

Геномный импринтинг при ожирении на примере синдрома Прадера-Вилли

О.В. Ремизов

ГУ Эндокринологический научный центр
(дир. – акад. РАН и РАМН И.И. Дедов) РАМН, Москва

Введение

Изучение молекулярно-генетических основ ожирения является одной из актуальных проблем современной медицины. Генетическая гетерогенность ожирения, сложное взаимоотношение между генами «ожирения» и «генами-пособниками» затрудняет решение этой проблемы. К настоящему времени установлена генетическая природа некоторых моногенных форм заболевания. Именно достижения молекулярной генетики, иммуногенетики предопределили возможность углубленного изучения таких форм заболевания.

Практически на протяжении всего XX века законы Менделя при моногенных заболеваниях считались неизблемыми. Однако в конце 80-х годов XX века был открыт феномен геномного импринтинга, который, являясь исключением из правил, позволяет объяснить особенности наследования некоторых заболеваний.

Геномный импринтинг – биологический феномен модификации специфических генов или сегментов ДНК на этапе гаметогенеза в аутосомных хромосомах, который лимитирован принадлежностью генов материнской или отцовской копии. Гены экспрессируются в зависимости от того, от кого из родителей они унаследованы. Установлено, что около 1% генома человека является субстратом для импринтинга. Биологическая роль импринтинга не определена, а механизмы этого феномена мало изучены. Полагают, что модификация генов обусловлена метилированием специфических остатков цитозина в цепи ДНК и процесс этот происходит в яйцеклетке или сперматозоиде. Геномный импринтинг называют эпигенетическим феноменом, и, в отличие от мутации, последовательность нуклеотидов при этом процессе не изменяется. Более того, феномен импринтинга может исчезать в процессе гаметогенеза и вновь появляться исходя из полового признака. Так, к примеру, метилированный ген, наследуемый мужской особью от матери, будет неметилирован в процессе сперматогенеза, и этот неметилированный ген, передавшийся уже его дочери, должен реметилироваться в процессе оогенеза. В результате такого различия, наследуемая от матери копия ДНК отличается от наследуемой отцовской копии. Такое различие отражается в экспрессии генов, несмотря на то, что нук-

леотидная последовательность двух копий ДНК идентична. Процесс импринтинга приводит к инактивации отцовской или материнской копии некоторых генов. Нарушение процесса импринтинга при мутации обуславливает повышенную или сниженную экспрессию импринтинговых генов.

Открытие геномного импринтинга позволило объяснить особенности развития и наследования таких заболеваний как «транзиторный» неонатальный диабет [1], синдром Прадера-Вилли (СПВ), синдром Беквита-Видемана [5].

Методы

Кариотипирование проводилось по стандартной методике в МГНЦ РАМН (зав. – д. б. н. А.В. Поляков). ДНК выделяли из образцов крови пациентов и родителей методом высаливания.

Гибридизация *in situ* проводилась с зондом SNRPN, специфичным для критического региона 15 хромосомы.

Результаты и обсуждение

Приводим наблюдение синдрома Прадера-Вилли с результатами молекулярно-генетического обследования.

А.К., 12 лет (рис.1), поступила в ЭНЦ РАМН с жалобами на избыточную массу тела, повышенный аппетит, задержку темпов физического и полового развития, задержку психомоторного развития. Из анамнеза известно, что девочка родилась в срок с массой тела 2500 г, ростом 48 см. В первые недели жизни наблюдалась выраженная гипотония мышц, отказ от еды. Со 2 года жизни отмечается повышение аппетита, избыточное развитие подкожно-жировой клетчатки. В возрасте 11 лет у девочки появились жалобы на жажду, учащенное мочеиспускание. Гликемия в течение суток варьировала от 6,3 ммоль/л (натощак) до 20,9 ммоль/л (после приема пищи).

При поступлении в клинику масса тела 67 кг, рост 141,5 см, ИМТ=33,5 кг/м². Подкожно-жировая клетчатка развита избыточно, распределена равномерно. Интеллект снижен. Аппетит повышен. Половое развитие по Таннеру: 0-1. По внутренним органам без особенностей. В ходе перорального глюкозотолерантного теста гликемия: 0 мин. – 5,9 ммоль/л, 60 мин – 14,1 ммоль/л, 120 мин – 12,2 ммоль/л. Индекс инсулинорезистентности по НОМА=1,2 (норма 1-2), I и II фазы секреции инсулина ниже 1-ой перцентили (рис.2). Антитела к глютаматдекарбоксилазе 0,3 Ед/л (норма до 1 Ед/л), ан-

титела к островковым клеткам — отр., антитела к тирозинфосфатазе — отр. Результаты пробы с клофелином на выброс СТГ: 0 мин — 0,25 нг/мл, 30 мин — 1,3 нг/мл, 60 мин — 2,4 нг/мл, 90 мин — 1,7 нг/мл, 120 мин — 0,5 нг/мл.

Результат цитогенетического исследования: Кариотип 46XX.

При молекулярно-генетической исследовании зондом SNRPN выявлена материнская дупликация (отцовская аллель отсутствует) в критическом регионе 15 хромосомы, которая специфична для синдрома Прадера-Вилли.

У больной имеет место снижение I и II фазы секреции инсулина, и несмотря на морбидное ожирение, чувствительность к инсулину сохранена. Снижение функции β -клеток при синдроме Прадера-Вилли не ассоциировано с иммунными нарушениями. У большей части больных чувствительность к инсулину не снижена, что однако не исключает сочетания дисфункции β -клеток с инсулинорезистентностью.

Распространенность СПВ составляет 1 случай на 25000 новорожденных [6]. Характерными клиническими проявлениями в период новорожденности являются: выраженная мышечная гипотония, сниженный аппетит. Несколько позднее появляется полифагия и ожирение. Дети с синдромом Прадера-Вилли имеют плохие темпы роста, укороченные кисти и стопы, типичное выражение лица, задержку темпов полового развития (гипогонадотропный гипогонадизм) с тенденцией к раннему адренархе, остеопороз и в некоторых случаях гипопигментацию. Низкий рост больных синдромом Прадера-Вилли частично обусловлен СТГ (соматотропный гормон)-дефицитом. Характерными чертами этого синдрома также являются: нарушение психомоторного развития, эмоциональная нестабиль-

ность. Приблизительно у каждого второго больного синдромом Прадера-Вилли развивается сахарный диабет или нарушение толерантности к глюкозе.

У больных синдромом Прадера-Вилли при цитогенетическом обследовании выявляется делеция длинного плеча 15 хромосомы. Интересно, что делеция идентичного региона 15 хромосомы (банды 15q.11-13) обнаруживается и при другом, отличном по кли-

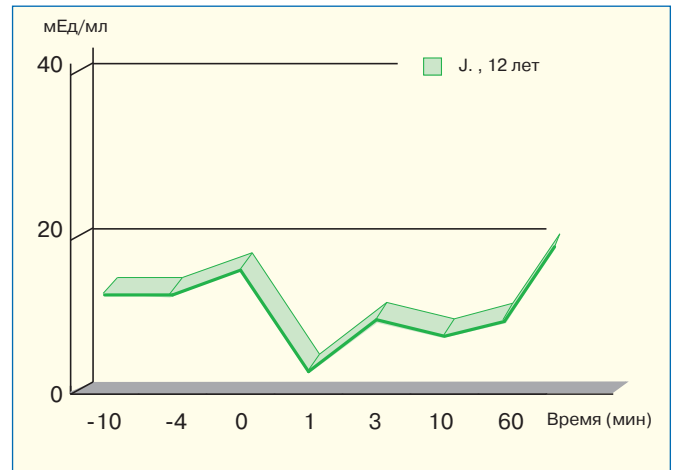


Рис. 2. I (1-3 мин.) и II фазы секреции инсулина у больной синдромом Прадера-Вилли в ответ на внутривенный глюкозотолерантный тест

ническим проявлениям от синдрома Прадера-Вилли заболевания — синдроме Ангельмана. У больных этим синдромом отмечается микроцефалия, микрогнатия, тяжелое нарушение психомоторного развития с отсутствием речевых навыков или крайне скудным речевым запасом, гиперактивность, нарушение сна, припадки, атаксия и в некоторых случаях гипопигментация.

Два фенотипически разных заболевания вызваны нарушениями в идентичном регионе 15 хромосомы. Однако у пациентов с синдромом Прадера-Вилли нарушена экспрессия генов отцовской копии, а у больных синдромом Ангельмана — нарушена экспрессия материнской копии.

Широкий спектр эндокринных нарушений при синдроме Прадера-Вилли большей частью является следствием нарушений функций гипоталамуса. «Отцовские» гены имеют исключительно важное значение для правильного формирования гипоталамуса. У эмбрионов мышей-химер продемонстрировано накопление «андрогенных» клеток (клеток с дублированным отцовским геномом) в гипоталамусе.

Установлено, что нарушение экспрессии генов отцовской копии происходит в результате трех процессов: делеции («отсутствие активных» генов), дисомии («дополнительные» гены) и мутации импринтингового центра. Приблизительно 70% случаев синдрома Прадера-Вилли обусловлено делецией, 20-28% — материнской дисомией [5]. В последнем случае, в процессе мейоза две копии участка хромосомы наследуются от матери, в то время как участок от отца отсутствует. Вероятно, дисомия является результатом избавления генома от трисомии или моносомии. В оставшихся 2-5% случаях причиной синдрома является мутация импринтингового центра, наследуемая по аутосомно-доминантному типу. Это единственная причина синдрома Прадера-Вилли связанная с высоким риском повторных случаев в семье. Крайне редко нарушение процесса транслокации приводит к разрыву хромосомы в участке 15q.11-15q.13. На рис. 3 схематически представлен 15q11-q13 регион. Синим цветом обозначены отцовские импринтинг-зависимые гены, красным — материнские. Импринтинг-независимые гены



Рис. 1: Больная А.К., синдром Прадера-Вилли, [del(15)(q11.q11)]

обозначены зеленым цветом. Фиолетовые указатели обозначают зону контроля центра импринтинга в 5' конце SNURF-SNRPN локуса. Вертикальные полосы ограничивают snoRNK транскрипторы, а горизонтальные полосы — относительное расположение идентифицированных экзонов и других транскрипторов внутри SNURF-SNRPN локуса. Крестами черного цвета обозначены наиболее типичные участки делеции.

Расположение и тип генетической поломки определяют фенотип больного. Так, больные синдромом Прадера-Вилли с микроделецией центра импринтинга имеют классический фенотип с типичными психозами. Больные же с делецией, помимо классического фенотипа, часто имеют гипопигментацию кожных покровов, волос и глаз, что является следствием утери импринтинг-независимого Р гена, ответственного за развитие альбинизма.

Без адекватного диетического контроля, неутолимое чувство голода приводит к морбидному ожирению. Сахарный диабет, тромбоз, отек нижних конечностей, сердечно-легочная недостаточность обуславливают летальный исход обычно в возрасте до 35 лет. У больных синдромом Прадера-Вилли нарушение пищевого поведения проявляется постоянной потребностью в еде, плохой насыщаемостью, быстрым наступлением чувства голода после приема пищи, кражей продуктов питания, кражей денег с целью покупки продуктов, постоянным поиском мест, где можно поесть, извращенным аппетитом (вкл. геофагию). В связи с этим особое значение приобретают попытки раннего введения низкокалорийной, сбалансированной диеты с регулярными физическими занятиями и постоянным наблюдением со стороны взрослых. Свободный доступ к продуктам питания, деньгам должен быть исключен. В лечении больных синдромом Прадера-Вилли используются аноректики центрального действия, сахароснижающие препараты (метформин, тиазолидиндионы, инсулин), антигипертензивные и гиполлипидемические препараты.

Больные синдромом Прадера-Вилли имеют центральное ожирение, но относительно низкое содержание висцеральной жировой массы. Это, вероятно, объясняет невысокий риск у больных синдромом Прадера-Вилли таких метаболических последствий ожирения, как инсулинорезистентность и гипертриглицеридемия.

У 40-50% больных задержка роста отмечается уже во внутриутробном периоде. Спонтанная и стимулированная секреция СТГ и ИРФ-1 снижена как у детей, так и взрослых. Терапия рекомбинантным гормоном роста человека у таких больных высокоэффективна. Помимо ростового эффекта, лечение СТГ приводит к значительному снижению жировой и увеличению мышечной массы, повышению выносливости, уменьшению мышечной гипотонии. Несмотря на то, что уровень инсулина натощак в процессе терапии гормоном роста повышается, а скорость утилизации глюкозы снижается, развития НТГ или СД обычно при адекватном наблюдении и ведении таких больных не отмечается.

Остеопороз — другое ассоциированное с синдромом заболевание. По крайней мере, у 20% больных в анамнезе более одного перелома. Терапия половыми стерои-

дами увеличивает минеральную плотность костной массы и снижает риск переломов.

У 70-95% больных синдромом Прадера-Вилли выявляется гиперсомнолентность, что вероятно обусловлено нарушением функции орексин-содержащих нейронов в латеральном гипоталамусе.

Предпринимаются интенсивные попытки выяснить ключевые механизмы нарушения пищевого поведения, развития ожирения у больных синдромом Прадера-Вилли. Показано, что уровень грелина натощак, — эндогенного лиганда рецептора секреторагога СТГ, — значительно повышен у таких больных. В связи с этим можно предположить наличие связи между гипергрелинемией и гиперфагией. Интересно, что не при каких других формах ожирения такой высокой концентрации грелина не наблюдается. Причина этого состояния не известна. Не исключено, что она является следствием нарушений в гипоталамусе или связана с нарушениями парасимпатической иннервации.

Постпрандиальная секреция анорексигенного панкреатического полипептида значительно снижена при синдроме Прадера-Вилли. У больных так же обнару-

- Нормальная секреция лептина
- Повышенный уровень грелина натощак
- Сниженная постпрандиальная секреция панкреатического полипептида
- Сниженная секреция инсулина натощак и после приема пищи
- Нормальная секреция холецистокинина
- Нормальное распределение нейронов в инфундибулярных ядрах, содержащих нейропептид Y, агуту схожий протеин, проопиомеланокортин, рилизинг фактор СТГ
- Нормальное распределение нейропептида Y, агуту схожего протеина в инфундибулярных ядрах
- Нормальное количество нейронов, содержащих рилизинг фактор СТГ в инфундибулярных ядрах
- Уменьшенное количество нейронов, содержащих рилизинг фактор СТГ в инфундибулярных ядрах у детей, получающих лечение СТГ
- Нормальное распределение окситоцин и вазопрессин содержащих нейронов в паравентрикулярных ядрах
- Уменьшенное количество общих (38%) и окситоцин (42%) содержащих нейронов в паравентрикулярных ядрах
- Нормальное количество вазопрессин содержащих нейронов в паравентрикулярных ядрах
- Нормальное распределение нейронов, содержащих кокаин- и амфетамин регулирующие транскрипторы в инфундибулярных, паравентрикулярных ядрах и латеральном гипоталамусе
- Уменьшенное количество нейронов, содержащих рилизинг фактор лютеинизирующего гормона в паравентрикулярных ядрах Ndn-knockout мышей

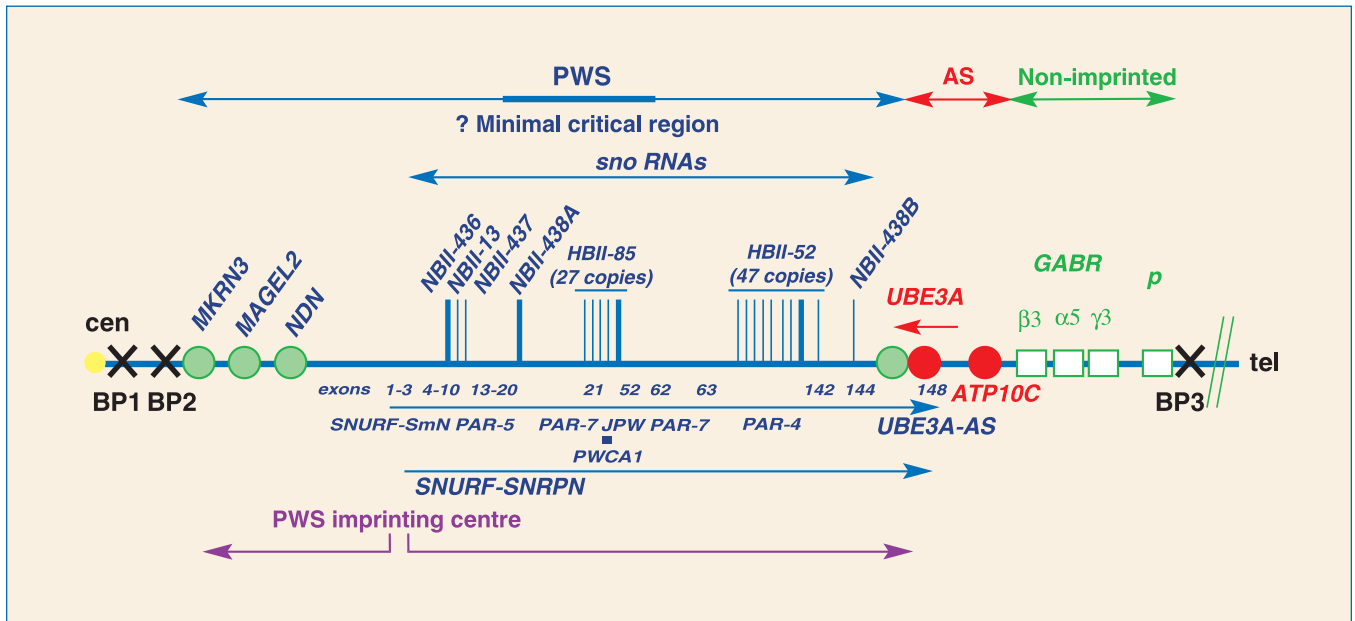


Рис. 3. Критический регион синдрома Прадера-Вилли (15q11-q13)

жено снижение количества общих и окситоцин содержащих нейронов в паравентрикулярных ядрах, что может иметь ведущее значение в развитии гиперфагии. Ниже приведены имеющиеся в литературе данные о биологически активных пептидах, гормонах, обеспечивающих баланс между чувством голода и насыщением, при синдроме Прадера-Вилли [2,3,4].

В патогенетические механизмы развития нарушений пищевого поведения может быть вовлечена и лимбическая система, миндалия, 5-гидрокситирамин-, норадреналин- и допамин- сигнальные пути. Эти же структуры могут обуславливать такие психические нарушения как депрессивные состояния, эпизоды агрессивного поведения.

Заключение

Несмотря на то, что к настоящему времени выявлено относительно небольшое количество импринтинга-зависимых генов, открытие этого феномена явилось важным шагом в изучении генетики ожирения и сахарного диабета, определяет направления перспективных методов лечения, имеет существенное значение в медико-генетическом консультировании. В последние годы высказано предположение, что с процессом импринтинга (INS-IGF2 локус) связано раз-

витие сахарного диабета 2 типа, синдрома поликистоза яичников у детей [8]. В целом значение этого феномена выходит за пределы области медицины. Установлено, что такие заболевания, как синдромы Беквита-Видеманна, Русселя-Сильвера, Ангельмана, некоторые формы аутизма и новообразований так же обусловлены нарушением процесса геномного импринтинга.

Картирование критического региона синдрома Прадера-Вилли на 15 хромосоме позволило направленно приступить к изучению роли 15 хромосомы в развитии ожирения. Проведенные к настоящему времени молекулярно-генетические исследования во французской популяции подтвердили связь ожирения, развившегося в детском возрасте, с локусом 15 хромосомы, включающей критический регион синдрома Прадера-Вилли. Высказано предположение, что полиморфизм генов в этом регионе может быть ответственным за развитие ожирения, которое фенотипически не связано с синдромом Прадера-Вилли.

Синдром Прадера-Вилли является клинической моделью сахарного диабета и ожирения, в патогенезе которых ключевое значение имеют гипоталамические нарушения, секреторные дефекты β-клетки без существенного вклада инсулинорезистентности.

Литература

1. Дедов И.И., Петеркова В.А., Ремизов О.В., Щербачева Л.Н., Панфилова Е.В., Максимова В.П., Temple I.K., Shield J.P.H. «Транзиторный» неонатальный диабет вследствие дупликации в 6-й хромосоме [dup(6)(q.24.2q24.2) de novo]// Сахарный диабет.- 2002.- №2.- С. 24-27.
2. Goldstone A.P. Resting metabolic rate, plasma leptin concentrations, leptin receptor expression and adipose tissue measured by whole-body magnetic resonance imaging in women with Prader-Willy syndrome.// Am. J. Clin. Nutr.-2002.- Vol. 75.- P. 468-475.
3. Goldstone A.P. Hypotalamic NPY and agouti-related protein and increased in human illness in Prader-Willy syndrome and other obese subjects.// J. Clin. Endocrinol. Metab.-2002.- Vol. 87.- P. 926-937.
4. Goldstone A.P. Hypotalamic growth hormone-releasing hormone (GHRH) cell number is increased in human illness, but not reduced in Prader-Willy syndrome or obesity.// Clin. Endocrinol.-2003.- Vol. 59.- P. 743-755.
5. Prader-Willy Syndrome – Diagnosis and Effects of Growth Hormone treatment / Eds Ann Christin Lindgren. – Stockholm, 1998.- 260 p.
6. Whittington J.E. Population prevalence and estimated birth incidence and mortality rate for people with Prader-Willy syndrome in one UK Health Region.// J. Med. Genet.- 2001.-Vol. 38.- P. 792-798.