

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ COMT, MAOA, 5-HTTLPR ЛОКУСА SLC6A4 ПРИ МОРБИДНЫХ ВАРИАНТАХ ДЕТСКОГО ОЖИРЕНИЯ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹,
Институт генетики и цитологии НАН Беларуси²,
РНПЦ психического здоровья³,
УЗ «10-я клиническая больница»⁴

Проведено исследование 191 детей пубертатного возраста с разными формами ожирения. Пациенты были разделены на группы в зависимости от показателей ИМТ: группа 1 (алиментарное ожирение) – 143 детей, возраст $14,3 \pm 1,8$ лет, ИМТ $30,6 \pm 2,8$ кг/м²; группа 2 (морбидное ожирение (ИМТ > 35 кг/м²)) – 48 человек, возраст $15,2 \pm 1,8$ лет ($p = 0,3$), ИМТ $39,7 \pm 4,2$ кг/м² ($p = 0,0001$). Группу контроля составили сверстники с нормальной массой тела соответствующего пола и стадии полового развития по Таннеру (80 детей), средний возраст $14,4 \pm 2$ лет ($p = 0,5$), ИМТ – $14,4 \pm 2$ кг/м² ($p = 0,0001$). Были определены плазменные уровни дофамина и серотонина иммуноферментным методом. Проведено генотипирование по полиморфному локусу Val158Met гена катехол-О-метилтрансферазы (COMT), минисателлитным последовательностям (VNTR) в промоторной области гена моноамин оксидазы А (MAOA), 5-HTTLPR в промоторной области гена транспортера серотонина (SLC6A4). Для оценки психоэмоционального статуса детей с ожирением была использована шкала депрессии у детей DSRS.

Ключевые слова: ожирение, дети, полиморфизм генов, ген COMT, ген MAOA, 5-HTTLPR локус SLC6A4.

**A. V. Solntsava, O. Y. Zagrebaeva, E. A. Aksenova,
T. M. Shatarnova, T. A. Emelyantsava, E. I. Dashkevich**

POLYMORPHISM GENES COMT, MAOA, 5-HTTLPR LOCUS SLC6A4 AND MORBID OBESITY IN CHILDREN

We examined 191 children with different forms of obesity. Patients were divided into groups according to BMI: group 1 (alimentary obesity) – 143 children, age $14,3 \pm 1,8$ years, BMI $30,6 \pm 2,8$ kg/m²; Group 2 (morbid obesity (BMI > 35 kg/m²)) – 48 people, age $15,2 \pm 1,8$ years ($p = 0.3$), BMI $39,7 \pm 4,2$ kg/m² ($p = 0,0001$).

Control group children with normal weight (80 children), the average age of 14.4 ± 2 years ($p = 0.5$), BMI – $14,4 \pm 2$ kg / m² ($p = 0.0001$). Plasma levels of dopamine and serotonin were determined. A polymorphic locus genotyping Val158Met gene catechol-O-methyltransferase (COMT), minisatellite sequences (VNTR) in the promoter region of the gene monoamine oxidase A (MAOA), 5-HTTLPR in the promoter region of serotonin transporter gene (SLC6A4) were examined. To assess the psycho-emotional status of children with obesity scale DSRS depression in children was used.

Key words: obesity, children, gene polymorphisms, gene COMT, MAOA gene 5-HTTLPR locus SLC6A4.

Ожирение – это полиэтиологичное заболевание, обусловленное комплексным влиянием средовых факторов и наследственной предрасположенности. Одной из теорий развития ожирения является психосоматическая, согласно которой избыточная масса тела формируется при переедании в ответ на негативные эмоции (аффект) [1]. Модель «гедонического потребления пищи» рассматривает чрезмерное переедание как следствие ожидаемого удовольствия от еды [2]. Избыточный прием пищи может быть обусловлен нейрохимическим дисбалансом в центральной (ЦНС) или периферической нервной системе (ПНС). Патологическое переедание как причину формирования осложненных и морбидных форм ожирения, связывают с синдромом дефицита удовольствия и полиморфизмом ряда генов-кандидатов допаминергической и серотонинергической системы [3–5].

Важную роль в регуляции уровня допамина играют ферменты моноамин оксидазы А (МАОА) и В (МАОВ), катехол-О-метилтрансфераза (COMT) [3]. Фермент COMT, у которого в позиции 158 аминокислота валин (Val) заменена на метионин (Met) нестабилен при 37 °С и менее активен [6]. У людей с депрессивными симптомами, употребляющими пищу различной калорийности, выявлена связь между депрессией, питанием и генотипом [7].

Представляют интерес работы по изучению взаимодействия системы серотонинового транспортера (SERT) с развитием ожирения. SERT обеспечивает обратный захват серотонина из экстрацеллюлярной жидкости и изменяет чувствительность серотониновых рецепторов в ЦНС, пищеварительном тракте, тромбоцитах, лимфоцитах. Корреляция между экспрессией SERT и ожирением была изучена в ряде исследований [1, 8]. В частности, выявлена обратная зависимость плотности SERT в ЦНС и индексом массы тела (ИМТ). В работе Giannaccini (2013) было показано уменьшение количества SERT в тромбоцитах у пациентов с морбидной формой ожирения. При этом автор описывал достоверную отрицательную корреляцию SERT и ИМТ [8].

Полиморфизм гена транспортера серотонина (SLC6A4) – 5-HTTLPR рассматривается в качестве одного из генетических аспектов регуляции аппетита и настроения. Установлено, что пациенты-обладатели короткого S аллеля 5-HTTLPR гена транспортера серотонина больше подвержены риску нарушения пищевого поведения [8]. Выявлена связь короткого S аллеля этого гена с фактором развития ожирения у мужчин [8]. Обсуждается роль гиперметилирования промотерной области гена серотонинового транспортера (SLC6A4) с формированием избыточной массы тела [8].

Целью нашего исследования явилось определение полиморфизма генов COMT, MAOA, SLC6A4 и связи с нейроэндокринными показателями (допамин, серотонин) при морбидном ожирении у детей.

Материалы и методы

Проведено клиническое проспективное с одномоментными разделами контролируемое и ретроспективным сбором анамнестических данных исследование

191 детей (М/Д) = (105/86) пубертатного возраста (2–5 стадии полового развития по Таннеру) с разными формами ожирения (алиментарным, морбидным). Пациенты были разделены на группы в зависимости от показателей ИМТ: группа 1 (алиментарное ожирение) – 143 детей, возраст $14,3 \pm 1,8$ лет, ИМТ $30,6 \pm 2,8$ кг/м²; группа 2 (морбидное ожирение (ИМТ > 35 кг/м²)) – 48 человек, возраст $15,2 \pm 1,8$ лет ($p = 0,3$), ИМТ $39,7 \pm 4,2$ кг/м² ($p = 0,0001$). Группу контроля составили сверстники с нормальной массой тела (ИМТ 5–84-я перцентиль) соответствующего пола и стадии полового развития по Таннеру (80 детей), средний возраст $14,4 \pm 2$ лет ($p = 0,5$), ИМТ – $14,4 \pm 2$ кг/м² ($p = 0,0001$).

Измерены антропометрические показатели (рост, масса тела, ИМТ). Всем детям были определены плазменные уровни допамина и серотонина иммуноферментным методом (наборы DRG Elisa, Германия).

Проведено генотипирование по полиморфному локусу Val158Met гена катехол-О-метилтрансферазы (COMT), минисателлитным последовательностям (VNTR) в промотерной области гена моноамин оксидазы А (MAOA), 5-HTTLPR в промотерной области гена транспортера серотонина (SLC6A4). Забор образцов крови осуществлялся на специальные фильтровальные бумажные тест-бланки. ДНК выделяли с помощью обработки биологического материала в лизирующем буфере раствором протеиназы К (20 мг/мл), с последующей очисткой от белковых примесей смесью фенол-хлороформ-изоамиловый спирт (25:24:1) и хлороформ-изоамиловый спирт (24:1). После осаждения с помощью этанола, высушенную ДНК растворяли с 150 мкл высокоочищенной воды. ПЦР была проведена на амплификаторах фирмы BioRad C1000, MJmini и MyCycler. Генотипы MAOA детектировали при электрофорезе в 3% агарозном геле. Для уточнения размеров локусов проводили электрофорез на генетическом анализаторе ABI PRISM® Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystems) в центре коллективного пользования «Геном» ГНУ «ИГЦ НАН Беларуси» и обрабатывали результаты в программе GeneMapper® Software Version 4.1. Генотипирование полиморфного локуса Val158Met (rs4680) гена COMT проводили с помощью ПЦР-ПДРФ анализа. Генотипирование 5-HTTLPR локуса в промотерной области гена транспортера серотонина (SLC6A4) проводили при электрофорезе в 3% агарозном геле.

Для оценки психоэмоционального статуса детей с ожирением была использована стандартизированная скрининговая шкала депрессии у детей DSRS (Depression Self-Rating Scale), содержащая 16 пунктов для самостоятельной оценки ребенком в формате: «да» или «нет».

Статистическая обработка данных проведена с помощью программы SPSS Statistics 18. При нормальном распределении использован параметрический t-критерий Стьюдента. К количественным признакам, имеющим распределение, отличное от нормального, применены непараметрические методы (U-критерий Манна-Уитни). Для оценки качественного признака использованы таблицы сопряженности. В зависимости от вида распределения результаты были представлены

□ Оригинальные научные публикации

в виде среднего значения ($m \pm$ стандартное отклонение (SD)), медианы (Me) и межквартильного размаха [LQ; UQ], минимального (min) и максимального (max) значений. За уровень статистической значимости принята вероятность безошибочного прогноза, равная 95% ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

У детей с ожирением вне зависимости от формы заболевания отмечено статистически значимое увеличение значений серотонина по сравнению с контрольной группой (p -к = 0,001 и p -м-к = 0,005). Не выявлено достоверных различий уровней серотонина у детей с морбидным вариантом по сравнению с группой алиментарного ожирения (p -м = 0,8). Концентрации допамина были выше у детей с морбидным ожирением в сравнении со сверстниками с нормальной массой тела (p -к = 0,02). Достоверных различий уровней допамина между детьми с алиментарным и морбидным ожирением зарегистрировано не было (таблица 1).

Ген MAOA локализован на X хромосоме. Вследствие однокопийности этого гена у мальчиков при определении частоты встречаемости генотипов целесообразно производить сравнения отдельно в группах мальчиков и в группах девочек [9]. Минисателлитная последовательность с длиной 30 п. о. расположена в промоторной области гена MAOA и встречается в виде 2; 3; 3,5; 4, или 5 копий. Длина локуса влияет на активность гена. Доказано, что для 3,5- или 4-копийных аллелей, в отличие от более короткой последовательности 3, увеличивается транскрипционная активность гена в 2–10 раз [9]. В нашем исследовании установлена более частая встречаемость генотипа MAOA 3–3 у девочек с морбидным ожирением (20%) ($\chi^2 = 32,7$; $p = 0,0001$) по отношению к группам сравнения (9,1%) и контроля (14,1%).

Выявлена более частая встречаемость GA (Val/Met) генотипа гена COMT у детей с морбидным ожирением (54,3%) по сравнению со сверстниками с алиментарной формой заболевания (32,7%) ($\chi^2 = 6,9$; $p = 0,03$). Нами зарегистрирована частота встречаемости гено-

типа AA 21,7% у пациентов с морбидным ожирением, 45,5% – с алиментарной формой заболевания которые выше, чем в контроле (15,5%) ($\chi^2 = 16,7$; $p = 0,002$) (таблица 2). При снижении активности ферментов COMT (в случае присутствия метионина в позиции 158) и MAOA (более короткой последовательности минисателлитного локуса 3/3), возрастает количество «неутилизированного» допамина [6, 7]. В общей группе пациентов с ожирением выявлены достоверно более высокие уровни допамина (55,2 [15; 97,5] нг/мл) при наличии генотипа GA гена COMT. У детей с генотипами GG и AA показатели допамина составили 18,1 [6,6; 93,6] нг/мл ($p = 0,03$), что может указывать на наличие феномена допаминорезистентности. Достоверной разницы между уровнями допамина при GG и AA генотипах выявлено не было ($p = 0,7$).

В нашем исследовании депрессия достоверно более часто регистрировалась у пациентов с ожирением при наличии генотипов GA (29,2%) и AA (20%) гена COMT ($\chi = 8,4$; $p = 0,04$).

Ген транспортера серотонина (SLC6A4) локализован на хромосоме 17q11.1-q12 и состоит из 14 экзонов общей протяженностью, примерно 35 т. п. о., с выраженной регуляторной активностью промотора. В промоторной области гена содержится VNTR полиморфизм (5-HTTLPR) длиной 44 п. о., при котором наблюдаются «короткие» (S = short) в 484 п. о. и «длинные» (L = long) в 528 п. о. аллели. Доказано, что короткий S аллель ассоциирован с более низким уровнем экспрессии SLC6A4 гена по сравнению с длинным L аллелем, что означает снижение активности SERT и меньшее поступление серотонина в клетки [10].

У детей с морбидным ожирением генотип 5-HTTLPR-SL определен в 57,1% случаев по сравнению с алиментарной формой – 34%, 5-HTTLPR-SS генотип – в 7,1 и 20% соответственно ($\chi^2 = 6,0$; $p = 0,05$). Не отмечено ($\chi^2 = 5,0$; $p = 0,7$) достоверных различий между группами детей с ожирением и контролем по частоте встречаемости генотипов 5-HTTLPR-SS, 5-HTTLPR-SS, 5-HTTLPR-SS (таблица 3). Статистически значимой раз-

Таблица 1. Уровни серотонина и допамина у детей с разными формами ожирения и нормальной массой тела (Me [LQ; UQ])

Показатель	Группы			ДР
	Алиментарное ожирение	Морбидное ожирение	Контроль	
Серотонин, нг/мл	260,1 [105,4; 383,2]	275,3 [99,1; 379,3]	131,7 [10; 276,2]	U = 2252,5; p (а-к) = 0,001 U = 809; p (м-к) = 0,005 U = 3361; p (а-м) = 0,8
Допамин, нг/мл	10,6 [4,8; 59,1]	33,8 [5,7; 105]	6,5 [4,9; 43,8]	U = 1492; p (а-к) = 0,2 U = 514; p (м-к) = 0,02 U = 1575,5; p (а-м) = 0,06

Таблица 2. Частота генотипов по полиморфному локусу гена COMT у детей с разными формами ожирения и контрольной группы

Группы	N	генотип COMT			Частота аллелей	
		GG	GA	AA	G	A
Дети с морбидным ожирением	48	23,9%	54,3%	21,7%	51,1%	48,9%
Дети с алиментарным ожирением	143	21,8%	32,7%	45,5%	38,2%	61,8%
Контроль	80	29,8%	54,3%	15,5%	57%	43%

Таблица 3. Частота генотипов по полиморфному локусу 5-HTTLPR гена транспортера серотонина SLC6A4 у детей с разными формами ожирения и контрольной группы

Группы	N	5-HTTLPR локус SLC6A4		
		SS	SL	LL
Дети с морбидным ожирением	48	7,1%	57,1%	35,8%
девочки	20	12,5%	43,8%	43,8%
мальчики	28	3,8%	65,4%	30,8%
Дети с алиментарным ожирением	143	20%	34,0%	46,0%
девочки	66	15,4%	30,8%	53,8%
мальчики	77	25,0%	37,5%	37,5%
Контроль	80	16,0%	45,1%	38,3%
девочки	45	17,5%	45,5%	37,0%
мальчики	35	13,4%	45,1%	41,5%

ницы между мальчиками и девочками с разными формами ожирения и контролем по 5-HTTLPR генотипу отмечено не было (таблица 3).

Выводы

1. Установлена более частая встречаемость генотипа MAOA 3–3 у девочек с морбидным ожирением в сравнении с алиментарной формой заболевания и нормальной массой тела ($\chi^2 = 32,7$; $p = 0,0001$).

2. Выявлена достоверно более частая встречаемость GA и AA генотипов rs4680 гена COMT у детей с морбидным ожирением в сравнении со сверстниками с алиментарной формой заболевания ($\chi^2 = 16,7$; $p = 0,002$).

3. Более высокие уровни допамина отмечены в общей группе детей с ожирением при наличии генотипа GA rs4680 гена COMT ($p = 0,03$), что указывает на наличие феномена допаминорезистентности у пациентов.

4. У детей с морбидным ожирением установлено большая частота встречаемости генотипа 5-HTTLPR-SL (57,1% случаев) гена транспортера серотонина (SLC6A4) ($\chi^2 = 6,0$; $p = 0,05$) по сравнению с пациентами с алиментарной формой заболевания.

Литература

1. Hodge, S., Bunting B. P., Carr E., Strain J. J., Stewart-Knox B. J., Obesity, Whole Blood Serotonin and Sex Differences in Healthy Volunteers. *Obes Facts*. – 2012. – № 5. – P. 399–407.

2. Stroebe, W., Papies E. K., Aarts H. From homeostatic to hedonic theories of eating; Self-regulatory failure in food-rich environments. *Appl Psychol Health Well-Being*. – 2008. – Vol. 57. – P. 172–193.

3. Need, A. C., Ahmadi K. R., Spector T. D., Goldstein D. B. Obesity is associated with genetic variants that alter dopamine availability / *Ann Hum Genet*. – 2006. – Vol. 70, Pt 3. – P. 293–303.

4. Barnard, N. D., Noble E. P., Ritchie T., Cohen J. et al. D2 dopamine receptor Taq1A polymorphism, body weight, and dietary intake in type 2 diabetes. *Nutrition*. – 2009. – Vol. 25, № 1. – P. 58–65.

5. Ariza, M., Garolera M., Jurado M. A., Garcia-Garcia I., Hernan I. et al. Dopamine Genes (DRD2/ANKK1-TaqA1 and DRD4–7R) and Executive Function: Their Interaction with Obesity. *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7, № 7. – E41482. doi:10.1371/journal.pone.0041482.

6. Shield, A. J., Thomae B. A., Eckloff B. W., Wieben E. D., Weinshilboum R. M.. Human catechol O-methyltransferase genetic variation: gene resequencing and functional characterization of variant allozymes / *Mol Psychiatry*. – 2004. – Vol. 9, № 2. – P. 151–160.

7. Galvão, A. C., Krüger R. C., Campagnolo P. D., Mattevi V. S., Vitolo M. R., Almeida S. Association of MAOA and COMT gene polymorphisms with palatable food intake in children / *J. Nutr. Biochem*. – 2012. – Vol. 23, № 3. – P. 272–277.

8. Giannaccini, G., Betti L., Palego L. et al. The expression of platelet serotonin transporter (SERT) in human obesity. *BMC Neuroscience*. – 2013. – № 14. – Vol. 128. Available at: <http://www.biomedcentral.com/1471-2202/14/128>.

9. Sabol, S. Z., Hu S., Hamer D. A functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter. *Hum Genet*. – 1998. – Vol. 103, № 3. – P. 273–279.

10. De Neve, J.-E. Functional polymorphism (5-HTTLPR) in the serotonin transporter gene is associated with subjective well-being: evidence from a US nationally representative sample. *Journal of Human Genetics*. – 2011. – Vol. 56. – P. 456–459.