

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ АНТИОКСИДАНТОВ И ИЗБЫТОЧНЫЙ ВЕС У ДЕТЕЙ

© 2024 г. М. А. Шкурят^{1, 2}, Е. В. Машкина^{1*},
Н. П. Милютин¹, Е. Д. Теплякова³, Т. П. Шкурят^{1, 2}

¹Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, 344090 Россия

²Медицинский центр “Наука”, Ростов-на-Дону, 344000 Россия

³Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, 344022 Россия

E-mail: lenmash@mail.ru

Поступила в редакцию 30.01.2024 г.

После доработки 21.02.2024 г.

Принята к публикации 29.02.2024 г.

Одним из компонентов патологического процесса, приводящего к развитию ожирения, является окислительный стресс. Уровень образования свободно-радикальных продуктов контролируется антиоксидантной системой. Полиморфизм генов антиоксидантов влияет на уровень и/или активность кодируемых ферментов. Целью работы было исследовать ассоциацию однонуклеотидных замен в генах антиоксидантной системы с риском формирования избыточной массы тела у детей и подростков. Материалом для исследования послужили образцы ДНК 279 детей с избыточным весом и 131 ребенка из контрольной группы. Проводили генотипирование по rs6721961 (–617G>T) *NFE2L2*, rs 4998557 (7958G>A) *SOD1*, rs4880 (47C>T Ala16Val) *SOD2*, rs1001179 (–262C>T) *CAT*, rs713041 (718C>T) *GPX4*, rs662 (Gln192Arg) *PON1*. Показано, что генотип –617GT по rs6721961 *NFE2L2* среди детей с избыточной массой тела регистрируется статистически значимо реже. Повышенный риск формирования избыточной массы тела выявлен для гетерозигот –262CT по rs1001179 *CAT* и аллеля –262T. В результате анализа межгенных взаимодействий выявлен 6-тилокусный генотип, ассоциированный со снижением риска формирования избыточной массы тела.

Ключевые слова: избыточный вес и ожирение у детей, антиоксиданты, полиморфизм генов, *SOD1*, *SOD2*, *CAT*, *GPX4*, *PON1*, *NFE2L2*, межгенные взаимодействия.

DOI: 10.31857/S0016675824070078 **EDN:** BICGJI

Ожирение – одно из самых распространенных метаболических нарушений в мире, которое развивается из-за дисбаланса потребления и расхода энергии. Ожирение распространено среди лиц обоих полов и всех возрастов, социально-экономических слоев и этнических групп. Распространенность детского ожирения во всем мире резко возросла за последние 30 лет. По оценкам Всемирной организации здравоохранения [1] детское ожирение в настоящее время затрагивает более 41 млн детей в возрасте до пяти лет. Среди детей и подростков от 5 до 19 лет в 2016 г. избыточный вес имели 213 млн, а от ожирения страдало до 124 млн [2]. При этом около трети детей с ожирением имеют некоторые признаки метаболического синдрома [3]. По данным мультицентрового исследования средняя частота избыточной массы тела и ожирения среди детей в Российской Федерации составила 19.9 и 5.6% соответственно [4]. Избыточный вес и ожирение у детей и подростков могут повышать

риск развития кардиометаболических синдромов, сахарного диабета 2-го типа, инсулинорезистентности [5].

Патогенез ожирения включает целый комплекс взаимосвязанных факторов риска, в том числе экологические, генетические, метаболические, психосоциальные [6, 7]. Ожирение, в том числе у детей и подростков, может быть ассоциировано с нарушением редокс-статуса, что выражается в снижении уровня эндогенных и экзогенных антиоксидантов и повышении уровня активных форм кислорода [8, 9]. Активные формы кислорода (АФК) играют важную роль в развитии ожирения и его метаболических осложнений. АФК влияют на концентрацию молекул, участвующих в воспалении, что связано с большим количеством адипоцитов, способствующих адипо- и липогенезу, стимулируют дифференцировку адипоцитов, регулируют энергетический баланс в нейронах гипоталамуса, контролирующих аппетит [10].

Контроль за уровнем АФК в тканях осуществляет антиоксидантная система, которая включает эндогенные (например, глутатион, убихинон, тиоредоксин, ураты) и экзогенные (например, аскорбиновая кислота, α -токоферол, каротиноиды) соединения, а также антиоксидантные ферменты. Наиболее важными антиоксидантными ферментами являются супероксиддисмутаза (SOD1, SOD2, SOD3), каталаза (КАТ), глутатионпероксидаза (GPX). Супероксиддисмутаза представляет собой металлоферменты, ответственные за детоксикацию супероксидных радикалов с образованием H_2O_2 . Пероксид водорода, в свою очередь, обезвреживается каталазой и пероксидазами. К антиоксидантам относятся и параоксоназы (PON, арилдиалкилфосфатазы). PON1 представляет собой эстеразу, которая вырабатывается в печени и связана с липопротеинами высокой плотности (ЛПВП). Фермент гидролизует большой спектр субстратов, в том числе и липопероксиды. По данным литературы показано, что генетически обусловленный уровень активности PON1 может быть вовлечен в изменение продукции адипокинов и миокинов у детей при ожирении [11].

Ядерный фактор 2 эритроидного происхождения (Nrf2, Nuclear factor erythroid 2-related factor 2), принадлежащий к семейству транскрипционных факторов Cap'n'Collar (CNC), подсемейству факторов транскрипции лейциновой молнии (bZIP), является ключевым регулятором клеточного ответа на окислительный стресс путем контроля экспрессии антиоксидантных и детоксикационных ферментов для устранения избытка АФК [12, 13]. Nrf2 в ядре связывается с элементом антиоксидантного ответа (ARE; GTGACNNNGC), присутствующим в регуляторной области как гена NFE2L2, так и генов-мишеней Nrf2, кодирующих антиоксидантные и детоксикационные белки, тем самым индуцируя транскрипцию гена. Nrf2 способствует не только системной детоксикации АФК и уменьшению окислительного стресса в различных тканях, но также дифференцировке и метаболизму адипоцитов [14].

Известно, что генетические вариации, такие как однонуклеотидные замены (SNP), могут влиять на функционирование кодируемых белков и изменять риск развития мультифакторных заболеваний человека. В результате исследований ассоциации однонуклеотидных замен с формированием избыточной массы тела и ожирения выявлены многочисленные генетические маркеры полигенной формы ожирения [15–19].

Однако частоты регистрации однонуклеотидных замен, ассоциированных с ожирением, имеют популяционные особенности, что обуславливает необходимость проведения репликативных исследований для конкретных групп населения [20–22].

Цель работы — проанализировать ассоциацию однонуклеотидных замен в генах антиоксидантной системы с риском формирования избыточной массы тела у детей и подростков Ростова-на-Дону.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенные из клеток крови 410 детей и подростков в возрасте от 4 до 16 лет. Дети и подростки были разделены на две группы: контрольная группа (131 человек с нормальным индексом массы тела ($ИМТ = 18.6 \pm 0.1$)) и группа детей с избыточным весом (279 человек, $ИМТ = 25.8 \pm 0.19$). Пороговые значения ИМТ для определения избыточного веса и ожирения определяли с учетом рекомендаций Всемирной организации здравоохранения: дети в возрасте до 5 лет относятся к группе с избыточным весом и ожирением, если ИМТ превышает медианное значение, указанное в Стандартных показателях физического развития детей (ВОЗ), более чем на два стандартных отклонения. У детей старше 5 лет избыточный вес и ожирение диагностируются, если ИМТ превышает медианное значение более чем на одно стандартное отклонение [23]. Распределение детей по полу было следующее: в контроле девочки составили 46%, мальчики — 54%; среди детей с избыточным весом доля девочек составила 45%, мальчиков — 55%.

Формирование исследуемых групп было проведено на базе Детской городской поликлиники № 4 и медицинского центра “Наука” г. Ростова-на-Дону. Все процедуры были выполнены с соблюдением Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации “Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека” (World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects) и статей 20, 22, 23 Федерального закона “Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации” от 21.11.2011 № 323-ФЗ (ред. от 26.05.2021). Согласно нормам биоэтики, родители детей и подростков, участвующих в исследовании, были предварительно подробно проинформированы о цели и содержании исследования и подписали письменную форму информированного согласия. Проведение исследования было утверждено комитетом по биоэтике Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Иванова Южного федерального университета (протокол № 2 от 17.01.2018).

ДНК из клеток крови выделяли термокоагуляционным методом с использованием реагента “ДНК-экспресс—кровь” (Литех, Россия).

В исследование были включены однонуклеотидные замены, влияющие на транскрипционную активность гена или функциональную активность кодируемой белковой молекулы. Кроме того,

согласно данным базы HaploReg (v.4.2), включенные в исследование SNP обладают регуляторным потенциалом, поскольку способны оказывать влияние на структуру хроматина, ДНК-белковые взаимодействия [24].

Анализ однонуклеотидных замен rs4998557 (7958G>A) гена *SOD1* и rs662 (*Gln192Arg*) гена *PON1* проводили методом аллель-специфичной амплификации с использованием реагентов SNP-экспресс (Литех).

Однонуклеотидные замены rs4880 (47C>T *Ala16Val*) гена *SOD2*, rs1001179 (–262C>T) гена *CAT*, rs713041 (718C>T) гена *GPX4* анализировали методом ПЦР в реальном времени с использованием коммерческих тест-систем (Синтол, Россия).

Анализ однонуклеотидной замены rs6721961 (–617G>T) гена *NFE2L2* проводили методом PCR-СТРП согласно методике, описанной Shimoyama с коллегами [25].

Анализ распределения частот генотипов и аллелей в исследуемых группах детей и подростков проводили без учета пола ребенка. Тест на соблюдение равновесия по Харди – Вайнбергу был проведен путем сравнения наблюдаемых частот генотипов с ожидаемыми. Частоты аллелей и генотипов генов по исследуемым SNP в группах детей и подростков сравнивали с помощью критерия χ^2 . В качестве поправки на множественность сравнений использовали пермутационный тест. Статистически значимыми различия считали при $p_{\text{perm}} < 0.05$. Потенциальное locus-locus взаимодействие оценивали с использованием непараметрического программного обеспечения MDR (Multifactor Dimensionality Reduction).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Распределение частот генотипов по всем исследуемым SNP в контрольной группе соответствует равновесию Харди – Вайнберга.

Для rs6721961 гена *NFE2L2* выявлены статистически значимые различия в частотах генотипов между двумя исследуемыми группами: среди детей с избыточным весом частота гомозигот –617TT составила 1.8%, тогда как в контроле данный генотип составляет всего 0.8% (табл. 1). В то же время в контроле частота гетерозигот –617GT в 1.9 раз выше (табл. 1). Данный генотип ассоциирован с понижением риска формирования избыточной массы тела у детей (OR = 0.48 95%CI 0.26 – 0.88).

Частоты генотипов и аллелей по SNP генов *SOD1* (Cu,ZnSOD) и *SOD2* (MnSOD) не отличаются в двух исследуемых группах детей (табл. 1).

Различия в частотах генотипов и аллелей между группами детей, отличающихся по ИМТ, выявлены для однонуклеотидной замены rs1001179 гена *CAT*. Частота аллеля –262C в контроле составила 0.82, а

генотипа –262CC – 69.5%. Среди детей с избыточной массой тела данные частоты равны 0.75 и 56.1% соответственно (табл. 1). Данный генотип и аллель ассоциированы с понижением риска формирования избыточной массы тела (для генотипа –262CC OR = 0.56 95%CI 0.36 – 0.87, для аллеля –262C OR = 0.66 95%CI 0.46 – 0.96). Повышенный риск формирования избыточной массы тела выявлен для гетерозигот –262CT (OR = 1.83 95%CI 1.15 – 2.91) и аллеля –262T (OR = 1.51 95%CI 1.04 – 2.19).

Для rs662 *PON1*, rs713041 *GPX4* не выявлено ассоциации с изменением риска формирования избыточной массы тела у детей и подростков (табл. 1).

MDR-анализ выявил значимость взаимодействия исследуемых локусов для формирования избыточной массы тела (табл. 2). Модель взаимодействия локусов имеет максимальную воспроизводимость (100%), точность прогнозирования составляет 59% (табл. 2).

На рис. 1 представлен характер взаимодействия между исследуемыми локусами. Выявлен эффект синергизма между локусами *PON1* и *SOD2*, *PON1* и *GPX4*, *GPX4* и *CAT*.

Частота генотипа GG *NFE2L2*/GG *SOD1*/CT *SOD2*/CC *CAT*/CT *GPX4*/GlnGln *PON1* среди детей и подростков с избыточной массой тела составила 1.8%, тогда как в контроле – 7.6% ($\chi^2 = 7.01$, $p = 0.008$; OR = 0.22 95% CI 0.07 – 0.66). Таким образом, выявлен шестилокусный генотип, ассоциированный со снижением риска формирования избыточной массы тела.

ОБСУЖДЕНИЕ

При ожирении окислительный стресс является одним из основных компонентов патологического процесса, что влечет за собой возможное истощение антиоксидантной системы. Степень нарушения работы антиоксидантов может быть обусловлена особенностями генотипа человека, в частности по генам ферментативных антиоксидантов. Мы исследовали частоту генотипов и аллелей для шести генов антиоксидантной системы: *NFE2L2*, *SOD1*, *SOD2*, *CAT*, *GPX4*, *PON1*.

Нами выявлены статистически значимые различия в распределении частот генотипов по rs6721961 гена *NFE2L2* между двумя исследуемыми группами детей. Генотип –617GT ассоциирован со снижением риска формирования избыточной массы тела. Однонуклеотидная замена –617G>T (rs6721961) локализуется в ARE-последовательности промотора гена *NFE2L2* и приводит к уменьшению эффективности связывания транскрипционного фактора и, следовательно, к снижению уровня транскрипции гена *NFE2L2* и Nrf2-контролируемых генов [26]. Эффект Nrf2 определяется его концентрацией,

Таблица 1. Частоты генотипов и аллелей по исследуемым SNP генов антиоксидантной системы

Генотип, аллель	Контроль, абс. (%)	Избыточный вес, абс. (%)	χ^2	p
NFE2L2 (rs6721961 –617G > T)				
GG	107 (81.7)	248 (88.9)	6.24	0.04
GT	23 (17.5)	26 (9.3)		
TT	1 (0.8)	5 (1.8)		
PXB (χ^2)	0.04 (p > 0.05)	14.5 (p < 0.05)		
Аллель –617G	0.905	0.94	2.04	0.15
Аллель –617T	0.095	0.06		
SOD1 (rs4998557 7958G> A)				
GG	94 (71.8)	203 (73.0)	0.22	0.89
GA	33 (25.2)	65 (23.4)		
AA	4 (3.0)	10 (3.6)		
PXB (χ^2)	0.27 (p > 0.05)	2.63 (p > 0.05)		
Аллель G	0.84	0.85	0.001	0.97
Аллель A	0.16	0.15		
SOD2 (rs4880 47C > T Ala16Val)				
CC	37 (28.2)	69 (24.8)	0.95	0.62
CT	58 (44.3)	137 (49.3)		
TT	36 (27.5)	72 (25.9)		
PXB (χ^2)	1.7 (p > 0.05)	0.06 (p > 0.05)		
Аллель C	0.5	0.5	0.03	0.86
Аллель T	0.5	0.5		
CAT (rs1001179 –262C > T)				
CC	91 (69.5)	156 (56.1)	7.04	0.03
CT	33 (25.2)	106 (38.1)		
TT	7 (5.3)	16 (5.8)		
PXB (χ^2)	2.7 (p > 0.05)	0.13 (p > 0.05)		
Аллель C	0.82	0.75	4.43	0.035
Аллель T	0.18	0.25		
GPX4 (rs713041 718C>T)				
CC	51 (38.9)	100 (35.8)	0.77	0.68
CT	56 (42.7)	118 (42.3)		
TT	24 (18.3)	61 (21.9)		
PXB (χ^2)	1.5 (p > 0.05)	5.26 (p < 0.05)		
Аллель C	0.6	0.57	0.67	0.41
Аллель T	0.4	0.43		
PON1 (rs662 Gln192Arg)				
GlnGln	69 (52.7)	131 (46.9)	1.18	0.55
GlnArg	54 (41.2)	128 (45.9)		
ArgArg	8 (6.1)	20 (7.2)		
PXB (χ^2)	0.36 (p > 0.05)	2.26 (p > 0.05)		
Аллель Gln	0.73	0.7	0.84	0.36
Аллель Arg	0.27	0.3		

Примечание: PXB – равновесие по Харди – Вайнбергу.

Таблица 2. Статистические показатели модели межгенных взаимодействий при формировании избыточной массы тела у детей и подростков

Локус	Точность прогнозирования	Воспроизводимость	χ^2 (p)	OR (95%CI)
NFE2L2 (rs6721961) SOD1 (rs4998557) SOD2 (rs4880) CAT (rs1001179) GPX4 (rs713041) PON1 (rs662)	0.59	10/10	112.2 (<0.0001)	15.5 (8.7–27.7)

продолжительностью синтеза и типом клеток. При ожирении активация *NFE2L2* оказывает защитный эффект за счет прежде всего регуляции антиоксидантной защиты. Однако превышение определенного порога в уровне Nrf2 и продолжительности его синтеза может привести к нарушению редокс-гомеостаза, усилить процесс накопления липидов, что, в свою очередь, может привести к перекисному окислению липидов и повреждению тканей [27]. В связи с этим можно предположить, что гетерозиготность по однонуклеотидной замене в промоторе гена *NFE2L2* создает условия для формирования в клетке оптимального гомеостатического уровня Nrf2, достаточного для эффективной работы антиоксидантной системы и не приводящего к активации патологических процессов. Однако эффективность этого “усредненного” уровня может зависеть от особенностей нуклеотидного состава промоторов генов-мишеней.

В настоящем исследовании пониженный риск формирования избыточной массы тела у детей выявлен для гомозигот по аллелю –262C по rs1001179 гена *CAT*. Данная однонуклеотидная замена локализована в промоторе, влияет на уровень транскрипции гена *CAT* и, соответственно, активность каталазы [28–30]. Область локализации данной замены богата сайтами связывания транскрипционных факторов [31]. Анализ *in silico* показал, что rs1001179 в промоторе *CAT* входит в состав консенсусной последовательности для TFII-1 и GATA-1 в присутствии C или для STAT4, ETS1 и GR-β в присутствии T [32]. В ряде работ показан более низкий уровень экспрессии гена *CAT* при наличии C по сравнению с аллелем T [28, 32]. Однако связь между rs1001179 и уровнем и/или активностью каталазы противоречива. В шведских популяциях концентрация эритроцитарной каталазы у лиц с генотипом *TT* была выше по сравнению с таковой у лиц с генотипом *CC* [28]. В российской популяции также было обнаружено, что уровень каталазы в крови у людей с генотипом *CC* низкий, что

приводит к развитию окислительного стресса и способствует развитию диабета 1 типа [33]. С другой стороны, у женщин с раком молочной железы, имеющих генотип *CC*, определяется более высокая активность каталазы в эритроцитах по сравнению с женщинами, имеющими генотипы *TT* или *TC* [34]. Снижение активности каталазы при наличии аллеля *T* выявлено и в других работах [35, 36]. Можно предположить, что уровень каталазы в клетках является результатом сочетанного эффекта генетического (наличие/отсутствие SNP) и биохимического факторов (ткане-специфичный спектр транскрипционных факторов). Необходимо отметить, что в промоторе гена каталазы не обнаружено нуклеотидной последовательности элемента антиоксидантного ответа (ARE), и вследствие этого транскрипционный фактор Nrf2 не может напрямую связываться с промотором *CAT* [37] и модулировать активность транскрипции гена. Возможно, что именно с этим связана независимость локусов *CAT* и *NFE2L2*, выявленная в модели межгенных взаимодействий (рис. 1).

Выявленное нами снижение риска формирования избыточной массы тела у детей с генотипом –262CC может быть связано с наличием базового уровня каталазы в клетках, который обеспечивает совместно с пероксидазами детоксикацию повышенных концентраций пероксида водорода. У гетерозигот по однонуклеотидной замене в промоторе гена *CAT* возможно изменение уровня каталазы в клетках, что влечет за собой изменение уровня АФК и повышение риска ожирения.

Реализация регуляторного потенциала однонуклеотидных замен в генах *CAT* и *NFE2L2* может быть связана с изменением функциональных характеристик затрагиваемого геномного локуса. Анализ *in silico* позволяет оценить возможные функциональные эффекты полиморфных локусов [38]. Проведенный анализ данных по функциональной геномике показал, что rs6721961 *NFE2L2* локализован в области потенциального связывания

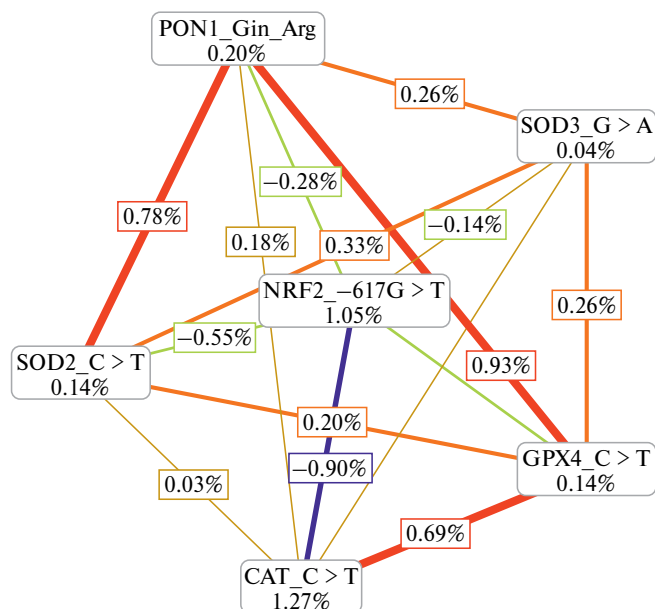


Рис. 1. Характер межгенных взаимодействий при формировании избыточной массы тела у детей (дендрограмма Фрюхтермана – Рейнгольда). Информационная ценность каждого индивидуального локуса представлена на вершинах многогранника; информационная ценность взаимодействия для пары локусов представлена на линиях, их соединяющих (эффект взаимодействия между SNP характеризуется цветом линии: красный – выраженный синергизм, оранжевый – умеренный синергизм, зеленый – умеренный антагонизм, коричневый – аддитивное взаимодействие, синий – избыточность или независимость).

ДНК с 17 различными белковыми молекулами (CTCF, NRSF, POL2, USF1 и др.) [24], а rs1001179 *CAT* локализован в области связывания ДНК для 20 белков (TBP, CMYC, GABP, GATA2 и др.) Регуляторная значимость однонуклеотидной замены может проявляться через модификации гистонов и степень открытия хроматина в области промотора *NFE2L2* или за счет изменения регуляторных мотивов (GATA, STAT, TCF12, Nf1) и тканеспецифичных сайтов гиперчувствительности к ДНКазе для *CAT*.

Совместное функционирование каталазы и глутатионпероксидазы в детоксикации пероксида водорода находит отражение в эффекте синергизма между локусами rs1001179 *CAT* и rs713041 *GPX4*, выявленном нами при анализе межгенных взаимодействий. Глутатионпероксидазы катализируют восстановление H_2O_2 до воды, а органических гидроперекисей до соответствующих спиртов с использованием глутатиона в качестве кофактора.

Снижение в клетке уровня липопероксидов обеспечивается также функционированием параоксоназы 1. Эффект взаимодействия локусов rs713041

GPX4 и rs662 *PON1* в 3 раза превышает индивидуальный вклад каждого локуса в отдельности (рис. 1).

Уровень образования липопероксидов опосредованно может быть связан с функционированием ферментов первой линии антиоксидантной системы – супероксиддисмутаза. Однонуклеотидная замена rs4880 *SOD2* приводит к аминокислотной замене *Ala16Val* в сигнальном N-концевом пептиде (MTS, Matrix Targeting Signal), который направляет фермент в матрикс митохондрий. Однонуклеотидная замена rs4880 изменяет вторичную структуру белка с образованием β -листа вместо амфифильной α -спирали в сигнальном пептиде [39], что, как следствие, снижает транспорт фермента в митохондрии [40]. В результате у гомозигот по валлину в положении 16 белка *SOD2* уровень фермента в митохондриях снижается, что может повлечь за собой накопление супероксида и активацию свободно-радикальных реакций [41]. При инициации перекисного окисления липидов глутатионпероксидазы становятся основными антиоксидантными ферментами второй линии защиты. Однако некоторые экспериментальные данные позволяют предположить, что генотип *SOD2* дикого типа (гомозиготность по *Ala16*) представляет собой генетический фактор риска повышенной восприимчивости к окислительному стрессу, в то время как мутантный гомозиготный генотип (*ValVal16 SOD2*) проявляет защитный эффект [42]. Гетерозиготный генотип *AlaVal16*, по-видимому, обеспечивает оптимальную ферментативную активность *SOD2* [43–45]. В настоящем исследовании выявлен эффект синергизма между локусами rs4880 *SOD2* и rs662 *PON1*, а генотип *Ala16Val* (47CT) по гену *SOD2* входит в шестилокусный генотип, ассоциированный со снижением риска формирования избыточной массы тела у детей.

Регуляторный потенциал rs4880 *SOD2* достаточно широк и связан с влиянием не только на активность кодируемого фермента *SOD2*. По данным биоинформационного анализа ранее было показано, что rs4880 *SOD2* связан со снижением экспрессии гена *MRPL18*, кодирующего белок L18, участвующий в транспорте из цитозоля в митохондрии 5S рРНК, что может влиять на общий уровень синтеза белка в митохондриях [46]. Митохондриальная дисфункция является одним из основных механизмов развития окислительного стресса при ожирении [47, 48].

Таким образом, полученные нами результаты указывают на потенциальное клиническое влияние двух исследуемых SNP на формирование избыточной массы тела у детей. В то же время выявлен эффект синергизма исследуемых локусов. Статистически значимое снижение риска развития избыточной массы тела выявлено для лиц с наибольшим количеством диких аллелей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках Государственного задания в сфере научной деятельности № FENW-2023-0018

Проведение исследования одобрено комитетом по биоэтике Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета (протокол № 2 от 17.01.2018). Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников или их законных представителей было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *World Health Organization*. – Childhood Obesity n.d. <https://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood/en/>
2. *NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC)*. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: A pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128 9 million children, adolescents, and adults // *Lancet*. 2017. V. 390. № 10113. P. 2627–2642. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32129-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32129-3)
3. *Di Cesare M., Sorić M., Bovet P. et al.* The epidemiological burden of obesity in childhood: A worldwide epidemic requiring urgent action // *BMC Med*. 2019. V. 17. P. 212. <https://doi.org/10.1186/s12916-019-1449-8>
4. *Тутельян В.А., Батулин А.К., Конь И.Я. и др.* Распространенность ожирения и избыточной массы тела среди детского населения РФ: мультицентровое исследование // *Педиатрия: журн. им. Г. Н. Сперанского*. 2014. Т. 93. № 5. С. 28–31.
5. *Бочарова О.В., Теплякова Е.Д.* Ожирение у детей и подростков-проблема здравоохранения XXI века // *Казанский мед. журн*. 2020. Т. 101. № 3. С. 381–388. <https://doi.org/10.17816/KMJ2020-381>
6. *Han J.C., Lawlor D.A., Kimm S.Y.* Childhood obesity // *The Lancet*. 2010. V. 375. P. 1737–1748. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60171-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60171-7)
7. *Geng J., Ni Q., Sun W. et al.* The links between gut microbiota and obesity and obesity related diseases // *Biomed Pharmacother*. 2022. V. 147. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112678>
8. *Stenzel A., Carvalho R., Jesus P. et al.* Serum antioxidant associations with metabolic characteristics in metabolically healthy and unhealthy adolescents with severe obesity: an observational study // *Nutrients*. 2018. V. 10. P. 150. <https://doi.org/10.3390/nu10020150>
9. *González-Domínguez A., Visiedo F., Domínguez-Riscart J. et al.* Blunted reducing power generation in erythrocytes contributes to oxidative stress in prepubertal obese children with insulin resistance // *Antioxidants*. 2021. V. 10. P. 244. <https://doi.org/10.3390/antiox10020244>
10. *Savini I., Catani M.V., Evangelista D. et al.* Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state // *Int. J. Mol. Sci*. 2013. V. 14. P. 10497–10538. <https://doi.org/10.3390/ijms140510497>
11. *Шестопалов А.В., Давыдов В.В., Туманян Г.Ц. и др.* Содержание адипокинов и миокинов в крови детей и подростков с различным генотипом по полиморфизму rs662 гена параоксоназы-1 // *Ожирение и метаболизм*. 2023. Т. 20. № 3. С. 227–236. <https://doi.org/10.14341/omet13006>
12. *Kaspar J.W., Niture S.K., Jaiswal A.K.* Nrf2: INrf2 (Keap1) signaling in oxidative stress // *Free Radic. Biol. Med*. 2009. V. 47. P. 1304–1309. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.07.035>
13. *Baird L., Yamamoto M.* The molecular mechanisms regulating the KEAP1-NRF2 pathway // *Mol. Cell. Biol*. 2020. V. 40. <https://doi.org/10.1128/MCB.00099-20>
14. *Wang Z., Zuo Z., Li L. et al.* Nrf2 in adipocytes // *Arch. Pharm. Res*. 2020. V. 43. P. 350–360. <https://doi.org/10.1007/s12272-020-01227-0>
15. *Hinney A., Hebebrand J.* Polygenic obesity in humans // *Obes. Facts*. 2008. V. 1. № 1. P. 35–42. <https://doi.org/10.1159/000113935>
16. *Meyre D., Delplanque J., Chèvre J.C. et al.* Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations // *Nat. Genetics*. 2009. V. 41. № 2. P. 157–159. <https://doi.org/10.1038/ng.301>
17. *Lu Y., Loos R.J.* Obesity genomics: Assessing the transferability of susceptibility loci across diverse populations // *Genome Med*. 2013. V. 5. № 6. P. 55. <https://doi.org/10.1186/gm459>
18. *Schlauch K.A., Kulick D., Subramanian K. et al.* Single-nucleotide polymorphisms in a cohort of significantly obese women without cardiometabolic diseases // *Int. J. Obesity*. 2019. V. 43. № 2. P. 253–262. <https://doi.org/10.1038/s41366-018-0181-3>
19. *Шкурят М.А., Машкина Е.В., Милютин Н.П., Шкурят Т.П.* Роль полиморфизма

- редокс-чувствительных генов в механизмах окислительного стресса при ожирении и метаболических заболеваниях // Экологическая генетика. 2023. Т. 21. № 3. С. 261–287. <https://doi.org/10.17816/ecogen562714>
20. Bradfield J.P., Voegelzang S., Felix J.F. et al. A trans-ancestral meta-analysis of genome-wide association studies reveals loci associated with childhood obesity // Hum. Mol. Genet. 2019. V. 28. № 19. P. 3327–3338. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddz161>
21. Трифонова Е.А., Попович А.А., Вагайцева К.В. и др. Метод мультиплексного генотипирования полиморфных вариантов генов, ассоциированных с ожирением и индексом массы тела // Генетика. 2019. Т. 55. № 10. С. 1218–1230. <https://doi.org/10.1134/S001667581910014X>
22. Трифонова Е.А., Попович А.А., Макеева О.А. и др. Репликативный анализ ассоциаций генетических маркеров с ожирением в российской популяции // Генетика. 2021. Т. 57. № 5. С. 604–610. <https://doi.org/10.31857/S0016675821050131>
23. <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
24. <https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>
25. Shimoyama Y., Mitsuda Y., Hamajima N., Niwa T. Polymorphisms of Nrf2, an antioxidant gene, are associated with blood pressure in Japanese // Nagoya J. Med. Sci. 2014. V. 76. № 1–2 P. 113–120.
26. Vasileva L.V., Savova M.S., Amirova K.M. et al. Obesity and NRF2-mediated cytoprotection: Where is the missing link? // Pharmacol Res. 2020. V. 156. № 6. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104760>
27. Xia Y., Zhai X., Qiu Y. et al. The Nrf2 in obesity: A friend or foe? // Antioxidants. 2022. V. 11. № 10. <https://doi.org/10.3390/antiox11102067>
28. Forsberg L., Lyrenäs L., De Faire U., Morgenstern R. A common functional C-T substitution polymorphism in the promoter region of the human catalase gene influences transcription factor binding, reporter gene transcription and is correlated to blood catalase levels // Free Radic Biol Med. 2001. V. 30. P. 500–505. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00487-1](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00487-1)
29. Quick S.K., Shields P.G., Nie J. et al. Effect modification by catalase genotype suggests a role for oxidative stress in the association of hormone replacement therapy with postmenopausal breast cancer risk // Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention. 2008. V. 17. № 5. P. 1082–1087. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-2755>
30. Saify K., Saadat I., Saadat M. Influence of A-21T and C-262T genetic polymorphisms at the promoter region of the catalase (CAT) on gene expression // Environ Health Prev Med. 2016. V. 21. P. 382–386. <https://doi.org/10.1007/s12199-016-0540-4>
31. Galasso M., Gambino S., Romanelli M.G. et al. Browsing the oldest antioxidant enzyme: catalase and its multiple regulation in cancer // Free Radic. Biol. Med. 2021. V. 172. P. 264–272. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.06.010>
32. Galasso M., Pozza E., Chignola R. et al. The rs1001179 SNP and CpG methylation regulate catalase expression in chronic lymphocytic leukemia // Cell Mol. Life Sci. 2022. V. 79. № 10. P. 521. <https://doi.org/10.1007/s00018-022-04540-7>
33. Chistiakov D.A., Savost'yanov K.V., Turakulov R.I. et al. A new type 1 diabetes susceptibility locus containing the catalase gene (chromosome 11p13) in a Russian population // Diabetes/Metabolism Research and Reviews. 2004. V. 20. № 3. P. 219–224. <https://doi.org/10.1002/dmrr.442>
34. Ahn J., Gammon M.D., Santella R.M. et al. Associations between breast cancer risk and the catalase genotype, fruit and vegetable consumption, and supplement use // Am. J. Epidemiol. 2005. V. 162. № 10. P. 943–952. <https://doi.org/10.1093/aje/kwi306>
35. Goth L., Nagy T., Kosa Z. et al. Effects of rs769217 and rs1001179 polymorphisms of catalase gene on blood catalase, carbohydrate and lipid biomarkers in diabetes mellitus // Free Radic Res. 2012. V. 46. P. 1249–1257. <https://doi.org/10.3109/10715762.2012.702899>
36. Goulas A., Agapakis D., Apostolidis A. et al. Association of the common catalase gene polymorphism rs1001179 with glycated hemoglobin and plasma lipids in hyperlipidemic patients // Biochem. Genet. 2017. V. 55. P. 77–86. <https://doi.org/10.1007/s10528-016-9777-2>
37. Glorieux C., Zamocky M., Sandoval J.M. et al. Regulation of catalase expression in healthy and cancerous cells // Free Radic. Biol. Med. 2015. V. 87. P. 84–97. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.06.017>
38. Полоников А.В., Клёсова Е.Ю., Азарова Ю.Э. Биоинформатические инструменты и интернет-ресурсы для оценки регуляторного потенциала полиморфных локусов, установленных полногеномными ассоциативными исследованиями мультифакториальных заболеваний (обзор) // Научные результаты биомедицинских исследований. 2021. Т. 7. № 1. С. 15–31. <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2020-7-1-0-2>
39. Shimoda-Matsubayashi S., Matsumine H., Kobayashi T. et al. Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene. A predictive evidence for conformational change to influence mitochondrial transport and a study of allelic association in Parkinson's disease // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1996. V. 226. № 2. P. 561–565. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1996.1394>
40. Sutton A., Khoury H., Prip-Buus C. et al. The Ala16Val genetic dimorphism modulates the import of human manganese superoxide dismutase into rat liver

- mitochondria // *Pharmacogenetics*. 2003. V. 13. № 3. P. 145–157. doi: 10.1097/01.fpc.0000054067.64000.8f
41. Bastaki M., Huen K., Manzanillo P. et al. Genotype-activity relationship for Mn-superoxide dismutase, glutathione peroxidase 1 and catalase in humans // *Pharmacogenet. Genomics*. 2006. V. 16. P. 279–286. [https://doi.org/ 10.1097/01.fpc.0000199498.08725.9c](https://doi.org/10.1097/01.fpc.0000199498.08725.9c)
 42. Cannata A., De Luca C., Andolina G. et al. Influence of the SOD2 A16V gene polymorphism on alterations of redox markers and erythrocyte membrane fatty acid profiles in patients with multiple chemical sensitivity // *Biomed. Rep.* 2021. V. 15. № 6. P. 101. [https://doi.org/ 10.3892/br.2021.1477](https://doi.org/10.3892/br.2021.1477)
 43. Giusti B., Vestrini A., Poggi C. et al. Genetic polymorphisms of antioxidant enzymes as risk factors for oxidative stress-associated complications in preterm infants // *Free Radic. Res.* 2012. V. 46. P. 1130–1139. [https://doi.org/ 10.3109/10715762.2012.692787](https://doi.org/10.3109/10715762.2012.692787)
 44. Palmirotta R., Barbanti P., De Marchis M.L. et al. Is SOD2 Ala16Val polymorphism associated with migraine with aura phenotype? // *Antioxid. Redox Signal.* 2015. V. 22. P. 275–279. [https://doi.org/ 10.1089/ars.2014.6069](https://doi.org/10.1089/ars.2014.6069)
 45. Synowiec E., Wigner P., Cichon N. et al. Single-nucleotide polymorphisms in oxidative stress-related genes and the risk of a stroke in a Polish population – a preliminary study // *Brain Sci.* 2021. V. 11. [https://doi.org/ 10.3390/brainsci11030391](https://doi.org/10.3390/brainsci11030391)
 46. Азарова Ю.Э., Гуреева А.В., Постникова М.И. и др. Связь однонуклеотидного полиморфизма rs4880 гена SOD2 с развитием микрососудистых осложнений сахарного диабета 2-го типа // *Науч. результаты биомед. исследований*. 2023. Т. 9. № 4. С. 461–473. [https://doi.org/ 10.18413/2658-6533-2023-9-4-0-3](https://doi.org/10.18413/2658-6533-2023-9-4-0-3)
 47. De Mello A.H., Costa A.B., Engel J.D.G., Rezin G.T. Mitochondrial dysfunction in obesity // *Life Sci.* 2018. V. 192. P. 26–32. doi: 10.1016/j.lfs.2017.11.019
 48. Prasun P. Mitochondrial dysfunction in metabolic syndrome // *Biochim. Biophys. Acta Mol Basis Dis.* 2020. V. 1866 (10). [https://doi.org/ 10.1016/j.bbadis.2020.165838](https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165838)

Polymorphism Of Antioxidant Genes And Overweight In Children

M. A. Shkurat^{1, 2}, E. V. Mashkina^{1*}, N. P. Milyutina¹, E. D. Teplyakova³, T. P. Shkurat^{1, 2}

¹*Southern Federal University, Rostov-on-Don, 344090 Russia*

²*Medical center “Nauka”, Rostov-on-Don, 344000 Russia*

³*Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, 344022 Russia*

E-mail: lenmash@mail.ru

Oxidative stress is one of the components of the pathological process leading to the development of obesity. The level of formation of free radical products is controlled by the antioxidant system. Gene polymorphisms influence the level and/or activity of the encoded enzymes. The aim of the work was to investigate the association of SNP in the genes of the antioxidant system with the risk of overweight in children and adolescents. The material for the study were DNA samples from 279 overweight children and 131 children from the control group. Genotyping was performed for rs6721961 (–617G>T) *NFE2L2*, rs4998557 (7958G>A) *SOD1*, rs4880 (47C>T Ala16Val) *SOD2*, rs1001179 (–262C>T) *CAT*, rs713041 (718C>T) *GPX4*, rs66 2 (Gln192Arg) *PON1*. It has been shown that the –617GT genotype (rs6721961) *NFE2L2* is associated with decreased of overweight risk children. An increased risk of developing overweight was detected for heterozygotes –262CT for rs1001179 *CAT* and the –262T allele. As a result of the analysis of intergenic interactions, a 6-locus genotype was identified that is associated with a reduced risk of overweight.

Keywords: overweight and obesity in children, antioxidants, gene polymorphism, *SOD1*, *SOD2*, *CAT*, *GPX4*, *PON1*, *NFE2L2*, intergenic interactions