



Оригинальная статья

Изучение связи полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR* с дефицитом фолиевой кислоты у больных ожирением

Погожева А.В.^{1,2} • Сорокина Е.Ю.^{1,2} • Аристархова Т.В.¹

Актуальность. Применение молекулярно-генетических технологий позволило показать, что в развитии ожирения существенную роль играет генетический фактор. Кроме того, у людей, страдающих ожирением, обеспеченность витаминами, в частности фолиевой кислотой, в значительной степени контролируется генетически. **Цель** – изучить ассоциации полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR* с обеспеченностью фолиевой кислотой в зависимости от индекса массы тела у жителей Московского региона. **Материал и методы.** Идентификация полиморфизмов rs1801133 проведена у 326 человек (74 мужчины и 252 женщины) в возрасте от 20 до 65 лет, проживающих в Московском регионе. ДНК выделяли из крови методом сорбции на магнитные частицы, покрытые силикагелем. Процесс выделения ДНК осуществляли на автоматической станции ерMotion 5075 (“Eppendorf”, Германия). Для идентификации

полиморфизма применяли полимеразную цепную реакцию с последующим расщеплением продуктов амплификации рестриктазой *HinfI* и анализом этих продуктов методом гель-электрофореза. Использовали оборудование CFX96 Real Time System (“Bio-Rad”, США). Фолиевую кислоту определяли с использованием тест-системы ID-Vit® Folic acid (“R-Biopharm”, Германия). **Результаты.** По данным определения уровня фолиевой кислоты в крови, у 24,2% обследованных жителей Московского региона наблюдался дефицит этого витамина. Анализ результатов генотипирования не установил наличие связи полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR* с уровнем фолиевой кислоты в сыворотке крови. Однако у людей с избыточной массой тела и ожирением выявлена статистически значимая ассоциация между аллелем *T* полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR* и низким уровнем фолиевой кислоты (отношение шансов 2,5, 95% доверительный

интервал 1,09–5,74, $p=0,03$). **Заключение.** Полиморфизм rs1801133 гена *MTHFR* вносит существенный вклад в развитие дефицита фолиевой кислоты у людей с избыточной массой тела и ожирением.

Ключевые слова: ожирение, индекс массы тела, фолиевая кислота, ген метилентетрагидрофолатредуктазы, генетический полиморфизм rs1801133

Для цитирования: Погожева АВ, Сорокина ЕЮ, Аристархова ТВ. Изучение связи полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR* с дефицитом фолиевой кислоты у больных ожирением. Альманах клинической медицины. 2018;46(3):254–7. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-3-254-257.

Поступила 29.01.2018;
принята к публикации 28.02.2018

В настоящее время ожирение представляет собой серьезную медицинскую проблему. Применение молекулярно-генетических технологий позволило показать, что генетический фактор играет существенную роль в развитии этого заболевания. Кроме того, обеспеченность витаминами, в частности фолиевой кислотой, у людей, страдающих ожирением, в значительной степени контролируется генетически.

Ряд исследователей обнаружили связь между низким уровнем фолиевой кислоты и избыточной массой тела и ожирением. Значительная ассоциация низкого уровня фолиевой кислоты в сыворотке крови с увеличением индекса массы тела (ИМТ) выявлена у женщин европейского происхождения детородного возраста, при этом увеличение ИМТ на 10 кг/м² было сопряжено со снижением уровня фолиевой кислоты на 16,6% ($p < 0,001$). Это может иметь важное значение для здоровья, так как

в случае установления причинно-следственной связи добавление фолата в рацион могло бы внести свой вклад в лечение этого заболевания [1].

Вместе с тем в других работах, выполненных в европейских странах, не выявлено ассоциации между обеспеченностью фолиевой кислотой и ожирением [2, 3].

Низкий уровень фолиевой кислоты может быть обусловлен генетическим полиморфизмом rs1801133 гена метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*), в котором цитозин (С) в позиции 677 замещен тимидином (Т), что приводит к замене аминокислотного остатка аланина на остаток валина (позиция 223) в сайте связывания фолата [4, 5].

Ген *MTHFR*, кодирующий синтез фермента метилентетрагидрофолатредуктазы, локализован на хромосоме 1р36.3. Этот фермент играет ключевую роль в метаболизме фолиевой



кислоты, катализируя восстановление 5,10-метилентетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат, который представляет собой активную форму фолиевой кислоты, необходимую для образования метионина из гомоцистеина и далее – S-аденозилметионина, играющего ключевую роль в процессе метилирования ДНК [5].

Результаты популяционных исследований показали, что полиморфизм rs1801133 гена *MTHFR* ассоциирован с увеличением риска формирования дефекта нервной трубки у плода, развития сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета 2-го типа и остеопороза [6–9]. Частота встречаемости аллеля *T* в европейских популяциях составляет 30–33% [6, 10].

Целью настоящего исследования стало изучение ассоциации полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR* с дефицитом фолиевой кислоты в зависимости от ИМТ у жителей Московского региона.

Материал и методы

В консультативно-диагностическом центре «Здоровое и спортивное питание» ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» было обследовано 326 человек, проживающих в Московском регионе, из них 74 мужчины и 252 женщины в возрасте от 20 до 65 лет. У всех пациентов было получено информированное согласие на участие в исследовании.

Для расчета размера выборки в исследовании «случай – контроль» использовалась программа Epi info™ (<http://www.cdc.gov/epiinfo/>).

При изучении ассоциации полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR* с обеспеченностью фолиевой кислотой по типу «случай – контроль» все обследованные были разделены на две группы: в 1-ю вошли люди с содержанием фолиевой кислоты 4,5 нг/мл и выше («контроль»), во 2-ю – менее 4,5 нг/мл («случай»).

У всех обследованных была проведена идентификация полиморфизмов rs1801133 гена *MTHFR*. ДНК выделяли из крови стандартным методом, с использованием многокомпонентного лизирующего раствора, разрушающего комплекс ДНК с белком. Затем проводилась сорбция ДНК на магнитные частицы, покрытые силикагелем.

Для выделения ДНК использовали набор реагентов «РеалБест ДНК-экстракция 3» (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия). Выделение ДНК осуществляли на автоматической станции epMotion 5075 («Eppendorf», Германия).

Для идентификации полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR* применяли полимеразную цепную реакцию участков генов с последующим расщеплением продуктов амплификации специфической

Погожева Алла Владимировна – д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотр. лаборатории эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний¹; профессор кафедры гигиены питания и токсикологии²
 ✉ 109240, г. Москва, Устьинский проезд, 2/14, Российская Федерация. Тел.: +7 (495) 698 53 80. E-mail: allapogozheva@yandex.ru

Сорокина Елена Юрьевна – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаборатории эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний¹; доцент кафедры гигиены питания и токсикологии²

Аристархова Татьяна Владимировна – науч. сотр. лаборатории метаболомного и протеомного анализа¹

рестриктазой (Hinf1) производства Promega Corporation (США) и анализом фрагментов методом гель-электрофореза в агарозных гелях с добавлением бромид этидия (0,5 мг/мл), агарозные гели визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете с помощью системы документации Gel Doc («Bio-Rad», США) [6]. Для проведения амплификации использовали амплификатор CFX96 Real Time System («Bio-Rad», США).

Содержание фолиевой кислоты в сыворотке крови определяли с использованием тест-системы ID-Vit® Folic acid («R-Biopharm», Германия) на иммунохемилюминесцентном автоматическом анализаторе Immulite 2000 XPi («Siemens Healthcare Diagnostics Inc», США).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием системы PASW Statistics 20. Тесты на соблюдение равновесия Харди – Вайнберга и выявление ассоциаций методом Пирсона χ^2 проводили с помощью программы DeFinetti на сайте Института генетики человека (Мюнхен, Германия) (<https://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa2.pl>).

Результаты

По результатам определения уровня фолиевой кислоты в крови можно говорить о дефиците этого витамина у 24,2% обследованных, проживающих в Московском регионе Российской Федерации.

При анализе данных определения содержания фолиевой кислоты в сыворотке крови у обследованных (без учета величины индекса массы тела) не было выявлено связи аллеля *T* полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR* с уровнем фолиевой кислоты. Более низкая частота встречаемости аллеля *T* (29,7%) в группе пациентов с содержанием фолиевой кислоты в сыворотке крови на уровне $\geq 4,5$ нг/мл не достигала статистической значимости по сравнению с группой, где содержание ее было меньше 4,5 нг/мл (отношение шансов (ОШ) 1,63, 95% доверительный интервал (ДИ) 0,81–3,3 при $p=0,17$) (табл. 1).

При этом у людей, имеющих избыточную массу тела и ожирение (ИМТ ≥ 25 кг/м²), выявлена статистически значимая ассоциация аллеля *T* полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR* с низким уровнем фолиевой кислоты.

Частота встречаемости аллеля *T* в группе с низким уровнем фолиевой кислоты была статистически значимо выше (на 21,1%) по сравнению с группой обследованных с высоким ее уровнем: ОШ 2,5, 95% ДИ 1,09–5,74 при $p=0,03$ (см. табл. 1).

Параллельное обследование людей с ИМТ < 25 кг/м² не выявило связи аллеля *T*

¹ ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»; 109240, г. Москва, Устьинский проезд, 2/14, Российская Федерация

² ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет); 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2, Российская Федерация

**Таблица 1.** Распределение генотипов и частота аллелей полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR* с расчетом отношения шансов для аллеля *T* у обследуемых Московского региона в зависимости от содержания фолиевой кислоты

Содержание фолиевой кислоты в сыворотке крови	Распределение генотипов, %			Частота аллелей, %		Отношение шансов (95% доверительный интервал); аллель риска <i>T</i>
	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>	<i>C</i>	<i>T</i>	
Все обследованные						
4,5 нг/мл и выше	56,3	28,1	15,6	70,3	29,7	1,63 (0,81–3,3) p=0,17
менее 4,5 нг/мл	36,8	44,7	18,4	59,2	40,8	
Обследованные с избыточной массой тела и ожирением, ИМТ ≥ 25 кг/м²						
4,5 нг/мл и выше	62,5	20,8	16,7	72,9	27,1	2,5 (1,09–5,74) p=0,03
менее 4,5 нг/мл	25,9	51,9	22,2	51,8	48,2	
Обследованные с ИМТ < 25 кг/м²						
4,5 нг/мл и выше	37,5	50	12,5	62,5	37,5	0,49 (0,12–2,03) p=0,32
менее 4,5 нг/мл	63,6	27,3	9,1	77,2	22,8	

ИМТ – индекс массы тела

Таблица 2. Содержание фолиевой кислоты (нг/мл) в сыворотке крови в зависимости от генотипа полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR*

Группы обследованных	Генотипы rs1801133 гена <i>MTHFR</i>			
	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>	<i>CT+TT</i>
Все обследованные	5,9 ± 0,64	4,6 ± 0,65	4,6 ± 0,58	4,6 ± 0,57
Мужчины	5,61 ± 0,84	3,40 ± 0,3*	4,7 ± 0,76	3,81 ± 0,34*
Женщины	6,46 ± 1	7,25 ± 1,7	4,29 ± 0,7	6,44 ± 1,31
Обследованные с ИМТ ≥ 25 кг/м ²	6,64 ± 0,85	4,25 ± 0,8*	4,36 ± 0,61*	4,28 ± 0,56*
Обследованные с ИМТ < 25 кг/м ²	5,9 ± 0,64	4,56 ± 0,65	4,60 ± 0,58	4,57 ± 0,48

ИМТ – индекс массы тела

* Отличия от генотипа *CC* статистически значимы при p < 0,05

изучаемого полиморфизма с уровнем фолиевой кислоты в сыворотке крови: ОШ 0,49, 95% ДИ 0,12–2,03 при p = 0,32 (см. табл. 1).

Анализ данных обследования людей с избыточной массой тела и ожирением показал, что у носителей аллеля *T* полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR* (генотипы *CT*, *TT*, *CT+TT*) содержание фолиевой кислоты в сыворотке крови было статистически значимо ниже, чем у носителей генотипа *CC* (табл. 2). Это подтверждает статистически значимую ассоциацию аллеля *T* этого

полиморфизма с низким уровнем фолиевой кислоты у людей с ИМТ ≥ 25 кг/м². В группе обследованных с ИМТ < 25 кг/м² не было обнаружено различий в содержании фолиевой кислоты в зависимости от генотипа полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR*.

Обсуждение и заключение

В результате проведенных исследований у 24,2% обследованных, проживающих в Московском регионе Российской Федерации, выявлено снижение уровня фолиевой кислоты в сыворотке крови.

Анализ результатов генотипирования не показал наличие статистически значимой связи между аллелем *T* полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR* и низким уровнем фолиевой кислоты у обследуемых Московского региона с нормальной массой тела.

В противоположность этому результаты генотипирования людей с избыточной массой тела и ожирением свидетельствуют о статистически значимой связи между аллелем *T* полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR* и низким уровнем фолиевой кислоты.

Следовательно, у людей с избыточной массой тела и ожирением носительство аллеля *T* полиморфизма rs1801133 гена *MTHFR*, как в гетерозиготном, так и в гомозиготном состоянии (генотипы *TT*, *CT* и *CT+TT*), может рассматриваться в качестве фактора риска для снижения уровня фолиевой кислоты, что, в свою очередь, может привести к увеличению уровня гомоцистеина в сыворотке крови и развитию сердечно-сосудистых заболеваний [1, 4, 6].

В этой связи отметим, что в исследовании, проведенном по типу «случай – контроль» в Китае и Индии, была выявлена ассоциация аллеля *T* этого полиморфизма с высоким уровнем гомоцистеина, сахарным диабетом 2-го типа и нефропатологией, осложняющей течение данного заболевания [6–9].

Таким образом, изучаемый полиморфизм вносит свой вклад в развитие недостаточности фолиевой кислоты у больных ожирением и увеличивает риск возникновения сердечно-сосудистой патологии и сахарного диабета 2-го типа у этих больных. ©

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

Литература / References

1. Thomas-Valdés S, Tostes MDGV, Anunciação PC, da Silva BP, Sant'Ana HMP. Association between vitamin deficiency and metabolic disorders related to obesity. Crit Rev Food Sci Nutr. 2017;57(15):3332–43. doi: 10.1080/10408398.2015.1117413.
2. Liu X, Zhao LJ, Liu YJ, Xiong DH, Recker RR, Deng HW. The MTHFR gene polymorphism is associated with lean body mass but not fat



body mass. *Hum Genet.* 2008;123(2):189–96. doi: 10.1007/s00439-007-0463-7.

3. Tavakkoly Bazzaz J, Shojapoor M, Nazem H, Amiri P, Fakhrzadeh H, Heshmat R, Parvizi M, Hasani Ranjbar S, Amoli MM. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in diabetes and obesity. *Mol Biol Rep.* 2010;37(1): 105–9. doi: 10.1007/s11033-009-9545-z.
4. Binia A, Contreras AV, Canizales-Quinteros S, Alonzo VA, Tejero ME, Silva-Zolezzi I. Geographical and ethnic distribution of single nucleotide polymorphisms within genes of the folate/homocysteine pathway metabolism. *Genes Nutr.* 2014;9(5):421. doi: 10.1007/s12263-014-0421-7.
5. Bailey LB, Stover PJ, McNulty H, Fenech MF, Gregory JF 3rd, Mills JL, Pfeiffer CM, Fazili Z, Zhang M, Ueland PM, Molloy AM, Caudill MA, Shane B, Berry RJ, Bailey RL, Haus-

man DB, Raghavan R, Raiten DJ. Biomarkers of Nutrition for Development – Folate Review. *J Nutr.* 2015;145(7):1636S–80S. doi: 10.3945/jn.114.206599.

6. Sun J, Xu Y, Xue J, Zhu Y, Lu H. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism associated with susceptibility to coronary heart disease in Chinese type 2 diabetic patients. *Mol Cell Endocrinol.* 2005;229(1–2):95–101. doi: 10.1016/j.mce.2004.09.003.
7. Zhu B, Wu X, Zhi X, Liu L, Zheng Q, Sun G. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and type 2 diabetes mellitus in Chinese population: a meta-analysis of 29 case-control studies. *PLoS One.* 2014;9(7):e102443. doi: 10.1371/journal.pone.0102443.
8. Movva S, Alluri RV, Venkatasubramanian S, Vedicherla B, Vattam KK, Ahuja YR, Hasan Q.

Association of methylene tetrahydrofolate reductase C677T genotype with type 2 diabetes mellitus patients with and without renal complications. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2011;15(4):257–61. doi: 10.1089/gtmb.2010.0118.

9. Raza ST, Abbas S, Siddiqi Z, Mahdi F. Association between ACE (rs4646994), FBP2 (rs1799883), MTHFR (rs1801133), FTO (rs9939609) Genes Polymorphism and Type 2 Diabetes with Dyslipidemia. *Int J Mol Cell Med.* 2017;6(2):121–30. doi: 10.22088/acadpub.BUMS.6.2.6.
10. Karic A, Terzic R, Jerkic Z, Mustedanagic-Mujanovic J. The frequency of C677T methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism in Southern East Bosnian population. *J Biomet Biostat.* 2013;4(4):1000169. doi: 10.4172/2155-6180.1000169.

Evaluation of an association of the rs1801133 *MTHFR* gene polymorphism with folic acid deficiency in obese patients

A.V. Pogozheva^{1,2} • E.Yu. Sorokina^{1,2} • T.V. Aristarkhova¹

Background: The use of molecular genetic technologies has made it possible to show that the genetic factor plays a significant role in the development of obesity. In addition, in obese people the supply with vitamins, in particular with folic acid, is largely controlled genetically. **Aim:** To study an association of the rs1801133 polymorphism of the *MTHFR* gene with folic acid deficiency in the residents of the Moscow region depending on their body mass index. **Materials and methods:** rs1801133 polymorphisms were identified in 326 subjects (74 male and 252 female) aged from 20 to 65 years, living in the Moscow region. The DNA was isolated from blood by the sorption on silica gel-coated magnetic particles. DNA was isolated with the use of the epMotion 5075 automatic station (Eppendorf, Germany). To identify the polymorphism, a polymerase chain reaction was used, followed by cleavage of the *Hinf*I restriction endonuclease products, with analysis of these products by gel electrophoresis. The equipment CFX96 Real Time System (BIO-RAD, USA) was used. Folic acid was measured by ID-Vit® Folic Acid test system (R-Biopharm, Germany). **Results:** According to the results of folic acid measurements in blood, a deficiency of this vitamin was found in 24.2% of the

studied residents of the Moscow region. Analysis of the genotyping results did not show any association of the rs1801133 *MTHFR* gene polymorphism with the serum levels of folic acid. However, in the subjects with overweight and obesity, there was a statistically significant association between the T allele of the rs1801133 of the *MTHFR* gene polymorphism and a low level of folic acid (odds ratio 2.5, 95% confidence interval 1.09–5.74, $p=0.03$). **Conclusion:** The rs1801133 polymorphism of the *MTHFR* gene significantly contributes to the development of folic acid deficiency in overweight and obese individuals.

Key words: obesity, body mass index, folic acid, methylenetetrahydrofolate reductase gene, genetic polymorphism, rs1801133

For citation: Pogozheva AV, Sorokina EYu, Aristarkhova TV. Evaluation of an association of the rs1801133 *MTHFR* gene polymorphism with folic acid deficiency in obese patients. *Almanac of Clinical Medicine.* 2018;46(3):254–7. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-3-254-257.

Received 29 January 2018; accepted 28 February 2018

Alla V. Pogozheva – MD, PhD, Leading Research Fellow, Laboratory of Epidemiology of Nutrition and Genodiagnosics of Alimentary-dependent Diseases¹; Professor, Chair of Food Hygiene and Toxicology²

✉ 2/14 Ust'inskiy proezd, Moscow, 109240, Russian Federation. Tel.: +7 (495) 698 53 80.
E-mail: allapogozheva@yandex.ru

Elena Yu. Sorokina – MD, PhD, Leading Research Fellow, Laboratory of Epidemiology of Nutrition and Genodiagnosics of Alimentary-dependent Diseases¹; Associate Professor, Chair of Food Hygiene and Toxicology²

Tatyana V. Aristarkhova – Research Fellow, Laboratory of Metabolic and Proteomic Analysis¹

¹ Federal Research Centre of Nutrition and Biotechnology; 2/14 Ust'inskiy proezd, Moscow, 109240, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; 8/2 Trubetskaya ul., Moscow, 119991, Russian Federation

Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interest.