

# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ОЖИРЕНИЯ

Горбатенко Тамара Александровна, Веретельникова Анастасия Ивановна  
10 класс, Специализированный учебно-научный центр Новосибирского  
Государственного университета  
г. Новосибирск, Россия

Научный руководитель: старшин научный сотрудник, к.б.н. ИЦИГ СО  
РАН Марина Александровна Губина



2021 г.



# АКТУАЛЬНОСТЬ

В настоящее время ожирение рассматривается как хроническое заболевание обмена веществ, возникающее в любом возрасте. Оно проявляется в избыточном увеличении массы тела преимущественно за счёт чрезмерного накопления жировой ткани, сопровождающееся увеличением случаев общей заболеваемости и смертности населения. Заболеваемость ожирением в цивилизованном обществе растёт независимо от наследственных факторов.

По оценкам ВОЗ, в 2016 году около 41 млн. детей возрастом 0–5 лет имели избыточный вес или ожирение. Дети в диапазоне возрастов 5–19 лет — 340 млн., рост с 4 % в 1975 году до более чем 18 %, из них ожирением страдали 124 млн. (6 % девочек и 8 % мальчиков), тогда как в 1975 году страдавших ожирением детей 5–19 лет было менее 1%.

## **С ростом индекса массы тела возрастает риск неинфекционных заболеваний:**

- сердечно-сосудистые (главным образом болезни сердца и инсульт);
- диабет;
- нарушения опорно-двигательной системы;
- некоторые онкологические заболевания;
- детское ожирение повышает вероятность ожирения, преждевременной смерти и инвалидности во взрослом возрасте.

## **Предрасполагающие факторы ожирения**

- Инсулин и стимуляторы секреции инсулина
- Малоактивный образ жизни
- Генетические факторы
- Психологические нарушения пищевого поведения
- Склонность к стрессам

**Цель работы:** Изучить ген TCF7L2 у людей с 1 степенью ожирения

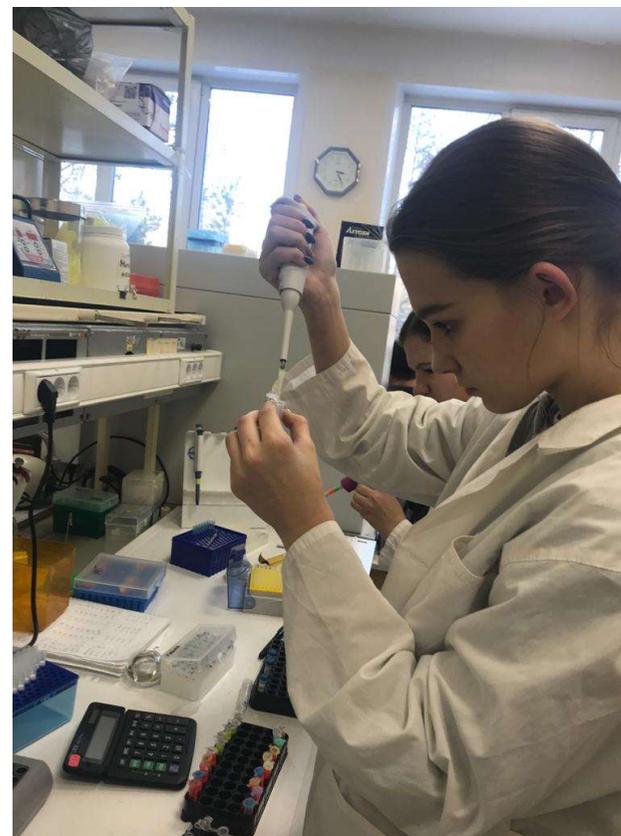
**Задачи работы:**

- Изучить научную литературу по теме
- Провести анкетирование и собрать буккальный эпителий у людей контрольной группы, не страдающих ожирением
- Исследовать ген TCF7L2 у людей с 1 степенью ожирения
- Провести сравнительный анализ между двумя выборками.

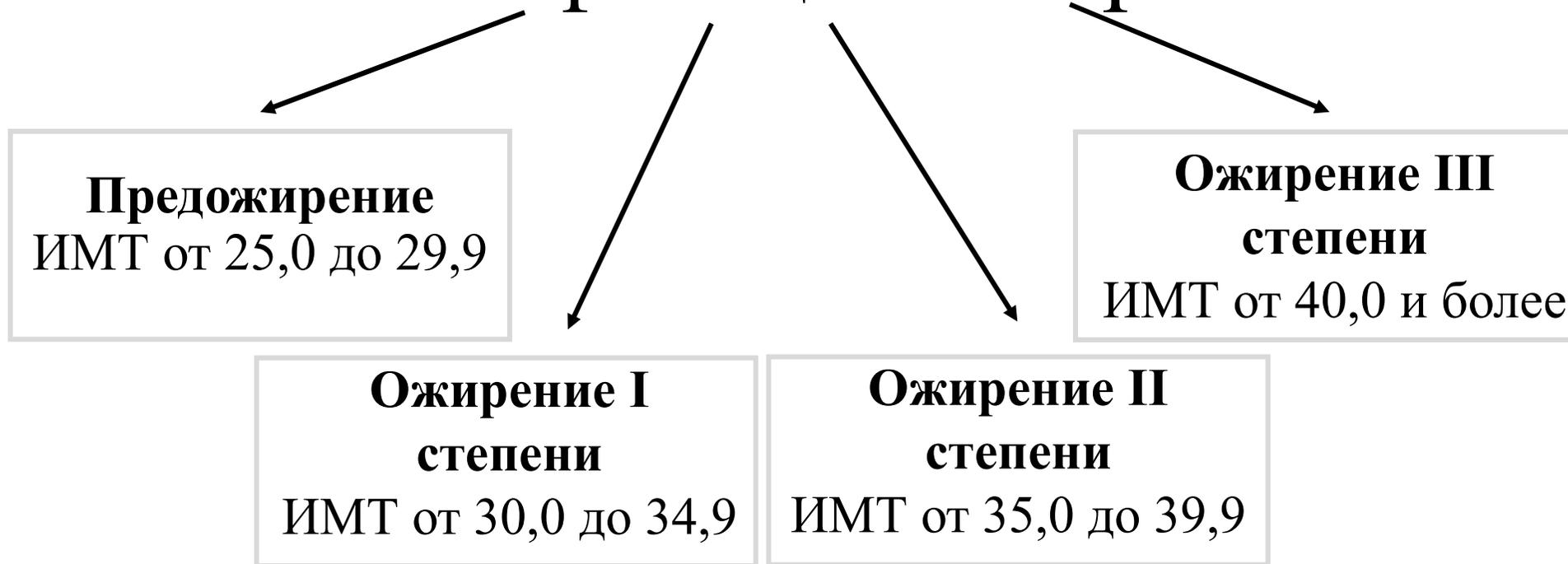
**Гипотеза:** Ген TCF7L2 является молекулярно-генетическим маркером ожирения.

# Используемые методы

- 1) Анкетирование
- 2) Сбор буккального эпителия
- 3) Выделение ДНК из буккального эпителия
- 4) Полимеразная цепная реакция (ПЦР)
- 5) Электрофорез
- 7) Статистические методы



# Классификация ожирения



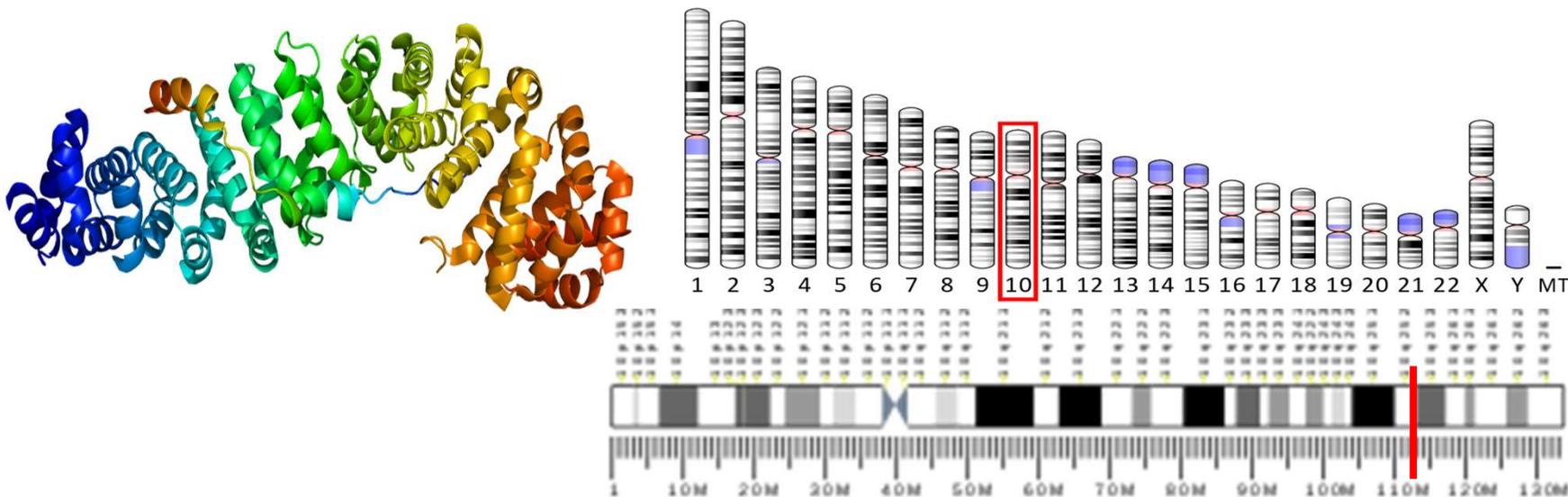
**ИМТ** (Индекс Массы Тела) – это отношение массы тела (в кг) к росту в квадрате (в м)

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

# Ген TCF7L2

**Ген TCF7L2** – это ген, кодирующий белок TCF7L2, который является фактором транскрипции. Ген располагается на хромосоме 10q25.2-q25.3, содержит 19 экзонов и наследуется аутосомно-доминантно.

Однонуклеотидный полиморфизм **rs7903146** является генетическим маркером **диабета II типа**.



# Ожирение и диабет II типа

**Сахарный диабет II типа** – это метаболическое заболевание, характеризующееся хронической гипергликемией, развивающейся в результате нарушения взаимодействия инсулина с клетками тканей (ВОЗ, 1991 год).

Считается, что ожирение является одним из основных predisposing факторов диабета II типа наряду с фактором наследственности.



# Полимеразная цепная реакция

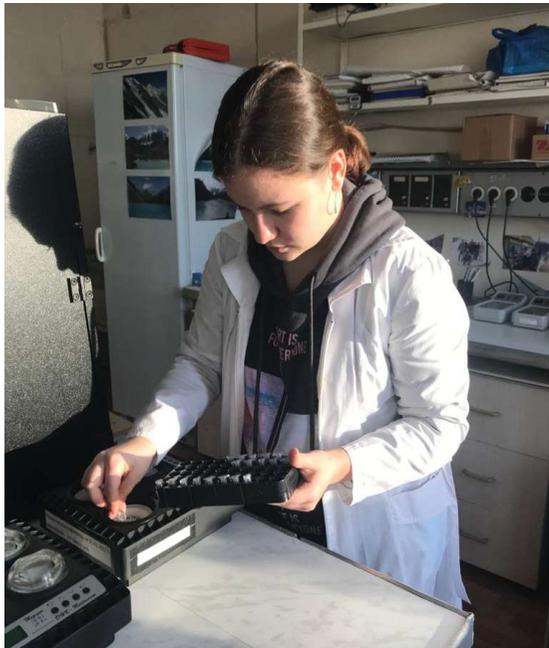
**Амплификационная смесь:** Golstar (2,5),  $Mg^{2+}$  (2), два праймера(2;2), нуклеозидтрифосфаты (dNTP) (1), ДНК-полимераза (1) и вода (12,5)

**Программа амплификатора:** денатурация 95°30"

отжиг праймеров 58°30"

элонгация 72°30"

} 31 цикл



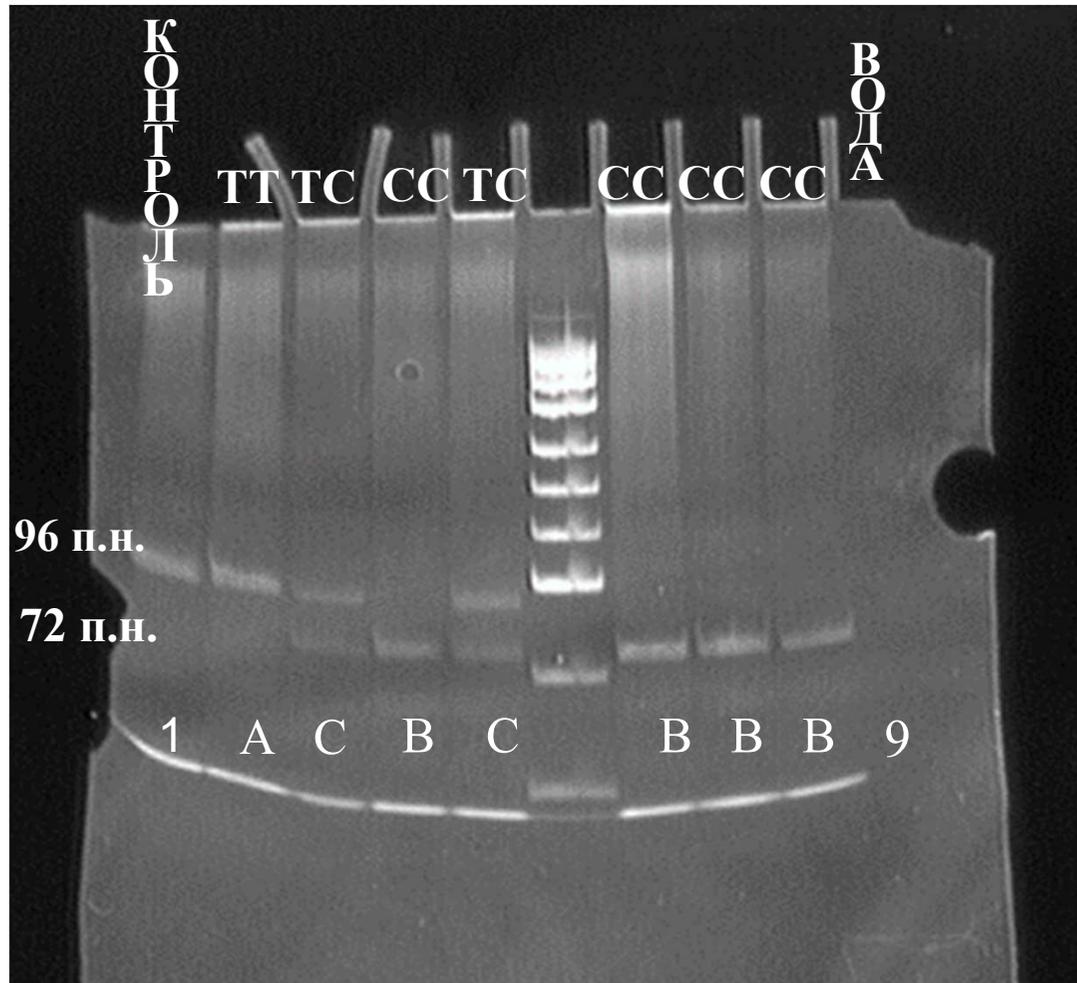
**Рестрикционный анализ:** RsaI  $t = 37^{\circ}C$

**Праймеры:**

d 5'-TAGAGCGCTAAGCACTTTT TAGGTA-3'

r 5'-TTGCCTTCCCTGTAACTGTG-3'

# Электрофорез



1 дорожка – контроль

9 дорожка – вода

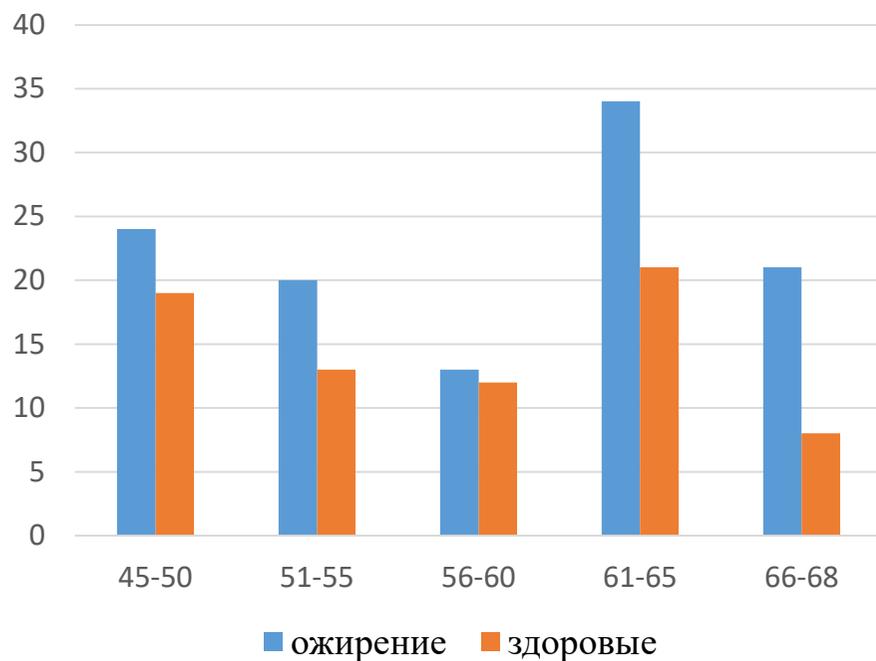
А – продукт  
амплификации,  
генотип ТТ  
96 п.н.

В – пострестрикционный  
мутантный продукт  
генотип СС  
72 п.н.

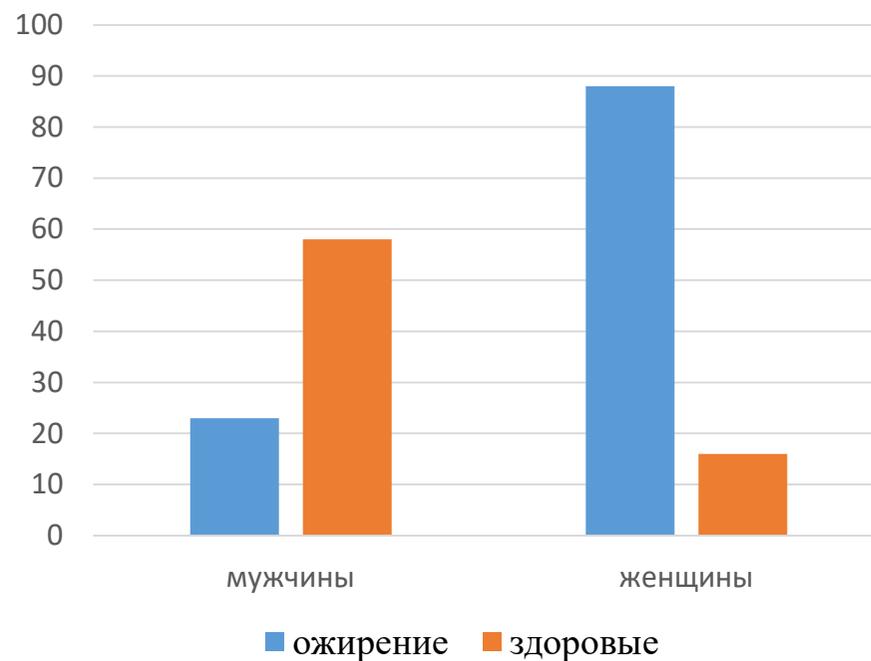
С – пострестрикционный  
гетерозиготный продукт  
генотип ТС  
96 п.н и 72 п.н.

# Анализируемые выборки

## Возрастные группы



## Кол-во мужчин и женщин

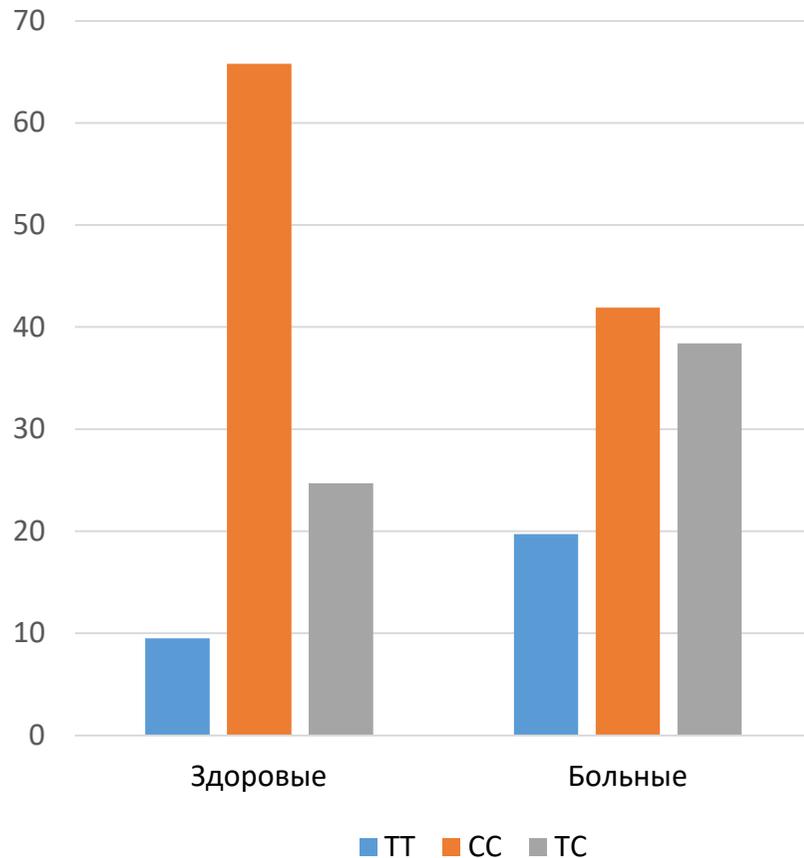


# Частота встречаемости генотипов и аллелей в исследованных выборках

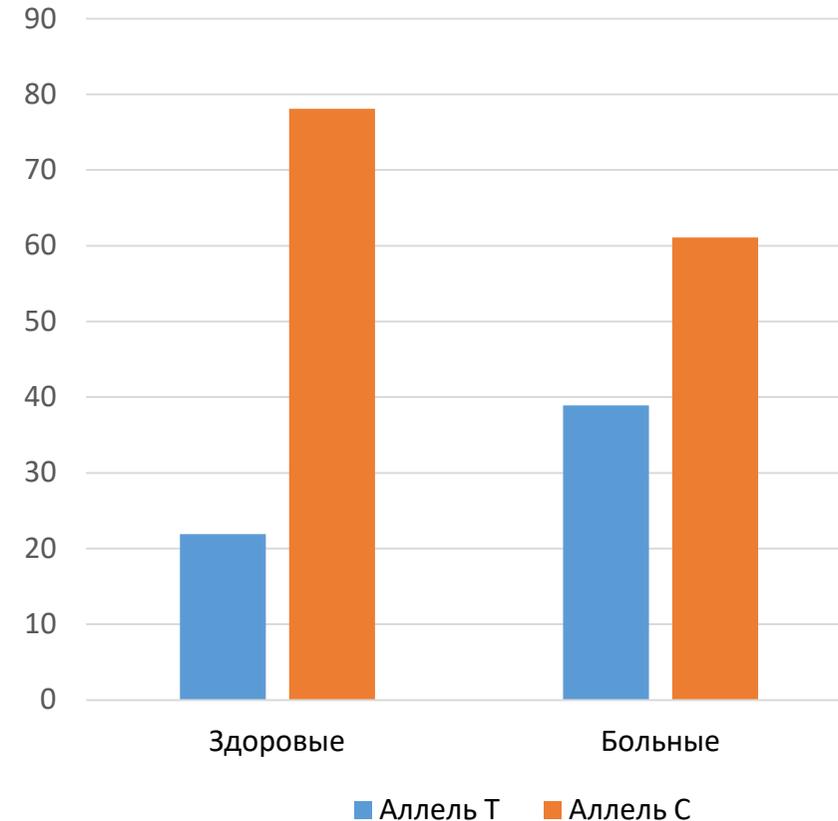
Генотипы	Больные		Здоровые	
	N=112	%	N=73	%
ТТ	22	19,7	7	9,5
ТС	43	38,4	18	24,7
СС	47	41,9	48	65,8
<b>Аллели</b>				
Т	87	38,9	32	21,9
С	137	61,1	114	78,1

# Частота встречаемости генотипов и аллелей в исследованных выборках

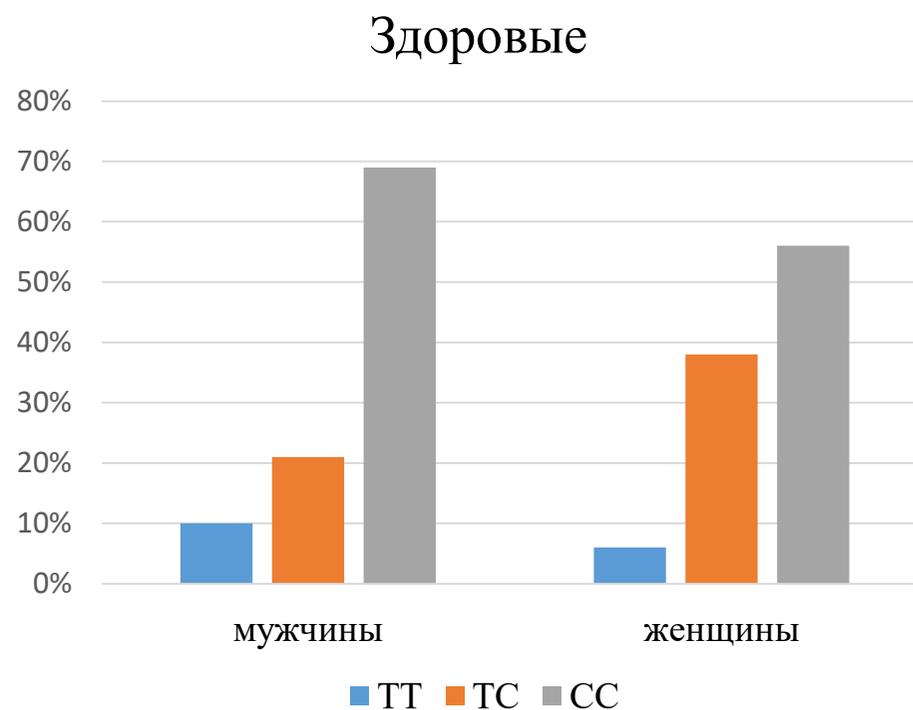
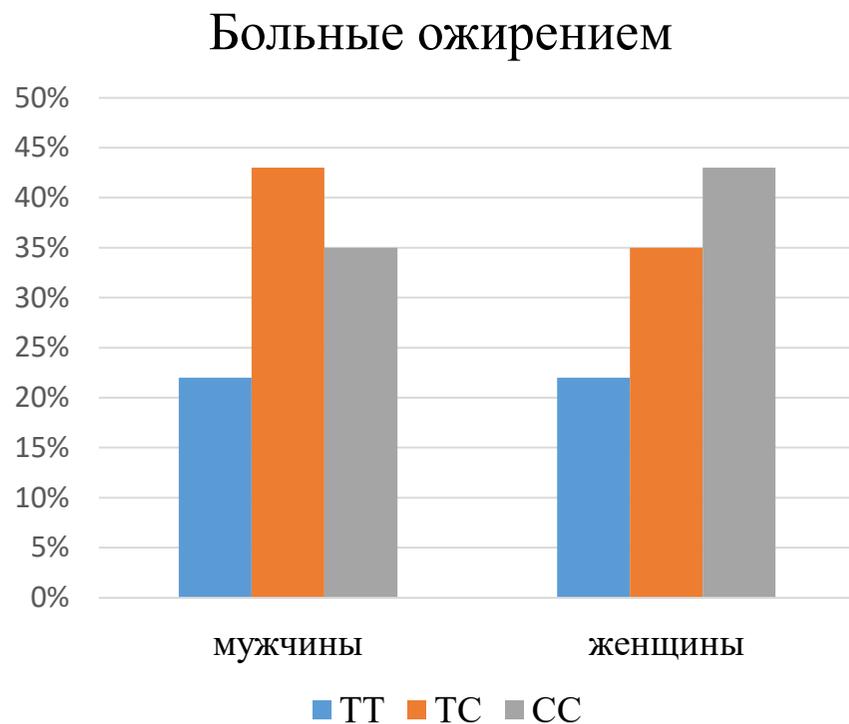
Генотипы



Аллели



# Частота гаплотипов у больных и здоровых мужчин и женщин



# Статистика

## закон Харди—Вайнберга (закон популяционного равновесия)

утверждает, что в теоретической идеальной популяции распределение генотипов будет оставаться постоянным из поколения в поколение и соответствовать уравнению:

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1, \text{ где}$$

$p^2$  — доля гомозигот по одному из аллелей;

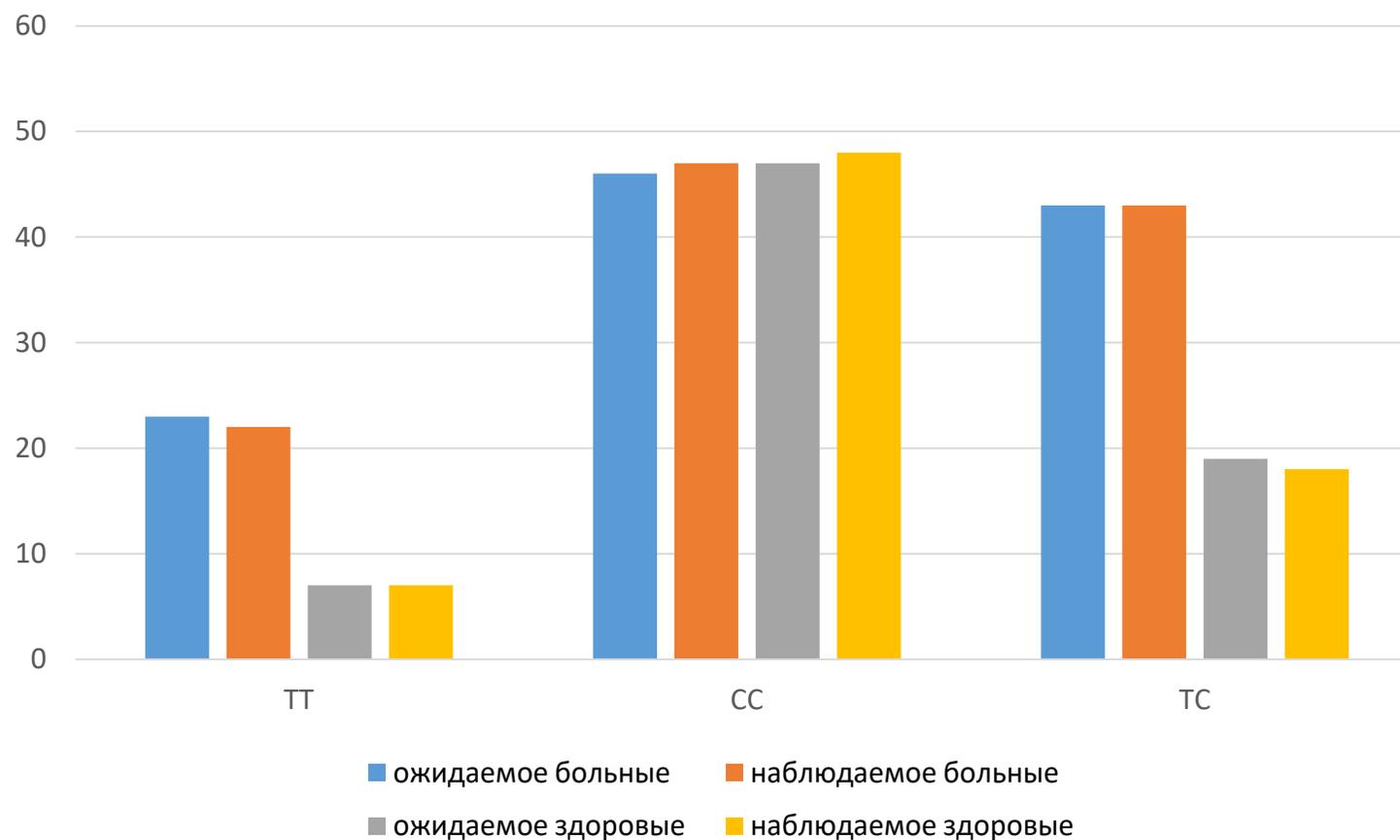
$p$  — частота этого аллеля;

$q^2$  — доля гомозигот по альтернативному аллелю;

$q$  — частота соответствующего аллеля;

$2pq$  — доля гетерозигот.

# Ожидаемые и наблюдаемые результаты



# Статистика

- P-value = 0.0059
- $\chi^2 = 10.248$
- Выявлены достоверные статистические различия.
- Сохраняется закон равновесия Харди-Вайнберга

# Выводы

1. Выборка больных с ожирением отличалась от выборки здоровых по частотам генотипов и аллелей.
2. Частота редкого аллеля Т у больных с ожирением выявлена с частотой 40%, а в выборке здоровых 22%.
3. Гомозиготы по редкому аллелю Т выявлены в обеих выборках.
4. Выявлены достоверные статистические различия между двумя выборками.
5. Показано, что в обеих выборках наблюдается соответствие закону Харди-Вайнберга, а также одинаковые значения по ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности.
6. Несмотря на то, что выборка мужчин, больных ожирением, в два раза меньше, частота встречаемости редкого генотипа ТТ одинакова и для мужчин, и для женщин

# Список используемых источников

1. *Ефимов, А. С.* Малая энциклопедия врача-эндокринолога / А. С. Ефимов, Н. А. Зуева, Н. Д. Тронько ... [и др.]. — Киев : ООО «ДГС ЛТД» : Медкнига, 2007. — С. 255—260. — 360 с.
2. [Ожирение и избыточный вес : \[арх. 19 октября 2019\] = Obesity and overweight \(англ.\). WHO \(16 February 2018\). Архивировано 6 ноября 2019 года. : \[пер. с англ.\]. — ВОЗ, 2018. — 16 февраля. — \(Информационные бюллетени\).](#)
3. [Берштейн, Лев. Ожирение и рак : о чем «говорят» экзосомы? / Лев Берштейн, Анастасия Малек // Природа : журн. — 2018. — № 6.](#)
4. [Jayedi, Ahmad. Central fatness and risk of all cause mortality : systematic review and dose-response meta-analysis of 72 prospective cohort studies : \[англ.\] / Ahmad Jayedi, Sepideh Soltani, Mahdieh Sadat Zargarar ... \[et al.\] // BMJ : журн. — 2020. — No. 370. — M3324.](#)
5. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11800065/>
6. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30311716/>
7. <https://en.wikipedia.org/wiki/TCF7L2#Schizophrenia>

# Анкетирование

АНКЕТА

1. ФИО (для женщин девичья фамилия) \_\_\_\_\_

2. Пол \_\_\_\_\_

3. Национальность \_\_\_\_\_

4. Дата рождения \_\_\_\_\_

5. Место рождения \_\_\_\_\_

6. ФИО отца \_\_\_\_\_

7. Национальность отца \_\_\_\_\_

8. Место рождения отца \_\_\_\_\_

9. ФИО место рождения и национальность родителей отца \_\_\_\_\_

---

10. Другая информация о национальности предков отца \_\_\_\_\_

---

11. ФИО матери \_\_\_\_\_

12. Национальность матери \_\_\_\_\_

13. Место рождения матери \_\_\_\_\_

14. ФИО место рождения и национальность родителей матери \_\_\_\_\_

---

15. Другая информация о национальности предков матери \_\_\_\_\_

---

16. Сибсы (родственники), которые могут оказаться обследованными в настоящее время \_\_\_\_\_

---

17. ФИО и дата рождения детей \_\_\_\_\_

---

18. Хронические заболевания у обследуемого \_\_\_\_\_

---

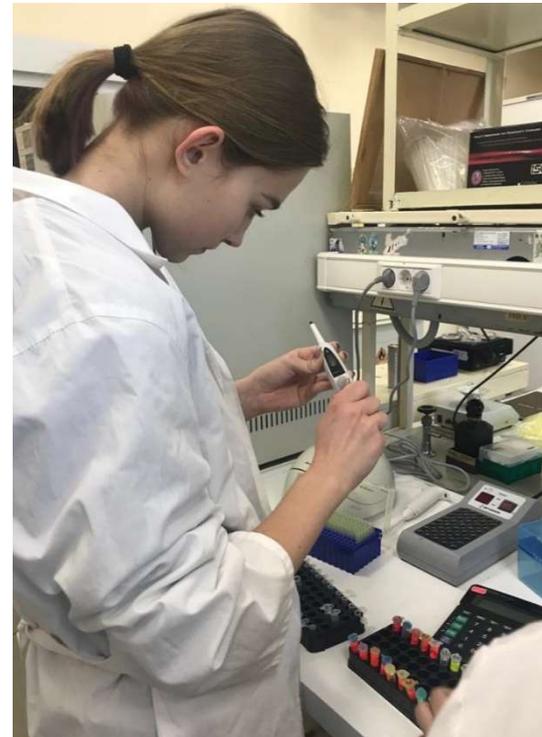
19. Хронические заболевания у родителей, причина и возраст смерти \_\_\_\_\_

---

20. Хронические заболевания у детей \_\_\_\_\_

Главные вопросы:

- Возраст
- Рост
- Вес
- Заболевание



# Сбор буккального эпителия

Буккальный эпителий – это эпителиальная ткань со внутренней стороны ротовой полости, содержащая живые клетки.

Сбор производился с помощью ватной палочки и Эппендорфа.



# Выделение ДНК

Выделение ДНК происходит в несколько этапов: лизис, связывание, промывка, элюирование.

