

© Коллектив авторов

## ПОЛИМОРФИЗМ ВАРИАНТОВ ГЕНА N-АЦЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ 2 (NAT2) И АНАЛИЗ ГЕННОЙ СЕТИ

Р.П. Тийс<sup>1,2</sup>, Л.П. Осипова<sup>1,2</sup>, Э.Р. Галиева<sup>2</sup>, Д.В. Личман<sup>1,2</sup>,  
Е.Н. Воронина<sup>2,3</sup>, А.В. Мелихова<sup>4</sup>, Ю.Л. Орлов<sup>1,2,4\*</sup>, М.Л. Филипенко<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр “Институт цитологии и генетики” СО РАН,  
630090, Новосибирск, пр-т. ак. Лаврентьева, 10; \*эл. почта: orlov@d-health.institute

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет,  
630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 2

<sup>3</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
630090, Новосибирск, пр-т. ак. Лаврентьева, 8

<sup>4</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова  
(Сеченовский Университет), 119991, Москва, Большая Пироговская ул., 2, стр.4

Поиск новых мишеней для терапии должен опираться на реконструкцию генной сети заболевания, определение взаимодействий генов, белков и лекарственных соединений. С помощью онлайн-инструментов биоинформатики мы проанализировали актуальный на данный момент массив данных, связанных с метаболизмом ксенобиотиков, регулируемых геном N-ацетилтрансферазы 2 (NAT2). Исследование аллельного полиморфизма гена NAT2 имеет прогностическое значение, позволяющее оценивать риски ряда онкозаболеваний и их повышение на фоне курения и воздействия химических канцерогенов, в том числе лекарственных препаратов. Целью данного исследования явилось определение у представителей коренного ненецкого населения Северной Сибири частот двух важных “медленных” вариантов гена NAT2 (NAT2\*5, rs1801280 и NAT2\*7, rs179931), существенно влияющих на скорость ацетилирования ксенобиотиков. Полученные частоты полиморфных вариантов у ненцев имели промежуточные значения между таковыми для европейцев и азиатов, что, возможно, обусловлено особенностями их адаптации. Мы предложили модель распределения вариантов гена NAT2, участвующего в биотрансформации ксенобиотиков, и взаимодействий в составе генных сетей для исследования особенностей метаболизма у коренных народов Ямала.

**Ключевые слова:** ксенобиотики; N-ацетилтрансфераза 2; нуклеотидные полиморфизмы; ненцы; биоинформатика; реконструкция генных сетей

**DOI:** 10.18097/PBMC20216703213

### ВВЕДЕНИЕ

Реконструкция регуляторных генных сетей современными методами биоинформатики на основе данных об экспрессии генов, белок-белковых взаимодействиях и функциональной аннотации позволяет строить сложные модели заболеваний. Их исследование позволяет повысить эффективность диагностики и терапии благодаря направленным лекарственным воздействиям на выявленные гены-мишени. Активный исследовательский интерес к изучению метаболизма ксенобиотиков обусловлен тем, что онкологические заболевания и их осложнения представляют собой серьезную медицинскую и экономическую проблемы для общества [1, 2]. В настоящее время известен целый ряд онкологических осложнений, взаимосвязанных с генетическими полиморфизмами фермента NAT2 (N-ацетилтрансферазы 2) [3]. Два изофермента N-ацетилтрансферазы — продукты генов NAT1 и NAT2 — являются полиморфными и катализируют как N-ацетилирование (обычно дезактивацию), так и O-ацетилирование (обычно активацию) канцерогенов ароматических и гетероциклических аминов [4]. Эпидемиологические исследования показывают, что полиморфизм NAT1 и NAT2 изменяет степень риска развития рака мочевого пузыря, лёгких, молочных желёз,

головного мозга, колоректального рака [5, 6]. Индивидуальные риски, связанные с генотипами NAT1 и NAT2, возрастают, если наблюдаются в сочетании с другими генами восприимчивости, а также с учётом воздействия ароматических и гетероциклических аминов — канцерогенов и лекарственных препаратов, используемых в клинической медицине. Относительно высокая частота некоторых генотипов NAT1 и NAT2 в популяции приводит к повышению онкологических рисков [6].

Продукт гена NAT2 функционирует в печени и катализирует ацетилирование изониазида (INH), гидралазина, сульфадоксина, прокаинамида, дапсона и других клинически важных препаратов [6]. Он также катализирует ацетилирование ароматических и гетероциклических канцерогенов [6, 7]. Эти процессы способны модифицировать факторы риска развития злокачественных новообразований, затрагивающих мочевой пузырь, колоректальную область, молочные железы, простату, лёгкие, органы головы и шеи. Показано, что NAT2 участвует в развитии болезни Альцгеймера, шизофрении, сахарного диабета, катаракты и паркинсонизма [8]. Медленный и быстрый фенотипы ацетилирования INH были описаны почти 70 лет назад у больных туберкулёзом [9]. Было показано, что различие фенотипов при лечении туберкулёза изониазидом связано с генетической



изменчивостью фермента *NAT2*, который опосредует биотрансформацию *INH* в его метаболит ацетил изониазид, гидролизует до ацетилгидразина и далее ацетируется при участии *NAT2* до нетоксичного диацетилгидразина. При низкой активности *NAT2* ацетилгидразин преимущественно окисляется *CYP2E1*, что приводит к повышенной гепатотоксичности [10].

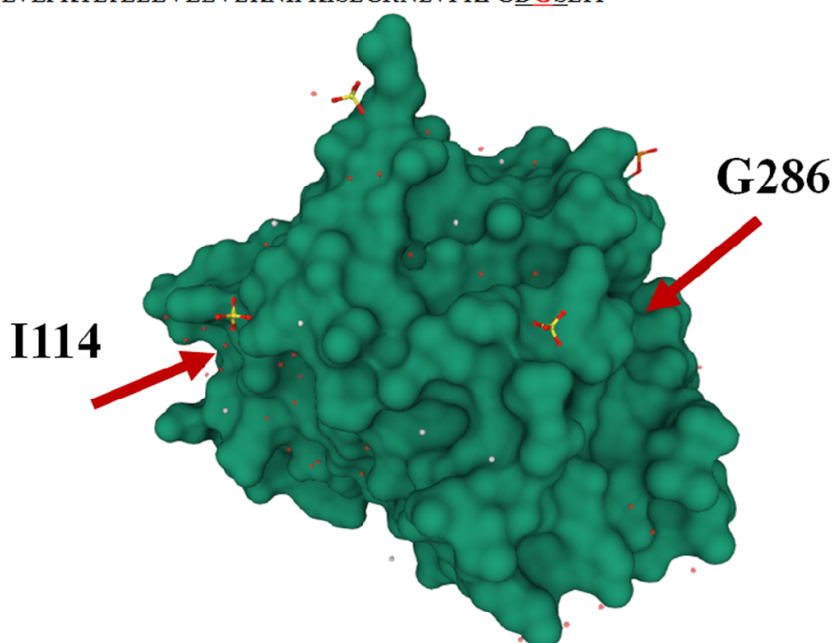
Ген *NAT2* расположен на хромосоме 8p22 человека вместе с геном *NAT1* и псевдогеном *NATP*. *NAT1* и *NAT2* кодируются одиночными экзонами длиной 870 п.н.; белок *NAT2* состоит из 290 аминокислотных остатков. На рисунке 1 представлены последовательность и пространственная структура белка *NAT2* с участками замен аминокислот по данным банка PDB (<http://www.rcsb.org/3d-view/2PFR/1>).

Известно, что ген *NAT2* является полиморфным, установлено более ста аллелей *NAT2* (мутации в генах *NAT* описаны детально на вебсайте: <http://louisville.edu/medschool/pharmacology/NAT.html>, см. также <http://nat.mbg.duth.gr/>) [11]. Ранее исследователи показали наличие 35 различных аллелей в популяциях Индии [12]. Аллель *NAT2\*4* исторически был обозначен как “дикий тип”, поскольку он наиболее часто встречается во многих этнических группах. На основе генотипов *NAT2* возможны три ферментативных фенотипа, а именно быстрые ацетиляторы (имеющие два быстрых аллеля, в гомозиготе), промежуточные ацетиляторы (один быстрый и один медленный аллель, гетерозигота)

и медленные ацетиляторы (два медленных аллеля) [13]. Медленный ацетилирующий статус пациента клинически более важен, чем другие фенотипы. Люди с фенотипом медленного ацелирования более восприимчивы к лекарственным взаимодействиям, в том числе с *INH*. Клиническое значение статуса медленного ацелирования (*NAT2*) изучается во всём мире [10]. Проведённое в Индии исследование показало более высокую концентрацию *INH* в плазме в медленных ацетиляторах, что коррелировало с вариантными генотипами *NAT2* у больных туберкулёзом [14]. Анализ генотипов в Японии также выявил значимое соответствие между генотипом *NAT2* и метаболизмом *INH* у пациентов с туберкулёзом [15].

Современные исследования комплексных заболеваний требуют проведения генетических популяционных исследований [16, 17] с оценкой природных полиморфизмов. Такие генетические популяционные исследования особенно актуальны для коренных народов Сибири и Крайнего Севера России [18, 19], подверженных серьёзным экологическим рискам, связанным, как в частности в Ямало-Ненецком автономном округе (ЯНАО), с проникновением в среду обитания жителей новых химических веществ и канцерогенов. Развитие медицины, инновационные изменения стандартов лечения требует использования всё большего количества новых лекарств, с которыми коренные народы никогда раньше не сталкивались. Исследование аллельного полиморфизма гена

>2PFR\_1|Chains A,B|Arylamine N-acetyltransferase 2|Homo sapiens (9606)  
GGSGSDIEAYFERIGYKNSRNKLDLETLTDILEHQIRAVPFENLNMHCGQAMELGLEAIFDHI  
VRRNRGGWCLQVNQLLYWALTITGFQTTMLGGYFYIPPVNKYSTGMVHLLQVTIDGRNYI  
VDAGSGSSSQMWQPLELISGKDQPVPCIFCLTEERGIWYLDQIRREQYITNKEFLNSHLLPK  
KKHQKIYLFITLEPTIEDFESMNTYLQTSPTSSFITTSFCSLQTPEGVYCLVGFIITYRKFNKYK  
NTDLVEFKTLTEEEVEEVLKNIFKISLGRNLVLPKPGDGLSLTI



**Рисунок 1.** Структура белка *NAT2* (по данным банка пространственных структур белков PDB, запись 2pfr). Выделены позиции аминокислот, соответствующих полиморфизмам *NAT2\*5A* (аминокислотная замена *I114T*) и *NAT2\*7A* (замена аминокислоты *G286E*), и показано их расположение на поверхности белка.

N-ацетилтрансферазы 2 (*NAT2*) имеет прогностическое значение, позволяющее определить, в первую очередь, риски развития ряда онкозаболеваний, а также степень повышения таких рисков на фоне курения и воздействия химических канцерогенов [3].

Современный подход к поискам причин заболеваний включает изучение широкого спектра сложных полигенных нарушений, которые индуцируются как генетическими, так и экологическими факторами [20]. В то же время, современный подход к лечению таких заболеваний и созданию эффективных лекарственных средств базируется на выявлении с помощью анализа структуры геной сети ключевых генов заболевания, что, в свою очередь, даст возможность для подбора и изучения потенциальных вариантов веществ, способных взаимодействовать с выявленными белками. Такой подход в перспективе способен привести к созданию принципиально новых лекарственных средств [21].

Целью нашей работы было исследование популяционных частот двух важных “медленных” вариантов гена *NAT2* (*NAT2*\*5, rs1801280 и *NAT2*\*7, rs1799931), которые существенно влияют на скорость ацетилирования ксенобиотиков (см. данные по dbSNP <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1801280>), среди представителей коренного населения лесных и тундровых ненцев Северной Сибири. По номенклатуре Комитета по аллелям гена *NAT* это *NAT2*\*5*A*, нуклеотидная замена 341T>C, аминокислотная замена I114T, медленный фенотип ацетилирования, и *NAT2*\*7*A*, 857G>A (rs1799931), аминокислотная замена G286E (также медленный тип ацетилирования) (<http://nat.mbg.duth.gr/>).

Была поставлена задача биоинформатической оценки возможного взаимодействия генов (реконструирование геной сети), которая способная дать новую картину популяционных особенностей метаболизма и связанных с ними рисков онкологических заболеваний, что в перспективе может привести к разработке новых подходов к терапии.

## МЕТОДИКА

### Популяционные выборки

Для проведения исследования были сформированы этнические выборки из представителей тундровых и лесных ненцев, проживающих на территории Пуровского района Ямало-Ненецкого автономного округа. В эти выборки не вошли метисы разных уровней от браков коренных народов с русскими и другими пришлыми этносами. Материал для исследования собирался во время экспедиций Института цитологии и генетики СО РАН из Новосибирска в ЯНАО в 1988-2009 годах под руководством Л.П. Осиповой [1]. Забор крови производили у добровольцев, практически здоровых на момент исследования. Образцы ДНК были выделены из лейкоцитарных фракций венозной крови стандартным методом фенол-хлороформной экстракции с использованием протеиназы К.

### Генотипирование

Генотипирование однонуклеотидных замен *NAT2*\*5 (*T341C*) и *NAT2*\*7 (*G857A*) гена *NAT2* проводили в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, следуя методике [19].

### Статистический анализ

Популяционные частоты аллельных вариантов вычисляли на основе наблюдаемых частот генотипов. Оценку соответствия частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга проводили с использованием критерия  $\chi^2$  (Пирсона), применяя тест-программу Hardy-Weinberg equilibrium [22] (<http://www.oege.org/software/hwe-mr-calc.shtml>).

### Визуализация структуры белка

Визуализация структуры белка получена с помощью ресурса PDBe (<https://www.ebi.ac.uk/pdbe/pdbe-kb/proteins/P11245>).

### Построение списка генов, анализ генных онтологий

Использовали интернет-ресурс OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) (<https://omim.org/>) для анализа генов менделевского наследования у человека, поиск проводили по ключевому слову “xenobiotics”. С помощью ресурса PANTHER (Protein ANalysis THrough Evolutionary Relationships) (<http://pantherdb.org/>) был выполнен анализ генных онтологий для заданного списка генов.

### Реконструкция генных сетей для *NAT1* и *NAT2*

Реконструкцию геной сети взаимодействий исследуемых генов проводили с помощью онлайн ресурсов Gene Network 2.0 (<https://www.genenetwork.nl/>) и STRING-DB (<https://string-db.org/>). Для общей оценки сети использовали ресурс GeneMANIA (<https://genemania.org/>) (результаты приведены в дополнительных материалах). Анализ известных метаболических путей и сравнение списков генов проводили по KEGG (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе выполнен анализ нуклеотидных последовательностей гена *NAT2* в популяционной выборке (генотипирование), построена модель геной сети включающего этот ген и гены метаболизма ксенобиотиков, приведён актуальный обзор существующих популяционных и биохимических данных.

Генотипирование *NAT2*\*5 (*T341C*) выявило частоты 28,0% и 38,6% для тундровых (n=91) и лесных (n=145) ненцев, соответственно. Частоты варианта *NAT2*\*7 (*G857A*) составили 9,8% для тундровых (n=97) и 8,2% для лесных (n=165) ненцев. Полученные частоты полиморфных вариантов среди ненцев занимают промежуточное значение между таковыми для европейцев и азиатов.

Наши данные дают представление о распределении двух полиморфных вариантов гена *NAT2*, участвующего в биотрансформации ксенобиотиков, включая лекарственные препараты. Они позволяют объяснить особенности их метаболизма у коренных народов Ямала и служат основой для планирования наиболее безопасной и эффективной лекарственной терапии. Полученные данные могут способствовать выявлению генотипов, связанных с рисками возникновения социально значимых, многофакторных заболеваний, предрасположенности к ним и принятию профилактических мер.

Данные о генах, участвующих в биотрансформации ксенобиотиков, пополняются и агрегируются в базах данных, таких как OMIM (<https://omim.org/>), GeneCards (<https://www.genecards.org/>), MalaCards (<https://www.malacards.org/>). Используя ресурс OMIM, по ключевым словам “xenobiotics” был получен актуальный список имен генов (109 имен, список представлен в дополнительных материалах). Далее был выполнен расчёт категорий и анализ генных онтологий для этого списка генов с помощью ресурсов PANTHER (<http://pantherdb.org/>), и DAVID (<https://david.ncicrf.gov/>) (табл. 1).

Приведённые в таблице 1 данные характеризуют обогащение категорий генных онтологий, связанных с канцерогенезом, метаболизмом, в том числе

метаболизмом ксенобиотиков и лекарственных соединений, ферментативной активностью, оксидоредуктазой, функциями цитохрома P450.

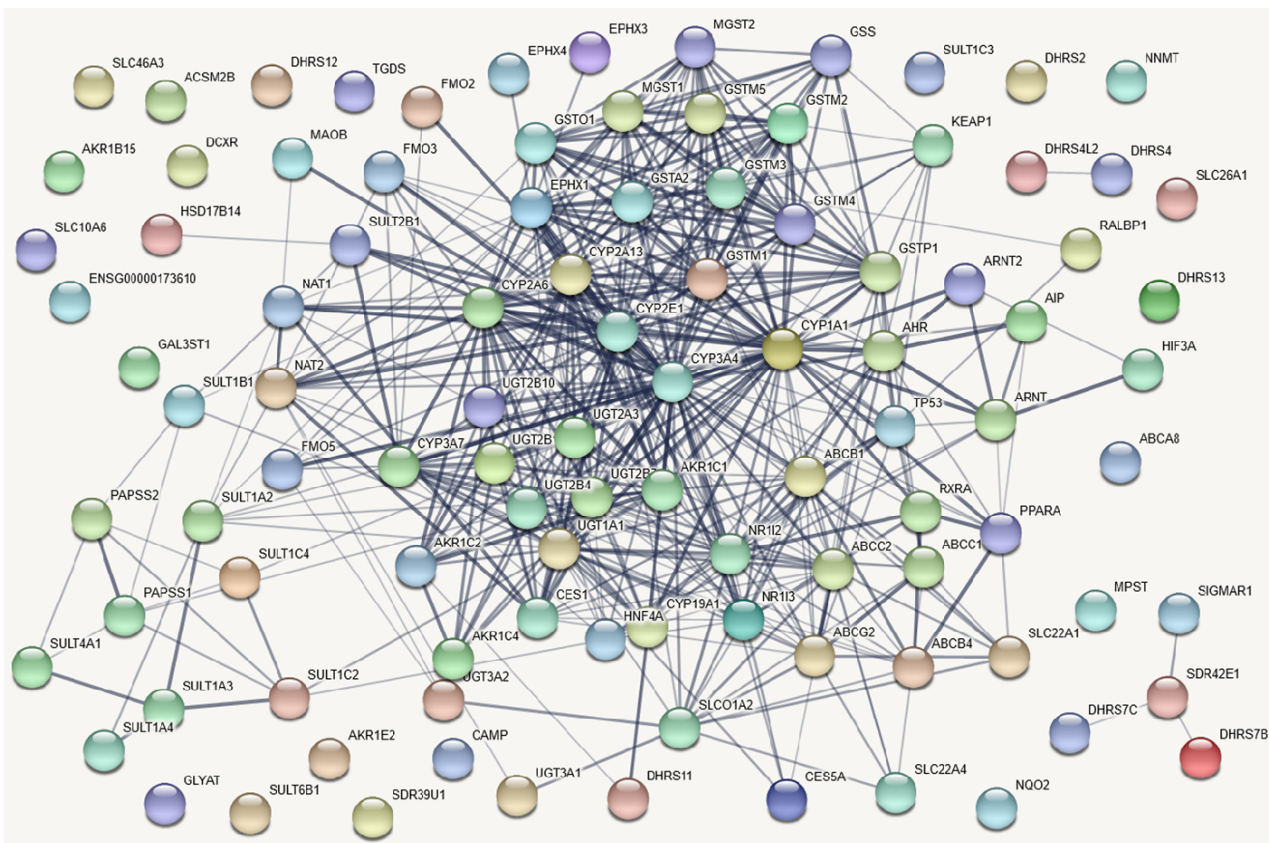
Важные ферменты метаболизма лекарственных соединений, такие как изоформы цитохрома P450 (CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 и CYP3A4) и ферменты фазы II, азот-ацетилтрансфераза 2 (NAT2 — N-acetyltransferase 2), UDP-глюкуронозилтрансфераза (UGT), глутатион-S-трансферазы и тиопурин S-метилтрансфераза (TPMT), экспрессируются в печени [4]. Полиморфизм последовательности ДНК этих генов приводит к снижению или увеличению активности соответствующего фермента. Наряду с генетическими полиморфизмами, факторы окружающей среды и сопутствующий приём лекарств также могут модулировать активность ферментов, метаболизирующих лекарственные средства. Таким образом, лекарственные взаимодействия могут происходить косвенно через гены. Это скрытое (или сетевое) взаимодействие генов, включающих отдельные аллели, и лекарств имеет большое клиническое значение и требует подробных исследований [2]. Аналогичные статистические оценки использовались при исследовании вариантов альтернативного сплайсинга для глиомы [23].

Далее используя список генов метаболизма ксенобиотиков, полученный из OMIM (дополнительные материалы) и ресурс STRING-DB (<https://string-db.org/>),

Таблица 1. Категории генных онтологий для списка генов, участвующих в метаболизме ксенобиотиков

Группа категорий*	Термин онтологий	Число генов	Значение <i>p</i> -value	Коррекция Бенджамини-Хохберга
KEGG_PATHWAY	химический канцерогенез / chemical carcinogenesis	30	2,60E-40	2,40E-38
GOTERM_BP_DIRECT	метаболизм ксенобиотиков / xenobiotic metabolic process	26	6,90E-38	3,40E-35
KEGG_PATHWAY	метаболизм ксенобиотиков цитохромом p450 / metabolism of xenobiotics by cytochrome p450	26	1,30E-33	5,80E-32
KEGG_PATHWAY	метаболизм лекарств цитохромом p450 / drug metabolism – cytochrome p450	24	7,00E-31	2,10E-29
GOTERM_BP_DIRECT	метаболизм стероидов / steroid metabolic process	18	9,10E-28	2,30E-25
UP_KEYWORDS	оксидоредуктаза / oxidoreductase	33	5,50E-25	7,00E-23
GOTERM_BP_DIRECT	окислительно-восстановительные процессы / oxidation-reduction process	32	1,40E-21	2,30E-19
UP_KEYWORDS	НАДФ (никотинамидаденин-динуклеотидфосфат) / NADP	21	2,00E-21	1,30E-19
UP_KEYWORDS	микросома / microsome	18	7,20E-20	3,10E-18
GOTERM_BP_DIRECT	метаболические процессы / metabolic process	20	1,50E-19	1,90E-17
KEGG_PATHWAY	биосинтез стероидных гормонов / steroid hormone biosynthesis	16	3,40E-18	7,80E-17
GOTERM_MF_DIRECT	оксидоредуктазная активность / oxidoreductase activity	19	1,20E-16	3,50E-14
GOTERM_CC_DIRECT	мембраны органелл / organelle membrane	14	1,10E-15	9,50E-14
GOTERM_BP_DIRECT	биосинтез производных глутатиона / glutathione derivative biosynthetic process	10	2,50E-15	2,50E-13

Примечание: \* KEGG\_PATHWAY — категории метаболических путей KEGG, GOTERM\* — категории (термины) генных онтологий GO, UP\_KEYWORDS — категории ключевых слов банка данных UniProt.



The diagram illustrates a complex network of interactions between various CYP2 and CYP3 enzymes and other proteins. The nodes are categorized by color: blue for CYP2 family members, green for CYP3 family members, and yellow for other proteins. The connections are represented by lines, with some highlighted in red to indicate specific interactions.

**Nodes and their categories:**

- Blue nodes (CYP2 family):** CYP2W1, ARNT2, NAT2, ARNT, CYP2J2, CYP3A5, CYP3A7, CYP2C18, CYP2C19, CYP2C9, CYP2B6, CYP2A7, CYP2F1, CYP2C8.
- Green nodes (CYP3 family):** CYP2D6, CYP3A43, CYP3A4, CYP1A2, CYP1A1, CYP2E1, RP11-513G19.1, CYP2A13, CYP2S1.
- Yellow nodes (Other proteins):** AHR.

**Key interactions (red lines):**

- CYP2C18 and CYP2C19 are connected to CYP2C9.
- CYP2C9 is connected to CYP3A4.
- CYP3A4 is connected to CYP3A7.
- CYP3A7 is connected to CYP3A43.
- CYP2A7 is connected to CYP2A13.
- CYP2F1 is connected to CYP2A13.

**Other interactions (grey lines):**

- CYP2W1 is connected to CYP2J2.
- ARNT2 is connected to NAT2.
- NAT2 is connected to CYP2C9.
- ARNT is connected to CYP2B6.
- CYP2J2 is connected to CYP3A5.
- CYP3A5 is connected to CYP3A4.
- CYP3A4 is connected to CYP3A7, CYP3A43, CYP1A2, CYP2C8, CYP2E1, RP11-513G19.1, CYP2A13, and CYP2S1.
- CYP3A7 is connected to CYP3A43.
- CYP2C18 is connected to CYP3A4.
- CYP2C19 is connected to CYP3A4.
- CYP2C9 is connected to CYP2B6, CYP2A7, CYP2F1, CYP2C8, CYP2E1, RP11-513G19.1, and CYP2A13.
- CYP2B6 is connected to CYP2A7, CYP2F1, CYP2C8, CYP2E1, RP11-513G19.1, and CYP2A13.
- CYP2A7 is connected to CYP2F1, CYP2C8, CYP2E1, RP11-513G19.1, and CYP2A13.
- CYP2F1 is connected to CYP2C8, CYP2E1, RP11-513G19.1, and CYP2A13.
- CYP2C8 is connected to CYP3A4, CYP2E1, RP11-513G19.1, and CYP2A13.
- CYP2E1 is connected to CYP3A4, CYP2C8, RP11-513G19.1, and CYP2A13.
- RP11-513G19.1 is connected to CYP3A4, CYP2C8, CYP2E1, CYP2A7, CYP2F1, and CYP2A13.
- CYP2A13 is connected to CYP3A4, CYP2C8, CYP2E1, RP11-513G19.1, CYP2A7, CYP2F1, and CYP2S1.
- CYP3A43 is connected to CYP3A4.
- CYP1A2 is connected to CYP3A4 and CYP1A1.
- CYP1A1 is connected to AHR.
- CYP2S1 is connected to CYP2A13.

217

## ПОЛИМОРФИЗМ ВАРИАНТОВ ГЕНА *NAT2*

Таблица 2. Метаболические пути из базы данных KEGG, представленные в генной сети метаболизма ксенобиотиков (по STRING-DB)

Идентификатор сети KEGG	Название метаболического пути	Найдено генов	Обогащение	Значимость (FDR)
hsa05204	химический карциногенез / chemical carcinogenesis	28/76	1,85	1,85E-39
hsa00982	метаболизм лекарств – цитохром p450 / drug metabolism – cytochrome p450	23/66	1,83	7,15E-32
hsa00980	метаболизм ксенобиотиков с помощью цитохрома p450 / metabolism of xenobiotics by cytochrome p450	23/70	1,80	1,49E-31
hsa00983	метаболизм лекарств – другие ферменты / drug metabolism – other enzymes	22/76	1,75	3,23E-29
hsa00140	биосинтез стероидных гормонов / steroid hormone biosynthesis	15/58	1,70	3,73E-19
hsa05200	метаболические пути при раке / pathways in cancer	16/515	0,78	9,29E-08

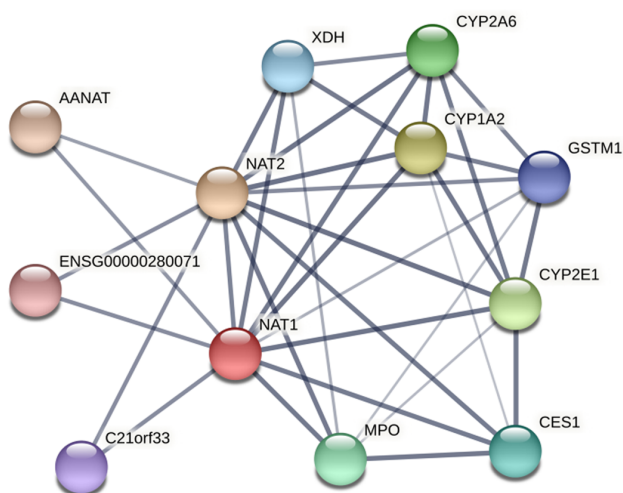


Рисунок 4. Генная сеть, реконструированная только по генам *NAT1* и *NAT2* с добавлением контактирующих белков (по STRING-DB).

Сеть на рисунке 3 подтверждает известное взаимодействие с цитохромами из других баз данных — KEGG (<https://www.kegg.jp/>) и STRING-DB (рис. 2).

Для дальнейшего исследования взаимодействующих макромолекул только с *NAT2* мы использовали возможности STRING-DB по дополнению (расширению) сети за счёт новых элементов, начиная с заданной сети. На рисунке 4 представлена расширенная сеть, полученная только по генам *NAT1* и *NAT2* последовательным дополнением взаимодействующими белками (два шага итерации). Использовался высокий уровень достоверности (confidence score >0,9) как параметр онлайн-инструмента STRING-DB.

Анализ сети показывает, что гены *NAT1* и *NAT2* взаимодействуют между собой и белки цитохромов образуют связанный кластер сети, который является ядром сети генов метаболизма ксенобиотиков (при построении сверху вниз, от полного списка генов из OMIM). Обогащение категорий генных онтологий по KEGG для этой генной сети показывает наличие путей метаболизма кофеина, метаболизма ксенобиотиков, метаболизма с участием цитохрома P450. Таблица 2 представляет

Таблица 3. Популяционные исследования полиморфизмов гена *NAT2* в связи с различными заболеваниями и видами рака

Год публикации	Регион	Заболевания	Ссылка
2017	Китай	Шизофрения	[25]
2018	Азия	Рак толстой кишки	[26]
2018	Индонезия	Заболевания печени	[27]
2019	Азия	Лейкемия	[28]
2019	Африка	Карцинома пищевода	[29]
2020	Европа	Рак простаты	[30]
2020	Мексика	Детская лейкемия	[31]

метаболические пути из базы данных KEGG, полученные по STRING-DB как статистически значимые для списка генов метаболизма ксенобиотиков (топ-категории с уровнем значимости  $1,0E-16$ ). Путь “Pathway in cancer” также является статистически значимым, и важным в контексте данной работы.

Влияние генотипа *NAT1* и *NAT2* на риск развития рака варьирует в зависимости от органа. Обзор исследований предрасположенности полиморфизмов гена *NAT2* к различным видам рака приведён в таблице 3.

Больных туберкулёзным менингитом лечат как изониазидом (INH), так и фенитоином. При одновременном приёме INH замедляет метаболизм многих лекарств, включая варфарин и фенитоин, что может приводить к интоксикации [32]. Было высказано предположение, что мутантные аллели *NAT2* ингибируют метаболизм INH, тем самым увеличивая его концентрацию в плазме, а повышенные уровни INH ингибируют функции цитохромов, в частности CYP2C19, что приводит к токсичности фенитоина [32]. Это может свидетельствовать о взаимодействии гена *NAT2* с лекарством (INH) и ферментом CYP2C19, что может быть представлено как сетевое взаимодействие ген-лекарство.

Вариантный аллель *CYP2C19* метаболизирует несколько важных лекарств, включая противомаларийные, пероральные антикоагулянты,

противоэпилептические, противовирусные, антиагреганты, химиотерапевтические средства, ингибиторы протонной помпы, а также несколько антидепрессантов [33]. У пациентов, имеющих генотип медленного ацетилирующего агента *NAT2* и получающих INH, такое взаимодействие может изменять клинический ответ на препарат.

В целом, работа с растущим массивом накопленных геномных данных клинических материалов, неизбежно приведёт к возникновению концепций, которые помогут продвинуть понимание генетики заболевания до более сложного варианта, учитывающего популяционные данные. Понимание сложности и системности исследуемых заболеваний требует объединения клинических и биоинформатических исследований с их многофакторной интеграцией данных для построения более точных моделей манифестации и прогрессирования этих заболеваний.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ генетической архитектуры метаболизма ксенобиотиков помогает понимать механизм возникновения и течения связанных заболеваний [3]. Найденные частоты полиморфных вариантов гена *NAT2* у ненцев имели промежуточные значения между соответствующими частотами для европейцев и азиатов, что определяет риски заболеваний, связанных с химическими воздействиями и метаболизмом лекарственных средств.

Накопление генетических данных в области геномных полиморфизмов в различных популяциях в настоящее время быстро прогрессирует [25-31], продолжается рост числа публикаций, начиная от работ по исследованию факторов риска до прогнозирования возникновения самого заболевания. Поэтому оценка роли взаимодействия генов и окружающей среды в определении рисков заболевания требует усилий по сбору данных в рамках многоцентровых, тщательно отобранных и хорошо охарактеризованных наборов данных [18, 34, 35]. Применение всего спектра экспериментальных и компьютерных методов даст возможность в ближайшем будущем приблизить создание более безопасных и эффективных лекарственных средств с учётом персональных геномных данных.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают признательность коренным народам Ямало-Ненецкого автономного округа за участие в исследовании, а также сотрудникам лаборатории популяционной этногенетики Федерального исследовательского центра “Институт цитологии и генетики” СО РАН за помощь в экспедиционной работе.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа поддержана грантом РНФ (19-15-00219).

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящее исследование проводилось с использованием генетического материала здоровых добровольцев, выполнялось в соответствии с требованиями документов “Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека” с поправками 2000 г., и “Правила клинической практики в Российской Федерации”, утверждённые Приказом Минздрава РФ №266 от 19.06.2003 г. Забор образцов крови был осуществлён в соответствии с международными правилами ВОЗ с использованием информированного согласия. Все участники исследования дали письменное информированное согласие на клиническое обследование и публикацию их анонимных данных.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Дополнительные материалы доступны в электронной версии статьи на сайте журнала (pbmc.ibmc.msk.ru).*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Табиханова Л.Э., Осипова Л.П., Воронина Е.Н., Филипенко М.Л. (2019) Мед. генетика, **18**(2), 24-34. [Tabikhanova L.E., Osipova L.P., Voronina E.N., Filipenko M.L. (2019) Medical Genetics, **18**(2), 24-34.]
2. Рудик А.В., Дмитриев А.В., Лагуни А.А., Иванов С.М., Филимонов Д.А., Пороиков В.В. (2019) Биомедицинская химия, **65**(2), 114-122. [Rudik A.V., Dmitriev A.V., Lagunin A.A., Ivanov S.M., Filimonov D.A., Poroikov V.V. (2019) Biomeditsinskaya khimiya, **65**(2), 114-122.]
3. Fukunaga K., Kato K., Okusaka T., Saito T., Ikeda M., Yoshida T., Zembutsu H., Iwata N., Mushiroda T. (2021) Front. Genet., **12**, 652704. DOI: 10.3389/fgene.2021.652704.
4. Adithan C., Subathra A. (2016) Indian J. Med. Res., **143**(5), 542-544.
5. Zhu K., Xu A., Xia W., Li P., Zhang B., Jiang H., Zhou S., Wang R. (2021) Front. Oncol., **11**, 567762. DOI: 10.3389/fonc.2021.567762.
6. Hein D.W., Doll M.A., Fretland A.J., Leff M.A., Webb S.J., Xiao G.H., Devanaboyina U.S., Nangju N.A., Feng Y. (2000) Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., **9**, 29-42. PMID: 10667461.
7. Sim E., Walters K., Boukouvala S. (2008) Drug Metab. Rev., **40**(3), 479-510.
8. Butcher N.J., Boukouvala S., Sim E., Minchin R.F. (2002) Pharmacogenomics J., **2**, 30-42.
9. Hughes H.B., Biehl J.P., Jones A.P., Schmidt L.H. (1954) Am. Rev. Tuberc., **70**, 266-273.
10. Zabost A., Brzezińska S., Kozinska M., Biachnio M., Jagodzinski J., Zwolska Z., Augustynowicz-Kopec E. (2013) Biomed. Res. Int., **2013**, 853602. DOI: 10.1155/2013/853602.
11. Blum M., Demierre A., Grant D.M., Heim M., Meyer U.A. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **88**, 5237-5241.
12. Khan N., Pande V., Das A. (2013) Pharmacogenomics, **14**, 289-303.

13. *Parkin D.P., Vandenplas S., Botha F.J., Vandenplas M.L., Seifart H.I., van Helden P.D. et al.* (1997) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **155**, 1717-1722.
14. *Singh N., Dubey S., Chinnaraj S., Golani A., Maitra A.* (2009) *Mol. Diagn. Ther.*, **13**, 49-58.
15. *Kita T., Tanigawara Y., Chikazawa S., Hatanaka H., Sakaeda T., Komada F. et al.* (2001) *Biol. Pharm. Bull.*, **24**, 544-549.
16. *Babenko V., Babenko R., Orlov Y.* (2020) *BMC Genetics*, **21**(Suppl 1), 73. DOI: 10.1186/s12863-020-00873-z.
17. *У Ч., У Х., Орлов Ю.Л., Гегентана Г., Хуо В., Брагин А.О., У Н., Суялату С., Жао Ф., Жао Ж., Табиханова Л.Э., Чен М., Бай Х.* (2017) Вавиловский журнал генетики и селекции, **21**(5), 581-587. [*Wu Q., Wu H., Orlov Y.L., Gegentana G., Huo W., Bragin A.O., Wu N., Suyalatu S., Zhao F., Zhao J., Tabikhanova L.E., Chen M., Bai H.* (2017) *Vavilov J. Selection Breeding*, **21**(5), 581-587.]
18. *Fedorova S.A., Reidla M., Metspalu E., Metspalu M., Rootsi S., Tambets K., Trofimova N., Zhadanov S.I., Hooshiar Kashani B., Olivieri A., Voevoda M.I., Osipova L.P., Platonov F.A., Tomskey M.I., Khusnutdinova E.K., Torroni A., Villems R.* (2013) *BMC Evol. Biol.*, **13**, 127. DOI: 10.1186/1471-2148-13-127.
19. *Tiis R.P., Osipova L.P., Lichman D.V., Voronina E.N., Filipenko M.L.* (2020) *BMC Genet.*, **21**(Suppl 1), 115. DOI: 10.1186/s12863-020-00909-4.
20. *Hallmark B., Karafet T.M., Hsieh P., Osipova L.P., Watkins J.C., Hammer M.F.* (2019) *Mol. Biol. Evol.*, **36**(2), 315-327.
21. *Chautard E., Thierry-Mieg N., Ricard-Blum S.* (2009) *Pathologie Biologie (Paris)*, **57**(4), 324-333.
22. *Rodriguez S., Gaunt T.R., Day I.N.* (2009) *Am. J. Epidemiol.*, **169**(4), 505-514.
23. *Babenko V.N., Gubanov N.V., Bragin A.O., Chadaeva I.V., Vasiliev G.V., Medvedeva I.V., Gaytan A.S., Krivoshepkina A.L., Orlov Y.L.* (2017) *J. Integr. Bioinform.*, **14**(3), 20170022. DOI: 10.1515/jib-2017-0022.
24. *Deelen P., van Dam S., Herkert J.C. et al.* (2019) *Nat. Commun.*, **10**, 2837. DOI: 10.1038/s41467-019-10649-4.
25. *Luan Z., Lu T., Yue W., Copray S., Zhang D.* (2017) *Psychiatr. Genet.*, **27**(2), 71-75.
26. *Wen J., Xu Q., Yuan Y.* (2018) *Cancer Cell Int.*, **18**, 155. DOI: 10.1186/s12935-018-0656-2.
27. *Perwitasari D.A., Darmawan E., Mulyani U.A., Vlies P.V., Alffenaar J.C., Atthobar J., Wilffert B.* (2018) *Int. J. Mycobacteriol.*, **7**(4), 380-386.
28. *Zhu X., Liu Y., Chen G., Guo Q., Zhang Z., Zhao L., Wei R., Yin X., Zhang Y., Wang B., Li X.* (2019) *Medicine (Baltimore)*, **98**(12), e14942. DOI: 10.1097/MD.00000000000014942.
29. *Simba H., Kuivaniemi H., Lutje V., Tromp G., Sewram V.* (2019) *Front. Genet.*, **10**, 642. DOI: 10.3389/fgene.2019.00642.
30. *Martinez-Gonzalez L.J., Antúnez-Rodríguez A., Vazquez-Alonso F., Hernandez A.F., Alvarez-Cubero M.J.* (2020) *Sci. Total Environ.*, **730**, 138314. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.138314.
31. *Medina-Sanson A., Núñez-Enríquez J.C., Hurtado-Cordova E. et al.* (2020) *Front Oncol.*, **10**, 571869. DOI: 10.3389/fonc.2020.571869.
32. *Adole P.S., Kharbanda P.S., Sharma S.* (2016) *Indian J. Med. Res.*, **143**, 581-590.
33. *Umamaheswaran G., Kumar D.K., Adithan C.* (2014) *Indian J. Med. Res.*, **139**, 27-65.
34. *Orlov Y.L., Baranova A.V., Markel A.L.* (2016) *BMC Genetics*, **17**(Suppl 3), 155. DOI: 10.1186/s12863-016-0465-3.
35. *Голденкова-Павлова И.В., Брускин С.А., Авдеев Р.М., Маркарова Е.В., Бигвава С.Г., Радкевич Л.А., Кожекбаева Ж.М., Глотов А.С., Гра О.А., Заседателев А.С., Наседкина Т.В., Курданов Х.А., Пирюзян Э.С.* (2006) *Генетика*, **42**(8), 1143-1150. [*Goldenkova-Pavlova I.V., Brouskin S.A., Abdeev R.M., Markarova E.V., Bigvava S.G., Radkevich L.A., Piruzyan E.S., Kurdanov H.A., Kozhekbaeva Zh.M., Glotov A.S., Gra O.A., Zasedatelev A.S., Nasedkina T.V.* (2006) *Russ. J. Genetics*, **42**(8), 947-953.]

Поступила в редакцию: 23. 04. 2021.  
После доработки: 05. 05. 2021.  
Принята к печати: 11. 05. 2021.

## N-ACETYLTRANSFERASE (*NAT2*) GENE POLYMORPHISM AND GENE NETWORK ANALYSIS

*R.P. Tiis<sup>1,2</sup>, L.P. Osipova<sup>1,2</sup>, E.R. Galieva<sup>2</sup>, D.V. Lichman<sup>1,2</sup>,  
E.N. Voronina<sup>2,3</sup>, A.V. Melikhova<sup>4</sup>, Y.L. Orlov<sup>1,2,4\*</sup>, M.L. Filipenko<sup>2,3</sup>*

<sup>1</sup>Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,  
10 Lavrentyeva str., Novosibirsk, 630090 Russia; \*e-mail: orlov@d-health.institute

<sup>2</sup>Novosibirsk State University,

2 Pirogova str., Novosibirsk, 630090 Russia

<sup>3</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,  
8 Lavrentyeva str., Novosibirsk, 630090 Russia

<sup>4</sup>Sechenov First Moscow State Medical University of the Russian Ministry of Health (Sechenov University),  
2-4 Bolshaya Pirogovskaya str., Moscow, 119991 Russia

To search for new targets of therapy, it is necessary to reconstruct the gene network of the disease, and identify the interaction of genes, proteins, and drug compounds. Using the online bioinformatics tools we have analyzed the current data set related to the metabolism of xenobiotics, mediated by the N-acetyltransferase 2 (*NAT2*) gene. The study of allelic polymorphism of the *NAT2* gene has a prognostic value, allowing to determine the risk of a number of oncological diseases, the degree of increased risk due to smoking and exposure to chemical carcinogens, including drugs. The aim of this study was to determine the frequencies of two important “slow” variants of the *NAT2* gene (*NAT2*\*5, rs1801280 and *NAT2*\*7, rs1799931), which significantly affected the rate of xenobiotic acetylation among the indigenous Nenets population of Northern Siberia. The obtained frequencies of polymorphic variants among the Nenets occupy an intermediate value between those for Europeans and Asians, which might indicate specific features of adaptation. We present a model of the distribution of two polymorphic variants of the *NAT2* gene involved in the biotransformation of xenobiotics to study the characteristics of their metabolism in the indigenous inhabitants of Yamal.

**Key words:** xenobiotics; N-acetyltransferase 2; gene polymorphism; Nenets; bioinformatics; gene networks reconstruction

**Funding.** The work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 19-15-00219).

Received: 23.04.2021, revised: 05.05.2021, accepted: 11.05.2021.