

doi : 10.52485/19986173_2023_1_62

УДК 575.174.015.3:616-002.78

¹Мишко М.Ю., ¹Кушнаренко Н.Н., ²Медведева Т.А.,
¹Мироманова Н.А., ¹Караваяева Т.М., ¹Гайдукова Т.В.

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА РЕПАРАЦИИ ДНК APEX1 С РАЗВИТИЕМ ПОДАГРЫ

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Чита, ул. Горького, 39а, 672000;

²Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка», Российская Федерация, г. Москва, ул. Сосненский стан, дом 8, стр. 11, 108814

Цель исследования. Изучить распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса T444G rs1130409 гена репарации ДНК APEX1 у больных подагрой и оценить их ассоциацию с вероятностью развития заболевания в популяции русских Забайкальского края.

Материалы и методы. Обследовано 80 пациентов (69 мужчин и 11 женщин) с подагрой. Диагноз подагры выставлен согласно классификационным критериям ACR/EULAR, 2015. Контрольную группу составили 46 здоровых лиц соответствующего возраста. По национальной принадлежности все обследуемые являлись русскими, родившимися и проживающими на территории Забайкальского края. Материалом для исследования являлась ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной периферической крови с использованием комплекта реагентов «ДНК-Экспресс Кровь» («Литех», Россия). Все пациенты были генотипированы для выявления полиморфизма локуса T444G rs1130409 гена APEX1. Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета статистических программ Statistica 10,0. Распределение генотипов проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью критерия χ^2 . Различия по частоте аллелей и генотипов между группами оценены критерием χ^2 Пирсона. Для оценки ассоциации генотипов и аллелей с подагрой рассчитаны показатели отношения шансов (Odds Ratio, OR) с оценкой 95%-ного доверительного интервала (Confidence Interval, CI).

Результаты. При исследовании полиморфизма T444G гена APEX1 у больных подагрой обнаружено статистически значимое увеличение частоты гомозиготного генотипа G/G (27,5% против 9%; $\chi^2=6,3$; $p=0,01$; OR=3,98; CI95%=1,28-12,4). В группе больных подагрой мужского пола отмечается более высокая частота мутантного аллеля G по сравнению с контрольной группой (53,6% против 4%; $\chi^2=5,66$; $p=0,01$; OR=2,24; CI95%=1,14-4,40) и статистически значимое уменьшение частоты аллеля T (46,4% против 96% соответственно; $\chi^2=5,66$, $p=0,01$, OR=0,45, CI95%=0,23-0,87).

Заключение. Обнаружены различия в распределении частот аллелей и генотипов полиморфного локуса APEX1 T444G rs1130409 у больных подагрой и здоровых респондентов. Наличие генотипа G/G повышает вероятность подагры в 3,9 раза. У респондентов мужского пола носительство аллеля дикого типа (T) оказывает протективное влияние, в то время как носительство минорного аллеля было ассоциировано с увеличением вероятности развития заболевания. Полученные данные указывают на возможную роль полиморфизма гена APEX1 T444G rs1130409 в патогенезе развития подагры.

Ключевые слова: подагра, мочевая кислота, генетический полиморфизм, APEX1, гены пуринового обмена, гены репарации ДНК.

¹Mishko M. Yu., ¹Kushnarenko N.N., ²Medvedeva T.A.,

¹Miromanova N.A., ¹Karavaeva T.M., ¹Gaidukova T.V.

ASSOCIATIONS OF THE APEX1 T444G DNA REPAIR GENE WITH THE GOUT DEVELOPMENT

¹Chita State Medical Academy, Chita, Gorky str., 39A, 672000;

²Moscow Multidisciplinary Clinical Center "Kommunarka", Russian Federation,
 Moscow, Sosnensky Stan str., 8, building 11, 108814

Objective. To study the frequencies of alleles and genotypes of the polymorphic locus T444G rs1130409 of the APEX1 DNA repair gene in patients with gout and to evaluate their association with the gout development in the Russian population in the Trans-Baikal Territory.

Materials and methods. 80 patients (69 men and 11 women) with gout were examined. The diagnosis of gout was made in accordance with the ACR/EULAR classification criteria, 2015. The control group consisted of 46 persons of the appropriate age. According to nationality all the subjects were Russians, born and living in the territory of the Trans-Baikal Territory. The material for the study was DNA isolated from whole peripheral blood leukocytes using the DNA-Express Blood kit (Litech, Russia). All patients were genotyped to determine the polymorphism of the T444G rs1130409 locus of the APEX1 gene. Statistical data processing was carried out using the Statistica 10.0 software registry. The correspondence of genotype distribution to the Hardy-Weinberg equilibrium was checked by χ^2 criterion. Differences in the frequency of alleles and genotypes between groups were assessed by Pearson's χ^2 test. To assess the association of genotypes and alleles with gout, high odds ratios (Odds Ratio, OR) were calculated with a 95% confidence interval (Confidence Interval, CI).

Results. In the study of T444G polymorphism of the APEX1 gene in patients with gout a statistically significant increase in the frequency of the homozygous genotype G/G (27.5% vs. 9%; $\chi^2=6.3$; $p=0.01$; OR=3.98; CI 95%=1.28-12.4) were found. In the group of male patients with gout, there is a higher frequency of the mutant G allele compared to the control group (53.6% vs. 4%; $\chi^2=5.66$; $p=0.01$; OR=2.24; CI95%=1, 14-4.40) and a statistically significant decrease in the frequency of the T allele (46.4% vs. 96%; $\chi^2=5.66$, $p=0.01$, OR=0.45, CI95%=0.23-0, 87).

Conclusion. Differences were found in the distribution of allele and genotype frequencies of the APEX1 T444G rs1130409 polymorphic locus in patients with gout and healthy respondents. The presence of the G/G genotype G increases the risk of gout by 3.9 times respectively. In male respondents, the carriage of the wild-type (T) allele has a protective effect, while the carriage of the minor allele was associated with an increased likelihood of developing the disease. The data obtained indicate the possible role of the APEX1 T444G rs1130409 gene polymorphism in the pathogenesis of gout.

Key words: gout, uric acid, genetic polymorphism, APEX1, purine metabolism genes, DNA repair genes.

Учитывая наблюдающийся в последние годы рост заболеваемости подагрой среди пациентов молодого и среднего возраста [1, 2], можно отметить, что проблема ранней диагностики и выявления новых предикторов заболевания является достаточно перспективным направлением. Рост заболеваемости среди лиц молодого возраста обусловлен большой распространенностью внешнесредовых факторов, ассоциированных с подагрой, при этом значение генетических факторов в развитии заболевания до настоящего момента остается недостаточно изученным.

В настоящее время интерес к гиперурикемии (ГУ) и подагре обусловлен определением подагры как коморбидного метаболического заболевания, ассоциированного с развитием инсулинорезистентности, нарушениями углеводного и липидного обменов. Кроме того, ГУ часто приводит к формированию хронической болезни почек, артериальной гипертензии, которые также могут быть ассоциированы с неблагоприятным сердечно-сосудистым прогнозом у больных с ГУ и подагрой [3-6].

Несмотря на тенденции к увеличению заболеваемости подагрой в последние десятилетия, сроки диагностики заболевания по разным данным составляют от 2-3 до 6-8 лет с момента дебюта заболевания, что существенно повышает сердечно-сосудистые риски в данной когорте больных [7].

В связи с этим проблема ранней диагностики подагры и выявления молекулярно-генетических предикторов, детерминирующих развитие заболевания, представляет перспективное направление.

В доступной литературе исследования по поиску генетических маркёров развития подагры в мире немногочисленны [8-11]. В российской науке исследований, посвящённых этой теме, практически нет [12-14].

В настоящее время установлены корреляции между генами репарации ДНК (в том числе мутациями гена APEX1) и развитием онкозаболеваний, болезней преждевременного старения [15, 16]. Немногочисленные работы указывают на ассоциацию данного гена с развитием артериальной гипертензии, сахарного диабета 2 типа [17, 18]. Однако работ о взаимосвязи мутации генов репарации ДНК с риском развития ГУ и подагры в доступной литературе не найдено. Ранее нами было показано участие свободнорадикальных процессов как в патогенезе самой болезни, так и в развитии осложнений, в том числе и сердечно-

сосудистых [19]. Наиболее чувствительной мишенью оксидативного стресса является ДНК – основной источник эндогенных пуринов образующихся при распаде нуклеотидов под действием свободнорадикального окисления (СРО). Поскольку дефицит реутилизации пуриновых азотистых оснований в условиях дисфункции генов репарации ДНК может привести к гиперпродукции мочевой кислоты (МК), обоснованным становится поиск генов-кандидатов, ответственных за повреждение и повышение чувствительности ДНК к продуктам СРО у когорты больных подагрой.

Цель исследования. Изучить распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса T444G rs1130409 гена репарации ДНК *APEX1* у больных подагрой и оценить их ассоциацию с вероятностью развития заболевания в популяции русских Забайкальского края.

Материалы и методы. Проведено обследование 125 мужчин и женщин, находившихся на лечении в ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» г. Чита». Из них всем требованиям отбора для настоящего исследования соответствовали 80 человек, которые и явились объектом более углубленного изучения. Медиана возраста пациентов составила 54,0 [45,0; 65,0] года (мужчин – 53,0 [41,5; 66,2], женщин – 55,6 [45,2; 67,0]). Когорты мужчин и женщин были сопоставимы по возрасту ($p = 0,09$). Соотношение мужчин и женщин в основной группе 69:11 (6,3:1). Работа проводилась с учетом Конвенции Совета Европы «О правах человека и биомедицине» (1996), Национального стандарта РФ «Надлежащая клиническая практика» (ГОСТ Р 52379-2005). Работа одобрена этическим комитетом ФГБОУ ВО ЧГМА (протокол № 74 от 06.11.2015).

В исследование включены пациенты с подтвержденным диагнозом подагры. Диагноз выставлен согласно классификационным критериям ACR/EULAR, 2015. По национальной принадлежности все обследуемые относились к популяции русских, родившихся и проживающих на территории Забайкальского края. Принадлежность к популяционной группе определялась по данным генеалогического анамнеза до третьего поколения (согласно рекомендациям 8-го Международного Симпозиума в 1980 г., Лос-Анджелес, США).

Критериями исключения из исследования явились первичный остеоартроз, ревматоидный артрит, другие кристаллические артропатии, дебют артериальной гипертензии до возникновения подагрического артрита, сердечная недостаточность (острая, хроническая IIБ и III стадии), гипертиреоз, гипотиреоз, гиперпаратиреоз, использование некоторых лекарственных средств (цитостатики, тиазидные диуретики и другие), хронический алкоголизм, злокачественные образования, бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких с тяжелой дыхательной недостаточностью, заболевания почек (поликистозная болезнь, хронический гломерулонефрит), тяжелая печеночная и почечная недостаточность (5-я стадия хронической болезни почек), лимфо- и миелопролиферативные заболевания, истинная полицитемия, воспалительные заболевания (острые, хронические в стадии обострения), психические заболевания, психоорганический синдром, возраст менее 18 и старше 65 лет.

У половины пациентов подагра дебютировала в возрасте от 40 до 49 лет, у 35% – в возрасте старше 50 лет (35,2%), каждый пятый резидент испытал первый приступ заболевания в возрасте моложе 40 лет. Более половины (52,6%) наших пациентов страдали подагрой от 1 до 5 лет, каждый четвертый (25,4%) от 6 до 10 лет и 22% имели более анамнез заболевания более 10 лет. Среди пациентов 57,5% имели рецидивирующее, 42,5% – хроническое течение подагры. Больные с хроническим течением отличались ранним дебютом заболевания, вовлечением в процесс большего количества суставов, высокой интенсивностью болевого синдрома по визуально-аналоговой шкале (ВАШ) во время обострения подагры и более высоким уровнем МК сыворотки крови. Характеристика больных подагрой в зависимости от характера течения заболевания представлена в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика больных подагрой (Me [Q1; Q3])

Показатели	Характер течения подагры		p
	Хроническое n = 34 (42,5%)	Рецидивирующее n = 46 (57,5%)	
Уровень МК сыворотки крови, мкмоль/л	628 [553,0; 682,5]	502,0 [443,0; 581,0]	0,001
Уровень МК мочи, мкмоль/л	3721,0 [3118,0; 4468,0]	3452,0 [2860,0; 4258,5]	0,089
Возраст дебюта подагры (Me)	42,5 [36,5; 51,5]	55,2 [48,6; 62,5]	0,043
Количество пораженных суставов	6 [4,0; 8,0]	2,0 [1,0; 3,0]	0,004
Количество атак в год	7 [5,0; 8,0]	3,0 [2,0; 4,0]	0,002
Медиана длительности течения артрита, дни	7,0 [4,0; 15,0]	3,0 [1,5; 5,0]	0,003
Интенсивность боли по ВАШ	68,0 [52,5; 74,0]	54,5 [47,0; 65,0]	0,048

Примечание: МК – мочевая кислота; ВАШ – визуальная аналоговая шкала; p – уровень статистически значимых различий по сравнению с рецидивирующей подагрой.

Всем пациентам выполнены общеклинические и молекулярно-генетические исследования. Мочевую кислоту сыворотки крови и мочи определяли с помощью ферментативного колориметрического теста с использованием реакции с уриказой («HUMAN», Германия). В случае регулярного приема пациентом аллопуринола терапия отменялась на 3-4 дня, после чего производился забор анализов. При приеме пациентами препаратов, влияющих на обмен МК (диуретиков, малых доз аспирина, лозартана, амлодипина), они отменялись на 3-4 дня.

Контрольную группу составили 46 здоровых пациентов, сопоставимых по возрасту (медиана возраста составила 52,6 [43,8; 62,3] года), у которых при клиническом, лабораторном и инструментальном обследовании не выявлено патологических отклонений от принятых в регионе нормативов. Соотношение мужчин и женщин в контрольной группе 25:21(1,2:1). По национальной принадлежности все обследуемые относились к популяции русских, родившихся и проживающих на территории Забайкальского края.

Молекулярно-генетические исследования выполнены в лаборатории НИИ Молекулярной генетики ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия». Взятие крови из локтевой вены у обследуемых больных производилось натощак в стерильных условиях. Материалом для исследования являлась ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной периферической крови с использованием комплекта реагентов «ДНК-Экспресс Кровь» (ООО НПФ «Литех», Россия) согласно инструкции производителя. Респонденты основной и контрольной группы были генотипированы для выявления полиморфизма гена апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы 1 человека (APEX1 T444G rs1130409) с помощью набора Научно-производственной фирмы «Литех» методом полимеразной цепной реакции с детекцией продукта амплификации в режиме реального времени.

Полимеразную цепную реакцию ДНК проводили на ПЦР-амплификаторе ДТ-96 (ООО НПО «ДНК-Технология», Россия). Амплификацию ДНК проводили по следующему алгоритму: начальная денатурация в течение 3 минут при 95 °С, далее 40 циклов денатурации с интервалом 15 секунд при 95 °С, отжиг и элонгация – 40 секунд при 63 °С.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета статистических программ Statistica 10,0, on-line программы «Калькулятор для расчета статистики в исследованиях “случай-контроль”» (<http://84.201.145.131/index.php>).

Статистически значимыми считали отличия при $p < 0,05$. Распределение генотипов проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью критерия χ^2 .

Различия по частоте аллелей и генотипов между группами оценены критерием χ^2 Пирсона, при необходимости вводилась поправка Йетса на непрерывность. Для оценки ассоциации генотипов и аллелей с подагрой рассчитаны показатели отношения шансов (odds ratio, OR), с оценкой 95%-ного доверительного интервала (confidence interval, CI). Значение OR=1 показывало отсутствие ассоциации; OR>1 свидетельствовало о положительной ассоциации заболевания с признаком (фактор повышенного риска); OR<1 рассматривалось

как отрицательная ассоциация (фактор пониженного риска). При анализе использованы аддитивная и рецессивная модели наследования.

Количественные данные представлены в виде медианы (Me), а также 1 и 3 квартилей (интерквартильный размах указан в скобках). Значимость различий оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования. При исследовании полиморфизма гена *APEX1* T444G rs1130409 распределение всех гомозиготных и гетерозиготных мутаций в основной и контрольной группах соответствовало закону Харди-Вайнберга. Частоты аллелей и генотипов в группах не имели статистически значимых отличий ($p > 0,05$) (таблица 2, 3).

Таблица 2

Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов полиморфизма T444G гена *APEX1* по равновесию Харди-Вайнберга в группе больных подагрой

Генотипы	Частота генотипов		χ^2	p
	Наблюдаемая	Ожидаемая		
Генотип T/T	0,213	0,220	0,06	0,81
Генотип T/G	0,513	0,498		
Генотип G/G	0,275	0,282		

Примечание: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с контрольной группой; χ^2 – χ^2 -тест.

Таблица 3

Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов полиморфизма T444G гена *APEX1* по равновесию Харди-Вайнберга в группе контроля

Генотипы	Частота генотипов		χ^2	p
	Наблюдаемая	Ожидаемая		
Генотип T/T	0,283	0,357	2,08	0,15
Генотип T/G	0,630	0,481		
Генотип G/G	0,087	0,162		

Примечание: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с контрольной группой; χ^2 – χ^2 -тест.

При исследовании полиморфизма T444G гена *APEX1* у больных подагрой (таблица 4) обнаружено статистически значимое увеличение частоты гомозиготного генотипа G/G (27,5% против 9%; $\chi^2=6,3$; $p=0,01$; OR=3,98; CI95%=1,28-12,4), что позволяет предположить участие данного полиморфизма в развитии подагры.

Таблица 4

Частоты распределения генотипов и аллелей полиморфизма *APEX1* T444G rs1130409

Ген, генотипы, n (частота)	Пациенты с подагрой (n=80)	Группа контроля (n=46)	χ^2 , p	OR [CI]
Генотипы				
T/T	17 (21,3%)	13 (28%)	$\chi^2=0,79$; $p=0,37$	0,69 [0,29-1,58]
T/G	41 (51,2%)	29 (63%)	$\chi^2=1,65$; $p=0,19$	0,62 [0,29-1,29]
G/G	22 (27,5%)	4 (9%)	$\chi^2=6,3$; $p=0,01$	3,98 [1,28-12,4]
Всего	80	46		
Аллели				
T	75 (46,9%)	55 (59,8%)	$\chi^2=3,89$; $p=0,04$	0,59 [0,35-0,99]
G	85 (53,1%)	37 (40,2%)	$\chi^2=3,89$; $p=0,04$	1,68 [1,00-2,83]
Всего	160	92		

Примечание: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с контрольной группой; χ^2 – χ^2 -тест; OR – отношение шансов; CI – 95%-ный доверительный интервал (confidence interval).

При изучении половых различий полиморфизма T444G гена *APEX1* rs1130409 у больных подагрой не было обнаружено статистически значимых изменений в группе женщин, в отличие от пациентов мужского пола (таблица 5). Возможно, это связано с небольшим

объемом выборки и при увеличении количества респондентов в группе женщин были бы получены соответствующие изменения.

Таблица 5

Частота распределения генотипов и аллелей *APEXI* T444G у больных подагрой в зависимости от пола

Генотипы n	Мужчины с подагрой (n=69)	Группа контроля (n=25)	χ^2 , p	OR [CI]	Женщины с подагрой (n=11)	Группа контроля (n=21)	χ^2 , p	OR [CI]
Генотипы								
T/T	15 (21,7%)	10 (40%)	$\chi^2=3,13$ p=0,08	0,42 [0,16-1,11]	2 (18,2%)	5 (23,8%)	$\chi^2=0,13$ p=0,71	0,71 [0,11-4,44]
T/G	34 (49,3%)	13 (52%)	$\chi^2=0,05$ p=0,82	0,89 [0,36-2,24]	7 (63,6%)	14 (66,7%)	$\chi^2=0,03$ p=0,86	0,88 [0,19-4,03]
G/G	20 (29%)	2 (8%)	$\chi^2=4,5$ p=0,03	4,69 [1,01-21,8]	2 (18,2%)	2 (9,5%)	$\chi^2=0,49$ p=0,48	2,11 [0,25-17,48]
Всего	69	25			11	21		
Аллели								
T	64 (46,4%)	33 (96%)	$\chi^2=5,66$ p=0,01	0,45 [0,23-0,87]	11 (50%)	24 (57,1%)	$\chi^2=0,29$ p=0,59	0,75 [0,27-2,11]
G	74 (53,6%)	17 (4%)	$\chi^2=5,66$ p=0,01	2,24 [1,14-4,40]	11 (50%)	18 (42,9%)	$\chi^2=0,29$ p=0,59	1,33 [0,47-3,75]

Примечание: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с контрольной группой; χ^2 – χ^2 -тест; OR – отношение шансов; CI – 95%-ный доверительный интервал (confidence interval).

Частота мажорного аллеля у мужчин с подагрой была практически в 2 раза ниже, чем в контрольной группе (46,4 против 96% соответственно; $\chi^2=5,66$, p=0,01, OR=0,45, CI95%=0,23-0,87). В то же время минорный аллель G статистически значимо чаще встречался в основной группе мужчин по сравнению с группой контроля (53,6 против 4% соответственно; $\chi^2=5,66$, p=0,01, OR=2,24, CI95%=1,14-4,40). Следовательно, можно предположить, что носительство минорного аллеля G ассоциировано с развитием подагры, а наличие в генотипе «дикого» аллеля T обуславливает протективное действие (таблица 5).

Обсуждение. Роль полиморфизма генов системы репарации ДНК и контроля клеточного цикла подробно изучена в этиологии и патогенезе онкологических заболеваний, сахарного диабета 2 типа, артериальной гипертензии [15-18]. Однако влияние полиморфизмов данных генов на развитие ГУ и подагры практически не исследовано. При анализе литературы нами не было встречено работ, указывающих на вовлеченность генов репарации ДНК в развитие подагры.

Результаты ряда исследований доказывают, что у пациентов с ГУ и подагрой значительно высока интенсивность процессов перекисного окисления, что вносит свой вклад в патогенез заболевания и развитие осложнений [20, 21]. В свою очередь, накопление свободных радикалов может приводить к повреждению биологических макромолекул, в том числе ДНК [22, 23].

Причиной повреждения ДНК, кроме активных форм кислорода, могут также быть различные эндогенные или внешние воздействия, включая действие УФ-лучей, высокой температуры, изменение pH, действие различных ксенобиотиков, токсинов.

Ежедневно у человека возникает около 50 тысяч однонитевых разрывов, более 8 тысяч окисленных и алкилированных оснований, и еще в общей сложности чуть более 100 сложных повреждений (двунитевые разрывы, межмолекулярные ковалентные сшивки ДНК-ДНК и

ДНК-белок). Также каждый день от 2 до 3 тысяч пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов в каждой клетке (на гаплоидный геном) теряют свои азотистые основания сформированием Apurinic/apurimidinic sites (АП-сайты) с сохранением только фосфодиэфирной связи и дезоксирибозы. Скорость образования пиримидиновых АП-сайтов, в отличие от пуриновых, примерно в 2 раза ниже [23, 24].

Гены репарации ДНК играют жизненно важную роль в поддержании геномной целостности, производя репарацию ДНК посредством различных механизмов, которые включают эксцизионную и пострепликативную репарации, вырезание поврежденных нуклеотидов, репарацию одно- и двунитевых разрывов, репарацию ошибочно спаренных нуклеотидов [23, 25]. Несмотря на то, что каждая соматическая клетка теряет за сутки примерно до 10 000 пуринов и пиримидинов, благодаря системе репарации из 1000 повреждений ДНК различного типа лишь 1 приводит к мутации.

Доказанной является связь метаболизма пуриновых азотистых оснований с метаболизмом мочевой кислоты [22].

Как известно, МК является продуктом распада пуриновых нуклеотидов, как эндогенных, так и поступающих с пищей. Запасы МК в организме 1000 мг, которые при подагре увеличиваются в 10 раз.

При катаболизме пуриновых нуклеотидов сохраняется циклическая структура азотистого основания, которая в последующем окисляется с образованием МК, в норме элиминирующейся из организма почками. Гиперпродукция МК, опосредованная как внешними, так и эндогенными факторами приводит к развитию подагры [22].

В настоящее время известно более 100 генов, участвующих в репарации ДНК [25]. Генетические мутации, затрагивающие однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) данных генов, могут нарушать процесс репарации ДНК и приводить к генетической нестабильности.

Избыточный распад пуриновых азотистых оснований в условиях сниженной активности ключевых ферментов репарации ДНК, может приводить к гиперпродукции МК. В свою очередь, МК представляет собой одновременно и активатор перекисного окисления липидов, и антиоксидант [21, 26], она может быть медиатором свободнорадикальных реакций с пероксидом [27], а также способна катализировать окисление адреналина. Доказанная активация процессов СРО в условиях ГУ может вносить свой вклад в процессы повреждения ДНК, замыкая таким образом порочный круг.

Принимая во внимание, что подагра является полиэтиологичным заболеванием с доказанным участием свободнорадикальных процессов как в патогенезе самой болезни, так и в развитии осложнений (в первую очередь сердечно-сосудистых), в качестве гена-кандидата развития заболевания в работе нами был исследован локус rs1130409 T444G гена апуриновой-апиримидиновой эндонуклеазы 1 человека.

Apurinic/apurimidinic (AP) эндонуклеаза (*APE*, *APE1*, *APEX1*, *APEN*, *APEX*, *APX*, *REF1*), принадлежит к большому семейству нуклеаз, родственных ExoIII *Escherichia coli* [23, 28], картирована на 14 хромосоме в локусе 14q11.2 и состоит из четырех интронов и пяти экзонов, смысловая часть длиной 954 нм кодирует 318 аминокислот [28].

Основная AP-эндонуклеаза человека – полифункциональный фермент. *APEX1* участвует в эксцизионной репарации ДНК, исправляя поврежденные азотистые основания и спонтанно возникающие AP-сайты. *APEX1* осуществляет эндонуклеазное расщепление ДНК с 5'-стороны от AP-сайта с формированием одноцепочечного разрыва и образованием 3'-ОН-группы и 5'-дезоксирибозофосфата [23]. Помимо эндонуклеазной активности *APEX1* также обладает 3'-фосфодиэстеразной, 3'-фосфатазной и 3'-5'-экзонуклеазной активностями [29]. Также доказано, что данный фермент представляет собой окислительно-восстановительный фактор (Ref-1), причем проявляется эта функция *APEIX* независимо от участия в репарации ДНК [23, 29].

В общей сложности изучено 18 полиморфизмов гена *APEX1*, наибольшая роль в нарушениях процессов репарации ДНК принадлежит полиморфизму Asp148Glu [29]. Данный полиморфизм обусловлен заменой T>G в 148 кодоне 5 экзона, что приводит к замене

аспарагиновой кислоты глутаминовой кислотой, приводя к снижению функции *APEX1*, с нарушением репаративной активности поврежденной свободными радикалами кислорода ДНК [30, 31].

При изучении полиморфизма локуса T444G апуриновой/апириимидиновой эндонуклеазы 1 человека, нами были установлены различия в распределении частот аллелей и генотипов у больных подагрой и здоровых респондентов. Носительство генотипа G/G ассоциировано с повышением вероятности развития подагры в 3,98 раза. На выборке респондентов мужского пола получены данные о возможном протективном влиянии мажорного аллеля изученного полиморфизма гена *APEX1* на формирование предрасположенности к подагре, в то время как носительство минорного аллеля G можно рассматривать как предиктор развития заболевания у пациентов мужского пола.

Таким образом, изучение генов, регулирующих репарацию ДНК у больных подагрой, позволит установить вероятную их роль в развитии ГУ и симптомов заболевания, уточнить новые молекулярно-генетические звенья патогенеза, разработать программу превентивных мер в соответствии с новыми принципами модели 5П медицины.

Заключение. В ходе проведенного исследования были полученные данные, указывающие на возможную роль полиморфизма гена *APEX1* T444G rs1130409 в патогенезе развития подагры. Однако поскольку указанные взаимосвязи были получены нами впервые, а аналогичных исследований в мировой литературе не найдено, данный вопрос требует дальнейшего и более тщательного изучения на более крупных выборках и на совокупности других популяций.

Информация о финансировании. Работа выполнена при финансовой поддержке ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава РФ в рамках утвержденного плана НИР.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Сведения о вкладе каждого автора в работу:

Мишко М.Ю. – 30% (разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация данных, анализ литературы по теме исследования, научное редактирование, написание текста статьи).

Кушнаренко Н.Н. – 20% (разработка концепции и дизайна исследования, научное редактирование, утверждение окончательного текста статьи).

Медведева Т.А. – 10% (научное редактирование, техническое редактирование).

Мироманова Н.А. – 20% (анализ и интерпретация данных, научное редактирование, техническое редактирование, утверждение окончательного текста статьи).

Караваева Т.М. – 15% (научное редактирование, техническое редактирование, утверждение окончательного текста статьи).

Гайдукова Т.В. – 5% (научное редактирование, техническое редактирование).

Список литературы:

1. Сухих Ж.Л., Штонда М.В., Петров С.А., Воробьева Е.П. Подагра: современные аспекты диагностики и лечения. Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. 2014. 5(11). 79-89.
2. Денисов И.С., Елисеев М.С., Барскова В.Г. Исходы подагры. Обзор литературы. Часть I. Эпидемиология подагры, факторы риска и течение заболевания с развитием хронической тофусной формы. Проблемы практической ревматологии. 2013. 51(5). 569-573. DOI 10.14412/1995-4484-2013-1550.
3. Цурко В.В., Громова М.А., Червякова Ю.Б., Копелев А.А. Гиперурикемия и сердечно-сосудистые заболевания: современные аспекты терапии. Лечебное дело. 2019. 1. 14-19. DOI 10.24411/2071-5315-2019-12085.

4. Денисов И.С., Елисеев М.С., Барскова В.Г. Исходы подагры. Обзор литературы. Часть II. Коморбидные заболевания, риск развития сердечно-сосудистых катастроф и смерти при подагре. Проблемы практической ревматологии. 2013. 51(6). 703-710. DOI 10.14412/1995-4484-2013-703-10.
5. Леяхова М.В., Насонова С.Н., Терещенко С.Н. Гиперурикемия как предиктор хронической сердечной недостаточности. Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2015. 11(4). 355-358. DOI 10.20996/1819-6446-2015-11-4-355-358.
6. Singh J.A., Gaffo A. Gout epidemiology and comorbidities/ *Semin Arthritis Rheum*. 2020. 50 (3S). S11-S16. DOI 10.1016/j.semarthrit.2020.04.008.
7. Елисеев М.С., Новикова А.М. Коморбидность при подагре и гиперурикемии: распространенность, причины, перспективы уратснижающей терапии. Терапевтический архив. 2019. 91(5). 120-128. DOI 10.26442/00403660.2019.05.000232.
8. Merriman T.R. An update on the genetic architecture of hyperuricemia and gout. *Arthritis Res Ther*. 2015. 17 (1). 98. DOI 10.1186/s13075-015-0609-2.
9. Zheng M., Ma J.W. Research progress in the genetics of hyperuricaemia and gout. *Yi Chuan*. 2016 Apr. 38(4). 300-13. DOI: 10.16288/j.ycz.15-385.
10. Chen C.J., Tseng C.C., Yen J.H., et al. ABCG2 contributes to the development of gout and hyperuricemia in a genome-wide association study. *Sci Rep*. 2018. 8(1). 3137. DOI 10.1038/s41598-018-21425-7.
11. Nakatochi M., Kanai M., Nakayama A., et al. Genome-wide meta-analysis identifies multiple novel loci associated with serum uric acid levels in Japanese individuals. *Commun Biol*. 2019. 2. 115. DOI 10.1038/s42003-019-0339-0.
12. Кушнаренко Н.Н., Мишко М.Ю., Медведева Т.А., Витковский Ю.А. Полиморфизм гена ABCG2 у больных подагрой в Забайкальском крае. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2019. 8(2). 77-86. DOI 10.17802/2306-1278-2019-8-2-77-86.
13. Мишко М.Ю., Кушнаренко Н.Н., Медведева Т.А. Анализ межгенных взаимодействий, предрасполагающих к развитию подагры в популяции русских Забайкальского края. *Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание*. 2020. 4. 96-109. URL: <http://zabmedvestnik.ru/arhiv-nomerov/nomer-4-za-2020-god/944/14.html> (дата обращения: 14.11.2022). DOI 10.52485/19986173_2020_4_96.
14. Елисеев М.С., Чикина М.Н., Гусева И.А., Желябина О.В., Самаркина Е.Ю., Коновалова Н.В., Варламов Д.А. Связь полиморфизма Q141K гена ABCG2 с эффективностью уратснижающей терапии у пациентов с подагрой (пилотное исследование). *Современная ревматология*. 2021. 15(6). 55-60. DOI 10.14412/1996-7012-2021-6-55-60.
15. Peng Q., Lu Y., Lao X. et al. Association between OGG1 Ser326Cys and APEX1 Asp148Glu polymorphisms and breast cancer risk: a meta-analysis. *Diagnostic Pathology*. 2014. 9. 108. DOI 10.1186/1746-1596-9-108.
16. Das S., Nath S., Bhowmik A., Ghosh S.K., Choudhry Y. Association between OGG1 Ser326Cys polymorphism and risk of upper aero-digestive tract and gastrointestinal cancers: a metaanalysis. *SpringerPlus*. 2016. 5. 227. DOI 10.1186/s40064-016-1858-5.
17. Naganuma T., Nakayama T., Sato N., et al. Haplotype-Based Case–Control Study on Human Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease 1/Redox Effector Factor-1 Gene and Essential Hypertension. *American Journal of Hypertension*. 2010. 23(2). 186-191. DOI 10.1038/ajh.2009.221.
18. Das S., Purkayastha S., Roy H., Sinha A., Choudhry Y. Polymorphisms in DNA repair genes increase the risk for type 2 diabetes mellitus and hypertension. *BioMol Concepts*. 2018. 9. 80-93. DOI 10.1515/bmc-2018-0008.
19. Кушнаренко Н.Н. Сердечно-сосудистые нарушения у мужчин с подагрой: клинические особенности, механизмы развития, прогнозирование [диссертация ... док. мед. наук]. Чита.: ГОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия». 2012.
20. Кушнаренко Н.Н., Медведева Т.А., Говорин А.В., Мишко М.Ю. Роль изменений жирнокислотного состава мембран эритроцитов в формировании нарушений

кардиогемодинамики у больных подагрой с синдромом инсулинорезистентности. Российский кардиологический журнал. 2018. 23(5). 49-55. DOI 10.15829/1560-4071-2018-5-49-55.

21. Ndrepepa G. Uric acid and cardiovascular disease. *Clin Chim Acta*. 2018. 484. 150-163. DOI 10.1016/j.cca.2018.05.046.
22. Maiuolo J., Oppedisano F., Gratteri S., Muscoli C., Mollace V. Regulation of uric acid metabolism and excretion. *Int J Cardiol*. 2016. 213. 8-14. DOI 10.1016/j.ijcard.2015.08.109.
23. Дырхеева Н.С., Лебедева Н.А., Лаврик О.И. AP эндонуклеаза 1 – ключевой фермент репарации апуриновых/апириимидиновых сайтов. Обзор. *Биохимия*. 2016. 81(9). 1198-1216.
24. Chatterjee N., Walker G.C. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environ Mol Mutagen*. 2017. 58(5). 235-263. DOI 10.1002/em.22087.
25. Bokhari B., Sharma S. Stress Marks on the Genome: Use or Lose? *Int J Mol Sci*. 2019. 20(2). 364. DOI 10.3390/ijms20020364.
26. Weber D., Stuetz W., Toussaint O., et al. Associations between Specific Redox Biomarkers and Age in a Large European Cohort: The MARK-AGE Project/ *Oxid Med Cell Longev*. 2017. 2017. 1401452. DOI 10.1155/2017/1401452.
27. Luo C., Lian X., Hong L., et al. High Uric Acid Activates the ROS-AMPK Pathway, Impairs CD68 Expression and Inhibits OxLDL-Induced Foam-Cell Formation in a Human Monocytic Cell Line, THP-1. *Cell Physiol Biochem*. 2016. 40 (3-4). 538-548. DOI 10.1159/000452567.
28. Yan Z., Yuan Z., Ni J., Gu L., Shen Y. Crystal structure of the crenarchaeal ExoIII AP endonuclease SisExoIII reveals a conserved disulfide bond endowing the protein with thermostability. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017. 490(3). 774-779. DOI 10.1016/j.bbrc.2017.06.116.
29. Esadze A., Rodriguez G., Cravens S.L., Stivers J.T. AP-Endonuclease 1 Accelerates Turnover of Human 8-Oxoguanine DNA Glycosylase by Preventing Retrograde Binding to the Abasic-Site Product. *Biochemistry*. 2017. 56(14). 1974-1986. DOI 10.1021/acs.biochem.7b00017.
30. Lai Y., Jiang Z., Zhou J., Osemota E., Liu Y. AP endonuclease 1 prevents the extension of a T/G mismatch by DNA polymerase β to prevent mutations in CpGs during base excision repair. *DNA Repair (Amst)*. 2016. 43. 89-97. DOI 10.1016/j.dnarep.2016.03.006.
31. Ito H., Matsuo K., Hamajima N., et al. Gene-environment interactions between the smoking habit and polymorphisms in the DNA repair genes, APE1 Asp148Glu and XRCC1 Arg399Gln, in Japanese lung cancer risk. *Carcinogenesis*. 2004. 25(8). 1395-1401. DOI 10.1093/carcin/bgh153.

References:

1. Suhih Zh.L., Shtonda M.V., Petrov S.A., Vorob'eva E.P. Gout: modern aspects of diagnosis and treatment. *Mezhdunarodnye obzory: klinicheskaja praktika i zdorov'e*. 2014. 5(11). 79-89. in Russian.
2. Denisov I.S., Eliseev M.S., Barskova V.G. Gout outcomes. A review of literature. Part 1. Gout: Epidemiology, risk factors, course of the disease with the development of chronic tophus form. *Rheumatology Science and Practice*. 2013. 51(5). 569-573. DOI 10.14412/1995-4484-2013-1550. in Russian.
3. Tsurko V.V., Gromova M.A., Chervyakova Yu.B., Kopelev A.A. Hyperuricemia and Cardiovascular Diseases: Modern Aspects of Therapy. *Lechebnoe delo*. 2019. 1. 14-19. DOI 10.24411/2071-5315-2019-12085. in Russian.
4. Denisov I.S., Eliseev M.S., Barskova VG. Gout outcomes. Literature review. Part II. Comorbid diseases, risk of developing cardiovascular catastrophes and death in gout patients. *Rheumatology Science and Practice*. 2013. 51(6). 703-710. DOI 10.14412/1995-4484-2013-703-10. in Russian.
5. Ledyakhova M.V., Nasonova S.N., Tereshchenko S.N. Hyperuricemia as a predictor of chronic heart failure. *Ration Pharmacother Cardiol*. 2015. 11(4). 355-358. DOI 10.20996/1819-6446-2015-11-4-355-358. in Russian.
6. Singh J.A., Gaffo A. Gout epidemiology and comorbidities/ *Semin Arthritis Rheum*. 2020. 50 (3S). S11-S16. DOI 10.1016/j.semarthrit.2020.04.008.

7. Eliseev M.S., Novikova A.M. Comorbidity in gout and hyperuricemia: prevalence, causes, prospects of urate lowering therapy. *Therapeutic Archive*. 2019. 91(5). 120-128. DOI 10.26442/00403660.2019.05.000232. in Russian.
8. Merriman T.R. An update on the genetic architecture of hyperuricemia and gout. *Arthritis Res Ther*. 2015. 17 (1). 98. DOI 10.1186/s13075-015-0609-2.
9. Zheng M., Ma J.W. Research progress in the genetics of hyperuricaemia and gout. *Yi Chuan*. 2016 Apr. 38(4). 300-13. DOI 10.16288/j.ycz.15-385.
10. Chen C.J., Tseng C.C., Yen J.H., et al. ABCG2 contributes to the development of gout and hyperuricemia in a genome-wide association study. *Sci Rep*. 2018. 8(1). 3137. DOI 10.1038/s41598-018-21425-7.
11. Nakatochi M., Kanai M., Nakayama A., et al. Genome-wide meta-analysis identifies multiple novel loci associated with serum uric acid levels in Japanese individuals. *Commun Biol*. 2019. 2. 115. DOI 10.1038/s42003-019-0339-0.
12. Kushnarenko N.N., Mishko M.Yu., Medvedeva T.A., Vitkovsky Yu.A. ABCG2 gene polymorphism in patients with gout in Zabaikalsky krai. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2019. 8(2). 77-86. DOI 10.17802/2306-1278-2019-8-2-77-86. in Russian.
13. Mishko M. Yu., Kushnarenko N. N., Medvedeva T. A. Analysis of intergenic interactions predisposing to gout among the russian population of the Trans-Baikal territory. *Zabajkal'skij medicinskij vestnik : jelektronnoe nauchnoe izdanie*. 2020. 4. 96-109. URL: <http://zabmedvestnik.ru/arhiv-nomerov/nomer-4-za-2020-god/944/14.html> (date of the application: 14.11.2022). DOI 10.52485/19986173_2020_4_96. in Russian.
14. Eliseev M.S., Chikina M.N., Guseva I.A., Zhelyabina O.V., Samarkina E.Yu., Konovalova N.V., Varlamov D.A. Association of the Q141K polymorphism of the ABCG2 gene with the effectiveness of urate-lowering therapy in patients with gout (a pilot study). *Modern Rheumatology Journal*. 2021. 15(6). 55-60. DOI: 10.14412/1996-7012-2021-6-55-60. in Russian.
15. Peng Q., Lu Y., Lao X., et al. Association between OGG1 Ser326Cys and APEX1 Asp148Glu polymorphisms and breast cancer risk: a meta-analysis. *Diagnostic Pathology*. 2014. 9. 108. DOI 10.1186/1746-1596-9-108.
16. Das S., Nath S., Bhowmik A., Ghosh S.K., Choudhry Y. Association between OGG1 Ser326Cys polymorphism and risk of upper aero-digestive tract and gastrointestinal cancers: a metaanalysis. *SpringerPlus*. 2016. 5. 227. DOI 10.1186/s40064-016-1858-5.
17. Naganuma T., Nakayama T., Sato N., et al. Haplotype-Based Case–Control Study on Human Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease 1/Redox Effector Factor-1 Gene and Essential Hypertension. *American Journal of Hypertension*. 2010. 23(2). 186-191. DOI 10.1038/ajh.2009.221.
18. Das S., Purkayastha S., Roy H., Sinha A., Choudhry Y. Polymorphisms in DNA repair genes increase the risk for type 2 diabetes mellitus and hypertension. *BioMol Concepts*. 2018. 9. 80-93. DOI 10.1515/bmc-2018-0008.
19. Kushnarenko N.N. Cardiovascular disorders in men with gout: clinical features, mechanisms of development, prognosis [dissertation]. Chita. Chita State Medical Academy. 2012. in Russian.
20. Kushnarenko N.N., Medvedeva T.A., Govorin A.V., Mishko M.Yu. The role of fatty acid contents of erythrocytes membranes in cardiohemodynamics disorder in gout patients with insulin resistance syndrome. *Russian Journal of Cardiology*. 2018. 23(5). 49-55. DOI 10.15829/1560-4071-2018-5-49-55. in Russian.
21. Ndrepepa G. Uric acid and cardiovascular disease. *Clin Chim Acta*. 2018. 484. 150-163. DOI 10.1016/j.cca.2018.05.046.
22. Maiuolo J., Oppedisano F., Gratteri S., Muscoli C., Mollace V. Regulation of uric acid metabolism and excretion. *Int J Cardiol*. 2016. 213. 8-14. DOI 10.1016/j.ijcard.2015.08.109.
23. Dyrkheeva N.S., Lebedeva N.A., Lavrik O.I. AP endonuclease 1 is a key enzyme in repair of apurine/apyrimidine sites. Review. *Biochemistry*. 2016. 81(9). 1198-1216. in Russian.
24. Chatterjee N., Walker G.C. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environ Mol Mutagen*. 2017. 58(5). 235-263. DOI 10.1002/em.22087.

25. Bokhari B., Sharma S. Stress Marks on the Genome: Use or Lose? *Int J Mol Sci.* 2019. 20(2). 364. DOI 10.3390/ijms20020364.
26. Weber D., Stuetz W., Toussaint O., et al. Associations between Specific Redox Biomarkers and Age in a Large European Cohort: The MARK-AGE Project/ *Oxid Med Cell Longev.* 2017. 2017. 1401452. DOI 10.1155/2017/1401452.
27. Luo C., Lian X., Hong L., et al. High Uric Acid Activates the ROS-AMPK Pathway, Impairs CD68 Expression and Inhibits OxLDL-Induced Foam-Cell Formation in a Human Monocytic Cell Line, THP-1. *Cell Physiol Biochem.* 2016. 40 (3-4). 538-548. DOI 10.1159/000452567.
28. Yan Z., Yuan Z., Ni J., Gu L., Shen Y. Crystal structure of the crenarchaeal ExoIII AP endonuclease SisExoIII reveals a conserved disulfide bond endowing the protein with thermostability. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017. 490(3). 774-779. DOI 10.1016/j.bbrc.2017.06.116.
29. Esadze A., Rodriguez G., Cravens S.L., Stivers J.T. AP-Endonuclease 1 Accelerates Turnover of Human 8-Oxoguanine DNA Glycosylase by Preventing Retrograde Binding to the Abasic-Site Product. *Biochemistry.* 2017. 56(14). 1974-1986. DOI 10.1021/acs.biochem.7b00017.
30. Lai Y., Jiang Z., Zhou J., Osemota E., Liu Y. AP endonuclease 1 prevents the extension of a T/G mismatch by DNA polymerase β to prevent mutations in CpGs during base excision repair. *DNA Repair (Amst).* 2016. 43. 89-97. DOI 10.1016/j.dnarep.2016.03.006.
31. Ito H., Matsuo K., Hamajima N., et al. Gene-environment interactions between the smoking habit and polymorphisms in the DNA repair genes, APE1 Asp148Glu and XRCC1 Arg399Gln, in Japanese lung cancer risk. *Carcinogenesis.* 2004. 25(8). 1395-1401. DOI 10.1093/carcin/bgh153.