

Н.В. Кох^{1, 2}, Е.В. Шрайнер^{1, 2}, Е.Н. Воронина^{1, 2}, А.Я. Ковалева¹, Г.И. Лифшиц^{1, 2}¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Российская Федерация² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Российская Федерация

Изучение ассоциации полиморфных локусов rs5400 гена *SLC2A2* (*GLUT2*) и rs4684677 гена *GHRL* с избыточной массой тела и предпочтением углеводов у детей дошкольного и младшего школьного возраста

Автор, ответственный за переписку:

Ковалева Анна Ярославовна, младший научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины, ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН

630090, Новосибирск, пр-т Академика Лаврентьева, 8, +7(913)910-14-77, a.kovaleva@inbox.ru

Аннотация

Обоснование. На сегодняшний день избыточная масса тела и ожирение рассматриваются как эпидемия, охватившая миллионы людей во всем мире. Избыточная масса тела у ребенка повышает фактор риска развития ожирения во взрослом возрасте. Пищевые предпочтения формируются в детском возрасте под влиянием экологических, культурных и генетических факторов, последние из которых на сегодняшний день остаются неизученными. **Цель исследования** — изучить ассоциацию полиморфных локусов rs5400 гена *SLC2A2* (*GLUT2*) и rs4684677 гена *GHRL* с избыточной массой тела и с предпочтением углеводов у детей дошкольного и младшего школьного возраста. **Методы.** В исследовании приняли участие 92 пациента в возрасте от 3 до 11 лет. 56 пациентов согласились провести оценку пищевых предпочтений, всем пациентам выполнялось генотипирование полиморфных локусов генов *SLC2A2* и *GHRL*. **Результаты.** Все пациенты были поделены на группы в зависимости от пищевого поведения (соотношение углеводов в рационе), а также по наличию избытка массы тела. Вероятность употребить избыточное количество углеводов была выше при носительстве генотипа «G/A» по сравнению с носителями «G/G» гена *SLC2A2* (отношение шансов 9,3; 95% доверительный интервал [1,8–47,3]; $p = 0,004$). Не было получено статистически значимых различий распределения генотипов гена *GHRL* в группе с переизбытком углеводов и в контрольной ($p > 0,05$). При оценке связи rs5400 гена *SLC2A2* и rs4684677 гена *GHRL* с избытком массы тела у детей статистически значимых различий не выявлено ($p > 0,05$). **Заключение.** Существуют генетические предикторы развития ожирения во взрослой популяции. Так, полиморфные локусы rs5400 гена *SLC2A2* и rs4684677 гена *GHRL* являются фактором риска избыточной массы тела. В нашем исследовании, выполненном на выборке детей, не было обнаружено связи полиморфных локусов вышеобозначенных генов с детским ожирением. Выявлена ассоциативная связь генотипа «G/A» гена *SLC2A2* с избыточным потреблением углеводов. Так, отношение шансов употребить избыточное количество углеводов было выше при носительстве генотипа «G/A» по сравнению с носителями «G/G» составило: ОШ = 9,3; ДИ = [1,8–47,3]; $p = 0,004$. Возможно, это связано с тем, что данные генетические варианты не являются факторами риска ожирения в детском возрасте. Эти вопросы требуют дальнейшего изучения в рамках развития концепции персонализированной медицины.

Ключевые слова: избыток массы тела, ожирение, дети, генетические маркеры

Для цитирования: Кох Н.В., Шрайнер Е.В., Воронина Е.Н., Ковалева А.Я., Лифшиц Г.И. Изучение ассоциации полиморфных локусов rs5400 гена *SLC2A2* (*GLUT2*) и rs4684677 гена *GHRL* с избыточной массой тела и предпочтением углеводов у детей дошкольного и младшего школьного возраста. *Российский педиатрический журнал*. 2021;2(1):20–27. doi: 10.15690/rpj.v2i1.2189

ОБОСНОВАНИЕ

Избыточная масса тела и ожирение рассматриваются Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) как эпидемия, охватившая миллионы людей во всем мире [1]. Раньше избыточный вес и ожирение ассоциировались с высоким уровнем дохода, но на сегодняшний день это опрометчивое утверждение [2]. Все больше

детей и взрослых с низким или средним уровнем дохода страдают ожирением, особенно в южных странах [3]. На сегодняшний день, по данным ВОЗ, насчитывается более 25% детей с избыточной массой тела и ожирением во всем мире [4]. Избыточная масса тела у ребенка повышает фактор риска развития ожирения во взрослом возрасте [4].

Клиническая значимость ожирения определяется высокой угрозой инвалидизации детей и подростков, снижения качества и общей продолжительности жизни [5]. Большое количество осложнений ожирения приводит к развитию тяжелых сопутствующих заболеваний. Частая ассоциация с составляющими метаболического синдрома: нефропатией (микро- или макроальбуминурией) — ко времени установления диагноза может присутствовать в 32% случаев; артериальной гипертензией — до 35% случаев; дислипидемией — до 72% случаев; неалкогольной жировой дистрофией печени (НАЖДП) — стеатогепатитом — в 30% случаев; диабетической ретинопатией — до 9–12% случаев; системным воспалением — повышенным уровнем С-реактивного белка, цитокинов воспаления и лейкоцитов [5].

Известны генетические маркеры, связанные с массой тела и влияющие на:

- потребление большого количества продуктов с высоким гликемическим индексом [6];
- потребление большого количества продуктов с повышенным содержанием жиров [7, 8];
- скорость возникновения чувства насыщения [9];
- склонность к перееданию и т.п. [9].

Генетические предикторы имеют большее значение в детском возрасте, так как дети дошкольного и младшего школьного возраста, как правило, не обладают осознанным самоконтролем в отношении потребляе-

мой пищи [5]. Пищевые предпочтения формируются под влиянием большого количества экологических, культурных и генетических факторов, последние из которых на сегодняшний день практически не изучены [10]. Мы не встретили работ по генетическим факторам пищевых предпочтений и формирования ожирения, выполненных на популяции Сибирского региона России.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить ассоциацию полиморфных локусов rs5400 (NC_000003.12: g.171014511G>A (GRCh38.p12)) гена SLC2A2 и rs4684677 (NC_000003.12: g.10286769T>A (GRCh38.p12)) гена GHRL с избыточной массой тела и с предпочтением углеводов у детей дошкольного и младшего школьного возраста.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Исследование типа «случай-контроль».

Условия проведения исследования

Исследование выполнено на базе клиники отдела ЦНМТ ИХБФМ СО РАН г. Новосибирска в период с 2018 по 2019 г., в исследование были включены 92 пациента, обратившихся на амбулаторный прием к врачу-педиатру или эндокринологу.

Natalia V. Kokh^{1, 2}, Evgeniya V. Schreiner^{1, 2}, Elena N. Voronina^{1, 2}, Anna Ya. Kovaleva¹, Galina I. Lifshits^{1, 2}

¹ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation

Study of association of the rs5400 polymorphic locus in the SLC2A2 (GLUT2) gene and the rs4684677 polymorphic locus in the GHRL gene with excess body weight and preference for carbohydrates in preschool and primary school-aged children

Abstract

Background. Today excess body weight and obesity are considered an epidemic affecting millions of people around the world. Excess body weight in children increases the risk of development of obesity in adult age. Food preferences are formed in childhood and influenced by environmental, cultural, and genetic factors; the latter remaining unclear. **Objective.** The study aimed at investigating the association of the rs5400 polymorphic locus of the SLC2A2 (GLUT2) gene and the rs4684677 polymorphic locus of the GHRL gene with excess body weight and preference for carbohydrates in preschool and primary school-aged children. **Methods.** The study enrolled 92 patients aged between 3 and 11 years; 56 patients gave consent for the assessment of their food preferences. Genotyping of polymorphic loci in the SLC2A2 and GHRL genes was carried out for all patients. **Results.** All patients were divided into groups depending on their eating habits (the ratio of dietary carbohydrates), as well as the presence of excess body weight. The probability of consumption of excessive amounts of carbohydrates appeared to be higher for carriers of the G/A genotype in the SLC2A2 gene as compared to the G/G carriers (odds ratio: 9.3; 95 % confidence interval [1.8–47.3]; $p = 0.004$). No statistically significant differences in the distribution of genotypes of the GHRL gene have been found between the group with carbohydrate overconsumption and the control group ($p > 0.05$). Likewise, no statistically significant differences were found in the evaluation of association of the rs5400 polymorphism in the SLC2A2 gene and the rs4684677 polymorphism in the GHRL gene with excess body weight in children ($p > 0.05$). **Conclusion.** There are genetic predictors of obesity in adult population. Thus, for example, the rs5400 polymorphism in the SLC2A2 gene and rs4684677 in the GHRL gene are the risk factors for excess body weight. Our study in a pediatric population did not reveal any association of the presence of polymorphic loci in the above-mentioned genes with obesity in children. The association of the G/A genotype of the SLC2A2 gene with excess carbohydrate consumption was revealed: the odds ratio for excess carbohydrate consumption was higher in the G/A carriers as compared to the G/G carriers: OR = 9.3; CI = [1.8–47.3]; $p = 0.004$. This finding is probably related to the fact that these genetic variants are not risk factors for obesity in childhood. These issues require further investigation within the framework of personalized medicine.

Keywords: excess body weight, obesity, children, genetic markers

For citation: Kokh Natalia V., Schreiner Evgeniya V., Voronina Elena N., Kovaleva Anna Ya., Lifshits Galina I. Study of association of the rs5400 polymorphic locus in the SLC2A2 (GLUT2) gene and the rs4684677 polymorphic locus in the GHRL gene with excess body weight and preference for carbohydrates in preschool and primary school-aged children. *Rossiiskij pediatričeskij žurnal — Russian Pediatric Journal*. 2021;2(1):20–27. doi: 10.15690/rpj.v2i1.2189

Критерии соответствия

Критерии включения:

- возраст от 3 до 11 лет;
- мальчики и девочки;
- подписанное информированное добровольное согласие;
- отсутствие декомпенсированных заболеваний, инвалидности, органических поражений головного мозга, выраженных поведенческих расстройств, хромосомной патологии; эндокринной патологии (СД, гипотиреоз);
- наличие данных антропометрии;
- согласие на забор буккального эпителия для проведения генетического теста.

Описание критериев соответствия (диагностические критерии)

Возрастные критерии определены согласно цели исследования детей дошкольного (3–6 лет) и младшего школьного возраста (7–11 лет).

Подбор участников в группы

Подбор пациентов осуществлялся врачом-педиатром и врачом-эндокринологом на амбулаторном приеме согласно указанным критериям включения.

Целевые показатели исследования

Основной показатель исследования

Всем пациентам проводилось генотипирование полиморфных локусов NC_000003.12: g.171014511G>A (GRCh38.p12) гена *SLC2A2* и NC_000003.12: g.10286769T>A (GRCh38.p12) гена *GHRL*.

Дополнительные показатели исследования

Всем пациентам проводилась оценка пищевого поведения с помощью анкетирования для уточнения избыточного употребления углеводов. Также у пациентов проводилась оценка наличия диагноза «Ожирение, обусловленное избыточным поступлением энергетических ресурсов».

Методы измерения целевых показателей

Для анализа аллелей генов *GLUT2* и *GHRL* использовались образцы буккального эпителия пациентов. Выделение ДНК из клинических образцов осуществлялось по стандартной методике. Генотипирование проводилось в лаборатории фармакогеномики ИХБФМ СО РАН методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

В исследовании использовалась индивидуальная анкета по пищевым предпочтениям, включающая наиболее распространенные продукты, влияющие на набор массы тела [11]. Результаты анкетирования были внесены в единую базу данных пациентов. Были использованы рекомендации Роспотребнадзора по физиологическим потребностям разных возрастных групп за 2009 г. [12].

Классификация ожирения у детей была выполнена с помощью антропометрии и программы Aukhology, где учитываются возраст и пол ребенка [5].

Переменные (предикторы, конфаундеры, модификаторы эффекта)

Не использовались.

Статистические процедуры

Принципы расчета размера выборки

Расчет объема выборки не проводился.

Статистические методы

Результаты исследования обрабатывались с использованием стандартного пакета программ STATISTICA 8.0.

Значимость различий качественных характеристик оценивали с использованием критерия χ^2 и двустороннего точного теста Фишера. Рассчитывали отношение шансов (ОШ) с его 95% доверительным интервалом (ДИ). Соответствием равновесия Харди – Вайнберга ($p^2 + 2pq + q^2 = 1$) определялась правильность распределения частот генотипов для каждого полиморфного локуса.

Тесты на соблюдение равновесия Харди – Вайнберга и выявление ассоциаций методом χ^2 проводилось с помощью программы DeFinetti на сайте Института генетики человека. Для всех статистических расчетов при $p < 0,05$ результат считали статистически значимым.

Этическая экспертиза

Настоящее исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека». Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ЦНМТ ИХБФМ (Протокол № 15 от 12.03.2018).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Формирование выборки исследования

На основании опроса и анкетных данных проведено исследование пищевого поведения и состава рациона питания по потреблению белков, жиров и углеводов. С учетом этих данных детей, в рационе которых содержание углеводов превышало 60%, включали в группу № 1 «Избыток углеводов», а детей, у которых содержание углеводов было нормальным, включали в группу № 2 «Нормальное содержание углеводов».

На основании антропометрических данных все пациенты были поделены на дополнительные группы. В группу № 3 «Ожирение» включены пациенты, имеющие диагноз «Ожирение, обусловленное избыточным поступлением энергетических ресурсов», имеющие отклонения +2 и более SDS ИМТ, и дети с избыточной массой тела от +1 до +2 SDS ИМТ.

В группу № 4 «Контроль» включены пациенты с нормальной массой тела.

Характеристики выборки (групп) исследования

В исследование были включены 92 ребенка, из которых 54 ребенка (58,7%) с нормальной массой тела, 8 детей (8,7%) — с избыточной массой тела и 30 детей (32,6%) — с ожирением. У 56 детей были заполнены анкетные данные, у остальных 36 детей анкетные данные отсутствовали. Детей с известными анкетными данными (56 человек) разделили на две группы по принципу потребления избыточного количества углеводов (табл. 1).

Группа № 1 «Избыток углеводов». Было включено 27 детей, среди которых 5 детей (18,5%) имели нормальную массу тела, а 22 ребенка (81,5%) — с ожирением. В пищевых дневниках пациентов данной группы отмечалось частое (более 60%) употребление продуктов с высоким гликемическим индексом.

Группа № 2 «Нормальное содержание углеводов». Были включены 29 детей, не имеющих переизбытка углеводов (60% и менее углеводов в рационе питания). Среди них 21 ребенок (72,4%) с нормальной массой тела, а 8 детей (27,6%) — с ожирением.

Деление на группы по принципу наличия избыточной массы тела и ожирения (92 человека).

Группа № 3 «Ожирение». Включены пациенты, имеющие диагноз «Ожирение, обусловленное избыточным поступлением энергетических ресурсов», имеющие откло-

Таблица 1. Дизайн исследования
Table 1. Study design

Деление на группы по принципу потребления избыточного количества углеводов (n = 56)	
Группа № 1, n = 27 «Избыток углеводов» Дети, у которых на основании анализа дневника питания содержание углеводов в рационе более 60%	Группа № 2, n = 29 «Нормальное содержание углеводов» Дети, у которых на основании анализа дневника питания содержание углеводов в рационе менее 60%
Деление на группы по принципу наличия избыточной массы тела и ожирения (n = 92)	
Группа № 3, n = 38 «Ожирение» Дети с избыточной массой тела и ожирением (SDS > 1)	Группа № 4, n = 54 «Контроль» Дети с нормальной массой тела

Таблица 2. Частота негенетических факторов риска ожирения в группах «Ожирение» и «Контроль» (критерий χ^2 , различия значимы при $p < 0,05$) у детей с анкетными данными (n = 56)

Table 2. Frequency of non-genetic risk factors for obesity in the “obesity” and “control” groups (χ^2 -test, differences are significant at $p < 0.05$) in children with questionnaire data (n = 56)

Признак	Группа	Группа № 3 «Ожирение»	Группа № 4 «Контроль»	χ^2 , p
Количество, n (%), из них:		35 (62,5%)	21 (37,5%)	
потребление легкоусвояемых углеводов, n (%)		30 (85,7%)	17 (80,9%)	0,22, 0,63
потребление сложных углеводов, n (%)		19 (54,3%)	12 (57,1%)	0,043 0,83

Таблица 3. Сравнение частоты встречаемости генотипов и аллелей полиморфного локуса rs5400 гена SLC2A2 в группе № 1 «Избыток углеводов» и группе № 2 «Нормальное содержание углеводов»

Table 3. Comparison of frequency of occurrence of genotypes and alleles of the rs5400 polymorphic locus in the SLC2A2 gene in group 1 “Excessive carbohydrates” and in group 2 “Normal carbohydrate consumption”

Группа	Частота встречаемости генотипов, n (%) SLC2A2, rs5400			Частота встречаемости аллеля, %		Соответствие закону Харди – Вайнберга (Exact test), p
	G/G	G/A	A/A	G	A	
№ 1	16 (59,3%)	11 (40,7%)	0	79,6%	20,4%	0,184
№ 2	27 (93,1%)	2 (6,9%)	0	96,5%	3,5%	0,843

нения +2 и более SDS IMT, и дети с избыточной массой тела от +1 до +2 SDS IMT.

По классификации ожирения у детей:

- I степени SDS от 2 до 2,6 — 11 детей (28,9%);
- II степени SDS от 2,6 до 3,1 — 8 детей (21,1%);
- III степени SDS от 3,1 до 3,9 — 8 детей (21,1%);
- IV степени SDS от 3,9 и более — 3 ребенка (7,8%);
- избыточная масса от +1 до +2 SDS — 8 детей (21,1%);
- всего детей с избыточной массой тела и ожирением — 38 (41,3%).

Группа № 4 «Контроль». Включены пациенты с нормальной массой тела, соответствующей полу и возрасту. Нормальная масса тела у 54 детей (58,7%).

Негенетические факторы риска, связанные с количеством потребления сложных/простых углеводов, у детей с ожирением и из контрольной группы не различались (табл. 2). Так как в доступных источниках информации нет данных о норме употребления легкоусвояемых углеводов, то нами была проведена оценка рациона питания. Мы составили анкеты для оценки питания у ребенка в течение суток на основании опроса. Данную анкету дети заполняли совместно с родителями. Был произведен расчет количества употребления суммарно всех углеводов, включая простые и сложные, а также белков и жиров, исходя из про-

центного содержания нормы ВОЗ по возрастным группам. Таким образом группы были разделены на две подгруппы: те, кто передал углеводы, и те, кто не передал.

Основные результаты исследования

Оценка связи генотипа и аллелей полиморфного локуса rs5400 гена SLC2A2 с потреблением избыточного количества углеводов у детей

Определены частоты встречаемости аллелей и генотипов по полиморфному локусу rs5400 гена SLC2A2 в обеих группах (табл. 3). Распределение частот генотипов соответствовало закону Харди – Вайнберга. Статистически значимым считали результат при $p < 0,05$.

Для оценки ассоциации носительства редкого аллеля «А» с вероятностью избыточного потребления углеводов мы рассчитали отношение шансов (ОШ). Так как в нашей выборке не было обнаружено ни одного человека с гомозиготным носительством аллеля «А», сравнение проводили для гомозигот «G/G» и гетерозигот «G/A». Вероятность употребления избыточного количества углеводов была выше при носительстве генотипа «G/A» по сравнению с носителями «G/G» (ОШ = 9,3; ДИ = [1,8–47,3]; $p = 0,004$).

Таким образом, генотип «G/A» полиморфного локуса rs5400 гена SLC2A2 в нашем исследовании был ассоциирован с избыточным потреблением углеводов, в том

Таблица 4. Сравнение частоты встречаемости генотипов и аллелей полиморфного локуса rs5400 гена SLC2A2 в группе № 3 и группе № 4

Table 4. Comparison of frequency of occurrence of genotypes and alleles of the rs5400 polymorphic locus in the SLC2A2 gene in group 3 and group 4

Группа	Частота встречаемости генотипов, n (%) SLC2A2, rs5400			Частота встречаемости аллеля, %		Соответствие закону Харди – Вайнберга (Exact test), p
	G/G	G/A	A/A	G	A	
№ 3	28 (73,7%)	10 (26,3%)	0	86,8%	13,2%	0,353
№ 4	47 (87%)	7 (13%)	0	87,8%	12,2%	0,614

Таблица 5. Сравнение частоты встречаемости генотипов и аллелей полиморфного локуса rs4684677 гена GHRL в группе № 1 «Избыток углеводов» и группе № 2 «Нормальное содержание углеводов»

Table 5. Comparison of frequency of occurrence of genotypes and alleles of the rs4684677 polymorphic locus in the GHRL gene in group 1 “Excessive carbohydrates” and in group 2 “Normal carbohydrate consumption”

Группа	Частота встречаемости генотипов, n (%) GHRL, rs4684677			Частота встречаемости аллеля, %		Соответствие закону Харди – Вайнберга (Exact test), p
	T/T	T/A	A/A	T	A	
№ 1	24 (88,8%)	3 (11,2%)	0	94,4%	5,5%	0,743
№ 2	25 (86,2%)	4 (13,8%)	0	93,1%	6,9%	0,734

Таблица 6. Сравнение частоты встречаемости генотипов и аллелей полиморфного локуса rs4684677 гена GHRL в группе № 3 «Ожирение» и группе № 4 «Нормальная масса тела»

Table 6. Comparison of frequency of occurrence of genotypes and alleles of the rs4684677 polymorphic locus in the GHRL gene in group 3 “Obesity” and group 4 “Normal body weight”

Группа	Частота встречаемости генотипов, n (%) GHRL, rs4684677			Частота встречаемости аллеля, %		Соответствие закону Харди – Вайнберга (Exact test), p
	T/T	T/A	A/A	T	A	
№ 3	36 (94,7%)	2 (5,3%)	0	97,4%	2,6%	0,453
№ 4	44 (81,5%)	10 (18,5%)	0	90,7%	9,3%	0,861

числе преимущественно за счет продуктов с высоким гликемическим индексом, по данным анализа «пищевых дневников».

Оценка связи генотипа и аллелей полиморфного локуса rs5400 гена SLC2A2 с избыточной массой тела у детей

Для оценки ассоциации полиморфного локуса rs5400 гена SLC2A2 с избыточной массой тела и ожирением было проведено сравнение результатов генетического тестирования группы № 3 «Ожирение» и группы № 4 «Контроль». Определена частота встречаемости генотипов по данному локусу в обеих группах (табл. 4). Распределение частот и генотипов соответствовало закону Харди – Вайнберга. Статистически значимым считали результат, при котором $p < 0,05$.

Не было получено статистически значимых различий распределения генотипов rs5400 гена SLC2A2 в группе № 3 «Ожирение» и в группе № 4 «Контроль». Отношение шансов в отношении ожирения для гетерозиготных носителей «G/A» по сравнению с «G/G» составляло: ОШ = 2,4; ДИ = [0,82–7,01]; $p = 0,104$.

Оценка связи генотипа и аллелей полиморфного локуса rs4684677 гена GHRL с потреблением избыточного количества углеводов у детей

Для оценки ассоциации генотипов локусов rs4684677 гена GHRL с переизбытком углеводов было проведено генотипирование образцов ДНК пациентов из груп-

пы № 1 «Избыток углеводов» и группы № 2 «Нормальное содержание углеводов». Определена частота встречаемости генотипов по данному локусу в обеих группах (табл. 5). Распределение частот и генотипов соответствовало закону Харди – Вайнберга. Статистически значимым считали результат, при котором $p < 0,05$.

В нашем исследовании не было получено статистически значимых различий распределения генотипов rs4684677 GHRL между группой № 1 «Избыток углеводов» и группой № 2 «Нормальное содержание углеводов». Носительства гомозиготного варианта «A/A» rs4684677 в исследуемых группах не обнаружено. Шансы избыточного употребления углеводов не зависели от генотипа rs4684677 («T/A» vs «T/T»: 0,78; ДИ = [0,16–3,86]; $p = 1,0$).

Оценка связи генотипа и аллелей полиморфного локуса rs4684677 гена GHRL с избыточной массой тела у детей

Для оценки ассоциации полиморфного локуса rs4684677 гена GHRL с избыточной массой тела было проведено сравнение результатов генетического тестирования группы № 3 «Ожирение» и группы № 4 «Контроль». Определена частота встречаемости генотипов по данному локусу в обеих группах (табл. 6). Распределение частот и генотипов соответствовало закону Харди – Вайнберга. Статистически значимым считали результат, при котором $p < 0,05$.

Носительства гомозиготного варианта «А/А» rs4684677 в исследуемых группах не обнаружено. Для оценки ассоциации гетерозиготного носительства «Т/А» локуса rs4684677 гена *GHRL* с вероятностью развития избыточной массы тела и ожирения было рассчитано отношение шансов. Статистически значимых результатов при аутосомно-доминантной модели не было выявлено. Отношение шансов для гетерозиготных носителей «Т/А» по сравнению с гомозиготными носителями частого аллеля «Т/Т» составляло в группе с ожирением по сравнению с группой контроля : ОШ = 0,24; ДИ = [0,05–1,19]; $p = 0,113$. Таким образом, по результатам нашего исследования сравнение группы детей № 3 «Ожирение» с группой детей № 4 «Контроль» (нормальная масса тела) не показало дополнительного вклада генотипа rs4684677 гена *GHRL* в развитие избыточной массы тела и ожирения.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

1. Выявлена ассоциативная связь генотипа G/A гена *SLC2A2* с избыточным потреблением углеводов, так, отношение шансов употреблять избыточное количество углеводов было выше при носительстве генотипа «G/A» по сравнению с носителями «G/G» (ОШ = 9,3; ДИ = [1,8–47,3]; $p = 0,004$).

2. Не выявлена ассоциация rs4684677 гена *GHRL* с предпочтением углеводов (более 60% углеводов в рационе).

3. Не было получено статистически значимых ассоциаций с избыточной массой и ожирением rs5400 гена *SLC2A2* и rs4684677 гена *GHRL*.

Ограничения исследования

Исследование по типу «случай-контроль» проведено на уровне сообщества. Множество других факторов влияют на развитие избыточной массы тела и ожирения, в связи с этим другие ненаблюдаемые переменные могут влиять на результат. Применимость результатов настоящего исследования к другим возрастным категориям нуждается в дальнейшей проверке.

Интерпретация результатов исследования

В России, по данным РОССТАТа за 2018 г., было проведено исследование детей в возрасте 3–13 лет по SDS ИМТ, где 31,1% детей имели избыточную массу тела, включая ожирение (+1 и более SDS ИМТ) [13]. Среди этого числа детей у 11,8% было диагностировано ожирение 1–2-й степени, а у 4,6% — морбидное ожирение. Больше всего детей с ожирением в РФ насчитывается в СФО (Алтайский край), Ульяновской, Орловской и Волгоградской областях.

Генетические предикторы ожирения имеют большее значение в детском возрасте, так как дети дошкольного и младшего школьного возраста, как правило, не обладают осознанным самоконтролем в отношении потребляемой пищи. Тем не менее генетические факторы на сегодняшний день практически не изучены [10, 14, 15].

По данным литературы, наибольший потенциал влияния на формирование пищевых предпочтений (избыточного употребления простых углеводов, что может быть фактором риска ожирения) имеют ген транспортера глюкозы *SLC2A2* и ген грелина *GHRL*. Ген *SLC2A2* синтезирует переносчик глюкозы и глюкозамина 2 типа, также известен в литературе как *GLUT2*. Семейство генов *GLUT* кодирует белки-переносчики глюкозы в тканях, но именно *SLC2A2* участвует в транспорте глюкозы через гемато-энцефалический барьер. Во время повышения концентрации глю-

козы в просвете тонкой кишки, после обильного приема пищи, происходит усиленная экспрессия гена, способствующая улучшению всасывания глюкозы. Расположенный на базолатеральной мембране энтероцитов *SLC2A2* способствует транспорту фруктозы в кровоток посредством глюкозозависимого котранспорта [16]. Физиологические исследования генетически модифицированных мышей выявили роль *SLC2A2* в нескольких регуляторных механизмах. В нервной системе *SLC2A2* зависимый транспорт глюкозы регулирует центр голода, терморегуляцию, а также влияет на симпатическую и парасимпатическую активность [16]. Электрофизиологические методы установили, что экспрессирующие *SLC2A2* нейроны солитарного ядра, активированные гипогликемией, стимулируют секрецию глюкагона [16].

Полногеномные ассоциативные исследования показали, что полиморфные варианты гена *SLC2A2* ассоциированы с повышением риска гипергликемии натощак, гиперхолестеринемией и сердечно-сосудистыми заболеваниями [16]. Аллельный полиморфизм NC_000003.12: g.171014511G>A, также известный как rs5400, при котором происходит замена нуклеотида гуанина «G» (частый аллель) на аденин «A» (редкий аллель), что приводит к аминокислотной замене треонина на изолейцин в положении 100 (p.Thr100Ile), локализованной в трансмембранном домене 2, был идентифицирован в начале 1994 г. [6]. Частота редкого аллеля в общей популяции составляет 14,4% по данным международного проекта (dbSNP) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs5400>). Проведенное исследование показало, что люди с генотипом «G/A» rs5400 *SLC2A2*, имели более высокую склонность к суточному потреблению сахара. Минорный аллель rs5400 ассоциирован с предпочтением сахаросодержащих продуктов как в выборке пациентов с сахарным диабетом 2-го типа (СД2), так и здоровых взрослых добровольцев [6]. Нормальный уровень потребления углеводов наблюдался у людей, имевших генотип «G/G» [6]. По литературным данным, 27,7% европейцев являются носителями генотипа «G/A» и 7,7% — носителями редкого генотипа «A/A» [6], rs5400-полиморфизм рассматривают как фактор риска СД2, хотя существуют противоречивые данные на этот счет. Нет сведений об изменении транспортной активности *SLC2A2* у носителей аллеля «A» в клетках мозга, которая может отличаться от кинетики в других типах клеток. Исследование данных ассоциации генотип-фенотип может помочь раскрыть другие физиологические функции *SLC2A2* [6].

Продукт гена *GHRL* — грелин участвует во многих физиологических процессах, включая питание (орексигенный эффект), реакцию на стресс, а также в модуляции процессов обучения, памяти и мотивации. Грелин является лигандом к двум рецепторам: к собственному рецептору грелина и к рецептору, стимулирующему синтез соматотропина (*GHSR*). Наиболее выражена экспрессия гена грелина клетками желудочно-кишечной системы (желудок, поджелудочная железа) и гипоталамуса, стимулируется голоданием, подавляется приемом пищи [17]. Грелин является «гормоном голода», стимулирует потребление пищи, участвует в углеводном обмене, а также в регуляции массы тела человека [17, 18]. Грелин стимулирует аппетит, его уровень колеблется в течение дня, повышается после длительного отсутствия пищи и снижается при насыщении, является индикатором краткосрочного энергетического баланса. Интересно, что грелин участвует в регуляции как гомеостатического питания, так и мотивационного (гедонистического) питания [18]. В исследовании показан его вклад в увеличение потребления сладкого и алкоголя [18].

Хронически повышенный уровень грелина встречается при ожирении, связанном с переизбытком и воспалительными заболеваниями, включая язвенный колит, болезнь Крона, панкреатит [19, 20].

В полиморфном локусе NC_000003.12: g.10286769T>A (rs4684677) гена *GHRL* происходит замена нуклеотида тимина «Т» (частый аллель) на аденин «А», что приводит к аминокислотной замене в белке глутамин на лейцин в позиции 90 (p.Gln90Leu) [19]. В исследовании при сравнении частот редкого аллеля «А» было выявлено статистически значимое различие, аллель «А» rs4684677 чаще встречался у детей и подростков с ожирением, чем у детей с нормальной массой тела, также была установлена его ассоциация с повышенным поглощением глюкозы, механизм которого на сегодняшний день изучается [19]. По статистическим данным, 9,1% населения являются носителями генотипа «Т/А» и 1,6% — носителями генотипа «А/А» [19]. Наибольшее число гетерозигот встречается в США (до 28,8%), а наименьшее — в странах Азии (1,2%) и Африки (1,1%), что и определяет, вероятно, высокую частоту избыточной массы тела и ожирения в американской популяции [19].

По полученным нами результатам была выявлена ассоциативная связь генотипа G/A rs5400 гена *SLC2A2* с избыточным потреблением углеводов. В работах, где исследовалась ассоциация полиморфного локуса rs5400 гена *SLC2A2* с предпочтением сладкой пищи, аллель «А» также выступал «фактором риска», снижающим возможности самоконтроля при выборе продуктов питания в пользу продуктов с высоким гликемическим индексом и более частого употребления сладкой пищи [18]. Полиморфизм rs5400 гена *SLC2A2* G>A влияет на избыточное потребление углеводов у гетерозигот «G/A» по сравнению с гомозиготами по «G/G».

В нашем исследовании не было выявлено ассоциативной связи генотипов и аллелей гена *GHRL* rs4684677 (Т/Т, Т/А, А/А) с предпочтением углеводов. Однако в работах получены результаты по повышенному потреблению глюкозы у носителей аллеля А [20, 21]. Также была выявлена ассоциативная связь с потреблением большего количества сладостей среди взрослых, более значимые результаты показаны для мужчин [21].

Таким образом, по литературным данным, полиморфные локусы rs5400 гена *SLC2A2* и rs4684677 гена *GHRL* являлись фактором риска избыточной массы тела и были ассоциированы с потреблением повышенного количества углеводов, но не было проведено изучения ассоциаций с ИМТ [19, 21].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Существуют генетические предикторы развития ожирения во взрослой популяции. Так, полиморфные локусы rs5400 гена *SLC2A2* и rs4684677 гена *GHRL* являются факторами риска избыточной массы тела. В нашем исследовании, выполненном на выборке детей, не было обнаружено связи полиморфных локусов вышеозначенных генов с детским ожирением, но была выявлена ассоциация генотипа G/A гена *GLUT2* с избыточным потреблением углеводов. Выявлена ассоциативная связь генотипа G/A гена *SLC2A2* с избыточным потреблением углеводов. Так, отношения шансов употреблять избыточное количество углеводов была выше при носительстве генотипа «G/A» по сравнению с носителями «G/G» составило: ОШ = 9,3; ДИ = [1,8–47,3]; $p = 0,004$. Возможно, это связано с тем, что данные генетические варианты не являются факторами риска ожирения в детском возрасте. Эти вопросы требуют дальнейшего

изучения в рамках развития концепции персонализированной медицины.

ВКЛАД АВТОРОВ

Н.В. Кох — разработка концепции и дизайна исследования, сбор материала, анализ, статистическая обработка, интерпретация данных, согласие быть ответственным за все аспекты работы.

Е.В. Шрайнер — сбор материала, анализ и интерпретация данных; обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, разработка концепции и дизайна исследования, согласие быть ответственным за все аспекты работы.

Е.Н. Воронина — сбор материала, генетический анализ и интерпретация данных, статистическая обработка, согласие быть ответственным за все аспекты работы.

А.Я. Ковалева — разработка концепции и дизайна исследования, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи, согласие быть ответственным за все аспекты работы.

Г.И. Лифшиц — разработка концепции и дизайна исследования, интерпретация всех данных; обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания; окончательное утверждение для публикации рукописи, согласие быть ответственным за все аспекты работы.

AUTHORS' CONTRIBUTION

Natalia V. Kokh — development of concept and study design, collection of materials, review, statistical analysis and interpretation of data, consent to take responsibility for all aspects of this study.

Evgeniya V. Schreiner — collection of materials, analysis and interpretation of data, provision of the rationale for the paper, verification of critically important information, development of concept and study design, consent to take responsibility for all aspects of this study.

Elena N. Voronina — collection of material, genetic analysis and interpretation of data, statistical analysis, consent to take responsibility for all aspects of this study.

Anna Ya. Kovaleva — development of concept and study design, provision of the rationale for the paper, verification of critically important information, final approval for publication, consent to take responsibility for all aspects of this study.

Galina I. Lifshits — development of concept and study design, interpretation of all data, provision of the rationale for the paper, verification of critically important information, final approval for publication, consent to take responsibility for all aspects of this study.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках бюджетной темы ИХБФМ СО РАН «Фундаментальные основы здоровьесбережения».

SOURCE OF FUNDING

The study was conducted as part of the “Fundamentals of Health Protection” publicly funded project of the ICBFM SB RAS.

РАСКРЫТИЕ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

DISCLOSURE OF INTEREST

Not declared.

ORCID

H.B. Kokh

<https://orcid.org/0000-0001-6374-1728>

Е.В. Шрайнер
<https://orcid.org/0000-0003-3606-4068>
Е.Н. Воронина
<https://orcid.org/0000-0002-3405-6980>

А.Я. Ковалева
<https://orcid.org/0000-0002-7041-5071>
Г.И. Лифшиц
<https://orcid.org/0000-0001-9048-7710>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Драпкина О.М., Шепель Р.Н., Елиашевич С.О. Имеет ли место «парадокс ожирения» у пациентов с ишемической болезнью сердца? // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. — 2016. — Т. 15. — № 4. — С. 75–79. [Drapkina OM, Shepel RN, Eliashevich SO. Does the “obesity paradox” really take place in coronary heart disease? *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2016;15(4):75–79. (In Russ).] doi: 10.15829/1728-8800-2016-4-75-79
2. Brown T, Moore THM, Hooper L, et al. Interventions for preventing obesity in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;7(7): CD001871. doi: 10.1002/14651858.CD001871.pub4
3. Jabre J, Bland J. Body mass index changes: an assessment of the effects of age and gender using the e-norms method. *BMC Med Res Methodol*. 2021;21(1):40. doi: 10.1186/s12874-021-01222-z
4. Zorena K, Jachimowicz-Duda O, Ślęzak D, et al. Adipokines and Obesity. Potential Link to Metabolic Disorders and Chronic Complications. *Int J Mol Sci*. 2020;21(10):3570. doi: 10.3390/ijms21103570
5. Дедов И.И., Петеркова В.А. *Федеральные клинические рекомендации (протоколы) по ведению детей с эндокринными заболеваниями*. — М.: Практика; 2014. — 114 с. [Dedov II, Peterkova VA. *Federal clinical guidelines (protocols) for the management of children with endocrine diseases*. Moscow: Practice; 2014. (In Russ).]
6. Eny KM, Wolever TM, Fontaine-Bisson B, El-Sohemy A. Genetic variant in the glucose transporter type 2 is associated with higher intakes of sugars in two distinct populations. *Physiol Genomics*. 2008;33(3):355–360. doi: 10.1152/physiolgenomics.00148.2007
7. Pepino MY, Love-Gregory L, Klein S, Abumrad NA. The fatty acid translocase gene CD36 and lingual lipase influence oral sensitivity to fat in obese subjects. *J Lipid Res*. 2012;53(3):561–566. doi: 10.1194/jlr.M021873
8. Keller KL, Liang LC, Sakimura J, et al. Common variants in the CD36 gene are associated with oral fat perception, fat preferences, and obesity in African Americans. *Obesity (Silver Spring)*. 2012;20(5):1066–1073. doi: 10.1038/oby.2011.374
9. Palmeira L, Cunha M, Padez C, et al. Association study of variants in genes FTO, SLC6A4, DRD2, BDNF and GHRL with binge eating disorder (BED) in Portuguese women. *Psychiatry Res*. 2019;273:309–311. doi: 10.1016/j.psychres.2019.01.047
10. Hwang LD, Lin C, Gharahkhani P, et al. New insight into human sweet taste: A genome-wide association study of the perception and intake of sweet substances. *Am J Clin Nutr*. 2019;109(6): 1724–1737. doi: 10.1093/ajcn/nqz043
11. *Выборочное наблюдение рациона питания населения 2018*. — Федеральная служба государственной статисти-
- ки (Росстат); 2019. [Vyborochnoe nablyudenie ratsiona pitaniya naseleniya 2018. Federal State Statistics Service (Rosstat); 2019. (In Russ).] Доступно по: https://gks.ru/free_doc/new_site/food18/index.html. Ссылка активна на 26.04.2021.
12. Аكوпова Н.Е., Емельянова Е.В., Кучурова Л.С. и др. *Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации: методические рекомендации*. — М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2009. [Akopova NE, Emel'yanova EV, Kuchurova LS, et al. *Normy fiziologicheskikh potrebnostei v energii i pishchevykh veshchestvakh dlya razlichnykh grupp naseleniya Rossiiskoi Federatsii: Guidelines*. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor; 2009. (In Russ).]
13. Федеральная служба государственной статистики. Росстат изучил рацион россиян. [Federal State Statistics Service. Rosstat izuchil ratsion rossiyan. (In Russ).] Доступно по: <https://rosstat.gov.ru/folder/313/document/70761>. Ссылка активна на 12.12.2019.
14. Smith AD, Fildes A, Cooke L, et al. Genetic and environmental influences on food preferences in adolescence. *Am J Clin Nutr*. 2016;104(2):446–453. doi: 10.3945/ajcn.116.133983
15. Thaïs CA, Levy M, Grosheva I, et al. Hyperglycemia drives intestinal barrier dysfunction and risk for enteric infection. *Science*. 2018;359(6382):1376–1383. doi: 10.1126/science.aar3318
16. Koepsell H. Glucose transporters in brain in health and disease. *Pflugers Arch*. 2020;472(9):1299–1343. doi: 10.1007/s00424-020-02441-x
17. Gueorguiev M, Lecoer C, Meyre D, et al. Association studies on ghrelin and ghrelin receptor gene polymorphisms with obesity. *Obesity*. 2009;17(4):745–754. doi: 10.1038/oby.2008.589
18. Castorina S, Barresi V, Luca T, et al. Gastric ghrelin cells in obese patients are hyperactive. *Int J Obes (Lond)*. 2021;45(1):184–194. doi: 10.1038/s41366-020-00711-3
19. Hinney A, Hoch A, Geller F, et al. 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;87(6):2716–2719. doi: 10.1210/jcem.87.6.8672
20. Farokhnia M, Faulkner ML, Piacentino D, et al. Ghrelin: From a gut hormone to a potential therapeutic target for alcohol use disorder. *Physiol Behav*. 2019;204:49–57. doi: 10.1016/j.physbeh.2019.02.008
21. Araújo COD, Montenegro RM, Pedroso AP, et al. Altered acylated ghrelin response to food intake in congenital generalized lipodystrophy. *PLoS One*. 2021;16(1): e0244667. doi: 10.1371/journal.pone.0244667

Статья поступила: 22.02.2021, принята к печати: 24.03.2021

The article was submitted: 22.02.2021, accepted for publication: 24.03.2021