

Лептин и его медиаторы в регуляции жирового обмена

Ю.А. Панков

ФГУ Эндокринологический научный центр, Москва
директор – академик РАН и РАМН И.И. Дедов

Резюме. Мутации в генах *LEP*, *LEPR*, *POMC* и *MC4R* индуцируют ожирение и нарушение других физиологических функций. Блокада экспрессии *LEP* и *LEPR* сочетается у гомозигот с тяжелым ожирением, задержкой полового развития, инсулинорезистентностью, снижением секреции гормонов гипофиза и иммунодефицитом. Мутации в *POMC* в гомозиготном состоянии ассоциируются у человека с морбидным ожирением и острой недостаточностью коры надпочечников. В гетерозиготном состоянии мутации в *POMC* предрасполагают к ожирению, но не влияют на другие функции. Мутации в *MC4R* – наиболее частая причина ожирения. Они ассоциируются с суровым нарушением жирового обмена у гомозигот, но более легкой патологией у гетерозигот. Ожирение, вызванное мутациями в *MC4R*, обычно не сопровождается изменениями других физиологических функций. *Ключевые слова:* ген, мутация, гормон, рецептор, ожирение.

Resume. Mutations in *LEP*, *LEPR*, *PNC* and *MC4R* genes induce obesity and deterioration of other physiological functions. Blockage of *LEP* and *LEPR* expression in homozygotes leads to severe obesity, delay in sexual development, insulin resistance, decreased secretion of pituitary hormones and immunodeficiency. Mutations of *POMC* in homozygote variant are associated in humans with morbid obesity and acute adrenocortical deficiency. In heterozygotes mutations of *POMC* predispose to obesity, but have no influence on other functions. Mutations in *MC4R* gene are the most common cause of obesity. They are associated with severe deterioration of lipid metabolism in homozygotes, but with more mild pathology in heterozygotes. Obesity from the mutation in *MC4R* gene usually is not accompanied by changes in other physiologic function. *Key words:* gene, mutation, hormone, receptor, obesity.

Стремительное возрастание количества людей с избытком веса становится серьезной социальной проблемой, поскольку ожирение ассоциируется со многими хроническими заболеваниями. По данным ВОЗ, в мире насчитывается уже более 300 млн человек с ожирением (<http://www.int/nut/obs.htm>), причем в некоторых странах их количество превышает 30% населения. Исследование, проведенное в США в 2003–2006 гг., выявило 66% людей с избыточной массой тела (ИМТ>25) и среди них 32% – с явным ожирением (ИМТ>30) [1]. Сходная картина наблюдается в других регионах мира, что позволило ВОЗ объявить об эпидемии ожирения, которое становится более серьезной проблемой, чем традиционно считавшиеся самыми опасными инфекционные заболевания и голодание.

Чрезмерное накопление жировых запасов в организме вызывается избыточным потреблением калорий, превосходящим их расходование. В результате поглощаемая в избытке пища не используется для поддержания жизни, а запасается в виде жировых отложений. Ожирение – многофакторное заболевание, а изучение причин, его вызывающих, – все более актуальная проблема.

Последние исследования показывают, что накопление жира в подкожной и висцеральной области сопровождается изменением экспрессии генов, которые кодируют белки, регулирующие энергетический обмен. К таким белкам относятся некоторые гормоны, рецепторы и переносчики гормональных сигналов. Веществами, снижающими потребление пищи и препятствующими ожирению, являются Cocaine and

Amphetamine Regulated Transcript (CART) [2], лептин, холецистокинин, панкреатический пептид (PP), реснично-нейротропный фактор (Ciliary Neural Trophic Factor – CNTF), глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1), пептид YY, нейромедин S и др. [3], а стимуляторами аппетита – грелин, нейропептид Y (НП-Y), белок, родственные белку Агути (БРБА), орексины, галаниноподобный пептид, рецептор эндогенных каннабиноидов, рецептор, активируемый пролифератором пероксисом γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ – PPAR γ), и др. [3]. Мутации и нарушения экспрессии генов группы белков, снижающих потребление пищи, ассоциируются с ожирением. Поскольку каждый из них, помимо регуляции потребления пищи, выполняет другие физиологические функции, то индуцируемое мутациями в их генах ожирение сопровождается различными формами патологии, характер которых определяется особенностями биологического действия кодируемых белков.

Молекулярные механизмы участия многих генов и белков в регуляции пищевого поведения пока находятся в стадии изучения, и особенности их биологического действия остаются неясными. Поэтому в настоящей статье основное внимание уделяется молекулярным механизмам действия лептина и переносчиков его гормональных сигналов, которые исследованы более детально и могут служить примером изучения роли других генов и белков в регуляции энергетического баланса. В обзор включены также некоторые результаты наших исследований.

Лептин относится к группе гормонов адипоцитов подкожной жировой клетчатки. Он регулирует многие физиологические функции после связывания в нейронах гипоталамуса и различных тканях с рецептором лептина (*LEPR*), который по химической структуре и механизмам функционирования относится к группе рецепторов гормона роста (ГР), пролактина, эритропоэтина и многих цитокинов. Таким образом, гормон активирует экспрессию различных генов, в их числе — ген проопиомеланокортина (*POMC*). Из проопиомеланокортина после протеолитического расщепления освобождаются α -, β - и γ -меланокортины (МСГ) — проводники гормонального сигнала лептина. МСГ взаимодействуют на постсинаптической мембране нейронов с рецепторами МКЗР и МК4Р и вызывают у животных и человека снижение чувства голода, активируют использование жиров в энергетическом обмене и тормозят избыточное накопление жировых запасов [4]. Мутации в генах рецептора лептина (*LEPR*), лептина (*LEP*), *POMC* или в гене рецептора меланокортина — МК4Р (*MC4R*) нарушают их экспрессию, создают дефицит кодируемых белков, увеличивают потребление пищи и вызывают ожирение.

К настоящему времени у людей идентифицировано более трех мутаций в гене *LEP* и серия мутаций в гене *LEPR*, которые вызывают тяжелое ожирение у гомозигот, но практически не оказывают влияния на физиологические функции у гетерозигот. Более 20 мутаций выявлено в гене *POMC* и больше всего — свыше 60 мутаций — в гене *MC4R*. Они вызывают тяжелое ожирение у гомозигот, а также часто ассоциируются с повышенным накоплением жировых запасов и ожирением у гетерозигот.

Мутации в гене *LEPR*

Первая мутация в *LEPR* была идентифицирована в форме замены G→A в донорном сайте сплайсинга экзона 16 [5]. В результате при экспрессии мутантного *LEPR* пропускается экзон 16 и синтезируется укороченный рецептор, который не встраивается в клеточную мембрану и не способен проводить гормональный сигнал лептина. В некоторых публикациях мутация G→A в экзоне 16 со ссылкой на оригинальную статью [5] обозначается как замена G/T в экзоне 13, что, по всей вероятности, является заблуждением [6]. У пациентов — носителей мутации в *LEPR* в гомозиготном состоянии развивается тяжелое ожирение, поскольку лептин теряет способность выполнять биологическую функцию. Нарушение липидного обмена, вызванное отсутствием *LEPR*, сопровождается гипогонадизмом, задержкой полового развития, снижением секреции ГР, ТТГ и других гормонов, что свидетельствует о торможении нормального функционирования передней доли гипофиза, вероятно, вследствие неспособности лептина проявлять биологическое действие.

Кроме замены G→A, идентифицирована серия других мутаций в *LEPR*. Обследование 300 пациентов с ранним морбидным ожирением выявило семь мутаций в гомозиготном состоянии и одну компаунд гетерозиготу [7]. Мутации в *LEPR* идентифицированы

у выходцев как из Ближнего Востока, где часто встречаются близкородственные браки, так и из Европы, где такие браки редки. Мутации разделились на несколько групп, среди которых преобладали сдвиги рамки считывания, вызванные делециями: 1) 4 п.о. в кодоне 22; 2) 11 п.о. в кодоне 70; 3) 66 п.о. в кодоне 514 и одна нонсенс-мутация W31X; кроме того, выявлено несколько миссенс-мутаций: 5) A409E; 6) W664R; 7) H684P и 8) компаунд гетерозигота в форме делеции 1 п.о. в кодоне 15 и замены R612H.

Мутации обнаружены у 3% пациентов с тяжелым ожирением: их ИМТ=52,8+1,6 был близок к показателю пациентов с врожденным дефицитом лептина (ИМТ=58,0) [7]. Взрослые женщины с мутациями страдали гипогонадизмом и имели сниженные уровни ЛГ и ФСГ. У трех из них не появились менструации даже после достижения 20 лет, а у женщин в возрасте 31–55 лет они были нерегулярными. У большинства обследованных имелся нормальный уровень глюкозы, однако почти у всех концентрация циркулирующего инсулина была повышена, а два пожилых пациента страдали сахарным диабетом 2 типа (СД2). Дети имели нормальный рост, и ГР у них секретировался пульсирующим образом; однако у взрослых наблюдалось уменьшение размеров тела, вероятно, вследствие отсутствия спурта роста в период пубертата. У пациентов не было признаков снижения базального энергообмена; уровни ТТГ и тиреоидных гормонов у них колебались в нормальных пределах. В целом пациенты с дефицитом *LEPR* имели менее суровые нарушения физиологических функций, чем люди с врожденным дефицитом лептина, вызванным мутациями в гене *LEPR* в гомозиготном состоянии [7]. Полученные результаты позволяли подозревать существование других проводников гормональных сигналов лептина, помимо *LEPR*, которые проявляли особенно высокую активность при повышении уровня гормона, обычно наблюдаемую при ожирении [7]. Дети с мутациями в *LEPR* чаще болели инфекционными заболеваниями, чем дети с *LEPR* дикого типа, и некоторые из них умирали от острых респираторных инфекций, что свидетельствовало о снижении иммунитета. Т-клетки у них слабее реагировали повышением пролиферации в ответ на стимулирующие воздействия. Родственники пациентов с ожирением — носители мутации в *LEPR* в гетерозиготном состоянии были практически здоровыми, правда с некоторым увеличением доли жира в мышцах и печени по сравнению с гомозиготами *LEPR* дикого типа.

В отличие от сдвигов рамки считывания и нонсенс-мутаций, которые в гомозиготном состоянии блокируют экспрессию гена и ликвидируют *LEPR*, миссенс-мутации проявляют более разнообразные эффекты. Мутации A409E, R612H, W664R и H684P, по данным авторов, нарушают проведение гормонального сигнала и уменьшают продукцию STAT3 после связывания с лептином [6]. Замена A409E не оказывает заметного влияния на экспрессию гена, фолдинг и встраивание рецептора в мембрану клеток. Она не изменяет также аффинность связывания рецептора с лигандом, но лишает его способности проводить гормональный сигнал



Рис. 1. Мутации в гене лептина человека, изменяющие аминокислотную последовательность гормона (СП – сигнальный пептид; C117 и C167 – остатки Cys, образующие внутримолекулярный дисульфидный мостик)

внутри клетки. Мутации W664R и H684P частично нарушали фолдинг синтезируемого белка, но сохраняли его способность встраиваться в липидную мембрану. Мутантный рецептор нормально связывался с лигандом, но терял способность проводить его гормональный сигнал в клетке. Замена R612H (в отличие от перечисленных мутаций) вызывает наиболее интенсивную задержку *LEPR* в эндоплазматическом ретикулуме и тормозит его встраивание в липидную мембрану. Однако частично синтезируемый рецептор сохраняет способность активироваться после связывания с лептином и проводить его гормональный сигнал [6].

Кроме этих мутаций, идентифицированы также замены Q223R, K109R, K656N и др. в *LEPR*, которые в настоящее время изучаются [8]. Среди перечисленных мутаций пока отсутствуют замены остатков Cys, которые, по современным данным, принимают участие в фолдинге практически всех белков, синтезирующихся в клетке и поступающих в эндоплазматический ретикулум.

Мутации в гене *LEP*

В гене лептина человека идентифицировано около трех мутаций в гомозиготном состоянии (рис. 1). Первая мутация g.1538delG выявлена группой О'Рейли у детей с тяжелым ожирением в семьях с близкородственными браками – выходцев из Пакистана [9]. Делеция нуклеотида G в ДНК-последовательности гена вызывает сдвиг рамки считывания p.G133fsX15 и нарушает экспрессию гена с ликвидацией С-концевого участка пептидной цепи гормона, включающего остаток Cys на карбоксильном конце (рис. 1). Отсутствие одного из парных Cys блокирует формирование единственного внутримолекулярного S-S мостика, необходимого для эффективного функционирования гормона. Можно предсказать, что укороченный и измененный в С-концевой структуре белок, несомненно, потерявший активность, не приобретает в эндоплазматическом ретикулуме необходимую для дальнейшего процессинга конформацию, задерживается в клетке и подвергается деградации. Возникающий дефицит лептина вызывает тяжелое ожирение, которое пока удается наблюдать лишь у детей. Мутация p.G133fsX15 у взрослых еще не обнаружена, и ее влияние на репродуктивную функцию остается неясным, хотя можно с уверенностью постулировать, что половое развитие таких пациентов будет заторможено, если они достигнут зрелого возраста.

В целом патологии, развивающиеся при врожденном дефиците лептина, совпадают с нарушениями физиологических функций у людей с полным отсутствием рецептора лептина (см. выше), хотя, по некоторым

оценкам, в последнем случае они оказываются менее суровыми [7]. Кроме того, при дефиците *LEPR* отсутствуют методы лечения развивающегося ожирения, поскольку лептин теряет способность проявлять свое действие, тогда как дефицит гормона, вызванный блокадой экспрессии гена *LEP*, может быть компенсирован инъекциями экзогенного лептина.

Введение рекомбинантного лептина детям – носителям мутации p.G133fsX15 в *LEP* снижает потребление пищи, нормализует обмен веществ, уменьшает жировые запасы и снижает ИМТ до нормы [10]. Однако вводимый гормон оказывается чужеродным, поскольку в процессе индивидуального развития он не представлялся иммунной системе в качестве собственного антигена. Поэтому у большинства детей формируются нейтрализующие антитела, и лептин перестает проявлять биологическое действие. В результате ожирение возобновляется, и дозу вводимого гормона приходится увеличивать в несколько раз для дальнейшего снижения веса тела [10].

Вторая мутация c.313C>T (p.R105W) в *LEP* идентифицирована у взрослых выходцев из Турции [11]. Она задерживает синтезируемый лептин в адипоцитах и создает менее суровый дефицит гормона, чем мутация G133fsX15. Пациенты – носители мутации R105W в гомозиготном состоянии доживают до зрелого возраста, а у взрослой женщины нарушение полового развития, обычно наблюдаемое при дефиците лептина, спонтанно компенсируется без дополнительного вмешательства, и менструации у нее появляются с некоторыми отклонениями от нормы после продолжительной задержки в течение 20 лет [12]. При представлении результатов исследования мутации c.313C>T (p.R105W) в *LEP* в поздних публикациях у авторов возникло недоразумение. Впервые мутация R106W была идентифицирована в 1998 г. группой ученых из Франции в сотрудничестве с коллегами из Германии и Турции [11]. Замена нуклеотида C на T в триplete CGG, кодирующем Arg, превращает его в триплет TGG, кодирующий Trp. Однако специалисты в области молекулярных исследований в последующем отошли от изучения гена *LEP*, и замена нуклеотида C на T в ДНК стала интерпретироваться клиницистами как C105T и была переключена из миссенс-мутации Arg105Trp в замену Cys105Thr в аминокислотной последовательности кодируемого белка. В 2004 г. Cys105Thr ошибочно приводится в PNAS [13]; ошибка повторяется в течение многих лет в последующих публикациях вплоть до 2009 г. [14], цитируется другими авторами, хотя Cys так же, как и Thr, в 105 положении в структуре природного лептина отсутствует.

В проведенных многочисленных исследованиях получены интересные результаты о действии рекомбинантного лептина на взрослых пациентов с ожирением, вызванным мутацией Arg105Trp в *LEP*. После 18 месяцев регулярных инъекций гормона масса тела у них снижается в 2 раза, со 140 кг и более до 70. У женщины, страдавшей СД2, концентрации глюкозы, инсулина и гликированного гемоглобина уменьшаются до нормальных значений, и все симптомы СД2 исчезают. У мужчины, страдавшего гипогонадизмом, появляются вторичные

половые признаки с увеличением уровня циркулирующих гонадотропинов и тестостерона [13]. Регулярные инъекции лептина поддерживают в течение более 8 лет почти нормальный ИМТ у носителей мутации R105W в гомозиготном состоянии [14]. Результаты этих исследований на человеке воспроизводят данные, полученные ранее на мышах *ob/ob*, введение которым лептина нормализует энергетический обмен, восстанавливает репродуктивную функцию, снижает потребление пищи, уменьшает жировые запасы до нормы и исправляет другие физиологические нарушения [4, 15].

На основании накопленных данных можно сделать вывод, что для поддержания эффективного функционирования передней доли гипофиза необходимо проявление всех эффектов лептина, а при полном дефиците гормона или нарушениях его биологического действия развивается бесплодие, инсулинорезистентность и СД2. Накопленные данные позволяют высказать более широкое допущение: «для поддержания нормального здоровья и эффективного функционирования разных гормонов — инсулина, лептина, гонадотропинов, ГР и других — необходимо их совместное участие в регуляции обмена веществ» [3, 4], а выпадение одного из них каким-то образом снижает эффективность действия других гормонов в организме в целом.

Третья мутация в *LEP* g.15409C>G (p.S141C) выявлена в наших исследованиях [16] у жителей горного аула Караул в Туркменистане. В ряде семей около четверти рождавшихся там детей страдали ожирением, которое могло быть вызвано дефицитом лептина вследствие мутации в гене *LEP*. Однако из-за трудностей организационного характера ассоциацию мутации S141C с нарушением липидного обмена пока не удается подтвердить прямыми клиническими исследованиями. Несмотря на отсутствие таких данных можно с уверенностью предсказать, что появление третьего непарного остатка Cys должно нарушать правильное замыкание единственного S-S мостика в молекуле синтезируемого гормона (рис. 1). В результате могут тормозиться фолдинг, продвижение белка из эндоплазматического ретикулума в аппарат Гольджи и последующая его секреция, что создает дефицит лептина, возможно, не такой суровый, как мутации p.G133fsX15 у человека [9] или p.R105X у мышей *ob/ob* [17]. Поэтому пациенты с мутацией g.15409C>G в *LEP* могли бы быть субъектами значимых клинических исследований эффективности их лечения экзогенным лептином и влияния гормона на различные формы патологии, развивающейся у человека при ожирении.

Мутации в гене *POMC*

В гене *POMC* исследовано больше мутаций, чем в *LEP*. Среди них три мутации в гомозиготном состоянии: g.3804C>A [18], g.6906delC [19] и g.6922incC [20] и три компаунд гетерозиготы (представлены в цитируемых здесь публикациях). Мутации индуцируют терминирующие кодоны, которые блокируют экспрессию *POMC* и ассоциируются с тяжелым ожирением, сопровождающимся нарушением других физиологических функций. ПОМК является предшественником не только меланокортинов, которые синтезируются

в гипоталамусе и вызывают снижение потребления пищи, но из него освобождается также АКТГ, необходимый для нормального развития и последующего функционирования коры надпочечников. Поэтому тяжелое ожирение, вызываемое полным отсутствием ПОМК, сочетается с атрофией коры надпочечников и делает пациентов маложизнеспособными. Мутации, вызывающие блокаду экспрессии *POMC*, выявляются у детей и подростков и пока не обнаруживаются у взрослых пациентов с ожирением.

Более жизнеспособными оказываются носители мутаций в *POMC* в гетерозиготном состоянии. Такие мутации идентифицированы у многих пациентов с ожирением. Одна из них в форме гаплотипа p.202insRA/p.E206X (в белке без сигнального пептида обозначается авторами как p.176insRA/p.E180X) выявлена у дочери и матери в Германии в 2002 г. (рис. 2) [21]. Четыре года спустя идентичный гаплотип был обнаружен в наших исследованиях у 8 пациентов с ожирением, из которых 5 входили в случайную выборку [22, 23]. Поскольку, несмотря на значительный объем проводимых исследований, подобная мутация пока не выявляется в других регионах мира, можно фантазировать о потенциальном месте ее возникновения.

Значительное количество мутаций в *POMC* идентифицировано вблизи или непосредственно в нуклеотидной последовательности, кодирующей β -МСГ, включая гаплотип p.202insRA/p.E206X [21, 22, 23]. В аминокислотной последовательности ПОМК выявлена также замена Y221C, изменяющая структуру β -МСГ [24, 25]. Tyr221 является консервативным в ПОМК разных видов животных и человека, а замена его на Cys индуцирует значительное снижение связывания β -МСГ с рецептором МК4Р и уменьшает биологическую активность медиатора, определяемую по стимуляции образования цАМФ в культуре клеток [24, 25]. Одной из возможных причин нарушения функции β -МСГ, которая ассоциируется с мутацией Y221C, может быть появление непарного остатка Cys вблизи активного центра HFRW, изменяющего эффективность проведения гормонального сигнала [24]. С более высокой частотой мутация p.Y221C в гетерозиготном состоянии выявляется у пациентов с ожирением, но обнаруживается также у здоровых людей.

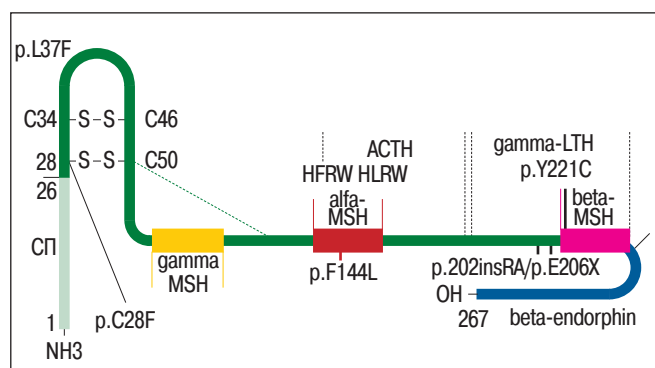


Рис. 2. Мутации в гене ПОМК человека, изменяющие аминокислотную последовательность белка-предшественника (СП — сигнальный пептид; gamma-LTH — γ -липотропин; HFRW HLRW — изменение аминокислотной последовательности активного центра α -МС; пунктирная линия — возможный альтернативный S-S мостик между C50 и C113)

Первая мутация в *POMC*, изменяющая аминокислотную последовательность α -МСГ, была идентифицирована в наших исследованиях в 2002 г. [22]. Мутация F144L вызывает замену Phe на Leu в активном центре HFRW α -МСГ (рис. 2). Длительное время 4 носителя такой мутации в гетерозиготном состоянии были единственными представителями пациентов с ожирением, вызываемым изменением структуры α -МСГ. Только через 6 лет появилась публикация о такой же мутации в гетерозиготном состоянии у девочки и ее отца во Франции [26], где показано, что α -МСГ с заменой F144L теряет биологическую активность и после связывания с рецептором МК4Р не стимулирует синтез цАМФ в культуре клеток.

Поскольку биологически активные пептиды освобождаются из ПОМК под действием протеолитических ферментов PC1/3 и PC2 [27], то можно полагать, что пространственная структура ПОМК не имеет существенного значения для выполнения его физиологической функции. Однако такое предположение опровергается исследованием мутаций на N-конце ПОМК вдали от биологически активных пептидов. Две мутации в пептидной шпильке, образуемой двумя дисульфидными мостиками на N-конце ПОМК (рис. 2), ассоциируются у человека с ожирением [28]. Мутация C28F ликвидирует один из парных остатков Cys, который формирует дисульфидный мостик, возможно, участвующий в фолдинге ПОМК. Поскольку ПОМК человека, в отличие от мышей, имеет дополнительный (пятый) остаток Cys113, то ликвидация Cys28 может способствовать формированию альтернативного дисульфидного мостика между остатками Cys50 и Cys113 и полностью запутывать корректный фолдинг и процессинг синтезируемого белка с освобождением МСГ [18, 19, 20]. Вторая мутация L35F на N-конце ПОМК оказывает сходное, но более слабое действие и ассоциируется с более легким ожирением [28]. Обе мутации задерживают ПОМК в эндоплазматическом ретикулуме и препятствуют его поступлению в секреторные гранулы, где из него освобождаются биологически активные пептиды [28]. В результате возникает дефицит меланокортинов и развивается ожирение.

Как можно видеть, значительная часть мутаций, вызывающих дефицит лептина или ПОМК, тормозит правильное формирование третичной структуры синтезируемых белков в эндоплазматическом ретикулуме и задерживают их в клетке. В результате даже когда белки с измененной первичной структурой сохраняют биологическую активность, мутации тормозят их поступление в кровь и создают дефицит гормонов, вызывающий ожирение. Вместе с водородными, гидрофобными и электростатическими взаимодействиями S-S связи участвуют в фолдинге практически всех белков в эндоплазматическом ретикулуме, а торможение этого процесса ассоциируется у человека с различными нарушениями физиологических функций, включая воспалительные реакции [29], СД2 [30] и другие эндокринные заболевания.

Мутации в гене *MC4R*

Поскольку МСГ как проводники гормональных сигналов лептина осуществляют действия через связывание

с рецептором МК4Р, то мутации в гене *MC4R*, кодирующем МК4Р, также вызывают нарушения липидного обмена. Первые мутации в *MC4R* в гетерозиготном состоянии, вызывающие ожирение с доминантным типом наследования, были выявлены в 1998 г. в форме делеции четырех нуклеотидов СТСТ у отца и сына [31] и вставки TTGA у женщины с ожирением [32].

Позже в семьях с частым морбидным ожирением идентифицировано 7 мутаций в *MC4R* в гомозиготном состоянии. Среди них делеция двух нуклеотидов 750delGA, вызывающая сдвиг рамки считывания [33], полная делеция гена, нонсенс-мутация Y287X и серия миссенс-мутаций [34]. Эффективные мутации в гомозиготном состоянии блокируют экспрессию *MC4R*, ликвидируют рецептор МСГ в гипоталамусе и вызывают тяжелое ожирение.

Более легкие нарушения развиваются у носителей мутаций в *MC4R* в гетерозиготном состоянии. Исследованные мутации равномерно распределяются в нуклеотидной последовательности *MC4R* и охватывают практически всю первичную структуру кодируемого белка [34, 35]. Нонсенс-мутации и сдвиги рамки считывания, как известно, блокируют экспрессию гена и ликвидируют рецептор. Более разнообразные эффекты оказывают миссенс-мутации. Они могут не оказывать заметного влияния на экспрессию гена, но тормозят эффективный фолдинг синтезируемого белка и его встраивание в липидную мембрану, что создает дефицит рецептора МК4Р и снижает проведение гормональных сигналов меланокортинов [36], синтез которых в гипоталамусе активируется лептином.

Среди большого количества мутаций в гене *MC4R* [34, 35] у взрослых пациентов с ожирением идентифицирована замена S127L в гетерозиготном состоянии в третьем трансмембранном домене рецептора, замещающая короткий гидрофильный остаток Ser на протяженный гидрофобный Leu [36]. Появление гидрофобного Leu должно бы способствовать встраиванию рецептора в липидную мембрану и не препятствовать выполнению его биологической функции, поскольку мутация S127L не затрагивает ни внеклеточный домен, связывающийся с меланокортинами, ни внутриклеточный домен, взаимодействующий с G-белками и проводящий гормональный сигнал внутрь клетки. Однако мутация S127L в МК4Р ассоциируется у людей с ожирением.

Впервые мутация S127L в МК4Р была представлена в нашем сообщении на X конгрессе Европейской Ассоциации нейроэндокринологов в Мюнхене в 2002 г. А через несколько лет появляются публикации о такой же мутации у пациентов с ожирением в других регионах мира [23]. Эти результаты показывают, что мутации в *MC4R* довольно частое явление. По данным авторов [36], замена S127C не нарушает ни экспрессию гена *MC4R*, ни фолдинг и встраивание кодируемого белка в липидную мембрану, однако она значительно снижает способность рецептора увеличивать продукцию цАМФ после связывания с α -МСГ. По оценкам некоторых исследователей, мутации в *MC4R* как причина ожирения выявляются у 6% обследованных пациентов с тяжелыми нарушениями липидного обмена [34, 36].

Среди характеристик ожирения, вызываемого дефицитом МК4Р, следует отметить доминантный тип наследования, отсутствие задержек роста и других нарушений физиологических функций [31, 32], индуцируемых дефицитом лептина, его рецептора или ПОМК. Высокая частота мутаций в *MC4R* может определяться сохранением у пациентов с ожирением репродуктивной функции и способности передавать мутации из поколения в поколение [33, 34].

Как показывают последние исследования [37], рецептор МК4Р снижает потребление пищи не только после связывания с меланокортинами, но обладает также конституционной активностью, которая выражается в способности уменьшать аппетит без взаимодействия с лигандом. В этом случае активация МК4Р индуцируется N-концевым пептидом белка и вызывает длительное торможение потребления пищи. Мутации в N-концевом пептиде рецептора или его делеция ассоциируются у людей с ожирением, хотя МК4Р с мутациями на N-конце сохраняет способность связываться с меланокортинами и вызывать кратковременное снижение потребления пищи [37]. Однако в отсутствие N-концевого пептида МК4Р перестает эффективно регулировать пищевое поведение несмотря на частично сохраненную способность активироваться меланокортинами.

Сравнение действия мутаций в разных генах на физиологические функции

Изменения фенотипов, которые наблюдаются у носителей мутаций в четырех рассмотренных генах, обнаруживают существенные различия. Мутации в *LEP* или *LEPR* вызывают тяжелое ожирение и другие патологии только в гомозиготном состоянии. Эти мутации блокируют экспрессию *LEP* или *LEPR* и создают абсолютный дефицит лептина или его рецептора. Они вызывают у животных и человека тяжелое ожирение с задержкой полового развития, инсулинорезистентностью, СД2, уменьшением роста тела и повышенной восприимчивостью к инфекционным заболеваниям [10, 38]. Гетерозиготы с мутациями в *LEP* или *LEPR* имеют нормальный фенотип, но у них выявляются изменения жирового обмена в форме повышенного накопления липидов в мышцах и печени. Иногда у носителей мутаций в гетерозиготном состоянии выявляется гиперинсулинемия при нормальном уровне сахара крови. Рecessивный тип наследования мутаций в *LEP* или *LEPR* вызывается, по всей вероятности, тем, что лептин является одним из гормонов, регулирующих пищевое поведение. Поэтому частичное снижение экспрессии *LEP* или *LEPR* вследствие выпадения одного из аллелей не вызывает радикальных нарушений обмена веществ, и только полная ликвидация любого из этих белков ассоциируется у человека с ожирением и другими видами патологии.

Гомозиготы с мутациями в *POMC* и компаунд гетерозиготы демонстрируют тяжелое ожирение, которое сопровождается атрофией коры надпочечников и множественными нарушениями физиологических функций. У некоторых выявляются конвульсии [19], гипоглике-

мия, дефицит гонадотропинов, ГР, ТТГ и других гормонов [20]. В отличие от гомозигот, примерно у двух третей носителей мутаций в *POMC* в гетерозиготном состоянии развивается ожирение без нарушений других физиологических функций. Одна треть гетерозигот остаются здоровыми, что не исключает у них развития ожирения в будущем. Характер наследования ожирения, вызываемого мутациями в *POMC*, может быть связан с тем, что пептиды ПОМК — α -, β - и γ -МСГ — являются проводниками сигналов не только лептина, но также других гормонов, которые тоже участвуют в регуляции потребления пищи и энергетического баланса. Поэтому выпадение одного аллеля *POMC* нарушает в первую очередь липидный обмен, который регулируется многими гормонами, проводящими сигнал через пептиды ПОМК. Мутации же в *POMC* в гетерозиготном состоянии повышают в основном предрасположенность к ожирению, но не оказывают заметного влияния на другие функции, регулируемые пептидами ПОМК, и не нарушают нормальную секрецию кортикостероидов корой надпочечников.

Мутации в *MC4R*, в отличие от *POMC*, даже в гомозиготном состоянии не могут вызывать атрофию коры надпочечников, поскольку ликвидация МК4Р не влияет на синтез АКТГ, который освобождается из ПОМК в гипофизе и других тканях. При дефиците МК4Р в гипоталамусе в коре надпочечников нормально экспрессируется ген *MC2R* и синтезируется МК2Р — рецептор АКТГ, поэтому надпочечники эффективно реагируют повышением секреции кортикостероидов в ответ на АКТГ. Дефицит МК4Р тормозит только проведение сигналов МСГ, которые регулируют потребление пищи и жировой обмен.

Мутации в *MC4R* вызывают ожирение как в гомо-, так и в гетерозиготном состоянии и сопровождаются повышением уровня лептина, который эффективно регулирует другие физиологические функции в тканях и органах, где экспрессируется *LEPR*. Можно предполагать, что при дефиците МК4Р в гипоталамусе не тормозится продукция либеринов, которые продолжают активно синтезироваться и регулировать секрецию гормонов передней доли гипофиза. Поэтому носители мутаций в *MC4R* демонстрируют нормальное половое развитие, эффективную функцию гипофиза, гонад, щитовидной железы и других эндокринных органов [32, 33].

Перспективы

В последние годы исследования наследственной предрасположенности к ожирению и другим формам патологии развиваются бурными темпами. Они выполняются путем поиска ассоциации одиночных нуклеотидных полиморфизмов (SNP) вблизи различных генов с ожирением, СД2, сердечно-сосудистыми нарушениями и другими заболеваниями. Для этих целей создаются международные консорциумы, и исследования проводятся на многих тысячах пациентов с привлечением специалистов из разных регионов мира. Среди многих генов, нарушение экспрессии которых сочетается с ожирением, заслуживают внимания два гена: *FTO* (fat mass and obesity associated gene) и *MC4R*, причастность которых к нарушениям липидного об-

мена подтверждается практически всеми исследованиями [39–43]. Особенности экспрессии и функционирования гена *MC4R* представлены в настоящем обзоре. Молекулярные механизмы участия *FTO* в регуляции жирового и энергетического обмена пока остаются неясными, и в ближайшем будущем станут, вероятно, предметом как экспериментальных,

так и клинических исследований. Можно полагать, что механизмы экспрессии *FTO* и других генов, а также функционирование кодируемых ими белков, обнаружат много общего с молекулярными механизмами действия лептина и проводников его гормональных сигналов на жировой обмен и другие физиологические функции.

Литература

- Ogden C.L., Carroll M.D., Curtin L.D. et al. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999–2004 // *JAMA* 2006; 295: 1549–1555.
- Панков Ю.А. Достижения в исследовании действия лептина на нейроны гипоталамуса // *Эволюц. биохим. физиол.*, 2000; 36: 509–514.
- Панков Ю.А., Чехранова М.К., Карпова С.К. «Переплетение» молекулярных механизмов действия различных гормонов и их роль в патогенезе ожирения, инсулинорезистентности и сахарного диабета // *Вестник РАМН*, 2008; 3: 28–36.
- Панков Ю.А. Лептин – новый гормон в эндокринологии // *Успехи физиологических наук*, 2003; 34: 3–20.
- Clement K., Vaisse C., Lahlou N. et al. A mutation in the human leptin gene causes obesity and pituitary dysfunction // *Nature*, 1998; 392: 398–401.
- Kimber W., Peelman F., Prieur X. et al. Functional characterization of naturally occurring pathogenic mutations in the human leptin gene // *Endocrinology*, 2008; 149: 6043–6052.
- Farooqi I.S., Wangenstein T., Collins S. et al. Clinical and molecular genetic spectrum of congenital deficiency of the leptin receptor // *New. Engl. J. Med.*, 2007; 356: 237–247.
- Duarte F.F., Fracischetti E.A., Genelhu-Abreu V. et al. p.Q223R leptin receptor polymorphism associated with obesity in Brazilian multiethnic subjects // *Am. J. Hum. Biol.*, 2006; 18: 448–453.
- Montague C.T., Farooqi I.S., Whitehead J.P. et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans // *Nature*, 1997; 387: 903–908.
- Farooqi I.S., Matarese G., Lord G.M. et al. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency // *J. Clin. Invest.*, 2002; 110: 1093–1103.
- Strobel A., Issad T., Camoin I. et al. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity // *Nat. Genet.*, 1998; 18: 213–215.
- Ozata M., Ozdemir C., Licinio J. Human leptin deficiency caused by a missense mutation: multiple endocrine defects, decreased sympathetic tone, and immune system dysfunction indicate new targets for leptin action, greater central than peripheral resistance to the effects of leptin, and spontaneous correction of leptin-mediated defects // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999; 84: 3686–3695.
- Licinio J., Caglayan S., Ozata M. et al. Phenotypic effects of leptin replacement on morbid obesity, diabetes mellitus, hypogonadism, and behavior in leptin-deficient adults // *PNAS* 2004; 101: 4531–4536.
- Paz-Filho C., Delibasi T., Erol H.K. et al. Congenital leptin deficiency and thyroid function // *Thyroid Research* 2009; 2: 11–14.
- Pelleymounter M.A., Cullen M.G., Baker M. et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice // *Science*, 1995; 269: 540–543.
- Chekhranova M.K., Karpova S.K., Yatsyshina S.B. et al. A new mutation c. 422C>G(p.S141C) in homo- and heterozygous forms of the human leptin gene // *Russian J. Bioorganic. Chem.*, 2008; 34: 768–770.
- Zhang Y., Proenca R., Maffei M. et al. Positional cloning of mouse obese gene and its human homolog // *Nature*, 1994; 372: 425–431.
- Krude H., Bieberman H., Schnabel D. et al. Obesity due to proopiomelanocortin deficiency: three new cases and treatment trials with thyroid hormone and ACTH4–10 // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003; 88: 4633–4640.
- Farooqi I.S., Drop S., Clements A. et al. Heterozygosity for a POMC-null mutation and increased obesity risk in humans // *Diabetes*, 2006; 55: 2549–2553.
- Clement K., Dubern B., Mencarelli M. et al. Unexpected endocrine features and normal pigmentation in young adult patient carrying a novel homozygous mutation in the POMC gene // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2008; 93: 4955–4962.
- Hinney A., Becker O., Heibult O. et al. Systematic mutation screening of the proopiomelanocortin gene: identification of several genetic variants including three different insertions, one nonsense and two missense point mutations in probands of different weight extremes // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002; 83: 3737–3741.
- Панков Ю.А., Яцышина С.Б., Карпова С.К. и др. Скрининг мутаций в гене проопиомеланокортина у больных конституционным ожирением // *Вопр. мед. химии*, 2002; 48: 120–131.
- Панков Ю.А., Чехранова М.К., Карпова С.К. и др. Скрининг мутаций в генах проопиомеланокортина и рецептора 4 меланокортинов, ассоциированных с ожирением // *Мед. генетика*, 2006; 46(46): 27–33.
- Lee Y.S., Challis B.G., Thompson D.A. et al. A POMC variant implicates β -melanocyte-stimulating hormone in the control of human energy balance // *Cell. Metab.*, 2006; 3: 135–140.
- Biebermann H., Castaneda T.R., van Landeghem F. et al. A role for β -melanocyte-stimulating hormone in human body-weight regulation // *Cell. Metab.*, 2006; 3: 141–146.
- Dubern B., Lubrano-Berthelie C., Mencarelli M. et al. Mutational analysis of the pro-opiomelanocortin gene in French obese children led to the identification of the novel deleterious heterozygous mutation located in the α -melanocyte stimulating hormone domain // *Pediatric. Research.*, 2008; 63: 211–216.
- Pritchard L.E., White A. Minireview: Neuropeptide processing and its impact on melanocortin pathways // *Endocrinology*, 2007; 148: 4201–4207.
- Creemers J.W.M., Lee Y.S., Oliver R.L. et al. Mutations in the amino-terminal region of proopiomelanocortin (POMC) in patients with early-onset obesity impair POMC sorting to the regulated secretory pathway // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2008; 93: 4494–4499.
- Zhang K., Kaufman R. From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response // *Nature* 2008; 454: 455–462.
- Eizirik D.L., Cardozo A.K., Cnop M. The role of endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus // *Endocrine Rev.*, 2008; 29: 42–61.
- Yeo G.S.H., Farooqi I.S., Aminian S. et al. A frameshift mutation in human *MC4R* is associated dominantly inherited human obesity // *Nat. Genet.*, 1998; 20: 111–112.
- Vaisse C., Clement K., Guy-Grand B. A frameshift mutation in human *MC4R* is associated with dominant form of obesity // *Nat. Genet.*, 1998; 20: 113–114.
- Lubrano-Berthelie C., Le Stunff C., Bougneres P. et al. A homozygous null mutation delineates the role of the melanocortin-4 receptor in humans // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2004; 89: 2028–2032.
- Farooqi I.S., Keogh J.M., Yeo G.S. et al. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene // *N. Engl. J. Med.*, 2003; 348: 1085–1095.
- Lubrano-Berthelie C., Dubern B., Lacorte J.M. et al. Melanocortin 4 receptor mutations in a large cohort of severely obese adults: prevalence, functional classification, genotype-phenotype relationship, and lack of association with binge eating // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2006; 91: 1811–1818.
- Lubrano-Berthelie C., Durand E., Dubern B. et al. Intracellular retention is a common characteristic of childhood obesity-associated *MC4R* mutations // *Hum. Mol. Genet.*, 2003; 12: 145–153.
- Srinivasan S., Lubrano-Berthelie C., Govaerts C. et al. Constitutive activity of the melanocortin-4 receptor is maintained by its N-terminal domain and plays a role in energy homeostasis in humans // *J. Clin. Invest.*, 2004; 114: 1158–1164.
- Pankov Y.A. Adipose tissue as an endocrine organ regulating growth, puberty, and other physiological functions // *Biochemistry (Moscow)* 1999; 64: 601–609.
- Loos R.J., Lindgren C.M., Li S. et al. Common variants near *MC4R* are associated with fat mass, weight and risk of obesity // *Nat. Genet.*, 2008; 40: 768–775.
- Thorleifsson G., Walters G.B., Gudbjartsson D.F. et al. Genome-wide association yields new sequence variants at seven loci that associate with measures of obesity // *Nat. Genet.*, 2009; 41: 18–24.
- Willer C.J., Speliotes E.K., Loos R.J.F. et al. Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation // *Nat. Genet.*, 2009; 41: 25–34.
- Wardle J., Carnel S., Haworth C.M.A. et al. Obesity associated genetic variation in *FTO* is associated with diminished satiety // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2008; 93: 3640–3643.
- Meyer D., Delplanque J., Chevre J-C. et al. Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European population // *Nat. Genet.*, 2009; 41: 157–159.