

*Федоров Даниил Александрович*

аспирант

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский

государственный университет»

г. Санкт-Петербург

DOI 10.31483/r-107114

**ПРОВЕРКА ГИПОТЕЗЫ О СЛУЧАЙНОМ ХАРАКТЕРЕ УВЕЛИЧЕНИЯ  
С ВОЗРАСТОМ ЧАСТОТЫ ГЕНОТИПА 5./5 27BP VNTR INTRON4 ГЕНА  
NOS3 У МУЖЧИН СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА РОССИИ  
С ПОМОЩЬЮ НЕПАРАМЕТРИЧЕСКОГО ПАРНОГО КРИТЕРИЯ  
ЗНАКОВЫХ РАНГОВ**

*Аннотация:* в статье показана ассоциация генотипа 5./5 27bp VNTR intron4 гена NOS3 с долголетием у мужчин Северо-западного региона России, что опровергает предположение об отсутствии такой ассоциации сделанное в [1].

*Ключевые слова:* генотип 5./5, NOS3 intron 4 VNTR, ген NOS3, долголетие.

Многое в сердечно-сосудистой системе человека зависит от функционирования синтазы оксида азота третьего типа (эндотелиальной NO-синтазы) NOS3 [2; 3], поэтому проверка на ассоциацию с долголетием ассоциированного (согласно выводам сделанным в работе [8]) с различием в уровнях нитрита и нитрата (NO<sub>x</sub>) минисателлита в интроне 4 гена NOS3 была совершенно необходима и проведена О.С. Готовым в работе [1].

*Материалы и методы исследования* в работе [1] были следующие: работа была выполнена на образцах ДНК, выделенных из лейкоцитов периферической крови, с применением методов ПЦР, электрофореза в полиакриламидном геле, гидролиза ПЦР продуктов эндонуклеазами рестрикции, гетеродуплексного анализа, гибридизации на биологическом «ПФ-биочипе» с последующим анализом результатов на биочип – анализаторе. Был проведен анализ образцов ДНК 376 человек. В исследование были взяты 3 группы. Первая группа – 109

новорожденных (НИИ АГ им. Д.О. Отта РАМН), из них 56,9% (62) девочки и 43,1% (47) мальчики; вторая группа – 119 человек в качестве популяционного контроля в возрасте 20–50 лет (точный возраст людей в этой группе указан не был), не являющиеся родственниками и проживающие в Северо-западном регионе России, из них 51,3% (61) женщины и 48,7% (58) мужчины; третья группа – 148 лиц старше 69 лет (I-й Санкт-Петербургский городской дом престарелых) несколько поколений, которых проживало в Северо-западном регионе России из них 81,1% (120) женщины и 18,9% (28) мужчины.

*Результаты и обсуждение.* О.С. Глотов в работе [1] пришёл к следующим заключениям: «Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей гена *NOS3* (полиморфный сайт в 27п.о. 4/5 в 4 интроне) между выборками новорожденных, лиц среднего возраста и лиц старше 69 лет не выявил статистически значимых различий ( $p > 0.05$ ). Частота аллели 4, ассоциированной с сердечно-сосудистыми заболеваниями не отличалась у новорожденных (20,5%), лиц среднего возраста (20,6%), лиц старше 69 лет (18,5%). При сравнении частоты носительства аллели 4 гена *NOS3* в трех возрастных группах отмечено уменьшение частоты 4/-генотипа в ряду новорожденные – лица среднего возраста – лица старше 69 лет (39%, 38,7% и 33,8%, соответственно).» [1] На основании вышеизложенного был сделан следующий вывод: «Учитывая отсутствие различий в распределении частот аллелей и генотипов у новорожденных, лиц среднего возраста и трех подгрупп лиц старше 69 лет, можно предположить, что изученный полиморфизм гена *NOS3*, определяющий различный уровень синтеза оксида азота не ассоциирован с долгожительством.» [1] О.С. Глотов разрешил автору данной работы провести повторный анализ использованных для написания работы [1] данных, что и было сделано в тезисах [4] и [5] и в нескольких последующих тезисах, из которых стоит отметить [6] и [7], входящие в РИНЦ. Ещё в [6] автор указывал, «что вместо критерия знаков лучше применять существенно более чувствительный критерий Уилконсона», но сама процедура приведена здесь впервые. Рассмотренный здесь критерий является непараметрическим парным критерием знаковых рангов (рассматриваются пары значений частоты генотипа

5./5 у мужчин до достижения определённого возраста и после) Проверяется нулевая гипотеза о равенстве нулю математического ожидания сдвига частоты генотипа 5/5 с возрастом против альтернативной гипотезы «математическое ожидание сдвига частоты генотипа 5./5 с возрастом больше нуля».

Итак, всего лиц мужского пола было исследовано 133, из них 87 имели генотип 5/5, что составило 65,4%. Далее в скобках в таблице 1 приводятся изменения частоты этого генотипа у мужчин старше определённого возраста, а ранги идут отдельным столбцом.

Таблица 1

мужчин старше 20 лет было 86, из которых 60 имели генотип 5/5, что составило 69,8% (+4,4%)	6,5
мужчин старше 69 лет было 28, из которых 20 имели генотип 5/5, что составило 71,4% (+1,6%)	2
мужчин старше 70 лет было 27, из которых 20 имели генотип 5/5, что составило 74,1% (+2,7%)	3
мужчин старше 71 года было 23, из которых 18 имели генотип 5/5, что составило 78,3% (+4,2%);	5
мужчин старше 72 лет было 22, из которых 17 имели генотип 5/5, что составило 77,3% (- 1,0%)	1
мужчин старше 73 лет было 17, из которых 14 имели генотип 5/5, что составило 82,4% (+5,1%)	8
мужчин старше 74 лет было 14, из которых 12 имели генотип 5/5, что составило 85,7% (+3,4%)	4
мужчин старше 75 лет было 11, из которых 10 имели генотип 5/5, что составило 90,1% (+4,4%)	6,5
8 мужчин старше 76 лет имели генотип 5/5, что составило 100,0% (+9,9%)	9

Наименьшее по модулю изменение частоты генотипа 5./5 составило 1,0% – этому изменению присваиваем ранг 1, и это единственное отрицательное изменение частоты генотипа 5./5. Таким образом, сумма рангов, приписанных уменьшению частоты генотипа 5./5 с возрастом (статистика Вилконсона, иногда

в литературе называемая статистикой Манна-Уитни) будет равна 1. Сумма рангов положительных значений, соответствующих увеличению частоты генотипа 5./5 с возрастом составляет  $2 + 3 + 4 + 5 + 6,5 \times 2 + 8 + 9 = 44$ . Так как проверяется «односторонняя гипотеза» о случайном характере увеличения (но не уменьшения) частоты генотипа 5./5 с возрастом, то следует брать из статистической таблицы односторонний квартиль. Для  $n = 9$  односторонний однопроцентный квартиль равен 3. 1 меньше 3, следовательно, гипотеза о случайном характере увеличения частоты генотипа 5./5 с возрастом отвергается при уровне значимости 0,01.

### ***Список литературы***

1. Глотов О.С. Анализ полиморфизма генов сердечно-сосудистой системы и системы детоксикации в различных возрастных группах Санкт-Петербурга: специальность 03.00.15: дис. ... канд. биол. наук / Глотов Олег Сергеевич. – СПб., 2007. – 188 с. – EDN NOUQDN.

2. Дударь А.И. Открытие и исследования оксида азота в биологических системах: ретроспективный анализ / А.И. Дударь // Наука. Мысль. – 2015. – Т. 5. №6. – С. 8–13. – EDN VCUBSR.

3. Кулева Н.В. Значение различных путей генерации оксида азота в кровеносных сосудах млекопитающих при старении / Н.В. Кулева, Д.А. Федоров, И.Е. Красовская // Цитология. – 2018. – Т. 60. №1. – С. 5–13. – DOI 10.31116/tsitol.2018.01.01. – EDN YMYTMK.

4. Федоров Д.А. Простой метод поиска генотипов ассоциированных с долголетием // Биология – наука XXI века: 17-я международная Пущинская школа-конференция молодых ученых. Сборник тезисов (Пущино, 21–26 апреля 2013). – С. 80–81. – <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.29178.54721>

5. Федоров Д.А. NOS 3 как «ген дожития» мужчин северо-запада России / Д.А. Федоров // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2013. – №12–3. – С. 81–83. – EDN RVPGSH.

6. Федоров Д.А. Элементы возможной методики статистической обработки экспериментальных данных при поиске генотипов ассоциированных с

долголетием / Д.А. Федоров // В мире научных открытий. – 2015. – №12–1 (72). – С. 274–283. – EDN VHAVZF.

7. Федоров Д.А. Борьба с ложноотрицательными результатами при поиске генотипов, ассоциированных с долголетием (на примере NOS3-intron-4-VNTR) / Д.А. Федоров // Гены и Клетки. – 2020. – Т. 15. № S3. – С. 151. – EDN EMPKFJ.

8. Wang XL, et al. Genetic contribution of the endothelial constitutive nitric oxide synthase gene to plasma nitric oxide levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997 Nov; 17 (11): 3147–53. doi: 10.1161/01.atv.17.11.3147.