

На правах рукописи

ИЕВЛЕВА
Ксения Дмитриевна

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА
И МЕХАНИЗМ ЕГО ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДЕТЕРМИНАЦИИ
У ПОДРОСТКОВ ДВУХ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУПП С ИЗБЫТОЧНОЙ
МАССОЙ ТЕЛА**

3.3.3 – Патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Иркутск – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (г. Иркутск)

Научный руководитель:

академик РАН,
доктор медицинских наук, профессор

Колесникова Любовь Ильинична

Научный консультант:

доктор медицинских наук

Баирова Татьяна Ананьевна

Официальные оппоненты:

Семинский Игорь Жанович – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, ректорат, проректор по научной работе; кафедра патологической физиологии и клинической лабораторной диагностики, заведующий

Груздева Ольга Викторовна – доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», лаборатория исследований гомеостаза, заведующая

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «__» _____ 202__ года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 24.1.187.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» по адресу: 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» по адресу: 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16 и на сайте <http://health-family.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 202__ года

Учёный секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук



Гребенкина Людмила Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Актуальность темы исследования

На современном этапе проблема высокой распространённости избыточной массы тела приняла глобальный масштаб (Mistry S. K. et al., 2011; ВОЗ, 2014; Mazidi M. et al., 2018). Особую насторожённость вызывает стремительный рост количества детей и подростков, страдающих избыточной массой тела и ожирением (Щербакова М. Ю. и др., 2012; ВОЗ, 2014). При этом известно, что более 80 % детей остаются больными ожирением в зрелом возрасте (Щербакова М. Ю. и др., 2012; ВОЗ, 2014; Туркина Т. И. и др., 2017).

Среди многочисленных факторов, способствующих развитию избыточной массы тела, выделяют генетическую предрасположенность, вклад которой составляет от 25 до 70 % от известных на данный момент рисков факторов (Razquin C. et al., 2011). В том числе гены энергетического обмена *LEP*, *LEPR*, *POMC*, *FTO*, *MC4R*, которые обеспечивают регуляцию катаболических и анаболических процессов в организме (Srivastava A. et al., 2007; Панкрушина А. Н. и др., 2008; Dardeno T. A. et al., 2010). Дисбаланс данных процессов приводит к избыточному накоплению жировой ткани (Панкрушина А.Н. и др., 2008).

За последние годы накоплено достаточное количество данных о противоречивости вклада однонуклеотидных замен данных генов в формирование избыточной массы тела (Романцова Т. И., 2011; Баирова Т. А. и др., 2017; Srivastava A. et al., 2007; Bouchard C., 2009; Choquet H. et al., 2011; Mendelson M. M. et al., 2017). Наличие данной противоречивости обусловлено в том числе гетерогенностью популяций, в которых проводились исследования, в том числе физиологическими особенностями различных этнических групп (Баирова Т. А. и др., 2005; O’Rahilly S. et al., 2006).

Известно, что уровень экспрессии и регуляция многих генов зависит от внешних факторов среды, в том числе от исторически сложившегося характера питания. Пищевой рацион популяции зависит, с одной стороны, от доступности пищевых ресурсов, культурных традиций и технологических достижений, с другой – от генетически детерминированной способности усваивать тот или иной тип пищи (Боринская С. А. и др., 2009). Наличие различий в рационе питания отражается на фенотипической реализации генетической информации (Боринская С. А. и др., 2009; Залесский В. Н. и др., 2006).

В условиях Сибири, региона умеренного и холодного климата, холодовой стресс определяет формирование животноводческого типа хозяйства, располагающего к высококалорийной диете с высоким удельным содержанием белков и жиров (Баирова Т. А. и др., 2013). Известно, что на фоне различных культурных и пищевых традиций у представителей данных этнических групп имеются различия в метаболических процессах, что может влиять на причины и механизмы развития избыточной массы тела у представителей русского и бурятского населения (Баирова Т. А. и др., 2005; Колесникова Л. И. и др., 2018).

В связи с этим, проблема изучения взаимосвязи избыточной массы тела и ожирения с полиморфными локусами генов энергетического обмена у подростков русской и бурятской этнической групп имеет высокую актуальность для обоснованного планирования лечебно-профилактических мероприятий, направленных на снижение риска ранней реализации метаболических нарушений у подростков с избыточной массой тела.

Степень разработанности темы

В последние годы оказывается достаточное внимание установлению факторов и механизмов развития избыточной массы тела. Основной причиной накопления жировой массы считается нарушение энергетического обмена, в результате которого происходит дисрегуляция катаболических и анаболических процессов в организме (Панкрушина А. Н. и др., 2008; Choquet H. et al., 2011; Boumaiza I. et al., 2012; Fan S. H. et al., 2014).

Лептин-меланокортиновый путь обеспечивает энергетический гомеостаз, нарушение которого ведет к избыточному накоплению преимущественно жировой массы (Boumaiza I. et al., 2012; Fan S. H. et al., 2014). Одним из факторов, способствующих данному нарушению, может быть носительство полиморфных генов энергетического обмена (Ragin C. C. et al., 2009; Zhao J. et al., 2011; Wang F. et al., 2012; Sahin S. et al., 2013; Xi B. et al., 2013; Hasnain S. et al., 2015).

Активно изучается вопрос генетической предрасположенности к избыточной массе тела и ожирению среди детей и подростков, так как до 90 % пациентов, страдающих избыточной массой тела или ожирением, имеют отягощённый анамнез по наследственности (Полубояринова И. В., 2008; Шенеман Е. А., 2018).

Имеющиеся на данный момент результаты исследований ассоциаций полиморфных локусов генов энергетического обмена с антропометрическими

и метаболическими параметрами, а также с рисками развития избыточной массы тела и ожирения многочисленны, но крайне противоречивы (Ragin C. C. et al., 2009; Zhao J. et al., 2011; Wang F. et al., 2012; Sahin S. et al., 2013; Xi B. et al., 2013; Hasnain S. et al., 2015), что может объясняться изучением различных возрастных и этнических групп (Рязанов А. С., 2003; Баирова Т. А. и др., 2005; Bouchard C., 2009; Fan S. H. et al., 2014).

Цель исследования

Установить закономерности изменений энергетического обмена и патогенетическую значимость полиморфных локусов генов, детерминирующих его регуляцию, у подростков двух этнических групп с избыточной массой тела для идентификации критериев риска развития метаболических нарушений на фоне избыточной массы тела.

Задачи исследования

1. Оценить клинико-метаболический статус у подростков двух этнических групп с избыточной массой тела.

2. Охарактеризовать генетическое разнообразие и дифференциацию по полиморфизмам генов энергетического обмена *FTO rs9939609*, *FTO rs1421085*, *FTO rs8050136*, *LEPR rs1137101*, *LEPR rs1137100*, *LEP rs2167270*, *LEP rs7799039*, *MC4R rs17782313*, *POMC rs1042571*, включая их генотипические комбинации и гаплотипы в выборках подростков двух этнических групп с нормальной массой тела и с избыточной массой тела.

3. Определить особенности ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) генов энергетического обмена с патогенетически значимыми для избыточной массы тела количественными антропометрическими и метаболическими параметрами у подростков двух этнических групп с избыточной массой тела.

4. Оценить общность и специфичность ассоциации генетической компоненты энергетического обмена с избыточной массой тела у подростков двух этнических групп.

5. Выявить и охарактеризовать критерии риска развития метаболических нарушений у подростков двух этнических групп с избыточной массой тела.

Научная новизна

Впервые получены данные сравнительного анализа метаболических показателей и генетических маркеров энергетического обмена у подростков русской и бурятской этнических групп с нормальной и с избыточной массой тела.

Выявлена гиперлептинемия у девочек подросткового возраста обеих этнических групп с нормальной массой тела. Определено наличие однонаправленных метаболических изменений у девочек с избыточной массой тела и ожирением в сравнении с мальчиками, выражающихся в наличии гиперинсулинемии и инсулинорезистентности. Доказана высокая информативность индекса объём талии/рост в отношении наличия гиперлептинемии и гиперинсулинемии у подростков обеих этнических групп.

Впервые установлена распространённость аллелей полиморфных локусов генов энергетического обмена в выборках подростков двух этнических групп, проживающих на территории Восточной Сибири – русских и бурят.

Проведён анализ ассоциаций метаболических и генетических факторов с наличием избыточной массы тела и ожирением, а также установлены этноспецифические генетические факторы, значимо ассоциированные с изменением антропометрических и метаболических параметров, а также с наличием избыточной массы тела и ожирением в выборках подростков двух этнических групп.

При помощи методов биоинформационного анализа межгенного взаимодействия выявлен вклад полиморфизмов генов энергетического обмена и их сочетаний в развитие избыточной массы тела и ассоциированных с ней метаболических изменений.

Теоретическая и практическая значимость работы

Сформулированные новые представления о закономерностях межгенных взаимодействий генетических факторов в отношении избыточной массы тела служат важным звеном в изучении механизмов становления и развития избыточной массы тела у подростков различных этнических групп.

Полученные результаты позволяют выявлять среди подростков группы риска развития избыточной массы тела, опираясь не только на клинические данные, но и на этническую принадлежность пациента для профилактики и ранней диагностики данного состояния.

Методология и методы исследования

Методология научного исследования основана на результатах ранее опубликованных научных работ, посвящённых изучению метаболических особенностей подростков с избыточной массой тела и ожирением, а также анализу вклада генетических факторов в развитие данных состояний.

Для решения поставленных задач проведён комплекс антропометрических и лабораторных (биохимических, гормональных, молекулярно-генетических) исследований. Результаты исследования проанализированы с использованием современных статистических методов непараметрического анализа, а также с использованием специализированной программы для определения межгенных взаимодействий Multifactor Dimensionality Reduction (MDR).

Положения, выносимые на защиту

1. У подростков с избыточной массой тела и ожирением вне зависимости от пола и этнической принадлежности регистрируется базальная гиперлептинемия, которая более выражена у девочек. Формирование избыточной массы тела и ожирения у девочек в сравнении с мальчиками сопровождается более ранними проявлениями нарушений углеводного обмена в виде гиперинсулинемии и инсулинорезистентности.

2. Структура предрасположенности к избыточному накоплению массы тела по системе полиморфных вариантов генов, вовлечённых в энергетический обмен этнодифференцирована: для подростков-европеоидов рисковыми являются полиморфные локусы *LEPR rs1137101*, *LEPR rs1137100* и *MC4R rs17782313*, для монголоидов – *FTO rs9939609* и *FTO rs8050136*.

3. Маркерами риска реализации нарушений углеводного и энергетического обменов на фоне избыточной массы тела и ожирения у подростков-европеоидов является носительство аллелей полиморфных локусов *LEPR rs1137101*, *LEPR rs1137100*, *MC4R rs17782313* и *POMC rs1042571*, у подростков-монголоидов – носительство аллелей *FTO rs9939609* и *FTO rs8050136*.

Степень достоверности результатов

Степень достоверности результатов исследования подтверждается достаточным объёмом выборки (354 подростка), использованием широкого спектра современных клинических и лабораторных методов, а также методов статистической обработки результатов.

Апробация результатов диссертации

Результаты диссертационной работы представлены на следующих конференциях: II Межрегиональная научно-практическая конференция молодых учёных «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 2016), 10-я

Международная конференция по детскому ожирению и питанию (10th International Conference on Childhood Obesity and Nutrition, Италия, 2017), Международная конференция молодых учёных «Молодые учёные: науки о жизни и зелёные технологии» (Форум Байкал, Байкал, 2017), Международный конгресс EuroPrevent-2018 (Любляна, Словения, 2018), Научно-практическая конференция, посвящённая 20-летию объединения Иркутского института травматологии и ортопедии и Иркутского института хирургии, VI научно-практическая конференция молодых учёных Сибирского и Дальневосточного федеральных округов (Иркутск, 2018), III Всероссийская конференция молодых учёных «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 2018), XXIII Конгресс педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (Москва, 5–7 марта 2021).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, из них 2 работы – в журналах, рекомендованных ВАК для публикаций основных результатов диссертационных работ на соискание учёной степени кандидата наук по специальности «Патологическая физиология (медицинские науки)», 7 работ в отечественных и зарубежных журналах, индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus.

Внедрение результатов работы

Выводы, сформулированные в диссертации, внедрены в клиническую практику Клиники ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (г. Иркутск) и ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница» Министерства здравоохранения Республики Бурятия (г. Улан-Удэ). Полученные научные данные внедрены в учебный процесс на кафедре патологической физиологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России; кафедре поликлинической и неотложной педиатрии с курсом ИПО ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Личный вклад автора

Личный вклад автора заключается в разработке дизайна диссертационной работы, ведении базы данных обследуемых, проведении молекулярно-генетических

исследований, последующем анализе полученных данных с использованием статистических и биоинформационных методов обработки результатов. Автором сформулированы цели и задачи диссертации, написаны все главы научной работы. Автор участвовал в написании всех публикаций по теме диссертационной работы.

Работа выполнена на базе ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» в рамках государственной бюджетной темы № 0542-2014-0002 «Кардиометаболические нарушения у детей и подростков как патогенетическая основа формирования высокого кардиоваскулярного риска».

Объём и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 138 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3 глав («Обзор литературы», глава «Материалы и методы», глава «Результаты и обсуждение»), заключения, выводов, списка сокращений и списка использованной литературы, включающего 59 отечественных и 165 зарубежных источников, а также 4 приложений. В работе содержится 13 таблиц и 13 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Настоящее исследование поперечное, наблюдательное, случай-контроль. Проведено на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», на территории Республики Бурятия и Иркутской области.

Всего в исследование включено 354 подростка европеоидной (на примере русской этнической группы) и монголоидной (на примере бурятской этнической группы) рас в возрасте от 13 до 18 лет. Критериями включения служили: информированное согласие родителей (в случае возраста обследуемого меньше 14 лет) или информированное согласие обследуемого (в случае возраста обследуемого 14 лет и старше); SDS ИМТ от -1 до $+1$ для контрольной группы и SDS ИМТ от $+1$ для основной группы: от $+1,0$ до $+2,0$ SDS ИМТ для верификации избыточной массы тела и более $+2,0$ SDS ИМТ – для ожирения (Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению ожирения у детей и подростков, 2013).

В исследование не включались подростки по следующим критериям: иная этническая/расовая принадлежность, SDS ИМТ менее -1 , наличие тяжёлых нарушений гормонального статуса (избыток глюкокортикоидов, гипотиреоз, гипопитуитаризм, гипогонадизм), наличие избыточной массы тела/ожирения синдромального генеза (синдром Прадера – Вилли, синдром Дауна, синдром Олбрайта и др.), избыточная масса тела/ожирение, обусловленные приёмом лекарственных препаратов (глюкокортикоиды, антидепрессанты и др.), отсутствие информированного согласия. Этническую группу присваивали на основе опроса обследуемых об этнической принадлежности родственников I–III степени родства. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (протокол заседания № 6 от 02.12.2015 г.).

По результатам опроса и антропометрического исследования все обследуемые разделены на 4 группы, характеристика которых представлена в таблице 1.

Методы исследования

Антропометрические методы включали в себя измерение роста, веса и обхватных параметров (объём талии (ОТ), объём бёдер (ОБ)). Рост и вес оценивались по перцентильным таблицам Cole et al. (2000) для данного пола и возраста с последующим расчётом индекса массы тела (ИМТ) как отношения массы тела в килограммах к квадрату роста человека, выраженному в метрах, и коэффициента стандартного отклонения (SDS ИМТ) с помощью компьютерной программы Auxology 1.0 b17 (Pfizer, США). Масса тела классифицировалась как избыточная в случаях значения SDS ИМТ от 1 до 2, ожирение диагностировали при SDS ИМТ > 2 . Для значений ОТ и ОБ рассчитывались значения перцентилей для соответствующего возраста и пола, а также вычислялось отношение ОТ/рост с использованием специализированной программы Ped(z) (Германия).

Лабораторные методы. Для определения биохимических и гормональных параметров у каждого подростка утром натощак забирали кровь из локтевой вены в вакуумную пробирку без наполнителя (для биохимического исследования) и в пробирку с гелем (для гормонального исследования). Пробирки центрифугировали при 3000 об/мин в течение 5 минут для получения сыворотки.

Биохимический анализ уровня глюкозы и гликированного гемоглобина проводили на биохимическом анализаторе «Shenzen» (Mindray BioMedical Electronics Co., Ltd., КНР).

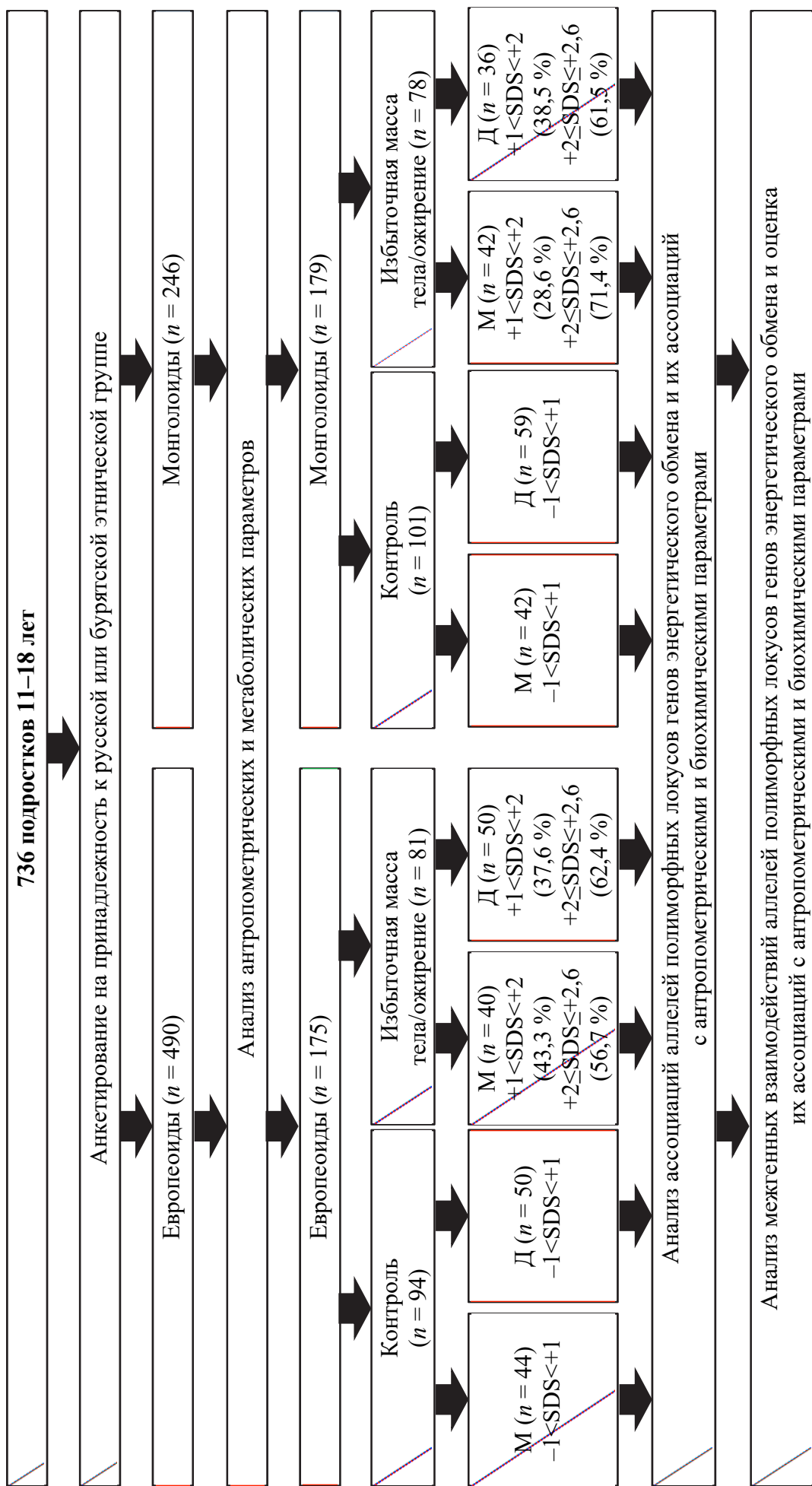


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Таблица 1 – Характеристика исследуемых групп подростков

Показатель	Европейцы (N = 175)		Монголоиды (N = 179)		p
	Контроль (n = 94)	Основная (n = 81)	Контроль (n = 101)	Основная (n = 78)	
	1	2	3	4	
Пол (м/д)	44/50	40/41	42/59	42/36	$p_{1-3} = 0,463$ $p_{2-4} = 0,574$
<i>p</i>	0,851		0,140		
Возраст (лет)	15,0 (15,0; 16,0)	15,0 (14,0; 16,0)	15,0 (13,0; 16,0)	14,0 (13,0; 15,0)	
Девочки	15,0 (15,0; 16,0)	15,0 (14,0; 16,0)	15,0 (14,0; 16,0)	15,0 (14,0; 16,0)	
Мальчики	15,0 (14,0; 16,0)	15,0 (14,0; 17,0)	15,0 (14,0; 16,0)	14,0 (13,0; 17,0)	$p_{1-3} = 0,125$ $p_{2-4} = 0,082$
<i>p</i>	0,061 ($p_M = 0,407$; $p_D = 0,419$) $p_{M-D}(K) = 0,255$; $p_{M-D}(O) = 0,101$		0,515 ($p_M = 0,407$; $p_D = 0,420$) $p_{M-D}(K) = 0,139$; $p_{M-D}(O) = 0,602$		
Вес, кг	56,0 (50,0; 62,0)	77,0 (72,0; 86,0)	51,0 (47,0; 57,9)	76,0 (71,0; 85,0)	
Девочки	55,0 (50,0; 59,8)	76,0 (70,8; 82,3)	50,6 (48,0; 56,0)	73,0 (68,1; 78,0)	$p_{1-3} < 0,001$
Мальчики	62,0 (53,0; 68,5)	80,0 (72,5; 96,0)	59,0 (50,0; 61,9)	79,0 (46,0; 120,0)	$p_{M1-3} = 0,047$ $p_{D1-3} = 0,012$
<i>p</i>	$< 0,001$ ($p_M < 0,001$; $p_D < 0,001$) $p_{M-D}(K) = 0,002$; $p_{M-D}(O) = 0,050$		$< 0,001$ ($p_M < 0,001$; $p_D < 0,001$) $p_{M-D}(K) < 0,001$; $p_{M-D}(O) < 0,001$		
ИМТ	20,8 (19,3; 22,0)	28,4 (26,1; 31,1)	19,7 (18,9; 20,8)	28,7 (27,0; 30,4)	
Девочки	20,7 (19,5; 22,0)	28,3 (25,8; 31,3)	20,0 (19,1; 20,9)	28,8 (26,6; 31,0)	$p_{1-3} = 0,0002$
Мальчики	20,8 (19,2; 22,0)	28,4 (27,9; 30,4)	19,8 (19,2; 20,6)	28,5 (18,0; 35,8)	$p_{M1-3} = 0,031$ $p_{D1-3} = 0,059$
<i>p</i>	$< 0,001$ ($p_M < 0,001$; $p_D < 0,001$) $p_{M-D}(K) = 0,842$; $p_{M-D}(O) = 0,531$		$< 0,001$ ($p_M < 0,001$; $p_D < 0,001$) $p_{M-D}(K) = 0,647$; $p_{M-D}(O) = 0,959$		
SDS ИМТ	0,270 (-0,370; 0,710)	2,296 (1,735; 2,630)	-0,050 (-0,046; 0,310)	2,250 (2,000; 2,500)	
Девочки	0,280 (-0,460; 0,750)	2,270 (1,710; 2,635)	0,000 (-0,410; 0,310)	2,230 (1,990; 2,500)	$p_{1-3} = 0,007$
Мальчики	0,260 (-0,080; 0,640)	2,320 (1,850; 2,600)	-0,170 (-0,540; 0,210)	2,250 (1,420; 3,000)	$p_{M1-3} = 0,002$ $p_{D1-3} = 0,100$
<i>p</i>	$< 0,001$ ($p_M < 0,001$; $p_D < 0,001$) $p_{M-D}(K) = 0,850$; $p_{M-D}(O) = 0,925$		$< 0,001$ ($p_M < 0,001$; $p_D < 0,001$) $p_{M-D}(K) = 0,398$; $p_{M-D}(O) = 0,500$		

Уровни инсулина и лептина в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием наборов реактивов INSULIN ELISA kit и LEPTIN ELISA kit (DBC, Канада) с детекцией на микропланшетном фотометре MultiSkan ELX808 (Biotek, США).

Для оценки наличия инсулинорезистентности проводился расчёт коэффициента НОМА-IR согласно формуле: $\text{НОМА-IR} = (\text{Инсулин мкМЕ/мл} \times \text{Глюкоза крови}) / 22,5$.

Молекулярно-генетические методы. Выделение геномной ДНК проводили из цельной венозной крови, забранной в вакуэты объёмом 4,0 мл с ЭДТА (КЗЕДТА) с использованием коммерческих наборов «АмплиПрайм ДНК Сорб-Б» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, РФ), согласно инструкции производителя.

Носительство аллелей полиморфных локусов *LEP rs2167270*, *LEP rs7799039*, *LEPR rs1137101*, *MC4R rs17782313*, *POMC rs1042571*, *FTO rs1421085* и *FTO rs8050136* определяли ПЦР-методом с флуоресцентной детекцией (FLASH) с использованием набора реактивов фирмы «Тест Ген», содержащим аллель специфические праймеры с флуоресцирующим красителем отдельно для каждого полиморфного варианта. Носительство полиморфных локусов *LEPR rs1137101*, *FTO rs993609* определяли методом ПЦР с аллель специфическими праймерами и электрофоретической детекцией продуктов реакции с использованием набора реактивов «SNP-ЭКСПРЕСС» фирмы «Литех» (Россия).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием программного обеспечения «Statistica 8.0» (StatSoft Inc., США). Количественные признаки представлены в виде медианы с размахом Me (25 %; 75 %). Сравнительный анализ исследуемых групп по клинико-метаболическим параметрам, а также анализ их ассоциаций с генетическими характеристиками, производился с использованием непараметрических критериев Краскела – Уоллиса и Манна – Уитни. Анализ распределения частот исследуемых полиморфных локусов осуществлялся при помощи критерия χ -квадрат с поправкой Йетса. Для комплексной оценки взаимосвязи антропометрических и метаболических параметров с носительством полиморфных локусов энергетического обмена использовался факторный дисперсионный анализ (ANOVA). Критический уровень значимости принимали за 5 % (0,05).

Биоинформативный метод мультифакторного моделирования геномных взаимодействий (Multifactor Dimensionally Reduction или MDR) использовали для оценки межгенных взаимодействий полиморфных вариантов исследуемых генов.

Таблица 2 – Сравнительный анализ показателей углеводного и энергетического обменов в исследуемых группах подростков двух этнических групп

Показатель	Контроль (N = 94)		Основная (N = 81)		P
	Девочки (n = 44)		Девочки (n = 40)		
	1	2	3	4	
Европеоиды					
Глюкоза, ммоль/л	4,8 (4,5; 5,2)	5,2 (4,9; 5,3)	4,8 (4,4; 5,1)	5,0 (4,7; 5,4)	$p_{1-3} = 0,277$ $p_{2-4} = 0,378$
<i>p</i>	0,013		0,199		
HbA1c, %	4,8 (4,2; 5,2)	5,0 (4,7; 5,4)	5,0 (4,8; 5,5)	5,0 (4,5; 5,2)	$p_{1-3} = 0,012$ $p_{2-4} = 0,887$
<i>p</i>	0,119		0,611		
Лептин, нг/мл	16,5 (12,3; 24,7)	2,2 (1,3; 5,3)	37,4 (26,1; 61,3)	20,4 (8,3; 38,3)	$p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$
<i>p</i>	< 0,001		0,003		
ИН, мкМЕ/мл	11,2 (7,7; 15,2)	10,5 (5,7; 12,3)	15,5 (11,5; 22,4)	13,5 (9,0; 19,3)	$p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-4} = 0,088$
<i>p</i>	0,351		0,238		
НОМА-IR	2,10 (1,60; 3,00)	2,00 (1,30; 2,73)	3,40 (2,40; 4,50)	3,3 (2,1; 3,5)	$p_{1-3} = 0,001$ $p_{2-4} = 0,114$
<i>p</i>	0,407		0,984		
Монголоиды					
Глюкоза, ммоль/л	4,9 (4,6; 5,2)	5,2 (4,7; 5,5)	5,1 (4,7; 5,7)	5,1 (4,6; 5,8)	$p_{1-3} = 0,512$ $p_{2-4} = 0,379$
<i>p</i>	0,042		0,693		
HbA1c, %	5,1 (4,2; 5,4)	5,0 (4,1; 5,4)	5,2 (4,5; 6,0)	5,2 (3,9; 6,3)	$p_{1-3} = 0,205$ $p_{2-4} = 0,887$
<i>p</i>	0,491		0,764		
Лептин, нг/мл	17,1 (7,5; 22,1)	1,9 (1,3; 3,8)	34,2 (30,2; 77,0)	18,0 (12,7; 30,3)	$p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$
<i>p</i>	< 0,001		0,018		
ИН, мкМЕ/мл	11,2 (9,2; 12,6)	9,3 (6,0; 10,4)	17,5 (10,8; 23,2)	12,1 (8,0; 18,3)	$p_{1-3} = 0,023$ $p_{2-4} = 0,088$
<i>p</i>	0,022		0,269		
НОМА-IR	1,93 (1,64; 2,58)	1,52 (0,90; 2,34)	3,48 (2,79; 5,73)	2,74 (1,68; 3,76)	$p_{1-3} = 0,008$ $p_{2-4} = 0,113$
<i>p</i>	0,023		0,162		

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Антропометрические и метаболические особенности подростков двух этнических групп с избыточной массой тела

Результаты анализа показателей углеводного и энергетического обмена подростков двух этнических групп представлены в Таблице 2.

Одним из критериев метаболического синдрома у подростков является абдоминальное ожирение – значение ОТ выше 90-го перцентиля для соответствующего пола и возраста (Cook S. et al., 2003; Weiss R. et al., 2004). При этом в последние годы значительный интерес уделяется прогностической ценности индекса ОТ/рост (Mushtaq M. U. et al., 2011; Kuba V. M. et al., 2013; Vasopoulou F. et al., 2015). Взаимосвязи данных показателей с уровнями инсулина и лептина в изученных этнических выборках представлены на рисунках 2 и 3.

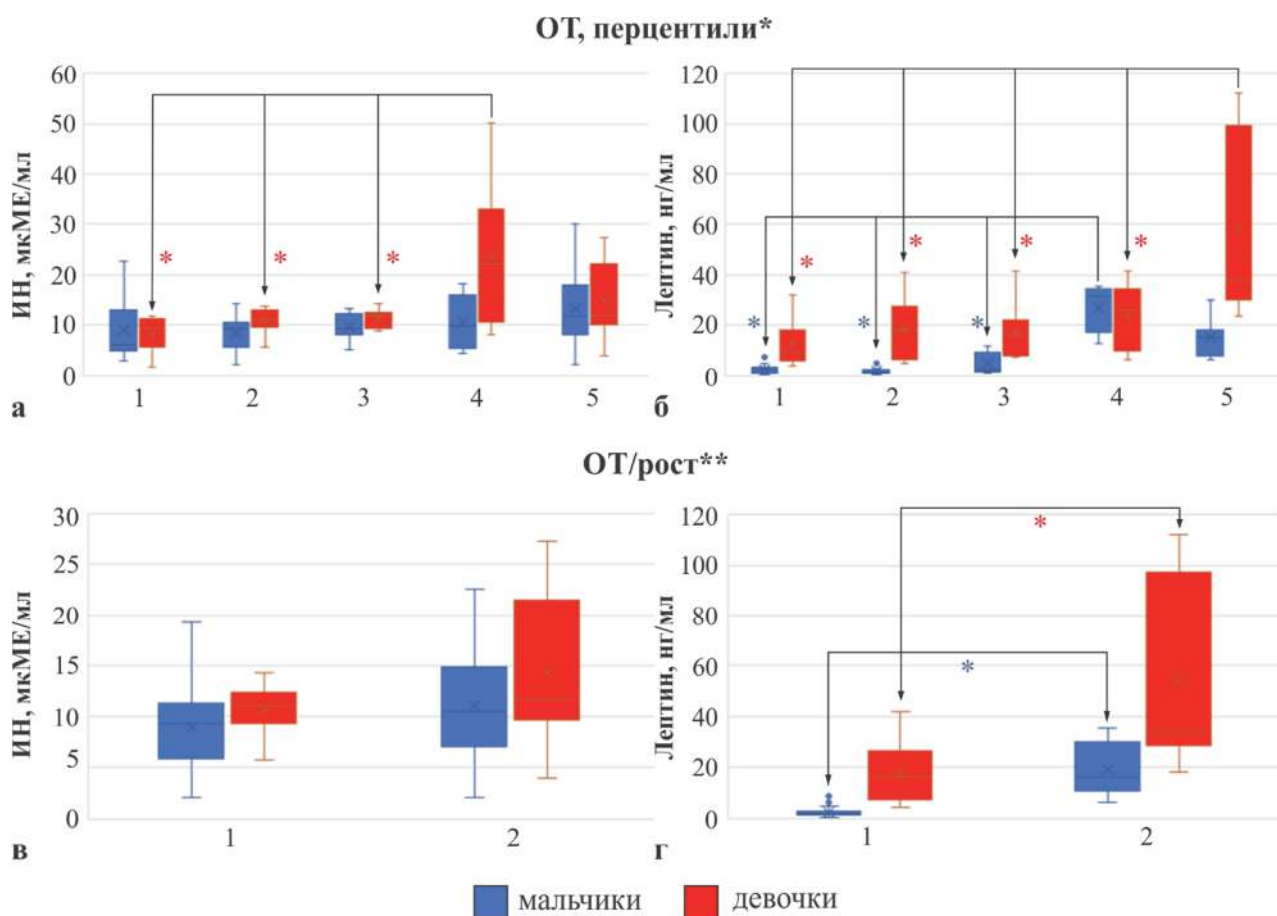


Рисунок 3 – Уровни инсулина и лептина у подростков-монголоидов в зависимости от значений ОТ (перцентили) и ОТ/рост: *1 – 0–25-й перцентили; 2 – 26–50-й перцентили; 3 – 51–75-й перцентили; 4 – 76–90-й перцентили; 5 – > 90-го перцентил; **1 – ОТ/рост < 0,5; 2 – ОТ/рост \geq 0,5

В выборке подростков-европеоидов показано, что у девочек повышение ОТ выше 90-го перцентиля сопровождается статистически значимым изменением уровня лептина в сыворотке крови в сравнении с девочками с ОТ 0–25 ‰ ($p_{1-5} < 0,001$) и в сравнении с девочками с ОТ 26–50 ‰ ($p_{2-5} < 0,001$). При сопоставлении индекса ОТ/рост с уровнями инсулина и лептина нами показано, что у девочек, имеющих ОТ/рост $> 0,5$, как уровень лептина, так и уровень инсулина выше, чем у девочек, имеющих ОТ/рост $< 0,5$ ($p = 0,004$; $p = 0,005$). Указанная закономерность регистрируются при анализе уровня лептина у мальчиков ($p = 0,04$).

Для выборки подростков-монголоидов показано, что значения перцентилей ОТ выше 90-го у девочек ($p_{1-5} = 0,0002$; $p_{2-5} = 0,0002$; $p_{3-5} = 0,0002$; $p_{4-5} = 0,003$) и выше 75-го перцентиля у мальчиков ($p_{1-4} = 0,0004$; $p_{2-4} = 0,0009$; $p_{3-4} = 0,002$) сопровождается выраженной гиперлептинемией. При сравнении показателей ОТ/рост с уровнем лептина выявлено, что у подростков обоих полов наблюдаются значимо более высокие уровни лептина при значениях ОТ/рост $> 0,5$ (девочки – $p = 0,049$; мальчики – $p = 0,001$). Для девочек-монголоидов регистрируется повышенный уровень инсулина при значениях перцентилей ОТ выше 75-го ($p_{1-4} = 0,013$; $p_{2-4} = 0,014$; $p_{3-4} = 0,033$).

Анализ межгенных взаимодействий полиморфизмов генов энергетического обмена и их ассоциации с антропометрическими и метаболическими параметрами у подростков двух этнических групп с избыточной массой тела

Выявлено, что для подростков-европеоидов максимальной энтропией в отношении избыточной массы тела и ожирения обладают пары полиморфных локусов: *LEPR rs1137101 (A/G) + LEPR rs1137100 (A/G)* (5,69 ‰), *LEPR rs1137100 (A/G) + MC4R rs17782313 (T/C)* (5,48 ‰) и *FTO rs9939609 (A/T) + LEPR rs1137101 (A/G)* (5,44 ‰), тогда как для подростков-монголоидов это пары полиморфных локусов: *FTO rs9939609(A/T) + FTO rs1421085 (T/C)* (5,56 ‰) и *FTO rs9939609(A/T) + FTO rs8050136 (C/A)* (5,13 ‰) (Рисунок 4).

Значимые модели ассоциаций представленных пар полиморфных локусов с антропометрическими и метаболическими параметрами подростков изучаемых этнических выборок представлены в таблице 3.

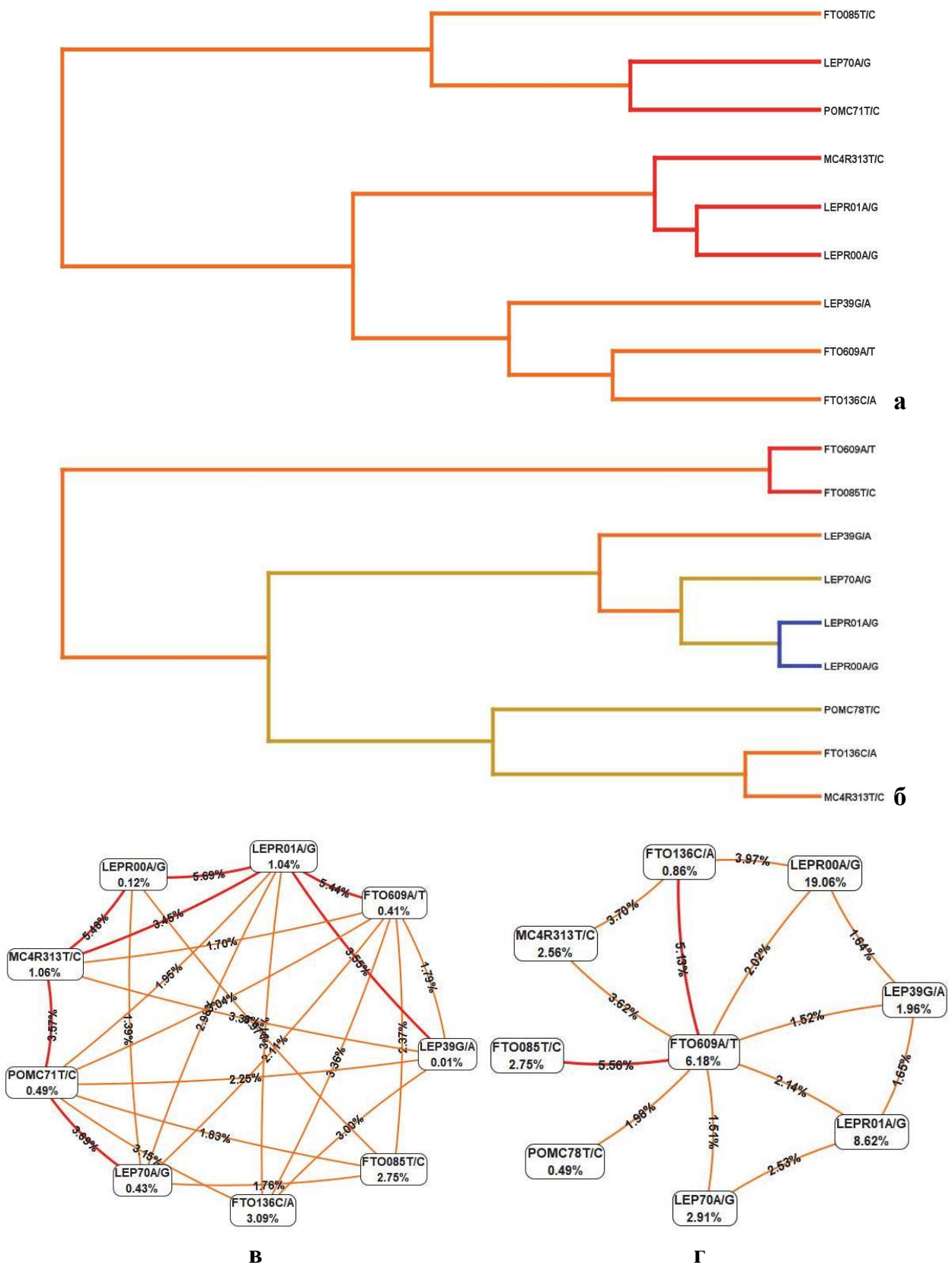


Рисунок 4 – Дендрограммы и графики энтропии межгенных взаимодействий генов энергетического обмена в исследуемых выборках подростков:
 а – дендрограмма межгенных взаимодействий у подростков-европеоидов;
 б – дендрограмма межгенных взаимодействий у подростков-монголоидов;
 в, г – графики энтропии межгенных взаимодействий у график энтропии у подростков-европеоидов (в) и подростков-монголоидов (г)

Таблица 3 – Значимые модели влияния совместного носительства локусов полиморфизмов генов энергетического обмена на антропометрические и биохимические показатели в исследуемых этнических выборках

Модель		R	F	p
Зависимый параметр	Предикторы			
Европеоиды				
SDS ИМТ	<i>LEPR rs1137100 + LEPR rs1137101</i>	0,256	11,99	0,001
	<i>LEPR rs1137100 + MC4R rs17782313</i>	0,240	8,01	0,005
Лептин	<i>LEPR rs1137100 + MC4R rs17782313</i>	0,347	16,40	< 0,001
Инсулин	<i>LEPR rs1137100 + MC4R rs17782313</i>	0,255	8,38	0,004
НОМА-IR	<i>MC4R rs17782313 + POMC rs1042571</i>	0,496	32,1	< 0,001
Монголоиды				
Лептин	<i>FTO rs9939609 + FTO rs8050136</i>	0,298	6,35	0,014
Инсулин	<i>FTO rs9939609 + FTO rs8050136</i>	0,268	5,10	0,028

Выявлено, что в выборке подростков-европеоидов значимыми в отношении риска избыточной массы тела (увеличении SDS ИМТ) являются пары полиморфных локусов *LEPR rs1137100 + LEPR rs1137101* и *LEPR rs1137100 + MC4R rs17782313*, тогда рисковыми факторами в отношении нарушений углеводного и энергетического обменов является носительство пар полиморфных локусов *LEPR rs1137100 + MC4R rs17782313* и *MC4R rs17782313 + POMC rs1042571*. Для подростков-монголоидов значимым в отношении риска метаболических нарушений является носительство гаплотипа гена *FTO rs9939609 + rs8050136*.

Таким образом, вклад полиморфных локусов генов энергетического обмена в вариативность антропометрических и метаболических параметров подростков европеоидов и монголоидов этнодифференцирован и носит слабый характер, что объясняется многофакторностью становления и развития избыточной массы тела и ожирения.

Разработка концептуальной схемы генетической детерминации избыточной массы тела и метаболических нарушений у подростков двух этнических групп

Универсальным клиническим критерием риска нарушений энергетического обмена у подростков вне зависимости от этнической принадлежности является значение индекса ОТ/рост выше 0,5, которое значимо ассоциировано

с гиперлептинемией. Для подростков-европеоидов повышение индекса ОТ/рост выше 0,5 может служить критерием наличия нарушения углеводного обмена в виде гиперинсулинемии (Рисунок 5).

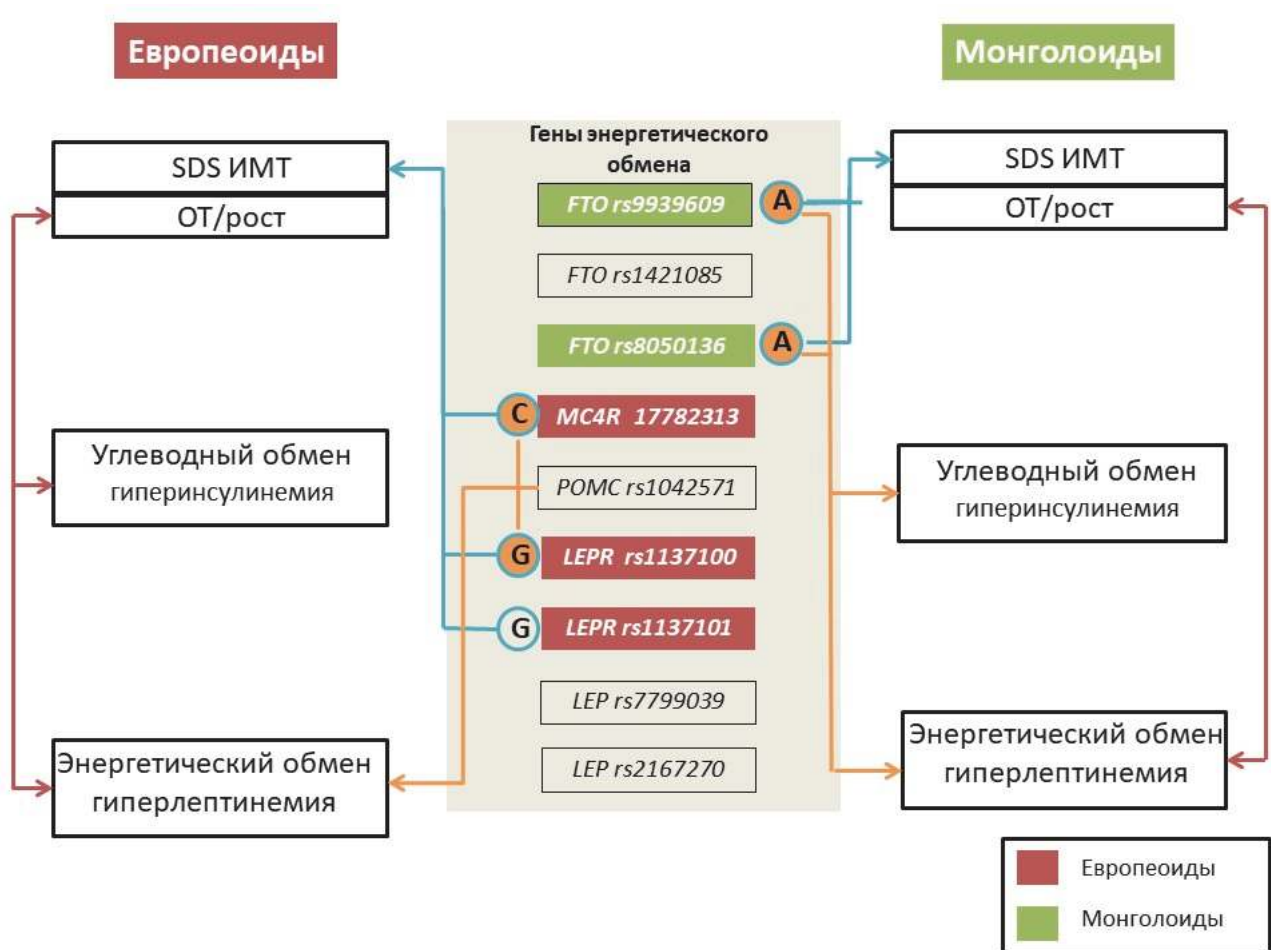


Рисунок 5 – Схема генетической детерминации избыточной массы тела и метаболических нарушений у подростков двух этнических групп

Специфическими генетическими маркерами риска избыточной массы тела и ожирения и связанных с ними метаболических изменений у подростков-европеоидов является носительство полиморфных локусов *MC4R rs17782313*, *LEPR rs1137101*, *LEPR rs1137100*; у подростков монголоидов – носительство *гантомана rs9939609* + *rs8050136* гена *FTO*.

Таким образом, благодаря проведенному комплексному исследованию нами определены универсальные и этноспецифические, клинические и генетические факторы риска избыточной массы тела и ожирения у подростков двух этнических групп: европейцев и монголоидов.

ВЫВОДЫ

1. У девочек подросткового возраста с нормальной массой тела уровень лептина в сыворотке крови превышает референсные значения вне зависимости от этнической принадлежности: европеоиды – 16,5 (12,3;24,7) нг/мл, монголоиды – 17,1 (7,5;22,1) нг/мл. У мальчиков с нормальной массой тела уровень лептина находится в пределах референсных значений: европеоиды 2,2 (1,3;5,3) нг/мл, монголоиды – 1,9 (1,3;3,8) нг/мл.

2. В выборках группы контроля уровень глюкозы натощак выше у мальчиков в сравнении с девочками вне зависимости от этнической принадлежности: европеоиды – 5,2 (4,9;5,3) ммоль/л у мальчиков против 4,8 (4,5;5,2) ммоль/л у девочек; монголоиды – 5,2 (4,7;5,5) ммоль/л у мальчиков против 4,9 (4,6;5,2) ммоль/л у девочек.

3. У подростков с избыточной массой тела и ожирением регистрируется гиперлептинемия вне зависимости от пола и этнической принадлежности: мальчики-европеоиды – 20,4 (8,3;38,3) нг/мл, девочки-европеоиды – 37,4 (26,1;61,3) нг/мл; мальчики-монголоиды – 18,0 (12,7;30,3) нг/мл, девочки – 34,2 (30,2;77,0) нг/мл. Формирование ожирения у девочек сопровождается более ранними проявлениями нарушений углеводного обмена в виде гиперинсулинемии, повышения уровня гликированного гемоглобина и инсулинорезистентности в сравнении с мальчиками.

4. У подростков-европеоидов наблюдается значимая взаимосвязь индекса ОТ/рост с нарушениями углеводного обмена (у мальчиков значимое повышение индекса НОМА-IR; у девочек – повышение уровня глюкозы и инсулина).

5. Сравнительная оценка антропометрических параметров (ОТ, ОТ/рост) с изучаемыми показателями углеводного и энергетического обмена свидетельствует о высокой информативности ОТ/рост у подростков в отношении гиперлептинемии, что позволяет рассматривать значение данного показателя более 0,5 как универсальный маркер нарушений энергетического обмена у подростков вне зависимости от пола и этнической принадлежности.

6. Анализ частотных характеристик показывает значимое повышение частоты аллелей локуса *FTO rs1421085* у подростков-европеоидов и повышение частоты аллелей полиморфизмов *FTO rs9939609*, *LEPR rs1137101* и *LEPR rs1137100* у подростков-монголоидов в группах с избыточной массой тела и ожирением.

7. Характер и сила взаимодействия изучаемых комбинаций полиморфных локусов, ассоциированных с развитием избыточной массы тела и ожирения у подростков европеоидной и монголоидной рас дифференцирована. В выборке европеоидов синергичный эффект установлен для локусов *LEPR rs1137101* и *LEPR rs1137100* (величина энтропии = 5,69 %). В выборке подростков-монголоидов синергичный эффект установлен для локусов *FTO rs1421085* и *FTO rs8050136* (величина энтропии = 5,56 %). При этом, если для локусов *LEPR rs1137101* и *LEPR rs1137100* в выборках подростков-европеоидов установлен синергичный эффект (величина энтропии = 5,69 %), то для подростков-монголоидов показан антагонистичный характер их взаимодействия по отношению к таким мультифакторным фенотипам как избыточная масса тела и ожирение (величина энтропии = -5,91 %).

8. Специфическими генетическими маркерами риска ранней реализации метаболических нарушений у подростков с избыточной массой тела и ожирением является носительство гаплотипа *LEPR rs1137100 + MC4R rs17782313* за счёт значимого вклада в увеличение уровня лептина (34,7 %, $p < 0,001$) и инсулина (25,5 %, $p = 0,004$); и *MC4R rs17782313 + POMC rs1042571* ($p < 0,001$) за счёт значимого вклада в увеличение индекса НОМА-IR (49,6 %, $p < 0,001$); тогда как для подростков-монголоидов специфическими генетическими маркерами нарушения углеводного и энергетического обмена является носительство гаплотипа *FTO rs9939609 + FTO rs8050136* за счёт значимого вклада в увеличение уровня лептина (29,8 %, $p = 0,014$) и инсулина (26,8 %, $p = 0,028$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Оценка результатов молекулярно-генетических исследований с целью выявления риска развития избыточной массы тела и ожирения и ассоциированных с ними нарушений углеводного и энергетического обменов у подростков должна проводиться с учётом этнической принадлежности.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ

1. Метаболизм и ожирение: вклад гена рецептора лептина / **К. Д. Иевлева**, Т. А. Баирова, Л. В. Рычкова [и др.] // **Acta biomedica scientifica**. – 2017. – Т. 2, № 5. – С. 56–62.

2. Вклад носительства полиморфных локусов генов энергетического обмена в метаболические нарушения у подростков двух этнических групп с избыточной массой тела / **К. Д. Иевлева**, Т. А. Баирова, Е. А. Шенеман [и др.] // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины**. – 2021. – № 10. – С. 440–444.

Публикации в иных изданиях

1. Полиморфный локус *Q223R* гена *LEPR* и ожирение / **К. Д. Иевлева**, Л. В. Рычкова, Е. А. Шенеман [и др.] // **Бюллетень ВСНЦ СО РАМН**. – 2016. – Т. 1, № 5 (111). – С. 170–174.

2. Ген *FTO* и его роль в развитии ожирения и избыточной массы тела у детей / Т. А. Баирова, Е. А. Шенеман, Л. В. Рычкова, **К. Д. Иевлева** // **Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского**. – 2017. – Т. 96, № 4. – С. 186–193. (**Scopus**)

3. Carriers of *MC4R rs17782313* in female adolescents with overweight and obesity / **K. Ievleva**, T. Bairova, E. Sheneman [et al.] // **Acta Paediatrica**. – 2017. – Vol. 106, N S470. – P. 27–28. (**Web of Science**)

4. No association between *LEPR Q223R* and plasma leptin level in Caucasian female adolescents / **K. D. Ievleva**, E. A. Sheneman, T. A. Bairova, L. V. Rychkova // **J. Obes. Weight Loss Ther.** – 2017. – Vol. 7, Suppl. – P. 3. (**Web of Science**)

5. *LEP rs2167270* and plasma leptin level in adolescents with overweight and obesity / T. Bairova, K. Ievleva, V. Balzhieva [et al.] // **Eur. J. Prev. Cardiol.** – 2018. – Vol. 25, N 2, Suppl. – P. S18–S54. (**Web of Science**)

6. Anthropometric measurements and the macronutrient level of the girls-carriers of various genotypes *rs9939609* of *FTO* gene / L. Rychkova, T. Bairova, E. Sheneman, K. Ievleva // **Eur J Prev Cardiol.** – 2018. – Vol. 25, N 2, Suppl. – P. S18–S54. (**Web of Science**)

7. Влияние полиморфизма гена *MC4R* на антропометрические параметры у подростков с избыточной массой тела и ожирением / **К. Д. Иевлева**, Т. А. Баирова, Е. А. Шенеман [и др.] // **Ожирение и метаболизм**. – 2019. – Т. 16, № 2. – С. 22–28. (**Scopus**)

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

<i>FTO</i>	– ген белка ассоциированного с жировой массой и ожирением (fat mass and obesity associated gene)
<i>FTO rs1421085</i>	– полиморфизм гена белка ассоциированного с жировой массой и ожирением <i>rs1421085</i>
HbA1c	– гликированный гемоглобин
НОМА-IR	– индекс инсулинорезистентности (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance)
<i>LEP</i>	– ген лептина (leptin gene)
<i>LEP rs2167270</i>	– полиморфизм гена лептина <i>rs2167270</i>
<i>LEP rs7799039</i>	– полиморфизм гена лептина <i>rs7799039</i>
<i>LEPR</i>	– ген рецептора лептина (leptin receptor gene)
<i>LEPR rs1137100</i>	– полиморфизм гена рецептора лептина <i>rs1137100</i>
<i>LEPR rs1137101</i>	– полиморфизм гена рецептора лептина <i>rs1137101</i>
<i>MC4R rs17782313</i>	– полиморфизм гена меланокортина 4 <i>rs17782313</i>
<i>MC4R</i>	– ген рецептора меланокортина 4 (melanocortin 4 receptor gene)
<i>POMC</i>	– ген проопиомеланокортина (proopiomelanocortin gene)
<i>POMC rs1042571</i>	– полиморфизм гена проопиомеланокортина
<i>FTO rs8050136</i>	– полиморфизм гена белка, ассоциированного с жировой массой и ожирением <i>rs8050136</i>
SDS	– стандартное отклонение (standard deviation score)
ИМТ	– индекс массы тела
ИН	– инсулин
ОБ	– объём бёдер
ОТ	– объём талии
ОТ/ОБ	– отношение объёма талии к объёму бёдер
ОТ/рост	– отношение объёма талии к росту

Подписано в печать 04.02.2021. Бумага офсетная. Формат 60×84¹/₁₆.
Гарнитура Таймс. Усл. печ. л. 1,0
Тираж 100 экз. Заказ № 001-22.

РИО ИНЦХТ
(Иркутск, ул. Борцов Революции, 1. Тел. 29-03-37. E-mail: arleon58@gmail.com)