

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА RS174537 ЭНХАНСЕРА ГЕНОВ ДЕСАТУРАЗЫ ЖИРНЫХ КИСЛОТ 1 И 2 (FADS1 И FADS2) С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА

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

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем»; 677000, Республика Саха (Якутия), Якутск, e-mail: solnishko_84@inbox.ru;

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова», 677000, Республика Саха (Якутия), Якутск

Ежегодно по России и во всем мире наблюдается рост распространенности сахарного диабета 2-го типа. Основными причинами заболеваемости являются малоподвижный образ жизни, избыточный вес, а также диета. Была исследована вариабельность полиморфизма rs174537 энхансера генов *FADS1* и *FADS2*, влияющего на метаболизм полиненасыщенных жирных кислот, а также на биохимические показатели крови. Исследованы 95 пациентов с сахарным диабетом 2-го типа, группой сравнения была выборка из 450 человек с различным индексом массы тела, без хронических заболеваний. Для генотипирования использовали классические методы ПЦР-ПДФ анализа. Во всех исследованных группах выявлено преобладание генотипа ТТ, связанного с низкой эффективностью пути биосинтеза ПНЖК. Расчет отношения шансов показал, что в группе пациентов с СД 2-го типа аллель Т встречается немного чаще, чем в группе здоровых людей, но разница была статистически не значимой ($p=0,662$). При сравнении частоты генотипов и аллелей исследованных групп в зависимости от ИМТ достоверных различий не обнаружено. Выявлена достоверная разница показателей общего билирубина в крови у пациентов с СД 2-го типа между носителями генотипов ТТ и ТГ.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, rs174537, ПНЖК, FADS1, FADS2.

ASSOCIATION OF THE RS174537 POLYMORPHISM OF THE FATTY ACID DESATURASE 1 AND 2 GENE ENHANCER (FADS1 AND FADS2) WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Pavlova N.I.¹, Alekseev V.A.¹, Krylov A.V.¹, Bochurov A.A.¹, Sydykova L.A.², Kurtanov Kh.A.

¹Federal State Budgetary Scientific Institution «Yakut Science Center of Complex Medical Problems», Yakutsk, e-mail: solnishko_84@inbox.ru;

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «M. K. Ammosov North-Eastern Federal University», Yakutsk

Every year in Russia and around the world there is an increase in the prevalence of type 2 diabetes. The main cause of morbidity is a sedentary lifestyle, excess weight, and diet. The variability of the rs174537 polymorphism of the enhancer of the *FADS1* and *FADS2* genes, which affects the metabolism of polyunsaturated fatty acids, as well as biochemical blood parameters, was studied. 95 patients with type 2 diabetes mellitus were studied; the comparison group was a sample of 450 people with different body mass indexes and without chronic diseases. For genotyping, classical methods of PCR-RFLP analysis were used. In all studied groups, the predominance of the TT genotype, associated with the low efficiency of the PUFA biosynthesis pathway, was revealed. Calculation of the odds ratio showed that in the group of patients with type 2 diabetes, the T allele is slightly more common than in the group of healthy people, but the difference was not statistically significant ($p = 0.662$). When comparing the frequency of genotypes and alleles of the studied groups depending on BMI, no significant differences were found. A significant difference in total bilirubin levels in the blood was revealed in patients with type 2 diabetes between carriers of the TT and TG genotypes.

Keywords: Type 2 diabetes mellitus, rs174537, PUFA, FADS1, FADS2.

Распространенность сахарного диабета 2-го типа (СД 2) и резистентности к инсулину ежегодно растут, затрагивая около 422 млн человек во всем мире [1]. А по оценкам Международной диабетической федерации (IDF), в 2021 году 537 млн человек страдали

сахарным диабетом; по прогнозам, это число увеличится на 46% и может достигнуть 783 млн к 2045 г. [2]. В России на начало 2021 года общая численность больных, состоящих на диспансерном учете с диагнозом «СД 2-го типа», больше 4 млн человек. По Республике Саха (Якутия) на начало 2021 года количество больных, состоящих на диспансерном учете по СД 2-го типа, во всех возрастных группах – 23 387 человек, что составляет 2406 на 100 тыс. населения [3]. СД 2-го типа чаще развивается у лиц старше 40 лет с избыточной массой тела или ожирением, особенно абдоминальным его типом, но может развиваться и в более молодом возрасте, и у лиц с нормальной массой тела [4].

Многие исследователи связывают увеличение распространенности данного заболевания с малоподвижным образом жизни и резким изменением в количестве и качестве продуктов питания, присутствующих в современной западной диете [5, 6]. Современный рацион питания населения Якутии кардинально отличается от того, каким он был полвека назад. До недавнего времени основу рациона составляла белково-липидная пища, но развитие земледелия и транспортных сообщений сменило его на углеводно-липидную пищу. Так, по данным Росстата за 2021 год, суточная пищевая ценность потребляемых продуктов среднестатистического жителя Якутии составила 78 г белков, 110 г жиров и 301 г углеводов [7].

В исследовании, где участвовали более 11 тысяч человек с СД 2-го типа, Цзинцзин Цзяо и соавторы (2019) установили, что потребление полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) с пищей, особенно линолевой кислоты и морских омега-3 ПНЖК, связано с более низкой смертностью общей и от сердечно-сосудистых заболеваний [8]. Однако Мингюань Ху с соавторами (2022) в проведенном метаанализе исследований в общем количестве 54 000 пациентов установили, что общее потребление ПНЖК было связано с увеличением заболеваемости СД 2-го типа в Европе и Австралии, тогда как в Азии было, наоборот, связано со снижением заболеваемости. Также они установили, что потребление омега-3 ПНЖК и декозагексаеновой кислоты (ДГК) имело нелинейную связь «доза – реакция» с заболеваемостью СД 2-го типа [9].

Пищевые ПНЖК метаболизируются преимущественно в печени посредством ряда стадий десатуразы жирных кислот и стадий удлинения с помощью ферментов десатуразы жирных кислот (FADS) [10]. Гены десатуразы жирных кислот 1 и 2 (*FADS1* и *FADS2*) играют решающую роль в метаболизме ПНЖК. Однонуклеотидный полиморфизм (SNP) rs174537, расположенный в энхансере генов *FADS1* и *FADS2*, влияет на уровень арахидоновой кислоты и тесно связан с ферментативной активностью FADS; установлено, что генотип TT (rs174537) фенотипически связан с низкой эффективностью пути биосинтеза ПНЖК в когортах европейцев и афроамериканцев [11]. Частота аллелей полиморфизма rs174537 сильно

различается между популяциями [12], что, вероятно, и приводит к различиям в связи ПНЖК и заболеваемостью СД 2-го типа между европейцами и азиатами.

Целью настоящего исследования было изучение возможной связи между генетическими вариантами энхансера генов *FADS1* и *FADS2* с предрасположенностью к СД 2-го типа в якутской популяции.

Материалы и методы исследования

Экспериментальная часть работ по генотипированию полиморфизма rs174537 энхансера генов *FADS1*, *FADS2* была проведена в лаборатории наследственной патологии отдела молекулярной генетики Якутского научного центра комплексных медицинских проблем (ЯНЦ КМП). Для исследования использованы образцы ДНК из коллекции биоматериала ЯНЦ КМП с использованием УНУ «Геном Якутии» (рег. № USU_507512). Исследование проводили с письменного согласия участников. Протокол исследования утвержден локальным комитетом по биомедицинской этике при ЯНЦ КМП.

Выборка состояла из 95 пациентов эндокринологического отделения Республиканской больницы № 2 Государственного бюджетного учреждения «Центр экстренной медицинской помощи» с диагнозом «СД 2-го типа». В состав выборки вошли мужчины (n=31) и женщины (n=64), средний возраст составил $60,2 \pm 0,06$ года. Группой сравнения служила выборка из 450 добровольцев без хронических заболеваний (306 мужчин и 144 женщин) якутской этнической принадлежности, средний возраст которых составил $49,3 \pm 0,05$ года. Были сформированы 6 групп обследуемых лиц: группа пациентов с СД 2-го типа с ожирением (n=61), группа пациентов с СД 2-го типа с нормальным ИМТ (n=24), группа пациентов с СД 2-го типа с предожирением (n=10), группа здоровых лиц с нормальным ИМТ (n=162), группа здоровых лиц с ожирением (n=184) и группа здоровых лиц с предожирением (n=104).

Анкета для каждого участника была заполнена при личном осмотре. Рост и вес измерялись у участников без обуви и верхней одежды. ИМТ рассчитывали путем деления веса (кг) на квадрат роста (m^2). В соответствии с рекомендациями ВОЗ, ожирение диагностировалось при ИМТ >30 kg/m^2 , нормальными считались показатели от 18,0 до 24,9 kg/m^2 .

Биохимический анализ крови пациентов с СД 2-го типа был проведен в лаборатории эндокринологического отделения Республиканской больницы № 2 Государственного бюджетного учреждения «Центр экстренной медицинской помощи» и был указан в истории болезни каждого пациента.

Для проведения молекулярно-генетического анализа образцы геномной ДНК выделяли из цельной крови коммерческим набором для выделения ДНК Newteyux (г. Якутск, Россия). Амплификация области гена, содержащего полиморфный вариант rs174537, проводилась

стандартными парами праймеров (прямой праймер: 5'- CAGGGGAGAGAGGTGGAGTA-3' и обратный праймер: 5'- AGGTCTGTCTGGCTGTCTCC -3')

Реакционная смесь для ПЦР содержала: праймер прямой и обратный по 10 пикомоль/мкл (1 мкл); БиоМастер HS-Тaq ПЦР-Спец (2х) (ООО «Биолабмикс», Россия) – 12,5 мкл; деионизированная вода 9,5 мкл и ДНК (100 мкг/мл) – 1 мкл. Общий объем реакционной смеси для амплификации составил 25 мкл. Температурные условия ПЦР были следующими: 94°C – 4 мин, затем 35 циклов при 94°C – 1 мин, 64°C – 1 мин и 72°C – 1 мин, заключительная элонгация при 72°C – 5 мин. Смесь для ПДРФ объемом 20 мкл состояла из: амплификата – 7 мкл, деионизированной воды – 10,9 мкл, рестрикционного буфера – 2 мкл и эндонуклеаза рестрикции *Ava*II (2 е.а.).

Интерпретация результатов генотипирования была выполнена на основе различных шаблонов бэндов участка с полиморфизмом rs174537 (рис. 1).

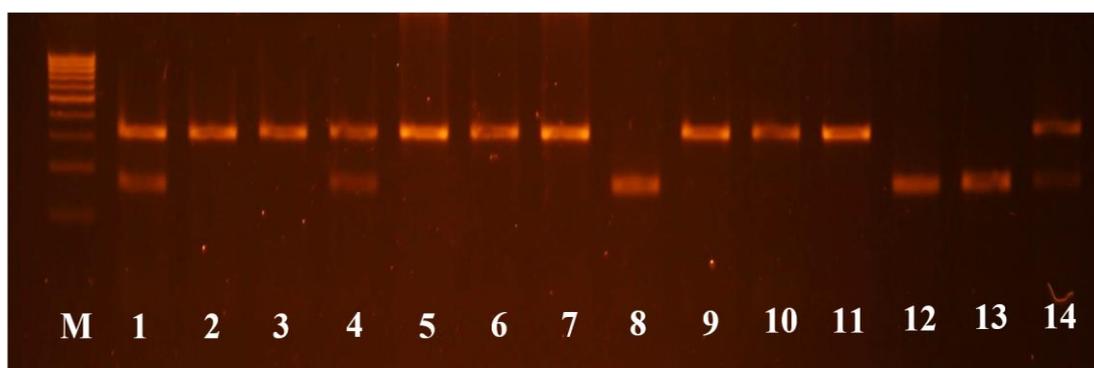


Рис. 1. Электрофореграмма полиморфизма rs174537 энхансера генов *FADS1*, *FADS2* в 4%-ном агарозном геле после ПДРФ. М – маркер *Step* 100; 1, 4 и 14 – генотип GT (149, 158, 307 п.н.); 2, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 11 – генотип TT (307 п.н.); 8, 12 и 13 – генотип GG (149, 158 п.н.)

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. Для оценки значимости отношения шансов рассчитывали границы 95%-ного доверительного интервала (ДИ 95%).

Средние показатели ИМТ в зависимости от генотипа сравнивали с помощью критерия Краскела–Уоллиса с методом множественных сравнений по тесту Данна с поправкой Бонферрони на онлайн-калькуляторе *Statistics Kingdom* [13]. Результаты считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

По результатам исследования распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма rs174537 во всех группах находилось в равновесии Харди–Вайнберга (табл. 1).

Во всех исследованных группах выявлено преобладание генотипа ТТ, который имеет низкую частоту (~13%) в популяциях европейского происхождения и чрезвычайно редок у африканцев (<1 %) [14].

Таблица 1

Распределение частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма rs174537 энхансера генов *FADS1* и *FADS2* с показателем отношения шансов (ОШ)

№	Выборка	n	Генотипы, %			Аллеи, %		ОШ (ДИ 95%)	p
			ТТ	TG	GG	T	G		
1	СД 2-го типа	95	61,1	32,6	6,3	77,4	22,6	1,106 (0,762– 1,605)	0,662
	Здоровые	450	57,6	36,0	6,4	75,6	24,4		
2	СД 2-го типа с нормальным ИМТ	24	62,5	37,5	0,0	81,3	18,8	1,216 (0,562– 2,629)	0,757
	Здоровых с нормальным ИМТ	162	60,5	35,2	4,3	78,1	21,9		
3	СД 2-го типа с предожирением	10	40,0	60,0	0,0	70,0	30,0	0,860 (0,315– 2,347)	0,974
	Здоровых с предожирением	104	54,8	36,5	8,7	73,1	26,9		
4	СД 2-го типа с ожирением	61	63,9	26,2	9,8	77,0	23,0	1,135 (0,700– 1,840)	0,694
	Здоровые с ожирением	184	56,5	36,4	7,1	74,7	25,3		

Расчет отношения шансов показал, что в группе пациентов с СД 2-го типа аллель Т встречается немного чаще, чем в группе здоровых людей, но разница была статистически не значимой ($p=0,662$). Это не согласуется с результатами Вахида Мансури с соавторами (2018), которые установили, что в иранской популяции носители мутантного аллели G более склонны к развитию диабета [15].

При сравнении частоты генотипов и аллелей исследованных групп в зависимости от ИМТ разница также была статистически не значимой, но количество носителей аллеля G и генотипа GG было больше всего в группах с ожирением и предожирением как среди здоровых лиц, так и среди пациентов с СД 2-го типа.

В результате анализа показателей биохимического анализа в зависимости от генотипа среди пациентов с СД 2-го типа только в показателях общего билирубина были выявлены достоверные различия ($p=0,044$), в остальных показателях различия были статистически не значимыми (табл. 2).

Таблица 2

Клинико-лабораторные характеристики в зависимости от генотипа полиморфизма rs174537 энхансера генов *FADS1* и *FADS2* у пациентов с СД 2-го типа

Показатель	Генотип			p
	TT	TG	GG	
Количество пациентов	58	31	6	
Индекс массы тела (кг/м ²)	32,22±0,160	31,81±1,207	32,67±0,673	0,543
Пол: женский/мужской	37/21	23/8	4/2	
Холестерин (ммоль/л)	4,8±0,126	5,25±0,288	4,93±0,550	0,731
Триглицериды (ммоль/л)	1,88±0,124	1,82±0,163	1,95±0,229	0,363
ЛПВП (ммоль/л)	1,35±0,140	1,40±0,133	1,23±0,176	0,637
ЛПНП (ммоль/л)	2,91±0,110	2,87±0,220	2,85±0,448	0,996
АСТ	19,18±0,136	17,31±2,066	18,97±6,191	0,864
АЛТ	20,4±0,142	16,53±2,01	24,9±12,36	0,405
Нв. А 1с	8,79±0,154	8,6±0,367	9,57±0,899	0,395
Общий билирубин	10,55±0,094	6,14±0,602	7,13±1,638	0,044
Глюкоза (ммоль/л)	8,54±0,173	8,82±0,507	10,34±1,460	0,152

Примечание: p по критерию Краскела–Уоллиса.

Множественный анализ теста Данна с поправкой Бонферрони выявил, что уровень общего билирубина был достоверно выше у носителей генотипа TT ($p=0,017$), чем у носителей гетерозиготного генотипа TG.

Многие исследователи отмечают, что у носителей аллеля T значительно более низкие уровни показателей общего холестерина и ЛПНП [15, 16]. Однако в исследованной выборке пациентов с СД 2-го типа были получены противоположные результаты. Противоречивость результатов, вероятнее всего, связана с тем, что пациенты принимали лекарственные средства, воздействующие на холестерин и другие показатели крови.

Заключение

Генетические вариации в кластере генов *FADS* могут вызывать изменения уровней жирных кислот и десатуразы в плазме, что может дать новое понимание диагностических и терапевтических стратегий для пациентов с СД 2-го типа. В исследованных выборках якутов по полиморфизму rs174537 энхансера генов *FADS1* и *FADS2* взаимосвязи с СД 2-го типа не обнаружено, во всех группах установлено преобладание генотипа TT. При сравнении частоты генотипов и аллелей исследованных групп в зависимости от ИМТ статистически значимых различий не выявлено. Выявлена достоверная разница показателей общего билирубина в крови у пациентов с СД 2-го типа между носителями генотипов TT и TG.

Список литературы

1. World Health Organization. Diabetes. WHO. 2023. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes> (дата обращения: 26.10.2023).

2. International diabetes federation Diabetes Atlas, 10th edition, 2021. International diabetes federation. [Электронный ресурс]. URL: <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/> (дата обращения: 26.10.2023).
3. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К., Железнякова А.В., Исаков М.А. Эпидемиологические характеристики сахарного диабета в Российской Федерации: клинико-статистический анализ по данным Федерального регистра сахарного диабета на 01.01.2021 // Сахарный диабет. 2021. Т. 24. № 3. С. 204-221. DOI: 10.14341/DM12759.
4. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю., Шамхалова М.Ш., Сухарева О.Ю., Галстян Г.Р., Токмакова А.Ю., Никонова Т.В., Суркова Е.В., Кононенко И.В., Егорова Д.Н., Ибрагимова Л.И., Шестакова Е.А., Клефтортова И.И., Скляник И.А., Ярек-Мартынова И.Я., Северина А.С., Мартынов С.А., Викулова О.К., Калашников В.Ю., Бондаренко И.З., Гомова И.С., Старостина Е.Г., Аметов А.С., Анциферов М.Б., Бардымова Т.П., Бондарь И.А., Валеева Ф.В., Демидова Т.Ю., Мкртумян А.М., Петунина Н.А., Руюткина Л.А., Суплотова Л.А., Ушакова О.В., Халимов Ю.Ш. Сахарный диабет 2 типа у взрослых // Сахарный диабет. 2020. № 23 (2S). С. 4-102. DOI: 10.14341/DM12507.
5. Schwingshackl L., Hoffmann G., Lampousi A.M., Knüppel S., Iqbal K., Schwedhelm C., Bechthold A., Schlesinger S., Boeing H. Food groups and risk of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of prospective studies // Eur. J. Epidemiol. 2017. № 32 (5). P. 363-375. DOI: 10.1007/s10654-017-0246-y.
6. Edenbrandt A., Ewers B., Storgaard H., Smed S. Dietary changes based on food purchase patterns following a type 2 diabetes diagnosis // Public Health Nutrition. 2022. № 25 (10). P. 2782-2793. DOI: 10.1017/S1368980022001409.
7. Потребление, пищевая и энергетическая ценность продуктов питания в домашних хозяйствах. Росстат – 2022. [Электронный ресурс]. URL: https://14.rosstat.gov.ru/statistics/ur_zhizni (дата обращения: 26.10.2023).
8. Jiao J., Liu G., Shin H.J., Hu F.B., Rimm E.B., Rexrode K.M. Dietary fats and mortality among patients with type 2 diabetes: analysis in two population based cohort studies // BMJ. 2019. № 366. P. 14009. DOI: 10.1136/bmj.14009.
9. Hu M., Fang Z., Zhang T., Chen Y. Polyunsaturated fatty acid intake and incidence of type 2 diabetes in adults: a dose response meta-analysis of cohort studies // Diabetol Metab Syndr. 2022. № 14 (1). P. 34. DOI: 10.1186/s13098-022-00804-1.
10. Kirk L.M., Waits C.M.K., Bashore A.C., Dosso B., Meyers A.K., Renaldo A.C., DePalma T.J., Simms K.N., Hauser N., Chuang Key C.C., McCall C.E., Parks J.S., Sergeant S., Langefeld C.D., Skardal A., Rahbar E. Exploiting three-dimensional human hepatic constructs to investigate the

impact of rs174537 on fatty acid metabolism // PLoS One. 2022. № 17 (1). P. e0262173. DOI: 10.1371/journal.pone.0262173.

11. Dosso B., Waits C.M.K., Simms K.N., Sergeant S., Files D.C., Howard T.D., Langefeld C.D., Chilton F.H., Rahbar E. Impact of rs174537 on Critically Ill Patients with Acute Lung Injury: A Secondary Analysis of the OMEGA Randomized Clinical Trial // Curr Dev Nutr. 2020. № 4 (10). P. 147. DOI: 10.1093/cdn/nzaa147.

12. Sergeant S., Hallmark B., Mathias R.A., Mustin T.L., Ivester P., Bohannon M.L., Ruczinski I., Johnstone L., Seeds M.C., Chilton F.H. Prospective clinical trial examining the impact of genetic variation in FADS1 on the metabolism of linoleic acid- and γ -linolenic acid-containing botanical oils // Am J. Clin Nutr. 2020. № 111 (5). P. 1068-1078. DOI: 10.1093/ajcn/nqaa023.

13. Статистический онлайн калькулятор. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.statskingdom.com/index.html> (дата обращения: 26.10.2023).

14. Сайт базы данных «1000 геномов». The International Genome Sample Resource. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.internationalgenome.org/> (дата обращения: 26.10.2023).

15. Mansouri V., Javanmard S.H., Mahdavi M., Tajedini M.H. Association of Polymorphism in Fatty Acid Desaturase Gene with the Risk of Type 2 Diabetes in Iranian Population // Adv Biomed Res. 2018. № 7. P. 98. DOI: 10.4103/abr.abr_131_17.

16. Kwak J.H., Paik J.K., Kim O.Y., Jang Y., Lee S.H., Ordovas J.M., Lee J.H. FADS gene polymorphisms in Koreans: association with ω 6 polyunsaturated fatty acids in serum phospholipids, lipid peroxides, and coronary artery disease // Atherosclerosis. 2011. № 214 (1). P. 94-100. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2010.10.004.