

А.Т. Шаханова, Н.Е. Аукенов, А.У. Нуртазина, Т.Е. Шаханов,
М.Р. Масабаева, Б.А. Апсаликов, Д.К. Кожаметова
Медицинский университет Семей, г. Семей, Республика Казахстан

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ В КАЗАХСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Цель исследования изучить распространенность полиморфизмов генов LPL (Ser447Ter), ADRB2 (Gln27Glu), AGT (Thr174Met), AGTR1 (A1166C) в казахской популяции и провести сравнительный анализ с другими популяциями из данных проекта 1000 Genomes Browser (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Генотипирование полиморфизмов проводили методом полимеразной цепной реакцией в режиме реального времени у 460 лиц казахской национальности.

По результатам исследования распределение аллелей полиморфизмов генов LPL Ser447Ter, ADRB2 Gln27Glu, AGT Thr174Met и AGTR1 A1166C в казахской популяции, имеет промежуточное положение между европейской и восточно-азиатской популяциями.

В заключении при проведении генетических исследований в казахской популяции необходимо учитывать данные международных баз для азиатских и европейских популяций.

Ключевые слова: казахская популяция, LPL (Ser447Ter), ADRB2 (Gln27Glu), AGT (Thr174Met), AGTR1 (A1166C)

Введение.

Новые исследования последних лет отмечают о необходимости кластеризации факторов риска определенных заболеваний, такие как, ожирение, ишемическая болезнь сердца (ИБС) и болезни системы кровообращения (БСК) [3]. Они считают, что для установления эффекта взаимодействия между геном и фактором риска желательно использовать данные Genome-Wide Association (GWA), в которой есть данные о разных популяциях. В настоящее время известны многие полиморфизмы генов, которые связаны с риском развития инсулинорезистентности, сахарного диабета (СД). Развитие определенного заболевания может быть связано не только с наличием какого-либо полиморфизма гена, но взаимодействия одного гена с другим геном [4]. Сложные взаимодействия генов между собой требуют более тщательного изучения в разных популяциях.

Каждая национальность имеет этнические различия по частоте генетических вариаций, которая зависит не только от расовой принадлежности, а также от географического расположения популяции [5]. Распределение частоты аллелей больше изучена в европейских и кавказских популяциях, тогда как распределение в популяциях, которые проживают в центральной Азии изучено плохо. В связи с этим, целью нашего исследования было изучить распространенность полиморфизмов генов LPL (Ser447Ter), ADRB2 (Gln27Glu), AGT (Thr174Met), AGTR1 (A1166C) в казахской популяции и провести сравнительный анализ с другими популяциями по данным проекта 1000 Genomes Browser (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Материалы и методы.

Характеристика изучаемой популяции.

В настоящем исследовании приняли участие 460 лица казахской национальности (231 мужчин и 229 женщин), в возрасте от 18 до 65 лет, проживающие в городе Семей. Средний возраст составил для мужчин – 48 (39-57) лет, для женщин – 45 (38-53) лет, соответственно. Среднее значение ИМТ для мужчин был в пределах 26,42 (23,87-29,36); для женщин – 25,67 (22,66-28,41), соответственно. Систолическое артериальное давление для мужчин была в пределах 120 (111,25 - 140) мм рт.ст., для женщин - 120 (110 - 120) мм рт.ст., а диастолическое артериальное давление для мужчин была в пределах 80 (70 - 90) мм рт.ст., для женщин - 80 (70 - 80) мм рт.ст..

В исследовании не включились пациенты, имеющие злокачественные новообразования; сердечную и/или почечную недостаточность в стадии декомпенсации; психические заболевания; женщины в периоде беременности и лактации не участвовали. Исследование проводилось в рамках стартап – проекта на тему «Молекулярно – генетические основы прогнозирования развития метаболического синдрома в казахской популяции» на базе НАО «Медицинского университета Семей» (с 01.11.2017 по 31.12.2019 гг.). Дизайн исследования поперечное одномоментное. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом НАО МУС (протокол №11 от 27.09.2017 года) и исследование проведено согласно принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Все участники были ознакомлены с информацией об исследовании и при получении согласия на участие в исследовании все участники подписали информационное согласие.

У всех участников измерялось артериальное давление (АД), рост и вес, рассчитывался ИМТ. Нормальным считался вес при ИМТ < 24,9 кг/м²; избыточным - при ИМТ ≥ 25,0 кг/м², но < 30,0 кг/м²; диагноз «ожирение» выставлялся при ИМТ ≥ 30 кг/м² (Рекомендации ЕОК/ЕОА по лечению дислипидемии, 2016) [6]. Измерение артериального давления проводилось согласно Рекомендациям Европейского общества гипертонии и Европейского общества кардиологов (ESH/ESC, 2013) [7].

Генотипирование.

Для проведения генетических исследований у всех участников забирали кровь в вакуумные пробирки с ЭДТА. Было проведено исследование четырех полиморфизмов LPL Ser447Ter, ADRB2 Gln27Glu, AGT Thr174Met, AGTR1 A1166C. С помощью готовых коммерческих наборов GeneJET Mini kit (Thermo Scientific, Vilnius, Lietuva) выделяли геномную ДНК из образцов крови (50 мкл) согласно инструкции производителя. Для оценки концентрации выделенного ДНК использовался флуорометр Qubit 4 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Все выделенные ДНК были заморожены и хранились при -20 °С.

Для прямого разделения продуктов амплифицированной полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали CFX 96 (BioRad, CA, USA). Генотипирование проводили методом ПЦР в реальном времени в 460 образцах с использованием готовых смешанных праймеров и зондов TaqMan, где присутствие реагента TaqMan Genotyping Master mix составляло 20 мкл, 5 мкл ДНК, в общем объеме 25 мкл в 96-луночном планшете. Реагенты для ADRB2 Gln27Glu

(rs1042714), AGT Thr174Met (rs4762), AGTR1 A1166C (rs5186) были производства Synthol, Москва, Россия. Программа амплификации включала стадию предварительной денатурации при 95 ° C в течение 3 минут и последующие 48 циклов реакции при 95 ° C в течение 10 с и 60 ° C в течение 40 с для трех SNP (ADRB2 Gln27Glu (rs1042714), AGT Thr174Met (rs4762), AGTR1 A1166C (rs5186)). Реагент для LPL Ser447Ter (rs328) был производства Литех, Москва, Россия (Таблица 1).

Для полиморфизма LPL Ser447Ter (rs328) применялась программа амплификации, где включали этап предварительной денатурации 93 ° C в течение 1 минуты и последующие 35 циклов реакции при 93 ° C в течение 10 с, 64 ° C в течение 10 с и 72 ° C в течение 20 с.

Статистический анализ.

Все статистические анализы были выполнены с использованием IBM SPSS Statistics Version 20 (International Business Machines Corp., Армонк, Нью-Йорк, США) и SNPStat (SNPStats: your web tool for SNP analysis). Для оценки соответствия распределений частот генотипов по закону равновесия Харди – Вайнберга использовался критерий χ^2 . Различия считались статистически значимыми при значении $p < 0,05$.

Результаты.

Частоты аллелей в казахской популяции и сравнительный анализ.

Частота аллелей и генотипов по 4 полиморфизмам представлена в Таблице 1. Обращает на себя внимание, что по частоте генотипов ADRB2 Gln27Glu (rs1042714), AGT Thr174Met (rs4762) отклонения от равновесия Харди-Вайнберга обнаружено не было, при распределении генотипов LPL Ser447Ter (rs328) и AGTR1 A1166C (rs5186) было выявлено отклонение от равновесия Харди-Вайнберга.

Таблица 1 - Частота аллелей и генотипов по 4 полиморфизмов в казахской популяции

Полиморфизм	Харди-Вайнберга равновесие p	Аллель	n	Частота	Генотипы	n	Частота
LPL Ser447Ter (rs328)	0,0001	C	794	0,86	CC	354	0,77
		G	126	0,14	CG	86	0,19
					GG	20	0,04
ADRB2 Gln27Glu (rs1042714)	0,82	C	645	0,7	CC	227	0,49
		G	275	0,3	CG	191	0,42
					GG	42	0,09
AGT Thr174Met (rs4762)	0,79	G	830	0,9	GG	375	0,82
		A	90	0,1	GA	80	0,17
					AA	5	0,01
AGTR1 A1166C (rs5186)	0,017	A	818	0,89	AA	369	0,8
		C	102	0,11	AC	80	0,17
					CC	11	0,02

Позиция полиморфизма Ser447Ter (rs328) гена LPL 8 хромосома 8:19962213 (GRCh38.h12). Полиморфизм Gln27Glu (rs1042714) гена ADRB2 расположен на 5 хромосоме 5:148826910 (CM970061). Полиморфизм Thr174Met (rs4762) гена AGT расположен на 1 хромосоме в позиции 1:230710231 (CM920009). Полиморфизм A1166C (rs5186) гена AGTR1 расположен на 3 хромосоме в позиции 3: 148742201 (CR941553).

Анализ распространенности полиморфизма Ser447Ter (rs328) гена LPL в казахской популяции показал, что аллель C встречается чаще аллеля G (таблица 1). Согласно данным 1000 Genomes Browser глобальная частота встречаемости аллеля C равна 0,908, а аллель G - 0,092. Как показано в таблице 2, в восточно-азиатской популяции средняя частота распространенности аллеля C составляет 0,878 (0,855-0,898), а частота аллеля G - 0,122 (0,102-0,145); в европейской популяции частота аллеля C составляет в среднем 0,87 (0,836-0,884), а частота аллеля G - 0,13 (0,115-0,164). При этом частота аллелей полиморфизма Ser447Ter (rs328) гена LPL в казахской популяции была соотносима с частотой восточно-азиатской и европейской популяции, что объясняется их географическим расположением. Тогда как, частота данного полиморфизма аллель C в западно-азиатской популяции составил 0,914 (0,892-0,948) и для аллель G - 0,086 (0,052-0,108), что отличается от казахской популяции.

При изучении распространенности полиморфизма Gln27Glu (rs1042714) гена ADRB2 в казахской популяции аллель C встречался чаще, чем аллель G (таблица 1). Распространенность аллелей C и G rs1042714 в казахской популяции сильно отличался от других популяции (таблица 2). Средняя значения встречаемости аллелей C и G rs1042714 в общей популяции составило 0,796 и 0,204 соответственно, следовательно, частота встречаемости аллелей C и G rs1042714 в казахской популяции была близка к глобальной частоте и частоте в американской популяции. Распространенность аллелей C и G rs1042714 в казахской популяции является промежуточной между европейской (среднее для аллеля C 0,59 (0,535 - 0,631) и для аллеля G 0,41 (0,369-0,465)) и западно-азиатской (среднее для аллеля C 0,927 (0,893-0,952) и для аллеля G 0,073 (0,048-0,107)) популяциях.

При анализе встречаемости аллелей G и A полиморфизма Thr174Met (rs4762) гена AGT в казахской популяции аллель A встречается реже (таблица 1), чем в европейской и западно-азиатской популяциях, но результаты сопоставимы с глобальной частотой и частотой в восточно-азиатской популяцией (таблица 2). В европейской популяции аллель G встречается с частотой 0,87 в среднем (0,798-0,899), в восточно-азиатской популяции в среднем - 0,893 (0,876-0,918).

Таблица 2 - Распространенность аллелей 4 полиморфизмов в разных популяциях согласно данным 1000 Genomes Browser

Популяция \ Аллель	LPL Ser447Ter (rs328)		ADRB2 Gln27Glu (rs1042714)		AGT Thr174Met (rs4762)		AGTR1 A1166C (rs5186)	
	C	G	C	G	G	A	A	C
Все	0,908	0,092	0,796	0,204	0,898	0,102	0,882	0,118
Африканская	0,939	0,061	0,864	0,136	0,946	0,054	0,980	0,020
Американская	0,937	0,063	0,758	0,242	0,873	0,127	0,767	0,233
Восточно-азиатская	0,878	0,122	0,927	0,073	0,893	0,107	0,940	0,060
Западно-азиатская	0,914	0,086	0,807	0,193	0,888	0,112	0,931	0,069
Европейская	0,870	0,130	0,590	0,410	0,870	0,130	0,728	0,272

Согласно данным 1000 Genomes Browser глобальная частота аллеля С полиморфизма A1166C (rs5186) гена AGTR1 составляет 0,118, что можно сопоставить с казахской популяцией. Частота встречаемости аллеля С rs5186 в восточно-азиатской популяции составила 0,06 (0,038 - 0,09), в европейской - 0,27 (0,207 - 0,313) и казахская популяция имела между ними промежуточный вариант (таблица 2).

Частоты генотипов в казахской популяции и сравнительный анализ.

При изучении распространенности генотипов полиморфизма Ser447Ter (rs328) гена LPL в казахской популяции мы выявили, что генотип CC более распространен (таблица 1) и наши данные сопоставимы с восточно-азиатской и европейской популяциями (таблица 2), однако частота генотипа GG в казахской популяции встречается чаще, чем в восточно-азиатской (0,008 (0,01-0,019)) и европейской (0,024 (0,02-0,028)) популяциях (таблица 3).

Таблица 3 - Распространенность генотипов 4 полиморфизмов в разных популяциях согласно данным 1000 Genomes Browser

Генотип \ Популяция	Все	Африканская	Американская	Вост.-азиатская	Западно-азиатская	Европейская	
	LPL Ser447Ter (rs328)						
	CC	0,824	0,885	0,876	0,764	0,828	0,763
	CG	0,167	0,107	0,121	0,228	0,172	0,213
	GG	0,009	0,008	0,003	0,008	0	0,024
ADRB2 Gln27Glu (rs1042714)							
	CC	0,643	0,741	0,576	0,857	0,658	0,332
	CG	0,305	0,245	0,363	0,139	0,297	0,517
	GG	0,052	0,014	0,061	0,004	0,045	0,151
AGT Thr174Met (rs4762)							
	GG	0,808	0,897	0,761	0,792	0,789	0,757
	GA	0,181	0,097	0,225	0,202	0,196	0,225
	AA	0,011	0,006	0,014	0,006	0,014	0,018
AGTR1 A1166C (rs5186)							
	AA	0,789	0,959	0,582	0,883	0,869	0,535
	AC	0,187	0,041	0,369	0,115	0,125	0,386
	CC	0,024	0	0,049	0,002	0,006	0,08

Частота генотипов полиморфизма Gln27Glu (rs1042714) гена ADRB2 в казахской популяции отличается от других и имеет промежуточное положение между восточно-азиатской и европейской популяциями (таблица 3). Так, генотип GG встречается редко в восточно-азиатской популяции в среднем 0,004 (0-0,01), а в европейской популяции - 0,151 (0,101-0,232).

Анализ частоты распространенности генотипов полиморфизма Thr174Met (rs4762) гена AGT в казахской популяции показал, что генотип AA встречается достаточно редко, что сопоставимо с глобальной частотой, и находится между восточно-азиатской (в среднем 0,006 (0,01-0,242)) и европейской (в среднем 0,018 (0,01-0,209)) популяциями (таблица 3). Генотип GG встречался чаще в казахской популяции по сравнению с европейской (в среднем 0,757 (0,626-0,808)) и восточно-азиатской (в среднем 0,792 (0,758-0,837)) популяциями, а генотип GA полиморфизма rs4762, наоборот, встречался реже.

Согласно данным 1000 Genomes Browser генотип AA встречается во всей популяции в частоте 0,789, что сопоставимо с казахской популяцией (0,8) (таблица 3). Но при сравнении с восточно-азиатской (в среднем 0,883 (0,819-0,925)) и европейской (в среднем 0,535 (0,475-0,646)) популяциями генотип AA встречается реже в казахской популяции. А генотип CC встречался чаще в казахской популяции (0,02) в отличие от европейской (в среднем 0,08 (0,047-0,132)) и восточно-азиатской (в среднем 0,002 (0-0,01)) популяции (таблица 3).

Обсуждение и заключение.

Многовековая история казахской популяции привела к формированию отдельного антропологического типа, который занимает промежуточное положение между европеоидной и монголоидной расами. Казахстанские исследователи изучали генетическую предрасположенность казахской популяции к сахарному диабету, ожирению и оценивали различия казахской популяции и других популяций с базы данных HarMap. Для этого были проанализированы частоты аллелей нескольких генов, ранее идентифицированных с помощью GWAS и исследований генов-кандидатов в других этнических популяциях. Они утверждают, что геном казахской популяции схож с кавказской популяцией и находится между кавказской и азиатской популяциями [8].

В своем исследовании мы проанализировали структуру популяции и генетическое родство казахской популяции с другими популяциями используя данные 1000 Genomes Browser. Наши результаты показали, что полиморфизмы генов LPL (Ser447Ter), ADRB2 (Gln27Glu), AGT (Thr174Met), AGTR1 (A1166C) в казахской популяции имеет промежуточное положение между европейской и восточно-азиатской популяциями, что достаточно ожидаемо, учитывая историко-географическое расположение нашей страны.

Другие казахстанские ученые, используя данные Open - Array PGx Panel из The Pharma ADME Core Marker List, проанализировали влияние полиморфизмов на индивидуальные различия в чувствительности или резистентности к определенным препаратам в казахской популяции. Они не исключают, что различные расовые группы внесли свой

вклад в формировании казахской популяции, так как лица казахской национальности имеют отличительные черты азиатской популяции и/или европеоидной популяции [9].

Проведенный нами анализ распространенности полиморфизмов LPL (Ser447Ter) (rs328), ADRB2 Gln27Glu (rs1042714), AGT Thr174Met (rs4762) и AGTR1 A1166C (rs5186) показал, что частота встречаемости редких аллелей и генотипов в казахской популяции отличается от восточно-азиатской и европейской популяций и имеет промежуточное положение. Наши результаты согласуются с результатами других авторов. В связи с этим, при проведении генетических исследований в казахской популяции необходимо учитывать данные международных баз для азиатских и европейских популяций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Beck-Nielsen H. Insulin resistance: Organ manifestations and cellular mechanisms // Ugeskr. Laeger. - 2002. - Vol. 164, №16. - P. 2130-2135.
- 2 Schenk S., Saberi M., Olefsky J.M. Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation // J. Clin. Invest. - 2008. - Vol. 118, №9. - P. 2992-3002.
- 3 Rankinen T. et al. Are There Genetic Paths Common to Obesity, Cardiovascular Disease Outcomes, and Cardiovascular Risk Factors? // Circ. Res. - 2015. - Vol. 116, № 5. - P. 909-922.
- 4 De R. et al. Identifying gene-gene interactions that are highly associated with Body Mass Index using Quantitative Multifactor Dimensionality Reduction (QMDR) // BioData Min. BioData Mining. - 2015. - Vol. 8, №1. - P. 52-61.
- 5 Ding K., Kullo I.J. Geographic differences in allele frequencies of susceptibility SNPs for cardiovascular disease // BMC Med. Genet. BioMed Central Ltd. - 2011. - Vol. 12, №1. - P. 55-62.
- 6 Catapano A.L. et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias // European Heart Journal. European Society of Cardiology and European Atherosclerosis Association. - 2016. - Vol. 37, № 39. - P. 2999-3058.
- 7 Mancia G. et al. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC) // Eur. Heart J. - 2013. - Vol. 34, № 28. - P. 2159-2219.
- 8 Sikhayeva N. et al. Type 2 diabetes mellitus: distribution of genetic markers in Kazakh population // Clin. Interv. Aging. - 2018. - Vol.13. - P. 377-388.
- 9 Iskakova A.N. et al. Polymorphisms in genes involved in the absorption, distribution, metabolism, and excretion of drugs in the Kazakhs of Kazakhstan // BMC Genet. BMC Genetics. - 2016. - Vol. 17, №1. - P. 1-22.

**А.Т. Шаханова, Н.Е. Ауkenов, А.У. Нуртазина, Т.Е. Шаханов,
М.Р. Масабаева, Б.А. Апсаликов, Д.К. Кожакметова**
Семей медицина университеті, Семей қ., Қазақстан Республикасы

ҚАЗАҚ ПОПУЛЯЦИЯСЫНДА ГЕНДЕР ПОЛИМОРФИЗМДЕРІНІҢ ТАРАЛУЫ

Түйін: Зерттеу мақсаты қазақ популяциясында LPL (Ser447Ter), ADRB2 (Gln27Glu), AGT (Thr174Met), AGTR1 (A1166C) таралуын және 1000 Genomes Browser (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) мәліметтер проектіндегі басқа популяцияларымен салыстырмалы анализ жасау болды. 460 қазақ ұлт өкілдерінде полиморфизмдерді генотиптеу нақты уақыттағы полимеразды тізбекті реакция көмегімен анықталды. Зерттеу нәтижесі бойынша LPL Ser447Ter (rs328), ADRB2 Gln27Glu (rs1042714), AGT Thr174Met (rs4762) мен AGTR1 A1166C (rs5186) гендер полиморфизмдер аллельдерінің қазақ популяциясында таралу еуропалық пен шығыс азиялық популяциялар арасында аралық орында тұрғаны анықталды. Қорытындылай келе, қазақ популяциясына генетикалық зерттеулер жүргізген кезде азиялық және еуропалық популяцияларға арналған халықаралық мәліметтер базасын ескеру керек.

Түйінді сөздер: қазақ популяциясы, LPL (Ser447Ter), ADRB2 (Gln27Glu), AGT (Thr174Met), AGTR1 (A1166C)

**A. Shakhanova, N. Aukenov, A. Nurtazina, T. Shakhanov,
M. Massabayeva, B. Apsalikov, D. Kozhakhmetova**
Medical University of Semey, Semey, Republic of Kazakhstan

THE PREVALENCE OF GENE POLYMORPHISMS IN THE KAZAKH POPULATION

Resume: The purpose of the study was to study the prevalence of polymorphisms of the LPL (Ser447Ter), ADRB2 (Gln27Glu), AGT (Thr174Met), AGTR1 (A1166C) genes in the Kazakh population and to conduct a comparative analysis with other populations from the data of the 1000 Genomes Browser project (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Genotyping of polymorphisms was performed by real-time PCR in 460 individuals of Kazakh nationality. According to the results of the study, the distribution of alleles of polymorphisms of the LPL genes Ser447Ter, ADRB2 Gln27Glu, AGT Thr174Met and AGTR1 A1166C in the Kazakh population has an intermediate position between the European and East Asian populations. In conclusion, when conducting genetic research in the Kazakh population, it is necessary to take into account data from international bases for Asian and European populations.

Keywords: Kazakh population, LPL (Ser447Ter), ADRB2 (Gln27Glu), AGT (Thr174Met), AGTR1 (A1166C)