

ВКЛАД ГЕНА ДОФАМИНТРАНСПОРТНОГО БЕЛКА *SLC6A3/DAT1* В ФОРМИРОВАНИЕ ИЗЫТОЧНОЙ МАССЫ ТЕЛА В ЯКУТСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Соловьева Н.А.¹, Дьяконова А.Т.¹, Павлова Н.И.¹, Куртанов Х.А.¹, Соловьева Ю.А.¹, Александрова Т.Н.¹

¹ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», Якутск, e-mail: mailsonata608@yandex.ru

В статье представлены результаты впервые проведенного молекулярно-генетического исследования ассоциации полиморфного варианта rs27072 гена дофаминтранспортного белка *SLC6A3/DAT1* с риском развития нарушения пищевого поведения, сопровождающегося повышением показателей индекса массы тела (ИМТ) в якутской популяции. Проанализирован 301 образец ДНК популяционной выборки, средний возраст участников которой составил 44,59±17,99 года. Все участники исследования были отобраны методом случайной выборки, проживали на территории Республики Саха (Якутия), являлись якутами и не имели родственных связей между собой. Этническая принадлежность участников исследования учитывалась до третьего поколения. Исследование проводилось с письменного согласия каждого участника. Установлено, что исследуемая выборка характеризовалась преобладанием лиц с избыточной массой тела, не соблюдающих режим питания. Более половины участников исследования испытывали удовольствие во время еды и предпочитали дополнительный прием пищи как средство, улучшающее настроение. Молекулярно-генетический анализ полиморфизма rs27072 гена *SLC6A3/DAT1* продемонстрировал значительное преобладание носителей аллеля *G* в популяция якутов, а также достоверное преобладание носителей аллеля *A* для группы с низким и нормальным уровнем ИМТ по сравнению с частотой данного аллеля в группе с избыточной массой тела. Таким образом, можно предположить, что носительство аллеля *A* полиморфизма rs27072 гена *SLC6A3/DAT1* выполняет протективную функцию в отношении развития избыточной массы тела в популяции якутов.

Ключевые слова: ген *SLC6A3/DAT1*, транспорт дофамина, избыточная масса тела, полиморфизм, якуты

CONTRIBUTION OF *SLC6A3 / DAT1* DOPAMINE TRANSPORT PROTEIN GENE TO THE FORMATION OF THE EXEMINAL BODY MASS IN THE YAKUT POPULATION

Soloveva N.A.¹, Dyakonova A.T.¹, Pavlova N.I.¹, Kurtanov K.A.¹, Soloveva Y.A.¹, Aleksandrova T.N.¹

¹Federal public budgetary scientific institution «Yakut science center of complex medical problems», Yakutsk, e-mail: sonata608@yandex.ru

The article presents the results of the first molecular-genetic study of the association of the polymorphic variant rs27072 of the dopamine transport protein *SLC6A3 / DAT1* gene with the risk of developing eating disorders accompanied by an increase in body mass index (BMI) in the yakut population. A 301 sample of a population sample was analyzed; its average age was 44.59 ± 17.99 years. All research participants were selected by the method of «random» sampling, lived in the territory of the Republic of Sakha (Yakutia), were yakuts and had no family ties between themselves. Ethnicity of the study participants was taken into account until the third generation. The study was conducted with the written consent of each participant. It was found that the sample under study was characterized by the predominance of overweight individuals who did not follow the diet. More than half of the study participants experienced pleasure while eating and preferred additional food intake as a means of improving mood. Molecular genetic analysis of the rs27072 polymorphism of the *SLC6A3 / DAT1* gene showed a significant predominance of carriers of the *G* allele in the Yakut population, as well as a significant predominance of carriers of the *A* allele for the group with low and normal levels of BMI compared with the frequency of this allele in the group with overweight. Thus, it can be assumed that the carriage of the allele *A* of the rs27072 polymorphism of the *SLC6A3 / DAT1* gene performs a protective function in relation to the development of overweight in the yakut population.

Keywords: *SLC6A3 / DAT1* gene, dopamine transport, overweight, polymorphism, yakuts

Известно, что индивиды с недостаточным количеством дофаминовых рецепторов чаще склонны к пагубным привычкам, в том числе к чрезмерному употреблению пищи. Предполагается, что это связано с дефицитом положительных эмоций и необходимостью его

восполнения любыми доступными способами [1, 2].

Дофамин – это нейромедиатор, относящийся к «системе вознаграждения» головного мозга, передающий сигналы от одного нейрона к другому, способный вызывать чувство наслаждения или удовлетворения. Вырабатывается дофамин во время положительного, по субъективному представлению человека, опыта. Нейробиологические эксперименты показали, что даже воспоминания о поощрении могут увеличить уровень дофамина [3, 4].

Синтезированный нейроном дофамин накапливается в дофаминовых везикулах, называемых синаптическими пузырьками, посредством протон-сопряженного транспорта. В везикулу с помощью протон-зависимой АТФ-азы закачиваются ионы H^+ . При выходе протонов по градиенту концентрации в везикулу поступают молекулы дофамина с последующим выведением дофамина в синаптическую щель. При этом часть дофамина участвует в передаче нервного импульса, воздействуя на клеточные D-рецепторы постсинаптической мембраны из группы трансмембральных дофаминовых рецепторов семейства GPCR (G-protein-coupled receptors), выполняющих функцию активаторов внутриклеточных путей передачи сигнала и приводящих к клеточному ответу. Другая часть возвращается в пресинаптический нейрон с помощью обратного захвата посредством белка – транспортера дофамина. Вернувшийся в клетку медиатор расщепляется с помощью моноаминоксидазы (MAO), альдегиддегидрогеназы и катехол-О-метил-трансферазы до гомованилиновой кислоты. Рецепторы GPCR вовлечены в такие физиологические процессы, как зрение, обоняние, участвуют в регуляции поведения и настроения, активности иммунной системы и воспаления, а также в функционировании вегетативной нервной системы. Нарушение работы данных рецепторов приводит к возникновению множества разнообразных заболеваний.

Недостаточное количество дофаминовых рецепторов является не единственной причиной развития патологических состояний. Немаловажная роль принадлежит белку – переносчику дофамина, осуществляющему трансмембранный перенос дофамина из синаптической щели обратно в нейроны для повторного использования. Именно его активность определяет количество и длительность пребывания дофамина в синаптической щели, что в свою очередь делает данный белок важнейшим регулятором передачи сигналов дофамина в мозге. Работа переносчика дофамина кодируется геном дофаминтранспортного белка *SLC6A3/DAT1*. У человека ген переносчика дофамина *SLC6A3/DAT1* локализован на хромосоме 5 в области p15.3, содержит 12 экзонов и имеет длину 4,2 тысяч п.о. [5, 6].

Целью настоящего исследования явился поиск ассоциации полиморфного варианта rs27072 гена дофаминтранспортного белка *SLC6A3/DAT1* с риском развития избыточной массы тела в якутской популяции.

Материалы и методы исследования

В исследовании приняли участие индивиды, не являющиеся родственниками, подписавшие информированное согласие на участие в данном исследовании.

Для каждого участника была заполнена индивидуальная генетическая карта с данными антропометрических, клинико-функциональных и лабораторных показателей, а также результатами опроса по соблюдению режима и объема питания, отношения к пище как источнику удовольствия. Уровень индекса массы тела (ИМТ) рассчитывали по формуле: $ИМТ = \text{вес (кг)} / \text{рост (м)}^2$. Для оценки ожирения использовали критерии Western Pacific Region (WPRO) для жителей Азии [7]. При $ИМТ < 18,5$ массу тела считали недостаточной, в пределах 18,5–22,9 – нормальной, в пределах 23,0–24,9 – избыточной. При ИМТ в интервале 25,0–29,9 диагностировали ожирение I степени, $ИМТ \geq 30,0 \text{ кг/м}^2$ – ожирение II степени.

Лабораторная часть работ по генотипированию полиморфизма rs27072 гена *SLC6A3/DAT1* проводилась в лаборатории наследственной патологии отдела молекулярной генетики Якутского научного центра комплексных медицинских проблем (ЯНЦ КМП).

Для исследования использовались образцы ДНК из коллекции биоматериала ЯНЦ КМП с использованием УНУ «Геном Якутии» (рег. № USU_507512). Всего в исследование был включен 301 индивид, из которых 222 (73,75%) человека женского пола и 79 (26,25 %) – мужского. Средний возраст участников исследования составил $44,59 \pm 17,99$ года, средний возраст лиц мужского пола – $44,29 \pm 17,92$ года (от 20 до 84 лет), женского пола – $44,71 \pm 18,04$ года (от 20 до 81 года). Этническая принадлежность учитывалась до третьего поколения, все участники исследования были якутами.

Параметры амплификации оптимизировались на общий объем реакционной смеси – 25 мкл. ПЦР проводили в соответствии с инструкциями изготовителя (LumiProb) в термоциклере MJ Mini Gradient Thermal Cycler (BioRad) (табл. 1).

Таблица 1

Температурная программа амплификации

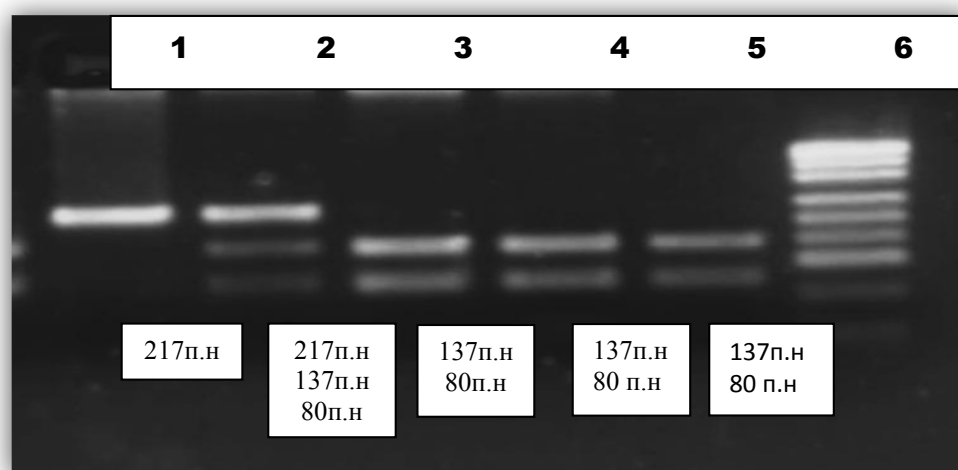
| Стадия | Температура | Время | Циклы |
|---------------------|-------------|--------|-------|
| Initialdenaturation | 95°C | 5 мин | 1 |
| Denaturation | 94°C | 30 сек | 35 |
| Annealing (отжиг) | 62°C | 30 сек | |
| Extension | 72°C | 30 сек | |
| Finalextension | 72°C | 7 мин | 1 |

Анализ полиморфизма длин рестриционных фрагментов проводили с использованием Эндонуклеаза рестрикции *MspI* (СибЭнзим) согласно инструкции (табл. 2).

Характеристика длины рестрикционных фрагментов rs27072 гена *SLC6A3/DAT1*

| Длины рестрикционных фрагментов (п.н.) | Аллель | Длина фрагмента (п.н.) |
|--|---------------|------------------------|
| | <i>DAT1*A</i> | 217 пн |
| | <i>DAT1*G</i> | 80 пн и 137 пн |
| | <i>AA</i> | 217 |
| | <i>AG</i> | 217, 137, 80 |
| | <i>GG</i> | 137, 80 |

Результаты амплификации фракционировали в 2%-ном агарозном геле с бромистым этидием при напряжении 120–300 В в течение 30–45 минут. Документирование и визуализацию ПЦР-амплификата проводили посредством фотографирования в UV-свете с помощью гель-документирующего прибора VilberLourmat (рис.). Оценка бэндов проводилась с помощью ДНК маркер «Pus19» (Thermo Fisher Scientific, USA).



Электрофореграмма продукта амплификации rs27072 гена *SLC6A3/DAT1* в 2%-ном агарозном геле. Примечание: пн – пар нуклеотидов. 1 – *AA* генотип (217 п.н.); 2 – *AG* генотип (217, 137, 80 п.н.); 3, 4, 5 – *GG* генотип (137, 80 п.н.).

Внутренний контроль: 6 – ДНК маркер «Pus19»

Статистическую обработку данных проводили при помощи программы Statistica 13 for Windows. Распределение генотипов проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга с помощью точного теста Фишера. Для сравнения частот аллелей между различными группами использовали критерий χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ опроса по соблюдению режима питания продемонстрировал, что только 16% индивидов старались придерживаться правильного режима питания. На вопрос об объемах употребляемой в течение суток пищи 23% индивидов ответили, что стараются придерживаться рекомендуемых врачами-диетологами норм, остальные участники ответили, что не ограничивают себя в количестве употребляемой пищи, что зависит от таких факторов, как наличие продуктов, время, в течение которого происходит прием пищи, а также настроение в момент приема пищи. Порядка 58% опрошенных ответили положительно на вопрос: «Испытываете ли вы удовольствие от приема пищи?», и 64% отметили, что при стрессовой ситуации или плохом настроении прибегают к дополнительному приему пищи, предпочитают в этот момент мясные блюда или кондитерские изделия.

Анализ распределения показателей ИМТ в зависимости от пола определил, что 67,77% всей выборки составили индивиды с избыточной массой тела. Анализ распределения показателей ИМТ между группами в зависимости от половой принадлежности продемонстрировал достоверные различия ($p=0,006$). Установлено, что мужчины с избыточной массой составили 79,75% от общего числа мужчин, тогда как женщины с избыточной массой тела – лишь 63,51% от числа всех женщин. Также было установлено, что среди лиц мужского пола полностью отсутствовали индивиды с низкими показателями ИМТ (табл. 3).

Таблица 3

Распределение показателей ИМТ в зависимости от пола

| Показатели ИМТ | Мужчины, n=79 | Женщины, n=222 | Общее количество, n=301 |
|------------------------------------|------------------|-------------------|----------------------------|
| Низкий уровень ИМТ (ниже 18,5) | 0 (0%) | 18 (8,11%) | p=0,006 |
| Нормальный уровень ИМТ (18,6–22,9) | 16 (20,25%) | 63 (28,381%) | |
| Повышенный уровень ИМТ (23 и выше) | 63 (79,75%) | 141 (63,51%) | |

Примечание: p – уровень достоверности

Количественная характеристика исследованной выборки в зависимости от пола и показателей ИМТ представлена в таблице 4. Анализ возрастных показателей индивидов в зависимости от пола и уровня ИМТ не выявил достоверных различий. Средний возраст индивидов, имеющих показатели ИМТ ниже или в пределах нормы, составил $44,31 \pm 18,16$ и $43,97 \pm 18,04$ года соответственно, для индивидов с показателями ИМТ выше нормы средний возраст составил $44,19 \pm 17,95$ года.

Таблица 4

Характеристика исследованной выборки в зависимости от показателей ИМТ

| Показатели ИМТ | Мужчины, n=79 | Женщины, n=222 | Общее количество, n=301 | Средний возраст, лет± SD |
|---------------------------------------|------------------|-------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| Низкий уровень ИМТ (ниже 18,5) | 0 (0%) | 18 (100%) | 18 (5,98%) | 44,31±18,16 |
| Нормальный уровень ИМТ (18,6–22,9) | 16 (20,25%) | 63 (79,75%) | 79 (26,25%) | 43, 97±18,04 |
| Повышенный уровень ИМТ (23 и выше) | 63 (30,88%) | 141 (69,12%) | 204 (67,77%) | 44, 19±17,95 |

Примечание: SD – стандартное отклонение

Анализ распределения индивидов из группы с повышенным уровнем ИМТ в зависимости от пола и степени ожирения представлен в таблице 5.

Наибольшее число индивидов – 105 (51,72%) человек – составили группу с ожирением 2-й степени, в которой, так же как и для лиц с низкими или нормальными показателями ИМТ, отмечалось преобладание лиц женского пола – 55,32% ($p=0,046$). Анализ распределения индивидов с различной степенью ожирения в зависимости от возраста не продемонстрировал значимых различий.

Таблица 5

Характеристика исследованной выборки в зависимости от степени ожирения

| Показатели ИМТ | Мужчины, n=63 | Женщины, n=141 | Общее количество, n=204 | Средний возраст, лет±SD |
|-------------------------------------|------------------|-------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Степень предожирения (23–24,9) | 11 (17,46%) | 23 (16,31%) | 34 (16,26%) | 43,49±17,96 |
| Ожирение 1-й степени (25–29,9) | 25 (39,68%) | 40 (28,37%) | 65 (32,02%) | 44,48±17,96 |
| Ожирение 2-й степени (30 и выше) | 27 (42,86%) | 78 (55,32%) | 105 (51,72%) | 44,6±17,98 |

Примечание: SD – стандартное отклонение

Результаты сравнительного анализа распределения генотипов и аллелей исследуемого полиморфизма в группах с различным уровнем ИМТ представлены в таблице 6. Анализ показал, что значимые различия в распределении частоты генотипов и аллелей были установлены при сравнении показателей группы с недостаточным уровнем ИМТ и группой с избыточным уровнем ИМТ. Так, группа с низким уровнем ИМТ характеризовалась преобладанием гомозиготного генотипа AA (16,67%) по сравнению с группой с избыточным

уровнем ИМТ, в которой данный генотип встречался лишь в 0,98% случаев ($p=0,000$). Распределение аллелей характеризовалось преобладанием аллеля *G*, который встречался с высокой частотой как в группе с низкими, так и в группе с высокими показателями ИМТ (77,78% и 89,95% соответственно). Так как значимых различий по частоте аллеля *A* между группами с низким и нормальным уровнем ИМТ выявлено не было, было принято решение об объединении показателей данных групп с последующим сравнением полученных показателей с показателями группы с высокими уровнем ИМТ. Установлено, что аллель *A* в группе с низким и нормальным уровнем ИМТ встречался в 2 раза чаще (22,22%) по сравнению с группой с высокими показателями ИМТ (10,05%). Анализ распределения генотипов и аллелей в зависимости от пола и уровня ИМТ не выявил достоверных различий.

Таблица 6

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма rs27072 гена *SLC6A3/DAT1* в зависимости от показателей ИМТ

| rs27072 гена <i>SLC6A3/DAT1</i> | Низкий уровень ИМТ (ниже 18,5), n=18 | Нормальный уровень ИМТ (18,6–22,9), n=79 | Повышенный уровень ИМТ (23 и выше), n=204 |
|---------------------------------------|--|--|---|
| <i>AA</i> | 3 (16,67%) | 2 (2,53%) | 2 (0,98%) |
| <i>AG</i> | 2 (11,11%) | 11 (13,92%) | 37 (18,14%) |
| <i>GG</i> | 13 (72,22%) | 66 (83,54%) | 165 (80,88%) |

Заключение

Таким образом, в результате впервые проведенного в якутской популяции исследования ассоциации полиморфизма rs27072 гена *SLC6A3/DAT1* с показателями массы тела нами установлено, что популяционная выборка характеризовалась преобладанием индивидов с избыточной массой тела как среди лиц мужского, так и женского пола. Лица с показателями ИМТ ниже нормы встречались только среди женщин. Анализ возрастных показателей и показателей ИМТ в зависимости от пола не выявил достоверных различий как между группами мужчин и женщин, так и для каждой из них. Также установлено, что большинство участников исследования не соблюдают режим питания и рекомендуемые объемы пищи. Более половины опрошенных испытывают удовольствие от приема пищи и прибегают к дополнительному приему пищи при стрессовой ситуации или плохом настроении, предпочитая высококалорийную пищу.

Молекулярно-генетический анализ полиморфизма rs27072 гена *SLC6A3/DAT1* продемонстрировал следующие особенности изученной популяции: популяция якутов характеризуется значительным преобладанием носителей аллеля *G* вне зависимости от пола

и показателей ИМТ. Достоверное преобладание носителей аллеля *A* получено для группы с низким и нормальным уровнем ИМТ по сравнению с частотой данного аллеля в группе с избыточной массой тела. Таким образом, можно предположить, что носительство аллеля *A* полиморфизма rs27072 гена *SLC6A3/DAT1* выполняет протективную функцию в отношении развития избыточной массы тела в популяции якутов.

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

Список литературы

1. Jeffrey W. Dalley. Nucleus Accumbens D2/3 Receptors Predict Trait Impulsivity and Cocaine Reinforcement. *Science*. 2007. vol. 315. P. 1267-1270.
2. Laura Ferreri, Ernest Mas-Herrero, Robert J. Zatorre. Dopamine modulates the reward experiences elicited by music. *PNAS*. February 26. 2019. vol. 116 (9). P. 3793-3798.
3. Леушкина Н.Ф. Ханнанова А.Я. Ахмадеев А.В. Калимуллина Л.Б. Ассоциация полиморфного ДНК – локуса 256A/G гена переносчика дофамина SLC6A3 и уровня дофамина с повышенной тревожностью // *Успехи современного естествознания*. 2011. № 5. С. 16-18.
4. Krushnapriya Sahoo, Bishnupriya Sahoo, Ashok Kumar Choudhury. Childhood obesity: causes and consequences. *J. Family Med. Prim. Care*. 2015. Vol. 4 (2). P. 187-192.
5. Новикова Е.А., Баирова Т.А., Рычкова Л.В. Связь тандемного повтора *48BP VNTR* гена *DRD4* с избыточной массой тела // *Acta biomedica scientifica*. 2017. Т. 2. № 5, Ч. 1. С. 63-68.
6. Марусин А.В., Корнетов А.Н., Сваровская М.Г. Ассоциация генов подверженности к алкоголизму, шизофрении и болезни Альцгеймера с психодиагностическими признаками в популяции русских // *Бюллетень сибирской медицины*. 2016. № 15 (5). С. 83-96.
7. World Health Organization. Regional Office for the Western Pacific. The Asia Pacific Perspective: Redefining Obesity and its treatment. Health Communications Australia Pty Ltd, 2000. 55 p.