

ОСОБЕННОСТИ ВАРИАЦИИ И ТОПОГРАФИИ ПОДКОЖНОГО ЖИРА У ЮНОШЕЙ И ДЕВУШЕК С РАЗЛИЧНЫМИ ГЕНОТИПАМИ АПОЛИПОПРОТЕИНА E

В.А. Спицын¹, М.А. Негашева², И.В. Дукова³

¹ *Медико-генетический научный центр РАМН, Москва*

² *Кафедра антропологии биологического факультета МГУ, Москва*

³ *Экспертно-криминалистический центр МВД России, Москва*

На материалах комплексного антропогенетического обследования 273 студентов (151 юноша и 122 девушки) изучены связи полиморфизма гена аполипопротеина E (apoE) с морфологическими признаками. С помощью различных статистических методов получены достоверные связи показателей жировоголожения с генотипами apoE ($p < 0.05$). Представители генотипов 4/4 и 2/4 характеризуются повышенным общим жировымложением с тенденцией к его локализации в области корпуса.

Ключевые слова: морфологические признаки, генотипы, генетический контроль, аполипопротеин E, подкожный жир

Введение

Среди народонаселения развитых стран число людей с избыточной массой тела за два последних десятилетия возросло в катастрофических размерах. Так, в США, Германии и других западных странах мира до 25% подростков и более 30% взрослых имеет избыточную массу тела или ожирение [Stemp-Morlock, 2007]. При существующих темпах роста прогнозируется дальнейшее увеличение числа тучных людей и предполагается, что к 2025 году от избыточной массы тела будут страдать уже 40% мужчин и 50% женщин [Бутрова, 2005]. Наряду с традиционными факторами (малоподвижный образ жизни, увеличение калорийности потребляемой пищи, нарушение метаболизма в связи с нейроэндокринными расстройствами), обуславливающими повышенное жировоеложение, в настоящее время широкое распространение получили исследования генетических маркеров или генов предрасположенности к ожирению. В последние годы растет число публикаций, особенно за рубежом, которые посвящены изучению связей между избыточной массой тела, повышенным жировымложением и полиморфными генами.

Так, например, в одной из работ [Lucarini, Antonacci, Bottini et al., 1997] показана убедительная связь между генотипом ACP1**A*/*A* кислой фосфатазы, увеличенным индексом массы тела и уровнем липидов крови в одной из европейских популяций.

Большой интерес представляют работы, в которых рассматриваются соотношения между генетическим полиморфизмом аполипопротеина E (apoE) и развитием ожирения. Результаты исследований [Fumeron, Rigaud, Bertiere, 1988] показывают, что генетический полиморфизм apoE влияет на степень жировоголожения на уровне оценки изменчивости липидов и липопротеинов, при этом аллель эпсилон 4 увеличивает риск развития гипертриглицеридемии, связанной с ожирением. Избыточное жировоеложение и патологическое изменение уровня липопротеинов плазмы в выборке женщин в связи с определенными генотипами apoE наблюдали и канадские авторы [Pouliot, Despros, Moorjani, 1990]. В группах детей и подростков США [Srinivasan, Ehnholm, Wattigney et al., 1994] и Китая [Zhang, Xia, Mai, 2001] установлена связь между избыточной массой тела, уровнем

сывороточных липидов и липопротеинов с генотипами apoE, связанными с аллелем ϵ^*4 . Наконец, среди молодых американцев как европейского, так и африканского происхождения установлена зависимость между избыточной массой тела и дислипидемией с определенными генотипами apoE [Srinivasan, Ehnholm, Elkasabany et al., 2001].

Как в зарубежной, так и в отечественной литературе нам не встретилось публикаций по изучению корреляций комплекса морфофункциональных признаков с полиморфизмом в гене apoE. В этой связи целью данного исследования было изучение полиморфизма гена apoE в группах здоровых юношей и девушек в возрасте 16–20 лет, а также поиск возможных генотипических связей apoE с морфофункциональными признаками и показателями жировоголожения.

Материалы и методы

В работе были использованы материалы комплексного антропогенетического обследования 273 студентов различных факультетов МГУ (151 юноша и 122 девушки преимущественно русской национальности). Антропометрическое обследование включало измерение более 30 морфологических признаков (тотальные размеры тела, скелетные и обхватные признаки, жировые складки, размеры головы и лица) и 3 функциональных показателей (жизненная емкость легких, динамометрия правой и левой кисти). Для изучения полиморфизма гена apoE осуществлялось взятие цельной венозной крови (3–5 мл) и получение образцов ДНК. В данном исследовании применены следующие молекулярно-генетические методы: выделение ДНК, амплификация ДНК с помощью полимеразной цепной реакции, рестрикция и разделение фрагментов ДНК. Экстракция ДНК проводилась с использованием набора реагентов Diatom DNA Prep 200, предназначенного для выделения ДНК из различного биологического материала. Полиморфизм гена APOE (Arg158Cys и Cys112Arg в 4 экзоне) был исследован на амплификаторе производства компании «ДНК-технология» в стандартном режиме [Hixson, Vernier, 1990].

Для статистической обработки полученных данных были использованы методы дисперсионного, факторного и канонического анализов (пакет программ Statistica 6.0) [Боровиков, 1998; Дерябин, 2007]. Одномерный дисперсионный анализ применен для установления неоднородности средних арифметических величин морфологических и

функциональных параметров в группах с различными генотипами apoE. С помощью факторного анализа [Ким, Мьюллер, Клекка и др., 1989] изучены особенности вариации величины и топографии подкожного жировоголожения у юношей и девушек. Канонический анализ [Дерябин, 2007] использовался для исследования межгрупповых различий генотипов гена apoE по разным наборам морфологических признаков.

Результаты и обсуждение

Наличие полиморфизма в гене apoE позволило выявить следующие генотипы: 2/3, 2/4, 3/3, 3/4, 4/4. Частоты встречаемости генотипов и аллелей гена apoE в группах юношей и девушек оказались весьма сходными (табл. 1), что свидетельствует об отсутствии особенностей в распределении генотипов apoE между полами. Проверка на неоднородность в распределении частот аллелей ϵ^*2 , ϵ^*3 и ϵ^*4 между изученными группами юношей и девушек демонстрирует величины $\chi^2=0,53$; $\chi^2=1,13$ и $\chi^2=0,53$ при $p>0,05$, что подтверждает отсутствие половых различий в частотах факторов apoE. На основании этого представители обоего пола были объединены в общую группу (см. табл. 1). Частота встречаемости генотипа 3/3 – максимальна, частоты генотипов 2/4 и 4/4 минимальны, генотипы 3/4 и 2/3 занимают промежуточное положение по частотам встречаемости. Рассмотрение обширной базы данных частот встречаемости пропорций генотипов и аллелей apoE в европейских популяциях [Kowalska, Wiechmann, Walter, 1998] показало, что концентрации генотипов apoE в изученных нами группах соответствуют таковым в европеоидных популяциях.

Для исследования межгрупповых различий морфологических признаков у представителей разных генотипов apoE был применен канонический анализ. С целью увеличения численности выборки после предварительного нормирования данных юноши и девушки были объединены в общую выборку. Результаты канонических анализов в объединенной выборке не выявили достоверных различий генотипов apoE ни по одному из наборов антропометрических признаков (скелетные размеры, обхватные признаки, размеры головы и лица, функциональные показатели), за исключением комплекса жировых складок ($p<0,05$).

Поскольку жировая ткань является одним из важнейших элементов в определении конституциональной специфики индивида, для изучения особенностей вариации и топографии подкожно-

Таблица 1. Распределение частот встречаемости различных генотипов и аллелей apoE в исследуемой выборке

Генотип	Юноши	Девушки	Всего
2/3	9.46% (N=14)	9.01% (N=11)	9.26% (N=25)
2/4	0.68% (N=1)	4.10% (N=5)	2.22% (N=6)
3/3	73.65% (N=109)	70.49% (N=86)	72.22% (N=195)
3/4	15.53% (N=23)	15.57% (N=19)	15.56% (N=42)
4/4	0.68% (N=1)	0.81% (N=1)	0.74% (N=2)
Аллель			
apoE*2	5.07%	6.55%	5.74%
apoE*3	86.15%	82.78%	84.63%
apoE*4	8.78%	10.65%	9.63%

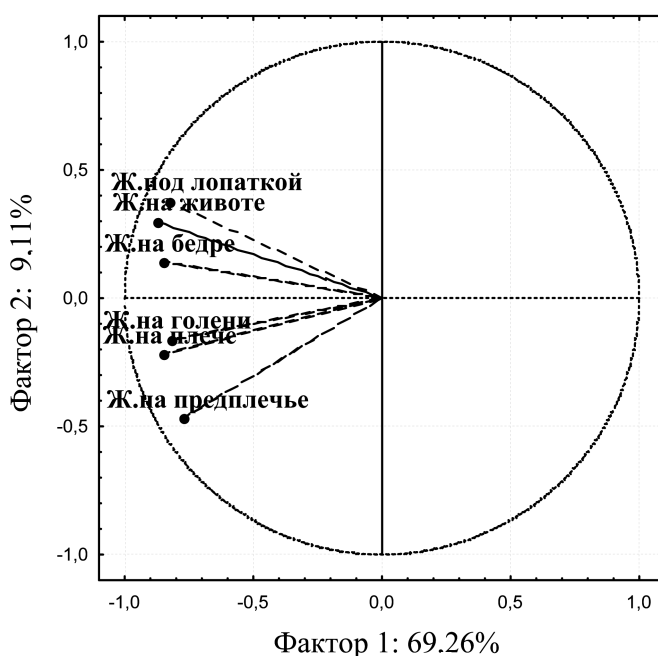


Рис. 1. Результаты факторного анализа по жировым складкам (Ж) в объединенной выборке юношей и девушек

го жира у обследованных студентов был проведен факторный анализ (рис. 1). Первый фактор несет информацию об уровне общего жиротложения: индивиды с более толстыми жировыми складками будут иметь большие отрицательные значения первого фактора (левая часть диаграммы). Второй фактор противопоставляет жировые складки на корпусе (под лопаткой и на животе) складкам на конечностях, прежде всего складкам на предплечье, плече и голени. Студенты с большим жиротложением в области корпуса (труккальный тип) будут иметь большие значения второго фактора. При более выраженном жиротложении на конечностях (экстремитальный тип) студенты будут характеризоваться меньшими величинами этого фактора.

После предположений относительно морфологической интерпретации новых интегративных показателей жиротложения рассмотрим, каким образом они варьируют у студентов с различными генотипами apoE. С этой целью проводился одномерный дисперсионный анализ величин 1-го и 2-го факторов, результаты которого показали достоверное разделение ($p < 0.05$) генотипов apoE по первому фактору, характеризующему уровень общего жиротложения.

На рис. 2 показано, что студенты с генотипом 4/4 характеризуются повышенным общим жиротложением (Фактор 1). По второму фактору

студенты с генотипом 4/4 имеют тенденцию к повышенному жиротложению на корпусе (труккальный тип).

Поскольку по литературным данным [Chartier-Harlin, Parfitt, Legrain, 1994; Weisgraber, Innerarity, Rail et al., 1985; Yamamura, Dong, Yamamoto, 1992] известна ассоциация полиморфных вариантов гена apoE с уровнем холестерина, связанным с жиротложением, на заключительном этапе данного исследования был проведен канонический анализ генотипов apoE по интегративным показателям жиротложения. Первая каноническая переменная, достоверно разделившая генотипы apoE ($p < 0.05$), на положительном полюсе своей изменчивости выделила студентов с генотипом 4/4 (рис. 3), для которых характерен повышенный уровень подкожного жира с его преимущественной локализацией в области корпуса (труккальный тип). Максимальный уровень различий по первой канонической переменной отмечен между генотипами 3/3 и 4/4 и составляет 2.4 величины ее внутригруппового среднего квадратического отклонения. Для получения более наглядного представления о величине таких различий можно сказать, что по длине тела они составили бы около 14 см (внутригрупповая «сигма» для длины тела равна 6 см).

Студенты с генотипом 2/4 также имеют склонность к повышенному жиротложению, но в зна-

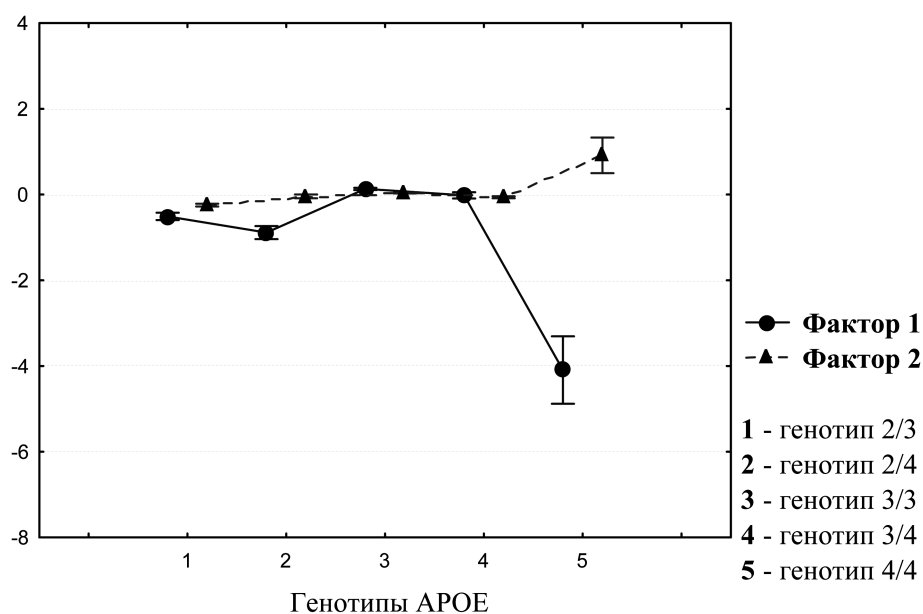


Рис. 2. Результаты дисперсионного анализа показателей уровня (Фактор 1) и топографии (Фактор 2) подкожного жиротложения у студентов различных генотипов гена apoE

чительно меньшей степени выраженности. Полученные результаты согласуются с литературными данными об ассоциации аллеля apoE*4 (в особенности гомозиготы 4/4) с повышенным уровнем холестерина.

По итогам проведенного исследования можно сделать вывод о существовании достоверных связей показателей жировотложения с генотипами apoE ($p < 0.05$). Представители генотипов 4/4 и 2/4 характеризуются повышенным общим жировотложением с тенденцией к его локализации в области корпуса.

В заключение следует подчеркнуть, что поиск молекулярно-генетических маркеров имеет большое теоретическое и практическое значение в антропогенетике и профилактической медицине, так как может способствовать выявлению лиц с предрасположенностью к различным заболеваниям и проведению соответствующей профилактики, начиная с раннего детского возраста. Представленное исследование по выявлению связей полиморфизма генотипов с антропометрическими признаками предполагает дальнейшую разработку с увеличением численности выборок и расширением спектра генетических маркеров.

Благодарность

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории молекулярной генетики человека УНЦ РАН (г. Уфа) и зав. лаб. Е.К. Хуснутдиновой за помощь в выделении генетических маркеров из ДНК. Работа выполнена при поддержке гранта РГНФ-БРФФИ 09-06-00879 а/б.

Библиография

- Боровиков В.П.* Популярное введение в программу STATISTICA. М.: КомпьютерПресс, 1998.
- Бутрова С.А.* Ожирение – неинфекционная эпидемия XXI века // Фармацевтический вестник. 2005. Т. 366. № 3. С. 9–11.
- Дерябин В.Е.* Решение задач обработки антропологических данных с использованием компьютера. М.: Московский университет, 2007.
- Ким Дж.О., Мьюллер Ч.У., Клекка У.Р., Олдендерфер М.С., Блэшфилд Р.К.* Факторный, дискриминантный и кластерный анализ. М.: Финансы и статистика, 1989.
- Chartier-Harlin M., Parfitt M., Legrain S.* Apolipoprotein E, epsilon 4 allele as a major risk factor for sporadic early and late-onset forms of Alzheimer's disease: analysis of the 19q13.2 chromosomal region // Human molecular genetics. 1994. Vol. 3. N 4. P. 569–574.
- Fumeron F., Rigaud D., Bertiere M.C.* Association of apolipoprotein epsilon 4 allele with hypertriglyceridemia in obesity // Clin. Genet. 1988. Vol. 34. N 4. P. 258–264.

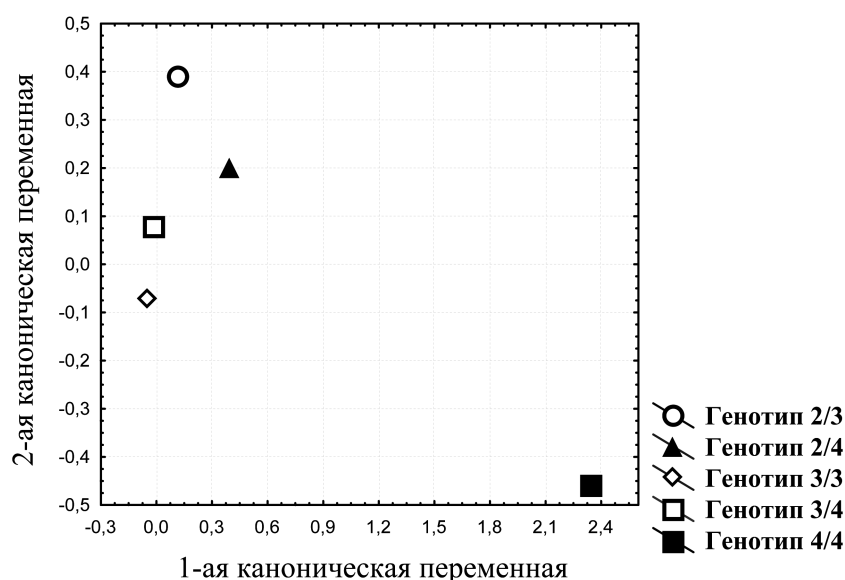


Рис. 3. Расположение групп студентов с различными генотипами apoE в осях значений первой и второй канонических переменных

- Hixson J.E., Vernier D.T. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI // *J. Lipid. Res.* 1990. Vol. 31. P. 545–548.
- Kowalska A., Wiechmann I., Walter H. Genetic variability of apolipoprotein E in a Polish population // *Human Biology.* 1998. Vol. 70. N 6. P. 1093–1099.
- Lucarini N., Antonacci E., Bottini N., Bottini G. Low-molecular-weight acid phosphatase (ACP1), obesity, and blood lipid levels in subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus // *Human Biology.* 1997. Vol. 69. N 4. P. 509–515.
- Pouliot M.C., Despros J.P., Moorjani S. Apolipoprotein E polymorphism alters the association between body fatness and plasma lipoproteins in women // *J. Lipid. Res.* 1990. Vol. 31. N 6. P. 1023–1029.
- Srinivasan S.R., Ehnholm C., Elkasabany A., Berenson G.S. Apolipoprotein E polymorphism modulates the association between obesity and dyslipidemias during adulthood: The Bogalusa Heart Study // *Metabolism.* 2001. Vol. 50. N 6. P. 696–702.
- Srinivasan S.R., Ehnholm C., Wattigney W.A., Berenson G.S. Relationship between obesity and serum lipoproteins in children with different apolipoprotein E phenotypes: The Bogalusa Heart Study // *Metabolism.* 1994. Vol. 43. N 4. P. 470–475.
- Stemp-Morlock G. Exploring developmental origins of obesity // *Environmental Health Perspectives.* 2007. Vol. 115. N 5. P. 242.
- Weisgraber K., Innerarity T., Rail S., Mahley R. Receptor interactions controlling lipoprotein metabolism // *Biochemistry and cell biology.* 1985. Vol. 63 (8). P. 898–905.
- Yamamura T., Dong L., Yamamoto A. Apolipoprotein E polymorphism and coronary heart disease // *Chinese medical.* 1992. Vol. 105. N 9. P. 738–741.
- Zhang X., Xia G., Mai G. Effects of polymorphism of apolipoprotein E gene on body mass index and plasma lipid levels in obese children // *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 2001. Vol. 35. N 6. P. 412–414.

Контактная информация:

Спицын В.А. Тел.: 324-23-17; (499)-612-79-41,

e-mail: ecolab@med-gen.ru;

Негашева М.А. Тел.: 939-42-46, e-mail: negasheva@mail.ru;

Дукова И.В. E-mail: rhino@list.ru.

VARIABILITY AND TOPOGRAPHY OF SUBCUTANEOUS FAT IN YOUNG MEN AND WOMEN WITH DIFFERENT APOLIPOPROTEIN E GENOTYPES

V.A. Spitsyn¹, M.A. Negasheva², I.V. Dukova³

¹ *Research Centre for Medical Genetics, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow*

² *Department of Anthropology, Biological Faculty, MSU, Moscow*

³ *Expert-Criminal Center of Ministry of the Interior of Russia, Moscow*

Relationships between genotypes of apolipoprotein E (apoE) polymorphism with morphological traits have been investigated on the materials of complex anthropogenetic assessment of 273 students (151 young man and 122 women). By means of various statistical methods significant associations between fat parameters and genotypes apoE are received ($p < 0.05$). Men with genotypes 4/4 and 2/4 are characterized by increased fat component with the tendency to its localization in the trunk region.

Key words: *morphological traits, genotypes, genetic control, apolipoprotein E, subcutaneous fat*