

УДК 616.1+616-053.2

**АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ *FTO* И *TCF7L2*
С КАРДИОМЕТАБОЛИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ У ПОДРОСТКОВ СИБИРИ**

**Лариса Георгиевна ЗАВЬЯЛОВА¹, Диана Вахтанговна ДЕНИСОВА¹,
Галина Ильинична СИМОНОВА¹, Павел Сергеевич ОРЛОВ², Михаил Иванович ВОЕВОДА^{1,2}**

¹НИИ терапии СО РАМН
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

²Институт цитологии и генетики СО РАН
630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10

Для изучения ассоциации полиморфизмов генов *FTO* и *TCF7L2* в подростковой популяции Сибири с компонентами метаболического синдрома обследована репрезентативная выборка подростков г. Новосибирска 14–17 лет (667 человек). Тестировали однонуклеотидный полиморфизм генов *FTO* (rs9939609) и *TCF7L2* (rs7903146) с помощью ПЦР в реальном времени. Носительство генотипа АА гена *FTO* ассоциировалось с избыточной массой тела: отношение шансов (ОШ) = 2,56 (95%-й доверительный интервал (ДИ) 1,4–4,6). Отмечено значимо более низкое содержание инсулина в крови у носителей генотипа ТТ rs7903146. Таким образом, полиморфизмы rs9939609 и rs7903146 ассоциированы с рядом компонентов метаболического синдрома у подростков.

Ключевые слова: подростки, метаболический синдром, полиморфизм генов *FTO* и *TCF7L2*.

Проблема выявления групп риска развития метаболического синдрома (МС) среди детей и подростков очень актуальна в настоящее время. Метаболический синдром – это совокупность факторов риска развития кардиоваскулярной патологии и сахарного диабета 2-го типа (СД 2), включая абдоминальное ожирение, дислипидемию, нарушение толерантности к глюкозе и гипертензию. Каждый из компонентов, составляющих метаболический синдром, может быть обусловлен генетическими нарушениями. Имеются сообщения об ассоциации МС с полиморфизмом некоторых генов, продукты которых контролируют адипогенез, воспалительный процесс, углеводный и липидный метаболизм, но вклад их в возникновение инсулинорезистентности (ИР) и развитие МС требует дальнейшего изучения [1]. Известен ген к инсулиновым рецепторам, описано более 50 его мутаций. Выявлены гены, ассоциированные с ИР: β3-адренорецепторов белка, связывающего жирные кислоты, субстрата инсулиновых рецеп-

торов 1, фактора некроза опухоли-альфа и др. Гены *PPAG2*, *KCJ11* и продукты их экспрессии играют важную роль в углеводном гомеостазе, функциональном состоянии β-клеток поджелудочной железы, адипогенезе и дифференцировке клеток жировой ткани. Генетические различия в любом из этих генов могут изменять черты метаболического синдрома.

Наше исследование посвящено изучению относительно новых генов, ассоциированных с развитием компонентов метаболического синдрома: ген *FTO* (fat mass and obesity-associated) и ген *TCF7L2* (transcription factor 7-like 2).

Одним из наиболее распространенных компонентов МС является абдоминальное ожирение [2]. Исследования среди родственников и близнецов показали, что генетические факторы обуславливают развитие ожирения в 40–70 % случаев. *FTO*, ассоциированный с массой жира и ожирением, представляет собой очень крупный ген, 9 экзонов которого охватывают более 4000 т. п. н. хромосомы 16. Влияние гена *FTO*

Завьялова Л.Г. – к.м.н., ученый секретарь, e-mail: zavjalovalarisa@mail.ru

Денисова Д.В. – д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинко-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний, e-mail: denisovadiana@gmail.com

Симонова Г.И. – д.м.н., проф., зав. лабораторией клинко-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний, e-mail: gsimonova@iimed.ru

Орлов П.С. – аспирант, e-mail: orlovpavel86@gmail.com

Воевода М.И. – д.м.н., проф., член-корреспондент РАМН, директор, e-mail: mvoevoda@ya.ru,

на риск развития избыточной массы тела в детском возрасте показано в ряде исследований [3, 4]. Гомозиготы по «неблагоприятному» аллелю имеют массу на 3–4 кг больше и в 1,67 раза больший риск развития ожирения по сравнению с лицами, не унаследовавшими неблагоприятный аллель. Распространенность аллеля риска (А) гена *FTO* в европейской расе достаточно высока: около 63 % популяции имеют хотя бы один неблагоприятный аллель и 16 % являются гомозиготами по нему. Риск развития избыточной массы тела (ИМТ), связанный с полиморфизмом гена *FTO*, составляет около 13 %. Описанные риски указывают, какую распространенность ожирения или ИМТ можно предвидеть, зная индивидуальные генотипы по гену *FTO* [5].

Ген *TCF7L2* расположен на длинном плече хромосомы 10. Он играет важную роль в пролиферации, дифференцировании и росте различного рода клеток [6]. Взаимодействие ядерного рецептора *TCF7L2* с белками Wnt-сигнального рецептора является одним из регулирующих механизмов нескольких процессов: образования β -клеток поджелудочной железы из плюрипотентных стволовых клеток, глюкозостимулированной секреции инсулина, адипогенеза, дифференцировки клеток жировой ткани, метаболизма жиров и формирования чувства насыщения [7].

Мутации генов в сочетании с резистентностью к инсулину неодинаково проявляют себя в различных популяциях в зависимости от пола, возраста, этнической принадлежности их носителей; аллели и генотипы, преобладающие в одной популяции, могут оказаться минорными в других. Это указывает на несомненные специфические особенности отдельных популяций и делает проведение исследований для каждой популяционной группы уникальным и значимым [8].

Цель исследования – изучить частоты генотипов и аллелей полиморфных маркеров генов *FTO* и *TCF7L2* в подростковой популяции Сибири и оценить их ассоциации с компонентами метаболического синдрома.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Методологической основой данного исследования явилось использование стандартизованных эпидемиологических методов. В Октябрьском районе г. Новосибирска – типичного индустриального центра Западной Сибири – проведено одномоментное (кросс-секционное) популяционное исследование школьни-

ков 14–17 лет обоего пола. Из проживающих в обследуемом районе 7200 детей подросткового возраста к обследованию было намечено 700 учащихся (примерно 10 %), что обеспечивало репрезентативность выборки. Из 20 школ Октябрьского района методом случайных чисел отобрано 10 школ, единицей выборки был класс из параллели. В выбранных классах проводилось сплошное обследование школьников. Всего обследовано 667 человек, отклик составил 95 %. Проведение скрининга согласовано с местными органами здравоохранения и образования. Исследование соответствовало этическим стандартам и получило одобрение локального биоэтического комитета НИИ терапии СО РАМН. Родители подростков и сами подростки дали информированное согласие на участие в исследовании.

Программа исследования подростков включала опрос по стандартной анкете, измерение артериального давления (АД) дважды с интервалом 5 минут в положении сидя, на правой руке, ртутным сфигмоманометром с точностью до 2 мм рт. ст. Систолическое артериальное давление (САД) регистрировалось при появлении I тона Короткова (I фаза), диастолическое артериальное давление (ДАД) – при исчезновении тонов (V фаза Короткова), анализировалось среднее значение из двух измерений. Антропометрия включала измерение роста, массы тела, окружности талии (ОТ), окружности бедер (ОБ), толщину кожной складки (ТКС) на плече и под лопаткой. Рост измерялся в положении стоя без верхней одежды и обуви на стандартном ростомере с точностью до 0,5 см. Масса тела определялась на рычажных медицинских весах с точностью до 0,1 кг. Индекс массы тела (индекс Кетле, ИК) рассчитывался по формуле: $ИК = \frac{\text{масса (кг)}}{\text{рост}^2 (\text{м}^2)}$. ОТ измерялась сантиметровой лентой с точностью до ближайшего сантиметра. Измерение проводилось в положении стоя, точка измерения находилась на середине расстояния между вершиной гребня подвздошной кости и нижним боковым краем ребра. ОБ измерялась сантиметровой лентой с точностью до ближайшего сантиметра на уровне наибольшей окружности на уровне ягодиц. ТКС измеряли калипером Lange-Caliper (Англия), создающим давление в 10 г/мм², дважды в двух точках: в средней трети правого плеча над трицепсом при согнутой в локте руке (ТКС₁) и под нижним углом правой лопатки при опущенной вниз руке (ТКС₂), с точностью до 0,2 мм. Для расчета процента жировой массы тела (%ЖМТ) у подростков использовалась формула Т.Г. Лохмана: $3 \times (ТКС_1 + ТКС_2) - 0,013 \times (ТКС_1 + ТКС_2)^2 - 2,5$ [8].

Кровь для биохимических исследований забирали утром после 12-часового голодания вакутейнерами. Определение содержания общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ) и холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП) в сыворотке крови проводили на автоанализаторе Labsystems-901 (Финляндия) энзиматическими методами. Концентрации холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) получены расчетным путем по формуле Friedwald D.S. et al. при уровне ТГ < 400 мг/дл [9]. Уровень инсулина в сыворотке крови определялся иммуноферментным методом с использованием тест-систем «DRG» (Германия). В качестве стандартов использовали контрольные сыворотки с низким, средним и высоким содержанием инсулина. Окраску степени ферментативного превращения субстрата определяли измерением оптической плотности на ИФА-анализаторе Multiscane (Финляндия–Россия) при длине волны 450 нм. Уровень глюкозы в плазме крови определялся ферментативным методом наборами фирмы «Bioscop» (Германия) на анализаторе Labsystems-F-901 (Финляндия).

Гиперинсулинемия (ГИ) регистрировалась при уровне базального инсулина ≥ 15 мЕД/л [10, 11], гипергликемия натощак (ГГН) – при уровнях глюкозы $\geq 5,6$ ммоль/л [12]. ИР оценивалась посредством вычисления индекса НОМА (Homeostasis model assessment) = (концентрация инсулина (мкЕД/мл) \times концентрация глюкозы (ммоль/л))/22,5. Наличие ИР констатировалось при величине индекса НОМА > 3,7 – 90-я процентиль распределения индекса НОМА у девочек г. Новосибирска. У мальчиков 90-я процентиль распределения индекса НОМА составляла 4,7, во всей репрезентативной выборке подростков г. Новосибирска – 4,1. Мы использовали показатель 3,7, чтобы повысить чувствительность метода.

ИМТ и ожирение у подростков устанавливались на основании значений ИК, соответствующих возрастнo-половым критериям ИМТ и ожирения [13].

Геномную ДНК выделяли из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Полиморфизм генов тестировали с помощью ПЦР в реальном времени в соответствии с протоколом фирмы производителя (зонды TaqMan, Applied Biosystems, США) на приборе ABI 7900HT (США).

При проведении статистической обработки данных для исключения влияния переменной возраста на другие изучаемые переменные была проведена стандартизация их по возрасту. В связи с тем что в нашем исследовании часть пе-

ременных подчинялась нормальному распределению, а часть нет, для сравнения значений количественных показателей применялся U-тест Манна – Уитни. Значимость различий между группами по частотам аллелей и генотипов исследуемых полиморфизмов генов оценивали по критерию Стьюдента для сравнения долей и критерию χ^2 . Проверка гипотез проводилась для уровня вероятности 95 % ($p < 0,05$). Для оценки связей генетических маркеров (генотипа или аллеля) в развитии ИМТ и компонентов МС рассчитывали отношение шансов (ОШ). ОШ > 1 рассматривали как фактор риска.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Были оценены средние и медианные уровни антропометрических и биохимических показателей в популяционной выборке подростков. Характеристика группы представлена в табл. 1. Средние значения роста и массы тела у мальчиков были достоверно выше, чем у девочек, при этом средний уровень ИК был одинаков. Показатели ОТ, отношения ОТ к ОБ, уровни САД, средние уровни глюкозы крови были статистически значимо выше у мальчиков, в то время как ОБ, сумма толщины кожных складок на плече и под лопаткой, %ЖМТ – наоборот, ниже, чем у девочек. Показатели липидного обмена (содержание ОХС, ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП) имели достоверные гендерные различия, кроме уровней ТГ.

При изучении распространенности генотипов и аллелей гена *FTO* (rs9939609) выявлено, что у подростков более чем в половине случаев определялся гетерозиготный генотип АТ (53,3 %) и носительство аллеля Т (56,4 %). Подобная картина наблюдалась при оценке распространенности генотипов и аллелей гена *FTO* (rs9939609) в разных гендерных группах. Значимых различий в распространенности генотипов АА, АТ, ТТ и аллелей гена *FTO* (rs9939609) между мальчиками и девочками не получено (табл. 2). У подростков с гомозиготным генотипом АА достоверно выше, чем у лиц с генотипами АТ и ТТ, были уровни антропометрических показателей – массы тела, ИК, ОБ, %ЖМТ, и наблюдается подобная тенденция для величины ОТ (табл. 3). При анализе биохимических показателей определено, что у носителей генотипа АТ содержание ТГ в крови значимо увеличено по сравнению с подростками с другими генотипами (см. табл. 3). Изучение антропометрических показателей в зависимости от носительства генотипов в гендерных группах позволило установить, что у мальчиков с генотипом АА масса тела, ИК, ОТ, ОБ и сумма