

ОБЗОРЫ

УДК 612.397;613.24;616.008.9

©Панков

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАЦИИ В РЕГУЛЯЦИИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО БАЛАНСА

Ю.А. Панков

ФГУ Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий, Москва,
ул. Москворечье д. 1; тел.: (495)324-93-15; эл. почта: yurpankov@yandex.ru

Исследование однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) вблизи различных генов выявило ассоциацию *FAT* (fat mass and obesity associated gene), *MC4R* (gene of melanocortin 4 receptor) и других с ожирением. Участие продуктов экспрессии *FAT* в регуляции энергетического баланса пока остается не совсем понятным. Более очевидной является функция *MC4R*, который кодирует рецептор меланокортинов (МК4Р). α -, β - и γ -МСГ, кодируемые геном *POMC*, связываются с МК4Р, снижают потребление пищи и тормозят избыточное накопление жировых запасов. Экспрессия *POMC*, кодирующего МСГ, активируется лептином после его связывания с рецептором LepRb в нейронах *гипоталамуса*. Мутации в генах *MC4R*, *POMC* и *LEP* ассоциированы у животных и человека с ожирением. Идентифицировано более 60 мутаций в *MC4R*, более 20 мутаций в *POMC* и меньше всего – в *LEP*. Нонсенс мутации и сдвиги рамки считывания блокируют экспрессию генов и создают дефицит кодируемых белков. Миссенс мутации часто нарушают фолдинг белков в эндоплазматическом ретикулуме, задерживают белки в цитоплазме, где они подвергаются деградации. Некоторые миссенс мутации не нарушают экспрессию генов и фолдинг белков, но снижают их функционирование на периферии. Замена p.S127L в *MC4R*, мутации p.E206X и p.F144L в *POMC*, наряду с другими мутациями в гомо- и в гетерозиготном состояниях, сочетаются у человека с нарушениями энергетического баланса. В гене *LEP* идентифицированы мутации G133fsX15, p.R105X, p.R105W и p.S141C, которые в гомозиготном состоянии сочетаются с ожирением и другими формами патологии.

Ключевые слова: ген, мутация, ожирение.

ВВЕДЕНИЕ. Одним из проявлений нарушений энергетического обмена является ожирение. Оно привлекает внимание специалистов, поскольку сочетается со многими патологиями, представляющими угрозу современному обществу. В последние годы значительно возросло число людей с избыточной массой тела. По данным ВОЗ, в мире насчитывается около 400 млн. человек с ожирением [1, 2], а в США их количество увеличилось за последние 50 лет в 3 раза [2, 3] и составляет 30% населения [3]. Чрезмерное накопление жировых запасов ассоциируется с нарушением многих физиологических функций и является фактором риска сахарного диабета, метаболического синдрома, нарушений сна, некоторых форм онкологии, сердечно-сосудистых заболеваний, таких как атеросклероз, гипертония, инфаркт миокарда и других. Мы понимаем причину ожирения, как потребление пищи в количестве, существенно превышающем потребности организма. Излишние жировые запасы часто связывают

с особенностями западного образа жизни, который характеризуется сниженной физической активностью и повышенным поглощением калорий [1]. Однако проблема этим не ограничивается, и важную роль в инициации нарушений энергетического баланса играют изменения молекулярных механизмов регуляции пищевого поведения и обмена веществ, которые остаются не до конца понятными.

Семейный анализ показывает, что питание и расходования энергии на 40-70% определяются генетическими факторами, а также внешними условиями и особенностями образа жизни. Большое внимание в настоящее время уделяется изучению генетической предрасположенности к нарушениям энергетического баланса.

1. НОВЫЕ ТЕНДЕНЦИИ В ИЗУЧЕНИИ ГЕНЕТИКИ ОЖИРЕНИЯ.

Для активизации и ускорения исследований ожирения и других хронических заболеваний создаются международные консорциумы GIANT (Genetic Investigation of ANthropometric Traits), DGI (Diabetes Genetic Initiative), WTCCC (Wellcome Trust Case Control Consortium) и другие с целью активизации широкомасштабного изучения генетической предрасположенности к изменениям антропометрических показателей GWAS (Genome-Wide Association Studies) [1, 4]. Они направлены на выявление ассоциации полиморфных маркеров типа однонуклеотидных замен (SNP) с различными формами патологии. Исследования проводятся на большом количестве (30 тыс. и более) пациентов с нарушениями обмена веществ и физиологических функций с привлечением специалистов различного профиля. В результате выполнения намеченных программ идентифицируются SNP вблизи различных генов, и выявляется их сцепление с той или иной патологией. SNP равномерно распределяются по геному и локализуются в интронах, на участках промоторов, вблизи или в структуре ТАТА-боксов, в CREB, экзонах и других сайтах. Белки, связывающиеся с ТАТА-боксами, и другие факторы транскрипции определяют интенсивность экспрессии генов, а однонуклеотидные полиморфизмы могут изменять их функционирование и ассоциировать с патологией [5].

Наиболее часто сочетание SNP с ожирением выявляется в области локусов *FTO* (fat mass and obesity associated gene) [6, 7], и *MC4R* [8, 9]. *FTO* локализуется на хромосоме 16q12.2. и экспрессируется в большинстве тканей, но наиболее интенсивно в гипоталамусе, гипофизе, надпочечниках, а также в жировой ткани и поджелудочной железе. В первом интроне *FTO* идентифицирован кластер из 10 SNP, которые ассоциированы с ожирением и сахарным диабетом 2 типа (СД2Т). Исследование одного сайта А>С (rs9939606) показывает, что аллель А определяется практически у всех детей с ожирением и у взрослых с увеличенным индексом массы тела (ИМТ) [6]. Избыточный вес достоверно коррелирует с уменьшением чувства насыщения после приема пищи у детей с аллелем А (rs9939609) и снижается при переходе от пациентов с генотипом АА к АТ и от АТ к ТТ [8]. Кроме этого сайта достоверная ассоциация ожирения выявляется у детей и взрослых с Т аллелем (rs1121980), С аллелем (rs1421085) и G аллелем (rs17817449) в гене *FTO* [7]. Несмотря на наличие убедительных данных о причастности *FTO* к регуляции энергетического баланса и ожирению, точные механизмы его функционирования и роль в развитии патологического процесса остаются не до конца понятными.

Более очевидной является функция *MC4R* - гена рецептора меланокортинов, локализующегося на хромосоме 18q22. Продукт экспрессии *MC4R* является проводником сигналов лептина и других гормонов, регулирующих пищевое поведение. Ассоциация с ожирением полиморфных сайтов с преобладанием С-аллеля обнаружена на хромосоме 18q21 на расстоянии 109-188 kb ниже (downstream) *MC4R* по сравнению с Т аллелем, и снижение ИМТ прослеживается в последовательности генотипов СС>СТ>ТТ [9]. Связь SNP вблизи *FTO* и *MC4R* с ожирением убедительно подтверждается практически всеми исследованиями научных групп различных консорциумов [4, 10, 11].

Помимо *FTO* и *MC4R*, существенная ассоциация SNP с избыточной массой тела прослеживается вблизи или в структуре следующих генов: *TMEM18* (transmembrane protein 18), располагающегося на хромосоме 2p25, *KCTD15* (potassium channel tetramerisation domain containing 15) на хромосоме 19q13, *SH2B1* (Src-homology-2 (SH2) domain containing putative adaptor protein 1) на хромосоме 16p11, *NEGR1* (neuronal growth regulator 1) на хромосоме 1p31 и др. [4, 10, 11]. В единичных работах выявлена связь с ожирением локусов *BDNF* (brain derived neurotrophic factor) – хромосома 11p14, *ETV5* (Ets variant gene 5) – хромосома 3q27, *DGKG* (diacylglycerol kinase gamma) [4], *GNPDA2* и *MTGR* [10], *NPC1* (endosomal/lisosomal Niemann-Pick C1 gene), *MAF* (encoding the transcriptional factor c-MAF), *PTER* (phosphotriesterase-related gene) [11]. Хотя функции большинства локусов пока остаются не до конца понятными, многие из них имеют отношение к нервным процессам, поскольку активно экспрессируются в гипоталамусе и других отделах нервной системы, которые могут иметь отношение к регуляции пищевого поведения. Ассоциация с ожирением SNP вблизи *INSIG2* или *CTNBL1*, установленная отдельными работами, не подтверждается другими исследованиями [11]. Естественно, многие из рассмотренных результатов еще требуют проверки и подтверждения в модельных опытах на экспериментальных животных и на культуре клеток для окончательного доказательства их причастности к нарушениям энергетического баланса, и для выяснения тонких механизмов изменения экспрессии генов, лежащих в основе патологического процесса.

Хотя давно известно, что ожирение является фактором риска СД2Т, по данным некоторых авторов, только *FTO* проявляет убедительную ассоциацию как с СД2Т, так и ожирением [6, 12]. В других публикациях выявляется слабая, но достоверная ассоциация локусов: *TMEM18*, *BDNF* и *GNPDA2* не только с ожирением, но и с СД2Т [4, 10]. Однако значительная часть полиморфизмов сочетается только с ожирением. Эти результаты позволяют полагать, что механизмы возникновения СД2Т и нарушений липидного обмена различаются, но могут проявляться одновременно при воздействии других генетических или внешних факторов.

Сегодня исследования связи SNP с различными патологиями, включая ожирение, развивается быстрыми темпами. Однако более убедительными представляются результаты изучения мутаций в кодирующих областях генов, экспрессия которых индуцирует синтез белков, участвующих в регуляции энергетического обмена. Поэтому существенный интерес представляют моногенные формы ожирения, вызываемые нарушением экспрессии отдельных генов, таких как *LEP* - ген гормона подкожной жировой клетчатки лептина, *POMC* - ген проводников гормональных сигналов лептина в гипоталамусе: α -, β - и γ -меланоцитстимулирующих гормонов (МСГ); гены ферментов, участвующих в расщеплении белка-предшественника ПОМК с освобождением активных медиаторов, и ген рецептора меланокортинов *MC4R*, воспринимающего эффект медиаторов действия лептина. С изучения функции белков, кодируемых перечисленными генами, собственно и началось молекулярно-генетическое исследование проблем ожирения.

На рисунке 1 представлены этапы действия лептина на энергетический обмен. Лептин связывается с рецептором в нейронах гипоталамуса и активирует экспрессию *POMC*. Освобождающиеся из ПОМК α - и β -МСГ взаимодействуют с рецептором МК4Р на постсинаптической мембране нейронов и снижают чувство голода, уменьшают потребление пищи, повышают расходование энергии и препятствуют избыточному накоплению жировых запасов. Третий пептид ПОМК γ -МСГ в 50 раз активнее связывается с рецептором МК3Р, чем с МК4Р, и регулирует липидный обмен, препятствуя абдоминальному накоплению жира, но не оказывает заметного влияния на ИМТ. Пока не описаны мутации в *MC3R* человека, которые бы достоверно ассоциировали с ожирением.

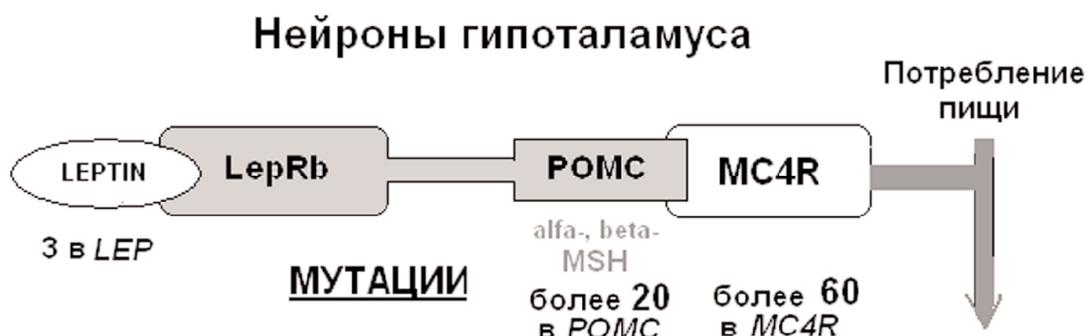


Рисунок 1.

Действия лептина в нейронах гипоталамуса.

2. МУТАЦИИ В *MC4R*.

В отличие от *MC3R*, у человека выявлено более 60 мутаций в *MC4R* в гетерозиготном состоянии, которые являются доминантными и сочетаются с нарушениями энергетического баланса и ожирением. Больше всего идентифицировано миссенс мутаций и значительно меньше нонсенс мутаций, вставок и делеций, которые индуцируют сдвиг рамки считывания и блокируют экспрессию *MC4R*. Несколько мутаций в гомозиготном состоянии выявлены у пробандов в 7 семьях. Среди них *g.750delGA* [13], полная делеция гена, нонсенс *p.Y287X* и 4 миссенс мутации: *p.N62S*, *p.N97D*, *p.C271R* и *p.I316S* [14]. Пациенты с этими мутациями в гомозиготном состоянии проявляют более тяжелое ожирение, чем носители мутаций в гетерозиготном состоянии. Стоп-кодоны или сдвиги рамки считывания инактивируют рецептор с потерей способности увеличивать продукцию сАМР в нейронах гипоталамуса под воздействием МСГ и снижать чувство голода.

Идентифицированные мутации равномерно распределяются по первичной структуре МК4Р и выявляются на N- и C-концах, во всех 7 трансмембранных доменах, в 3 внутриклеточных и в 2 из 3 внеклеточных петлях пептидной цепи рецептора [15]. Многие миссенс мутации изменяют свойства боковых радикалов а.о.: *p.S58C*, *p.P78L*, *p.A244E*, *p.G252S* и другие и значительно уменьшают активность рецептора, а мутации *p.P299H*, *p.I102S*, *p.A154N*, инактивируют рецептор полностью [15, 16].

Ожирения у 80% детей с мутациями в *MC4R* ассоциированы с задержкой МК4Р в цитоплазме и уменьшением встраивания рецептора в клеточную мембрану [16]. Более поздние исследования выявляют задержку мутантного МК4Р внутри клетки у 70% пациентов с началом ожирения в раннем возрасте (до 20 лет и ИМТ > 30 кг/м²) и у 23% пациентов с поздним ожирением [15]. По данным различных авторов, мутации в кодирующей области *MC4R* выявляются у 1-6% пациентов с ожирением [13, 14], однако более убедительным является показатель 3% [15, 16]. Больше всего мутаций в *MC4R* выявлено в Англии - 5,8% [14], меньше в Германии и Скандинавии 1-2%. В наших исследованиях [17], выполненных параллельно с работами других авторов [14], выявлена миссенс мутация *p.S127L* в *MC4R* в гетерозиготном состоянии у одного пациента с ожирением из 144 обследованных (0,7%). Рецептор с заменой *p.S127L* эффективно закрепляется на мембране так же, как рецептор дикого типа, однако его способность активировать синтез сАМР после связывания с α-МСГ снижена в десятки раз [14]. По видимому, замена небольшого гидрофильного остатка Ser, способного формировать внутримолекулярную водородную связь, или подвергаться модификациям, на гидрофобный Leu с удлиненным боковым радикалом создает пространственные препятствия формированию третьего α-спирального домена и нарушает функционирование рецептора.

В отличие от других рецепторов, связанных с G-белками, МК4Р может проявлять конститутивную активность без связывания с α -МСГ. В этом случае активатором рецептора выступает N-концевой участок пептидной цепи. Рецепторы с мутациями во внеклеточном N-концевом пептиде или рецепторы с отщепленным N-концевым доменом, хотя и сохраняют способность связываться с α -МСГ и индуцировать кратковременное снижение аппетита, но перестают проявлять конститутивную активность, которая лежит в основе длительного тонического регулирования пищевого поведения [18].

Модифицированный рецептор сохраняет способность связываться с Агути-подобным белком, который стимулирует потребление пищи и блокирует взаимодействие МК4Р с α -МСГ. Поэтому пациенты с мутациями в N-концевой части рецептора страдают ожирением, несмотря на сохраненную способность МК4Р выполнять функцию проводника гормональных сигналов лептина и других гормонов, регулирующих пищевое поведение [18].

Исследование минимального промоторного участка *MC4R* на протяжении 80 н.о. в 5'-конце не обнаружило полиморфных маркеров, которые бы достоверно ассоциировали с ожирением человека [19]. К настоящему времени описано около 100 пациентов с мутациями в *MC4R* в гетерозиготном или гомозиготном состояниях. Носители мутации в гомозиготном состоянии демонстрируют более тяжелое ожирение, чем гетерозиготы. Однако у тех и других накопление жировых запасов сопровождается увеличением роста тела, повышением минеральной плотности скелета, возрастанием мышечной массы, увеличением уровня циркулирующего инсулина (показатель инсулинорезистентности) и отсутствием нарушений репродуктивной функции [13, 14]. Сравнительное исследование детей с мутациями *MC4R*^{-/-} или *LepR*^{-/-} показывает, что вес и ожирение у них увеличиваются одинаково в течение первых 5 лет жизни, однако рост детей *MC4R*^{-/-} значительно опережает рост носителей мутации *LepR*^{-/-}, и заметно превосходит скорость роста здоровых детей [13]. Эти результаты позволяют полагать, что МК4Р не является проводником активирующего действия лептина на рост тела, так же как на гонадотропную функцию, и эти эффекты лептина выполняются другими проводниками его гормональных сигналов.

Расхождение обнаруживается при изучении влияния мутаций в *MC4R* на эффективность регуляции инсулином углеводного обмена. По данным Fagoogi et al. [14], нарушение экспрессии *MC4R* вызывает возрастание уровня циркулирующего инсулина, который поддерживает концентрацию глюкозы крови в нормальных границах, что расценивается как сильная инсулинорезистентность, хотя к 20 годам эти различия между носителями мутаций в *MC4R* и здоровыми людьми практически исчезают. Lubrano-Bertheliet et al. [13] напротив, не обнаруживают заметных отклонений концентрации глюкозы и инсулина в крови ребенка с мутацией g.750delGA в *MC4R* в гомозиготном состоянии при проведении глюкозо-толерантного теста (ОГГТ) и не выявляют гиперинсулинемии у взрослых с ожирением. На основании этого авторы делают вывод о том, что МК4Р не может быть проводником действия лептина и пептидов ПОМК на интенсивность регуляции углеводного обмена, и нарушение экспрессии *MC4R* не является причиной инсулинорезистентности и гиперинсулинемии, которые часто наблюдаются при ожирении, сочетающемся с нарушениями экспрессии *LEP* или *POMC*.

Высокая частота мутаций в *MC4R* при ожирении обусловлена, по всей вероятности, тем, что они не нарушают репродуктивную функцию и поэтому сохраняются в течение многих поколений.

3. МУТАЦИИ В *POMC* ЧЕЛОВЕКА В ГОМОЗИГОТНОМ СОСТОЯНИИ.

Длины пептидных цепей и аминокислотные последовательности ПОМК разных животных и человека обнаруживают значительные видовые различия. Вместе с тем, структура активных центров HFRW переносчиков гормональных сигналов: α -, β - и γ -МСГ, сохраняется одинаковой у всех исследованных видов.

Однако из ПОМК грызунов освобождается только α -МСГ, полностью идентичный по структуре α -МСГ человека и других млекопитающих, поскольку у мышей лишь α -МСГ фланкирован дуплетами основных аминокислот R или K, по которым ПОМК расщепляется прогормонконвертазами 1/3 и 2 (PC-1/3 и PC-2) с освобождением биологически активных пептидов [20]. Пептидная цепь β -МСГ мыши удлинена на N-конце, а γ -МСГ на C-конце по сравнению с аналогичными медиаторами человека. Поскольку значительная часть исследований функции ПОМК длительное время проводилось на мышах, то сформировалось убеждение, что только α -МСГ является эффективным медиатором действия лептина на потребление пищи. Однако у человека и высших млекопитающих важную роль играет β -МСГ.

В мире сегодня исследовано три мутации в гомозиготном состоянии и три компаунд гетерозиготы в *POMC* у 7 пациентов с тяжелыми формами ожирения. Два из них являются носителями мутации g.3804C>A в гомозиготном состоянии в 5'-нетранслируемой области *POMC*, которая формирует альтернативный сайт инициации транскрипции с другой рамкой считывания, что нарушает экспрессию гена и вызывает ожирения [21]. Три компаунд гетерозиготы: 1. g.7013G>T/g.7133delC, 2. g.6851A>T/g.6996delC и 3. g.7100insGG/g.3804C>A индуцируют терминирующие кодоны в различных сайтах нуклеотидной последовательности двух аллелей и препятствуют экспрессии α - и β -МСГ [21]. Исследованные пациенты являются выходцами из Швейцарии, Нидерландов и Германии и их ожирение сочетается с рыжим цветом волос и светлой кожей, поскольку отсутствие ПОМК создает дефицит меланокортинов, регулирующих окраску волос и кожных покровов. Мутации в *POMC* в гомозиготном состоянии блокируют синтез АКТГ, вследствие дефицита белкового предшественника ПОМК, что приводит к серьезным нарушениям функции системы гипофиз-кора надпочечников, и уровни АКТГ и кортикостероидов у носителей мутации снижаются до неопределимых значений. У некоторых пациентов ожирение сопровождается гипогликемией, конвульсиями, атрофией надпочечников при сохранённой функции *zona glomerulosa*, которая нормально секретирует альдостерон и регулирует электролитный баланс. Жизнь пациентов находится под угрозой и поддерживается низкими дозами кортикостероидов [21].

Два других пробанда с мутациями в *POMC* являются выходцами с Ближнего Востока (Турции и Северной Африки). Один ребенок (мальчик 2 лет) - носитель делеции g.6909delC в гомозиготном состоянии страдает тяжелой формой ожирения [22]. Вторая (девушка 18 лет) является гомозиготой со вставкой g.6922insC [23]. Обе мутации индуцируют стоп-кодоны недалеко от сайта начала трансляции и блокируют биосинтез всех активных пептидов ПОМК: АКТГ, α -, β - и γ -МСГ и β -эндорфина. В отличие от европейцев оба пробанда имеют темную окраску волос, хотя у одного выявляется красный оттенок корней волос, а вторая проявляет значительное преобладание феомеланина над эумеланином (темным пигментом). Девушка гомозигота в 18 лет имела ИМТ=50 кг/м² и вес 140 кг и, наряду с гипогликемией в раннем возрасте и нарушенной функцией коры надпочечников, проявляла признаки дефицита ТТГ, Т₄, гормона роста (ГР) и гонадотропинов. Регулярные инъекции ГР и прием эстрадиола и Т₄ позволили удовлетворительно стимулировать рост и достигнуть половой зрелости с началом менструаций [23].

4. МУТАЦИИ В *POMC* ЧЕЛОВЕКА В ГЕТЕРОЗИГОТНОМ СОСТОЯНИИ.

Среди родственников мальчика с делецией g.6909delC в *POMC* в гомозиготном состоянии идентифицированы 12 гетерозигот [22]. 11 из них имеют ожирение или избыточный вес с ИМТ, соответственно, 35 и 25 кг/м². На основании полученных данных, Fargoqi I.S. et al. [22] делают вывод, что потеря одной копии гена *POMC* предрасполагает людей к ожирению. Во второй семье среди родителей гетерозигот только отец имеет ожирение и ИМТ=32 кг/м², а мать избыточный вес (ИМТ=25.7 кг/м²), однако 4 сестры - гетерозиготы практически не

отличаются от нормы и их ИМТ колеблется от 19 кг/м² до 24 кг/м². Многие из гетерозигот целенаправленно соблюдают диету и ограничивают потребление пищи, что позволяет избежать излишнего накопления массы тела и сохранить здоровый фенотип [23].

Таким образом, в отличие от гомозигот, которые вместе с ожирением проявляют нарушения физиологических функций, представляющие угрозу здоровью, гетерозиготы даже с терминирующими мутациями в *POMC* оказываются практически здоровыми, за исключением предрасположенности к ожирению. Помимо рассмотренных выше семейных исследований, в различных выборках пациентов с ожирением идентифицировано около 20 других мутаций в *POMC* в гетерозиготном состоянии. Первые мутации были описаны в 2002 году в результате обследования 96 человек с ожирением в Германии [24]. Среди них девушка 16,5 лет с ИМТ=35.9 была носительницей нонсенс мутации в гетерозиготном состоянии в виде гаплотипа p202insRA/pE206X, которую она унаследовала от матери 35.6 лет с ИМТ=28.3 (1/96). Дочь можно рассматривать как имеющую ожирение, а мать – как избыточный вес. Нонсенс мутация p.E206X у этих пациентов располагается вблизи N-конца β -МСГ и блокирует экспрессию β -МСГ и β -эндорфина (рис. 2).

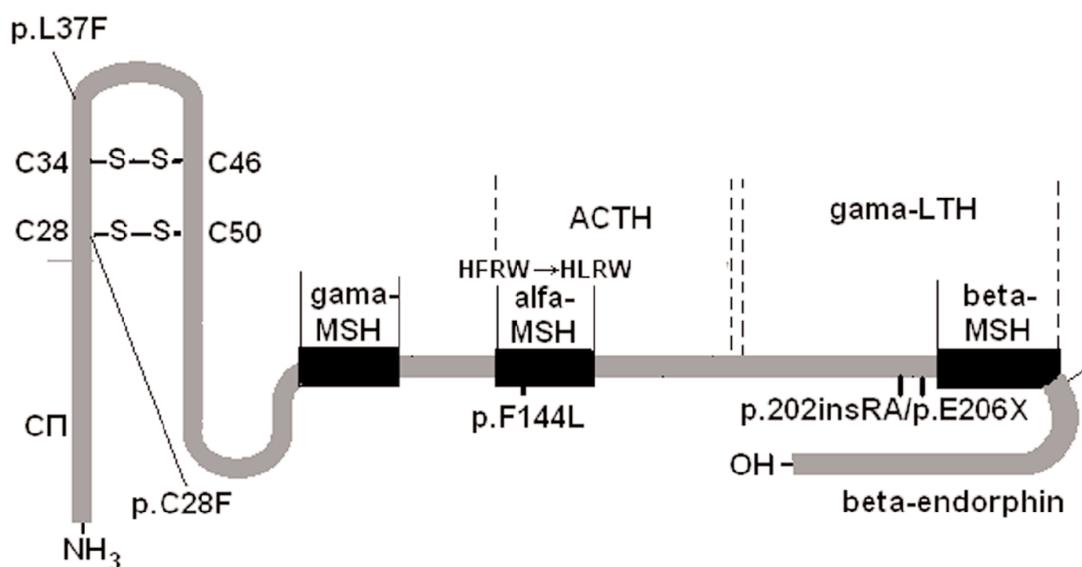


Рисунок 2.

Замены аминокислотных остатков, вызываемые мутациями в гене *POMC*.

СП – сигнальный пептид, LTH – липотропный гормон (липотропин) (модифицирован из [24]).

Четыре года спустя аналогичные исследования были выполнены в Эндокринологическом научном центре РАМН на 228 пациентах с ожирением. Среди них 4 были носителями гаплотипа p.202insRA/p.E206X (4/228), т.е. в российской выборке данная мутация встречается значительно чаще [25]. В семье одной из носительниц выявлены еще три родственника с аналогичным гаплотипом (женщина с ожирением и ИМТ=33,7 и два мужчины с ИМТ на верхней границе нормы) [25]. В последующих исследованиях частота мутации с терминирующим кодоном p.E206X возросла до 3,5% среди пациентов с морбидным ожирением и ожирением с детства [18]. У здоровых людей мутация

не обнаружена. Поскольку многие группы ученых занимаются изучением мутаций в *POMC* в различных регионах мира, и гаплотип p.202insRA/p.E206X пока нигде не идентифицировали, можно фантазировать о потенциальном регионе его возникновения. Полученные результаты еще раз подчеркивают ключевую роль β -МСГ в регуляции энергетического баланса, поскольку нонсенс мутация блокирует экспрессию β -МСГ и β -эндорфина, хотя в первой публикации [24] авторы подозревали, что дефицит β -эндорфина, а не β -МСГ является причиной ожирения.

Ещё одна мутацией в *POMC* человека, подтверждающая важную функцию β -МСГ, идентифицирована одновременно в работах Lee et al. [26] и Biebermann et al. [27]. Мутация p.Y221C локализуется в консервативном сайте Tyr221, неизменном в структуре β -МСГ разных видов от человека до рыбы, и локализуется в трёх а.о. от активного центра β -МСГ HFRW. Мутация p.Y221C уменьшает угол поворота пептидной цепи между вставкой Cys и Arg-Met перед активным центром β -МСГ (показано ЯМР исследованием синтетических пептидов) [26]. В обеих работах демонстрируется 100-кратное снижение связывания (affinity) мутантного β -МСГ с рецептором МК4Р и 50-кратное уменьшение биологической активности, определяемой по стимуляции образования сАМР в клетках НЕК 293 [26, 27]. В одном исследовании с использованием иммунофлуоресцентного метода показано значительное преобладание β -МСГ над α -МСГ в нейронах гипоталамуса. β -МСГ определяется в значительно большем количестве нейронов аркуатного ядра, чем α -МСГ, и во всех нейронах с присутствием α -МСГ определяется также β -МСГ, но есть нейроны, в которых выявляется только β -МСГ [27]. Эти данные могут служить подтверждением важной роли β -МСГ как медиатора регуляции пищевого поведения человека. Однако, поскольку эти исследования выполнены на трупном материале, нельзя исключить, что α -МСГ активнее связывается с МК4Р, чем β -МСГ, и поэтому быстрее проникает в цитоплазму, где разрушается. Вследствие этого α -МСГ, по-видимому, скорее исчезает из нейронов, в которых сохраняется β -МСГ.

В исследованиях Biebermann et al. [27] все носители мутации p.Y221C в гетерозиготном состоянии страдали ожирением, однако члены семей без такой мутации часто тоже имели избыточный вес. В исследовании Lee et al. [26] мутация p.Y221C обнаружена у 5 субъектов из 538 с ранним развитием ожирения (5/538), а в контрольной группе мутация выявлена у 4 среди 5152 здоровых людей (4/5152). Таким образом, частота мутаций p.Y221C среди субъектов с ранним началом ожирения выявляется чаще, чем в значительно большей выборке здоровых людей. Правда, нельзя исключить возможность, что у здоровых носителей мутации p.Y221C нарушения энергетического баланса разовьются позже.

У двух из 262 обследованных пациентов с ожирением идентифицирована мутация p.R236G, которая ликвидирует дуплет основных аминокислот KR между β -МСГ и β -эндорфином в структуре ПОМК [28]. Она нарушает протеолитическое расщепление ПОМК с образованием β -МСГ и β -эндорфина, которые остаются соединенными друг с другом. Объединенный пептид сохраняет способность связываться с МК4Р, с таким же сродством как β -МСГ, но не активирует рецептор и тормозит действие на него активного медиатора. Мутация p.R236G выявлена у 0,88% субъектов с ожирением в раннем возрасте и у 0,22% в контроле с нормальным весом тела, т.е. она превалирует у пациентов с нарушением липидного обмена.

Многие исследования показывают, что α -МСГ и β -МСГ с одинаковой интенсивностью связываются с рецептором МК4Р. Однако у человека мутации, блокирующие функцию β -МСГ, встречаются чаще, чем мутации, нарушающие экспрессию α -МСГ. Одна из первых мутаций в структуре α -МСГ идентифицирована в 2002 г. при семейном обследовании носительницы мутации p.F144L, превращающей активный центр α -МСГ из HFRW в HLRW (рис. 2) [25]. 3 женщины и 1 девочка с такой мутацией проявляли симптомы умеренного ожирения с ИМТ 35 кг/м² и 29 кг/м². Предположительно, замена p.F144L

инактивирует α -МСГ и, возможно, превращает его в антагонист активного медиатора. 6 лет спустя, Dubern B., et al. [29] обнаруживали идентичную мутацию в активном центре α -МСГ у отца и дочери, страдающих от ожирения. Мутация p.F144L значительно снижает связывание L144 α -МСГ с рецептором и лишает его способности активировать продукцию сАМР в клетках НЕК 293, трансфицированных *MC4R* человека. При этом F144 α МСГ проявляет высокую биологическую активность, которая не подавляется L144 β МСГ.

Мутация в активном центре α -МСГ p.H143Q идентифицирована у пациента с ожирением (выборка 538 человек) и у одного субъекта в контроле (300 человек). В семейном обследовании замена p.H143Q выявлена у 2 пациентов с ожирением и у 1 здорового человека. Следовательно, мутация встречается с сопоставимой частотой у пациентов с ожирением и здоровых, хотя в культуре клеток α -МСГ с заменой H143Q проявляет значительное снижение связывание с МК4Р и слабо активирует продукцию сАМР [26].

Рассмотренные мутации по-разному влияют на экспрессию *POMC* и освобождение из ПОМК пептидов, регулирующих энергетический баланс. Одни мутации блокируют экспрессию генов, другие изменяют структуру и активность кодируемых пептидов. Поскольку биологически активные медиаторы освобождаются из ПОМК под действием прогормонконвертаз PC1/3 и PC2, то можно полагать, что пространственная структура ПОМК не имеет существенного значения для ферментативного освобождения биологически активных пептидов из белка-предшественника. Однако такое предположение не подтверждается.

При обследовании 500 пациентов с ранним началом ожирения идентифицированы две миссенс мутации в 5'-области *POMC*, кодирующей N-конец белка, вдали от активных пептидов ПОМК [30]. Новые мутации p.C28F и p.L37F локализуется в высоко консервативном участке аминокислотной последовательности ПОМК, где располагаются 4 остатка Cys, образующие два дисульфидных мостика C28/C50 и C34/C46 (рис. 2). Мутация p.C28F удаляет один из Cys, формирующих S-S связь в длинной пептидной шпильке, внутри которой сохраняется другой S-S мостик C34/C46. Можно полагать, что удаление Cys нарушает корректное формирование глобулярной структуры N-концевой части молекулы, необходимой для продвижения ПОМК по этапам секреторного процесса, где происходит его созревание и протеолитическое расщепление с освобождением пептидных медиаторов [30]. Сходное, но более слабое торможение оказывает мутация p.L37F. Обе мутации не уменьшают уровень внутриклеточного ПОМК, но тормозят его продвижение по пути формирования секреторных гранул и расщепление ПОМК до α -, β - и γ -МСГ [30].

5. РОЛЬ ПРОГОРМОНКОНВЕРТАЗ 1/3 и 2 (PC1/3 и PC2).

Согласно накопленным данным, ПОМК синтезируется в гипофизе, нейронах гипоталамуса и кожных покровах в значительном избытке. Наиболее интенсивно *POMC* экспрессируется в гипоталамусе и гипофизе. На первом этапе синтезируемый ПОМК расщепляется PC1/3 с образованием проАКТГ и β -липотропина (β -ЛТГ). В передней доле гипофиза и нейронах гипоталамуса проАКТГ гидролизуется до N-концевого про-опиокортина (N-РОС), АКТГ и соединявшего их пептида. Поскольку в гипофизе отсутствует PC2, подвергающий АКТГ и β -ЛТГ (β -липотропин) дальнейшему гидролизу, они секретируются гипофизом в кровь. В нейронах гипоталамуса и кожных покровах АКТГ и β -ЛТГ подвергаются более глубокому ферментативному гидролизу, и β -ЛТГ расщепляется PC2 до γ -ЛТГ и β -эндорфина, а затем из γ -ЛТГ освобождается β -МСГ, а АКТГ 1-39 гидролизуется PC2 до кортикотропин-подобного промежуточного пептида и АКТГ1-17, который в результате серии модификаций превращается в α -МСГ. Из N-РОС в гипоталамусе под действием PC2 освобождается γ -МСГ. Таким образом, в отличие от гипофиза, в гипоталамусе и кожных покровах ПОМК расщепляется с освобождением α -, β - и γ -МСГ и β -эндорфина.

В коже МСГ связываются с рецепторами MC1R и MC5R и регулируют пигментацию и термогенез. В коре надпочечников АКТГ взаимодействует с MC2R и стимулирует биосинтез и секрецию кортикостероидов. В нейронах гипоталамуса три МСГ связываются с MC3R или MC4R и регулируют пищевое поведение и жировой обмен.

Расщепляющие ПОМК ферменты PC1/3 и PC2 вначале синтезируются в форме проферментов, от которых в результате автокатализа отщепляются пептиды, и белки приобретают протеолитическую активность. Они гидролизуют прогормоны по дуплетам основных аминокислот R и K и освобождают активные гормоны. Поскольку ПОМК синтезируется в различных тканях в избытке, то создается возможность дополнительного регулирования продукции активных пептидов ПОМК путем повышения или снижения биологического действия PC1/3 и PC2 [20]. К настоящему времени идентифицированы две компанд гетерозиготы и одна гомозигота с мутациями в PC1/3, нарушающими гидролиз ПОМК и других прогормонов (проинсулина, проглюкагона, проTRГ и др.). Мутация p.G593R нарушает созревание предшественника PC1/3 (про-PC1/3), тормозит его превращение в активный фермент и задерживает синтезируемый белок в эндоплазматическом ретикулуме [31]. Такая мутация уменьшает конформационную подвижность пептидной цепи, и может препятствовать корректному фолдингу и перемещению белка из эндоплазматического ретикулума в аппарат Гольджи. Во втором аллеле у этого субъекта выявлена замена А на С в донорном сайте сплайсинга 5 интрона, которая при сплайсинге первичного транскрипта вызывает пропуск одного экзона со сдвигом рами считывания и формированием стоп-кодона. Второй пациент является носителем двух мутаций: p.G250X и делеции консервативного аминокислотного остатка Ala213 вблизи каталитически важного His208 в PC1/3 [32]. Оба пациента проявляют ожирение с детства и множественные нарушения физиологических функций, вызываемые торможением созревания предшественников других биологически активных гормонов.

В семье выходцев из Ливии с близкородственными браками идентифицирована миссенс мутация в PC1/3 в гомозиготном состоянии, индуцирующая замену p.S307L у ребенка с ожирением и диареей [33]. Мутантный ген нормально экспрессируется, и синтезируемый белок не задерживается в эндоплазматическом ретикулуме. Однако белковый предшественник не подвергается автокаталитическому расщеплению и даже не активируется PC1/3 дикого типа. Уровни проинсулина и ПОМК в циркуляции очень сильно повышены, а активный инсулин снижен, хотя концентрация глюкозы крови находится в норме. Потребление пищи повышено, но меньше, чем у пациентов с дефицитом МК4Р и значительно меньше, чем при дефиците лептина.

Таким образом, мутации в кодирующей области PC1/3 и PC2 как причина моногенного ожирения - довольно редкие явления. Вместе с тем сегодня исследуются SNP в PCSK1 и их ассоциация с полигенными формами ожирения [34]. При анализе результатов обследования более 13 тысячи пациентов Европейского происхождения выявлена ассоциация с ожирением полиморфных сайтов PCSK1, кодирующих замены p.N221D и p.Q665E-S690T в PC1/3. Однако в модельных опытах с трансфекцией клеток НЕК293Т различными векторами, включая мутантные, не обнаружено значительного снижения ферментативной активности PC1/3 с мутациями p.N221D и p.Q665E-S690T [33], хотя подтверждено отсутствие активности фермента с идентифицированной ранее заменой p.G593R [31].

Подводя итог, можно отметить, что в MC4R человека идентифицировано более 60 мутаций в гетерозиготном и семь мутаций в гомозиготном состояниях. Они ассоциируются с нарушением энергетического баланса и ожирением. В POMC, кодирующем пептиды – проводники гормонального сигнала лептина, выявлено более 20 мутаций (в 3 раза меньше, чем в MC4R). 2/3 таких мутаций ассоциируются с нарушениями энергетического обмена и ожирением,

а 1/3 выявляется у здоровых людей, хотя нельзя исключить возможность нарушения у них энергетического баланса в более позднем возрасте. У 7 пациентов выявлено 6 мутаций в *POMC* в гомозиготном состоянии, вызывающих более тяжелое ожирение, чем у гетерозигот. Поскольку белки *MC4R* и *POMC* являются проводниками действия лептина и других гормонов, регулирующих пищевое поведение и энергетический баланс, то нарушение экспрессии *LEP* тоже ассоциируется с ожирением, но в отличие от мутаций в *MC4R* и *POMC*, тяжелое ожирение развивается только у носителей мутаций в *LEP* в гомозиготном состоянии.

6. МУТАЦИИ В *LEP*.

Первая мутация в *LEP* с.313C>T, индуцирующая стоп-кодон p.R105X, идентифицирована у мышей *ob/ob* с тяжелым ожирением, инсулинорезистентностью, сахарным диабетом, бесплодием, задержкой роста и другими патологиями [35]. Мутация p.R105X нарушает экспрессию гена и уменьшает длину пептидной цепи синтезируемого белка, который не секретируется адипоцитами в кровь. Такая же мутация с.313C>T идентифицирована в *LEP* в семьях выходцев из Турции с частыми близкородственными браками, но она индуцирует не нонсенс, а миссенс мутацию p.R105W (рис. 3) [36]. Мутация не блокирует экспрессию *LEP*, но нарушает эффективный фолдинг синтезируемого белка и тормозит его секрецию адипоцитами в кровь. В результате создается дефицит лептина, возможно, не такой тяжёлый, как у мышей *ob/ob*, но у людей увеличивается потребление пищи, нарушается энергетический баланс, индуцируется ожирение, развивается гипогонадотропный гипогонадизм, СД2Т и другие формы патологии [36]. У взрослых носителей мутации в гомозиготном состоянии ИМТ превышает 54 кг/м² и вес 130 кг с симптомами нарушений иммунитета [37].

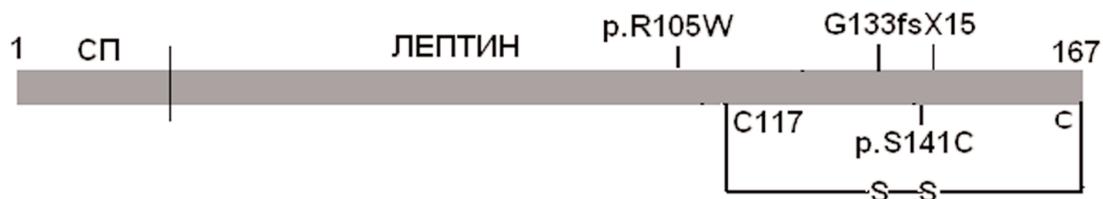


Рисунок 3.

Мутации в *LEP*, вызывающие изменения структуры кодируемого белка (модифицирован из [36]).

Заметные различия выявляются между ожирением, связанным с дефицитом лептина, и многочисленными обычными формами ожирения, которые сочетаются с гиперлептинемией. Недостаточность лептина характеризуется снижением репродуктивной функции и высокой восприимчивостью к инфекционным заболеваниям при отсутствии гиперлипидемии, гипертонии и других нарушений сердечно-сосудистой системы. Напротив, ожирение, сочетающееся с увеличением лептина в циркуляции, характеризуется повышенным содержанием липидов крови, возрастанием кровяного давления и сердечно-сосудистыми заболеваниями при отсутствии задержек полового развития и гипогонадизма.

У старшей женщины, носительницы мутации p.R105W, пубертат наступил спонтанно без постороннего вмешательства, и с задержкой на 20 лет появились менструации, правда, со сниженной секрецией прогестерона в период овуляции [37]. Гетерозиготы в исследованных семьях были практически здоровы. Следует отметить, что мутация p.R105W у человека, в отличие от мутации

p.R105X у мышей, не полностью блокирует экспрессию *LEP*, но тормозит секрецию синтезируемого гормона вероятно в результате задержки белка в эндоплазматическом ретикулуме. Можно допустить, что такое нарушение частично компенсируется по прошествии нескольких лет, и некоторые измененные физиологические функции нормализуются [37]. Такое предположение подтверждается результатами исследования мутаций в *MC4R*. Задержка мутантного МК4Р в цитоплазме и торможение его закрепления на мембране выявляется в 3 раза чаще у пациентов с ожирением в раннем возрасте (у 70% пациентов), чем у субъектов с поздним началом ожирения (23%), т.е. с возрастом этот дефект смягчается [15, 16].

Другая мутация в *LEP* идентифицирована у детей в семьях выходцев из Пакистана [38, 39]. Она выражается в делеции остатка гуанина g15385delG и вызывает сдвиг рамки считывания с возникновением стоп-кодона G133fsX15 (рис. 3). В гомозиготном состоянии мутация блокирует экспрессию *LEP* и синтез активного гормона. Мутация удаляет один из Cys на С-конце и нарушает эффективный фолдинг синтезируемого белка и секрецию мутантного гормона. Большинство исследованных носителей мутации – дети, у которых ожирение сочетается с гиперинсулинемией при нормальной концентрации глюкозы крови и нарушением функции иммунной системы. Пациенты проявляют агрессивное поведение при попытках ограничить у них потребление пищи.

На мышях *ob/ob* показано, что длительное введение генноинженерного лептина восстанавливает практически все нарушенные функции. Гормон снижает потребление пищи, активирует энергетический обмен, уменьшает жировые запасы, восстанавливает репродуктивную функцию и устраняет симптомы диабета [40]. Лептин активно используется для лечения пациентов с дефицитом гормона. Регулярные инъекции лептина в течение нескольких месяцев детям со стоп-кодом в *LEP* дают положительные результаты [39, 41]. Избыточные жировые отложения исчезают полностью, дети начинают нормально себя вести в семье, становятся более активными и проявляют массу положительных реакций. Однако, по объективным показателям, в отличие от мышей *ob/ob*, у них не повышается расходование энергии, а энергетический баланс поддерживается в основном снижением потребления пищи [41].

Поскольку делеция G полностью блокирует экспрессию *LEP* и делает лептин чужеродным белком, у всех детей с мутацией G133fsX15 после начала терапии формируются антитела к гормону. Это требует увеличения дозы лептина для эффективной нормализации нарушений физиологических функции [41]. У одного ребенка антитела не обладали нейтрализующим действием на экзогенный лептин, и в течение терапии, продолжавшейся 42 месяца, дозу гормона однократно увеличили в 2,5 раза. У другого ребенка нейтрализующие антитела появились после 26 месяцев лечения и сопровождалась увеличением потребления пищи. У него наблюдали эпизоды повышения массы тела и жировых запасов, и дозу вводимого гормона сначала увеличили в 3 раза, а затем в 10 раз для поддержания действия лептина. Третий ребенок реагировал появлением нейтрализующих антител на 6 месяце введения гормона [41].

Есть основания полагать, что у исследованных взрослых мутация p.R105W не полностью блокирует экспрессию *LEP*, поэтому экзогенный лептин не воспринимается как чужеродный белок. Введение лептина в течение 18 месяцев трем пациентам с мутацией p.R105W, которую авторы иногда ошибочно обозначают как Cys105Thr, вызвало стабильное снижение ИМТ без эпизодов его повышения. Через 6 месяцев терапии у пациентов повышается потребление пищи, поскольку излишние жировые запасы исчезают, и нарушенные функции нормализуются [42]. У мужчины 27 лет с ИМТ=51,4 кг/м² после 18 месяцев терапии вес снизился вдвое и значительно повысились концентрации лютеинизирующего гормона и тестостерона. У всех пациентов в 2-3 раза снижаются базальные уровни инсулина и С-пептида, и в несколько раз уменьшается

инсулинорезистентность (определяется НОМА-IR). У женщины с СД2Т после 2 месяцев терапии лептином отмечены нормализация уровня глюкозы и гликированного гемоглобина, а также полное исчезновение симптомов СД2Т [42].

Исследование действия лептина на пациентов с мутацией p.R105W интенсивно развиваются и касаются влияния гормона на структуры мозга, познавательные функции, тонкие механизмы повышения чувствительности организма к инсулину и др.

Мутация c.422C>G (p.S141C) в гомо- и гетерозиготном состоянии в *LEP* идентифицирована у жителей горного аула в Туркменистане в семьях с близкородственными браками [43]. Мутация вызывает замену С на G в триплете ТСС, кодирующем Ser и превращает его в кодон Cys (TGC). 30 лет назад в ауле были исследованы дети с необычной формой ожирения, которая наследуется по аутосомно-рецессивному принципу, поскольку выявляется у 27,5% детей. Из-за трудностей организационного характера, пока не удается исследовать ассоциацию мутации с фенотипом пациентов. Однако можно предсказать, что появление 3-го непарного Cys в пептидной цепи гормона должно нарушать правильное замыкание дисульфидной связи между остатками C96 и C146 и тормозить фолдинг белка в эндоплазматическом ретикулуме. По аналогии с мутацией p.R105W, замена p.S141C в лептине может блокировать его секрецию, и вызывать ожирение даже при сохранении гормоном биологической активности.

Таким образом, помимо торможения экспрессии генов или изменения структуры кодируемых белков, мутации также нарушают эффективный фолдинг с приобретением правильной пространственной структуры молекулами белка. Этот процесс происходит в эндоплазматическом ретикулуме, а его торможение индуцирует *unfolded protein response* и *endoplasmic reticulum stress* [44]. Миссенс мутации способны нарушать сортировку и процессинг синтезируемых белков, тормозить продвижение их от эндоплазматического ретикулума к аппарату Гольджи, и через транс-Гольджи сеть (*trans-Golgi Network*) в незрелые и зрелые секреторные гранулы [44].

Есть основание полагать, что образование внутримолекулярных дисульфидных связей является одним из важных этапов фолдинга белков, поскольку они сближают в пространстве аминокислотные остатки, образующие внутримолекулярные водородные, гидрофобные, электростатические и другие связи, которые формируют и закрепляют пространственную структуру белка. В этом процессе принимают участие белки теплового шока и другие шапероны. После нескольких повторных и безуспешных сворачиваний молекул белка в клетке включается экспрессия генов, направленная на активацию процесса фолдинга. Если она не достигает цели и мутантный белок не приобретает необходимую трехмерную структуру, запускаются механизмы его деградации и удаления из клетки. Они могут происходить не достаточно эффективно и затягиваться, тогда дефектные (*unfolded* и *misfolded*) белки накапливаются в эндоплазматическом ретикулуме, вызывают его “набухание”, нарушают функционирование клеток и индуцируют апоптоз [44]. Все мутации, представленные на рисунке 3, так или иначе, затрагивают формирование S-S мостика. Мутация p.G133del, помимо изменения структуры и укорочения пептидной цепи белка, удаляет С-концевой Cys и блокирует образование внутримолекулярной дисульфидной связи. P.S141C вводит третий непарный остаток Cys внутри петли, образуемой двумя другими остатками Cys, и может затруднять правильное замыкание S-S мостика с последующим нарушением фолдинга белковых молекул. Мутация p.R105W локализуется вблизи остатка C117. Введение крупного остатка W может изменять конформацию пептидной цепи, затруднять формирование дисульфидной петли с приобретением правильной пространственной структуры и нарушать секрецию гормона.

В своё время нами выдвинута гипотеза о том, что лептин связывается с рецептором *LepRb* не только в нейронах гипоталамуса, где экспрессируется

РОМС, пептиды которого регулируют пищевое поведение и энергетический баланс. Сделано предположение, что лептин взаимодействует с рецептом *LepRb* в других отделах гипоталамуса и через активацию в них релизинг гормонов регулировать гонадотропную, тиреотропную и соматотропную функции гипофиза [45]. Способность лептина активировать продукцию гонадолиберина и тиролиберина, а, следовательно, и секрецию гипофизом гонадотропинов (ЛГ и ФСГ) и ТТГ косвенно подтверждается накопленными данными. Однако влияние лептина на секрецию соматолиберина пока не находит убедительных доказательств, и активация роста под действием лептина, по всей вероятности, выполняется другими механизмами. Экспериментальные подтверждения роли лептина в регуляции гонадотропной функции гипофиза появилась в последние годы [46]. Они показывают, что активация лептином *LepRb* в преаммиллярных нейронах гипоталамуса проецируется на нейроны, экспрессирующие гонадолиберин (*GnRH*), и таким образом стимулирует секрецию гонадотропинов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hofker M., Wijmenga C. (2009) *Nat. Genet.*, **41**, 139-140.
2. Parikh N.I., Pencina M.J., Wang T.J., Lanier K.J., Fox C.S., D'Agostino P.B., Vasan R.S. (2007) *Am. J. Med.*, **120**, 242-250.
3. Ogden C.L., Carroll M.D., Curtin L.R., McDowell M.A., Tabak C.J., Flegal K.M. (2006) *J. Am. Med. Assoc.*, **295**, 1549-1555.
4. Thorleifsson G., Walters G.B., Gudbjartsson D.F., Steinthorsdottir V., Sulem P., Helgadóttir A., Styrkarsdóttir U. et al. (2009) *Nat. Genet.*, **41**, 18-24.
5. Савинкова Л.К., Пономаренко М.П., Пономаренко П.М. и др. (2009) *Биохимия*, **74**, 149-163.
6. Frayling T.M., Timpson N.J., Weedon M.N., Zeggini E., Freathy R.M., Lindgren C.M., Perry J.R., Elliot K.S., Lango H., Rayner N.W., Shields B., Harries I.W., Barrett J.C. et al. (2007) *Science*, **316**, 889-894.
7. Dina C., Meyer D., Gallina S., Durrand E., Korner A., Vatin V., Lecoœur C., Delplanque J., Vaillant E., Pattou F., Ruiz J., Weill J., Levy-Marchal C., Horber F., Potoczna N., Hercberg S., Le Stunff C., Bougneres P., Kovacs P., Marre M., Balkau B., Cauchi S., Chevre J.C., Froguel P. (2007) *Nat. Genet.*, **39**, 724-726.
8. Wardle J., Carnel S., Haworth C.M.A., Farooqi I.S., O'Rahilly S., Plomin R. (2008) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **93**, 3640-3643.
9. Loos R.J., Lindgren C.M., Li S., Wheeler E., Zhao J.H., Prokopenko I., Inouye M., Freathy R.M., Attwood A.P., Beckman J.S. et al. (2008) *Nat. Genet.*, **40**, 768-775.
10. Willer C.J., Speliotes E.K., Loos R.J.F., Li S., Lindgren C.M., Heid I.M., Berndt S., Elliott A.I., Jackson A.U., Lamina C., Lettre G., Lim N. et al. (2009) *Nat. Genet.*, **41**, 25-34.
11. Meyer D., Delplanque J., Chevre J.-C., Lecoœur C., Lobbens S., Gallina S., Durand E., Vatin V., Degraeve F., Proenca C., Gaget S., Korner A. et al. (2009) *Nat. Genet.*, **41**, 157-159.
12. Zeggini E., Scott L.J., Saxena R., Voight B.F. (2008) *Nat. Genet.*, **40**, 638-645.
13. Lubrano-Berthelie C., Le Stunff C., Bougneres P., Vaisse C. (2004) *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, **89**, 2028-2032.
14. Farooqi I.S., Keogh J.M., Yeo G.S.H., Lank E.J., Cheetham T., O'Rahilly S. (2003) *N. Engl. J. Med.*, **348**, 1085-1095.
15. Lubrano-Berthelie C., Dubern B., Lacorte J.-M., Picard F., Shapiro A., Zhang S., Bertrais S., Hercberg S., Basdevant A., Clement K., Vaisse C. (2006) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **91**, 1811-1818.
16. Lubrano-Berthelie C., Durand E., Dubern B., Shapiro A., Dazin P., Weill J., Ferron C., Froguel P., Vaisse C. (2003) *Hum. Mol. Genet.*, **12**, 145-153.
17. Панков Ю.А., Чехранова М.К., Карнова С.К., Яцьшина С.Б., Сазина Е.Т., Кеда Ю.М., Морозова М.С. (2006) *Мед. генетика*, **46**(4), 27-33.

18. *Srinivasan S., Lubrano-Berthelie C., Govaerts C., Picard F., Santiago P., Conklin B.R., Vaisse C.* (2004) *J. Clin. Invest.*, **114**, 1158-1164.
19. *Lubrano-Berthelie C., Cavazos M., Le Strunff C., Haas K., Shapiro A., Zhang S., Bougneres P., Vaisse C.* (2003) *Diabetes*, **52**, 2996-3000.
20. *Pritchard L.E., White A.* (2007) *Endocrinology*, **148**, 4201-4207.
21. *Krude H., Bieberman H., Schnabel D., Tansek M.Z., Theunissen P., Mullis P.E., Gruters A.* (2003) *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, **88**, 4633-4640.
22. *Farooqi I.S., Drop S., Clements A., Keogh J.M., Biernacka J., Lowenbein S., Challis B.G., O'Rahilly S.* (2006) *Diabetes*, **55**, 2549-2553.
23. *Clement K., Dubern B., Mencarelli M., Czernichow P., Ito S., Wakamatsu K., Barsh G., Vaisse C., Leger J.* (2008) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **93**, 4955-4962.
24. *Hinney A., Becker O., Heibult O., Nottebom K., Schmidt A., Ziegler A., Mayer H., Siegfried W., Blum W.F., Remschmidt H., Hebebrand J.* (1998) *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, **83**, 3737-3741.
25. *Панков Ю.А., Яцышина С.Б., Карпова С.К., Чехранова М.К., Попова Ю.П., Григорян О.Н., Рогаев Е.И.* (2002) *Вопр. мед. химии*, **48**, 120-131.
26. *Lee Y.S., Challis B.G., Thompson D.A., Yeo G.S.H., Keogh J.M., Madonna M.E., Wraight V., Sims M., Vatin V., Meyre D., Shield J., Burren C., Ibrahim Z., Cheetham T., Swift M., Blackwood A., Hung C-C.C., Wareham N.J., Froguel P., Millhauser G.L., O'Rahilly S., Farooqi I.S.* (2006) *Cell Metabolism*, **3**, 135-140.
27. *Biebermann H., Castaneda T.R., van Landeghem F., van Deimling A., Escher F., Brabant G., Hebebrand J., Hinney A., Tschop M.H., Gruters A., Krude H.* (2006) *Cell Metabolism*, **3**, 141-146.
28. *Challis B.G., Pritchard L.E., Creemers J.W.M., Delplanque J., Keogh J.M., Luan J., Wareham N.J., Yeo G.S.H., Bhattacharyya S., Froguel P., White A., Farooqi I.S., O'Rahilly S.* (2002) *Hum. Mol. Genet.*, **88**, 4633-4640.
29. *Dubern B., Lubrano-Berthelie C., Mencarelli M., Ersoy B., Frelut M-L., Bougle D., Costes B., Simon C., Tounian P., Vaisse C., Clement K.* (2008) *Pediatric Research*, **63**, 211-216.
30. *Creemers J.W.M., Lee Y.S., Oliver R.L., Bahceci M., Tuzcu A., Gokalp D., Keogh J., Herber S., White A., O'Rahilly S., Farooqi I.S.* (2008) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **93**, 4494-4499.
31. *Jackson R.S., Creemers J.W., Ohagi S., Raffin-Sanson M-L., Sanders L., Montague C.T., Hutton J.C., O'Rahilly S.* (1997) *Nat. Genet.*, **16**, 303-306.
32. *Jackson R.S., Creemers J.W., Farooqi I.S., Raffin-Sanson M-L., Varro A., Dockray G.J., Holst J.J., Brubaker P.L., Corvol P., Polonsky K.S., Ostrega D., Becker K.L., Bertagna X., Hutton J.C., White A., Dattani M.T., Hussain K., Middleton S.J., Nicole T.M., Milla P.J., Lindley K.L., O'Rahilly S.* (2003) *J. Clin. Invest.*, **112**, 1550-1560.
33. *Farooqi I.S., Volders K., Stanhope R., Heuschkel R., White A., Lank E., Keogh J., O'Rahilly S., Creemers J.W.M.* (2007) *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, **92**, 3369-3373.
34. *Benzinou M., Creemes J.W.M., Choquet H., Lobbens S., Dina C., Durand E., Guerardel A., Boutin F., Jouret B., Heude B., Balkau B., Tichet J. et al.* (2008) *Nat. Genet.*, **40**, 943-945.
35. *Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J.M.* (1994) *Nature*, **372**, 425-431.
36. *Strobel A., Issad T., Camoin L., Ozata M., Strosberg A.D.* (1998) *Nat. Genet.*, **18**, 213-215.
37. *Ozata M., Ozdemir C., Licinio J.* (1999) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **84**, 3686-3695.
38. *Montague C.T., Farooqi I.S., Whitehead J.P., Soos M.A., Rau H., Wareham N.J., Sewter C.P., Digby J.E., Mohammed S.N., Hurst J.A., Cheetham C.N., Eerley A.R., Barnet A.N., Prins J.B., O'Rahilly S.* (1997) *Nature*, **387**, 903-908.
39. *Gibson W.T., Farooqi I.S., Moreau M., DePaoli A.M., Lawrence E., O'Rahilly S., Trussell R.A.* (2004) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **89**, 4821-4826.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАЦИИ В РЕГУЛЯЦИИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО БАЛАНСА

40. *Pelleymounter M.A., Cullen M.G., Baker M. et al.* (1995) *Science*, **269**, 540-543.
41. *Farooqi I.S., Matarese G., Lord G.M., Keogh J.M., Lawrence E., Agwu C., Sanna V., Jebb S.A., Perna F., Fontana S., Lechler R.I., DePaoli A.M., O'Rahilly S.* (2002) *J. Clin. Invest.*, **110**, 1093-1103.
42. *Licinio J., Caglayan S., Ozata M., Yildiz B.O., de Miranda P., O'Kirwan F., Whitby R., Liang L., Cohen P., Bhasin S., Krauss R.M., Veldhuis J.D., Wagner A.L., DePaoli A.M., McCann S.M., Wong M-L.* (2004) *Proc. Natl. Akad. Sci. USA*, **101**, 4531-4536.
43. *Чехранова М.К., Карпова С.К., Ятсышина С.В., Панков Ю.А.* (2008) *Биоорганическая химия*, **34**, 768-770.
44. *Zhang K., Kaufman R.* (2008) *Nature*, **454**, 455-462.
45. *Панков Ю.А.* (1999) *Биохимия*, **64**, 601-609.
46. *Leshan R.L., Louis G.W, Jo Y.H., Rhodes C.J., Munzberg H., Myers M.G.* (2009) *J. Neurosci.*, **29**, 3138-3147

Поступила: 22. 10. 2009.

GENETIC VARIATIONS IN THE REGULATION OF ENERGETIC BALANCE

Y.A. Pankov

Endocrine Research Center, Moscvorechye str. 1, Moscow, 115478 Russia; tel.: (495)324-93-15;
e-mail: yurpankov@yandex.ru

Single nucleotide polymorphism (SNP) near certain genes revealed association of *FAT* (fat mass and obesity-associated gene), *MC4R* (melanocortin 4 receptor gene), and other genes with obesity. Participation of the *FAT* expression products in the regulation of energy balance remains to be clarified. The function of *MC4R* encoding melanocortin 4 receptor (MC4R) is somewhat better understood. α -, β -, and γ -MSH encoded by the *POMC* gene bind to MC4R, reduce food intake, and slow down fat accumulation. Expression of *POMC* that codes MSH is enhanced by leptin binding to the receptor (LepRb) in hypothalamic neurons. Mutations in human and animal *MC4R*, *POMC*, and *LEP* genes are known to be associated with obesity. More than 60 mutations in *MC4R*, more than 20 mutations in *POMC* and fewer *LEP* mutations have been reported. Nonsense mutations and reading frame shifts block gene expression and thereby disrupt protein synthesis. Missense mutations frequently affect protein folding in endoplasmic reticulum; unfolded or misfolded proteins remain in the cytoplasm and undergo degradation. Certain missense mutations do not interfere with gene expression and folding of proteins but impair their functioning at the periphery. P.S127L mutation in *MC4R*, p.E206X and p.F144L mutations in *POMC* as well as other mutations in homozygous and heterozygous forms account for disturbed energy balance in man. The *LEP* gene has been reported to contain G133fsX15, p.R105X, p.R105W, and p.S141C mutations. As a rule, they are associated with obesity and other pathological conditions only in homozygous forms.

Key words: gene, mutation, obesity.