Роль гена NPY в развитии ожирения и нарушения пищевого поведения у детей

© О.В. Кочетова^{1,2}, З.А. Шангареева², Т.Т. Ахметкиреева¹, Г.Ф. Корытина¹

¹*Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук
Уфа, 450054, Россия*

²*Башкирский государственный медицинский университет
Уфа, 450008, Россия*

E-mail: Olga_mk78@mail.ru

Для оценки роли полиморфных вариантов локуса rs16147 гена NPY в развитии ожирения и пищевого поведения проведен анализ распределения генотипов в группах детей с ожирением и в контроле, а также анализ количественных параметров пищевого поведения и ожирения. Статистически значимые различия были получены при анализе баллов опросника CEBCQ в группе здоровых детей. Статистически значимые различия были получены для шкал FR (ответная реакция на пищу) и SR (ощущение сытости) $p=0.015$ и $p=0.027$.

Ключевые слова: ожирение, полиморфизм, Нейропептид Y, CEBCQ, пищевое поведение.

По данным ВОЗ, количество случаев детского ожирения во всем мире достигло тревожного уровня (<https://www.who.int/end-childhood-obesity/facts/ru/>). В России также отмечают рост числа детей с ожирением [1]. Известно, что ожирение – это дисбаланс между расходом и потреблением энергии. Однако ряд научных исследований связывают риск развития ожирения как с питанием матери в период беременности, непродолжительностью грудного вскармливания, а также генетической предрасположенностью. Известно более 79 синдромов, связанных с ожирением. Выявление генов морбидного ожирения позволит проводить корректирующую терапию начиная с детства [2].

Материал и методы. В исследовании были использованы образцы ДНК 330 детей с ожирением и 416 детей с нормальной массой тела. Средний возраст детей в группе с ожирением составил 7.1 ± 2.3 лет, в контрольной группе 7.3 ± 2.5 лет (возраст варьировал от 2 до 10 лет). Антропометрическое измерение было осуществлено в соответствии со стандартными методами. Для оценки антропометрического статуса использовались справочные таблицы Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) за 2006 и 2007 годы, которые основаны на Z-баллах для индекса массы тела (ИМТ) в зависимости от пола и возраста. Для статистического анализа избыточный вес был определен следующим образом: для детей до 5 лет ($z > +2$ балла) (<http://who.int/childgrowth/standards/ru/>), для детей в возрасте от 5 до 10 лет ($z > +1$) (http://who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/index.html). Выборка сформирована на базе многопрофильного стационара (ГКБ №17 г. Уфа).

Генотипирование. ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови с использованием метода фенольно-хлороформной очистки. Условия проведения ПЦР, последовательности праймеров представлены в работе Laddha NC, с соавт., 2014 [3]. Результаты амплификации и рестрикции оценивали при помощи вертикального электрофореза в 6–8%-ном полиакриламидном геле. Гель окрашивали раствором бромистого этидия (0.1 мкг/мл) в течение 15 мин и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете. Для определения размеров продукта использовали маркер молекулярной массы с шагом 100 пн (СибЭнзим, Россия). Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП "Биомика" и УНУ "КОДИНК" (ИБГ УФИЦ РАН).

Анализ пищевого поведения (ПП) проводили по опроснику Child Eating Behaviour Questionnaire (CEBQ) [8]. Опросник состоит из 8 шкал, таких как: реагирование на еду (Food responsiveness, FR); удовольствие от еды (Enjoyment of food, EF); ощущение сытости (Satiety responsiveness, SR); медлительность в приеме пищи (Slowness in eating, SE); суетливость, привередливость в еде (Food fussiness, FF); эмоциональное переедание (Emotional over-eating, EOE); эмоциональное недоедание (Emotional under-eating, EUE); желание частого употребления напитков (Desire to drink, DD), измеряемых в баллах. CEBQ обладает хорошими психометрическими свойствами: внутренней согласованностью, надежностью тестирования и стабильностью в динамике. Используется для анализа пищевого поведения детей младшего возраста.

Статистическая обработка результатов. *Статистическую обработку данных проводили, используя пакеты прикладных программ SPSS Statistics 22. Логистическую регрессию использовали для выявления ассоциации полиморфных вариантов изученных генов с развитием ожирения и пищевого поведения; экспоненту отдельного коэффициента регрессии (β) интерпретировали как отношение шансов (OR) с расчетом 95%-ного доверительного интервала. Вклад аллельных вариантов изучаемых генов-кандидатов в вариабельность количественных клинико-биохимических показателей (уровень глюкозы) и баллов CEBQ определяли с помощью критерия Крускала–Уоллиса (в случае трех групп) или Манна–Уитни (в случае двух групп).*

Результаты. Был проведен анализ на соответствие распределения частот генотипов полиморфного локуса rs16147 гена *NPY* равновесию Харди–Вайнберга в выборках больных и в контроле. Получены следующие результаты при изучении группы контроля ($PX-B=0.27$), в группе больных ($PX-B=0.09$).

Анализ распределения генотипов не выявил статистически значимых различий при сравнении групп пациентов и контроля ни в одной из моделей (табл. 1).

Таблица 1. Анализ полиморфного локуса rs16147 гена *NPY* с развитием ожирения у детей

SNP-ID	Модель	Генотип	Дети с ожирением N (%)	Контроль N (%)	Без поправки		С учетом поправки	
					OR (95% CI)	p^a	OR (95% CI)	p^b
rs16147	Кодоминантная		109 (33)		1.00		1.00	0.15
		CC	148 (44.9)	123 (29.5)	0.77 (0.55-1.07)	0.14	0.77 (0.55-1.08)	
		CT	73 (22.1)	217 (52.0)	1.07 (0.71-1.61)		1.08 (0.71-1.62)	
		TT		77 (18.5)				
	Доминантная	CC	109 (33.0)	123 (29.5)	1.00	0.3	1.00	0.32
		CT - TT	221 (67.0)	294 (70.5)	0.85 (0.62-1.16)		0.85 (0.62-1.16)	
	Рецессивная	CC - CT	257 (77.9)	340 (81.5)	1.00	0.22	1.00	0.21
		TT	73 (22.1)	77 (18.5)	1.25 (0.88-1.80)		1.26 (0.88-1.80)	
	Аддитивная	---	---	---	1.00 (0.82-1.23)	0.98	1.01 (0.82-1.23)	0.96

Примечание: SNP: Single nucleotide polymorphism; OR: Отношение шансов; 95% CI: 95% доверительный интервал.

p^a - значение, рассчитанное по критерию хи-квадрат

p^b - значение, рассчитанное по критерию хи-квадрат с учетом гендерной принадлежности

* $p < 0.05$ уровень статистической значимости.

Далее мы провели анализ количественных параметров пищевого поведения оцененного по опроснику CEBQ и индексу массы тела в группах детей с ожирением и нормальной массой тела. Данные представлены в таблице 2. Статистически значимых различий при анализе детей с ожирением получено не было. В группе детей с нормальной массой тела статистически значимые ассоциации были выявлены по шкале FR (ответная реакция на пищу) и SR (ощущение сытости) $p=0.015$ и $p=0.027$, соответственно. Шкала FR отражает общий аппетит и употребление пищи ребенком при отсутствии голода. Установлено, что у детей с нормальной массой ответная реакция на пищевые

стимулы усиливается при нарастании чувства голода, тогда как у детей с ожирением реакция на внешние пищевые стимулы, чувство сытости у ребенка снижаются с увеличением массы тел [4].

Таблица 2. Анализ полиморфных вариантов гена *NPY* в вариabельность показателей, характеризующих ожирение и пищевое поведение у детей

SNP	Ответная реакция на пищу (FR)	Эмоциональной переѐдание (EOE)	Удовольствие от еды (EF)	Желание пить (DD)	Ощущение сытости (SR)	Медлительность в еде (SE)	Эмоциональное недоедание (EUE)	Суетливость в питании (FF)	ИМТ Beta (CI 95%)
Дети с ожирением									
NPY rs16147	-0.15 (-0.38 - 0.08), 0.21	-0.04 (-0.25 - 0.16), 0.7	-0.11 (-0.38 - 0.15), 0.39	-0.04 (-0.35 - 0.26), 0.78	-0.16 (-0.35 - 0.03), 0.11	-0.11 (-0.35 - 0.12), 0.35	0.03 (-0.24 - 0.31), 0.82	0.01 (-0.15 - 0.18), 0.9	0.54 (-1.71 - 2.79), 0.64
Дети с нормальной массой тела									
NPY rs16147	-0.45 (-0.79 - -0.11), 0.015	-0.20 (-0.47 - 0.08), 0.18	-0.10 (-0.47 - 0.26), 0.58	-0.75 (-1.19 - 0.31), 0.002	-0.37 (-0.67 - -0.06), 0.027	-0.17 (-0.50 - 0.17), 0.33	0.06 (-0.40 - 0.53), 0.79	0.01 (-0.27 - 0.30), 0.92	0.03 (-0.72 - 0.77), 0.94

Согласно базе <https://regulomedb.org/regulome-help/> полиморфный локус rs16147 гена *NPY* расположен в промоторной области, относится к сайтам связывания с факторами транскрипции. По экспериментальным данным установлено, что этот полиморфизм и способен изменять экспрессию гена *in vitro*. **Однако несмотря на предполагаемое важное значение локуса rs16147 гена *NPY* в механизме регуляции пищевого поведения и ожирения, достоверных и значимых различий по данным литературы выявлено немного, а получаемые различия противоречивы. Установлено, что у носителей аллеля Т наблюдается увеличение уровней экспрессии *NPY* [5]. По нашим данным носители аллеля Т имеют сниженные уровни параметра реагирования на еду и повышенный уровень параметра ощущения сытости.**

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (проект №20-013-00261).

Литература

1. Намазова-Баранова Л. С., Елецкая К. А., Кайтукова Е. В., Макарова С. Г. (2018). Оценка физического развития детей среднего и старшего школьного возраста: анализ результатов одномоментного исследования. Педиатрическая фармакология, 15(4).
2. Kaur, Y., Wang, D. X., Liu, H. Y., Meyre, D. (2019). Comprehensive identification of pleiotropic loci for body fat distribution using the NHGRI-EBI Catalog of published genome-wide association studies. Obesity Reviews, 20(3), 385-406.

3. Laddha NC, Dwivedi M, Mansuri MS, Singh M, Patel HH, Agarwal N, et al. (2014) Association of Neuropeptide Y (*NPY*), Interleukin-1B (*IL1B*) Genetic Variants and Correlation of *IL1B* Transcript Levels with Vitiligo Susceptibility. PLoS ONE 9(9): e107020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107020>
4. Гирш Я.В., Юдицкая Т.А. Сравнительный анализ пищевого поведения детей различных возрастных групп. Бюллетень сибирской медицины. 2018; 17 (2): 21–30
5. Olza J., Gil-Campos M., Leis R., Rupérez A. I., Tojo R., Cañete R., Aguilera C. M. (2013). Influence of variants in the *NPY* gene on obesity and metabolic syndrome features in Spanish children. *Peptides*, 45, 22-27.

The role of the *NPY* gene in the development of obesity and eating disorders in children

Kochetova O.V.^{1,2}, Shangareeva Z A², Akhmetkireeva T.T,¹ Korytina G F¹

¹Institute of Biochemistry and Genetics, 71 Prospekt Oktyabrya, 450054 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia

² *Bashkir State Medical University, 47 Zaki Validi Street, 450076 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

E-mail: Olga_mk78@mail.ru

To assess the role of polymorphic variants of the rs16147 locus of the *NPY* gene in the development of obesity and eating behavior, we analyzed the distribution of genotypes in groups of obese children and in the control group, as well as analyzed the quantitative parameters of eating behavior and obesity. Statistically significant differences were obtained when analyzing the scores of the CEBQ questionnaire in the group of healthy children. Statistically significant differences were obtained for the FR (response to food) and SR (feeling of satiety) scales $p = 0.015$ and $p = 0.027$.

Keywords: obesity, polymorphism, Neuropeptide Y, CEBQ, eating behavior