, 16 рисунками. Библиографический указатель включает 212 источников, из них 98 работ отечественных авторов.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено в популяциях разного этнического состава и в различных группах больных сердечно-сосудистой патологии (ССП). Коренное население Сибири представлено тремя этническими группами (тувинцы, буряты, якуты), в то время как пришлое - русскими жителями Томской области: г.Томск и пос.Каргала (табл. 1). В Республике Туве проведено популяционно-генетическое изучение населения двух поселков: Кунгуртуг - расположен на юго-востоке Тувы и Тоора-Хем – на северо-востоке. В Республике Бурятия - трех популяций: одна -

городская (Улан-Удэ) и две сельские – Хурамша, Курумкан. Якутский этнос представлен жителями пос. Чэриктэй Усть-Алданского улуса.

Таблица 1.

**Этнолингвистическая и антропологическая характеристика  
исследованных популяционных выборок\***

Националь-ность	Географическая локализация	N	Расовая принадлеж-ность	Антропо-логический тип	Языковая семья	Языковая группа
Русские, Сибирь	г.Томск	134	Европеоиды	Восточно-европейский	Индо-европейская	Славянская
	пос. Каргала, Томская обл.	66				
Буряты, Республика Бурятия	г.Улан-Удэ	60	Монголоиды	Централь-но-Азиатский	Алтайская	Монгольская
	пос.Курумкан	90				
	пос. Хурамша	60				
Якуты, Республика Саха, (Якутия)	пос. Чэриктэй	80				Тюркская
Тувинцы, Республика Тува	пос. Кунгуртуг	90				
	пос.Тоора-Хем	120				

Примечание. \*Данные приведены по: Народы России: энциклопедия, 1994. N- количество обследованных.

Для оценки функциональной значимости генов *NOS* были изучены группы больных с эссенциальной гипертензией (ЭГ (n=130)), идиопатической гипертрофической кардиомиопатией (ИГКМП (n=25)), коронарным атеросклерозом (КА (n=50)) и пациенты с нарушением проводимости сердца (НПС (n=158)). Клинико-генеалогическое обследование пациентов с ЭГ, ИГКМП, КА было проведено в НИИ Кардиологии ТНЦ СО РАМН (директор – академик РАМН Р.С.Карпов). Пациенты с НПС были обследованы на кафедре внутренних болезней №1 Красноярской Государственной медицинской академии (ректор – академик РАЕН В.И. Прохоренков). Генеалогические данные больных устанавливали на основании опросника, антропометрические и клинические показатели - по истории болезни.

Для всех обследуемых с НПС проводился стандартный набор общеклинических исследований, а также электрокардиографию и эхокардиоскопию. У больных с ЭГ было проведено суточное мониторирование артериального давления, на основе которого определяли средние, максимальные и минимальные параметры систолического и диастолического АД (САД, ДАД), гипертоническую нагрузку в различное время суток, пульсовое давление, суточный индекс АД, скорость и величину утреннего подъема САД и ДАД. Наличие атеросклероза коронарных артерий у пациентов с КА было подтверждено ангиографическим обследованием. У большинства больных минимальная степень сужения артерий соответствовала II степени поражения по общепринятой классификации стенозов. Больные диабетом и пациенты, получавшие липид-понижающие препараты в исследование не включались. Средний возраст больных в обследованных группах составил 48,7±8,9 года.

Контрольную группу (n=130) составляли индивиды, сходного с больными возраста, которые не имели клинических проявлений сердечно-сосудистых нарушений. Данная выборка была сформирована в ходе эпидемиологических исследований факторов риска развития ишемической болезни сердца (ИБС) в г.Томске, проводимых совместно с кафедрой факультетской терапии СГМУ (ректор – член-корр. РАМН, профессор В.В. Новицкий). Для анализа ассоциаций использовали количественные признаки, включая антропометрические показатели, биохимические, показатели липидного спектра крови и уровня артериального давления (АД).

Для исследования использовали образцы ДНК-банка НИИ МГ.

Типирование полиморфизмов генов NOS. Исследовано 6 полиморфных вариантов 3 генов синтаз оксида азота (табл. 2). Две исследованные мутации локализованы в регуляторных областях генов – в промоторах – G-954C (*NOS 2*), C-691T (*NOS 3*); две нуклеотидные замены (C774T, G894T – *NOS3*), одна транзиция C/T в гене *NOS1* и одна – вариабельность по числу tandemных повторов (VNTR) в гене *NOS3*.

Таблица 2.

### Характеристика исследованных полиморфизмов генов NOS

Ген	Полиморфизм	Локализация в гене	Фермент рестрикции
<i>NOS 1</i>	C/T	Экзон 18	BsmF I
<i>NOS 2</i>	G-954C	Промотор	AlwN I
<i>NOS 3</i>	C-691T	Промотор	Bso I
	C774T	Экзон 6	Fok I
	G894T	Экзон 7	FriO I
	VNTR	Интрон 4	-

Изучение полиморфных вариантов исследуемых генов проводили с помощью амплификации соответствующих участков генома методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, описанных в геномной базе данных (GDB) и литературе [Wang et al., 1999; Grasmann et al., 1999; Novoradosky et al., 1999; Guzik et al., 2001]. Генотипирование полиморфизмов осуществляли путем ПДРФ-анализа продуктов амплификации соответствующими рестриктазами и последующим разделением продуктов рестрикции в 3% агарозном или 6% полиакриламидном гелях. Фрагменты ДНК окрашивали бромистым этидием и визуализировали в УФ-свете с применением компьютерной видеосъемки на приборе “UV-VIS Imager-II” (США).

Биометрические и генетико-статистические методы. При описании генетической структуры использовали следующие методы: тестирование на соответствие распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга и сравнение частот аллелей между группами проводили точным тестом Фишера [Вейр, 1995]; оценки теоретической гетерозиготности и генетические расстояния между популяциями – по методу Nei [1987]. В работе использовали стандартные алгоритмы биометрии, включая расчет и сравнение основных статистик распределений (средние, дисперсии, асимметрии, эксцессы), факторный, дисперсионный и линейный корреляционно-регрессионный анализ [Лакин, 1968; Леонов, 1990; Гланц, 1998]. Для выделения интегральных факторов, обуславливающих общую изменчивость комплек-

са анализируемых признаков, использовали метод главных компонент [Ким, 1989].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Популяционно-генетическое разнообразие по полиморфизмам генов *NOS*

Для большинства изученных полиморфизмов распределение генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга (РХВ). Отклонение было показано для варианта G954C гена *NOS2* (табл. 3) и C774T гена *NOS3* в пос. Тоора-Хем ( $\chi^2=8,583$ ,  $p<0,01$ ) за счет недостатка гетерозигот (наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность составили 0,285 и 0,386 соответственно). Показано отклонение от РХВ для полиморфизма C691T в Тоора-Хем ( $\chi^2=33,688$ ,  $p<0,001$ ), Кунгуртуге ( $\chi^2=6,537$ ,  $p<0,05$ ), Томске ( $\chi^2=43,758$ ,  $p<0,001$ ) и во всех выборках бурят ( $p<0,001$ ), но за счет избытка гетерозигот. Уровни наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности были соответственно равны у тувинцев в пос. Кунгуртуг – 0,517 и 0,405; Тоора-Хем – 0,745 и 0,483; у русских в г.Томске – 0,783 и 0,498; у бурят в г. Улан-Удэ – 0,728 и 0,499; в пос. Хурамша – 0,750 и 0,497 и пос. Курумкан - 0,787 и 0,490. Наблюдаемые отклонения можно рассматривать как возникшие в силу случайных причин. С другой стороны, случаи достоверного отклонения распределения от ожидаемого могут отражать специфику популяционно-генетических процессов в популяциях, которые могут быть связаны как с характеристиками генетико-демографической структуры изученных этнических групп, так и с функциональной значимостью данных локусов – гены *NOS* вовлечены в патогенез многих заболеваний и полиморфизмы этих генов не могут являться селективно нейтральными вариантами.

Частота аллеля С полиморфизма С/Т гена *NOS1* была минимальной среди изученных популяций у бурят в г. Улан-Удэ (75%), и максимальной у пришлого населения г.Томска - 93% (табл. 3). Частоты аллеля G полиморфизма G-954C гена *NOS2* находились в диапазоне от 73% у бурят до 96% в г. Томске.

Широким диапазоном изменчивости частот аллелей характеризовались полиморфизмы в гене *NOS3*. Наибольшее разнообразие показано для полиморфизма промоторной части гена – C691T (табл. 4). Как было отмечено выше, отклонение от РХВ по данному полиморфизму было показано для всех изученных популяций, кроме сельского населения Томской области (пос. Каргала) и коренных жителей Республики Саха (Якутия) – пос. Чэриктэй. При этом наибольшая частота распространения аллеля C691 показана в пос. Каргала (85%) и пос. Чэриктэй (93%). В Каргале также показана самая высокая, среди изученных популяций, частота аллеля C774 гена *NOS3* - 88%. Наибольшие различия в частоте аллелей показаны между пришлым населением Сибири (г. Томск, пос. Каргала).

Томские популяции (городской и сельский населенные пункты) характеризуются нестабильной популяционной структурой, где ведущим фактором популяционной динамики выступают миграционные процессы [Кучер и др. 1994, 1999]. При этом среди пришлых популяций пос. Каргала занимает особое место, для которого при высоком индексе миграций показаны относительно низкий уровень разнообразия фамилий, высокая случайная изонимия и гетерогенность по национальному составу [Кучер, 2001].

**Полиморфизм генов *NOS1* и *NOS2* у населения Сибири**

Популяция	Генотип	N.O.	N.E.	$\chi^2$ d.f.=1	Частота аллеля	$h_{obs} \pm s.e.$ $h_{exp} \pm s.e.$	D
<i>Транзиция C/T гена NOS1</i>							
Русские, г.Томск	CC	97	96,45	0,787 $p > 0,05$	C=0,936	$h_{obs}=0,109 \pm 0,029$ $h_{exp}=0,119 \pm 0,028$	-0,084
	CT	12	13,11				
	TT	1	0,45				
Якуты, Чэриктэй	CC	54	52,0	2,042 $p > 0,05$	C=0,806	$h_{obs}=0,262 \pm 0,049$ $h_{exp}=0,312 \pm 0,038$	-0,159
	CT	21	24,99				
	TT	5	3,0				
Тувинцы, Тоора-Хем	CC	49	51,25	1,971 $p > 0,05$	C=0,776	$h_{obs}=0,400 \pm 0,053$ $h_{exp}=0,347 \pm 0,352$	+0,152
	CT	34	29,51				
	TT	2	4,25				
Буряты, Улан-Удэ	CC	34	33,38	0,198 $p > 0,05$	C=0,758	$h_{obs}=0,344 \pm 0,062$ $h_{exp}=0,366 \pm 0,041$	-0,058
	CT	20	21,24				
	TT	4	3,38				
<i>Полиморфизм G-954C гена NOS2</i>							
Томск	GG	119	119,16	0,169 $p > 0,05$	G=0,964	$h_{obs}=0,070 \pm 0,022$ $h_{exp}=0,067 \pm 0,021$	+0,036
	GC	9	8,68				
	CC	0	0,16				
Чэриктэй	GG	67	66,07	1,013 $p > 0,05$	G=0,886	$h_{obs}=0,178 \pm 0,041$ $h_{exp}=0,200 \pm 0,037$	-0,109
	GC	15	16,85				
	CC	2	1,07				
Тоора-Хем	GG	102	98,10	<b>16,863</b> <b><math>p &lt; 0,001</math></b>	G=0,904	$h_{obs}=0,108 \pm 0,028$ $h_{exp}=0,173 \pm 0,030$	-0,374
	GC	13	20,80				
	CC	5	1,10				
Улан-Удэ	GG	30	31,14	0,586 $p > 0,05$	G=0,732	$h_{obs}=0,431 \pm 0,065$ $h_{exp}=0,391 \pm 0,038$	+0,100
	GC	25	22,72				
	CC	3	4,14				

Примечание. N.O.- наблюдаемая численность генотипов; N.E. -ожидаемая численность генотипов; критерий  $\chi^2$  использован для оценки соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому исходя из равновесия Харди-Вайнберга; d.f. – число степеней свободы;  $h_{obs} \pm s.e.$  и  $h_{exp} \pm s.e.$ - соответственно наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность с ошибкой; D - относительное отклонение наблюдаемой гетерозиготности от ожидаемой.

На протяжении нескольких поколений в томских популяциях наблюдается определенная динамика в отношении интенсивности и направленности миграционных процессов, изменении брачной структуры, обусловленные, скорее всего, изменением политической ситуации в России и социально-экономическим развитием данной территории.

Частоты распространения аллеля В VNTR полиморфизма оказались близки для русских жителей Сибири (84%) и русских Волго-Уральского региона (85%) [Shagisultanova et al., 2001]. Максимальные значения были у бурят в Улан-Удэ - 94%. Аллель G894 в изученных популяциях встречался с частотой 57% в г. Томске и Тоора-Хеме у тувинцев, 65% - в Каргале, Курумкане, Кунгуртуге и Чэриктэй, достигая максимальных значений в бурятских популяциях – в Улан-Удэ (73%) и Хурамше (76%). Во всех исследованных популяциях преобладал аллель

G894 над альтернативным аллелем, что согласуется с данными литературы: его частота в г. Москве составляет 78% [Чистяков и др., 2001].

Таблица 4.

**Распределение генотипов и частот аллелей полиморфных вариантов гена NOS3 у населения Сибири**

Географическая локализация		C774T			C-691T			G894T			VNTR		
Томск	N.O.	CC	CT	TT	CC	CT	TT	GG	GT	TT	AA	AB	BB
		Частота аллеля	C=0,73			C=0,53			G=0,57			B=0,84	
	$\chi^2$	0,012			43,758**			1,546			1,612		
Каргала	N.O.	48	14	0	38	12	2	29	28	6	3	15	48
	Частота аллеля	C=0,88			C=0,85			G=0,65			B=0,84		
	$\chi^2$	1,004			0,671			0,285			1,496		
Чэриктэй	N.O.	40	31	9	55	8	0	29	41	11	1	16	66
	Частота аллеля	C=0,69			C=0,94			G=0,611			B=0,89		
	$\chi^2$	0,620			0,146			0,341			0,000		
Тоора-Хем	N.O.	75	36	15	25	85	4	33	45	20	3	19	93
	Частота аллеля	C=0,74			C=0,59			G=0,57			B=0,89		
	$\chi^2$	8,583*			33,688**			0,416			2,495		
Кунгур туг	N.O.	55	32	8	39	44	2	36	27	8	0	12	46
	Частота аллеля	C=0,75			C=0,71			G=0,70			B=0,90		
	$\chi^2$	1,107			6,537			0,701			0,772		
Курум кан	N.O.	33	41	9	14	63	3	32	35	14	1	11	72
	Частота аллеля	C=0,64			C=0,57			G=0,61			B=0,92		
	$\chi^2$	0,506			29,316**			0,669			0,577		
Хурамша	N.O.	21	18	11	9	42	5	36	19	5	1	7	44
	Частота аллеля	C=0,60			C=0,53			G=0,76			B=0,91		
	$\chi^2$	3,125			14,434**			1,110			1,147		
Улан-Удэ	N.O.	35	19	5	7	43	9	32	22	5	1	5	53
	Частота аллеля	C=0,75			C=0,48			G=0,72			B=0,94		
	$\chi^2$	1,017			12,446**			0,185			3,417		

Примечание. N.O.- наблюдаемая численность генотипов; критерий  $\chi^2$  использован для оценки соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому исходя из равновесия Харди-Вайнберга; d.f.=1 во всех случаях; \*P<0,05; \*\*P<0,001.

Тувинские популяции можно отнести к числу немногих этнических групп Сибири, которые обследованы в отношении особенностей демографической структуры и большого числа разнообразных маркерных систем – фамилий, иммуно-биохимических локусов [Пузырев и др., 1999; Кучер и др., 2000; Санчат и др., 2000], молекулярно-генетических маркеров, включая полиморфизм митохондриального генома [Голубенко, 1998, 2001], ядерных аутосомных локусов [Косянкова и др., 2000; Одинокова и др., 1997] и Y-хромосомы [Степанов и др., 2000; 2001].

Генетико-популяционные исследования в Бурятии были проведены по изменчивости некоторых аутосомных локусов и мтДНК [Одинокова и др., 1997; Еремينا, 1999; Голубенко и др., 2000].

Наибольшие межэтнические различия в частоте распространения изученных полиморфизмов генов *NOS* были показаны для варианта С691Т гена *NOS3* ( $\chi^2=101,768$ ) (табл. 5), где коэффициент генной дифференциации составил 14%, а наибольшая гетерогенность по частоте аллеля С691 в пределах этнических групп показана для пришлого русского населения ( $\chi^2 =52,782$ ) (табл. 6). Генетическое разнообразие этнических групп по генам *NOS* было минимально по VNTR полиморфизму гена *NOS3* (0,201) и максимально по варианту G894Т этого гена (0,472) (табл. 5).

Таблица 5.

**Показатели генного разнообразия в изученных этнических группах**

Ген	Полиморфизм	$H_T$	$H_s$	$G_{ST}$	$\chi^2$ (d.f.)
<i>NOS1</i>	С/Т	0.2962	0.2865	0.0327	31.594 (3)***
<i>NOS2</i>	G954C	0.2230	0.2083	0.0656	40.557 (3)***
<i>NOS3</i>	C774Т	0.3951	0.3941	0.0025	1.4514 (3)
	C691Т	0.4628	0.4000	0.1376	<b>101.768 (3) ***</b>
	VNTR	0.2014	0.1996	0.0087	5.883 (3)
	G894Т	0.4720	0.4632	0.0186	10.723 (3) *
	$\Sigma$	0.3419	0.3253	0.0486	191.979 (18) ***

Примечание.  $H_T$  – общее генетическое разнообразие;  $H_s$  – генетическое разнообразие внутри субпопуляций;  $G_{ST}$  – коэффициент генной дифференциации;  $\chi^2$  – гетерогенность по частотам аллелей. \* $P<0.05$ ; \*\*\* $P<0.001$ .

Среди коренного населения Сибири генное разнообразие внутри этнических групп по полиморфным вариантам гена *NOS3* было минимально по VNTR: 0,189 у тувинцев и 0,147 у бурят, а максимально в Туве по варианту G894Т (0,046), и в Бурятии – по С691Т (0,498).

Таким образом, из 6 проанализированных полиморфизмов *NOS* генов не было показано межэтнической гетерогенности для вариантов С774Т и VNTR гена *NOS3*, а максимальные оценки получены для полиморфизма С691Т этого гена (табл. 5).

При оценке межпопуляционных отличий в пределах этносов, генетические дистанции по  $Nei$  показали, что среди изученных групп наиболее отдалены друг от друга по частотам полиморфных вариантов генов *NOS* оказались буряты и якуты (0,0671), близки друг к другу были тувинцы с бурятами (0,0108) и русскими (0,0287) (табл. 7). Из этого следует, что генетические дистанции не всегда могут быть однозначно объяснены географической локализацией популяций.

В гаметическом неравновесии находились четыре пары полиморфизмов гена *NOS3*: G894Т и VNTR в поселках Тоора-Хем, Хурумша и Черектей, С691Т и С774Т в Курумкане, С691Т и VNTR в пос. Каргала и С691Т и G894Т в г.Томске (табл. 8).

**Показатели генного разнообразия в изученных популяциях по полиморфным вариантам гена *NOS3***

Популяция	Полиморфизм	H <sub>T</sub>	H <sub>s</sub>	G <sub>ST</sub>	χ <sup>2</sup> (d.f.)
Пришлые популяции Томской области	C774T	0.309	0.297	0.039	12.915 (1)
	C691T	0.430	0.379	0.119	37.333 (1)
	VNTR	0.268	0.268	0.000	0.000 (1)
	G894T	0.476	0.472	0.007	2.534 (1)
	Σ	0.371	0.354	0.045	<b>52.782 (4) ***</b>
Тувинцы	C774T	0.382	0.382	0.000	0.046 (1)
	C691T	0.452	0.444	0.017	6.761 (1)
	VNTR	0.189	0.189	0.000	0.013 (1)
	G894T	0.465	0.456	0.018	6.033 (1)
	Σ	0.372	0.368	0.011	<b>12.853 (4) *</b>
Буряты	C774T	0.444	0.436	0.018	6.588 (2)
	C691T	0.498	0.495	0.005	1.984 (2)
	VNTR	0.147	0.147	0.000	0.096 (2)
	G894T	0.420	0.412	0.019	7.979 (2)
	Σ	0.377	0.373	0.012	<b>16.647 (8) *</b>
Σ <sub>тот</sub>	C774T	0.396	0.390	0.014	20.882 (3)
	C691T	0.418	0.375	0.104	95.316 (3)
	VNTR	0.201	0.199	0.008	11.790 (3)
	G894T	0.461	0.459	0.005	8.482 (3)
	Σ	0.369	0.356	0.036	<b>136.471 (12) ***</b>

Примечание. Обозначения см. табл. 5. \*P<0,05; \*\*\*P<0,001.

**Генетические дистанции по Nei между изученными этническими группами по частотам полиморфных вариантов генов *NOS***

Русские	Тувинцы	Буряты	Якуты	
	0,0035	0,0239	0,0287	Русские
		0,0108	0,0301	Тувинцы
			0,0671	Буряты
				Якуты

Гаметическая корреляция между аллелями была положительной в Каргале (+0,1863), Чэриктэй (+0,1563) и Тоора-Хем (+0,2121). Отрицательная связь показана в г.Томске (-0,1605), Курумкане (-0,1960) и Хурамше (-0,2020). Соответствующие (положительные и отрицательные) значения имеет и мера гаметического неравновесия (ρ) в изученных популяциях. В большинстве случаев гаметическое неравновесие образует пара маркеров G894T – VNTR. Следует отметить, что данные полиморфизмы локализованы в одном гене – *NOS3*. Если в популяции существует отклонение от гаметического равновесия, то время, за которое будет дос-

тигнуто равновесие, зависит от степени сцепления: чем теснее сцепление, тем больше времени требуется для достижения равновесия. И оно никогда не будет достигнуто, если определенные комбинации аллелей определяют сниженную или, наоборот, повышенную приспособляемость. Такие ассоциации могут оказаться важными для селекционного процесса. Следует указать еще на одно свойство таких связей – хаотический характер их при сравнении разных популяций, когда в одной из них «положительным» является один аллель, а в другой – другой. Это позволяет утверждать, что прогностическая ценность таких аллелей варьирует не только от популяции к популяции, но также и от поколения к поколению в одной и той же этнической группе.

Таблица 8.

**Гаметическое неравновесие по полиморфизмам гена *NOS3***

Популяция	Пара маркеров	D	$\chi^2$	p	$\rho$
Томск	C691T-G894T	-0,0398	5,566	0,018	-0,1605
Курумкан	C691T-C774T	-0,0205	5,767	0,016	-0,1960
Каргала	C691T-VNTR	+0,0246	3,959	0,046	+0,1863
Тоора-Хем	G894T-VNTR	+0,0337	7,020	0,008	+0,2121
Хурамша	G894T-VNTR	-0,0243	4,162	0,041	-0,2020
Чэриктэй	G894T-VNTR	+0,0237	4,010	0,045	+0,1563

Примечание. D – мера гаметического неравновесия;  $\rho$  – гаметическая корреляция; критерий  $\chi^2$  использован для оценки уровня значимости корреляционных связей; p – достоверность критерия  $\chi^2$ .

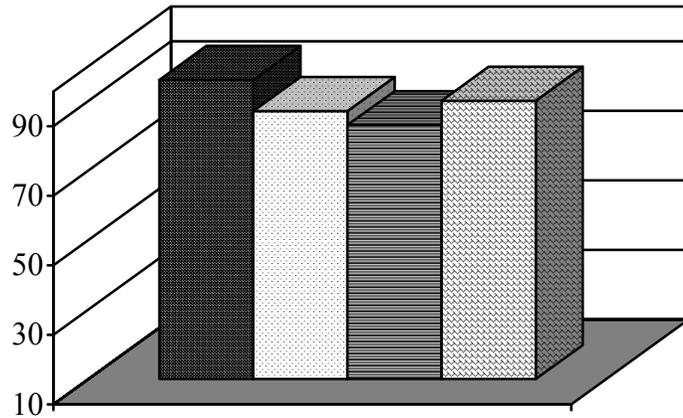
Таким образом, результаты настоящего исследования показывают, что изученные популяции Сибири, несмотря на их географическую близость в пределах этноса, характеризуются различным уровнем генетического разнообразия по группе генов *NOS*. Эти наблюдения представляются важными для проведения генетико-эпидемиологических исследований мультифакториальных заболеваний (МФЗ) в Сибирском регионе.

**Полиморфизмы генов *NOS* у больных сердечно-сосудистой патологией и их ассоциация с клиническими патогенетически значимыми признаками.**

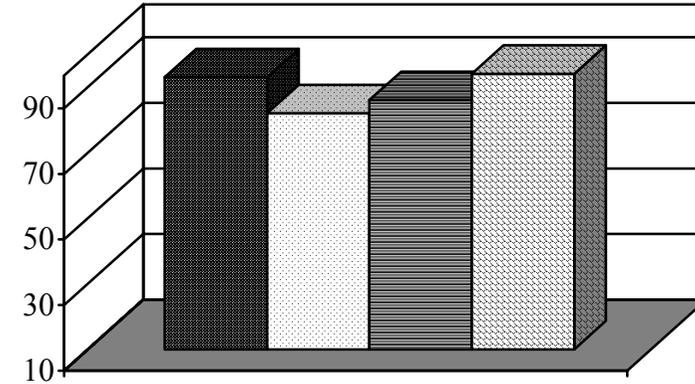
Следующим этапом настоящего исследования было изучение взаимосвязи полиморфных вариантов генов *NOS* с некоторыми формами сердечно-сосудистой патологии: коронарный атеросклероз (КА), эссенциальная гипертензия (ЭГ), идиопатическая гипертрофическая кардиомиопатия (ИГКМП) и нарушения проводимости сердца (НПС).

Частота аллеля С в гене *NOS1* варьировала от 82% у больных ЭГ до 94% с НПС, в группе контроля она составила 93% (рис. 1). Частота аллеля G954 гена *NOS2* у больных ССП имела пониженные значения по сравнению с контролем, где она составила 94%. Распространение частот аллелей полиморфных вариантов гена *NOS3* показало значительное увеличение частот С691, G894 у больных КА, С691 и С774 у пациентов с ИГКМП по сравнению с контролем.

Частота аллеля G954 гена *NOS2*



Частота аллеля С гена *NOS1*



Частоты полиморфных вариантов гена *NOS3*

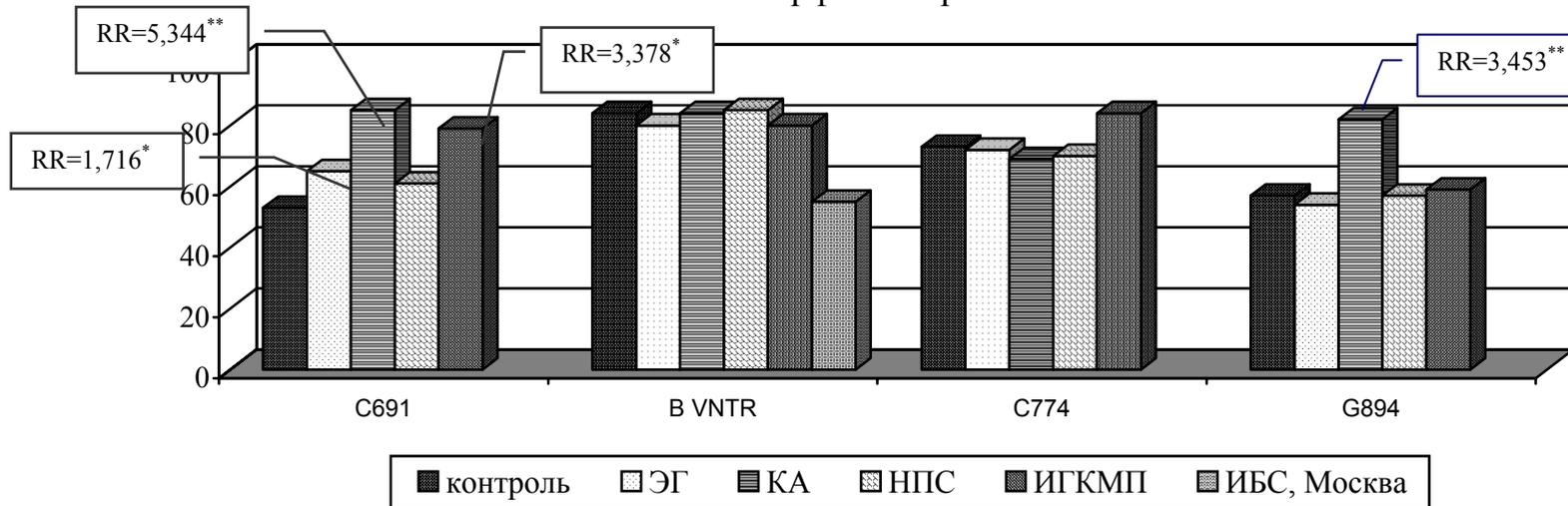


Рис. 1. Частоты полиморфизмов генов *NOS* у больных сердечно-сосудистой патологией и в группе контроля

На основании частоты встречаемости аллелей в контрольной группе и группе больных был рассчитан относительный риск (RR). Значения  $RR > 1$  указывают на возможную положительную ассоциацию аллеля с заболеванием. Обсуждение величин относительного риска проводили при уровне значимости не более 5%.

Высокие значения риска развития патологии были показаны для больных КА по аллелю С691 ( $RR=5,34$ ) и G894 гена *NOS3* ( $RR=3,45$ ); положительная ассоциация была у больных ЭГ с аллелем С691 ( $RR=1,71$ ) и у больных ИГКМП ( $RR=3,37$ ). Полученные результаты указывают на возможную протективную роль данных аллелей в отношении сердечно-сосудистой патологии.

Следующим этапом нашей работы была оценка функциональной значимости генов как на уровне отдельных признаков, так и на уровне их совокупностей, для чего использовали метод главных компонент (ГК).

В контрольной группе не было показано взаимосвязи генов *NOS* с количественными патогенетически значимыми признаками, возможно, в силу сбалансированного функционирования физиологических систем у здоровых индивидов. Иная ситуация наблюдается в группе больных ССП.

С помощью однофакторного дисперсионного анализа показано, что с полиморфными вариантами генов *NOS* у больных КА ассоциированы следующие патогенетически значимые признаки (табл. 9). Транзиция С/Т гена *NOS1* взаимосвязана с показателями холестерина в составе липопротеинов общей низкой плотности (ХС-ЛПОНП), триглицеридов (ТГ); полиморфизм G954С гена *NOS2* с индексом массы тела (ИМТ) и холестерином в составе липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП); аллельные варианты полиморфизма С691Т гена *NOS3* с активностью каталазы в сыворотке крови больных и полиморфизм G894Т гена *NOS3* с показателями ХС-ЛПНП и циркулирующими иммунными комплексами (ЦИК) (табл. 9). Для некоторых признаков в таблице приведены логарифмированные показатели, для которых изначально были показаны статистически значимые отклонения от нормального распределения, в основном за счет существенной правосторонней асимметрии. После логарифмической трансформации (по экспоненциальному основанию) асимметрия практически исчезла, однако нормальное распределение так и не было достигнуто. Поэтому в дальнейших расчетах использовали логарифмически трансформированные значения этих признаков.

Атеросклероз характеризуется нарушением многих процессов, протекающих в организме. Учитывая значительную роль липидного обмена, циркулирующих иммунных комплексов в патогенезе и избыточную массу тела – как значимый фактор риска развития атеросклероза, можно предположить существование опосредованных взаимосвязей. Ген *NOS3* контролирует активность конститутивной NOS, содержащейся преимущественно в эндотелиальных клетках. Образующаяся под ее влиянием окись азота вызывает расслабление гладких мышц сосудов, увеличение кровотока, снижение периферического сопротивления и системного артериального давления. К наиболее сильным естественным блокаторам NO-синтазы относится супероксидный радикал, ограничивающий распространение и снижающий концентрацию оксида азота. При этом

потенцирующим эффектом на действие окиси азота обладает супероксиддисмутаза и антиокислительный фермент – каталаза [Cooke et al., 1992]. Кроме того, мононуклеары также являются источниками окиси азота [Wanfet al., 1997].

Таблица 9.

**Средние значения (M±S.D) количественных признаков у носителей разных генотипов по генам NOS в группе больных коронарным атеросклерозом**

Признак	Генотипы	M±S.D	F	p
Транзиция С/Т гена NOS1				
лог ХС-ЛПОНП	СС	0,688±0,167	7,235	0,009
	СТ+ТТ	0,846±0,191		
лог ТГ	СС	0,740±0,364	6,194	0,0161
	СТ+ТТ	1,045±0,344		
Полиморфизм G-954C гена NOS2				
ХС-ЛПНП	GG	6,474±1,151	5,410	0,024
	GC+CC	5,622±1,107		
ИМТ	GG	1,453±0,222	6,828	0,011
	GC+CC	1,259±0,253		
Полиморфизм С-691Т гена NOS3				
Каталаза	СС	63,507±37,007	6,031	0,0196
	СС+СТ	31,219±28,949		
Полиморфизм G894Т гена NOS3				
ЦИК	GG	4,174±0,754	7,811	0,007
	GT+ТТ	4,915±0,722		
ХС-ЛПНП	GG	1,369±0,234	4,373	0,041
	GT+ТТ	1,544±0,242		

Примечание. F - статистика Фишера-Снедекора для однофакторного дисперсионного анализа влияния генотипической изменчивости на варьирование количественных признаков; p - уровень значимости.

У больных ЭГ обнаружена ассоциация С/Т полиморфизма гена NOS1 с максимальными суточными значениями систолического артериального давления (САД), G954C полиморфизма гена NOS2 с конечным диастолическим размером (КДР) и полиморфных вариантов G894Т, С774Т гена NOS3 с площадью тела (S тела), С774Т с разницей диастолического и систолического давления дневного с ночным (табл. 10). Учитывая участие молекулы оксида азота в процессах вазоконстрикции и вазодилатации, взаимосвязь полиморфизмов генов NOS с тонометрическими признаками является вполне закономерной. Кроме того, полученные ассоциации не противоречат основным концепциям метаболических нарушений при артериальной гипертензии. Обнаруженная ассоциация VNTR полиморфизма гена NOS3 с индексом гипертрофии левого желудочка (ИГЛЖ), индексом массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ), согласуется с данными литературы [Степанов и др. 1998; Пузырев, 1999].

**Взаимосвязь полиморфизма NOS-генов с патогенетически значимыми признаками у больных эссенциальной гипертензией**

Признак	Генотипы	M±S.D	F	p
Транзиция C/T гена <i>NOS1</i>				
МСАДС	CC	5,172±0,130	4,925	0,029
	CT+TT	5,249±0,143		
G-954C <i>NOS2</i>				
КДР	GG	49,683±5,615	9,222	0,003
	GC+CC	50,383±4,303		
G894T <i>NOS3</i>				
S тела	GG	0,657±0,078	5,212	0,007
	GT+TT	0,723±0,095		
C774T <i>NOS3</i>				
СДСН	CC	4,789±12,698	4,006	0,049
	CT+TT	15,11±28,064		
ДДН	CC	7,078±9,029	4,331	0,041
	CT+TT	14,269±18,338		
S тела	CC	0,690±0,088	4,453	0,037
	CT+TT	0,654±0,070		
VNTR <i>NOS3</i>				
ИГЛЖ	BB	0,452±0,124	5,686	0,019
	AB+AA	0,546±0,257		
ЧСС в покое	BB	75,978±10,421	4,489	0,037
	AB+AA	70,409±9,510		
ИММЛЖ	BB	4,882±0,3375	4,252	0,041
	AB+AA	5,065±0,392		

Примечание. Обозначения см. табл. 9.

Отметим, что в различных группах больных и контроля наблюдали различия по структуре главных компонент (рис. 2). В группе контроля в пространстве первых двух ГК расположились три кластера признаков: первый составили показатели атерогенности – коэффициент атерогенности Климова (КК), липидного обмена – общий холестерин (ОХС), ХС-ЛПНП и холестерин в составе липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП), но с отрицательным значением. Второй образовали ХС-ЛПОНП, ТГ и в третий вошли показатели уровня АД (САД, ДАД).

У больных коронарным атеросклерозом количественные признаки расположились следующим образом: основной кластер составили показатели липидного обмена (ТГ, ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП и ОХС), во второй вошли значения артериального давления и состояния иммунитета (IgG и ЦИК) и третий - продукт перекисного окисления липидов – малоновый диальдегид (МДА) и фермент антиокислительной активности – каталаза.

У больных эссенциальной гипертензией признаки в пространстве первых двух ГК расположились следующим образом: показатели мониторинга АД

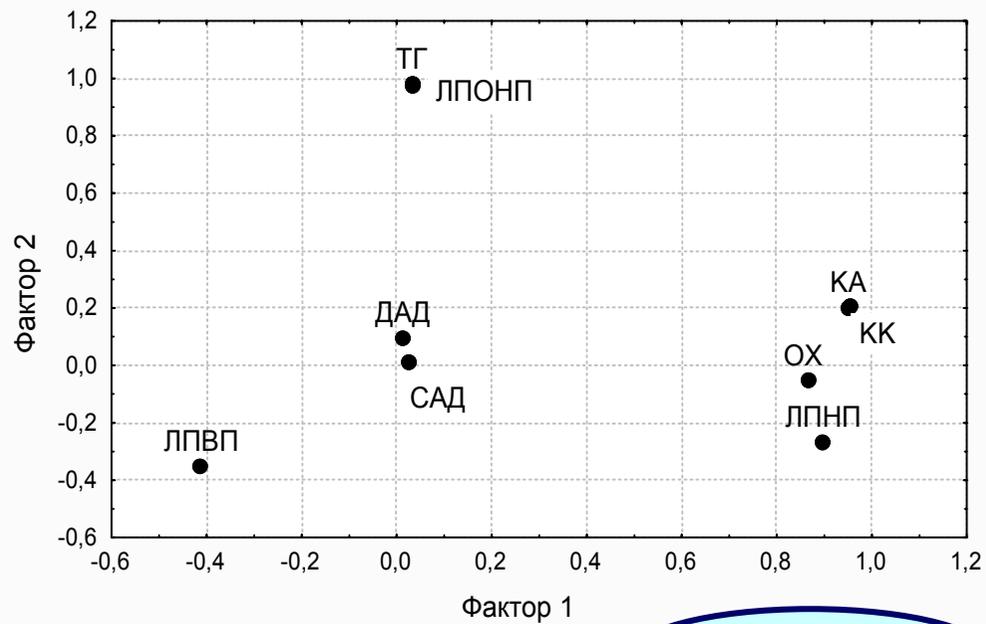
и патологии миокарда (ИГЛЖ, ММЛЖ, ИММЛЖ, размер задней стенки левого желудочка (ЗСЛЖ)) составили первую группу. Во вторую вошли данные мониторинга АД и в третью - показатели липидного обмена.

Известно, что все вышеперечисленные признаки вовлечены в комплекс метаболических нарушений при АГ и КА. Эпидемиологические исследования показывают растущую тенденцию к полипатии - множественности болезней. Например, известно, что атеросклероз и артериальная гипертензия очень часто сочетаются друг с другом, представляя собой «соседство» болезней, либо «семейство» болезней - как результат общности этиологии и патогенеза [Пузырев, 2000]. Таким образом, функциональное значение полиморфизмов генов *NOS* в детерминации одного патологического фенотипа будет оказывать влияние и на развитие другого.

Несмотря на то, что в контрольной группе не было показано взаимосвязи полиморфизмов генов *NOS* с отдельными количественными признаками, при их интегральной оценке с вариантом G954C гена *NOS2* ассоциировала третья главная компонента, максимальный вклад в которую вносили уровни артериального давления. В регуляции ритмов АД на уровне центральной нервной системы играет роль суточная периодичность возбуждения и торможения в коре головного мозга и клетках ретикулярной формации. NO является одним из важнейших рычагов, с помощью которых нервная система управляет тонусом сосудов, снабжающих кровью все системы организма [Huraux et al., 1999]. Этот рычаг может действовать и через систему трансмиссий, модулируя, например, взаимоотношения в системе гипоталамус-эпифиз-надпочечники или прямо стимулируя высвобождение вазопрессина [Cooke, Dzau, 1997].

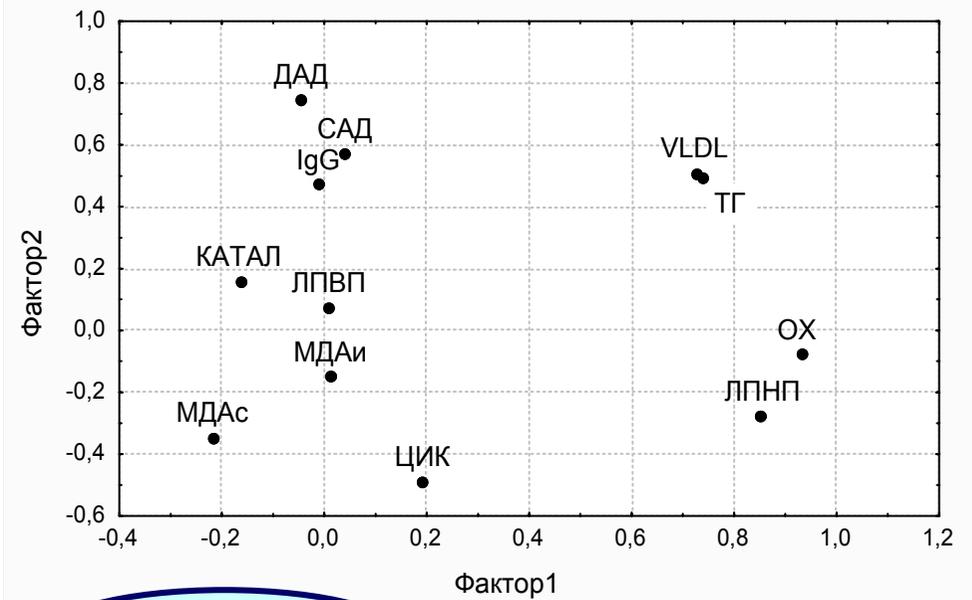
У больных КА показана взаимосвязь транзиции С/Т гена *NOS1* с первой ГК, которую составляют показатели липидного спектра крови (рис. 2). Известно, что дислиппротеинемия при атеросклерозе вовлечена в общий комплекс метаболических нарушений, при котором липидный обмен, АД и другие атерогенные факторы связаны между собой.

Таким образом, суммируя результаты анализа ассоциаций количественных, патогенетически важных для ССЗ признаков и факторов их общей изменчивости с полиморфизмом генов *NOS*, нужно отметить следующее: очевидно, что исследованные гены вносят определенный вклад в изменчивость комплекса признаков, на основе варьирования которых складывается патогенез ССЗ. В основе ассоциаций данных генов с признаками лежит функциональная значимость молекулы NO, «сфера компетенции» которой затрагивает многие физиологические системы организма.



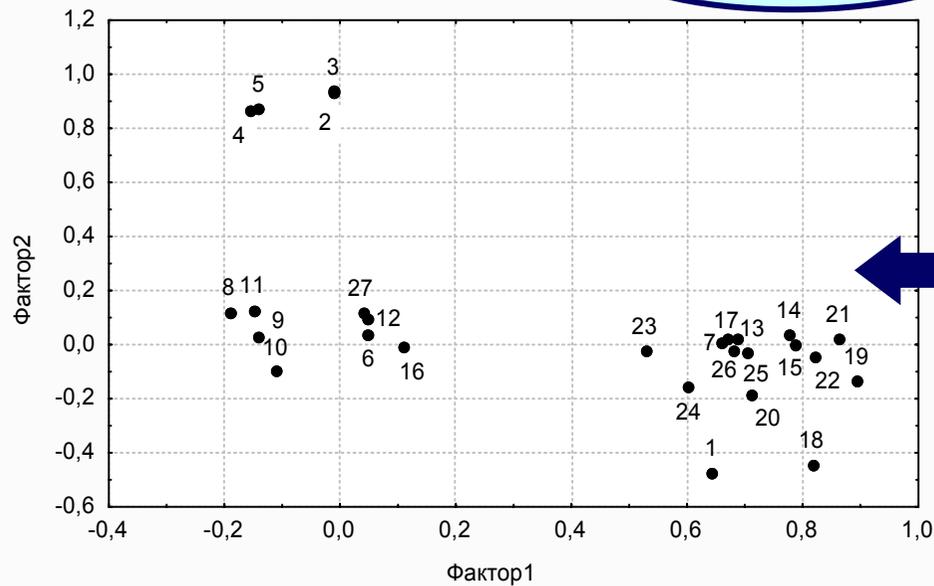
Контроль

G954C – 1 ГК



С/Т – 3 ГК

Коронарный атеросклероз



Эссенциальная гипертензия

1-разница систолического АД дневного с ночным; 2-среднее дневное САД; 3-разница диастолического АД дневного с ночным; 4-процент снижения САД ночного с дневным; 5-процент снижения ДАД ночного с дневным; 6-конечный диастолический размер; 7-индекс гипертрофии левого желудочка; 8-частота сердечных сокращений в покое; 9- ОХС; 10-ТГ; 11-ХС-ЛПНП; 12-ХС-ЛПВП; 13-межжелудочковая перегородка; 14- масса миокарда левого желудочка (ММЛЖ); 15-индекс ММЛЖ; 16-разница ХС-ЛПНВ/ХС-ЛПВП; 17- среднее дневное ДАД; 18-среднее ночное САД; 19-среднее суточное САД; 20-среднее суточное ДАД; 21-скорость утреннего повышения ДАД; 22-максимальное суточное АД; 23-пульсовое АД днем; 24-пульсовое АД ночью; 25- пульсовое АД суточное; 26-задняя стенка левого желудочка; 27-площадь тела.

Рис. 2. Распределение признаков у больных коронарным атеросклерозом, эссенциальной гипертензией и в группе контроля в пространстве первых двух главных компонент.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В основу проведенного исследования генов *NOS* был положен комплексный подход, заключающийся в характеристике полиморфизмов этих генов как на популяционном уровне, так и на уровне их взаимосвязи с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Показано, что изученные полиморфизмы характеризуются широким диапазоном изменчивости частот аллелей С691Т, G894С гена *NOS3*, С/Т гена *NOS1* и G954С гена *NOS2* в популяциях разного этнического состава. Результаты исследования позволяют также заключить, что изученные популяции Сибири, несмотря на их географическую близость, характеризуются различным уровнем генетического разнообразия по группе генов *NOS*.

Наибольшие различия частот аллелей показаны между русским населением Сибири (г. Томск, пос. Каргала) ( $\chi^2=52,782$ ), при этом генетические расстояния по *Nei*, оцененные по частотам вариантов генов *NOS3*, были максимальными между жителями г. Томска и пос. Каргала (0,0492). Данные литературы [Chakravarti, 1999] по сравнительным исследованиям внутригруппового и межгруппового генетического разнообразия свидетельствуют о том, что более 90% генетической изменчивости приходится на внутривнутрипопуляционный уровень в пределах одного этноса; таким образом, только малая доля генетического разнообразия группоспецифична. При сравнении изученных этно-территориальных групп наиболее близки друг к другу оказались тувинцы с бурятами и русским населением Сибири, наиболее отдалены - буряты от якутов.

Эти наблюдения представляются важными с точки зрения проведения возможных параллелей между особенностями распространения в популяциях аллелей генов-кандидатов комплексных заболеваний и закономерностями распространения в этих популяциях мультифакториальной патологии – то, что частично составляет содержание современного научного направления – генетической эпидемиологии.

Анализ генетической компоненты МФЗ сводится к ряду задач: 1) определение функционально значимых вариантов генов, продукты которых вовлечены в реализацию МФЗ (гены-кандидаты); 2) установление патогенетически значимых сочетаний этих полиморфизмов у индивидов; 3) оценка их распространения в популяциях разного этнического состава.

В рамках решения первых двух задач широко используется анализ ассоциаций аллелей и их сочетаний с заболеваниями и патогенетически важными для них признаками. Проведенное нами исследование в этом отношении вполне традиционно. Установлено, что аллель С691 гена *NOS3* является фактором риска развития коронарного атеросклероза (RR=5,344), эссенциальной гипертензии (RR=1,716) и идиопатической гипертрофической кардиомиопатии (RR=3,378), аллель G894 *NOS3* – коронарного атеросклероза (RR=3,453).

Полиморфные варианты генов *NOS*: G894Т *NOS3*, С/Т *NOS1*, G954С *NOS2* взаимосвязаны с показателями липидного спектра крови (холестерин в составе липопротеинов низкой и очень низкой плотности, триглицериды) у больных коронарным атеросклерозом и показателями мониторинга артериального давления у больных эссенциальной гипертензией.

При интегральной оценке комплекса количественных, патогенетических признаков у больных КА методом главных компонент показана взаимосвязь полиморфизма С/Т гена *NOS1* с показателями липидного спектра крови. В группе контроля ССП с вариантом G954С гена *NOS2* ассоциировала третья главная компонента, максимальный вклад в которую вносили уровни артериального давления.

Исследованные полиморфизмы – лишь небольшая часть комплекса наследственных факторов, взаимодействующих друг с другом, с факторами окружающей среды и обуславливающих развитие КА, ЭГ и других мультифакториальных заболеваний, генетическая компонента которых представлена не редкими мутациями, а неблагоприятной комбинацией «нормальных» вариантов генов, широко распространенных в популяциях.

### ВЫВОДЫ

1. Показано, что изученные полиморфизмы генов *NOS* характеризуются широким диапазоном изменчивости частот аллелей С691Т (53% в г.Томске – 94% у якутов), G894С (57% у русских - 70% у тувинцев) гена *NOS3*, транзиции С/Т в гене *NOS1* (75% у бурят - 94% в г.Томске) и G954С гена *NOS2* (73% у бурят – 96% у русских) в популяциях разного этнического состава.
2. Обнаружено, что аллельное разнообразие для 6 изученных полиморфизмов среди всех популяций, было минимальным по VNTR полиморфизму гена *NOS3* (20%) и максимальным по варианту G894Т (47%) этого гена. Максимальная гетерогенность по частотам аллелей между изученными этническими группами показана по варианту С691Т гена *NOS3*.
3. Установлено, что уровень генной дифференциации изученных этнических групп был минимальным по полиморфизму С774Т гена *NOS3* (2%) и максимальным по варианту С691Т (14%) данного гена, в среднем этот показатель был невысок и составил 5%.
4. Установлено, что изученные полиморфизмы G894Т и С691Т гена *NOS3* являются факторами риска развития коронарного атеросклероза и эссенциальной гипертензии, аллельные варианты С691Т - идиопатической гипертрофической кардиомиопатии.
5. Показано, что полиморфные варианты группы генов *NOS*: G894Т *NOS3*, С/Т *NOS1*, G954С *NOS2* взаимосвязаны с показателями липидного спектра крови (холестерин в составе липопротеинов низкой и очень низкой плотности, триглицериды) у больных коронарным атеросклерозом и показателями мониторинга артериального давления у больных эссенциальной гипертензией.
6. Установлена роль полиморфизмов генов *NOS* в детерминацию количественных, патогенетически значимых признаков: уровень артериального давления у здорового населения г.Томска и липидный спектр крови у больных коронарным атеросклерозом.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Косянкова Т.В., Пузырев К.В. Исследование некоторых полиморфных вариантов генов-кандидатов сердечно-сосудистых заболеваний в выборках из популяций Сибири / Фундаментальные и прикладные проблемы современной медицины. Материалы молодежной научной конференции СО РАМН. 6-7 июня 2000 г., Новосибирск. – Новосибирск, 2000. – С. 99-101.
2. Puzyrev K.V., Stepanov V., Pavlukova E., Kosyankova T., Spiridonova M., Karpov R., Puzyrev V. Association of angiotensinogene, angiotensin-I converting enzyme and endothelial cell nitric oxide synthase gene polymorphism with blood pressure and left ventricular hypertrophy // Amer. J. Hypertenison. - 2000. - V. 13. - P. 73.
3. Puzyrev V.P., Stepanov V., Kosyankova T., Puzyrev K.V., Pavlukova E., Karpov R., Spiridonova M., Saliukov B., Nikitina S.Yu., Eremina E. Analysis of candidate genes for cardiovascular disease and their contribution to the variability of quantitative traits of pathogenetic importance // Eur. J. Hum. Genet. - 2000. - V.8. - Suppl.1. - P. 52.
4. Пузырев В.П., Степанов В.А., Косянкова Т.В., Пузырев К.В., Павлюкова Е.Н., Карпов Р.С., Спиридонова М.Г., Салюков В.Б., Хитринская И.Ю., Никулина С.Ю., Еремина Е.Р. Анализ полиморфных ДНК-маркеров кандидатных генов болезней и их вклада в изменчивость патогенетически значимых признаков / Второй (четвертый) Российский съезд медицинских генетиков, 17-19 мая, Курск. Тезисы докладов, Ч.1. – Курск.- 2000. – С. 184-185.
5. Пузырев В.П., Фрейдин М.Б., Косянкова Т.В., Гусарева Е. С., Салякина Д. Ю., Белых А.В., Ондар Э.А. Полиморфизм кандидатных генов распространенных заболеваний в разных популяциях / Проблемы развития и сохранения тувинского генофонда: теория и практика / Под ред. В.П. Пузырева, Э.А.Ондар. - Томск: «СТТ», - 2000.- С.101-109.
6. Пузырев К.В., Павлюкова Е.Н., Степанов В.А., Карпов Р.С., Спиридонова М.Г., Косянкова Т.В. Молекулярно-генетические маркеры подверженности к развитию гипертрофии миокарда левого желудочка / Российский национальный конгресс кардиологов. Кардиология, основанная на доказательствах. Тезисы докладов. - 2000, Москва. - С.244.
7. Кондратьева Е.И., Кравец Е.Б., Косянкова Т.В., Вылегжанина Е.В., Фрейдин М.Б. Анализ VNTR полиморфизма гена NOS3 у больных сахарным диабетом 1 типа / Бюлл. эксперимент. Биологии и медицины. - 2001, приложение 1. - С.60-62.
8. Косянкова Т.В. VNTR полиморфизм гена эндотелиальной синтазы оксида азота (NOS3) в сибирских популяциях и у больных мультифакториальной патологией // Материалы Всероссийской научной конференции с межд. Участием "Север-человек: проблемы сохранения здоровья". Красноярск. - 2001. - С.213-214.
9. Косянкова Т.В., Пузырев К.В., Ковалев И.А. Генетика сердечно-сосудистой патологии / Сборник статей "Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике", Новосибирск. - 2001 . - С. 34-41.