

Популяционные частоты полиморфизма C1173T гена VKORC1, определяющего чувствительность организма к варфарину, у лесных ненцев и нганасан Северной Сибири

Тийс Р.П.^{1,2}, Осипова Л.П.^{1,2}, Воронина Е.Н.^{2,3}, Филипенко М.Л.^{2,3}

1 — ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» Новосибирск, Россия

2 — ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» Новосибирск, Россия

3 — ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук Новосибирск, Россия

Полиморфизм C1173T гена VKORC1 является одним из ключевых факторов, определяющих как этнические, так и индивидуальные различия в чувствительности к антикоагулянту варфарину и его поддерживающей дозе у пациентов при лечении тромбозозависимых заболеваний. В связи с этим, на популяционном уровне проведено исследование полиморфизма VKORC1 C1173T среди коренных представителей лесных ненцев Ямало-Ненецкого автономного округа и нганасан полуострова Таймыр Красноярского края. Генотипирование однонуклеотидных замен в гене VKORC1 проводилось в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов. Выявлено, что вариант VKORC1 1173T встречается с высокой частотой в изученных популяциях: 67% у лесных ненцев и 94% у нганасан. Этот показатель существенно и статистически значимо выше, чем у европейцев, и имеет схожий характер распространения с таковым у азиатов Китая и Японии. Результаты нашего исследования расширяют знания о полиморфизме гена VKORC1 в человеческих популяциях, а также способствуют развитию персонализированной медицины по отношению к коренным жителям Сибири, так как генетический статус человека, имеющего вариант 1173T, может учитываться в целях достижения максимально безопасной и эффективной терапии варфарином при тромбозозависимых заболеваниях.

Ключевые слова: VKORC1 C1173T, варфарин, тромбозозависимые заболевания, лесные ненцы, нганасаны, Северная Сибирь

Для цитирования: Тийс Р.П., Осипова Л.П., Воронина Е.Н., Филипенко М.Л. Популяционные частоты полиморфизма C1173T гена VKORC1, определяющего чувствительность организма к варфарину, у лесных ненцев и нганасан Северной Сибири. *Медицинская генетика* 2020; 19(2): 35-42. DOI: 10.25557/2073-7998.2020.02.35-42

Автор для корреспонденции: Тийс Роза Павловна; e-mail: kruosana@mail.ru

Финансирование. Финансовая поддержка данного исследования осуществлялась грантом РФФ № 19-15-00219 для изучения нганасан и подготовки рукописи статьи. Бюджетным проектом № 0324-2019-0041-C-01 поддержано изучение лесных ненцев.

Конфликт интересов: Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 20.02.2020.

Population frequencies of vkorc1 c1173t polymorphism, which determining the organism sensitivity to warfarin, in forest nenets and nganasans of northern siberia

Tiis R.P.^{1,2}, Osipova L.P.^{1,2}, Voronina E. N.^{2,3}, Filipenko M.L.^{2,3}

1 — The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, The Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences Novosibirsk, Russia

2 — Novosibirsk State University Novosibirsk, Russia

3 — Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, The Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences Novosibirsk, Russia

Polymorphism C1173T of the VKORC1 gene is one of the key factors determining both ethnic and individual differences in the sensitivity to the anticoagulant warfarin and its maintenance dose in patients in the treatment of thrombosis-dependent diseases. In this regard, at the population level the VKORC1 C1173T polymorphism was studied in indigenous populations of the Forest Nenets (the Yamal-Nenets Autonomous Okrug) and Nganasans (the Taimyr Peninsula of the Krasnoyarsk region). Genotyping of C1173T single nucleotide substitution in the VKORC1 gene was carried out in real time using competing TaqMan probes. It was revealed that the variant VKORC1 1173T occurs with a high frequency in the studied populations: 67% in Forest Nenets and 94% in Nganasans. This indicator is significantly higher than that of Europeans, and has a similar distribution pattern with that of Asians. The results of our study expand knowledge about VKORC1 gene polymorphism in human populations, and also promote the development of personalized medicine in relation to indigenous people of Siberia, since the genetic status of a person with variant 1173T can be taken into account at an individual level in order to achieve the most safe and effective warfarin therapy of thrombosis-dependent diseases.

Key words: VKORC1 C1173T, warfarin, thrombosis-dependent diseases, Forest Nenets, Nganasans, Northern Siberia

For citation: Tiis R.P., Osipova L.P., Voronina E. N., Filipenko M.L. Population frequencies of *VKORC1 C1173T* polymorphism, which determining the organism sensitivity to warfarin, in Forest Nenets and Nganasans of Northern Siberia. *Medical genetics* 2020; 19(2): 35-42. [In Rus].

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.02.35-42

Corresponding author: *Tiis Roza Pavlovna*; **e-mail:** kruosana@mail.ru

Funding. Financial support for this research was provided by RNF grant No. 19-15-00219 to study Nganasans and prepare a manuscript of the article. The study of Forest Nenets was supported by the Budget project No 0324-2019-0041-C-01.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Accepted: 20.02.2020

Введение

Ген *VKORC1* кодирует субъединицу 1 комплекса эпоксид-редуктазы витамина К. Этот ген имеет длину в 5126 п.н., располагается на хромосоме 16 в области p12-q21, содержит 3 экзона и кодирует белок размером 18 кДа, состоящий из 163 аминокислотных остатков [1–3]. Белок *VKORC1* осуществляет превращение неактивной формы витамин К 2,3-эпоксида в активную восстановленную форму витамин К-гидрохинон. Витамин К-гидрохинон является кофактором для фермента γ -глутамилкарбоксилазы, которая катализирует реакцию посттрансляционного карбоксилирования остатков глутаминовой кислоты в витамин К зависимых белках таких, как факторы свертывающей (II, VII, IX, X) и противосвертывающей (протеины C, S, Z) систем крови, белки костного метаболизма [2, 4, 5].

Белок *VKORC1* является мишенью антикоагулянтов кумаринового ряда, в том числе варфарина, который весьма эффективен при лечении и профилактике тромбозов, инфарктов, инсультов и других сердечно-сосудистых осложнений [6–10]. Однако во время терапии варфарином могут развиваться нежелательные побочные реакции в виде кровотечений (желудочно-кишечные кровотечения, кровоизлияние в мозг), зачастую обусловленные генетическими особенностями пациента. Поэтому в настоящее время проблема повышения безопасности применения антикоагулянта остается актуальной [11, 12].

Полиморфизм гена *VKORC1*, обусловленный заменой остатка цитозина на остаток тимина в позиции 1173 первого интрона гена (rs9934438), обозначается как *VKORC1 C1173T*. Этот полиморфный вариант, приводящий к снижению активности фермента, ассоциирован с повышенной чувствительностью индивида к варфарину и, тем самым, объясняет генетические различия действия непрямого антикоагулянта на организм [13–15]. Носителям варианта *1173T* требуются более низкие дозы варфарина по сравнению с носителями *1173C*, причем средняя ежедневная доза снижается на 43% у гомозигот *1173TT* и на 22% у гетерозигот *1173CT* [16]. Было показано, что пациенты-

носители хотя бы одного варианта *1173T* имеют повышенный риск кровотечений при терапии варфарином по сравнению с теми, кто имеет генотип *1173CC* [17]. Известно, что на популяционном уровне вариант *VKORC1 1173T* встречается примерно у 9% африканцев, 36–45% европейцев и у 87–92% азиатов [7, 16, 18–20].

Ранее мы исследовали полиморфизм *VKORC1 C1173T* в популяциях телеутов, западных и восточных бурят [21], в таких самодийских этносах, как тундровые ненцы, селькупы, а также у русских, проживающих на одной территории с коренными народностями [22].

Цель настоящего исследования — изучить полиморфизм *VKORC1 C1173T* еще в двух самодийских популяциях: у лесных ненцев и нганасан. Эти данные позволят прогнозировать наличие популяционного риска развития побочных опасных реакций в случае проведения терапии варфарином и могут быть использованы в целях персонализированной медицины.

Методы

Коренные самодийские этносы (лесные и тундровые ненцы, северные селькупы и нганасаны) освоили суровые для проживания регионы Северной Сибири и сохранили тесную связь с окружающей природной средой. По антропологическим и генетическим данным в их генофондах фиксируются европеоидная и монголоидная компоненты [23–28]. Лесные ненцы проживают в основном на территории Пуровского района Ямало-Ненецкого автономного округа (ЯНАО). У представителей этого этноса наблюдается высокая частота родственных браков, поэтому коэффициент инбридинга по родословным (0,012) у них значительно выше, чем у нганасан, селькупов и тундровых ненцев. Нганасаны проживают на территории Таймырского (Долгано-Ненецкого) муниципального района Красноярского края и являются самым северным народом Евразии и самым древним народом Таймыра [29–31].

Генетический материал для данного исследования собирался во время экспедиций в ЯНАО и на полуо-

стров Таймыр сотрудниками лаборатории популяционной этногенетики ИЦиГ СО РАН под руководством Л. П. Осиповой за период 1992 – 2006 гг. Забор крови производился у добровольцев, практически здоровых на момент исследования, в соответствии с правилами [32], с использованием «Информированного согласия» и с одобрения местных органов здравоохранения и этического комитета. Выборки, в которые не вошли метисы разных уровней от браков с русским и другими пришлыми этносами, были сформированы из пула этнических представителей лесных ненцев (N=303) и нганасан (N=186), используя демографические и генеалогические данные путём прямого опроса и с учётом похозяйственных книг.

Образцы ДНК были выделены из лейкоцитарных фракций венозной крови стандартным фенол-хлороформным методом с использованием протеиназы К. Генотипирование однонуклеотидных замен в гене *VKORC1* проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК. Структуры праймеров и зондов приведены в **табл. 1**.

Общий объем реакционной смеси составлял 25 мкл, смесь содержала ДНК с концентрацией 15 нг/мкл, 300 нМ каждого праймера; по 100-200 нМ Taqman-зондов, конъюгированных с FAM или R6G; 200 мкМ dNTPs, амплификационный буфер (650 мМ Tris-HCl, 240 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5% Tween 20, 35 мМ MgCl_2), термостабильную Taq-полимеразу – 0,5 ед. акт. / реакц.

ПЦР проводилась в следующих условиях: начальная денатурация 1 мин 30 сек при 96°C; затем 45 ци-

клов, включающих денатурацию при 96°C 8 сек, отжиг праймеров и последующую элонгацию при 60°C в течение 40 сек (каждый шаг сопровождался регистрацией флуоресцентного сигнала в диапазонах, соответствующих интервалам флуоресценции флуорофоров FAM и R6G). Работа проводилась с использованием амплификатора iCycler iQ 4 (Bio-Rad, USA). Полученные данные обрабатывались с использованием программы «Bio-Rad iQ5». Популяционные частоты аллельных вариантов вычисляли на основе наблюдаемых частот генотипов. Оценку соответствия частот генотипов равновесию Харди–Вайнберга проводили с использованием критерия χ^2 (Пирсона), применяя on-line тест-программу: <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl> (при $p > 0,05$ равновесие выполняется). Для оценки статистической значимости межпопуляционных различий по частотам *VKORC1 1173T* варианта был использован точный критерий Фишера (функция Fisher-test языка R, version 3.2.3). Кроме того, учитывалась поправка на множественные сравнения Бонферрони [33].

Результаты

Распределение частот генотипов *VKORC1 C1173T* представлено в **табл. 2**. Во всех выборках наблюдается соответствие распределения частот генотипов равновесию Харди–Вайнберга.

В обеих исследованных популяционных выборках выявлена низкая частота встречаемости «нормального» генотипа *1173CC*. Однако есть популяционные различия. У лесных ненцев гетерозиготный *CT* и гомозиготный *TT* генотипы встречаются примерно с одина-

Таблица 1

Структуры праймеров и зондов для локуса *VKORC1 C1173T*

Последовательность праймеров	Последовательность зондов
5'- GGGAGGATAGGGTCAGTG -3'	5'R6G-CTAGTCCAAGGGTCGATGATC-BHQ2-3'
5'- ACCTGGGCTATCCTCTGTTC -3'	5'-FAM-CCTAGTCCAAGAGTCGATGATC-BHQ2-3'

Таблица 2

Частоты генотипов *VKORC1 C1173T* и их соответствие равновесию Харди-Вайнберга в исследованных выборках

Популяция	Размер выборки	Генотипы <i>VKORC1</i>			χ^2 (Пирсона)
		CC	CT	TT	
Лесные ненцы	303	11,9% (36)*	41,6% (126)	46,5% (141)	0,340
Нганасаны	186	1,1% (2)	9,7% (18)	89,2% (166)	0,075

*Примечание: в скобках указано количество носителей определенного генотипа.

ковой частотой, 42% и 47%, соответственно. В выборке нганасан, напротив, гомозиготный генотип *1173TT* существенно преобладает, составляя 89%. Согласно литературным данным, высокие частоты *1173TT*, около 83–85%, характерны и для азиатов Японии, Китая, а в европеоидных популяциях доля генотипа *1173TT* существенно снижена и варьирует в пределах 14–19% [7, 18–22, 34–36].

В табл. 3 представлены частоты варианта *VKORC1 1173T*, ассоциированного, по литературным данным, с повышенной чувствительностью его носителей к варфарину в некоторых популяциях. Также в этой таблице представлены данные анализа статистической значимости различий между популяциями.

Из табл. 3 можно видеть, что в популяции нганасан в основном распространен вариант *1173T* (94%). Частота «нормального» варианта *1173C* довольно низка (6%). Схожий характер распределения полиморфных вариантов *VKORC1* наблюдается и в самодийской популяции селькупов, у телеутов и бурят Южной и Восточной Сибири, а также у азиатов Китая и Японии.

У лесных ненцев, а также и у родственной им по языку самодийской популяции тундровых ненцев, можно видеть другую особенность распределения *VKORC1* вариантов. Частота варианта *1173T* (67%) также преобладает над частотой *1173C* (33%), однако она существенно и статистически значимо ниже,

чем у нганасан, селькупов и у азиатов Японии и Китая, но выше, чем у всех рассмотренных европейцев, то есть имеет промежуточное значение. Это согласуется с антропологическими и генетическими данными о наличии в генофондах лесных ненцев несколько большей доли европеоидной компоненты, чем монголоидной [23–28].

Обсуждение

Вероятно, широкому распространению варианта *VKORC1 1173T* в изученных нами популяциях северных самодийцев (лесных и тундровых ненцев, селькупов и нганасан), а также телеутов, западных и восточных бурят Сибири и монголоидных популяций Японии и Китая мог способствовать естественный отбор, предположительно связанный с одним из механизмов адаптации этих народов к довольно суровым условиям проживания и особому типу питания. Известно, что для самодийских популяций, проживающих в экстремально холодных северных условиях, а также для многих монголоидных популяций Евразии (телеутов, бурят, казахов и др.) характерно употребление большого количества белково-липидной пищи (на Крайнем Севере формируется так называемый «полярный метаболический тип», при котором организм переходит на новый уровень гомеостаза, для которого характер-

Таблица 3

Частоты варианта *VKORC1 1173T* и статистическая значимость различий между популяциями

Популяция	Общее число аллелей	Частота <i>VKORC1 1173T</i> , %	Лесные ненцы	Нганасаны
Лесные ненцы	606	67,3		
Нганасаны	372	94,1	p<2,2e-16	
Тундровые ненцы [22]	640	74,5	p=0,0059	p<2,2e-16
Селькупы [22]	660	84,5	p=5,9e-13	p=3,5e-6
Телеуты [21]	232	74,6	p=0,0446	p<1,6e-11
Буряты восточные [21]	264	87,1	p<2,8e-10	p=0,0027
Буряты западные [21]	568	88,9	p<2,2e-16	p=0,0073
Азиаты, Япония [37]	614	89,1	p<2,2e-16	p=0,0082
Азиаты, Китай [20]	780	92,0	p<2,2e-16	p=0,2279
Европейцы, Франция [34]	878	40,0	p<2,2e-16	p<2,2e-16
Европейцы, Швеция [18]	360	39,20	p<2,2e-16	p<2,2e-16
Русские Северной Сибири*	692	36,8	p<2,2e-16	p<2,2e-16
Русские Восточной Сибири [21]	234	43,6	p<5,7e-10	p<2,2e-16

Примечание: учитывая, что было проведено 15 парных сравнений, результаты считались статистически значимыми, если p-value для точного критерия Фишера были меньше 0,0022 (p<0,05/15); полужирным шрифтом выделены статистически значимо различающиеся величины в парном сравнении.

ны иные экологически обусловленные нормы состояния здоровья индивида) [38–41]. Традиционное питание на Севере, в основном, состоит из оленины и местных сортов рыбы. Традиционное питание бурят и телеутов включает большое потребление мяса. С такой пищей в организм попадает большое количество жирорастворимых витаминов, к которым относится и витамин К, необходимый для правильной работы системы свёртывания крови. Ввиду таких особенностей питания можно предположить, а в будущем, используя биохимические методы, провести исследование, которое позволит подтвердить либо опровергнуть нашу гипотезу, что изученные северные и сибирские народы с пищей получают витамин К в большем количестве, чем население, проживающее на других территориях и имеющее европейский тип питания, при котором преобладает углеводная пища. В таком случае возможно наличие следующего адаптационного механизма. Во избежание «токсичности» витамина К и, следовательно, для поддержания свертываемости крови на физиологически нормальном уровне у северных народов отбор действовал в пользу аллелей *VKORC1 1173T*, отвечающих за снижение активности фермента *VKORC1*, а значит и снижение активности витамин К-зависимых белков, участвующих в процессе свертывания крови. Это, в свою очередь, совместно с тем фактом, что у самодийцев выявлены крайне низкие частоты мутаций в генах *FII* и *FV* факторов системы свертывания крови [42], может явиться одной из генетических детерминант, способствующих снижению риску развития таких мультифакториальных заболеваний, как тромбозы, инфаркты миокарда и инсульты в этих популяциях. Данный факт заслуживает самого пристального изучения в ближайшее время. Для того, чтобы дополнить «генеогеографическую карту» распределения полиморфизма гена *VKORC1 1173T* в Северной Сибири, мы запланировали в ближайшее время изучить выборку из популяции якутов Республики Саха. В научной литературе описан другой полиморфизм этого гена в якутской выборке [43].

Кроме того, если принимать во внимание высокую долю *VKORC1 1173T* у коренных этносов Сибири и выявленную среди европейцев ассоциацию этого варианта с повышенным риском развития кальцификации стенок артерий [44], то представляется необходимым выполнить дополнительные ассоциативные исследования для изучения подобных связей в популяциях самодийских этносов.

Что касается высокой частоты варианта *VKORC1 1173T* в выборках из Японии и Китая, то одним из возможных объяснений этому факту могут служить общие

с сибирскими популяциями этногенетические корни в процессе становления данных этносов.

Заключение

Наше исследование показало, что частота встречаемости носителей полиморфного варианта *VKORC1 1173T* в самодийских популяциях нганасан и лесных ненцев довольно высока. Поэтому, в случае необходимости проведения терапии варфарином, в целях её безопасности и эффективности, следует обязательно учитывать индивидуальный генетический профиль пациентов. Кроме того, полученные результаты могут быть использованы не только для лечения и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний у коренных северных народов, но и других патологий, в которых задействованы витамин К зависимые белки.

Благодарности. Авторы выражают глубокую благодарность представителям коренных этносов, принявшим участие в данном исследовании, а также Бурлаковой Н. А., Молетотовой Н. А., Карафет Т. М., Вепреву С. Г. и Тийсу Е. С. за оказание технической помощи в проведении исследования.

Список литературы

1. Oldenburg J., Bevans C.G., Muller C.R., Watzka M. Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (*VKORC1*): the key protein of the vitamin K cycle. *Antioxid Redox Signal* 2006; 8 (3-4): 347–353. doi: 10.1089/ars.2006.8.347.
2. D'Andrea G., D'Ambrosio R.L., Margaglione M. Oral anticoagulations: pharmacogenetics relationship between genetic and non-genetic factors. *Blood Reviews* 2008; 22: 127–140. doi: 10.1016/j.blre.2007.11.004.
3. Garcia A.A., Reitsma P.H. *VKORC1* and vitamin K cycle. *Vitamins and Hormones* 2008; 78: 23–33. doi: 10.1016/S0083-6729(07)00002-7.
4. Schalekamp T., Brasse B.P., Roijers J.F. et al. *VKORC1* and *CYP2C9* genotypes and acenocoumarol anticoagulation status: interaction between both genotypes affects overanticoagulation. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2006; 80 (1): 13–22. doi: 10.1016/j.clpt.2006.04.006.
5. Crawford D., Brown-Gentry K., Rieder M. *VKORC1* common variation and bone mineral density in the third national health and nutrition examination survey. *PLoS ONE* 2010; 5 (12): 1–7. doi: 10.1371/journal.pone.0015088.
6. Oldenburg J., Watzka M., Rost S., Muller C.R. *VKORC1*: molecular target of coumarins. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2007; 5 (1): 1–6. doi: 10.1111/j.1538-7836.2007.02549.x.
7. Wang Y., Chen H., Moramy K.M. et al. Regulatory polymorphism in Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (*VKORC1*) affects gene expression and warfarin dose requirement. *Blood* 2008; 112 (4): 1013–1021. doi: 10.1182/blood-2008-03-144899.
8. Singer D.E., Albers G.W., Dalen J.E. et al. Antithrombotic therapy in atrial fibrillation: American College of Chest Physicians Evidence Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 2008; 133 (6): 546–592. doi: 10.1378/chest.08-0678.
9. Furie K.L., Kasner S.E., Adams R.J. et al. Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke or transient ischemic attack: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association.

- sociation/american stroke association. *Stroke* 2011; 42 (1): 227–276. doi: 10.1161/STR.0b013e3181f7d043.
10. Hart R.G., Pearce L.A., Aguilar M.I. Meta-analysis: Antithrombotic therapy to prevent stroke in patients who have nonvalvular atrial fibrillation. *Annals of Internal Medicine* 2007; 146 (12): 857–867. doi: 10.7326/0003-4819-146-12-200706190-00007.
 11. Сычев Д.А., Игнатьев И.В., Кукес В.Г. Генетическая основа чувствительности к непрямые антикоагулянтам: фокус на полиморфизм генов *VKORC1* и *APOE*. *Российский кардиологический журнал* 2005; 5: 77–79.
 12. Сычев Д.А., Кропачева Е.С., Игнатьев И.В. и др. Фармакогенетика непрямых антикоагулянтов: значение генотипа в повышении эффективности и безопасности терапии. *Кардиология* 2006; 7: 72–77.
 13. Wadelius M., Chen L.Y., Downes K. et al. Common *VKORC1* and *GGCX* polymorphisms associated with warfarin dose. *Pharmacogenomics Journal* 2005; 5: 262–270. doi: 10.1038/sj.tpj.6500313.
 14. Чугунова С.А., Николаева Т.Я., Данилова А.Л. и др. Полиморфизмы генов *VKORC1* и *CYP2C9*, влияющих на чувствительность к антикоагулянтной терапии, у больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения. *Якутский медицинский журнал* 2014; 2 (46): 64–67.
 15. Limdi N.A., Amett D.K., Goldstein J.A. et al. Influence of *CYP2C9* and *VKORC1* on warfarin dose, anticoagulation attainment and maintenance among European-Americans and African-Americans. *Pharmacogenomics* 2008; 9: 511–526. doi: <https://doi.org/10.1038/jhg.2012.94>.
 16. D'Andrea G., D'Ambrosio R.L., Perna P.D. et al. A polymorphism in the *VKORC1* gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin. *Blood* 2005; 105 (2): 645–649. doi: 10.1182/blood-2004-06-2111.
 17. Reitsma P.H., van der Heijden J.F., Groot A.P. et al. A *C1173T* dimorphism in the *VKORC1* gene determines coumarin sensitivity and bleeding risk. *PLOS Medicine* 2005; 2 (10): 996–998. doi: 10.1371/journal.pmed.0020312.
 18. Osman A., Enstrom C., Arbring K. et al. Main haplotypes and mutational analysis of vitamin K epoxide reductase (*VKORC1*) in a Swedish population: a retrospective analysis of case records. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2007; 4: 1723–1729. doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.02039.x.
 19. Schalekamp T., Brasse B.P., Roijers J.F.M. et al. *VKORC1* and *CYP2C9* genotypes and phenprocoumon anticoagulation status: interaction between both genotypes affects dose requirement. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2007; 81 (2): 185–193. doi: 10.1038/sj.cpt.6100036.
 20. Larramendy-Gozaolo C., Yang J.Q., Verstuyft C. et al. Genetic polymorphism of vitamin K epoxide reductase (*VKORC1*) *1173C>T* in a Chinese and a Caucasian population. *Pharmacology and Toxicology* 2006; 98: 611–613. doi: 10.1111/j.1742-7843.2006.pto_440.x.
 21. Табиханова Л.Э., Осипова Л.П., Чуркина Т.В. и др. Полиморфизм генов *F2*, *F5* и *VKORC1* в популяциях бурят, телеутов и русских жителей Восточной Сибири. *Молекулярная медицина* 2018; 16 (3): 31–36.
 22. Корчагина Р.П., Осипова Л.П., Вавилова Н.А. и др. Полиморфизм гена *VKORC1* (*C1173T*), определяющего чувствительность индивидов к варфарину, в популяциях коренных этносов селькупов и тундровых ненцев, а также у русских Северной Сибири. *Вестник КемГУ* 2012; 1 (49): 19–23.
 23. Дебец Г.Ф. Селькупы (антропологический очерк). Труды института этнографии. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1947. С. 103–145.
 24. Sukernik R.I., Osipova L.P., Karaphet T.M., Abanina T.A. Studies on blood groups and other genetic markers in Forest Nentzi: variation among the subpopulations. *Human Genetics* 1980; 55: 397–404. doi: 10.1007/bf00290224.
 25. Осипова Л.П. Генетические маркеры иммуноглобулинов (система Gm) для оценки процессов миграции и метисации в популяциях человека в Северной Сибири. *Сибирский экологический журнал* 1994; 1 (2): 129–140.
 26. Karafet T.M., Osipova L.P., Gubina M.A. et al. High levels of Y chromosome differentiation among Native Siberian populations and the genetic signature of a boreal hunter-gatherer way of life. *Human Biology* 2002; 16: 702–722. doi: 10.1353/hub.2003.0006.
 27. Аксянова Г.А., Багашев А.Н., Богордаева А.А. и др. Этнография и антропология Ямала. Новосибирск: Наука, 2003. 390 с.
 28. Goltsova T.V., Osipova L.P., Zhadanov S.I., Villems R. The effect of marriage migration on the genetic structure of the Taimyr Ngeanasan population: genealogical analysis inferred from MtDNA markers. *Russian Journal of Genetics* 2005; 41 (7): 779–788. doi: 10.1007/s11177-005-0160-3.
 29. Абакина Т.А. Популяционная структура лесных ненцев: демографические характеристики, структура браков, миграция, анализ смешения. *Генетика* 1982; 18 (11): 1884–1893.
 30. Посух О.Л., Осипова Л.П., Крюков Ю.А., Ивакин Е.А. Генетико-демографический анализ популяций коренных жителей Самбургской тундры. *Генетика* 1996; 32 (6): 822–829.
 31. Гольцова Т.В., Осипова Л.П. Генетико-демографическая структура популяций коренных народов Сибири в связи с проблемами микроэволюции. *Вестник ВОГУ* 2006; 10 (1): 126–154.
 32. WHO best practices for injections and related procedures toolkit. 2010. Available at: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44298/9789241599252_eng.pdf?sequence=1 Accessed: 02.03.2020.
 33. Miller Jr.R. Simultaneous statistical inference. New York, 1966.
 34. Lacut K., Larramendy-Gozaolo C., Le Gal G. et al. Vitamin K epoxide reductase genetic polymorphism is associated with venous thromboembolism: results from the EDITH study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2007; 5: 2020–2024. doi: 10.1111/j.1538-7836.2007.02706.x.
 35. Suh J.W., Baek S.H., Park J.S. et al. Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 gene polymorphism is associated with atherothrombotic complication after drug-eluting stent implantation: 2-center prospective cohort study. *American Heart Journal* 2009; 157 (5): 908–912. doi: 10.1016/j.ahj.2009.02.001.
 36. Yan X., Yang F., Zhou H. et al. Effects of *VKORC1* genetic polymorphisms on warfarin maintenance dose requirement in a Chinese Han Population. *Medical Science Monitor* 2015; 21: 3577–3584. doi: 10.12659/msm.894414.
 37. Takahashi H., Wikinson G.R., Nutescu E.A. et al. Different contributions of polymorphisms in *VKORC1* and *CYP2C9* to intra- and inter-population differences in maintenance dose of warfarin in Japanese, Caucasians and African-Americans. *Pharmacogenetics and Genomics* 2006; 16 (2): 101–110. doi: 10.1097/01.fpc.0000184955.08453.a8.
 38. Панин Л.Е. Энергетические аспекты адаптации. М.: Медицина, 1978. 192 с.
 39. Отева Э.А., Масленников А.Б., Николаева А.А. и др. Особенности липидного состава сыворотки крови у северных селькупов. *Терпевтический архив* 1993; 65 (1): 21–24.
 40. Hsieh P., Hallmark B., Watkins J. et al. Exome Sequencing Provides Evidence of Polygenic Adaptation to a Fat-Rich Animal Diet in Indigenous Siberian Populations. *Molecular Biology and Evolution* 2017; 34 (11): 2913–2926. doi: 10.1093/molbev/msx226.
 41. Hallmark B., Karafet T.M., Hsieh P. et al. Genomic Evidence of Local Adaptation to Climate and Diet in Indigenous Siberians. *Molecular Biology and Evolution* 2019; 36 (2): 315–327. doi: 10.1093/molbev/msy211.
 42. Тийс Р.П., Осипова Л.П., Табиханова Л.Э. и др. Генетический полиморфизм факторов системы свертывания крови *FII* и *FV* в популяциях коренных этносов (тундровых и лесных ненцев, нганасан), русских Северной Сибири и их метисов в связи с риском развития тромбозов. *Медицинская генетика* 2015; 7: 27–31.
 43. Chertovskikh Y.V., Malova E.U., Maksimova N.R. et al. *VKORC1* polymorphisms and warfarin maintenance dose in population of

- Sakha (Yakuts). *The International Journal of Risk and Safety in Medicine* 2015; 27 (1): 17–18. doi: 10.3233/JRS-150673.
44. Teichert M., Visser L.E., van Schaik R.H. et al. Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1) polymorphism and aortic calcification: The Rotterdam study. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2008; 28: 771–776. doi: 10.1161/ATVBAHA.107.159913.
- ## References
1. Oldenburg J., Bevans C.G., Muller C.R., Watzka M. Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1): the key protein of the vitamin K cycle. *Antioxid Redox Signal* 2006; 8 (3-4): 347–353. doi: 10.1089/ars.2006.8.347.
 2. D'Andrea G., D'Ambrosio R.L., Margaglione M. Oral anticoagulations: pharmacogenetics relationship between genetic and non-genetic factors. *Blood Reviews* 2008; 22: 127–140. doi: 10.1016/j.btre.2007.11.004.
 3. Garcia A.A., Reitsma P.H. VKORC1 and vitamin K cycle. *Vitamins and Hormones* 2008; 78: 23–33. doi: 10.1016/S0083-6729(07)00002-7.
 4. Schalekamp T., Brasse B.P., Roijers J.F. et al. VKORC1 and CYP2C9 genotypes and acenocoumarol anticoagulation status: interaction between both genotypes affects overanticoagulation. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2006; 80 (1): 13–22. doi: 10.1016/j.clpt.2006.04.006.
 5. Crawford D., Brown-Gentry K., Rieder M. VKORC1 common variation and bone mineral density in the third national health and nutrition examination survey. *PLoS ONE* 2010; 5 (12): 1–7. doi: 10.1371/journal.pone.0015088.
 6. Oldenburg J., Watzka M., Rost S., Muller C.R. VKORC1: molecular target of coumarins. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2007; 5 (1): 1–6. doi: 10.1111/j.1538-7836.2007.02549.x.
 7. Wang Y., Chen H., Moramy K.M. et al. Regulatory polymorphism in Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1) affects gene expression and warfarin dose requirement. *Blood* 2008; 112 (4): 1013–1021. doi: 10.1182/blood-2008-03-144899.
 8. Singer D.E., Albers G.W., Dalen J.E. et al. Antithrombotic therapy in atrial fibrillation: American College of Chest Physicians Evidence Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 2008; 133 (6): 546–592. doi: 10.1378/chest.08-0678.
 9. Furie K.L., Kasner S.E., Adams R.J. et al. Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke or transient ischemic attack: a guideline for healthcare professionals from the American heart association/american stroke association. *Stroke* 2011; 42 (1): 227–276. doi: 10.1161/STR.0b013e3181f7d043.
 10. Hart R.G., Pearce L.A., Aguilar M.I. Meta-analysis: Antithrombotic therapy to prevent stroke in patients who have nonvalvular atrial fibrillation. *Annals of Internal Medicine* 2007; 146 (12): 857–867. doi: 10.7326/0003-4819-146-12-200706190-00007.
 11. Sychev D.A., Ignat'ev I.V., Kukes V.G. Geneticheskaja osnova chuvstvitel'nosti k neprjamym antikoagulyantam: fokus na polimorfizm genov *VKORC1* i *APOE*. [Genetic basis of sensitivity to indirect anticoagulants: focus on polymorphism of the VKORC1 and APOE genes]. *Rossiiskii kardiologicheskii zhurnal [Russian Journal of Cardiology]* 2005; 5: 77–79. (In Russ.)
 12. Sychev D.A., Kropacheva YE.S., Ignat'yev I.V. i dr. Farmakogenetika neprjamykh antikoagulyantov: znachenije genotipa v povyshenii effektivnosti i bezopasnosti terapii. [Pharmacogenetics of indirect anticoagulants: the importance of the genotype in increasing the effectiveness and safety of therapy]. *Kardiologija [Cardiology]* 2006; 7: 72–77. (In Russ.)
 13. Wadelius M., Chen L.Y., Downes K. et al. Common *VKORC1* and *GGCX* polymorphisms associated with warfarin dose. *Pharmacogenomics Journal* 2005; 5: 262–270. doi: 10.1038/sj.tpj.6500313.
 14. Chugunova S.A., Nikolayeva T.J.A., Danilova A.L. i dr. Polimorfizm genov *VKORC1* i *CYP2C9*, vliyayushchikh na chuvstvitel'nost' k antikoagulyantnoi terapii, u bol'nykh s ostrymi narusheniyami mozgovogo krovoobrashchenija. [Polymorphisms of the *VKORC1* and *CYP2C9* genes that affect sensitivity to anticoagulant therapy in patients with acute cerebrovascular accident]. *Jakutskii medicinskii zhurnal [Yakut Medical Journal]* 2014; 2 (46): 64–67. (In Russ.)
 15. Limdi N.A., Arnett D.K., Goldstein J.A. et al. Influence of CYP2C9 and VKORC1 on warfarin dose, anticoagulation attainment and maintenance among European-Americans and African-Americans. *Pharmacogenomics* 2008; 9: 511–526. doi: https://doi.org/10.1038/jhg.2012.94.
 16. D'Andrea G., D'Ambrosio R.L., Perna P.D. et al. A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin. *Blood* 2005; 105 (2): 645–649. doi: 10.1182/blood-2004-06-2111.
 17. Reitsma P.H., van der Heijden J.F., Groot A.P. et al. A C1173T dimorphism in the VKORC1 gene determines coumarin sensitivity and bleeding risk. *PLOS Medicine* 2005; 2 (10): 996–998. doi: 10.1371/journal.pmed.0020312.
 18. Osman A., Enstrom C., Arbring K. et al. Main haplotypes and mutational analysis of vitamin K epoxide reductase (VKORC1) in a Swedish population: a retrospective analysis of case records. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2007; 4: 1723–1729. doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.02039.x.
 19. Schalekamp T., Brasse B.P., Roijers J.F.M. et al. VKORC1 and CYP2C9 genotypes and phenprocoumon anticoagulation status: interaction between both genotypes affects dose requirement. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2007; 81 (2): 185–193. doi: 10.1038/sj.clpt.6100036.
 20. Larramendy-Gozalo C., Yang J.Q., Verstuyft C. et al. Genetic polymorphism of vitamin K epoxide reductase (VKORC1) 1173C>T in a Chinese and a Caucasian population. *Pharmacology and Toxicology* 2006; 98: 611–613. doi: 10.1111/j.1742-7843.2006.pto_440.x.
 21. Tabikhanova L.E., Osipova L.P., CHurkina T.V. i dr. Polimorfizm genov *F2*, *F5* i *VKORC1* v populjacijskikh burjat, teleutov i russkikh zhitelei Vostochnoi Sibiri. [Polymorphism of the *F2*, *F5*, and *VKORC1* genes in populations of Buryats, Teleuts, and Russian residents of Eastern Siberia]. *Molekuljarnaja medicina [Molecular medicine]* 2018; 16 (3): 31–36. (In Russ.)
 22. Korchagina R.P., Osipova L.P., Vavilova N.A. i dr. Polimorfizm gena *VKORC1* (*C1173T*), opredeljayushchego chuvstvitel'nost' individov k varfarinu, v populjacijskikh korennykh etnosov sel'kupov i tundrovyykh nencev, a takzhe u russkikh Severnoi Sibiri. [Polymorphism of the *VKORC1* (*C1173T*) gene, which determines the sensitivity of individuals to warfarin, in populations of indigenous ethnic groups of the Selkups and Tundra Nenets, as well as in Russians of Northern Siberia]. *Vestnik KemGU [Bulletin of KemSU]* 2012; 1 (49): 19–23. (In Russ.)
 23. Debec G.F. Sel'kupy (antropologicheskii ocherk). *Trudy Instituta etnografii [Selpups (anthropological essay). Works of the Institute of Ethnography]*. Moscow-Leningrad: Izd-vo AN SSSR, 1947. P. 103–145. (In Russ.)
 24. Sukernik R.I., Osipova L.P., Karaphet T.M., Abanina T.A. Studies on blood groups and other genetic markers in Forest Nentzi: variation among the subpopulations. *Human Genetics* 1980; 55: 397–404. doi: 10.1007/bf00290224.
 25. Osipova L.P. Geneticheskiye markery immunoglobulinov (sistema Gm) dlja ocenki processov migracii i metisacii v populjacijskikh che-loveka v Severnoi Sibiri. [Genetic immunoglobulin markers (Gm system) for assessing migration and cross-breeding processes in human populations in Northern Siberia]. *Sibirskii ekologicheskii zhurnal [Siberian Ecological Journal]* 1994; 1 (2): 129–140. (In Russ.)
 26. Karafet T.M., Osipova L.P., Gubina M.A. et al. High levels of Y chromosome differentiation among Native Siberian populations and the genetic signature of a boreal hunter-gatherer way of life. *Human Biology* 2002; 16: 702–722. doi: 10.1353/hub.2003.0006.

27. Aksjanova G.A., Bagashyov A.N., Bogordayeva A.A. i dr. Etnografiya i antropologiya Jamala [Ethnography and anthropology of Yamal]. Novosibirsk: Nauka, 2003. 390 p. (In Russ.)
28. Goltsova T.V., Osipova L.P., Zhadanov S.I., Villems R. The effect of marriage migration on the genetic structure of the Taimyr Nganasan population: genealogical analysis inferred from MtDNA markers. *Russian Journal of Genetics* 2005; 41 (7): 779–788. doi: 10.1007/s11177-005-0160-3.
29. Abanina T.A. Populjacionnaja struktura lesnykh nencev: demograficheskiye harakteristiki, struktura brakov, migracija, analiz smesheniya. [The population structure of Forest Nenets: demographic characteristics, marriage structure, migration, analysis of mixing]. *Genetika [Genetics]* 1982; 18 (11): 1884–1893. (In Russ.)
30. Posukh O.L., Osipova L.P., Kryukov YU.A., Ivakin YE.A. Genetiko-demograficheskii analiz populjacji korennykh zhitel'ei Samburgskoi tundry. [Genetic and demographic analysis of the indigenous populations of the Samburg tundra]. *Genetika [Genetics]* 1996; 32 (6): 822–829. (In Russ.)
31. Gol'cova T.V., Osipova L.P. Genetiko-demograficheskaja struktura populjacji korennykh narodov Sibiri v svyazi s problemami mikroevolyucii. [Genetic and demographic structure of the populations of the indigenous peoples of Siberia in connection with the problems of microevolution]. *Vestnik VOGiS [VOGiS Bulletin]* 2006; 10 (1): 126–154. (In Russ.)
32. WHO best practices for injections and related procedures toolkit. 2010. Available at: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44298/9789241599252_eng.pdf?sequence=1 Accessed: 02.03.2020.
33. Miller Jr.R. Simultaneous statistical inference. New York, 1966.
34. Lacut K., Larramendy-Gozaló C., Le Gal G. et al. Vitamin K epoxide reductase genetic polymorphism is associated with venous thromboembolism: results from the EDITH study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2007; 5: 2020–2024. doi: 10.1111/j.1538-7836.2007.02706.x.
35. Suh J.W., Baek S.H., Park J.S. et al. Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 gene polymorphism is associated with atherothrombotic complication after drug-eluting stent implantation: 2-center prospective cohort study. *American Heart Journal* 2009; 157 (5): 908–912. doi: 10.1016/j.ahj.2009.02.001.
36. Yan X., Yang F., Zhou H. et al. Effects of VKORC1 genetic polymorphisms on warfarin maintenance dose requirement in a Chinese Han Population. *Medical Science Monitor* 2015; 21: 3577–3584. doi: 10.12659/msm.894414.
37. Takahashi H., Wikinson G.R., Nutescu E.A. et al. Different contributions of polymorphisms in VKORC1 and CYP2C9 to intra- and inter-population differences in maintenance dose of warfarin in Japanese, Caucasians and African-Americans. *Pharmacogenetics and Genomics* 2006; 16 (2): 101–110. doi: 10.1097/01.fpc.0000184955.08453.a8.
38. Panin L.YE. Energeticheskiye aspekty adaptacii [Energy aspects of adaptation]. Moscow: Medicina, 1978. 192 p. (In Russ.)
39. Oteva E.A., Maslennikov A.B., Nikolayeva A.A. i dr. Osobennosti lipidnogo sostava syvorotki krovi u severnykh sel'kupov. [Features of the lipid composition of blood serum in northern Selkups]. *Terapevicheskii arhiv [Therapeutic Archive]* 1993; 65 (1): 21–24. (In Russ.)
40. Hsieh P., Hallmark B., Watkins J. et al. Exome Sequencing Provides Evidence of Polygenic Adaptation to a Fat-Rich Animal Diet in Indigenous Siberian Populations. *Molecular Biology and Evolution* 2017; 34 (11): 2913–2926. doi: 10.1093/molbev/msx226.
41. Hallmark B., Karafet T.M., Hsieh P. et al. Genomic Evidence of Local Adaptation to Climate and Diet in Indigenous Siberians. *Molecular Biology and Evolution* 2019; 36 (2): 315–327. doi: 10.1093/molbev/msy211.
42. Tiis R.P., Osipova L.P., Tabikhanova L.E. i dr. Geneticheskii polimorfizm faktorov sistemy svertyvaniya krovi FII i FV v populjacijakh korennykh etnosov (tundrovyykh i lesnykh nencev, nganasan), russkikh Severnoi Sibiri i ikh metisov v svyazi s riskom razvitiya trombozov. [Genetic polymorphism of factors of the coagulation system FII and FV in populations of indigenous ethnic groups (Tundra and Forest Nenets, Nganasans), Russians of Northern Siberia and their mestizos due to the risk of thrombosis]. *Medicinskaja genetika [Medical genetics]* 2015; 7: 27–31. (In Russ.)
43. Chertovskikh Y.V., Malova E.U., Maksimova N.R et al. VKORC1 polymorphisms and warfarin maintenance dose in population of Sakha (Yakuts). *The International Journal of Risk and Safety in Medicine* 2015; 27 (1): 17–18. doi: 10.3233/JRS-150673.
44. Teichert M., Visser L.E., van Schaik R.H. et al. Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1) polymorphism and aortic calcification: The Rotterdam study. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2008; 28: 771–776. doi: 10.1161/ATVBAHA.107.159913.