

© И. В. Тарковская^{1,3},
О. С. Глозов^{2,3}, Т. Э. Иващенко^{2,3},
В. С. Баранов^{2,3}

¹Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург

²Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения российской академии медицинских наук,
Санкт-Петербург

³ООО «БиоГлот»,
Санкт-Петербург

✳ Методом ПДРФ-анализа изучен полиморфизм генов: *PPARA* G/C, *PPARG* Pro12Ala, *PPARD* +294T/C, *PGC-1* Gly482Ser, *UCP2* Ala55Val и *UCP3* –55C/T у лиц старше 69 лет (группа 1) и лиц среднего возраста (группа 2). Частоты генотипов T/C по гену *PPARD*, Ser/Ser по гену *PGC-1* и C/C по гену *UCP3* выше в группе 1 по сравнению с группой 2. Анализ распределения частот генотипов выявил гендерные различия по генам *PPARA*, *PPARD*, *PGC-1*, *UCP2*. Обсуждается ассоциация полиморфизма данных генов с долголетием, их значение в профилактике и оптимизации лечения возрастных заболеваний.

✳ **Ключевые слова:** полиморфизм; долголетие; гены *UCP*; гены *PPAR*; ген *PGC-1*; гены предрасположенности; энергетический обмен.

ОСОБЕННОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА *PGC-1*, СЕМЕЙСТВ *PPAR* И *UCP* В ДВУХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУППАХ НАСЕЛЕНИЯ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

ВВЕДЕНИЕ

Исследование причин старения организма и поиски путей продления периода активного долголетия являются актуальными проблемами современной биологии и молекулярной медицины. Экспоненциально увеличивается объем информации в области молекулярной генетики старения и долголетия. Так, в результате выполнения Международной программы «Геном человека» идентифицированы практически все гены, мутации которых приводят к наследственным болезням, и установлены многие гены, ассоциированные с частыми комплексными (мультифакторными) заболеваниями (МФЗ). С помощью генетического тестирования реально определить наследственную предрасположенность человека к тому или иному МФЗ (Баранов и др., 2000, 2009) и на основании комплексного анализа разработать индивидуальную профилактику и лечение таких заболеваний, что может способствовать продлению «активного долголетия» человека (Глозов, Баранов, 2007). Методом полногеномного скрининга в течение последних лет ведется активный поиск генов долголетия. К ним, в частности, относятся гены, продукты которых обеспечивают энергетический обмен клетки: *PPARA*, *PPARG*, *PPARD*, *PGC-1*, *UCP2*, *UCP3* (Баранов, Баранова, Глозов, 2010).

Гены семейства *PPAR* кодируют белки, которые специфически связываются с промоторами генов жирового и углеводного обменов, регулируя их транскрипцию. Гены, кодирующие эти белки (*PPARA*, *PPARG* и *PPARD*), локализованы на разных хромосомах, но в целом имеют сходную молекулярную структуру.

Ген *PPARA* (22q13.31) экспрессируется в тех тканях, где происходит интенсивный обмен жиров: мышцы, печень, сердце и бурый жир. Основная функция белка *PPARα* — регуляция обмена липидов, глюкозы и энергетического гомеостаза, а также веса тела. При физических нагрузках в аэробных условиях происходит увеличение утилизации жирных кислот (ЖК) за счет повышения экспрессии гена *PPARA* и активности каскада регулируемых им генов. При низкой экспрессии гена *PPARA* способность тканей к эффективному β-окислению ЖК падает, и метаболизм тканей переключается на гликолитический способ получения энергии. Напротив, сверхэкспрессия гена *PPARA* приводит к снижению утилизации глюкозы и к повышению окисления ЖК (Djouadi et al., 1998).

Замена нуклеотида G на C в положении 2528 (7-й интрон) гена *PPARA* ведет к снижению экспрессии, вследствие чего меняется регуляция липидного и углеводного обменов. Носители аллели C имеют повышенный риск развития атеросклероза, сахарного диабета 2-го типа и ишемической болезни сердца (Seda and Sedova, 2007).

С гена *PPARG* (3p25) экспрессируется 4 транскрипта, отличающихся по 5'концам с разным количеством нетранслируемых экзонов: *PPARγ1*, *PPARγ2*, *PPARγ3* и *PPARγ4*. Данные транскрипты возникают в результате альтернативного сплайсинга. Функции транскрипционного фактора (ТФ) *PPARγ* заключаются в регуляции генов, связанных с накоплением жира (синтез триглицеридов), дифференцировкой адипоцитов и миоцитов, чувствительностью к инсулину, активностью остеобластов и остеокластов (регуляция роста).

Полиморфизм Pro12Ala (rs1801282) гена *PPARG* ведет к замене нуклеотида C на G в 34 положении экзона B, следствием чего является замещение проли-

Поступила в редакцию 24.03.2011
Принята к публикации 08.09.2011

на на аланин в положении 12 изоформы PPAR γ 2. Частота аллели *Ala* варьирует от 1 % у китайцев до 25 % у европейцев. Наличие аллели *Ala* коррелирует со снижением активности белка, подавлением липолиза в адипоцитах и снижением уровня свободных ЖК. Мета-анализ 30 разных исследований с общей выборкой 19 136 человек показал, что носители аллели *Ala* имеют больший индекс массы тела, чем гомозиготы Pro/Pro, труднее теряют вес при переходе на гипокалорийную диету, но быстро набирают вес после прекращения диеты (Hegele et al., 2000).

Ген *PPARD* (6p21.1–p21.2) активно экспрессируется в жировой ткани и в медленных мышечных волокнах скелетных мышц. Продукт гена — белок PPAR δ регулирует экспрессию генов, вовлеченных в окисление ЖК и обмен холестерина. Генами-мишенями ТФ PPAR δ в мышечной ткани являются гены окислительного метаболизма, термогенеза и гены, определяющие функции медленных мышечных волокон (миоглобина, тропонина I), транспорта и окисления ЖК в миокарде, в бурой и белой жировых тканях (Stefan et al., 2007). Среди аллельных вариантов гена *PPARD* наибольший интерес представляет полиморфизм 4-го экзона +294Т/С (rs2016520). Транскрипционная активность аллели С на 39 % выше, чем у аллели Т. Кроме того, замена нуклеотида Т на С приводит к образованию нового сайта связывания с транскрипционными факторами (Sp-1), усиливающим экспрессию *PPARD*. Показано, что аллель С кодирует белок, который способствует более эффективному сгоранию жиров, и в определенной степени снижает риск развития ожирения (Skogsberg et al., 2003).

Ген *PGC-1* (4p15.1) экспрессируется преимущественно в скелетных мышцах (МВ), миокарде, в почках и в адипоцитах бурой жировой ткани (Finch et al., 2003). Его продукт — белок PGC-1 α , является транскрипционным коактиватором многих ядерных рецепторов (PPAR α , PPAR γ , PPAR δ), митохондриального ТФ (Tfam), рецептора тиреоидного гормона, ретиноидных рецепторов, глюкокортикоидного рецептора, α - и β - рецепторов эстрогена, ядерного фактора печени 4 (HNF-4), X-рецептора печени (LXR), эстроген-зависимых рецепторов (ERR) и др. Через соответствующие ТФ PGC-1 α влияет на активность процессов адаптивного термогенеза, образование митохондрий и усиление окислительных процессов, секрецию инсулина, глюконеогенез, липогенез и хондрогенез. В свою очередь, экспрессия гена *PGC-1* регулируется белками различных сигнальных путей, такими как SAMKIV, CREB, AMPK, p38 MAPK, кальциневрин А, MEF2, NRs, NRF-1, FOXO1 и оксидом азота (NO) (Finck and Kelly, 2006). Экспериментально установлено, что ген *PGC-1* активируется сразу после рождения и участвует в переключении углеводного метаболизма на жировой. Среди многих вариаций в гене *PGC-1* особый интерес представляет замена нуклеотида G на A в положении 1444 8 экзона, которая приводит к замещению глицина на серин в положении 482 белка (Gly482Ser). Аллель 482Ser встречается с частотой 30–40 % (Bargoso et al., 2006). Она ассоциирована со

снижением уровня экспрессии гена *PGC-1*, уменьшением окислительных процессов и митохондриального биогенеза, с ожирением у мужчин, ведущих физически неактивный образ жизни. Мета-анализ 3718 больных сахарным диабетом 2-го типа выявил ассоциацию аллели *Ser* с повышенным риском этой патологии.

Важнейшими регуляторами энергетического метаболизма являются гены так называемых «разобщающих» белков *UCP2* и *UCP3*. Последние принадлежат к сверхсемейству белков — носителей анионов внутренней мембраны митохондрий. *UCP1*, классический разобщающий белок, экспрессируется исключительно в бурой жировой ткани. Его физиологическая роль — обеспечивать регулируемое, термогенное перемещение протонов через митохондриальную внутреннюю мембрану. Гены *UCP2* и *UCP3* являются гомологами *UCP1* (Kelly et al., 1998) и также обеспечивают перемещение протонов через внутреннюю мембрану митохондрий. Физиологическая функция белков *UCP2* и *UCP3* неизвестна. Предполагается, что они могут контролировать продукцию активных форм кислорода. Показано, что *UCP2* благодаря своей протонотранспортирующей активности играет важную роль в патофизиологии сахарного диабета типа 2. Активация белков *UCP2* и *UCP3* предотвращает окисление АДФ до АТФ, что способствует выделению тепла (Krauss et al., 2005), существенно влияет на обмен глюкозы и в конечном счете приводит к выработке жировой тканью гормона лептина, который участвует в регуляции массы тела (Scarpace and Matheny, 1998).

Ген *UCP2* (11q13), играет одну из ключевых ролей в терморегуляции, связан с процессами аккумуляции жиров и рассеиванием энергии в виде тепла. В гене *UCP2* наиболее изучен Ala55Val полиморфизм в 4 экзоне, с частотой встречаемости аллели *Val* от 40 до 60 % в мировых популяциях. Аллель *Val* ассоциирована с повышенным риском развития сахарного диабета 2 и ожирения (Yu et al., 2005; Ахметов и др., 2007).

Ген *UCP3* (11q13) как и *UCP2*, выполняет функции терморегуляции, участвует в процессах выработки энергии митохондриями. –55С/Т-полиморфизм гена *UCP3* ассоциирован с повышенным риском развития атеросклероза, сахарного диабета 2-го типа и ожирения. Более того, люди с генотипом Т/Т имеют более высокую концентрацию холестерина в плазме крови по сравнению с диким типом и гетерозиготами. Аллель риска (Т-аллель) в российской популяции встречается примерно в 30 % случаев (Meirhaeghe et al., 2000; Ахметов и др., 2007).

На основании вышеизложенного высказано предположение, что в разных возрастных группах частота функционально различных полиморфных вариантов генов *PPARA*, *PPARG*, *PPARD*, *PGC-1*, *UCP2*, *UCP3* может отличаться. В настоящей работе изучены частоты генотипов и аллелей генов *PPARA*, *PPARG*, *PPARD*, *PGC-1*, *UCP2*, *UCP3* у лиц старше 69 лет и среднего возраста Северо-Западного региона России.

Таблица 1

Подобранные олигопраймеры

Ген	Полиморфизм	Последовательность 5'–3'
<i>PPARA</i>	G/C	ACA ATC ACT CCT TAA ATA TGG TGG AAG TAG GGA CAG ACA GGA CCA GTA
<i>PPARG</i>	Pro12Ala	GCC AAT TCA AGC CCA GTC-3' GAT ATG TTT GCA GAC AGT GTA TCA GTG AAG GAA TCG CTT TCC G
<i>PPARD</i>	+294T/C	CAT GGT ATA GCA CTG CAG GAA CTT CCT CCT GTG GCT GCT C
<i>PGC-1</i>	Gly482Ser	GAG CCG AGC TGA ACA AGC ACT AGG ATT GCG TGC CAT CCC AAG
<i>UCP2</i>	Ala55Val	5-TACTGCTAAAGTCCGGTTACAG-3 5-CATCACACCGCGGTACTGGGCGTTG-3
<i>UCP3</i>	-55C/T	5-CCT-CCC-CTC-TCA-CCT-CAC-TG -3 5-GGC-ACT-GGT-CTT-ATA-CCC-AC -3

Таблица 2

Размеры ПЦР-продуктов анализируемых генов

Ген	<i>PPARA</i>	<i>PPARG</i>	<i>PPARD</i>	<i>PGC-1</i>	<i>UCP2</i>	<i>UCP3</i>
Полиморфизм	G/C	Pro12Ala	+294T/C	Gly482Ser	Ala55Val	-55C/T
Размер амплифицируемого фрагмента (п. о.)	298	406	270	216	241	115

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на образцах ДНК, выделенных из лейкоцитов периферической крови человека.

Проведен анализ образцов ДНК 275 человек в двух возрастных группах. Первая группа состояла из 138 лиц старше 69 лет (I Санкт-Петербургский городской дом престарелых), в возрасте от 69 до 102 лет, средний возраст 81 год (долгожители), вторая — из 137 лиц среднего возраста (от 20 до 55 лет), средний возраст 39 лет (НИИ АГ им. Д. О. Отта СЗО РАМН), несколько поколений которых проживали в Северо-Западном регионе России.

У лиц старше 69 лет были выявлены следующие заболевания: ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь, инсулиннезависимый сахарный диабет, острое нарушение мозгового кровообращения, катаракта, остеохондроз, хронический бронхит, артрит.

Анализ полиморфизма генов *PPARA*, *PPARG*, *PPARD*, *PGC-1*, *UCP2*, *UCP3* проведен методом ПЦР–ПДРФ-анализа. Используемые олигопраймеры приведены в таблице 1.

Мультиплексные ПЦР (для генов *PPARA*, *PPARG*, *PPARD*) проводили в условиях, предложенных ранее (Готов и др., 2007): реакционная смесь (25 мкл) на первом этапе ПЦР содержала 0,4 пмоля каждого праймера (исходная концентрация раствора праймеров 10 pmol/ul), 67 мМ Трис-НСl (рН 8,6), 166 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,01 % Тритон X-100, 1,5 мМ MgCl₂, 0,2 мМ каждого из dNTP («Силекс», Россия) и 2,5 ед. акт. Таq-полимеразы («Силекс», Россия).

ПЦР-реакцию для генов *PPARA*, *PPARG*, *PPARD* проводили в следующем режиме: денатурация при 94 °С

(5 мин), далее 35 циклов амплификации по следующей схеме: 94 °С, 30 с; 60 °С, 30 с; 72 °С, 1 мин, далее 72 °С, 5 мин.

ПЦР для генов *UCP2* и *UCP3* проводили в следующем режиме: денатурация при 94 °С (7 мин), 35 циклов амплификации по следующей схеме: 94 °С, 1 мин; 60 °С, 1 мин; 72 °С, 1 мин, далее 72 °С, 5 мин.

Размеры ПЦР-продуктов анализируемых генов представлены в таблице 2.

Продукты амплификации подвергали гидролизу соответствующими эндонуклеазами рестрикции (таблица 3). Ферментативный гидролиз ДНК проводили согласно рекомендациям фирмы-изготовителя (ООО «СибЭнзим», г. Новосибирск).

Продукты амплификации и рестрикции разделяли в 6 % неденатурирующем полиакриламидном геле. Гель окрашивали водным раствором бромистого этидия (0,5 мкг/мл), просматривали в ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для выявления возможной взаимосвязи генотип–фенотип проведен сравнительный анализ частот аллелей и генотипов изученных генов между группами лиц старше 69 лет (группа 1) и лиц среднего возраста (группа 2). При сравнении групп учитывали различия по полу, если распределение генотипов для лиц мужского и/или женского пола статистически достоверно отличались.

Результаты анализа частот аллелей и генотипов изученных генов представлены в таблицах 4 и 5.

Таблица 3

Эндонуклеазы рестрикции, используемые для анализа генов *PPARA*, *PPARG*, *PPARD*, *PGC-1*, *UCP2*, *UCP3*

Ген	Рестриктаза	Сайт	Буфер
<i>PPARA</i>	Taq I	T↓CGA	Taq
<i>PPARG</i>	BstFNI	CG↓CG	Y
<i>PPARD</i>	Bsc4 I	CCNNNNN↓NNGG	W
<i>PGC-1</i>	MspI	GGG↓C	B
<i>UCP2</i>	HindIII	GTY↓RAC	G
<i>UCP3</i>	BssECI	C↓CNNGG	Y

Таблица 4

Частоты аллелей и генотипов изученных генов

Гены	Генотип, аллель	Частоты аллелей и генотипов	
		Лица старше 69 лет, %	Лица среднего возраста, %
<i>PPARA</i>	<i>G/G</i>	51,6	67
	<i>G/C</i>	44,2	31,1
	<i>C/C</i>	4,2	1,9
	<i>G</i>	73,7*	82,5*
	<i>C</i>	26,3*	17,5*
	<i>n</i>	95	106
<i>PPARG</i>	<i>Pro/Pro</i>	75	63
	<i>Pro/Ala</i>	25	37
	<i>Ala/Ala</i>	0	0
	<i>Pro</i>	87,5	81,5
	<i>Ala</i>	12,5	18,5
	<i>n</i>	92	100
<i>PPARD</i> Df = 2, $\chi^2 = 14,66$	<i>T/T</i>	66*	88,8*
	<i>T/C</i>	31,9*	9*
	<i>C/C</i>	2,1	2,2
	<i>T</i>	81,9*	93,3*
	<i>C</i>	18,1*	6,7*
	<i>n</i>	94	89
<i>PGC-1</i> Df = 2, $\chi^2 = 11,08$	<i>Gly/Gly</i>	29	30,7
	<i>Gly/Ser</i>	47,8*	60,6*
	<i>Ser/Ser</i>	23,2*	8,8*
	<i>Gly</i>	63,8	59,8
	<i>Ser</i>	36,2	40,2
	<i>n</i>	138	137
<i>UCP2</i>	<i>Ala/Ala</i>	27,3	35
	<i>Ala/Val</i>	50	52
	<i>Val/Val</i>	22,7	13
	<i>Ala</i>	52,3	61
	<i>Val</i>	47,7	39
	<i>n</i>	128	100
<i>UCP3</i> Df = 2, $\chi^2 = 4,33$	<i>C/C</i>	42,2*	29*
	<i>C/T</i>	47,7	60
	<i>T/T</i>	10,2	11
	<i>C</i>	66	59
	<i>T</i>	34	41
	<i>n</i>	128	100

Примечание: * достоверно отличающиеся данные.

Таблица 5

Частоты аллелей и генотипов изученных генов с учетом пола

Гены	Генотип, аллель, N	Частоты аллелей и генотипов				P
		Лица старше 69 лет, %		Лица среднего возраста, %		
		Мужчины	Женщины	Мужчины	Женщины	
PPARA	G/G	61,1	49,4*	57,8	73,8*	0,0036
	G/C	33,3	46,8*	42,2	23*	0,0039
	C/C	5,6	3,9	0	3,3	—
	G	77,8	72,7*	78,9	85,2*	0,0123
	C	22,2	27,3*	21,1	14,8*	
	n	18	77	45	61	
PPARG	Pro/Pro	70,6	76	61,4	64,3	—
	Pro/Ala	29,4	24	38,6	35,7	—
	Ala/Ala	0	0	0	0	—
	Pro	85,3	88	80,7	82,1	—
	Ala	14,7	12	19,3	17,9	—
	n	17	75	44	56	
PPARD	T/T	66,7*	65,8*	91,7*	86,8*	0,0201 0,0071
	T/C	27,8	32,9*	8,3	9,4*	0,0019
	C/C	5,6	1,3	0	3,8	0,0098 0,0345
	T	80,6*	82,2*	95,8*	91,5*	
	C	19,4*	17,8*	4,2*	8,5*	
	n	18	76	36	53	—
PGC-1	Gly/Gly	22,2	30	34,4	27	—
	Gly/Ser	44,4	49,1	57,4	63,5	—
	Ser/Ser	33,3*	20,9	8,2*	9,5	0,0029
	Gly	44,4	54,5	63,1	58,7	—
	Ser	55,6	45,5	36,9	41,3	—
	n	27	110	61	63	
UCP2	Ala/Ala	15,4	29,4	37	33,3	—
	Ala/Val	61,5	47,1	45,7	57,4	—
	Val/Val	23,1	23,5*	17,4	9,3*	0,0293
	Ala	46,2	52,9	59,8	62	—
	Val	53,8	47,1	40,2	38	—
	n	26	102	46	54	
UCP3	C/C	46,2	38,2	37	22,2	—
	C/T	42,3	50	52,2	66,7	—
	T/T	11,5	11,8	10,9	11,1	—
	C	67,3	63,2	63	55,6	—
	T	32,7	36,8	37	44,4	—
	n	26	102	46	54	

Примечание: * — достоверно отличающиеся данные.

Ген PPARD (+294T/C полиморфизм). Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей гена PPARD (+294T/C) между анализируемыми группами выявил статистически значимые различия (рис. 1). Так, частота генотипа T/T оказалась достоверно ниже в группе 1 по сравнению с таковой в группе 2 (66,0 и 88,8 % соответственно, $\chi^2 = 13,45$,

$p = 0,0002$), а генотипа T/C достоверно выше (31,9 и 9,0 % соответственно, $\chi^2 = 14,6$, $p = 0,0001$).

При сравнительном гендерном анализе частот генотипов были выявлены статистически значимые различия. Частота генотипа T/T гена PPARD была достоверно ниже у женщин группы 1 по сравнению с таковой

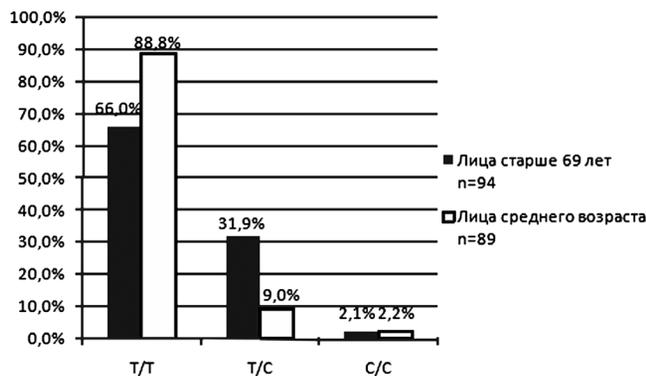


Рис. 1. Распределение частот генотипов по гену *PPARD* (+294T/C) у лиц старше 69 лет и лиц среднего возраста

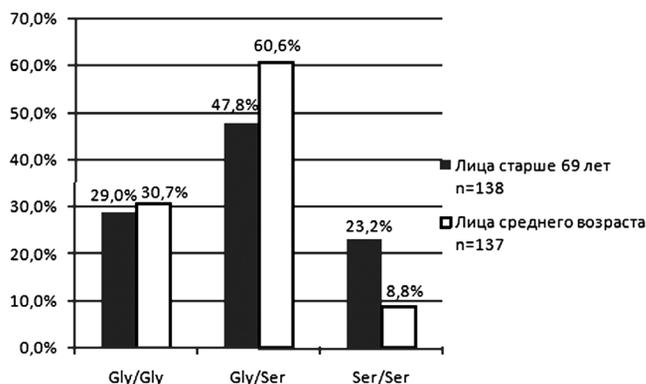


Рис. 2. Распределение частот генотипов по гену *PGC-1* (Gly/Ser) у лиц старше 69 лет и лиц среднего возраста

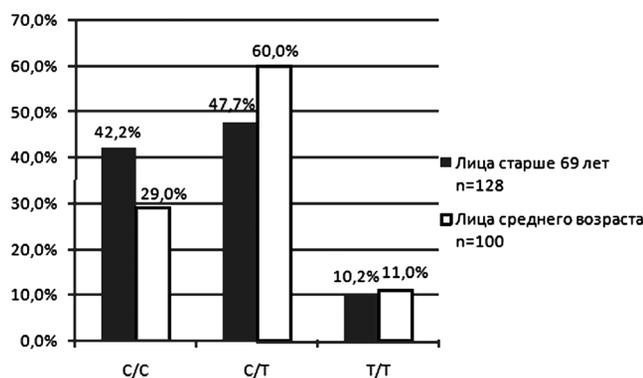


Рис. 3. Распределение частот генотипов по гену *UCP3* (-55C/T) у лиц старше 69 лет и лиц среднего возраста

в группе 2 (65,8 и 86,8 % соответственно, $\chi^2 = 7,24$, $p = 0,0071$), в то время как частота генотипа T/C была выше у женщин группы 1 по сравнению с таковой в группе 2 (32,9 и 9,4 % соответственно, $\chi^2 = 9,63$, $p = 0,0019$). Установлено также, что частота генотипа T/T у мужчин группы 1 ниже по сравнению таковой в группе 2 (66,7 % и 91,7 % соответственно, $\chi^2 = 5,4$, $p = 0,0201$).

Важно отметить, что полученные закономерности были показаны для обоих полов.

На основании полученных данных можно предположить, что гетерозиготный генотип T/C ассоциирован с долголетием.

Ген *PGC-1* (Gly482Ser-полиморфизм). Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей гена *PGC-1* (Gly482Ser) в разных возрастных группах выявил статистически значимые различия (рис. 2). Так, частота генотипа Gly/Ser в группе 1 была достоверно ниже по сравнению с таковой в группе 2 (47,8 и 60,6 %, соответственно, $\chi^2 = 4,51$, $p = 0,0337$), а частота генотипа Ser/Ser достоверно выше в группе 1 по сравнению с таковой в группе 2 (23,2 и 8,8 % соответственно, $\chi^2 = 10,65$, $p = 0,0011$). Данные различия определялись повышенной частотой генотипа Ser/Ser у мужчин первой группы (33,3 и 8,2 % соответственно, $\chi^2 = 8,84$, $p = 0,0029$).

Полученные данные позволяют предположить, что генотип Ser/Ser ассоциирован с долголетием, причем в большей степени для мужчин.

Ген *UCP3* (-55C/T-полиморфизм). Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей гена *UCP3* (-55C/T) между анализируемыми группами выявил статистически значимые различия (рис. 3). Частота генотипа C/C оказалась достоверно выше в группе 1 по сравнению с таковой в группе 2 (42,2 и 29,0 % соответственно, $\chi^2 = 4,22$, $p = 0,04$). Можно предполагать, что генотип C/C ассоциирован с долголетием.

При сравнении частот генотипов и аллелей гена *UCP3* с учетом пола статистически значимых отличий между анализируемыми группами выявлено не было.

Ген *PPARA* (2528 G/C-полиморфизм). Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей гена *PPARA* (2528 G/C) между анализируемыми группами выявил, что частота аллели G ниже в группе 1 по сравнению с таковой в группе 2 (73,7 и 82,5 % соответственно, $\chi^2 = 4,64$, $p = 0,0312$), в то время как частота аллели C, наоборот, выше в группе 1 по сравнению с таковой в группе 2 (26,3 и 17,5 %, соответственно, $\chi^2 = 4,64$, $p = 0,0312$). Кроме того, было выявлено, что частота генотипа G/G по гену *PPARA* ниже у женщин группы лиц старше 69 лет по сравнению с таковой у женщин группы лиц среднего возраста (49,4 и 73,8 % соответственно, $\chi^2 = 8,47$, $p = 0,0036$). А частота генотипа G/C по гену *PPARA* выше у женщин группы 1 по сравнению таковой у женщин группы 2 (46,8 и 23,0 % соответственно, $\chi^2 = 8,35$, $p = 0,0039$). Можно предположить, что у женщин генотип G/C ассоциирован с долголетием.

Ген *UCP2* (Ala55Val-полиморфизм). Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей гена *UCP2* (Ala55Val) между анализируемыми группами выявил, что частота генотипа Val/Val по гену *UCP2* достоверно выше у мужчин группы 1 по сравнению с таковой у мужчин группы 2 (23,5 и 9,3 % соответственно, $\chi^2 = 4,79$, $p = 0,0293$). По-видимому, мужчины, имеющие этот генотип, предрасположены к большей продолжительности жизни.

Ген *PPARG* (**Pro12Ala-полиморфизм**). Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей гена *PPARG* (Pro12Ala) между анализируемыми группами не выявил достоверных отличий.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что снижение калорийности питания, уменьшение энергетического обмена, связанное с мутациями гена рецептора инсулина, снижение окислительного стресса вследствие мутаций митохондриальных генов положительно коррелируют с долголетием у человека.

Как уже отмечалось выше, основная функция белков всех изученных нами генов — регуляция обмена липидов, глюкозы, то есть участие в энергетическом гомеостазе путем регуляции экспрессии генов, вовлеченных в пероксисомное и митохондриальное окисление, и поддержание термогенеза.

В связи с этим можно предположить, что долголетие должно быть ассоциировано с теми аллелями и генотипами, которые замедляют метаболизм. Полученные результаты отчасти подтверждают данное предположение.

Достоверные отличия распределения частот генотипов и аллелей у лиц старшей возрастной группы по сравнению со средним возрастом установлены для 4 генов (*PPARA*, *PPARD*, *PGC-1* и *UCP3*), регулирующих обмен углеводов, жиров, а также окислительные процессы. В частности, для гена *PPARD* показана ассоциация с долголетием «мутантной» аллели *C*, которая, обладая повышенной активностью, способствует сгоранию жиров, снижает риск ожирения. Напротив, в случае гена *UCP3* в возрастной группе доминирует «нормальная» аллель *C* и достоверно реже встречается «мутантная» аллель *T*, ассоциированная с атеросклерозом, сахарным диабетом 2-го типа и ожирением. Для двух других изученных генов ТФ, регулирующих жировой обмен и окислительные процессы, также отмечены различия в частотах «мутантных» аллелей между анализируемыми группами. Именно эти «функционально неполноценные» аллели и соответствующие генотипы преобладали в возрастной группе 1. Одна из них — аллель *Ser* (*PGC-1*), ассоциированная с снижением уровня окислительных процессов в митохондриях, другая — «мутантная» аллель *C* гена разобщающего белка *UCP3*. Эти аллели, видимо, ассоциированы со снижением калорийности питания, что, в свою очередь, и приводит к увеличению продолжительности жизни. Тогда как «мутантная» аллель *C* ТФ *PPARA* ассоциирована с нарушениями углеводного и липидного обменов. И ее ассоциация с долголетием не совсем логична.

Достоверные отличия частот соответствующих генотипов и аллелей зарегистрированы нами и между аналогичными группами сравнения у мужчин и женщин разного возраста. При этом частота «мутантной» аллели *C* (ген *PPARD*) с возрастом независимо от пола увеличилась в 2–3 раза, тогда как частота аллели *C* гена *PPARA* меняется в сторону увеличения только у женщин. Аллели и генотипы, ассоциированные с ожирением и аккумуляцией энергии,

чаще встречались в более старшей возрастной группе. Достоверные различия частот некоторых из них были характерны только для женщин (*G/C* генотип по гену *PPARA*), другие только для мужчин (*Val/Val* генотип по гену *UCP2*).

Любопытен факт отсутствия ассоциации гена *PPARG* с долголетием, несмотря на то, что продукт данного гена является ключевым ТФ, регулирующим метаболизм углеводов и жирных кислот.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено существенное варьирование частот аллелей и генотипов 5 важных факторов транскрипции, регулирующих жировой и углеводный обмены, участвующих в процессах окисления, энергообеспечения и поддержания гомеостаза. Однако необходимы дальнейшие исследования на больших выборках индивидуумов разных возрастных групп, в том числе на группе столетних, для более объективного суждения об ассоциации полиморфизма изученных генов с долголетием.

Тем не менее уже на современном уровне наших знаний, а также основываясь на полученных результатах, тестирования полиморфизма этих генов в сочетании с уже существующими лабораторными анализами (содержание липидов и холестерина, уровень сахара в крови, показатели основного обмена и др.) может найти применение в клинической практике и изучении процессов старения человека.

Работа поддержана грантом Президента РФ МК-4113.2009.7 и государственным контрактом Минобрнауки России № 16.512.11.2035.

Литература

1. Ахметов И. И., Дружевская А. М., Хакимуллина А. М., Можайская И. А., Рогозкин В. А., 2007. Генетические маркеры предрасположенности к занятиям футболом // Научно-теоретический журнал «Ученые записки». № 11 (33). С. 7.
2. Баранов В. С., Баранова Е. В., Иващенко Т. Э., Асеев М. В., 2000. Геном человека и гены «предрасположенности» (Введение в предиктивную медицину) // СПб. Издательство «Интермедика». С. 271.
3. Баранов В. С., Иващенко Т. Э., Баранова Е. В., Асеев М. В., Готов А. С., Готов О. С., Беспалова О. Н., Демин Г. С., Москаленко М. В., Швед Н. Ю., 2009. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины. Под ред. В. С. Баранова // СПб. «Изд-во Н-Л», ООО. С. 527.
4. Баранов В. С., Баранова Е. В., Готов О. С., 2010. Геномика старения и предиктивная медицина // Успехи геронтологии. № 3. С. 329–338.
5. Готов О. С., Баранов В. С., 2007. Генетический полиморфизм и старение // Успехи геронтологии. Т. 20. № 2. С. 35–55.
6. Barroso I., 2006. Meta-analysis of the Gly482Ser variant in *PPARGC1A* in type 2 diabetes and related phenotypes // *Diabetologia*. Vol. 49. P. 501–505.

7. *Djouadi F., Weinheimer C. J., Saffitz J. E. et al.*, 1998. A gender-related defect in lipid metabolism and glucose homeostasis in peroxisome proliferator-activated receptor alpha-deficient mice // *J. Clin. Invest.* Vol. 102. P. 1083–1091.
8. *Finch C.E.*, 2003. The biology of aging in model organisms // *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* Vol. 17. № 2. P. 39–41.
9. *Finck B. N. and Kelly D. P.*, 2006. PGC-1 coactivators: inducible regulators of energy metabolism in health and disease // *J. Clin. Invest.* Vol. 116. № 3. P. 615–622.
10. *Hegele R. A., Cao H., Harris S. B. et al.*, 2000. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 P12A and type 2 diabetes in Canadian Oji-Cree // *J. Clin. Endocr. Metab.* Vol. 85. P. 2014–2019.
11. *Kelly L., Vicario P., Thompson G. et al.*, 1998. Peroxisome proliferator-activated receptors and mediate in vivo regulation of uncoupling protein (UCP-1, UCP-2, UCP-3) gene expression // *Endocrinology.* Vol. 139. № 12. P. 4920–7.
12. *Krauss S., Zhang C., Lowell B.*, 2005. The mitochondrial uncoupling-protein homologues // *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* Vol. 6. № 3. P. 248–261.
13. *Meirhaeghe A., Amouyel P., Helbecque N. et al.*, 2000. An uncoupling protein 3 gene polymorphism associated with a lower risk of developing Type II diabetes and with atherogenic lipid profile in a French cohort // *Diabetologia.* Vol. 43. P. 1424–1428.
14. *Seda O. and Sedova L.*, 2007. Peroxisome proliferator-activated receptors as molecular targets in relation to obesity and Type 2 diabetes // *Pharmacogenomics.* Vol. 8. P. 587–596.
15. *Scarpace P. J., Matheny M.*, 1998. Leptin induction of UCP-1 gene expression is dependent on sympathetic innervation // *Am. J. Physiol.* Vol. 275. P. 259–264.
16. *Skogsberg J., Kannisto K., Cassel T. N. et al.*, 2003. Evidence that peroxisome proliferator-activated receptor δ influences cholesterol metabolism in men // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* Vol. 23. P. 637–643.
17. *Stefan N., Thamer C., Staiger H. et al.*, 2007. Genetic variations in PPARG and PPARGC1A determine mitochondrial function and change in aerobic physical fitness and insulin sensitivity during lifestyle intervention // *J. Clin. Endocr. Metab.* Vol. 92. P. 1827–1833.
18. *Yu X., Jacobs D. R., Schreiner P. J. et al.*, 2005. The uncoupling protein 2 Ala55Val polymorphism is associated with diabetes mellitus: the cardia study // *Clinical Chemistry.* Vol. 51. № 8. P. 1451–56.

ANALYSIS OF UCPS, PPARS AND PGC-1 GENE POLYMORPHISM IN ELDERLY PEOPLE FROM NORTH-WEST REGION OF RUSSIA

Tarkovskaya I. V., Glotov O. S., Ivashchenko T. E., Baranov V. S.

✿ **SUMMARY:** Polymorphism of *PPARA* G/C, *PPARD* +294T/C, *PPARG* Pro12Ala, *PGC-1* Gly482Ser, *UCP2* Ala55Val and *UCP3* C-55T genes in elderly people (group1) and control group (25-55 aged people) (group2) from North-West Region of Russia was studied by RFLP methods. Higher frequencies of T/C *PPARD*, Ser/Ser *PGC-1* and C/C *UCP3* genotypes in group1 compared to group2 were found. Furthermore, it was shown different distribution of *PPARA*, *PPARD*, *PGC-1* and *UCP2* genotypes in man and woman. We suggest that *PPARA*, *PPARD*, *PGC-1* and *UCP3* polymorphism is significant for survival.

✿ **KEY WORDS:** polymorphism; associations; genes *PPAR*; genes *UCP*; gene *PGC-1*; longevity; energy balance.

✿ Информация об авторах

Тарковская Ирина Васильевна — магистр 6-го курса, СПбГУ. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9. E-mail: irena.88@inbox.ru.

Глотов Олег Сергеевич — к. б. н., старший научный сотрудник. Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

Иващенко Татьяна Эдуардовна — д. б. н., в. н. с., проф., НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. E-mail: tiv@hosp.ru

Баранов Владислав Сергеевич — проф., член-корр. РАМН, зав. лаб., НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. E-mail: baranov@vb2475.spb.edu.

Tarkovskaja Irina Vasil'evna — magister of 6th course. Saint-Petersburg State University. 199034 Russia, Universitetskaya nab., 7-9. E-mail: irena.88@inbox.ru.

Glotov Oleg Sergeevich — candidate of biological scientist, senior scientist, lab. of prenatal diagnosis of congenital and inherited diseases. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences. 199034, Russia, Saint Petersburg, 3, Mendeleyevskaya line.

Ivashchenko Tat'yana Eduardovna — scientific resecher, PhD, professor. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences. 199034, Russia, Saint Petersburg, 3, Mendeleyevskaya line. E-mail: tiv@hosp.ru

Baranov Vladislav Sergeevich — corresponding member of RAMS, the head of laboratory, professor. Institute of Obstetrics and Gynecology, named after D. O. Ott, Russian Academy of Medical Sciences. 199034, Russia, Saint Petersburg, 3, Mendeleyevskaya line. E-mail: baranov@vb2475.spb.edu.