

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА *rs1801282* ГЕНА *PPARG* С ИНДЕКСОМ МАССЫ ТЕЛА (ИМТ) У ЯКУТОВ

Бочуров А.А.¹, Павлова Н.И.¹, Крылов А.В.¹, Алексеев В.А.¹, Куртанов Х.А.²

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», Якутск, e-mail: binbaher@mail.ru;

²Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр «Якутский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», Якутск, e-mail: hariton_kurtanov@mail.ru

Ожирение – самое распространенное заболевание в мире. Целью данного исследования было выяснить, связан ли однонуклеотидный полиморфизм *rs1801282* гена *PPARG* с показателями ИМТ в популяции якутов. Исследовано 336 человек якутской национальности, из них 154 люди с нормальным показателем ИМТ и 182 с ожирением. Анализ распределения частот аллелей и генотипов по полиморфизму *rs1801280* гена *PPARG* в выборке лиц с нормальным ИМТ и ожирением достоверных отличий не выявил, вероятно это связано с низкой частотой встречаемости аллели G, а также малочисленностью выборки. Расчет отношения шансов (OR) для рискованного аллеля показал, что аллель G встречается в 1,5 раза чаще (OR - 1,545, 95 % CI= [1,002-2,381]) у людей с ожирением, чем у людей с нормальным показателем ИМТ. В обеих группах установлено преобладание предкового аллеля C, 87,7 % в группе с нормальным весом и 82,7 % в группе с ожирением. Более высокий средний показатель ИМТ был у носителей гомозиготного генотипа GG (p<0,001), чем у носителей гетерозиготного генотипа CG (p<0,001) и гомозиготного генотипа CC (p=0,117). Наименьшим ИМТ обладали носители гетерозиготного генотипа (p<0,001).

Ключевые слова: ожирение, ИМТ, PPARG, rs1801280, якутская популяция

ASSOCIATION OF *PPARG* GENE *rs1801282* POLYMORPHISM WITH BODY MASS INDEX (BMI) IN YAKUTS

Bochurov A.A.¹, Pavlova N.I.¹, Krylov A.V.¹, Alekseev V.A.¹, Kurtanov K.A.²

¹Federal State Budgetary Scientific Institution “Yakut Science Center of Complex Medical Problems”, Yakutsk, e-mail: binbaher@mail.ru;

²Institute for Biological Problems of the Permafrost of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences - a separate subdivision of the Federal State Budgetary Institution of Science Federal Research Center “Yakutsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences”, Yakutsk, e-mail: hariton_kurtanov@mail.ru

Obesity is the most common disease in the world. The aim of this study was to find out whether the single nucleotide polymorphism rs1801282 of the PPARG gene is associated with BMI in the Yakut population. 336 people of Yakut nationality were studied, of which 154 people had a normal BMI and 182 were obese. An analysis of the distribution of allele and genotype frequencies for the rs1801280 polymorphism of the PPARG gene in a sample of individuals with normal BMI and obesity did not reveal significant differences, probably due to the low frequency of the G allele, as well as the small size of the sample. The calculation of the odds ratio (OR) for the risk allele showed that the G allele occurs 1.5 times more often (OR -1.545, 95% CI = [1.002-2.381]) in people with obesity than in people with a normal BMI. In both groups, the predominance of the ancestral allele C was found, 87.7% in the group with normal weight and 82.7% in the group with obesity. A higher mean BMI was found in carriers of the homozygous GG genotype (p<0.001) than in carriers of the heterozygous CG genotype (p<0.001) and homozygous CC genotype (p=0.117). Carriers of the heterozygous genotype had the lowest BMI (p<0.001).

Keywords: obesity, BMI, PPARG, rs1801280, Yakut population

Проблема ожирения поднимается из года в год и на сегодняшний день стала глобальной, так как избыточный вес является риском развития сахарного диабета, болезней сердечно-сосудистой (таких как инсульт и болезни сердца) и опорно-двигательной систем (в особенности остеоартрит), а также некоторых онкологических заболеваний (в т. ч. рака эндометрия, молочной железы, яичника, предстательной железы, печени, желчного пузыря, почки и толстой кишки). По данным Росстата за 2018 г., в России 17,8% мужчин и 24,5%

женщин имеют ожирение I, II и III степени. Избыточная масса тела (ИМТ) зафиксирована у 46,9% мужчин и 34,7% женщин. Норме ИМТ соответствуют лишь 34% мужчин и 38,1% женщин [1-4].

Патогенез ожирения включает взаимодействие поведенческих, экологических и генетических факторов. Основным регулятором жировой ткани является ядерный рецептор *PPARG* [5]. Ген *PPARG* расположен на хромосоме 3p25.3 и состоит из девяти экзонов: экзонов A1, A2, B и 1-6. Согласно базе данных NCBI RefSeq, на сегодняшний день у людей идентифицировано шестнадцать вариантов мРНК *PPARG* из-за альтернативного сплайсинга и использования дифференциального промотора. Ген *PPARG* сильно полиморфен, и в базе данных NCBI dbSNP зарегистрированы тысячи генетических вариантов, среди которых миссенс-вариант rs1801282 (p.Pro12Ala), расположенный в экзоне B, был тщательно изучен в связи с его значительной взаимосвязью с показателями ожирения и уровнями липидов в сыворотке крови. Полиморфизм rs1801282 образован однонуклеотидной вариацией цитозина (C) на гуанин (G), что приводит к замене пролина на аланин в полипептиде *PPARG2*. Многие исследователи установили, что аллель G полиморфизма rs1801282 был связан с более высокими уровнями индекса массы тела, количеством общего холестерина и количеством холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) [6].

Целью данного исследования было выяснить, связан ли однонуклеотидный полиморфизм rs1801282 гена *PPARG* с показателями ИМТ в популяции якутов.

Материалы и методы исследований. Исследования были проведены в лаборатории наследственной патологии отдела молекулярной генетики Якутского научного центра комплексных медицинских проблем (ЯНЦ КМП). Материалом исследования являлись образцы ДНК из коллекции биоматериала (ДНК) популяций Республики Саха (Якутия) ЯНЦ КМП с использованием УНУ «Геном Якутии» (рег. № USU_507512). Для каждого участника исследования разрабатывалась индивидуальная генетическая карта, содержащая клинико-функциональные и лабораторные показатели, а также генеалогические данные. В ходе молекулярно-генетического исследования протестировано 336 человек якутской национальности, исследование проведено с письменного информированного согласия всех участников. Были сформированы две группы обследуемых лиц: контрольная группа с нормальным ИМТ (18 – 24,9) – 154 испытуемых, группа с ожирением ИМТ (30≤) – 182 испытуемых. Протокол исследования был одобрен Этическим комитетом ЯНЦ КМП.

Показатели индекса массы тела (ИМТ) рассчитывали по общепринятой формуле:

$$I = \frac{m}{h^2}$$

где *I* – индекс массы тела, *m* – масса тела в килограммах (кг), *h*² – квадрат роста в метрах

(м).

Для исследования полиморфизма *rs1801282* гена *PPARG* образцы геномной ДНК выделяли коммерческим набором для экстракции ДНК ООО «Excell Biotech» (Россия, г. Якутск). Исследование однонуклеотидного полиморфизма проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим анализом длин рестриционных фрагментов (ПДРФ). Условия проведения амплификации и рестрикции, представлены в таблице 1.

Таблица 1

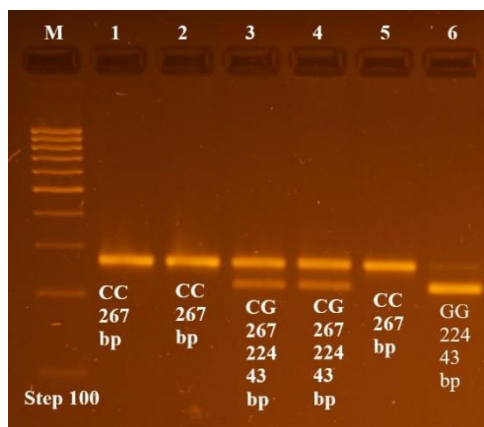
Условия проведения ПЦР-ПДРФ анализа

Ген	Последовательность праймеров	Длина амплификата п.н.	Температура отжига	Эндонуклеаза рестрикции	Длина рестриционных фрагментов п.н.
PPARG	F:5'- GCCAATTCAAGCCCAGTC-3'	267	64°C	BstFNI	CC – 267
	R:5'- GATATGTTTGCAGACAGTGTA TCAGTGAAGGAATCGCTTTCT G -3'				CG–267, 224, 43 GG – 224,43

Пробы после ПЦР-ПДРФ вносили на лунки 2- 4 % агарозного геля с бромистым этидием (0,5 мкг/мл) и проводили электрофорез с трис-ацетатным буфером (1%) в течение 45-60 минут при напряжении 120 В.

После электрофореза гель просматривали под ультрафиолетом ($\lambda = 310$ нм) в гель документирующем трансиллюминаторе.

Интерпретация результатов генотипирования была выполнена на основе различных шаблонов бэндов для гена *PPARG*: *CC* генотип 267 п.н. (пар нуклеотидов), *CG* генотип 267, 224, 43 п.н., генотип *GG* 224, 43 п.н. (Рисунок).



Электрофореграмма участка гена PPARG в 4%-ном агарозном геле после ПДРФ. 1, 2, 5 – генотип CC; 3 и 4 – генотип CG; 6 – генотип GG; M – маркер Step 100. bp – пар оснований (н.п. – пар нуклеотидов)

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы «Office Microsoft Excel 2010».

При анализе сопряженности частоты неблагоприятного аллеля с ожирением использовали четырехпольную таблицу сопряженности и критерий χ -квадрат с поправкой Йейтса.

Таблица 2

Четырехпольная таблица сопряженности

	Ожирение	Контрольная выборка	Всего
Аллель риска	A	B	A + B
Аллель риска отсутствует	C	D	C + D
Всего	A + C	B + D	A + B + C + D

χ -квадрат с поправкой Йейтса, рассчитывали по следующей формуле:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n \frac{(|O_{ij} - E_{ij}| - 0,5)^2}{E_{ij}},$$

где O_{ij} – фактическое количество наблюдений ij , E_{ij} – ожидаемое число наблюдений ij

Для расчета отношения шансов использовали четырехпольную таблицу сопряженности и следующую формулу:

$$OR = \frac{A \cdot D}{B \cdot C},$$

где OR – отношение шансов; A, B, C, D – количество наблюдений в ячейках таблицы сопряженности.

Для оценки значимости отношения шансов рассчитывались границы 95% доверительного интервала (95% ДИ, или 95% CI, от англ. «confidence interval»). Результаты считались значимыми при $p < 0,05$.

Средние показатели ИМТ в зависимости от генотипа сравнивали с помощью t-критерия Стьюдента по следующей формуле:

$$td = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$$

где td – t-критерий Стьюдента, M_1 и M_2 – сравниваемые (сопоставляемые) средние величины, $m_1^2 + m_2^2$ – соответствующие средние (стандартные) ошибки.

Далее величину t-критерия сопоставляли с его граничным значением, различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждения. Результаты анализа частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма *rs1801282* гена *PPARG* исследуемых выборок представлены в таблице 3.

Таблица 3

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма *rs1801282* гена *PPARG* с расчетом отношения шансов (OR) в группах с нормальным ИМТ и ожирением

Группы обследованных	Распределение генотипов, %			Частота аллелей, %		Расчет отношения шансов (OR) для аллеля риска (G)	
	CC	CG	GG	C	G	OR (95 % CI)	p
Все обследованные (n=335)	71,6	26,5	2,1	84,7	15,3	-	-
Контрольная группа с нормальным ИМТ (n=153)	76,0	23,4	0,6	87,7	12,3	1,545 (1,002-2,381)	0,061
Группа с ожирением (n=175)	67,4	29,3	3,3	82,1	17,9		

Примечание: OR (95% CI) – отношение шансов с 95% доверительным интервалом, p – значимость с поправкой Йейтса, ИМТ – индекс массы тела.

Частота рискового аллеля G у всех обследованных составил 15,3%, при этом генотип GG составил 2,1%.

Результаты анализа связи полиморфизма rs1801282 гена *PPARG* с высоким ИМТ показали, что в группе с ожирением рискованный аллель *G* встречался несколько чаще, чем в группе с нормальным ИМТ (OR – 1,545, 95% CI [1,002-2,381]). При анализе генотипов установлено, что частота встречаемости гомозиготного генотипа *GG* в группе лиц, страдающих ожирением выше, чем в группе с нормальным ИМТ (OR – 5,216, 95% CI [0,621-43,808]), однако доверительный интервал показал широкий диапазон и значимость различий была статистически незначимой ($p=0,097$).

Анализ ИМТ в зависимости от генотипов полиморфизма rs1801282 гена *PPARG* представлен в таблице 4.

Таблица 4

Показатели ИМТ при различных генотипах полиморфизма rs1801282 гена *PPARG*

Показатель	Генотипы rs1801282 гена <i>PPARG</i>		
	<i>GG</i> (n=7)	<i>CG</i> (n=89)	<i>CC</i> (n=240)
ИМТ (кг/м ²)	30,5±1,59	18,5±0,122	28±0,069
<i>td</i>	1,57 (<i>GG/CC</i>)	7,53 (<i>GG/CG</i>)	67,78 (<i>CG/CC</i>)
<i>p</i>	0,117	< 0,001	<0,001

Примечание: ИМТ – значения индекса массы тела, *td* – *t*-критерий Стьюдента, в скобках указаны сравниваемые генотипы, *p* – критерий значимости.

Наиболее высокие средние показатели ИМТ (30,5±1,59) были у лиц с гомозиготным генотипом *GG*, а наиболее низкие показатели ИМТ – у носителей гетерозиготного генотипа *CG* (18,5±0,122).

В нашей группе исследованных, а именно в популяции якутов отмечается преобладание предкового аллеля *C* 84,7% против 15,3% аллеля *G*, но нет достоверного различия между выборками лиц с ожирением и без. Вероятно, это связано с низкой частотой встречаемости аллеля *G*, а также малочисленностью выборки. Результаты работ других исследователей также неоднозначны. Так, в исследованиях Y.S. Yao et al., (2015) и S. Li et al., (2022) установлена связь между полиморфизмом rs1801280 гена *PPARG* и повышенным индексом массы тела у представителей различных популяций Восточной Азии, Южной Азии, Западной Азии, Европы, Америки и Африки [6, 7]. В то же время у исследованных жителей Северного Кавказа и Кыргызстана не удалось выявить достоверной связи между полиморфизмом rs1801280 гена *PPARG* и повышенным индексом массы тела, отмеченных в работах Р.А. Тхакушинова и соавт. (2020), Ж.Т. Исакова и соавт. (2021) и [8, 9]. В то же время в исследовании К.Д. Иевлевой и соавт. (2019) у подростков-монголоидов был показан

протективный эффект аллеля *G* в отношении избыточной массы тела и ожирения [10]. В дальнейшем данный полиморфизм необходимо исследовать в сочетании с геном *FTO*, связанного с ожирением в популяции якутов. Такая связь была установлена в работе Н.И. Павловой и соавт. (2020), где в якутской популяции выявлена достоверная взаимосвязь носительства аллеля *A* полиморфизма rs9939609 гена *FTO* с ожирением и степенью ожирения, при этом количество носителей аллеля *A* среди лиц со 2 и 3 степенью ожирения достоверно выше, чем в группах лиц с ожирением 1 степени и с нормальным ИМТ. Дополнительным стимулом дальнейших исследований популяции якутов является тот факт, что коренные жители Якутии долгое время живут под воздействием экстремальных климатических условий, для которых характерно преобладание липидного энергетического обмена вместо углеводного [11].

Заключение. Одной из приоритетных задач современной медицины является разработка методов ранней диагностики нарушений метаболизма липидов и усовершенствование классических методов лечения и профилактики ожирения. Исследование молекулярно-генетических факторов регуляции формирования веса, а также идентификация генов предикторов может значительно улучшить и ускорить данный процесс. Анализ распределения частот аллелей и генотипов по полиморфизму rs1801280 гена *PPARG* в выборке лиц с нормальным ИМТ и ожирением достоверных отличий не выявил, однако в группе лиц, страдающих ожирением, рискованный аллель *G* встречался в 1,5 раза чаще, чем в группе с нормальным ИМТ. Требуется дальнейшее исследование взаимодействия данного полиморфизма в сочетании с другими генами на более многочисленной выборке популяций Якутии, что обеспечит возможность в общей мере провести более тщательный анализ.

Список литературы

1. Драпкина О.М., Самородская И.В., Старинская М.А., Ким О.Т., Неймарк А.Е. Ожирение: оценка и тактика ведения пациентов. Коллективная монография. 2021. М.: ФГБУ “НМИЦ ТПМ” Минздрава России; ООО “Силиция-Полиграф”. 74 с.
2. Дедов И.И., Шестакова М.В., Мельниченко Г.А., Мазурина Н.В., Андреева Е.Н., Бондаренко И.З., Гусова З.Р., Дзгоева Ф.Х., Елисеев М.С., Ершова Е.В., Журавлева М.В., Захарчук Т.А., Исаков В.А., Клепикова М.В., Комшилова К.А., Крысанова В.С., Недогода С.В., Новикова А.М., Остроумова О.Д., Переверзев А.П., Роживанов Р.В., Романцова Т.И., Рюткина Л.А., Саласюк А.С., Сасунова А.Н., Сметанина С.А., Стародубова А.В., Суплотова Л.А., Ткачева О.Н., Трошина Е.А., Хамошина М.Б., Чечельницкая С.М., Шестакова Е.А., Шереметьева Е.В. Междисциплинарные клинические

рекомендации «Лечение ожирения и коморбидных заболеваний» // Ожирение и метаболизм. 2021. Т. 18. № 1. С. 5-99.

3. Росстат изучил рацион россиян // Федеральная служба государственной статистики. 2019. [Электронный ресурс]. URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/313/document/70761> (дата обращения: 23.12.2022).

4. Ожирение и избыточный вес // Всемирная организация здравоохранения. 2021. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (дата обращения: 23.12.2022).

5. Бабенко А.Ю., Голикова Т.И. Ожирение как предиктор метаболических нарушений и цель для персонализированных воздействий // Российский журнал персонализированной медицины. 2021. Т.1. № 1. С. 59-94.

6. Yao Y.S, Li J., Jin Y.L., Chen Y., He L.P. Association between PPAR- γ 2 Pro12Ala polymorphism and obesity: a meta-analysis. Mol Biol Rep. 2015. vol. 42. no 6. P. 1029-1038. DOI: 10.1007/s11033-014-3838-6.

7. Li S., He C., Nie H., Pang Q., Wang R., Zeng Z., Song Y. G Allele of the rs1801282 Polymorphism in PPARG Gene Confers an Increased Risk of Obesity and Hypercholesterolemia, While T Allele of the rs3856806 Polymorphism displays a protective role against dyslipidemia: a systematic review and meta-analysis. Front Endocrinol (Lausanne). 2022. vol. 13. 919087. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2022.919087/full> (дата обращения: 23.12.2022). DOI: 10.3389/fendo.2022.919087.

8. Тхакушинов Р.А., Лысенков С.П., Тугуз А.Р., Муженя Д.В., Корчажкина Н.Б., Даутов Ю.Ю., Уракова Т.Ю., Степанова Н.О. Ассоциация массы тела у жителей северного кавказа с точечными мутациями генов LEPR (RS1137101) и PPARG (RS1801282) // Sciences of Europe. 2020. Т. 53-2. № 53. С. 31-36.

9. Исакова Ж.Т., Кипень В.Н., Акынбек К.С., Айтбаев К.А., Алдашева Н.М., Талайбекова Э.Т., Мукеева С.Б., Осмонкул К.М., Бейшеналиева С.Т., Миррахимов Э.М. Роль полиморфных вариантов генов ADIPOQ, MTHFR, PON1, KCNJ11, TCF7L2, ITLN1 и PPARG в увеличении риска развития ожирения в Кыргызской Республике // Медицинская генетика. 2021. Т. 20. № 1. С. 44-56.

10. Иевлева К.Д., Баирова Т.А., Шенеман Е.А., Аюрова Ж.Г., Бугун О.В., Рычкова Л.В., Колесникова Л.И., Бальжиева В.В., Новикова Е.А. Протективный эффект G-аллеля полиморфизма PPARG2 rs1801282 в отношении избыточной массы тела и ожирения у подростков-монголоидов // Журнал медико-биологических исследований. 2019. Т. 7. № 4. С. 452-463.

11. Павлова Н.И., Куртанов Х.А., Дьяконова А.Т., Соловьева Н.А., Сыдыкова Л.А.,

Александрова Т.Н. Изучение генетической составляющей нарушения пищевого поведения в выборке якутов с ожирением // Медицинская генетика. 2020. Т. 19. № 5(214). С. 58-59.