



Республиканский
специализированный
научно-практический
медицинский
центр терапии
и медицинской
реабилитации,
Ташкент, Узбекистан

Ассоциация полиморфизма с.276G>T (rs1501299) гена ADIPOQ с неалкогольной жировой болезнью печени у лиц узбекской национальности

Г.Н. Собирова, д.м.н., М.М. Каримов, д.м.н., проф., Д.А. Иминова, Д.А. Далимова, к.б.н.

Адрес для переписки: Гузаль Наимовна Собирова, guzals@mail.ru

Для цитирования: Собирова Г.Н., Каримов М.М., Иминова Д.А., Далимова Д.А. Ассоциация полиморфизма с.276G>t (rs1501299) гена ADIPOQ с неалкогольной жировой болезнью печени у лиц узбекской национальности // Эффективная фармакотерапия. 2020. Т. 16. № 1. С. 36–39.

DOI 10.33978/2307-3586-2020-16-1-36-39

Цель – изучить распространенность аллелей и генотипов полиморфизма с.276G>T (rs1501299) гена ADIPOQ при неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) у лиц узбекской национальности.

Материал и методы. В исследование было включено 143 пациента узбекской национальности (94 больных НАЖБП и 49 здоровых лиц). Всем пациентам проводились клинико-биохимические исследования, а также молекулярно-генетические исследования полиморфизма с.276G>T (rs1501299) гена ADIPOQ методом полимеразной цепной реакции с последующим ПДРФ-анализом.

Результаты. У больных НАЖБП в полиморфном локусе с.276G>T (rs1501299) гена ADIPOQ отмечалось накопление GT-гетерозиготного состояния. Кроме того, выявлена достоверная связь аллеля с.276T с риском развития заболевания. Полученные результаты позволяют прогнозировать риск возникновения НАЖБП у лиц узбекской национальности.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, полиморфизм с.276G>T (rs1501299) гена ADIPOQ, аллель, генотипы, узбекская национальность

незе заболевания важную роль играют окислительный стресс, цитокины, ожирение и резистентность к инсулину. НАЖБП регистрируется у 60–95% лиц с ожирением [2]. Висцеральный жир является ключевым медиатором неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) и тесно связан с уровнем аминотрансфераз в недиабетической популяции с ожирением [3]. Адипонектин обеспечивает критическую связь между накоплением висцерального жира и резистентностью к инсулину [4].

Адипонектин, также известный как ACRP30 (белок, связанный с комплементом адипоцитов, с молекулярной массой 30 кДа), GBP28 (желатин-связывающий белок 28), ADIPOQ (адипонектин, содержащий C1Q и коллагеновый домен) и APM1 (самый распространенный транскрипт гена 1 в адипозной ткани), продуцируемый белой жировой тканью, был обнаружен почти одновременно четырьмя разными командами исследователей с помощью разных подходов. В гене описано много однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs),

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) относится к наиболее распространенным типам хронического повреждения печени во многих странах [1]. НАЖБП – сложное метаболическое состояние, при котором как образ жизни, так и генетическая составляющая являются патогенными факторами. В патогене-



которые во многих популяциях показали ассоциацию с уровнем адипонектина и/или метаболическим синдромом (МС). Однако результаты исследований часто носят противоречивый характер [5]. Так, выявлена связь полиморфных локусов гена *ADIPOQ* с сахарным диабетом (СД) 2-го типа, ожирением, НАЖБП, МС, сердечно-сосудистыми заболеваниями, синдромом поликистоза яичников, периодонтитом, остеоартритом колена, протоковым инфилтратирующим раком молочной железы [6].

Показано, что полиморфный вариант однонуклеотидной замены *rs2241766* гена *ADIPOQ*, а также *rs266729* и *rs822395* имеют значимую ассоциацию с СД 2-го типа [7]. Более того, полиморфизм *rs2241766* тесно связан не только с СД 2-го типа, но также с ожирением и МС [8].

Семейные исследования варианта *rs266729* в промоторной области *ADIPOQ* показали ассоциацию с ожирением в нескольких популяциях, в том числе арабской [9]. В то же время имеются работы, свидетельствующие об отсутствии значимой ассоциации полиморфизма *rs2241766* с ожирением, МС или гипертонией [10]. Противоречивость результатов исследований отмечается и в отношении полиморфного маркерного локуса *rs266729*. Так, в некоторых исследованиях установлено, что G-аллель локуса *rs266729* является вероятным фактором риска возникновения СД 2-го типа [11]. Однако P. Li и соавт. не обнаружили существенной ассоциации между полиморфизмом *rs266729* и МС [8]. Как показал метаанализ большого количества исследований в китайской популяции, G-аллель полиморфного локуса *rs2241766* значительно увеличивает риск МС [12]. Более того, ученые схожи во мнении, что необходимо проведение более широкого исследования с вовлечением больших выборок представителей различных этнических групп для выявления ассоциации между полиморфизмами *rs2241766* и *rs266729* гена *ADIPOQ* и МС [11]. В связи с продолжающимся ростом распространенности НАЖБП в мире, в том числе Узбе-

кистане, генетический полиморфизм гена *ADIPOQ* стал предметом исследований [13].

Целью настоящего исследования стало изучение распространенности аллелей и генотипов полиморфизма *c.276G>T (rs1501299)* гена *ADIPOQ* у лиц узбекской национальности с НАЖБП.

Материал и методы

В исследование было включено 143 пациента узбекской национальности: 94 больных НАЖБП в возрасте от 22 до 60 лет и 49 добровольцев без метаболических заболеваний в анамнезе, отсутствием приема алкоголя (не более 30 г в день у мужчин и 20 г у женщин) и нормальными биохимическими показателями. Молекулярно-генетические исследования проводили в Центре передовых технологий при Министерстве инновационного развития. Типирование образцов ДНК по *c.276G>T (rs1501299)* гена *ADIPOQ* проводили с использованием специфических олигонуклеотидных праймеров с участками гена *ADIPOQ*. После проведения стандартной амплификации гена методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) полученные ПЦР-продукты подвергались ПДРФ-анализу (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) с использованием эндонуклеазы рестрикции Pst I (фермент) (производство НПО «Сибэнзим»). При генотипировании продуктов ПДРФ-анализа (рестрикционные продукты) *c.276G>T (rs1501299)* гена *ADIPOQ* наличие одного фрагмента весом 468 bp (п.н.) говорило о том, что данный образец – носитель гомозиготного генотипа *TT*,

Изучение генетических моделей и отношения риска развития НАЖБП у носителей определенной комбинации аллелей и генотипов показало, что для мультипликативной модели достоверна связь *T*-аллеля с риском развития НАЖБП. Иными словами, наличие *T*-аллеля в 2,3 раза увеличивает риск развития НАЖБП у лиц узбекской национальности

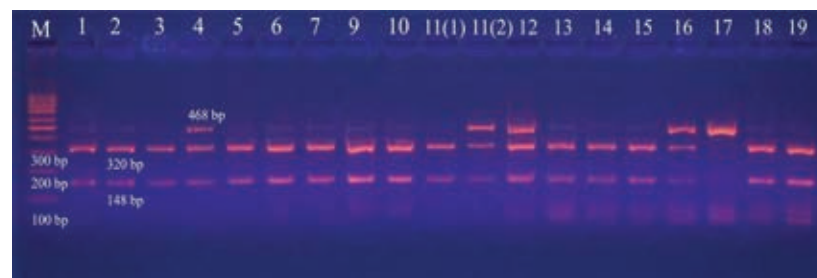
наличие трех фрагментов весом 468, 320 и 148 bp (п.н.) свидетельствовало о гетерозиготном генотипе *GT*, а наличие двух фрагментов весом 320 и 148 bp (п.н.) – гомозиготном генотипе *GG* (рисунок).

Результаты и обсуждение

В результате генотипирования выявлено следующее распределение генотипов и аллелей полиморфного маркера *c.276G>T (rs1501299)* гена *ADIPOQ*: генотип *GG* определен у 21 (22,3%) больного, генотип *GT* – у 53 (56,4%) пациентов, *TT* – у 20 (21,3%) больных ($\chi^2 = 5,36$; $p = 0,006$).

Анализ распределения аллелей не показал существенного доминирования носительства G-аллеля по сравнению с T-аллелем у больных НАЖБП узбекской национальности: G-аллель – 95 (50,5%) случаев, T-аллель – 93 (49,5%) случая ($\chi^2 = 3,56$; $df = 1$, $p = 0,059$).

Иные результаты были получены у здоровых лиц ($n = 49$): соотношение генотипов *GG : GT : TT* – 55,1 : 30,6 : 14,3% ($\chi^2 = 10,28$;



Пример результатов ПЦР/ПДРФ-анализа целевого участка *c.276G>T (rs1501299)* гена *ADIPOQ* (M – молекулярный маркер, 1–19 – исследуемые образцы)



Таблица 1. Распределение частот генотипов и аллелей с.276G>T (rs1501299) гена ADIPOQ в целом по популяции (n = 143)

Генотип/аллель	Наблюдаемая частота	Ожидаемая частота	χ^2	p
GG	48	47,02	0,11	0,94
GT	68	69,95		
TT	27	26,02		
Аллель G	0,57	0,32		
Аллель T	0,42	0,18		

Таблица 2. Тест Харди – Вайнберга в контрольной группе для частоты генотипов полиморфного маркера с.276G>T (rs1501299) гена ADIPOQ (n = 49; df = 1)

Генотип	Группа здоровых добровольцев (n = 49)	Тест Харди – Вайнберга	χ^2	p
GG	0,551	0,496	3,45	0,06
GT	0,306	0,417		
TT	0,143	0,088		

Таблица 3. Тест Харди – Вайнберга у больных НАЖБП для частоты генотипов полиморфного маркера с.276G>T (rs1501299) гена ADIPOQ (n = 94; df = 1)

Генотип	Группа больных НАЖБП (n = 94)	Тест Харди – Вайнберга	χ^2	p
GG	0,223	0,255	1,53	0,22
GT	0,564	0,500		
TT	0,213	0,245		

Таблица 4. Сравнительный анализ распределения частот генотипов полиморфного маркера с.276G>T (rs1501299) гена ADIPOQ между больными НАЖБП и здоровыми лицами

Генотип	Случай (n = 94)	Контроль (n = 49)	χ^2	p	ОР	95% ДИ
GG	0,223	0,551	15,63	0,0004	0,23	0,11–0,49
GT	0,564	0,306			2,93	1,41–6,09
TT	0,213	0,143			1,62	0,63–4,15

df = 2; p = 0,0001), частота аллелей G и T – 70,4% (n = 69) и 29,6% (n = 29) соответственно ($\chi^2 = 6,84$; df = 1, p = 0,001).

Сравнительный анализ аллелей в двух группах показал, что в контрольной группе преобладали GG-генотип и G-аллель ($\chi^2 = 10,4$; df = 1; p = 0,001). Общее распределение частот генотипов в популяции соответствовало теоретически ожидаемому расчету частот генотипов по Хар-

ди – Вайнбергу ($\chi^2 = 0,11$; p > 0,05) (табл. 1).

Установлено, что частота минорного аллеля в узбекской популяции в целом составляет 42% и значительно превышает аналогичный показатель во вьетнамской, британской, эстонской, шведской, европейской и американской популяциях (24,9, 25,1, 28,2, 28,5, 28 и 30% соответственно). В то же время частота минорного аллеля в узбекской популяции близка к это-

му показателю в популяции Хан (Китай), Йоруба (Западная Африка) и Африки в целом (33, 38 и 39% соответственно).

Распределение частоты аллелей и генотипов в контрольной группе имело тенденцию к отклонению от ожидаемого расчета частоты генотипов по Харди – Вайнбергу, особенно по генотипам GT и TT ($\chi^2 = 3,45$; p = 0,06) (табл. 2).

Распределение частоты аллелей и генотипов у больных соответствовало теоретически ожидаемому расчету частоты генотипов по Харди – Вайнбергу (табл. 3).

Сравнительный анализ двух групп (случай/контроль) с использованием одностороннего дисперсионного анализа ANOVA показал достоверное различие в генетическом статусе пациентов в зависимости от наличия или отсутствия диагноза НАЖБП (F = 15,2; p = 0,0001). Эти данные были проверены с помощью апостериорного анализа Краскела – Уоллиса, к ним была применена поправка Бонферрони для исключения ложноположительного результата (ошибка первого типа).

Сравнительный анализ общей модели наследования выявил существенное различие в распределении частоты генотипов между больными НАЖБП и здоровыми лицами (табл. 4). Кроме того, отмечалось существенное превалирование (56,4 против 30,6%) гетерозиготного (GT) генотипа по маркерному локусу с.276G>T (rs1501299) гена ADIPOQ у больных НАЖБП (p < 0,001; относительный риск (ОР) 2,93; 95%-ный доверительный интервал (ДИ) 1,41–6,09) и несущественное (21,3 против 14,3%) доминирование TT-генотипа (ОР 1,62; 95% ДИ 0,63–4,15).

Таким образом, у пациентов узбекской национальности с НАЖБП отмечалось накопление GT-гетерозиготного состояния, в то время как у здоровых лиц выявлено преобладание GG-гомозиготного генотипа с большой частотой G-аллеля.

Изучение генетических моделей и отношения шансов развития НАЖБП у носителей определенной



комбинации аллелей и генотипов показало, что для мультипликативной модели существует достоверная связь *T*-аллеля с риском развития НАЖБП ($p < 0,001$; ОР = 2,33; 95% ДИ 1,39–3,92). Иными словами, наличие *T*-аллеля в 2,3 раза увеличивает риск развития НАЖБП у лиц узбекской национальности. В группе здоровых добровольцев

значительно преобладают носители *GG*-генотипа по сравнению с группой больных ($\chi^2 = 10,4$; $df = 1$, $p = 0,001$).

Выводы

Во-первых, у пациентов узбекской национальности с НАЖБП отмечается накопление *GT*-гетерозиготного состояния по по-

лиморфному локусу *c.276G>T* (*rs1501299*) гена *ADIPOQ*.

Во-вторых, выявлена достоверная связь аллеля *c.276T* (*rs1501299*) гена *ADIPOQ* с риском развития заболевания.

В-третьих, полученные результаты позволяют прогнозировать риск развития НАЖБП у лиц узбекской национальности. ●

Литература

1. Younossi Z.M., Koenig A.B., Abdelatif D. et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease – meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes // *Hepatology*. 2016. Vol. 64. № 1. P. 73–84.
2. Jang S., Lee C.H., Choi K.M. et al. Correlation of fatty liver and abdominal fat distribution using a simple fat computed tomography protocol // *World J. Gastroenterol*. 2011. Vol. 17. № 28. P. 3335–3341.
3. El-Koofy N.M., Anwar G.M., El-Raziky M.S. et al. The association of metabolic syndrome, insulin resistance and non-alcoholic fatty liver disease in overweight/obese children // *Saudi J. Gastroenterol*. 2012. Vol. 18. № 1. P. 44–49.
4. Matsuzawa Y. Therapy insight: adipocytokines in metabolic syndrome and related cardiovascular disease // *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med*. 2006. Vol. 3. № 1. P. 35–42.
5. Peters K.E., Beilby J., Cadby G. et al. A comprehensive investigation of variants in genes encoding adiponectin (*ADIPOQ*) and its receptors (*ADIPOR1/R2*), and their association with serum adiponectin, type 2 diabetes, insulin resistance and the metabolic syndrome // *BMC Med. Genet*. 2013. Vol. 14. ID 15.
6. Wu Y., Gao H., Li H. et al. A meta-analysis of genome-wide association studies for adiponectin levels in East Asians identifies a novel locus near *WDR11-FGFR2* // *Hum. Mol. Genet*. 2014. Vol. 23. № 4. P. 1108–1119.
7. Kaftan A.N., Hussain M.K. Association of adiponectin gene polymorphism rs266729 with type two diabetes mellitus in Iraqi population. A pilot study // *Gene*. 2015. Vol. 570. № 1. P. 95–99.
8. Li P., Jiang R., Li L. et al. Correlation of serum adiponectin and adiponectin gene polymorphism with metabolic syndrome in Chinese adolescents // *Eur. J. Clin. Nutr*. 2015. Vol. 69. № 1. P. 62–67.
9. Zadjali F., Al-Yahyaee S., Hassan M.O. et al. Association of adiponectin promoter variants with traits and clusters of metabolic syndrome in Arabs: family-based study // *Gene*. 2013. Vol. 527. № 2. P. 663–669.
10. Lu J.F., Zhou Y., Huang G.H. et al. Association of *ADIPOQ* polymorphisms with obesity risk: a meta-analysis // *Hum. Immunol*. 2014. Vol. 75. № 10. P. 1062–1068.
11. Gu H.F., Abulaiti A., Ostenson C.G. et al. Single nucleotide polymorphisms in the proximal promoter region of the adiponectin (*APM1*) gene are associated with type 2 diabetes in Swedish Caucasians // *Diabetes*. 2004. Vol. 53. Suppl. 1. P. S31–35.
12. Zhou J.M., Zhang M., Wang S. et al. Association of the *ADIPOQ* Rs2241766 and Rs266729 polymorphisms with metabolic syndrome in the Chinese population: a meta-analysis // *Biomed. Environ. Sci*. 2016. Vol. 29. № 7. P. 505–515.
13. Sobirova G.N., Khamroeva D.M., Karimov M.M. et al. GG genotype of Pnpl3 Rs38409 polymorphism associated with Nash in patients of Uzbek Nationality // *J. Gastroenterol. Dig. Syst*. 2018. Vol. 2. № 3. P. 1–6.

Association of Polymorphism *c.276G>T* (*rs1501299*) of *ADIPOQ* Gene with Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Persons of Uzbek Nationality

G.N. Sobirova, MD, PhD, M.M. Karimov, MD, PhD, Prof., D.A. Iminova, D.A. Dalimova, PhD

Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Therapy and Medical Rehabilitation, Tashkent, Uzbekistan

Contact person: Guzal N. Sobirova, guzals@mail.ru

The Purpose – to study the prevalence of alleles and genotypes of polymorphism *c.276G>T* (*rs1501299*) of the *ADIPOQ* gene in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in persons of Uzbek nationality.

Material and methods. 94 patients with NAFLD of Uzbek nationality and 49 healthy individuals were included in investigation. Clinical and biochemical studies, as well as molecular genetic studies of polymorphism *c.276G>T* (*rs1501299*) *ADIPOQ* gene by PCR followed by PDRF analysis were held for all patients.

Results. It was noted accumulation of *GT*-heterozygous state in polymorphic locus *c.276G>T* (*rs1501299*) *ADIPOQ* gene in patients with NAFLD of Uzbek nationality. In addition it was revealed a significant association of the allele *c.276T* with the risk of developing the disease. The obtained results make it possible to predict the risk of NAFLD in persons of Uzbek nationality.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, polymorphism *c.276G>T* (*rs1501299*) of *ADIPOQ* gene, allele, genotypes, Uzbek nationality

гастроэнтерология