

Сбазиева А.И., Исакова Ж.Т.

СЕМИРУУГӨ ГЕНЕТИКАЛЫК ЖАКТАН ЖАКЫНДЫКТЫ  
АНЫКТООДО РЕСТРИКЦИОНДУК ФРАГМЕНТТЕРДИН УЗУНДУГУНУН  
ПОЛИМОРФИЗМ ЫКМАСЫ МЕНЕН АНЫКТОО

Сбазиева А.И., Исакова Ж.Т.

МЕТОД ПОЛИМОРФИЗМА ДЛИН РЕСТРИКЦИОННЫХ  
ФРАГМЕНТОВ В ВЫЯВЛЕНИИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ  
ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ОЖИРЕНИЮ

A. Sbazieva, J. Isakova

THE METHOD OF RESTRICTION FRAGMENT  
LENGTH POLYMORPHISM IN THE IDENTIFICATION  
OF GENETIC PREDISPOSITION TO OBESITY

УДК: 575.113(575.2)(04)

Азыркы учурда, дүйнө жүзү боюнча калктын арасында семирүүнүн глобалдык таралышы 650 миллионго жакын адамды түзөт, бул зат алмашуунун бузулушунан пайда болгон өнөкөт ооруну, XXI кылымдын жүзүштүгү эмес пандемиясы катары кароого болот. Изилдөөнүн максаты май алмашуу процессинин бузулушунун таралышын жана кыргыз улутундагы адамдарда семирүү коркунучун жогорулатууда аллельдик эмес гендердин гендер аралык өз ара аракеттенүүсүнүн ролун баалоо. Аллельдик эмес гендерди идентификациялоо рестрикциялык фрагменттеринин узундугу полиморфизм ыкмасы менен жүргүзүлгөн (РФУП). Бул эмгекте кыргыз популяцияларындагы семирүүнүн материалдары талдоого алынып, аллельдик эмес гендердин деңгээли да каралган - g.15661G> T (ген adiponectin (ADIPOQ)), p.A222V (ген methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)), p.Q192R (ген paraoxonase1 (PON1)) семирүүнүн өнүгүшүнө байланышкан. Бул жерде, V аллели жана p.A222V локусунун VV генотиби (MTHFR) семирүүнүн өнүгүшүнүн тобокелдигинин маркерлери болуп саналат.

**Негизги сөздөр:** салмак, полиморфтук гендер, дене салмагынын индекси, полимераздык чынжыр реакциясы, дезоксирибонуклеин кислотасы, метаболизм синдрому, аллель.

В настоящее время глобальная распространенность ожирения среди взрослого населения мира составляет около 650 млн. человек, что позволяет рассматривать данное хроническое заболевание обмена веществ как неинфекционную пандемию XXI в. Цель исследования заключается в том, чтобы оценить распространенность нарушения жирового обмена и роль межгенных взаимодействий неаллельных генов в увеличении риска развития ожирения для лиц кыргызской национальности. Идентификация неаллельных генов проводилась методом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). В данной работе были проанализированы материалы ожирения в кыргызских популяциях, а также рассмотрены уровень неаллельных генов - g.15661G> T (ген adiponectin (ADIPOQ)), p.A222V (ген methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)), p.Q192R (ген paraoxonase1 (PON1)) ассоциирующие развитие ожирения. Маркером повышенного риска развития ожирения являются аллель V и генотип VV локуса p.A222V (MTHFR).

**Ключевые слова:** ожирения, избыточный вес, полиморфные гены, индекс массы тела, полимеразная цепная реакция, дезоксирибонуклеиновая кислота, метаболический синдром, аллель.

Currently, the global prevalence of obesity among the adult population of the world is about 650 million people, which makes it

possible to consider this chronic metabolic disease as a non-infectious pandemic of the XXI century. The aim of the study was to assess the prevalence of disorders of fat metabolism and the role of intergenic interactions of non-allelic genes in increasing the risk of obesity for people of Kyrgyz nationality. Identification of non-allelic genes was carried out by the method of restriction fragment length polymorphism (RFLP). In this publication, materials on obesity Kyrgyz populations are analyzed, and the level of non-allelic genes - g.15661G> T (adiponectin (ADIPOQ) gene), p.A222V (methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene), p.Q192R (paraoxonase1 (PON1) gene) were considered associating the development of obesity. Markers of increased risk of obesity are allele V and genotype VV of the locus p.A222V (MTHFR).

**Key words:** obesity, overweight, polymorphic genes, body mass index, polymerase chain reaction, deoxyribonucleic acid, metabolic syndrome, allele.

**Введение.** В настоящее время ожирение и метаболический синдром (МС) в мире являются наиболее серьезными проблемами человечества. Ожирение имеет очень сложный патогенез с учетом генетических факторов, факторов окружающей среды и образа жизни. Известно множество генов предрасположенности к ожирению: лептин, адипонектин, адипсин, интерлейкин и др. Среди них адипонектин играет важную роль в регуляции энергетического гомеостаза, углеводного обмена и чувствительности к инсулину [7].

Распространенность ожирения и избыточного веса за последние 10 лет и в развитых, и в развивающихся странах мира достигла эпидемических показателей. Кроме того, в настоящее время в Кыргызстане и в других странах мира ожирение становятся одной из наиболее важных проблем мира в сфере медицины и социологии, так как оно широко распространен и существенными затратами на преодоление его последствий. Основной причиной является урбанизация населений, снижения физической активности и повышением доступа к быстро приготовленным и высококалорийным продуктам. В результате во всех странах мира за последние десятилетия сильно увеличилось количество людей с избыточной массой тела и ожирением с разного возраста [9].

По данным ВОЗ, в 2016 г. >1,9 млрд взрослых старше 18 лет имели избыточный вес (эти же данные

указаны в отчете за 2020 г.), из них свыше 650 млн страдали ожирением. По медико-социальным прогнозам, нам известно, что, если за последний 10 лет тенденция заболеваемости ожирением сохранится, то к 2030 году 60% населения мира могут иметь избыточный вес или ожирение [2, 3].

Такая проблема существует во всех регионах мира, и в том числе в Кыргызстане. По данным Национального статистического комитета Кыргызской Республики за 2014 г. 34,7% мужчин в Кыргызстане имели избыточный вес, эти показатели у женщин чуть ниже, т.е. 30,1%, кроме того, было определено, что, 11,6% женщин и 8,4% мужчин страдают ожирением, эти показатели встречаются с младенческого до старческого возраста [5].

Исследования, выполненные М.М. Миррахимовым и Т.С. Мейманалиевым [4] в Кыргызской Республике в 1980-1990-е годы распространенность избыточной массы тела составила – 16,3%, это свидетельствует о более низкой частоте нарушений жирового обмена прошлого столетия. О более высокой частоте ожирения у жителей низкогорья по сравнению с жителями высокогорья сообщает М.С. Молдобаева (1992). По данным, К.А. Айтбаева на территории Кыргызстана частота ожирения составляет 17,3%, и в других литературах приводятся сходные данные. Т.А. Романова, изучая распространенности сердечно-сосудистых заболеваний среди сельских жителей в нашей стране выявил нарушения жирового обмена в 19,6% случаев (ИМТ) >30) у людей разного возраста, из них 10,8% составляли мужчины и 24,8% женщин.

Здесь можно утвердить, за последние 3-4 десятилетия во всем мире, в том числе в нашей стране, отмечается резкое увеличение процентный показатель нарушений жирового обмена и в результате увеличилась заболеваемость у людей, которые связанные с ожирением. Так как отмечали выше, это связано с снижением уровня физической активности и одновремен-

ным увеличением калорийности потребляемой пищи. Поэтому, изучать уровень ожирения и выявить их полиморфных вариантов: g.15661G> T (ген *ADIPOQ*), p.A222V (ген *methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)*), p.Q192R (ген *paraoxonase1 (PON1)*) является актуальной проблемой современности [3].

**Материалы и методы исследований.** Для проведения исследований нами были выбраны люди с разного возраста, по типу «случай-контроль», было включено 130 пациентов с ожирением (основная группа), из них женщин – 65 (50,0%), мужчин – 65 (50,0%).

Для сравнения была включена группа людей, которые соответствуют по возрасту и этническому составу. Кроме того, эти пациенты были с ожирением, точнее мужчины – 62 (53,9%), женщины – 53 (46,1%). Итого 115 человек популяционного контроля.

Основными критериями включения пациентов в такую группу являлись следующие признаки:

- длительность нахождения в состоянии ожирения – не менее 1 года;
- наличие ожирения 1-3 степени (согласно диагностическим критериям, предложенным Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ), ИМТ ≥30).

В выборки пациентов с ожирением и популяционного контроля (без ожирения, абдоминального ожирения и сопряженных с ними заболеваний) были включены индивидуумы кыргызской национальности, являющиеся уроженцами Кыргызской Республики и не имеющие родства между собой.

Для проведения исследований все участники обеих групп подписали информированное согласие на проведение молекулярно-генетических исследований.

Информация о последовательностях олигонуклеотидов для полиморфных вариантов g.15661G> T (ген *ADIPOQ*), p.A222V (ген *MTHFR*), p.Q192R (ген *PON1*), а также о продуктах реакции рестрикции представлены в таблице 1.

Таблица 1

Очередность олигонуклеотидов для анализируемых полиморфных вариантов

Полиморфизм (ген)	Последовательность олигонуклеотида 5'>3'	Эндонуклеаза рестрикции	Генотип (размер продуктов рестрикции, п.н.)
g.15661G>T ( <i>ADIPOQ</i> )	F: 5'-GGCCTCTTTCATCACAGACC-3' R: 5'-AGATGCAGCAAAGCCAAAGT-3'	BsmI	GG (48/148) GT (48/148/196) TT (196)
p.A222V ( <i>MTHFR</i> )	5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3', 5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3'.	HinI	CC (198) CT (198/175/23) TT (176/23)
p.Q192R ( <i>PON1</i> )	5'-GGCCTCTTTCATCACAGACC-3' и 5'-AGATGCAGCAAAGCCAAAGT-3'.	BsmI	TT (196) GT (196/148/48) GG (148/48)

**Результаты исследований.** Ожирение и избыточный вес определяется как физиологическое состояние организма, для которых характерны излишние и аномальные жировые отложения. В настоящее время развитие ожирения считается основной проблемой

медицины и других отраслей науки, так как, при ожирении развиваются различные заболевания, и свое время они отрицательно сказывается на экономику страны. Ожирение, как многофакторного заболевания обусловлено суммарным действием широкого

спектра генов, в том числе: ADIPOQ (adiponectin, C1Q and collagen domain containing, NCBI Gene ID, 9370), MTHFR (methylene tetrahydrofolate reductase, 4524), PON1 (paraoxonase 1, 5444).

Амплификацию образца дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) проводили с использованием следующих фланкирующих праймеров: F: 50-CAGGCT-GATCGCACC TATTA-3' и R: 50-CATCCT-TTTCTGCTGGGAAA-3' для (-3971 A> G), F: 50-GTC TCT CCA TGG CTG ACA GT -3' и 50-GGT GAA GAT GGG AAA GGG GA-3' (обратное) для +276 G> T [8].

Процедуру полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили с 15 мкл реакционной смеси (50 нг матричной ДНК, 4 мкМ каждого праймера, 200 мкМ каждого dNTP, 0,3 ед/мл полимеразы Taq и 1X буфера для ПЦР, NEB) состоял из начальной стадии плавления в течение 10 минут при 94°C, за которой следовали 30 циклов по 45 секунд при 94°C, 45 секунд при 58°C (для +276G> T), 45 секунд при 60°C (для -3971A> G), и 45 секунд при 72°C, и заключительный этап элонгации 10 минут при 72°C.

Продукты ПЦР (246 п.н. для -3971 A> G и 504 п.н. для 276G> T) выявляли на 2% агарозном геле, амплифицированные продукты ПЦР расщепляли 5 ед. рестриктазы MseI и BsmI (New England Biolabs, США) для -3971A>G (rs822396) и +276G>T (rs1501299) соответственно, в течение 12-16 часов при 37°C с 1x буфером NEB4 в конечном объеме 15 мкл реакции с последующей инактивацией нагреванием в течение 20 мин при 65°C. В результате расщепления были получены фрагменты размером 147 п.н. и 99 п.н. для аллеля A (-3971A> G) и 321 п.н. и 183 п.н. для аллеля G (+276G> T). Гомозиготный мутантный аллель остается непереваренным. Продукты рестрикции разделяли с помощью электрофореза в агарозном геле (2,5% для -3971A/G и 3% для +276G/T). Для каждой реакции добавляли отрицательный контроль (без матрицы ДНК) для мониторинга контаминации ПЦР.

После генотипирования в качестве меры контроля качества 10% образцов для каждого полиморфизма были подтверждены методом секвенирования по Сэнгеру.

Для определения клинической и биохимической характеристики пациентов были выбраны следующие показатели:

Первая группа - пациенты с ожирением: 130 пациентов было с ожирением, из них мужчин – 65 (50,0%) и женщин – 65 (50,0%). У мужчин возрастная медиана почти не отличается от женщин, составила 51,5 года (возрастной диапазон – 36-70 лет, 25-й процентиль – 47,0 лет, 75-й процентиль – 57,8 лет). Возрастная медиана для женщин в среднем составляет 52,0 года (25-й процентиль – 48,0 года и 75-й процентиль – 58,0 лет, возрастной диапазон – 37-67 лет).

Вторая группа – контрольная группа: сравнения групп соответствовала по возрасту пациентов. Кроме того, для контроля групп было рассмотрена этниче-

ский состав пациентов с ожирением. Итого группа включала всего 115 чел. популяционного контроля, из них мужчин – 62(53,9%), женщины – 53(46,1%). Здесь возрастная медиана отличается обеих полов, для женщин составила 45,5 лет (возрастной диапазон составила 36,0-60,0 лет, 25-й процентиль - 40,8 год, 75-й процентиль – 51,0 год). У мужчин возрастная медиана составила 50,0 лет (возрастной диапазон составила 36-73 года, 25-й процентиль – 45,0 лет, 75-й процентиль – 56,3 года).

Пол, возраст, рост, вес, окружность талия (ОТ), окружность бедер (ОБ), индекс массы тела (ИМТ), абдоминальное ожирение (АО), артериальная гипертония (АГ), систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД), глюкоза в крови, инсулин и др.

В результаты проведенных исследований средний возраст у группы пациентов с ожирением составляло 52,1±7,1, у контрольных групп - 49,6±8,9; средний рост немного превышало у пациентов с ожирением; средний вес намного превышает у людей с ожирением, составляло 87,5±11,2, у контрольных людей средний вес составила 163,5±7,6. Как показано в таблице 2, у пациентов с ожирением все показатели намного отличались от контрольных групп. В основном отличались результаты абдоминального ожирения n = 113 (86,9%), ожирение n = 130 (100%), артериальной гипертонии n = 66 (50,8%), сахарный диабет 2 типа n = 77 (59,2%), метаболического синдрома n = 116 (89,2%).

В ходе исследования была определена частота распространения генотипов, аллелей в семи полиморфном варианте в главной группе больных ожирением, а также в группе сравнительных исследований была проведена статистическая оценка с помощью критерия  $\chi^2$  – точный критерий Фишера. Значения частот генотипов и аллелей, а также результаты их сравнения представлены в таблице 2.

Из гена ADIPOQ g.15661G> T (rs1501299) самая большая частота встречаемости аллелей были: GG/GT = 95,39% (124), а его точный критерий Фишера составляло  $\chi^2 = 1,685$ ; G = 73,46%, T = 26,54%, здесь значение критерия Фишера  $\chi^2 = 1,466$ ; большая значение точного критерия Фишера вышли у генотипов GG, GT, TT, здесь  $\chi^2 = 2,684$ , их частота встречаемости были GG = 51,54% (67), GT = 43,85% (57), TT = 4,61% (6).

В геномном полиморфизме MTHFR p.A222V (rs1801133) значение p были низкие, самый большой показатель критерия Фишера были у генотипов AA = 50,77% (66), AV = 40,00% (52), VV = 9,23% (12) его показатель было равно на  $\chi^2 = 16849$ ; по значению критерия Фишера на втором месте были аллели AA/AV = 90,77% (118), VV = 9,23% (12); самый низкий показатель Фишера отмечено у аллелей A = 75,77%, V = 24,23% ( $\chi^2 = 2,345$ ).

В полиморфизме PON1 p.Q192R(rs662) величины точной критерии Фишера не велики, в пределах

$\chi^2=0,186 - 0,507$ . Самая высокая частота встречаемости аллелей отмечено у QQ/QR = 74,62% (97). Это зна-

чение ни так сильно отличается от сравненных групп (табл. 2).

Таблица 2

Распределение частот генотипов и аллелей для анализируемых полиморфных вариантов

Ген полиморфизм (rs)	Генотип/ аллель	Частота встречаемости, % (абсолютное знач.)		$\chi^2$	p	ОШ	
		Основная группа, n=130	Группа сравнения, n=115			значение	95% ДИ
ADIPOQ g. 15661G >T (rs 1501299)	GG	51,54% (67)	60,00% (69)	2,684	0,247	0,71	0,43-1,18
	GT	43,85% (57)	38,26% (44)			1,26	0,76-2,09
	TT	4,61% (6)	1,74% (2)			2,74	0,54-13,82
	GG/GT	95,39% (124)	98,26% (113)	1,685	0,288	0,37	0,07-1,85
		TT	4,61% (6)			1,74% (2)	2,74
	GG	51,54% (67)	60,00% (69)	1,773	0,199	0,71	0,43-1,18
		GT/TT	48,46% (63)			40,00% (46)	1,41
	G	73,46%	79,13%	1,466	0,143	0,73	0,48-1,11
T		26,54%	20,87%			1,37	0,90-2,09
MTHFR p. A222V (rs 1801133)	AA	50,77% (66)	68,70% (79)	16,849	<0,001	0,47	0,28-0,79
	AV	40,00% (52)	31,30% (36)			1,46	0,86-2,46
	VV	9,23% (12)	-			24,37	1,43-416,37
	AA	50,77% (66)	68,70% (79)	8,194	0,006	0,47	0,28-0,79
	AV/VV	49,23% (64)	31,30% (36)			2,13	1,26-3,59
	AA/AV	90,77% (118)	100% (115)	15,755	<0,001	0,04	0,01-0,70
	VV	9,23% (12)	-			24,37	1,43-416,37
	A	75,77%	84,35%	2,345	0,019	0,58	0,37-0,91
V	24,23%	15,65%	1,72			1,09-2,72	
PON1 p.Q192R (rs662)	RR	25,38% (33)	27,83% (32)	0,507	0,792	0,88	0,50-1,56
	QR	49,24% (64)	50,43% (58)			0,95	0,58-1,57
	QQ	25,38% (33)	21,74% (25)			1,22	0,68-2,22
	QQ/QR	74,62% (97)	72,17% (83)	0,186	0,667	1,13	0,64-1,99
	RR	25,38% (33)	27,83% (32)			0,88	0,50-1,56
	RR/QR	74,62% (97)	78,26% (90)	0,450	0,549	0,82	0,45-1,48
	QQ	25,38% (33)	21,74% (25)			1,22	0,68-2,22
	R	50,00%	53,04%	0,673	0,501	0,89	0,62-1,26
Q	50,00%	46,96%	1,13			0,79-1,61	

В результате исследований, распределения генотипов и аллелей полиморфного варианта p.A222V (MTHFR) выявили статистически значимые различия в двух проанализированных образцах: более высокая частота аллелей V была продемонстрирована в группе пациентов с ожирением (24, 23%) по сравнению с группой сравнения (15, 65%). При наличии аллеля V средний риск развития ожирения среди населения увеличился более чем в 1,5 раза – УНЦИЯ = 1,72 (95% ДИ = [1,09-2,72], p = 0,019). Таким образом, полиморфный вариант p для пациентов с ожирением кыргызской национальности. Аллель V для A222V (MTHFR) связан с повышенным риском развития данного заболевания. В то же время при наличии аллеля A или генотипа AA, напротив, наблюдается протективный эффект: ОШ = 0, 58 (95% ДИ = [0, 37-0, 91], p = 0, 019) и ОШ= 0, 47 (95% ДИ = [0, 28-0, 79], p <0,

001) соответственно.

В отношении полиморфных вариантов g.15661G > T (ADIPOQ), с.Q192R (PON1), не было обнаружено статистически значимых различий в увеличении риска развития ожирения. Следовательно, в исследуемой выборке пациентов данные полиморфные варианты по отдельности не были связаны с ожирением.

В результате исследований были определены генетические маркеры предрасположенности к ожирению для пациентов из Кыргызских популяций. Кроме того, выявлено, что маркерами повышенного риска развития ожирения с учетом факторов, указанных выше при описании групп исследования для коренного населения являются: генотип VV и аллель V для однонуклеотидного полиморфизма p.A222V (ген MTHFR). Здесь имеющим протективный эффект в контексте риска развития ожирения т.е. к генетиче-

ским предикторам пониженного риска можно отнести: генотип AA полиморфного варианта р.А222V (ген *MTHFR*) и аллель А. Полученные нами результаты были подтверждены литературными данными, свидетельствующими о значимой роли генов *MTHFR* в формировании предрасположенности к ожирению.

#### Выводы:

1. В процессе проведенного нами исследования оценен вклад полиморфных локусов g.15661G>T (ген *ADIPOQ*), р.А222V (ген *MTHFR*), р.Q192R (ген *PONI*) и изучены межгенные взаимодействия в увеличение риска развития ожирения для людей в нашей стране.

2. Из трех проанализированных полиморфных вариантов основной вклад в развитие ожирения вносят полиморфные локусы р.А222V (*MTHFR*). Маркерами повышенного риска развития ожирения в кыргызской популяции являются аллель V и генотип VV локуса р.А222V (*MTHFR*). При наличии генетического профиля – AV (р.А222V, *MTHFR*), – риск развития ожирения способен возрасти более чем в 6 раз, ОШ=6,28, 95% ДИ = [2,11-18,72], p = 0,001.

3. В отношении полиморфных вариантов g.15661G>T (ген *ADIPOQ*), р.Q192R (ген *PONI*), не выявлено, т.е. полиморфные варианты не особо играют роль при ожирении. Таким образом, данные полиморфные варианты по отдельности не были ассоциированы с ожирением в обследованной выборке пациентов.

#### Литература:

1. Всемирная Организация Здравоохранения. Проблема ожирения в Европейском регионе ВОЗ и стратегии ее решения [Электронный ресурс]. - Д.: Резюме, 2007. – Режим доступа: <https://www.euro.who.int>. – С.11.
2. Исакова Ж.Т., Талайбекова Э.Т. и др. Ассоциация полиморфного маркера Val109Asp гена оментина с абдоминальным ожирением в кыргызской популяции // Клиническая эндокринология. / Проблемы эндокринологии, 3, 2016. - С.4-8
3. Исакова Ж.Т., Кипень В.Н., Талайбекова Э.Т., и др. Роль и взаимодействие полиморфных вариантов аллельных генов KСNJ11, ADIPOQ, IТLN1, LEP, TCF7L2 и PPARG в увлечении риска развития сахарного диабета типа 2 в Кыргызской Республики. Молекулярная медицина. 2019; №4. – С. 34-45.
4. Миррахимов М.М., Мейманалиев Т.С. Разработать предложения по улучшению и совершенствованию воспитания здорового образа жизни среди населения Кыргызской ССР [Текст]: Заключительный отчет НИР. - Ф., 1990. - С. 12.
5. Нацстатком Кыргызской Республики. Уровень Жизни Населения Кыргызской Республики 2010-2014. Годовая публикация. - Бишкек, 2015. - С. 132.
6. Gable D.R., Hurel S.J. Humphries S.E. Adiponectin and its gene variants as risk factors for insulin resistance, the metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*. 2006; 188: 231-244.
7. Gupta V., Khadgawat R., Ng HKT, Walia GK, Kalla L, Rao VR, et al. Association of TCF7L2 and ADIPOQ with Body Mass Index, Waist-Hip Ratio, and Systolic Blood Pressure in an Endogamous Ethnic Group of India. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012; 16: 948-951
8. Kassim N.B., Huri H.Z., Vethakkan S.R., et al. Genetic polymorphisms associated with overweight and obesity in uncontrolled Type 2 diabetes mellitus. *Biomarkers in Medicine*. 2016; 10(4):403-15. doi: 10.2217/bmm-2015-0037.
9. World Health Organization (WHO). 10 facts about obesity. October 2017. P. 1-10.