

ПОИСК АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ ГЕНОВ *FTO* И *GHRL* С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ОЖИРЕНИЯ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

Э.А. Бондарева, Е.З. Година

МГУ имени М.В. Ломоносова, НИИ и Музей антропологии, Москва

Введение. Исследования в области антропогенетики и функциональной геномики позволили выявить генетические детерминанты повышенного накопления жира и, как следствие, развития ожирения.

Материалы и методы. Были собраны образцы буккального эпителия у детей и подростков 10–17 лет, живущих в Архангельской обл. Вся выборка была разделена на три подгруппы: дети с повышенным и пониженным жиротложением (25 и 36 человек, соответственно, $10 \leq \text{ИМТ} \leq 90$ -го перцентиля по региональным нормам), а также с нормальной массой тела (30 человек). Проводился молекулярно-генетический анализ с целью выявления ассоциаций между T/A (*rs9939609*) полиморфизмом гена *FTO*, а также C/A (*rs696217*) полиморфизмом гена *GHRL* и риском развития ожирения.

Результаты и обсуждение. Частоты распределения генотипов полиморфных систем генов *FTO* и *GHRL* в целом для исследованной выборки выглядят следующим образом: *FTO**AA – 20%, *FTO**AT – 49% и *FTO**TT 13%. *GHRL**AA – 1%, *GHRL**AC – 13% и *GHRL**CC – 86%. Анализ частот встречаемости генотипов гена *FTO* в трех сформированных подгруппах свидетельствует о наличии в них неслучайных различий (χ^2 Пирсона = 11.3 $p=0.02$, при $df=4$). Для гена *GHRL* достоверных различий не найдено. Наличие в генотипе обследованных детей и подростков г. Архангельска и Архангельской обл. минорного аллеля полиморфной системы гена *FTO* ассоциировано с повышенным жиротложением.

Ключевые слова: антропология, антропогенетика, ауксология, ожирение, *FTO*, *GHRL*, молекулярно-генетические маркеры

Введение

В современном мире проблема избыточного веса и связанного с ним риска развития ожирения стоит весьма остро. Исследования в области антропогенетики и функциональной геномики позволили выявить генетические детерминанты повышенного накопления жира и, как следствие, развития ожирения. Безусловно, данная проблема носит комплексный характер и не может быть ограничена исследованиями образа жизни и характера питания, либо патологией эндокринной системы, либо отягощенной наследственностью. Исследования близнецов, семей и усыновленных детей позволяют обоснованно предположить, что наследственная составляющая обуславливает развитие ожирения на 60–90% [Maes et al., 1997; Stunkard, Sorensen, 1993]. Влияние факторов окружающей среды на наследственные факторы

может осуществляться посредством эпигенетических событий в геноме человека [Andreasen, Andersen, 2009].

Одними из наиболее изученных молекулярно-генетических маркеров, ассоциированных с ожирением, являются однонуклеотидные замены в генах *FTO* (fat mass and obesity associated) и *GHRL* (ghrelin). Различными исследователями были изучены ассоциации полиморфной системы гена *FTO* с риском развития ожирения и показана связь минорного A-аллеля с повышенным жиротложением и ожирением [Бондарева, 2010; Demerath et al., 2011; Frayling et al., 2007; Gerken et al., 2007; Olszewski et al., 2009]. Несмотря на столь многочисленные свидетельства влияния полиморфизма гена *FTO* на предрасположенность к жиротложению, остается открытым вопрос о молекулярном механизме действия данной мутации на процесс накопления жира в организме

человека. Показано, что ген *FTO* необходим для нормального развития центральной нервной, а также сердечнососудистой систем организма [Boissel et al., 2009]. Белковым продуктом гена *FTO* является фермент, катализирующий реакции деметилирования азотистых оснований, входящих в состав ДНК и РНК [Jia et al., 2008]. Подобные ферменты осуществляют регуляцию активности генов на так называемом эпигенетическом уровне, не изменяя нуклеотидной последовательности генов. В экспериментах на мышах показано, что иРНК гена *FTO* является одной из наиболее активно экспрессируемых РНК в ядрах гипоталамуса, отвечающих за процессы насыщения [Gerken et al., 2007].

Грелин (GHRL)-гормон, секретирующийся в желудке и обладающий широким спектром действия: он стимулирует секрецию гормона роста, пролактина и аденокортикотропного гормона (АКТГ); влияет на сон и поведение, повышает аппетит, увеличивает уровень глюкозы в крови. Грелин активирует нейроны гипоталамуса и аркуатных ядер, что приводит к положительному энергетическому балансу благодаря стимуляции потребления пищи и снижению утилизации жира [Broglio et al., 2002; Date 2000; Murata et al., 2002; Nakazato et al., 2001]. Низкие уровни грелина в плазме ассоциируются с инсулинорезистентностью, гипертензией и преобладанием диабета 2 типа.

Грелин-гормон кодируется геном *GHRL*. На сегодняшний день три однонуклеотидных полиморфизма в гене *GHRL*: Arg51Gln, Leu72Met (rs696217) и Gln90Leu (rs4684677) ассоциированы с предрасположенностью к ожирению. Полиморфизм Arg51Gln находится в соединении сайта обязательного расщепления для производства зрелого активного гормона, тогда как полиморфизмы Leu72Met и Gln90Leu располагаются в регионах предшественников пептидов, не являющихся частью зрелого гормона [Ukkola et al., 2001; Hinney et al., 2002]. В другом исследовании [Korbonits et al., 2002] показано, что носители гетерозиготного варианта полиморфизма Leu72Met имели достоверно более высокий ИМТ, чем носители гомозиготы по аллелю дикого типа. Также у носителей минорного А-аллеля ожирение развилось в более раннем возрасте [Giudice et al., 2004]. В другом исследовании изучали связь между полиморфизмами гена *GHRL* с уровнем потребления пищи и риском развития метаболического синдрома. Стэнли с соавторами [Steinle et al., 2005], изучив популяцию амишей, продемонстрировали, что минорный А-аллель был связан с повышенным риском развития метаболического синдрома (23.2 против 13.4%), а также с некоторыми биохимическими показателями плазмы крови (уровнем глю-

козы натошак, понижением ЛПВП и повышением уровня триглицеридов). Аллель С (Leu72) ассоциирован с высокими уровнями IGF-1 и может являться протективным фактором против накопления жира и сердечно-сосудистых осложнений при ожирении.

Необходимо отметить, что хотя были найдены многочисленные ассоциации генов *FTO* и *GHRL* с повышенным жиротложением для представителей разных этнических, социальных и возрастных групп, данные по изучению этих генетических маркеров в группе этнических русских, проживающих в северных регионах России, в современной литературе отсутствуют. Таким образом, данное исследование не только восполняет этот пробел, но и является продолжением исследований молекулярно-генетических маркеров ожирения, проводимых в лаборатории ауксологии человека НИИ антропологии МГУ.

Материалы и методы

Общая характеристика обследуемой выборки. Испытуемые, вошедшие в данное исследование, были обследованы в 2009–2010 гг. в рамках проекта, посвященного 300-летию юбилею основателя Московского университета М.В. Ломоносова. Было проведено комплексное антропологическое обследование детского населения сел Холмогоры (родина М.В. Ломоносова), Матигоры и Емецк, а также г. Архангельска. Материал собран методом поперечного сечения с соблюдением правил биоэтики и подписанием протоколов информированного согласия на каждого испытуемого (у младших школьников протоколы подписывали родители). В обследование вошли преимущественно дети, оба родителя которых русские (96%). 4% от общей выборки составили дети, один из родителей которых русский.

Были собраны образцы буккального эпителия у детей и подростков 10–17 лет с высоким и низким значением ИМТ (25 и 36 человек, соответственно, $10 \leq \text{ИМТ} \leq 90$ -го перцентиля по региональным стандартам), а также со средней массой тела (средние значения ИМТ – 30 человек) для молекулярно-генетического анализа с целью выявления ассоциаций между полиморфизмами гена *FTO* и *GHRL* с риском развития ожирения. ИМТ (индекс массы тела) определяли по формуле: $I = W/L^2$, где I – значение индекса, W – вес тела в кг, L – длина тела в м. Всего был собран 91 образец биологического материала (у 56 мальчиков и 35 девочек). Все обследованные были этническими русскими (табл. 1).

Таблица 1. Численное распределение обследованной выборки по трем подгруппам согласно уровню жиросотложения

Подгруппы	Мальчики	Девочки
Низкий ИМТ	28	8
Средний ИМТ	16	14
Высокий ИМТ	12	13
Всего	56	35

Молекулярно-генетическое исследование. Для исследования генотипа испытуемых в качестве биологического материала использовали соскоб буккального эпителия. Геномную ДНК выделяли методом щелочной экстракции. Генотип образцов геномной ДНК по выбранным полиморфным системам был определен методом минисеквенирования с последующей детекцией продуктов методом MALDI-TOF [Haff, Smirnov, 1997; Ross et al., 1998; Pusch et al., 2002]. Генотипирование проводили с использованием коммерческих тест-систем на базе ООО «Постгеномные и нанотехнологические инновации».

Антропометрическое исследование. Антропометрическое обследование проводилось по стандартной методике [Бунак, 1941] и включало обширный набор измерительных и описательных признаков (около 50), оценку стадий полового созревания; определение типа конституции.

С помощью биоимпедансометрии (БИА) оценивали компоненты массы тела. БИА – современный физический метод, широко применяемый в медицине и спорте для оценки жировой и мышечной составляющих массы тела, а также водного баланса. В данном исследовании применялся отечественный БИА-анализатор АВС-01 «Медасс» (г. Москва). Измерения производились по общепринятой схеме [Смирнов с соавт., 2009]. По формулам, реализованным в программном обеспечении анализатора, на основании измеренных реактивной и активной составляющих импеданса тела производилась оценка безжировой массы (БМТ-БИА) по формуле Л. Хауткопер [Houtkooper, 1996]. Жировую массу (ЖМТ-БИА) вычисляли как разность между массой тела и БМТ-БИА. Также оценивали скелетно-мышечную и активную клеточную массу (СММ-БИА, АКМ-БИА). Вычисляли процентное содержание жировой и безжировой массы в массе тела (%ЖМТ-БИА, %БМТ-БИА), процентное содержание скелетно-мышечной мас-

сы и активной клеточной массы в безжировой массе (%СММ-БИА).

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием стандартных пакетов статистических программ Statistica 6.0; Statistica 8.0. Достоверность различий оценивалась по t-критерию Стьюдента. Также применяли процедуру нормирования. При анализе детского материала, представленного в столь широком возрастном интервале, нормирование первичных данных часто является единственно возможной процедурой, позволяющей, в частности, объединить возрастные группы при расчете усредненных параметров корреляции. Кроме того, эта процедура позволяет сравнивать особенности внутригрупповой дифференциации независимо от возраста и пола. Для достижения поставленных задач использовались: метод главных компонент, канонический анализ, дисперсионный анализ и др.

Результаты и обсуждение

Подробная морфологическая характеристика исследуемой выборки представлена в статье Е.З. Годиной с соавт. [Годиной с соавт., 2011].

Поиск генетических детерминант риска развития ожирения имеет большое практическое значение, так как наследственные факторы остаются неизменными в течение всей жизни человека. Принимая во внимание тот факт, что ожирение носит полигенный характер, особенно актуальным является поиск тех генетических маркеров, которые в наибольшей мере обуславливают развитие избыточного веса. Ранее нами уже была исследована полиморфная система гена *FTO* и продемонстрированы ассоциации минорного А-аллеля с повышенным жиросотложением у спортсменов высокой квалификации [Бондарева, 2010]. В данном исследовании мы представляем новые результаты, полученные в ходе дальнейшего изучения гена *FTO* и полиморфной системы гена *GHRL*, в свете их влияния на развитие ожирения у детей и подростков, проживающих в условиях Севера.

Как уже отмечалось, исследуемая выборка была сформирована таким образом, чтобы в нее вошли дети и подростки со средним, повышенным (≥ 90 перцентиле ИМТ по региональным стандартам) и с пониженным значением ИМТ (≤ 10 ИМТ по региональным стандартам). Для того, чтобы проанализировать различия между тремя сформированными подгруппами по комплексу морфологических данных, был проведен канонический

Таблица 2. Результаты канонического анализа антропометрических показателей для трех подгрупп исследованной выборки (N=91)

Канонические корреляции, критерии, вероятность ошибки	Первая каноническая переменная	Вторая каноническая переменная
Каноническая корреляция	0.933	0.560
Критерий Уилкса	0.089	0.686
Вероятность ошибки (p)	0.000***	0.000***
Признаки	Стандартизованные коэффициенты канонических переменных	
Жировая масса, кг	-1.105	0.053
Жировая складка живота	0.197	-1.696
Жировая складка спины (под лопаткой)	-0.011	1.544
Накопленная пропорция	0.936	1.000
Подгруппы	Центральные точки (средние значения) канонических переменных	
Низкий ИМТ	2.377	0.369
Средний ИМТ	-0.848	-0.811
Высокий ИМТ	-4.695	0.874

Примечание. 0.000*** – $p < 0.0001$

анализ, результаты которого представлены в таблице 2 и на рисунке 1. Отсутствие трансгрессии между тремя подгруппами испытуемых свидетельствует о том, что сформированные подгруппы четко разделены по комплексу антропометрических характеристик (рис. 1). Следует особенно подчеркнуть, что в число дискриминирующих признаков вошли жировые складки, определяющие жиротложение на туловище – жировая складка под лопаткой и на животе (табл. 2). Трункальный характер расположения жира, в особенности в области живота, по данным ряда исследователей, является довольно грозным предиктором целого ряда заболеваний (сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет и др.) как во взрослом, так и в детском возрасте [Demerath et al., 2011].

Распределение частот встречаемости генотипов и аллелей в исследованной выборке. Численное распределение носителей генотипов генов *FTO* и *GHRL* в трех подгруппах исследованной выборки детей и подростков г. Архангельска и Архангельской обл. приведено в таблице 3. Частоты распределения генотипов исследованных генов, в целом для исследованной выборки, выглядят следующим образом: *FTO*AA* – 20%, *FTO*AT* – 49% и *FTO*TT* – 13%; *GHRL*AA* – 1%, *GHRL*AC* – 13% и *GHRL*CC* – 86%. Анализ частот встречаемости генотипов гена *FTO* в трех сформированных подгруппах свидетельствует о наличии в них неслучайных различий (χ^2 Пирсона = 11,3 $p=0.02$, при $df=4$). Сравнение частот аллелей в трех подгруппах не выявило достоверных

различий между подгруппой со средними и пониженными значениями ИМТ (*FTO*A* – 41.5% *FTO*T* – 58.5% против *FTO*A* – 40.0% *FTO*T* – 60.0%, соответственно), а также между подгруппами со средним и повышенным значением ИМТ (*FTO*A* – 41.5% *FTO*T* – 58.5% против *FTO*A* – 58.0% *FTO*T* – 42,0%, соответственно; χ^2 с поправкой Йетса = 2.02, $p=0.15$ при $df=1$). Тем не менее, в подгруппе детей с высоким значением ИМТ наблюдается повышение частоты встречаемости *AA* генотипа гена *FTO* относительно остальных подгрупп исследованной выборки. Для полиморфной системы гена грелина не было выявлено достоверных различий в частотах генотипов между тремя сформированными выборками (χ^2 Пирсона = 3.2 $p=0.52$, при $df=4$). В исследованной нами выборке только один человек является носителем гомозиготного генотипа по минорному *A*-аллелю, что, возможно, является следствием относительной малочисленности исследованного контингента, либо частота минорного аллеля не превышает 10% для исследованной популяции.

Ассоциации полиморфных систем генов FTO и GHRL с морфологическими особенностями в трех подгруппах исследованной выборки. В целом для испытуемых, в геноме которых присутствует хотя бы один минорный *A*-аллель системы *FTO*, характерны более высокие показатели жировой массы, определенной по результатам биоимпедансного анализа, а также большие значения толщины жировых складок (рис. 2).

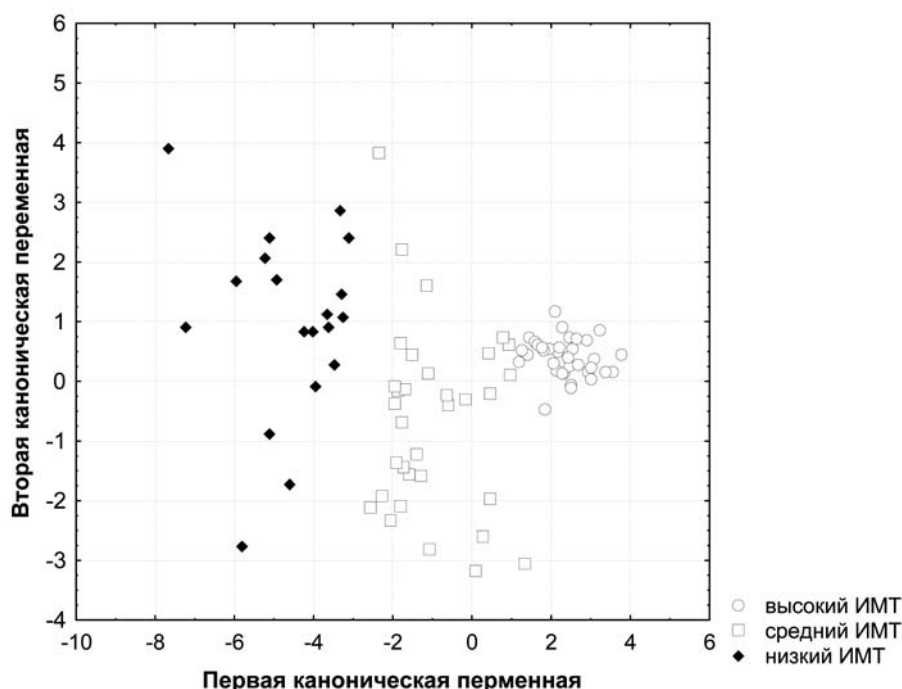


Рис. 1. График индивидуальных значений для трех подгрупп (с низким, нормальным и высоким значением ИМТ) исследованной выборки в осях 1-й и 2-й канонических переменных (анализ по комплексу антропометрических признаков)

Таблица 3. Численное распределение носителей генотипов генов *FTO* и *GHRL* в трех подгруппах исследованной выборки детей и подростков г. Архангельска и Архангельской обл.

Генотипы	Всего	Подгруппы		
		Низкий ИМТ (N=36)	Средний ИМТ (N=30)	Высокий ИМТ (N=25)
<i>FTO</i> *AA	18	8	2	8
<i>FTO</i> *AT	45	13	19	13
<i>FTO</i> *TT	28	15	9	4
<i>GHRL</i> *AA	1	0	0	1
<i>GHRL</i> *AC	12	5	3	4
<i>GHRL</i> *CC	78	31	27	20

Носители двух исходных аллелей гена *FTO* демонстрируют меньшее значение толщины кожно-жировой складки на животе, веса и ИМТ ($R=0.47$, $p=0.026$). Этот результат хорошо согласуется с данными других исследований [Frayling et al., 2007; Olszewski et al., 2009]. При разделении исследованной выборки на три подгруппы, согласно уровню жира отложения, сохраняется описанная выше тенденция. В подгруппе испытуемых со средним значением ИМТ не наблюдаются значительных различий между носителями разных генотипов. Также необходимо отметить, что в данной подгруппе всего 2 человека из 30 являются

гомозиготными по аллелю, предрасполагающему к набору веса (табл. 3). С одной стороны, это может быть связано с небольшой численностью данной подгруппы, а с другой, с тем, что среди детей, имеющих среднее значение ИМТ, данный «генотип риска» встречается довольно редко. Несмотря на отсутствие неслучайных статистических различий, в подгруппах детей с крайними значениями ИМТ (как максимальными, так и минимальными!) носители генотипа AA имеют большую толщину кожно-жировых складок (20 мм *FTO**TT против 30 мм для *FTO**AA, толщина жировой складки на спине в группе с повышенным

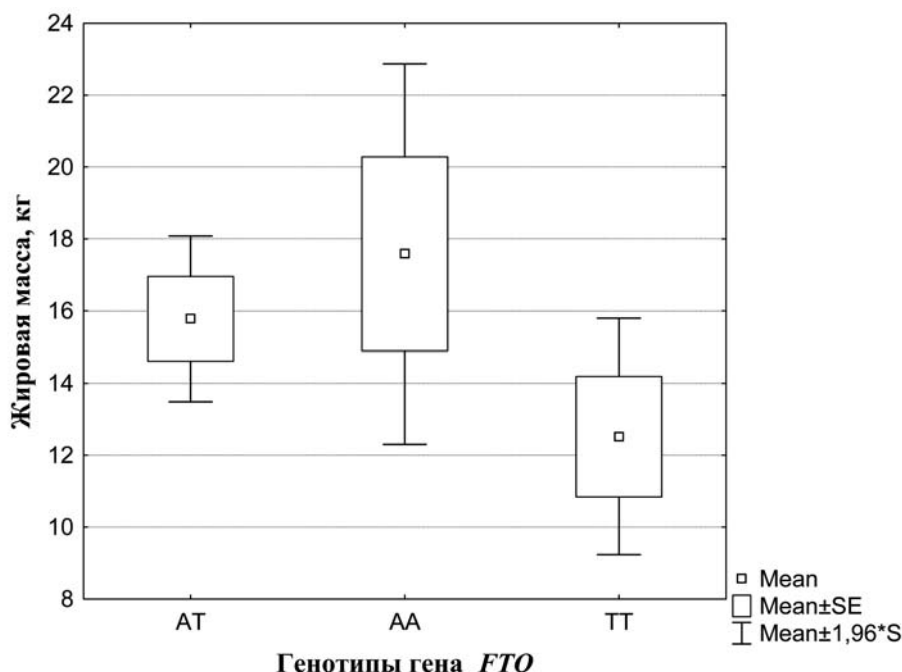


Рис. 2. Результаты дисперсионного анализа значений жировой массы тела испытуемых по генотипам гена *FTO*

ИМТ) и величину жировой массы (5.5 кг *FTO*TT* против 7.5 кг для *FTO*AA*, в группе с низким ИМТ). При этом носители двух исходных Т-аллелей демонстрируют наименьшие значения этих показателей, по сравнению с носителями хотя бы одного А-аллеля.

Впервые изученный нами полиморфизм гена *FTO* был описан в 2007 г. в результате геномного исследования, посвященного поиску генетических детерминант диабета 2 типа [Frayling et al., 2007]. На сегодняшний день ассоциации Т/А полиморфизма данного гена с риском ожирения многократно подтверждены независимыми исследованиями по всему миру. Как уже было сказано выше, роль белка *FTO* в контроле процессов, вовлеченных в энергетический метаболизм, является предметом активного изучения. Серия элегантных экспериментов, проведенных, на клеточных линиях мышей, нокаутных по гену *FTO*, а также на животных с нокаутным геном *FTO* дала следующие результаты: отсутствие белка *FTO* не влияет на расход энергии и на количество потребляемых с пищей калорий; нарушения в работе белка *FTO* уменьшают значение дыхательного коэффициента (соотношение выделяемого CO_2 к поглощенному O_2); тощая масса уменьшается, а жировая масса увеличивается; выключение экспрессии гена в медиобазальном отделе гипоталамуса незначительно влияет на обнаруженные эффекты [Gao et al., 2010; McMurray et al., 2013]. Резюмируя эти факты, мож-

но предположить, что контроль над энергетическим метаболизмом, осуществляемый *FTO*, основан на регулировании использования энергетических субстратов и связан, в основном, с периферическим метаболизмом, т.е. лежит в стороне от путей ЦНС.

Аналогично, носители минорного А-аллеля гена *GHRL* демонстрируют большую предрасположенность к накоплению подкожного жира (рис. 3). Как уже было сказано выше, в обследованной выборке только один человек является гомозиготным по А-аллелю данного гена. Однако данный испытуемый демонстрирует самые высокие значения величин кожножировых складок на корпусе и конечностях, наряду с носителями генотипа АС. Белковый продукт гена *GHRL* связан с регуляцией аппетита, контролем над расходом энергии и метаболизмом липидов [Scerif et al., 2011; Todd et al., 2009], что делает его перспективным кандидатом для исследований ассоциаций полиморфизмов данного гена с ожирением.

Однако в ряде исследований не было найдено ассоциаций полиморфизмов гена грелина с риском развития ожирения у европейцев [Kring et al., 2008] или с количественными признаками, указывающими на ожирение на примере населения Канады [Martin et al., 2008]. Исследованный нами полиморфизм С247А, приводит к замене аминокислоты лейцина на метионин (Leu72Met), но, несмотря на изменения в первичной структуре белка,

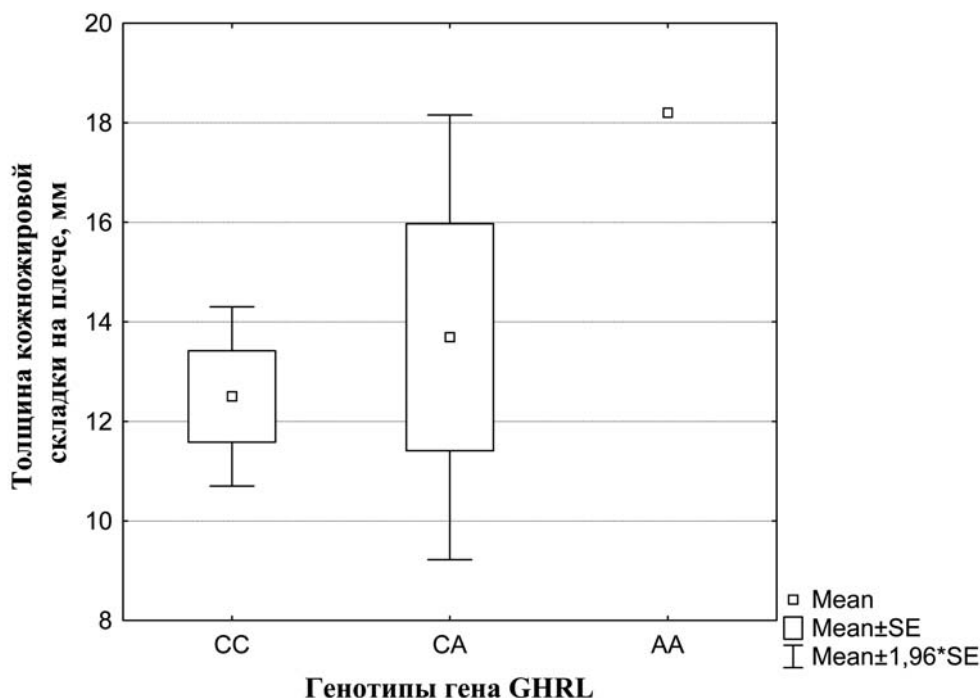


Рис. 3. Результаты дисперсионного анализа значений толщины кожножировой складки на задней поверхности плеча по генотипам гена *GHRL*

данная мутация не влияет на активность зрелого грелина или на его концентрацию в плазме крови [Ando et al., 2007]. Таким образом, сложно судить о конкретном молекулярном механизме влияния мутации Leu72Met на процессы, находящиеся под контролем данного гормона.

Возможно, для подобного рода исследований ключевым моментом является разделение исследуемого контингента по гендерному признаку. Так, были продемонстрированы различия в регуляции аппетита у мужчин и женщин после физических нагрузок [Todd et al., 2009]. Концентрация ацетилированной формы грелина, отвечающей за возникновение чувства голода, в плазме крови у женщин значительно увеличивалась после тренировок, заставляя женщин потреблять большее количество калорий с пищей, в отличие от мужчин.

В пользу продолжения исследований данного гена в свете его связи с ожирением у детей и подростков свидетельствуют данные, представленные в работе Вортли с соавторами [Wortley et al., 2005]. На модели нокаутных по гену грелина мышей показано, что отсутствие у молодых самцов данного гена защищает их от быстрого набора веса при содержании на высокожировой диете. Такие мыши демонстрируют повышенный расход энергии, так как значительно возрастает их двигательная активность. Более того, конституциональное отсутствие данного белка приводит к сдвигу метаболизма в сторону преимущественного

потребления жиров, а не углеводов [Wortley et al., 2004].

Подводя итог вышесказанному, можно сделать вывод, что при дальнейшем изучении влияния грелина на склонность к ожирению, по всей видимости, должно учитываться не только наличие тех или иных мутаций, но и пол, особенности образа жизни и двигательной активности, а также характер питания испытуемых. Необходимо также расширить численность исследуемой выборки для получения более достоверных данных.

Заключение

Хотя достоверных отличий в изученных группах по гену *GHRL* не найдено, можно предположить, что наличие в генотипе обследованных нами детей и подростков г. Архангельска и Архангельской обл. минорных аллелей полиморфных систем генов *FTO* и *GHRL* может рассматриваться как фактор риска развития повышенного жираотложения. В продолжение данного исследования было бы целесообразно увеличить объемы исследованных подгрупп, а также сравнить особенности образа жизни, в частности, характера питания и двигательной активности у детей, включенных в эти подгруппы.

Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 10-06-00582-а).

Библиография

- Бондарева Э.А. Т/А полиморфизм гена *FTO* ассоциирован с избыточным весом // Вестник Московского университета. Серия XXIII. Антропология, 2010. № 4. С. 65–69.
- Бунак В.В. Антропометрия. М., 1941. 367 с.
- Година Е.З., Хомякова И.А., Задорожная Л.В., Анисимова А.В., Иванова Е.М., Пермьякова Е.Ю., Свищунова Н.В., Степанова А.В., Гилярова О.А., Зубарева В.В. Ауксологические исследования на родине М.В.Ломоносова // Вестник Московского университета. Серия XXIII. Антропология, 2011. № 3. С. 35–57.
- Смирнов А.В., Колесников В.А., Николаев Д.В., Ерюкова Т.А. ABC-01 «Медасс»: анализатор оценки баланса водных секторов организма с программным обеспечением (руководство пользователя). М.: НТЦ Медасс, 2009. 38 с.
- Ando T., Ichimaru A.T., Konjiki F., Shoji M., Komaki G. Variations in the preproghrelin gene correlate with higher body mass index, fat mass, and body dissatisfaction in young Japanese women // *Am. J. Clin. Nutr.*, 2007. Vol. 86. P. 25–32.
- Andreasen C.H., Andersen G. Gene-environment interactions and obesity-further aspects of genomewide association studies // *Nutrition*, 2009. P. 9998–1003.
- Boissel S., Reish O., Proulx K., Kawagoe-Takaki H., Sedgwick B., Yeo G.S., Meyre D., Golzio C., Molinari F., Kadhom N., Etchevers H.C., Saudek V., Farooqi I.S., Froguel P., Lindahl T., O'Rahilly S., Munnich A., Colleaux L. Loss-of-function mutation in the dioxygenase-encoding *FTO* gene causes severe growth retardation and multiple malformations // *Am. J. Hum. Genet.*, 2009. P. 106–111.
- Broglio F., Arvat E., Benso A., Gottero C., Muccioli G., Papotti M., van der Lely A.J., Deghenghi R., Ghigo E. Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002. Vol. 86. P. 5083–5086.
- Date Y., Kojima M., Hosoda H., Sawaguchi A., Mondal M.S., Saganuma T., Matsukura S., Kangawa K., Nakazato M. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans // *Endocrinology*, 2000. Vol. 141. P. 4255–4261.
- Demerath E.W., Rogers N.I., Reed D., Lee M., Choh A.C., Siervogel R.M., Chumlea Wm. C., Towne B., Czerwinski S.A. Significant associations of age, menopausal status and lifestyle factors with visceral adiposity in African-American and European-American women // *Ann. Hum. Biol.*, 2011. Vol. 38, N. 3. P. 247–256.
- Frayling T.M., Timpson N.J., Weedon M.N., Zeggini E., Freathy R.M., Lindgren C.M., Perry J.R., Elliott K.S., Lango H., Rayner N.W., Shields B., Harries L.W., Barrett J.C., Ellard S., Groves C.J., Knight B., Patch A.M., Ness A.R., Ebrahim S., Lawlor D.A., Ring S.M., Ben-Shlomo Y., Jarvelin M.R., Sovio U., Bennett A.J., Melzer D., Ferrucci L., Loos R.J., Barroso I., Wareham N.J., Karpe F., Owen K.R., Cardon L.R., Walker M., Hitman G.A., Palmer C.N., Doney A.S., Morris A.D., Smith G.D., Hattersley A.T., McCarthy M.I. A common variant in the *FTO* gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity // *Science*, 2007. P. 889–894.
- Gao X., Shin Y.H., Li M., Wang F., Tong Q., Zhang P. The fat mass and obesity associated gene *FTO* functions in the brain to regulate postnatal growth in mice // *PLoS ONE*. 2010: e14005. doi:10.1371/journal.pone.0014005.
- Gerken T., Girard C.A., Tung Y.C., Webby C.J., Saudek V., Hewitson K.S., Yeo G.S., McDonough M.A., Cunliffe S., McNeill L.A., Galvanovskis J., Rorsman P., Robins P., Prieur X., Coll A.P., Ma M., Jovanovic Z., Farooqi I.S., Sedgwick B., Barroso I., Lindahl T., Ponting C.P., Ashcroft F.M., O'Rahilly S., Schofield C.J. The obesity-associated *FTO* gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase // *Science*, 2007. P. 11469–1472.
- Giudice M.E., Santoro N., Cirillo G., Raimondo P., Grandone A., D'Aniello A., Di Nardo M., Perrone L. Molecular screening of the ghrelin gene in Italian obese children: the Leu72Met variant is associated with an earlier onset of obesity // *Int. J. Obese. Relat. Metab. Disord.*, 2004. Vol. 28. P. 447–450.
- Haff L.A., Smirnov I.P. Single-nucleotide polymorphism identification assays using a thermostable DNA polymerase and delayed extraction MALDI-TOF mass spectrometry // *Genome Research*, 1997. P. 378–388.
- Hinney A., Hoch A., Geller F., Schafer H., Siegfried W., Goldschmidt H., Remschmidt H., Hebebrand J. Ghrelin gene: identification of missense variants and a frameshift mutation in extremely obese children and adolescents and healthy normal weight students // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002. Vol. 87. P. 2716–2719.
- Houtkooper L.B. Assessment of body composition in youths and relationship to sport // *Int. J. Sport. Nutr.*, 1996. Vol. 6. N 2. P. 146–164.
- Jia G., Yang C.G., Yang S., Jian X., Yi C., Zhou Z., He C. Oxidative demethylation of 3-methylthymine and 3-methyluracil in single-stranded DNA and RNA by mouse and human *FTO* // *FEBS Lett.*, 2008. P. 3313–3319.
- Korbonits M., Gueorguiev M., O'Grady E., Lecoecur C., Swan D.C., Mein C.A., Weill J., Grossman A.B., Froguel P. A variation in the ghrelin gene increases weight and decreases insulin secretion in tall, obese children // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002. Vol. 87. P. 4005–4008.
- Kring S.I., Larsen L.H., Holst C., Toubro S., Hansen T., Astrup A., Pedersen O., Sorensen T.I. Genotype-phenotype associations in obesity dependent on definition of the obesity phenotype // *Obes. Facts.*, 2008. N 1. P. 138–145.
- Maes H.H., Neale M.C., Eaves L.J. Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity // *Behav. Genet.*, 1997. P. 325–351.
- Martin G.R., Loreda J.C., Sun G. Lack of association of ghrelin precursor gene variants and percentage body fat or serum lipid profiles // *Obesity (Silver Spring)*, 2008. Vol. 16. P. 908–912.
- McMurray F., Church C.D., Larder R., Nicholson G., Wells S., Teboul L., Tung Y.C., Rimmington D., Bosch F., Jimenez V., Yeo G.S., O'Rahilly S., Ashcroft F.M., Coll A.P., Cox R.D. Adult onset global loss of the *fto* gene alters body composition and metabolism in the mouse // *PLoS Genet.*

- 2013 Jan; 9(1): e1003166. doi:10.1371 / journal. pgen. 1003166.
- Murata M., Okimura Y., Iida K., Matsumoto M., Sowa H., Kaji H., Kojima M., Kangawa K., Chihara K. Ghrelin modulates the downstream molecules of insulin signaling in hepatoma cells // *J. Biol. Chem.*, 2002. Vol. 277. P. 5667–5674.
- Nakazato M., Murakami N., Date Y., Kojima M., Matsuo H., Kangawa K., Matsukura S. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. // *Nature*, 2001. Vol. 409. P. 194–198.
- Olszewski P.K., Fredriksson R., Olszewska A.M., Stephansson O., Alsjio J., Radomska K.J., Levine A.S., Schiith H.B. Hypothalamic *FTO* is associated with the regulation of energy intake not feeding reward // *BMC Neurosci.*, 2009. P. 129.
- Pusch W., Wurmbach J.-H., Thiele H., Kostrzewa M. MALDI-TOF mass spectrometry-based SNP genotyping // *Pharmacogenomics*, 2002. P. 537–548.
- Ross P., Hall L., Smirnov I., Haff L. High level multiplex genotyping by MALDI-TOF mass spectrometry // *Nature Biotechnol.*, 1998. P. 1347–1351.
- Scerif M., Goldstone A.P., Korbonits M. Ghrelin in obesity and endocrine diseases // *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2011. Vol. 340. P. 15–25.
- Steinle N.I., Pollin T.I., O'Connell J.R., Mitchell B.D., Shuldiner A.R. Variants in the ghrelin gene are associated with metabolic syndrome in the Old Order Amish // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, Vol. 90. P. 6672–6677.
- Stunkard A.J., Sorensen T.I. Obesity and socioeconomic status – a complex relation // *N. Engl. J. Med.*, 1993. P. 1036–1037.
- Todd A.H., Carrie G.S., Brooke R.S., George N.W., Silva J.E., Chipkin S.R., Braun B. Effects of exercise on energy-regulating hormones and appetite in men and women // *Amer. J. Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2009. Vol. 296. P. 233–242.
- Ukkola O., Ravussin E., Jacobson P., Snyder E., Chagnon M., Sjostrom L., Bouchard C. Mutations in the preproghrelin/ghrelin gene associated with obesity in humans // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001. Vol. 86. P. 3996–3999.
- Wortley K.E., Anderson K.D., Garcia K., Murray J.D., Malinova L., Liu R., Moncrieffe M., Thabet K., Cox H.J., Yancopoulos G.D., Wiegand S.J., and Sleeman M.W. Genetic deletion of ghrelin does not decrease food intake but influences metabolic fuel preference // *PNAS.*, 2004. Vol. 101. P. 8227–8232.
- Wortley K.E., Rincon J-P, Murray J.D., Garcia K., Iida K., Thorner M.O., Sleeman M.W. Absence of ghrelin protects against early-onset obesity // *The Journal of Clinical Investigation*, 2005. Vol. 15. P. 3573–3578.

Контактная информация:

Бондарева Эльвира Александровна:

e-mail: bondareva.e@gmail.com;

Година Елена Зиновьевна: e-mail: egodina@rambler.ru.

ASSOCIATION OF THE POLYMORPHIC GENE SYSTEMS *FTO* AND *GHRL* WITH RISK OF OBESITY DEVELOPMENT IN CHILDREN AND ADOLESCENTS

E.A. Bondareva, E.Z. Godina

Lomonosov Moscow State University, Institute and Museum of Anthropology, Moscow

Introduction. The problem of human fatness is one of the most urgent in the modern world. Studies in the field of anthropogenetics and functional genomics revealed some genetic determinants of increased fat accumulation and, as a consequence, of obesity development.

Materials and Methods. Samples of buccal smears were collected from 10–17-year-olds, living in Arkhangelsk region for molecular genetic analysis of associations between T/A (*rs9939609*) polymorphism of the *FTO* gene and C/A (*rs696217*) polymorphism of *GHRL* gene and the risk of obesity development. The whole sample was divided into three subgroups: those with obesity and low fatness (25 and 36 persons correspondingly, $10 \leq \text{BMI} \leq 90$ percentile according to local references), and also with normal BMI (30 persons).

Results and discussion. Frequencies of the genotype distribution of the *FTO* and *GHRL* polymorphisms for the whole sample are as follows: *FTO**AA – 20%, *FTO**AT – 49% and *FTO**TT – 13%. *GHRL**AA – 1%, *GHRL**AC – 13% and *GHRL**CC – 86%. The distribution of the *FTO* genotypes reveals nonrandom differences (Pearson's chi-squared test (χ^2) = 11.3 $p=0.02$, $df=4$). For the *GHRL* gene no significant differences were found. The presence of rare allele of the *FTO* gene polymorphic system in the genotypes of investigated Archangelsk children could be considered as a risk-factor of obesity development.

Keywords: anthropology, anthropogenetics, auxology, obesity, *FTO* polymorphism, *GHRL* polymorphism, molecular genetic markers