

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА rs9939609 ГЕНА *FTO* С РАЗВИТИЕМ ОЖИРЕНИЯ В ПОПУЛЯЦИИ ЯКУТОВ

Павлова Н.И., Куртанов Х.А, Соловьева Н.А., Дьяконова А.Т., Варламова М.А., Александрова Т.Н., Филиппова Н.П.

ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», Якутск, e-mail: solnishko_84@inbox.ru

Целью исследования являлось выявление ассоциации полиморфизма T/A (rs9939609) первого интрона гена *FTO* (fat mass and obesity associated) с избыточной массой тела у якутов. С помощью ПЦР ПДФ анализа протестировано 270 взрослых человек якутской национальности в возрасте от 20 до 80 лет, проживающих в Республике Саха (Якутия), 189 женщин и 81 мужчина. В результате генотипирования установлено, что среди всех обследованных лиц преобладает частота встречаемости генотипа ТТ. При оценке ассоциации полиморфизма rs9939609 с ожирением установили высокую частоту встречаемости аллеля риска ожирения (А) в группе лиц, страдающих ожирением, чем у лиц с нормальным показателем ИМТ. Анализ данных антропометрических исследований между носителями различных генотипов гена *FTO* полиморфизма rs9939609 с величиной ИМТ показал, что почти во всех исследуемых группах лица с генотипом АА имели более высокий ИМТ. При исследовании данного полиморфизма с заболеваемостью СД 2-го типа ассоциацию не выявили. Тем самым можно предполагать, что аллель А изучаемого полиморфизма вносит свой вклад только в риск развития ожирения.

Ключевые слова: ген *FTO*, сахарный диабет 2 типа, избыточный вес, ожирение, якуты.

ASSOCIATION OF POLYMORPHISM rs9939609 *FTO* GENE WITH DEVELOPMENT OF OBESITY IN THE YAKUT POPULATION

Pavlova N.I., Kurtanov Kh.A, Solovyeva N.A., Diakonova A.T., Varlamova M.A., Alexandrova T.N., Filippova N.P.

Federal State Budgetary Institution "Yakut science center of complex medical problems", Yakutsk, e-mail: solnishko_84@inbox.ru

The aim of the study was to identify the association of polymorphism T / A (rs9939609) of the first intron of the *FTO* gene (fat mass and obesity associated) with excess body weight in the Yakuts. With the help of PCR RFLP analysis, 270 adults of Yakut nationality aged 20 to 80 years living in the Republic of Sakha (Yakutia), 189 women and 81 men were tested. As a result of genotyping, it was established that the frequency of occurrence of the TT genotype prevails among all the subjects surveyed. When assessing the association of polymorphism rs9939609 with obesity, they established a high incidence of the risk of obesity (A) in the obese group than in those with normal BMI. Analysis of data from anthropometric studies between carriers of different genotypes of the *FTO* gene of rs9939609 polymorphism with BMI showed that in almost all study groups, individuals with the AA genotype had a higher BMI. When studying this polymorphism with the incidence of type 2 diabetes, the association was not identified. Thus, it can be assumed that the allele A of the polymorphism under study contributes only to the risk of developing obesity.

Keywords: *FTO* gene, type 2 diabetes mellitus, overweight, obesity, yakuts.

В настоящее время ожирение представляет собой актуальную проблему, что связано с его прогрессирующим распространением и тяжестью осложнений, которые нередко становятся причиной смерти больных в молодом возрасте. На сегодняшний день, по данным Всемирной организации здравоохранения, в мире 39% взрослых имеют избыточный вес, а 13% страдают ожирением. В России среди трудоспособного населения 25% имеют избыточный вес и 30% ожирение. Нарастающая гиподинамия и особенности современного питания среди жителей Севера приводят к увеличению числа страдающих ожирением, что в свою очередь приводит к росту частоты манифестации атеросклероза и заболеваний,

обусловленных нарушением обмена веществ [1].

Генетическая предрасположенность является одним из важных факторов патогенеза ожирения [2]. По результатам многочисленных исследований, до 70% гетерогенности ИМТ объясняется прямыми или косвенными генетическими факторами [3].

Полногеномный поиск ассоциаций (GWAS) показал, что однонуклеотидный полиморфизм (SNP) rs9939609, располагающийся в первом интроне гена *FTO* (*Fat Mass and Obesity Associated Gene*), связанного с набором жировой массы, был достоверно ассоциирован с ожирением в различных этнических популяциях как у детей, так и у взрослых [4]. Ген *FTO* задействован в регуляции пищевого режима, кодирует белок, вовлеченный в энергетический обмен и влияющий на метаболизм в целом [5]. Согласно результатам проведенных исследований аллель *A* гена *FTO* ассоциирован со сниженным липолизом, с отсутствием чувства насыщения после адекватного приема пищи, нарушением контроля аппетита. Фенотипическое проявление аллели *A* гена *FTO* – избыточный вес, ожирение вследствие переедания. Частота встречаемости мутантного аллеля *FTO* среди жителей Западной и Центральной Европы, Западной Африки составляет 46–51%, и лишь 16% в Китае [6]. Данные представлены на рисунке 1.



Рис. 1. Частота встречаемости аллелей полиморфизма rs9939609 гена *FTO* в различных популяциях. Примечание: красный цвет аллель *T*, зеленый цвет аллель *A*. Данные получены из базы данных проекта «1000 геномов» [7]

Понимание механизмов возникновения ожирения, в особенности генетических аспектов этой патологии, позволит выделить группы риска, сформировать понятие о генотипах риска и в дальнейшем разработать его эффективную профилактику.

Материалы и методы исследований. Экспериментальная часть работ по генотипированию полиморфизма rs9939609 гена *FTO* была проведена в лаборатории

наследственной патологии отдела молекулярной генетики Якутского научного центра комплексных медицинских проблем. Информированное согласие на проведение генетического исследования было получено от каждого участника исследования. Для исследования использованы образцы ДНК из коллекции биоматериала ЯНЦ КМП с использованием УНУ «Геном Якутии» (рег. № USU_507512). Всего были обследованы 270 взрослых человек якутской национальности в возрасте от 20 до 80 лет, проживающих в Республике Саха (Якутия), 189 женщин и 81 мужчина. Среди всех пациентов 59% имели индекс массы тела (ИМТ) более 25 кг/м². При этом 129 человек (42 мужчины и 87 женщин, средний возраст 59,73 ± 0,07 года) страдали СД 2-го типа (диагноз верифицирован в медицинских организациях по месту жительства). Из них 5,4% имели избыточную массу тела, а 92,3% – ожирение разной степени тяжести. Для оценки ассоциации изучаемого генетического полиморфизма с ожирением и СД 2-го типа из всех обследованных были сформированы группы для проведения анализа по типу «случай – контроль». Оценку ассоциации с ожирением изучали у 159 человек с ИМТ ≥ 25 кг/м² (случай) и 76 человек с ИМТ < 25 кг/м² (контроль), связь с СД 2-го типа – у 129 человек, страдающих СД 2-го типа, группа сравнения (контроль) составила 141 человек.

Индекс массы тела (ИМТ) был рассчитан по общепринятой формуле: ИМТ = вес (кг)/рост (м)². Для оценки ожирения использовали критерии Western Pacific Region (WPRO) для жителей Азии [8]. При ИМТ в пределах 18,5–22,9% – считали нормой, при ИМТ в пределах 23,0–24,9 кг/м² – избыточной. При ИМТ в интервале 25,0–29,9 кг/м² диагностировали ожирение I степени, ≥ 30,0 кг/м² – ожирение II степени, ≥ 35,0 кг/м² – ожирение III степени.

Для проведения ПЦР и ПДРФ анализа образцы геномной ДНК выделяли из цельной крови пациентов стандартным фенол-хлороформным методом. Однонуклеотидный полиморфизм (SNP) определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Для проведения ПЦР использовали специфичные праймеры производства ООО «Биотех-Индустрия», г. Москва F: 5'-TGGGCCTGAAGTCCGAGGGT-3', R: 5'-CCGACACCAGTGCCCTGCAG-3'

Температурно-временной режим для проведения ПЦР оптимизирован для амплификации данной нуклеотидной последовательности и представлен в таблице 1.

Таблица 1

Условия проведения ПЦР

Ген	Амплификат	Длина фрагментов рестрикции	Условия проведения ПЦР
<i>FTO</i>	182п.н.	AA – 154, 28 AT – 154, 28, 182	1. 95 °С – 4 мин 2. (94 °С – 30 сек; 58 °С – 30 сек;

		ТТ – 182	72 °С – 1 мин)*35 3. 72 °С – 10 мин
--	--	----------	--

Детекция ПЦР продуктов проводилась с помощью горизонтального электрофореза в пластине 2% агарозного геля с добавлением бромистого этидия - специфического интеркалирующего флуоресцентного ДНК(РНК)-красителя - с использованием стандартного трис-ацетатного буфера при напряженности поля ~ 20 В/см в течение 30 минут.

После ПЦР амплификат rs9939609 гена *FTO* подвергался рестрикции с применением эндонуклеазы *ZrmI* (ООО «СибЭнзим», г. Новосибирск) в течение 3 часов при 37 °С. Детекция ПДРФ продуктов проводилась с помощью горизонтального электрофореза в пластине 4% агарозного геля с добавлением бромистого этидия с использованием стандартного трис-ацетатного буфера при напряженности поля ~ 20 В/см в течение 45 минут (рис. 2).

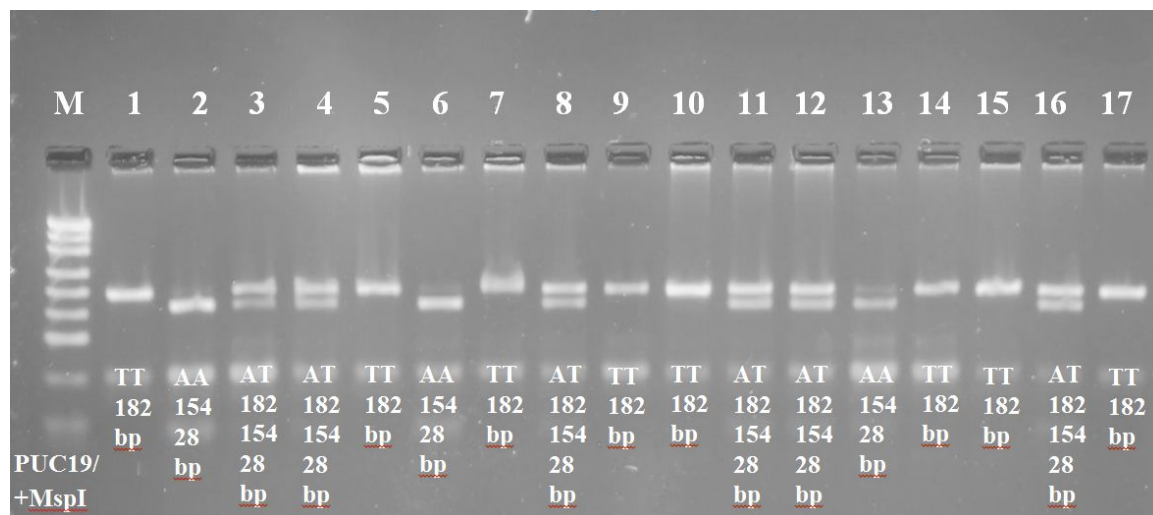


Рис. 2. Электрофореграмма продукта амплификации участка гена *FTO* в 4% агарозном геле. Примечание: дорожки № 1, 5, 7, 9, 10, 14, 15 и 17 – генотип *ТТ*; № 2, 6 и 13 – генотип *АА*; № 3, 4, 8, 11, 12 и 16 – генотип *АТ*; *М* – маркер *PUC19/+Msp I*. *Вр* – пар оснований

Интерпретация результатов генотипирования была выполнена на основе различных шаблонов бэндов: *ТТ* генотип 182 п.н., *АТ* генотип 182, 154 и 28 п.н., *АА* генотип 154 и 28 п.н.

Статистический анализ полученных результатов исследования был проведен с помощью программы Office Microsoft Excel 2010. Соответствие распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди-Вайнберга и сравнение частот аллельных вариантов/генотипов проводили с использованием критерия χ^2 (кси-квадрата) методом Пирсона для таблиц сопряженности 2x2, расчетом отношения шансов (OR) и отношения

рисков (RR), 95% доверительного интервала (95% CI). Различия считались достоверными при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В результате генотипирования полиморфизма rs9939609 гена *FTO* установлено, что преобладает частота встречаемости генотипа ТТ среди всех обследованных лиц и составляет 53,6%. При этом частота аллели Т составила 72,7% (табл. 2).

Результаты оценки ассоциации полиморфизма rs9939609 с ожирением показали, что частота встречаемости аллеля риска ожирения (А) в группе лиц, страдающих ожирением, выше на 8,7%, чем у лиц с нормальным показателем ИМТ ($p=0,049$), и на 11,1%, чем у лиц с предожирением ($p=0,064$).

Таблица 2

Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма rs9939609 гена *FTO*

№	Сравниваемые группы	Частота встречаемости генотипов, абс. (%)			Частота встречаемости аллелей, %		OR (95% CI), <i>P</i>
		AA	AT	TT	А	Т	Аллель риска А
1	Ожирение	14 (8,8)	71 (44,7)	74 (46,5)	31,1	68,9	1,569 (1,001 - 2,459) p=0,049
	Нормальный показатель ИМТ	6 (7,9)	22 (28,9)	48 (63,2)	22,4	77,6	
2	Ожирение	14 (8,8)	71 (44,7)	74 (46,5)	31,1	68,9	1,808 (0,961 - 3,402) p= 0,064
	Предожирение	2 (5,7)	10 (28,6)	23 (65,7)	20,0	80,0	
3	Ожирение	14 (8,8)	71 (44,7)	74 (46,5)	31,1	68,9	1,639 (1,101 – 2,440) p= 0,015
	Нормальный показатель ИМТ + предожирение	8 (7,2)	32 (28,8)	71 (64,0)	21,6	78,4	
4	Ожирение + предожирение	16 (8,2)	81 (41,8)	97 (50,0)	29,1	70,9	1,426 (0,919 - 2,214) p= 0,113
	Нормальный показатель ИМТ	6 (7,9)	22 (28,9)	48 (63,2)	22,4	77,6	
5	Нормальный показатель ИМТ, женщины	3 (5,3)	16 (28,1)	38 (66,7)	19,3	80,7	1,840 (1,064 – 3,182) p=0,028
	Ожирение, женщины	10 (9,3)	46 (42,6)	52 (48,1)	30,6	69,4	
6	Нормальный показатель ИМТ, мужчины	3 (15,8)	6 (31,6)	10 (52,6)	31,6	68,4	1,036 (0,466 – 2,306) p=0,931
	Ожирение мужчины	4 (7,8)	25 (49,0)	22 (43,1)	32,4	67,6	

Расчет отношения шансов показал, что частота встречаемости А в группе людей с ожирением статистически достоверно в 1,6 раза выше, чем среди людей с нормальным ИМТ и чем среди людей с нормальными ИМТ и предожирением, что позволяет считать носительство аллели А предполагающим к развитию ожирения.

При анализе показателей ИМТ в зависимости от генотипа и носительства аллели были обнаружены значительные различия (табл. 3).

Таблица 3

Средние показатели ИМТ в зависимости от генотипа

	АА	АТ	ТТ	А	Т	P
Средний ИМТ	28,75±1,56	27,59±0,11	26,76±0,12	27,79±0,14	27,10±0,09	p<0,05
Нормальный показатель ИМТ	20,43±0,35	20,38±0,22	21,01±0,21	20,39±0,18	20,82±0,17	p<0,05
Предожирение	24,29±0,61	23,58±0,11	23,78±0,13	23,70±0,15	23,72±0,22	p>0,05
Ожирение	32,95±1,47	30,46±0,14	31,42±0,12	30,88±0,14	30,96±0,09	p>0,05
Ожирение, женщины	31,94±1,79	31,35±0,18	31,67±0,16	31,46±0,17	31,52±0,12	p>0,05
Ожирение, мужчины	35,48±2,80	28,89±0,70	30,82±0,53	29,80±0,80	29,80±0,15	p>0,05

Анализ данных антропометрических исследований между носителями различных генотипов полиморфизма rs9939609 гена *FTO* по ассоциации с величиной ИМТ показал, что почти во всех исследуемых группах лица с генотипом АА имели более высокий ИМТ. У лиц с нормальным уровнем ИМТ более высокий показатель был у носителей генотипа ТТ.

Таблица 4

Анализ ассоциации полиморфизма rs9939609 гена *FTO* с СД 2 типа

Степени ИМТ	Кол-во	Больные СД 2, %		Без СД, %		OR (95% CI) Аллель риска А	P
		А	Т	А	Т		
Все обследованные	270	28,7	71,3	25,9	74,1	1,151 (0,788-1,682)	0,466
Нормальный показатель ИМТ	76	33,3	66,7	21,9	78,1	1,781 (0,312-10,170)	0,511
Предожирение	35	0	100	25,0	75,0	-	0,037
Ожирение	159	30,3	69,7	33,8	66,3	0,851 (0,496-1,461)	0,559
Ожирение, женщины	108	28,0	72,0	38,5	61,5	0,624 (0,324-1,200)	0,156
Ожирение, мужчины	51	35,1	64,9	25,0	75,0	1,625 (0,610-4,328)	0,329

Анализ данных ассоциации полиморфизма rs9939609 гена *FTO* с заболеванием СД 2-го типа свидетельствовал об отсутствии статистически значимых отличий между носителями

различных генотипов не только в обследуемой группе в целом, но и отдельно у мужчин и женщин (табл. 4). Анализ заболеваемости СД 2 типа в зависимости от показателя ИМТ представлен в таблице 5.

Таблица 5

Заболеваемость СД 2 типа в зависимости от показателя ИМТ

	Больные СД 2, абс.	Здоровые, абс.	OR (95% CI) Фактор риска – повышенный ИМТ	RR (95% CI)	P
Нормальный показатель ИМТ	3	73	72,392 (21,610- 242,502)	18,960 (6,232-57,688)	<0,001
Ожирение	119	40			
Предожирение	7	28	6,083 (1,469-25,192)	5,067 (1,392-18,441)	0,007
Нормальный показатель ИМТ	3	73			
Ожирение	119	40	11,900 (4,827-29,340)	3,742 (1,917-7,304)	<0,001
Предожирение	7	28			

Показатель относительного риска свидетельствует о наличии прямой связи между повышенным уровнем ИМТ и вероятностью развития СД 2-го типа. Так, среди людей с предожирением СД 2-го типа наблюдается в 5 раз чаще, а у людей с ожирением в 19 раз чаще, чем у людей с нормальным показателем ИМТ. В свою очередь у людей с ожирением СД 2-го типа встречается в 3,7 раза чаще, чем у людей с предожирением.

Заключение

Результаты исследования полиморфизма rs9939609 гена *FTO* в якутской популяции жителей Республики Саха (Якутия) установили, что среди всех обследованных лиц преобладает частота встречаемости аллели Т, которая составила 72,7%. Аллель А достоверно чаще встречается у лиц с высокими показателями ИМТ, что подтверждает ассоциацию полиморфизма rs9939609 гена *FTO* с развитием избыточной массы тела и ожирения. Также подтверждена прямая связь между ожирением и СД 2-го типа.

При исследовании данного полиморфизма с заболеваемостью СД 2-го типа ассоциацию не выявили. Тем самым можно предполагать что аллель А изучаемого полиморфизма вносит свой вклад только в риск развития ожирения.

Исследование было проведено в рамках НИР «Изучение генетической структуры и груза наследственной патологии популяций Республики Саха (Якутия)».

Список литературы

1. Бойко Н.Н. Разбудить внутреннего врача. М.: МОФ Родная страна, 2011. 488 с.

2. Hebebrand J., Sommerlad C., Geller F., Görg T., Hinney A. The genetics of obesity: practical implications. *International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2001. № 25. P. 10–17.
3. Farooqi I.S., O’Rahilly S. New advances in the genetics of early onset obesity. *International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2005. № 29. P. 1149–1152.
4. Prakash J., Mittal B., Srivastava A., Awasthi S., Srivastava N. Association of FTO rs9939609 SNP with Obesity and Obesity- Associated Phenotypes in a North Indian Population. *Oman Medical Journal*. 2016. Vol. 31. № 2. P. 99-106.
5. Кочетова О.В., Викторова Т.В. Генетика и эпигенетика ожирения // *Успехи современной биологии*. 2015. № 2. С. 128–138.
6. Батурин А.К., Погожева А.В., Сорокина Е.Ю., Пескова Е.В., Макурина О.Н., Тутьельян В.А. Изучение полиморфизма генов при ожирении у жителей России // *Русский медицинский журнал*. 2015. Т.23. № 29. С. 7-10.
7. IGSR: The International Genome Sample Resource [Электронный ресурс]. URL: <http://www.internationalgenome.org> (дата обращения: 18.08.2018).
8. Протасов К.В., Тарваа М. Распространенность ожирения и его взаимосвязи с сердечно-сосудистым риском среди работающего городского населения Монголии // *Бюллетень СО РАМН*. 2014. Т. 34. № 5. С. 102–109.