

Н.М. Краснова¹, Е.А. Алексеева², З.А. Рудых²,
Я.В. Чертовских², Т.М. Климова¹, Е.Н. Ефремова³,
А.Ф. Кравченко³, Н.С. Валь³, О.А. Суворова⁴,
С.Ш. Сулейманов⁵, А.И. Венгерский⁶, Д.А. Сычѳв⁴



¹ Медицинский институт ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова», Якутск, Российская Федерация

² Центр персонализированной медицины ГАУ Республика Саха (Якутия) «Республиканская клиническая больница № 3», Якутск, Российская Федерация

³ Научно-практический центр «Фтизиатрия», Якутск, Российская Федерация

⁴ Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Российская Федерация

⁵ Российско-японский медицинский центр «САИКО», Хабаровск, Российская Федерация

⁶ Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация

Распространенность полиморфизмов гена N-ацетилтрансферазы 2 среди пациентов якутской национальности с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания

154

Обоснование. Результаты лечения туберкулеза могут значительно отличаться у отдельных больных. У одних пациентов противотуберкулезная химиотерапия позволяет достичь желаемого терапевтического эффекта, у других она проявляется недостаточным ответом или его отсутствием, развитием нежелательных побочных реакций. Индивидуальная восприимчивость организма человека к действию изониазида обусловлена мутацией гена N-ацетилтрансферазы 2 (NAT2). Распределение полиморфных аллелей NAT2 широко варьирует в зависимости от расового, географического и этнического происхождения. В настоящее время отсутствуют сведения о распространенности полиморфных вариантов гена NAT2 и типов ацетилирования у пациентов якутской национальности с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания. **Цель исследования** — оценить вариабельность гена NAT2 и определить фенотипы ацетилирования изониазида у пациентов якутской национальности с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания в сравнении с нормальной изменчивостью полиморфных вариантов гена в этнических группах азиатского происхождения. **Методы.** Одномоментное обсервационное выборочное исследование проведено среди пациентов якутской национальности с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания. Методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени исследован ряд однонуклеотидных полиморфизмов NAT2*5 (rs1801280, T341C), NAT2*6 (rs1799930, G590A), NAT2*7 (rs1799931, G857A), NAT2*11 (rs1799929, C481T), NAT2*12 (rs1208, A803G), NAT2*13 (rs1041983, C282T). Генетически детерминированную скорость метаболизма рассчитывали с помощью онлайн-калькулятора NATpred. **Результаты.** Среди изученных однонуклеотидных полиморфизмов, расположенных в гене NAT2, наиболее частыми для якутов оказались варианты NAT2*6 и NAT2*13 с частотой встречаемости 40,9 и 64,4% соответственно. Для анализируемой выборки якутов показаны статистически значимые различия в частоте встречаемости аллельных вариантов полиморфизмов NAT2*5, *11, *12 в сравнении другими популяциями азиатского происхождения (Китай, Япония, Вьетнам). Установлена большая распространенность промежуточного типа ацетилирования (58,3%) среди этнических якутов. **Заключение.** Особенности распределения аллельных вариантов однонуклеотидных полиморфизмов гена NAT2 и типов ацетилирования изониазида среди пациентов якутской национальности с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания свидетельствуют о невозможности экстраполяции данных других популяций азиатского происхождения на группу якутской национальности. Данные фармакогенетического исследования по определению индивидуальной чувствительности к лекарственным средствам у якутов необходимо учитывать в клинической практике для разработки алгоритмов персонализированного применения изониазида, что позволит повысить эффективность и безопасность лечения туберкулеза.

Ключевые слова: якуты, туберкулез, изониазид, фармакогенетика, полиморфизм, NAT2.

(Для цитирования): Краснова Н.М., Алексеева Е.А., Рудых З.А., Чертовских Я.В., Климова Т.М., Ефремова Е.Н., Кравченко А.Ф., Валь Н.С., Суворова О.А., Сулейманов С.Ш., Венгерский А.И., Сычѳв Д.А. Распространенность полиморфизмов гена N-ацетилтрансферазы 2 среди пациентов якутской национальности с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания. Вестник РАМН. 2020;75(2):154–161. doi: 10.15690/vramn1217

Обоснование

Туберкулез продолжает оставаться глобальной проблемой общественного здравоохранения, так как является одним из наиболее распространенных инфекционных заболеваний в мире. Всемирной организацией здравоохранения разработана стратегия по ликвидации туберкулеза к 2035 г. (<https://www.who.int/tb/strategy/ru/>). Одним из ее базовых элементов является комплексный подход

к диагностике и лечению этого заболевания. Согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения, для лечения впервые выявленного лекарственно-чувствительного туберкулеза органов дыхания применяют комбинацию наиболее эффективных противотуберкулезных средств — изониазида, рифампицина, пиразинамида и этамбутола.

Результаты лечения туберкулеза зависят от индивидуальных особенностей пациентов: у одних пациентов

противотуберкулезная химиотерапия позволяет достичь желаемого терапевтического эффекта, у других ответ на лечение оказывается недостаточным или отсутствует, развиваются побочные реакции. Противотуберкулезная химиотерапия у всех пациентов с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания проводится в соответствии с клиническими рекомендациями по I–III режимам. Несмотря на это, терапевтический эффект в 2016 г. достигался только у 74,3% пациентов, в 2017 г. — у 71,9% (независимо от результатов бактериоскопии при регистрации), при положительном результате микроскопии мокроты — в 64,3 и 62,0% случаях соответственно [1].

Индивидуальная реакция на лекарственные средства обусловлена мутацией генов-ферментов, ответственных за их биотрансформацию, или генов-транспортеров, участвующих в процессах всасывания, распределения, экскреции лекарств. В настоящее время установлен и хорошо изучен генетический полиморфизм для фермента II фазы биотрансформации — N-ацетилтрансферазы 2 (NAT2). NAT2 отвечает за ацетилирование более 70% лекарственных средств, в том числе изониазида. Фермент NAT2 локализован в цитоплазме клеток, состоит из 290 аминокислотных остатков с молекулярной массой 33кД, кодируется высокополимерным геном NAT2, известны более

100 разных аллелей гена. Варианты активности NAT2 зависят от однонуклеотидных замен (single nucleotide polymorphism, SNP) в структурной области кодирующего фермента гена [2–4].

Знания о функциональных последствиях SNP в кодирующих участках в существенной степени обогатились в результате применения методов молекулярного моделирования и кристаллизации ферментов N-ацетилтрансферазы — первоначально прокариотической N-ацетилтрансферазы и белков генов NAT2, выделенных у человека [5].

Установлено влияние некоторых однонуклеотидных полиморфизмов в кодирующей области полиморфного гена NAT2 на структуру и функциональные эффекты фермента. Так, SNP G191A (R64W), T341C (I114T), G499A (E167K), G590A (R197Q) и G857A (G286E) снижают активность фермента NAT2; SNP T341C (I114T), A411T (I137F) и G499A (E167K) уменьшают количество фермента за счет образования менее стабильного белка [5, 6].

Комбинации полиморфизмов гена NAT2 приводят к формированию различных типов ацетилирования. Выделяют пациентов (тип ацетилятора) с быстрым (носители 1 или 2 быстрых аллелей), промежуточным (носители 1

N.M. Krasnova¹, E.A. Alekseeva², Z.A. Rudykh², Ya.V. Chertovskykh², T.M. Klimova¹, E.N. Efremova³, O.A. Suvorova⁴, A.F. Kravchenko³, N.S. Val³, S.Sh. Suleymanov⁵, A.I. Vengerovsky⁶, D.A. Sychev⁴

¹ M.K. Ammosov North-Eastern Federal University, Medical Institute, Yakutsk, Russian Federation

² Republican Hospital no. 3, Center for Personalized Medicine, Yakutsk, Russian Federation

³ Phthisiatry Research-Practice Center, Yakutsk, Russian Federation

⁴ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russian Federation

⁵ SAIKO Russian-Japanese Medical Center, Khabarovsk, Russian Federation

⁶ Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Prevalence of Polymorphisms in N-acetyltransferase 2 Gene Among Patients of Yakut Ethnicity Newly Diagnosed with Pulmonary Tuberculosis

Background. Tuberculosis therapy can lead to considerably dissimilar outcomes among individual patients. Some patients benefit from anti-tuberculosis chemotherapy leading to a desired therapeutic effect, while other patients show insufficient or absent response, or develop adverse side effects. Individual response to isoniazid is affected by mutations in the gene encoding N-acetyltransferase 2 (NAT2). Wide variations were observed in distributions of polymorphic NAT2 alleles in human populations depending on race, ethnicity, or geographical origin. No data are available to date on prevalence of NAT2 gene polymorphic variants and acetylation types in Yakut (Sakha) patients with newly diagnosed pulmonary tuberculosis. **Aims:** the frequencies of NAT2 polymorphic SNPs as well isoniazid acetylation phenotypes were evaluated in the patient's cohort of Yakut ethnicity with newly diagnosed pulmonary tuberculosis (PTB). The comparison with other ethnic groups of Asian origin was done. **Methods.** Cross-sectional study was conducted among Yakut patient cohorts with newly identified pulmonary tuberculosis. Using real-time PCR the following SNPs were explored: NAT2*5 (rs1801280, T341C), NAT2*6 (rs1799930, G590A), NAT2*7 (rs1799931, G857A), NAT2*11 (rs1799929, C481T), NAT2*12 (rs1208, A803G), NAT2*13 (rs1041983, C282T). Genetically determined metabolic rates were calculated using NATpred online tool. **Results.** NAT2 SNPs were assessed, namely *5, *6, *7, *11, *12, and *13. The most frequent in Yakut patients were NAT2*6 and NAT2*13 SNPs (40.9% and 64.4%, respectively). Significant differences were detected in frequencies of NAT2 *5, *11, *12 polymorphisms; all studied NAT2 gene polymorphisms showed meaningful differences in genotype and minor allele prevalence rates after comparison between Yakut population and other Mongoloid ethnic groups (populations of China, Japan, Vietnam). High prevalence of intermediate acetylation type among ethnic Yakuts (58.3%) was established. **Conclusions.** Certain distinct differences in allelic variants of NAT2 gene and acetylation type prevalence in patients of Yakut ethnic origin newly diagnosed with pulmonary tuberculosis let conclude that the existing genotyping and phenotyping data from studies among other Mongoloid populations cannot be implicitly extrapolated on Yakut people. Pharmacogenetic data on individual response to drugs in Yakut patients should be made use of in clinical practice, to develop personalized isoniazid administration algorithms, with a final goal to make treatment more effective and safe.

Keywords: yakut, tuberculosis, isoniazid, pharmacogenetics, single-nucleotide polymorphism, human NAT2 protein.

(For citation: Krasnova NM, Alekseeva EA, Rudykh ZA, Chertovskykh YaV, Klimova TM, Efremova EN, Suvorova OA, Kravchenko AF, Val NS, Suleymanov SSh, Vengerovsky AI, Sychev DA. Prevalence of Polymorphisms in N-acetyltransferase 2 Gene Among Patients of Yakut Ethnicity Newly Diagnosed with Pulmonary Tuberculosis. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2020;75(2):154–161. doi: 10.15690/vramn1217)

медленной аллели) и медленным (носители 2 медленных аллелей) типом метаболизма лекарственных средств [7, 8].

Наибольшее клиническое значение для выбора дозы изониазида при туберкулезе имеют полиморфизмы *NAT2**5, *6, *7, *11, *12, *13. Полиморфные варианты гена *NAT2**11, *12 и *13 ассоциированы с повышенной скоростью метаболизма изониазида [6, 9], при аллельных вариантах *NAT2**5, *6, *7 ацелирование изониазида замедляется [3, 7, 10]. Распределение полиморфных аллелей *NAT2* широко варьирует в зависимости от расового, географического и этнического происхождения [11–13].

В Республике Саха (Якутия) отмечается положительная динамика в показателях заболеваемости и смертности от туберкулеза, но эпидемиологическая ситуация по туберкулезу продолжает оставаться напряженной. В 2018 г. заболеваемость туберкулезом в Якутии составила 54,3, смертность от туберкулеза — 4,9 случая на 100 000 населения (по ф. №8, с учетом ведомств) [1]. В связи с этим проблемы повышения эффективности и безопасности лечения туберкулеза в Якутии остаются актуальными.

В настоящее время в доступной научной литературе отсутствуют сведения о распространенности полиморфных вариантов гена *NAT2*, типов ферментативной активности *NAT2* среди пациентов якутской национальности с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания.

Цель исследования — оценить вариабельность гена *NAT2* и определить фенотипы ацелирования изониазида у пациентов якутской национальности с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания в сравнении с нормальной изменчивостью полиморфных вариантов гена в этнических группах азиатского происхождения.

Методы

Дизайн исследования

Одноцентровое одномоментное обсервационное выборочное исследование.

Критерии соответствия

Критерии включения:

- впервые в жизни установленный туберкулез органов дыхания;
- возраст 18 лет и старше;
- этническая принадлежность: якуты;
- наличие подписанного информированного согласия.

Критерии невключения. В исследование не включали потомков разноэтнических браков. Этническую принадлежность определяли путем самоидентификации пациентов и их родителей, анализировали родословную до второго поколения. В ранее проводимых исследованиях метод самоидентификации в 99,86% случаев продемонстрировал соответствие микросателлитному анализу этнической принадлежности [14].

Условия проведения

Исследование проводили на базе Государственного бюджетного учреждения Республики Саха (Якутия) «Научно-практический центр «Фтизиатрия», Якутск (далее ГБУ РС(Я) НПЦ «Фтизиатрия»). В исследовании участвовали пациенты с впервые установленным туберкулезом органов дыхания, соответствовавшие критериям включения, госпитализированные в терапевтическое отделение в период с 1 октября 2018 по 28 февраля 2019 г. для проведения интенсивной фазы противотуберкулез-

ной химиотерапии. От каждого пациента было получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Генотипирование проводили в Центре персонализированной медицины Государственного автономного учреждения Республики Саха (Якутия) «Республиканская клиническая больница № 3», Якутск (далее ГАУ РС(Я) «РКБ № 3»).

Продолжительность исследования

Сроки проведения исследования: октябрь 2018 г. — февраль 2019 г.

Популяция сравнения

Для сравнительного анализа использовали генетические показатели представителей различных этнических групп азиатского происхождения из Центральной, Восточной и Юго-Восточной Азии: дайцев — тайского народа, жителей юго-запада Китайской народной республики (КНР; Сишунань-Дайский автономный округ провинции Юньнань); ханьцев — жителей Пекина (КНР); южных ханьцев — жителей юга КНР; японцев — жителей Токио (Япония); вьетов — жителей Хошимина (Социалистическая Республика Вьетнам). Группы сравнения формировали по принципу географической близости к Республике Саха (Якутия). Данные о частоте аллелей и генотипов полиморфизмов *NAT2* были получены из базы данных Международного банка образцов генома (The International Genome Sample Resource, IGSR; <https://www.internationalgenome.org/>).

Исходы исследования

Основной исход исследования: частота генотипов полиморфных вариантов гена *NAT2*, фенотипы ацелирования изониазида.

Анализ в подгруппах

Анализ в подгруппах не проводился.

Методы регистрации исходов

Генотипирование

Для генетического исследования осуществляли забор 3–4 мл крови из вены локтевого сгиба в вакуумные пробирки с помощью закрытой вакуумной системы (Zhejiang Gongdong Medical Technology Co., Ltd, Китай). Пробирки имели мелкодисперсное напыление антикоагулянта К3 ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота). Забор крови осуществляли на базе ГБУ РС(Я) НПЦ «Фтизиатрия». В течение 1 ч пробирки доставляли в генетическую лабораторию Центра персонализированной медицины ГАУ РС(Я) «РКБ № 3».

Из цельной крови выделяли дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) с помощью наборов реагентов ExtractDNA Blood (ЗАО «Евроген», Россия), предназначенных для выделения и очистки геномной ДНК из цельной крови.

Носительство полиморфных вариантов *NAT2**5 (*rs1801280*, *T341C*), *NAT2**6 (*rs1799930*, *G590A*), *NAT2**7 (*rs1799931*, *G857A*), *NAT2**11 (*rs1799929*, *C481T*), *NAT2**12 (*rs1208*, *A803G*), *NAT2**13 (*rs1041983*, *C282T*) определяли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на амплификаторе Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad, США) с помощью набора реагентов «ГенТест-М *NAT2*» (ООО «НОМОТЕК», Россия).

Генетически детерминированную скорость метаболизма рассчитывали с помощью онлайн-калькулятора NATpred с учетом 6 SNP в гене *NAT* (<http://nat2pred.rit.albany.edu/help.html#batch>) [15].

Этическая экспертиза

Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом ГБУ РС(Я) НПЦ «Фтизиатрия» от 26.09.2018 г., протокол № 3.

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Исследование было проведено сплошным методом среди пациентов (соответствовавших критериям включения), госпитализированных в период с 1 октября 2018 по 28 февраля 2019 г. для проведения интенсивной фазы противотуберкулезной химиотерапии в ГБУ РС(Я) НПЦ «Фтизиатрия».

Методы статистического анализа данных

Для статистического анализа данных применяли пакет прикладных программ IBM SPSS Statistics версия 23 (лицензия Северо-Восточного федерального университета) с использованием классического критерия χ^2 Пирсона и его модификации с поправкой Йейтса. Проверку соответствия распределения частоты изученных генотипов закону равновесия Харди–Вайнберга, сравнение частоты аллелей и генотипов между якутами и представителями различных этнических групп азиатского происхождения проводили на калькуляторе «Ген-Эксперт» (http://gen-exp.ru/calculator_or.php) с помощью критерия χ^2 Пирсона. Критический уровень значимости p принимался равным 0,05.

Результаты

Участники исследования

В исследование были включены 132 пациента якутской национальности с впервые установленным туберкулезом органов дыхания (77 женщин, 55 мужчин), госпитализированные в ГБУ РС(Я) НПЦ «Фтизиатрия» в период с 1 октября 2018 по 28 февраля 2019 г. Средний возраст участников исследования составил 44,4 (16,9) года.

Основные результаты исследования

Частота генотипов и распределение аллелей изучаемых полиморфизмов гена *NAT2* среди пациентов якутской национальности представлены в табл. 1. Рас-

пределение частоты генотипов соответствовало закону Харди–Вайнберга.

При генотипировании мутации гена *NAT2* отсутствовали в 25 (18,9%) случаях. Наиболее часто встречаемыми полиморфными вариантами среди якутов являлись *NAT2*6*, *NAT2*13* — 40,9 и 64,4% соответственно. Минорный аллель Т полиморфного варианта гена *NAT2*13* (*C282T*) был установлен у 48 (36%) якутов, при других полиморфизмах гена *NAT2* частота обнаружения минорного аллеля варьировала от 16 до 22% (см. табл. 1).

При определении фенотипа ацетилирования установлено, что среди якутов распространен промежуточный тип ацетилирования — 77 (58,3%) пациентов. У 30 (22,7%) якутов определялся медленный тип ацетилирования, у 25 (18,9%) — быстрый тип.

Промежуточные и медленные ацетиляторы чаще являлись носителями однонуклеотидных полиморфизмов *NAT2*13* — 58 (75,3%) и 27 (90,0%) случаев соответственно, *NAT2*6* — 36 (46,8%) и 18 (60,0%) соответственно. Среди медленных ацетиляторов преобладали полиморфизмы гена *NAT2*5* — 21 (70,0%), *NAT2*11* — 21 (70,0%), *NAT2*12* — 21 (70,0%) случаев (табл. 2).

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

В результате исследования у пациентов якутской национальности с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания установлена частота аллелей и генотипов полиморфных вариантов гена *NAT2*: *NAT2*5* (*rs1801280*, *T341C*), *NAT2*6* (*rs1799930*, *G590A*), *NAT2*7* (*rs1799931*, *G857A*), *NAT2*11* (*rs1799929*, *C481T*), *NAT2*12* (*rs1208*, *A803G*) и *NAT2*13* (*rs1041983*, *C282T*), ассоциированных с изменением скорости биотрансформации изониазида. Наиболее частыми полиморфными вариантами среди якутов являлись *NAT2*6* (*G590A*) и *NAT2*13* (*C282T*) (40,9 и 64,4%) с частотой минорного аллеля А (*NAT2*6*) и аллеля Т *NAT2*13* 22 и 36% соответственно. Среди якутов превалировал промежуточный тип ацетилирования.

Обсуждение основного результата исследования

В настоящее время установлено, что у представителей азиатской расы, проживающих в различных географических зонах, распределение полиморфных вариантов гена *NAT2* отличается от распределения, выявленного

Таблица 1. Распределение частоты генотипов и аллелей полиморфных вариантов гена *NAT2* у якутов с туберкулезом органов дыхания

Полиморфный маркер	Генотип, n (%)			Аллель, %		χ^2	p^*
	T/T	T/C	C/C	T	C		
<i>NAT2*5</i> (<i>T341C</i>)						1,17	0,558
	91 (68,9)	35 (26,5)	6 (4,6)	0,82	0,18		
<i>NAT2*6</i> (<i>G590A</i>)						0,64	0,727
	78 (59,1)	49 (37,1)	5 (3,8)	0,78	0,22		
<i>NAT2*7</i> (<i>G857A</i>)						0,01	0,993
	94 (71,2)	35 (26,5)	3 (2,3)	0,84	0,16		
<i>NAT2*11</i> (<i>C481T</i>)						0,00	1,000
	90 (68,2)	38 (28,8)	4 (3,0)	0,83	0,17		
<i>NAT2*12</i> (<i>A803G</i>)						0,17	0,916
	91 (68,9)	38 (28,8)	3 (2,3)	0,83	0,17		
<i>NAT2*13</i> (<i>C282T</i>)						5,89	0,052
	47 (35,6)	74 (56,1)	11 (8,3)	0,64	0,36		

Примечание. p^* — достигнутый уровень значимости при проверке соответствия распределения равновесию Харди–Вайнберга.

Таблица 2. Распределение полиморфных вариантов гена *NAT2* у якутов с туберкулезом органов дыхания при разных типах ацелирования

Полиморфный маркер	Генотип	Медленный ацелилятор, n (%)	Промежуточный ацелилятор, n (%)	Быстрый ацелилятор, n (%)
<i>NAT2*5 (T341C)</i>	T/T	9 (30,0)	57 (74,0)	25 (100,0)
	T/C	16 (53,3)	19 (24,7)	0
	C/C	5 (16,7)	1 (1,3)	0
<i>NAT2*6 (G590A)</i>	G/G	12 (40,0)	41 (53,2)	25 (100,0)
	G/A	15 (50,0)	34 (44,2)	0
	A/A	3 (10,0)	2 (2,6)	0
<i>NAT2*7 (G857A)</i>	G/G	16 (53,3)	53 (68,8)	25 (100,0)
	G/A	12 (40,0)	23 (29,9)	0
	A/A	2 (6,7)	1 (1,3)	0
<i>NAT2*11 (C481T)</i>	C/C	9 (30,0)	56 (72,7)	25 (100,0)
	C/T	18 (60,0)	20 (26,0)	0
	T/T	3 (10,0)	1 (1,3)	0
<i>NAT2*12 (A803G)</i>	A/A	9 (30,0)	57 (74,0)	25 (100,0)
	A/G	19 (63,3)	19 (24,7)	0
	G/G	2 (6,7)	1 (1,3)	0
<i>NAT2*13 (C282T)</i>	C/C	3 (10,0)	19 (24,7)	25 (100,0)
	C/T	18 (60,0)	56 (72,7)	0
	T/T	9 (30,0)	2 (2,6)	0

158

у представителей европеоидной расы [10]. Большинство опубликованных работ по изучению полиморфизмов гена *NAT2* среди лиц азиатской расы проведены зарубежными исследователями. Согласно проведенным исследованиям, полиморфизм *NAT2*5 (T341C)* наиболее распространен среди лиц европейской расы (от 35 до 55%) [13, 16] и среди представителей Западной Азии (до 40%) [17].

Полиморфизм *NAT2*6 (G590A)* имеет примерно одинаковую распространенность среди людей азиатской, европеоидной и негроидной рас (41,7–58,7%), а *NAT2*7 (G857A)* широко распространен среди представителей азиатской расы, жителей Центральной, Восточной и Юго-Восточной Азии (до 31,8%) [5, 6].

Республика Саха (Якутия) расположена в северо-восточной части Сибири. Якуты составляют половину населения республики (49,91%) и являются самым крупным коренным народом Сибири в границах Российской Федерации. Якуты принадлежат к центральноазиатскому антропологическому типу североазиатской расы (<https://www.yakutskhistory.net>).

Распространенность шести полиморфных вариантов *NAT2* — 3 медленных (*NAT2*5(T341C)*, *NAT2*6(G590A)*, *NAT2*7(G857A)*) и 3 быстрых (*NAT2*11(C481T)*, *NAT2*12(A803G)*, *NAT2*13(C282T)*) — у якутов ранее не была изучена. В настоящем исследовании установлено, что пациенты якутской национальности в 75% случаев являются носителями полиморфных вариантов гена *NAT2*. Среди якутов наиболее часто регистрировалось носительство аллельных вариантов *NAT2*6 (G590A)* и *NAT2*13 (C282T)* — 40,9 и 64,4% соответственно. Установлена высокая частота носительства *NAT2*5 (T341C)*, *NAT2*11 (C481T)* и *NAT2*12 (A803G)* — 31,1; 31,8 и 31,1%, что не типично для азиатской расы и чаще определяется у лиц европеоидной расы [13].

При анализе комбинаций полиморфных вариантов гена *NAT2* у 1 (0,7%) пациента якутской национальности

регистрировался один полиморфный вариант *NAT2*7*, у 2 (1,5%) пациентов установлены комбинации из четырех полиморфизмов гена — *NAT2*5*, *NAT2*6*, *NAT2*11*, *NAT2*13* и *NAT2*5*, *NAT2*11*, *NAT2*12*, *NAT2*13*.

У 60 (45,4%) якутов определялось носительство двух полиморфных вариантов гена *NAT2*. Комбинация *NAT2*6* и *NAT2*13* регистрировалась у 36 (27,3%) пациентов, *NAT2*7* и *NAT2*13* — у 22 (16,7%), *NAT2*11* и *NAT2*12* — у 1 (0,7%), *NAT2*6* и *NAT2*7* — у 1 (0,7%) пациента.

Одновременное носительство трех аллельных вариантов гена *NAT2* установлено у 24 (18,2%) якутов: так, комбинация *NAT2*5*, *NAT2*11* и *NAT2*12* определялась у 19 (14,4%) пациентов, комбинация *NAT2*6*, *NAT2*7* и *NAT2*13* — у 5 (3,8%). У 20 (15,1%) пациентов определялось сочетание пяти аллельных вариантов однонуклеотидных полиморфизмов гена *NAT2*: комбинация полиморфизмов *NAT2*5*, *NAT2*7*, *NAT2*11*, *NAT2*12* и *NAT2*13* определялась у 11 (8,3%) пациентов, комбинация *NAT2*5*, *NAT2*7*, *NAT2*11*, *NAT2*12* и *NAT2*13* — у 9 (6,8%).

При проведении сравнительного анализа установлено, что в изучаемой группе (якуты) частота носительства полиморфизмов *NAT2*5*, *NAT2*11* и *NAT2*12* была статистически значимо выше, чем в группах жителей Китая, Японии и Вьетнама ($p < 0,05$) (табл. 3). У якутов имелись статистически значимые различия в частоте встречаемости полиморфного варианта *NAT2*7* по сравнению с дайцами и японцами ($\chi^2 = 4,25$; $p = 0,040$ и $\chi^2 = 4,06$; $p = 0,044$ соответственно) и *NAT2*13* — с вьетами ($\chi^2 = 0,46$; $p = 0,044$). Других различий в распределении генотипов полиморфизмов гена *NAT2* между сравниваемыми группами не установлено.

При сравнении распространенности гомозиготных генотипов по минорным аллелям изучаемых полиморфных вариантов гена *NAT2* установлено, что якуты статистически значимо чаще являлись носителями генотипа

Таблица 3. Распределение генотипов полиморфных вариантов гена *NAT2* среди представителей других популяций азиатского происхождения

Генотип	Якуты, n (%)	Дайцы, n (%)*	Ханьцы, n (%)*	Южные ханьцы, n (%)*	Японцы, n (%)*	Вьетны, n (%)*
<i>NAT2*5 (T341C)</i>						
T/T	91 (68,9)	84 (90,3)	97 (94,2)	97 (92,4)	100 (96,2)	89 (89,9)
T/C	35 (26,5)	9 (9,7)	6 (5,8)	8 (7,6)	4 (3,8)	9 (9,1)
C/C	6 (4,6)	0	0	0	0	1 (1,0)
<i>NAT2*6 (G590A)</i>						
G/G	78 (59,1)	56 (60,2)	67 (65,0)	58 (55,2)	60 (57,7)	45 (45,5)
G/A	49 (37,1)	32 (34,4)	31 (30,1)	41 (39,0)	39 (33,7)	39 (39,4)
A/A	5 (3,8)	5 (5,4)	5 (4,9)	6 (5,7)	9 (8,7)	15 (15,2)
<i>NAT2*7 (G857A)</i>						
G/G	94 (71,2)	53 (57,0)	69 (67,0)	71 (67,6)	86 (82,7)	65 (65,7)
G/A	35 (26,5)	30 (32,3)	34 (33,0)	29 (27,6)	15 (14,4)	31 (31,3)
A/A	3 (2,3)	10 (10,8)	0	5 (4,8)	3 (2,9)	3 (3,0)
<i>NAT2*11 (C481T)</i>						
C/C	90 (68,2)	84 (90,3)	97 (94,2)	97 (92,4)	100 (96,2)	90 (90,9)
C/T	38 (28,8)	97 (9,7)	6 (5,8)	8 (7,6)	4 (3,8)	8 (8,1)
T/T	4 (3,0)	0	0	0	0	1 (1,0)
<i>NAT2*12 (A803G)</i>						
A/A	91 (68,9)	84 (90,3)	97 (94,2)	96 (91,4)	100 (96,2)	88 (88,9)
A/G	38 (28,8)	9 (9,7)	6 (5,8)	9 (8,6)	4 (3,8)	10 (10,1)
G/G	3 (2,3)	0	0	0	0	1 (1,0)
<i>NAT2*13 (C282T)</i>						
C/C	47 (35,6)	28 (30,1)	41 (39,8)	32 (30,5)	47 (45,2)	23 (23,2)
C/T	74 (56,1)	38 (40,9)	49 (47,6)	51 (48,6)	40 (38,5)	45 (45,5)
T/T	11 (8,3)	27 (29,0)	13 (12,6)	22 (21,0)	17 (16,3)	31 (31,3)

Примечание. * — ресурс <https://www.internationalgenome.org/1000-genomes-browsers>.

C/C *NAT2*5 (T341C)*, генотипа T/T *NAT2*11 (C481T)*, генотипа G/G *NAT2*12 (A803G)* по сравнению с другими представителями азиатской расы ($p < 0,05$) (см. табл. 3). Генотип A/A *NAT2*6 (G590A)* среди якутов встречался статистически значимо реже по сравнению с вьетнами ($\chi^2 = 10,49$; $p = 0,005$), также якуты реже являлись носителями генотипа A/A *NAT2*7 (G857A)* по сравнению с дайцами ($\chi^2 = 9,10$; $p = 0,013$), генотипа T/T *NAT2*13 (C282T)* по сравнению с дайцами ($\chi^2 = 16,87$; $p < 0,001$), а также южными ханьцами ($\chi^2 = 7,77$; $p = 0,022$), японцами ($\chi^2 = 8,22$; $p = 0,023$) и вьетнами ($\chi^2 = 20,52$; $p < 0,001$) (см. табл. 3).

Проведено сравнение частоты носительства аллелей гена *NAT2* у пациентов якутской национальности и представителей других популяций азиатского происхождения. Этнические якуты статистически значимо чаще являлись носителями минорного аллеля C *NAT2*5 (T341C)*, аллеля T *NAT2*11 (C481T)*, аллеля G *NAT2*12 (A803G)* по сравнению с группами сравнения. У якутов статистически значимо реже встречался аллель A *NAT2*6 (G590A)* по сравнению с вьетнами, аллель A *NAT2*7 (G857A)* — по сравнению с дайцами, аллель T *NAT2*13 (C282T)* — по сравнению с дайцами и вьетнами.

Тип метаболизма у якутов смещен в сторону промежуточного ацетилирования. Отметим, что установленная частота быстрых и медленных ацетилаторов (более 20%) среди якутов не типична для азиатской расы. Фенотип медленного ацетилирования наиболее часто распростра-

нен в популяциях Европы, Ближнего Востока, Центральной и Южной Евразии, Африки (более 60%), реже — в популяциях Восточной Азии и у коренных американцев (около 10%) [18].

В исследованиях полиморфные варианты гена *NAT2* идентифицированы как факторы риска формирования лекарственно-устойчивых микобактерий туберкулеза и лекарственного поражения печени. Генетические исследования необходимы для прогнозирования эффективности и безопасности применения противотуберкулезных средств. В нескольких метаанализах была подтверждена взаимосвязь между медленным фенотипом гена *NAT2* и развитием изониазидиндуцированным поражением печени [19–22]. Быстрый фенотип ассоциирован со сниженной эффективностью стандартной схемы противотуберкулезного лечения изониазидом и риском развития лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза к изониазиду [23, 24]. Результаты генетического анализа позволяют корректировать дозы изониазида. Снижение дозы препарата у медленных ацетилаторов способствует снижению частоты поражения печени, повышение дозы у быстрых ацетилаторов — улучшению эффективности лечения [25].

Ограничения исследования

Ограничениями исследования являются малый размер выборки и отсутствие контрольной группы из той же популяции. Исследование было проведено сплош-

ным методом среди пациентов якутской национальности, получавших стационарное лечение в ГБУ РС(Я) НПЦ «Фтизиатрия» по поводу впервые выявленного туберкулеза органов дыхания. В среднем за год (по данным 2017–2018 гг.) в Республике Саха (Якутия) впервые туберкулезом органов дыхания заболевает 443 (со стандартным отклонением 9) человека в возрасте 18 и старше лет, из них доля представителей якутской национальности составляет 56%. За 5 мес в исследование было включено 132 пациента, что составляет 53% от числа всех лиц с впервые выявленным (в течение 12 мес) туберкулезом органов дыхания, соответствующих критериям включения. Таким образом, можно предположить, что выборочная совокупность достаточно репрезентативна по отношению к генеральной совокупности больных туберкулезом органов дыхания. В то же время распределение частоты генотипов и аллелей изучаемых полиморфизмов в данной группе не следует считать популяционной частотой, характерной для представителей якутского этноса, несмотря на соответствие равновесию Харди–Вайнберга.

Заключение

Установленные особенности распределения полиморфизмов гена *NAT2* (*5, *6, *7, *11, *12, *13), распространенность типов ацетилирования среди пациентов якутской национальности с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания указывают на то, что нельзя экстраполировать на якутов данные генотипирования и фенотипирования, полученные у других групп представителей азиатской расы. Фармакогенетическое исследование с целью определения индивидуальной чувствительности к лекарственным средствам у якутов необходимо включать в клиническую практику для персонализированного применения изониазида с целью повышения эффективности и безопасности лечения туберкулеза. В дальнейшем планируется провести фармакогенетический

анализ с включением фармакокинетического исследования изониазида для более подробного изучения связи фармакогенетических особенностей с эффективностью и безопасностью терапии туберкулеза у лиц якутской национальности.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Фармакогенетическое исследование выполнено при финансовой поддержке ГАУ РС(Я) «Республиканская клиническая больница № 3» Министерства здравоохранения Республики Саха (Якутия).

Конфликт интересов. Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Участие авторов. Н.М. Краснова — разработка дизайна исследования, набор участников исследования, написание статьи; Е.А. Алексеева — проведение генотипирования; З.А. Рудых — разработка дизайна исследования, проведение фенотипирования; Я.В. Чертовских — идея проведения исследования, проведение генотипирования, проведение фенотипирования; Т.М. Климова — статистическая обработка данных, проверка и редактирование текста статьи; Е.Н. Ефремова — участие в наборе участников исследования, взятие биоматериала; А.Ф. Кравченко — разработка дизайна исследования, участие в наборе участников исследования; проверка и редактирование текста статьи; Н.С. Валь — участие в наборе участников исследования; О.А. Суворова — статистическая обработка данных; С.Ш. Сулейманов — проверка и редактирование текста статьи; А.И. Венгеровский — проверка и редактирование текста статьи; Д.А. Сычёв — идея проведения исследования, разработка дизайна исследования, проверка и редактирование текста статьи. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию текста перед публикацией.

160

ЛИТЕРАТУРА

1. <https://mednet.ru/>. Эпидемическая ситуация по туберкулезу в России [доступ от 08.06.2019]. [https://mednet.ru/Epidemicheskaya_situatsiya_po_tuberkulezu_v_Rossii]. (In Russ.) Доступно по: https://mednet.ru/images/materials/CMT/2018_god_tuberkulez_epidsituaciya.pdf. Ссылка активна на 15.01.2020.
2. Jarrar YB, Balasme AA, Jarrar W. Sequence analysis of the N-acetyltransferase 2 gene (*NAT2*) among Jordanian volunteers. *Libyan J Med*. 2018;13(1):1408381. doi: 10.1080/19932820.2017.1408381.
3. Khan S, Mandal RK, Elsbali AM, et al. Pharmacogenetic association between gene polymorphisms and isoniazid induced hepatotoxicity: trial sequence meta-analysis as evidence. *Biosci Rep*. 2019;39(1):BSR20180845. doi: 10.1042/BSR20180845.
4. Fuselli S, Gilman RH, Chanock SJ, et al. Analysis of nucleotide diversity of *NAT2* coding region reveals homogeneity across Native American populations and high intra-population diversity. *Pharmacogenomics J*. 2007;7(2):144–152. doi: 10.1038/sj.tpj.6500407.
5. Hein DW. N-acetyltransferase single nucleotide polymorphisms: Emerging concepts serve as a paradigm for understanding complexities of personalized medicine. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2009;5(4):353–366. doi: 10.1517/17425250902877698.
6. Walraven JM, Zang Yu, Trent JO, et al. Structure/function evaluations of single nucleotide polymorphisms in human N-acetyltransferase 2. *Curr Drug Metab*. 2008;9(6):471–486. doi: 10.2174/138920008784892065.
7. Yadav D, Kumar R, Dixit RK, et al. Association of *NAT2* gene polymorphism with antitubercular drug-induced hepatotoxicity in the Eastern Uttar Pradesh population. *Cureus*. 2019;11(4):e4425. doi: 10.7759/cureus.4425.
8. Сналина Н.Е., Сычев Д.А. Генетические предикторы гепатотоксичности изониазида // *Молекулярная медицина*. — 2018. — Т.16. — №2. — С. 31–36. [Snalina NE, Sychev DA. Genetic predictors of isoniazid hepatotoxicity. *Molecular medicine*. 2018;16(2):31–36. (In Russ.)] doi: 10.29296/24999490-2018-02-04.
9. Zhu R, Kiser JJ, Seifart HI, et al. The pharmacogenetics of *NAT2* enzyme maturation in perinatally HIV exposed infants receiving isoniazid. *J Clin Pharmacol*. 2012;52(4):511–519. doi: 10.1177/0091270011402826.
10. Zabost A, Brzezińska S, Kozińska M, et al. Correlation of N-acetyltransferase 2 genotype with isoniazid acetylation in polish tuberculosis patients. *Biomed Res Int*. 2013;2013:853602. doi: 10.1155/2013/853602.
11. Dursun R, Dursun HG, Zamani AG, et al. *NAT2* gene polymorphisms in Turkish patients with psoriasis vulgaris. *Biomed Res Int*. 2018;3258708. doi: 10.1155/2018/3258708.

12. Birch KE, Yakimov V, Bjorn-Mortensen K, et al. Study of correlation between the NAT2 phenotype and genotype status among Greenlandic Inuit. *EXCLI J*. 2018;17:1043–1053. doi: 10.17179/excli2018-1671.
13. Sabbagh A, Darlu P, Crouau-Roy B, Poloni ES. Arylamine N-acetyltransferase 2 (NAT2) genetic diversity and traditional subsistence: a worldwide population survey. *PLoS One*. 2011;6(4):e18507. doi: 10.1371/journal.pone.0018507.
14. Tang H, Quertermous T, Rodriguez B, et al. Genetic structure, self-identified race/ethnicity, and confounding in case-control association studies. *Amer J Human Genet*. 2005;76(2):268–275. doi: 10.1086/427888.
15. Kuznetsov IB, McDuffie M, Moslehi R. A web-server for inferring the human N-acetyltransferase-2 (NAT2) enzymatic phenotype from NAT2 genotype. *Bioinformatics*. 2009;25(9):1185–1186. doi: 10.1093/bioinformatics/btp121.
16. Hein DW. N-acetyltransferase 2 genetic polymorphism: effects of carcinogen and haplotype on urinary bladder cancer risk. *Oncogene*. 2006;25(11):1649–1658. doi: 10.1038/sj.onc.1209374.
17. Kurose K, Sugiyama E, Saito Y. Population differences in major functional polymorphisms of pharmacokinetics/pharmacodynamics-related genes in eastern asians and europeans: implications in the clinical trials for novel drug development. *Drug metabolism and pharmacokinetics*. 2012;27(1):9–54. doi: 10.2133/dmpk.dmpk-11-rv-111.
18. Hemanth Kumar AK, Ramesh K, Kannan T, et al. N-acetyltransferase gene polymorphisms & plasma isoniazid concentrations in patients with tuberculosis. *Indian J Med Res*. 2017;145(1):118–123. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_2013_15.
19. Shi J, Xie M, Wang J, et al. Susceptibility of N-acetyltransferase 2 slow acetylators to antituberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis. *Pharmacogenomics*. 2015;16(18):2083–2097. doi: 10.2217/pgs.15.144.
20. Suvichapanich S, Fukunaga K, Zahroh H, et al. NAT2 ultra-slow acetylator and risk of anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a genotype-based meta-analysis. *Pharmacogenet Genomics*. 2018;28(7):167–176. doi: 10.1097/FPC.0000000000000339.
21. Wang PY, Xie SY, Hao Q, et al. NAT2 polymorphisms and susceptibility to anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2012;16(5):589–595. doi: 10.5588/ijtld.11.0377.
22. Zhang M, Wang S, Wilffert B, et al. The association between the NAT2 genetic polymorphisms and risk of DILI during anti-TB treatment: a systematic review and meta-analysis. *Br J Clin Pharmacol*. 2018;84(12):2747–2760. doi: 10.1111/bcp.13722.
23. Donald PR, Sireg FA, Venter A, et al. The influence of human N-acetyltransferase genotype on the early bactericidal activity of isoniazid. *Clin Infect Dis*. 2004;39(10):1425–1430. doi: 10.1086/424999.
24. Weiner M, Burman W, Vernon A, et al. Low isoniazid concentrations and outcome of tuberculosis treatment with once-weekly isoniazid and rifapentine. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167(10):1341–1347. doi: 10.1164/rccm.200208-951OC.
25. Golka K, Selinski S. NAT2 Genotype and isoniazid medication in children. *EBio Med*. 2016;11:11–12. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.08.040.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Краснова Наталья Михайловна, к.м.н. [*Nataliya M. Krasnova*, MD, PhD]; **адрес:** Россия, 677000, Республика Саха (Якутия), Якутск, ул. Белинского, д. 58 [**address:** 58 Belinskogo street, 677000 Yakutsk, Sakha Republic (Yakutia), Russia]; **тел.:** +7 (914) 109-40-22, **e-mail:** krasnova14@mail.ru, **SPIN-код:** 8703-8169, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4811-7801>

Алексеева Елизавета Александровна [*Elizaveta A. Alekseeva*]; **e-mail:** elizavetaal@mail.ru, **SPIN-код:** 8918-7035, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-6116-5720>

Рудых Зоя Александровна [*Zoya A. Rudykh*]; **e-mail:** vitae003@rambler.ru, **SPIN-код:** 4930-4297, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8212-0150>

Чертовских Яна Валерьевна [*Yana V. Chertovskiykh*]; **e-mail:** yana_chertovski@mail.ru, **SPIN-код:** 8485-9530, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0941-8633>

Климова Татьяна Михайловна, к.м.н. [*Tatiana M. Klimova*, MD, PhD]; **e-mail:** biomeddykt@mail.ru, **SPIN-код:** 2635-0865, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-2746-0608>

Ефремова Ефросинья Николаевна [*Efrosiniya N. Efremova*]; **e-mail:** efremovaen@tub.ykt.ru, **SPIN-код:** 3688-9742, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-6934-2971>

Кравченко Александр Фёдорович, д.м.н. [*Aleksandr F. Kravchenko*, MD, PhD]; **e-mail:** kravchenkoaf@tub.ykt.ru, **SPIN-код:** 3188-6796, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9210-3407>

Валь Наталья Семёновна, к.м.н. [*Natalia S. Val*, MD, PhD]; **e-mail:** yniit@mail.ru, **SPIN-код:** 1440-4729, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-2910-1895>

Суворова Ольга Александровна [*Olga A. Suvorova*]; **e-mail:** olga.a.suvorova@mail.ru, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-9661-7213>

Сулейманов Салават Шейхович, д.м.н., профессор [*Salavat Sh. Suleymanov*, MD, PhD, Professor]; **e-mail:** suleymanov-sh@mail.ru, **SPIN-код:** 9047-1399, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3176-2716>

Венгеровский Александр Исаакович, д.м.н., профессор [*Aleksandr I. Vengerovsky*, MD, PhD, Professor]; **e-mail:** pharm-sibgmu@rambler.ru, **SPIN-код:** 8818-0543, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-5094-3742>

Сычёв Дмитрий Алексеевич, д.м.н., профессор, член-корр. РАН [*Dmitry A. Sychev*, MD, PhD, Professor]; **e-mail:** dmitrysychevmapo@gmail.com, **SPIN-код:** 4525-7556, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4496-3680>