



ПОТЕНЦИАЛ МАРКЕРОВ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК В ИЗУЧЕНИИ ОЖИРЕНИЯ

© А.Ф. Николаева^{1*}, К.О. Петрова¹, О.В. Васюкова², Р.М. Гусейнова², И.Р. Миннихметов², Р.И. Хусаинова², Н.Г. Мокрышева², В.О. Сигин¹

¹Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова, Москва, Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

Ожирение — сложное, гетерогенное, активно прогрессирующее заболевание, проявляющееся избыточным образованием жировой ткани в организме и имеющее, как правило, высокий кардиометаболический риск и специфические осложнения. В настоящее время появляются новые данные, объясняющие патогенез ожирения не только генетическими вариациями и дисбалансом между потреблением и расходом энергии, но и влиянием эпигенетических механизмов, например, метилирования ДНК.

Метилирование ДНК — наиболее изученная эпигенетическая модификация, статус которой в клетке может изменяться под воздействием различных внешних и внутренних факторов окружающей среды, включая питание, образ жизни, гормоны. Эти изменения могут приводить к дисрегуляции генов, ответственных за метаболические процессы, ассоциированные с развитием ожирения. Однако исследования в области изучения эпигенетических меток как потенциальных посредников ожирения неоднородны по дизайну, методологии и результатам.

В настоящем обзоре обсуждаются концептуальные основы, анализирующие связь между метилированием ДНК, ожирением, воспалением и ответом на снижение массы тела, в том числе после проведения бариатрических операций, а также вопросы выбора материала и методологии, которые следует учитывать при планировании исследований в этой области.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ожирение; метилирование ДНК; биомаркер; эпигенетика.

THE POTENTIAL OF DNA METHYLATION MARKERS IN THE STUDY OF OBESITY

© Aleksandra F. Nikolaeva^{1*}, Kristina O. Petrova¹, Olga V. Vasyukova², Raisat M. Guseinova², Ildar R. Minniakhmetov², Rita I. Khusainova², Natal'ya G. Mokrysheva², Vladimir O. Sigin¹

¹Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia

²Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

Obesity is a complex, heterogeneous, actively progressive disease manifested by excessive formation of adipose tissue in the body and usually has a high cardiometabolic risk and specific complications. Currently, new data are emerging that explain the pathogenesis of obesity not only by genetic variations and imbalance between energy intake and expenditure, but also by the influence of epigenetic mechanisms, such as DNA methylation.

DNA methylation is the most studied epigenetic modification, whose status in the cell can be altered by various external and internal environmental factors, including diet, lifestyle, and hormones. These changes may lead to dysregulation of genes responsible for metabolic processes associated with the development of obesity. However, studies investigating epigenetic marks as potential mediators of obesity are heterogeneous in design, methodology, and results.

This review discusses a conceptual framework analyzing the relationship between DNA methylation, obesity, inflammation, and response to weight loss, including after bariatric surgery, as well as material selection and methodology issues to consider when designing studies in this area.

KEYWORDS: obesity; DNA methylation; biomarker; epigenetics.

ВВЕДЕНИЕ

Ожирение — сложное многофакторное заболевание, обусловленное взаимодействием генетических особенностей и факторов окружающей среды [1]. Близнецовые исследования подтверждают значительное влияние генетических вариаций на развитие ожирения с наследуемостью от 40 до 80%; независимые выборки также подтверждают генетическую изменчивость в 6%, включая данные Health and Retirement Study [2]. Однако исследования, проведенные Adam E. и соавт. с применением ме-

тода полногеномного поиска ассоциаций (Genome-wide association studies, GWAS) в выборке около 700 000 участников, показали, что только 21% случаев ожирения связаны с генетической изменчивостью [3].

Расхождение в расчетах коэффициента наследуемости заболевания в близнецовых исследованиях и оценкой GWAS известно как «упущенная наследуемость» (missing heritability). «Упущенная наследуемость» — явление, при котором генетические факторы объясняют лишь меньшую часть ожидаемой наследуемой фракции [4]. Данное состояние можно объяснить либо

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.



редкими генетическими вариантами, либо вкладом эпигенетического фактора в генез ожирения [5].

Ученые акцентируют внимание на изучении метилирования ДНК в контексте эпигенетической регуляции, так как эта модификация является тканеспецифичной и способна реагировать на изменения окружающей среды [6]. Метилирование ДНК — обратимая ковалентная модификация, которая влияет на остатки цитозина в сайтах CpG (цитозин-фосфат-гуаниновые динуклеотиды). Этот процесс может предотвратить связывание факторов транскрипции с ДНК, что приводит к транскрипционному «молчанию» генов [7]. Процесс метилирования цитозина в 5'-положении осуществляется ферментами семейства ДНК-метилтрансфераз (DNMT1, DNMT3a и DNMT3b), превращая его в 5-метилцитозин (5mC). DNMT1 отвечает за поддержание метилирования ДНК, в то время как DNMT3a и DNMT3b — за метилирование *de novo* [8]. У млекопитающих ДНК-метилтрансферазы используют S-аденозилметионин в качестве донора метильной группы. Обеспечение метильных групп в значительной степени определяется их потреблением с пищей. Основными пищевыми донорами метильных групп являются метионин, холин и бетаин и, совместно с такими микроэлементами, как фолиевая кислота, витамины B6 и B12, модулируют эпигеном [9]. Вероятно, пищевые факторы, действующие на доступность S-аденозилметионина, влияют на метилирование ДНК [10].

Различные факторы окружающей среды, диета, вирусные инфекции, канцерогенные агенты, стресс и недостаток двигательной активности играют существенную роль в развитии ожирения [11]. Эпидемиологические исследования подтверждают, что ожирение у матери во время беременности предрасполагает к развитию кардиометаболических заболеваний у потомства, в том числе нарушению гомеостаза инсулина/глюкозы, повышению воспалительных маркеров и изменению липидного профиля [12, 13]. Признано влияние факторов окружающей среды на эпигенетику [7], следовательно, эпигеном потенциально может быть обратимо изменен. У людей, чьи матери недоедали во время «голодной зимы» в Нидерландах 1944–1945 гг., спустя 6 десятилетий наблюдался меньший уровень метилирования дифференциально метилированной области (ДМР) гена инсулиноподобного фактора роста 2 *IGF2* (на 5%), по сравнению с их братьями и сестрами, не подвергшимися такому воздействию [14]. *IGF2* является ключевым фактором роста и развития человека и импринтируется по материнской линии [15]. Гипометилирование ДМР *IGF2* приводит к биаллельной экспрессии гена [16], следствием чего может быть нарушенная толерантность к глюкозе, позднее ожирение и развитие метаболического синдрома [17].

Связующим звеном между ожирением и его осложнениями, сахарным диабетом 2 типа, является воспалительный процесс как на клеточном уровне, так и на уровнях межклеточной коммуникации и внутриклеточных сигнальных каскадов [18, 19]. В исследованиях показано, что воспалительные клетки и медиаторы вызывают изменения в эпигенетическом ландшафте [20]. С другой стороны, эпигенетические модификации, возникающие вторично по отношению к ожирению и нарушению обмена веществ, могут воздействовать на иммунную систему, модулируя функцию иммунных клеток [21]. Изучение

взаимосвязи иммунной системы и эпигенетики является перспективной областью исследований, которая расширяет понимание механизмов патогенеза ожирения и связанных с ним заболеваний.

Один из ключевых подходов в борьбе с ожирением — диета и физические упражнения [22]. Однако высокая межиндивидуальная вариабельность ответа делает данный метод слабоэффективным, а факторы, влияющие на величину потери веса, остаются малоизученными. Эпигенетика может объяснить некоторую часть такой изменчивости.

Не менее перспективным является изучение метилирования/экспрессии ДНК в разных типах жировой ткани у бариатрических пациентов [23].

Проводится поиск новых биомаркеров для выявления доклинического риска развития заболевания, в отличие от тех, которые нацелены на диагностику уже развившейся болезни, даже на ранней стадии. Эпигенетические метки, а именно метилирование ДНК, могут являться как альтернативой, так и дополнительной методикой по сравнению с традиционными биомаркерами ожирения, такими как биохимические (биомаркеры дислипидемии, окислительного стресса, воспаления, кардиометаболизма) и генетические [5]. Так, профили метилирования ДНК субпопуляций лейкоцитов были использованы для расчета доли различных иммунных клеток в нефракционированной цельной крови [24], что в настоящее время используется в эпигеномных широкомасштабных ассоциативных исследованиях [25]. Определение профиля тканеспецифического метилирования внеклеточной циркулирующей ДНК бета-клеток поджелудочной железы было предложено в качестве нового метода для выявления сахарного диабета 1 типа [25]. С практической точки зрения внедрение маркеров дифференциального метилирования не требует создания отдельной лаборатории в структуре организации. Многие медицинские учреждения уже располагают стандартными и эффективными протоколами для сбора крови, которые могут быть использованы для количественного определения метилирования ДНК с помощью модификаций классической полимеразной цепной реакции (ПЦР). Несмотря на то, что метилирование ДНК имеет высокую специфичность для различных тканей, исследования показывают, что кровь в некоторых случаях может служить альтернативой для труднодоступных тканей [26]. Что касается научных центров и лабораторий, благодаря быстрому развитию технологий в области эпигенетики появилась возможность проводить количественную оценку метилирования ДНК в масштабах всего генома, что значительно расширяет исследования, направленные на поиск потенциальных биомаркеров ожирения.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ, СВЯЗАННЫХ С ОЖИРЕНИЕМ

Ожирение сопровождается инфильтрацией макрофагами жировой ткани и избыточной продукцией провоспалительных цитокинов [27]. Известно, что эпигенетические модификации играют важную роль в регуляции транскрипции воспалительных генов [28], а нарушение работы иммунной системы, напротив, может усилить

эффекты эпигенетических модификаций, что приводит к развитию хронического воспаления [27], которое препятствует передаче сигналов инсулина и способствует развитию инсулинорезистентности. Эпигенетические механизмы также контролируют экспрессию провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли-альфа, интерлейкин 6, интерферон гамма [29] и играют функциональную роль в дифференцировке моноцитов в макрофаги и поляризации макрофагов [30].

Вместе с тем ожирение вызывает нарушение регуляции иммунной системы [31], при этом, у пациентов с ожирением наблюдаются эпигенетические изменения в генах, отвечающих за иммунный ответ, влияющих на липидный профиль и чувствительность к инсулину в жировой ткани. Например, Ali M. и соавт. выявили отрицательную связь между уровнем метилирования промоторов провоспалительных генов и индексом массы тела, процентом общего и висцерального жира, артериальным давлением и уровнем инсулина натощак в плазме периферической крови (ПК) взрослых, страдающих ожирением [20]. Такие эпигенетические изменения остаются стойкими, в дальнейшем не зависящими от факторов окружающей среды, и данный процесс описывается как метаболическая память [32].

Важно отметить, что лимфоидные (B-, T- и NK-клетки) и миелоидные (моноциты, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы и тучные клетки) клетки иммунной системы различаются по своему эпигенетическому программированию [33], следовательно, дальнейшие исследования по поиску биомаркеров в различных типах клеточных популяций лейкоцитов необходимы для лучшего понимания эпигенетической дисрегуляции при воспалительных заболеваниях, связанных с ожирением.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОТВЕТ НА ОГРАНИЧЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА КАЛОРИЙ

Метилирование ДНК влияет на регуляцию массы тела, участвуя в адипогенезе, метаболизме глюкозы и липидов, контроле аппетита [34]. Кроме того, метилирование ДНК может модулироваться диетическими вмешательствами [8]. В исследовании Bouchard L. и соавт. оценили характер метилирования ДНК в подкожной жировой ткани у тучных женщин с высоким и низким ответом на дефицит калорий в течение 6 мес. Ученые идентифицировали 35 ДМР между двумя группами, при этом, многие из ДМР были связаны с контролем массы тела и секрецией инсулина. Так, самый высокий дифференциально метилированный уровень показали гены *KCNA3* и *NFIX*, которые были гиперметилированы до снижения массы тела в группе с высоким ответом [35]. В другом исследовании отмечено, что гены *KCNA3* и *NFIX* связаны с контролем массы тела: мыши с нокаутом по обоим генам весили значительно меньше, чем животные дикого типа, и были устойчивы к увеличению массы тела [36]. Продемонстрировано также, что определение уровня метилирования «генов аппетита» может использоваться для прогнозирования набора массы тела после диетических вмешательств [37].

Такой характер распределения метилирования указывает на то, что эпигенетические маркеры реагируют на диету и межиндивидуальная вариабельность эпи-

генетического фона играет роль в эффективности программы контроля массы тела. С другой стороны, исследования не исключают возможность влияния факторов окружающей среды, качества питания, популяции и сопутствующих ожирению заболеваний. Поэтому для установления причинно-следственной связи необходимы лонгитюдные исследования, оценивающие динамику снижения массы тела в течение долгих лет и учитывающие рацион питания для определения новых биомаркеров потери веса.

ИЗМЕНЕНИЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ХИРУРГИИ

Общепризнано, что бариатрическая хирургия является востребованным подходом, используемым для лечения морбидного ожирения. Вместе с тем, пациенты, перенесшие бариатрическое вмешательство, подвергаются риску дефицита многих питательных веществ и микроэлементов после операции, в числе которых фолиевая кислота [38]. В то же время известно, что фолиевая кислота является важным донором метильных групп в процессе метилирования ДНК и по-разному, но заметно влияет на уровни метилирования ДНК. Benton M. и соавт. изучили ДМР в сальниковой (15 сайтов CpG) и подкожной (3601 сайт CpG) жировой ткани у пациентов исходно и через 17,5 мес. после гастрешунтирования [39]. Глобальное метилирование ДНК было выше в подкожной жировой ткани и сальнике до потери массы тела. Данные согласуются с похожим исследованием профиля метилирования до и после гастрешунтирования, но на скелетной мускулатуре, несмотря на то, что изменение профиля метилирования зависит от многочисленных факторов, таких как гетерогенность клеток, изменения окружающей среды, метаболический статус, образ жизни и диета [40]. Потенциально дефицит фолиевой кислоты может влиять на снижение уровня метилирования ДНК после гастрешунтирования и воздействовать на экспрессию генов и функции клеток.

Несколько неожиданным оказалось исследование Fraszczuk E. и соавт., которые выявили около 2000 ДМР в ДНК из ПК через 12 мес. после операции, но все из них показали более высокие уровни метилирования после потери массы тела [41]. Следует признать, что ученые исследовали пациентов, перенесших разные типы бариатрических операций, включая гастрешунтирование (65%), лапароскопическое бандажирование желудка (25%), билиопанкреатическое шунтирование (7,5%), продольную резекцию желудка (2,5%), при этом у всех пациентов наблюдалось снижение уровня фолиевой кислоты после бариатрической операции.

Недавнее исследование показало, что специфические эпигенетические изменения происходят как раннее событие в ответ на потерю массы тела, например, метилирование гена *ARL4C*, — фактора АДФ-рибозилирования 4C, играющего роль в транспорте холестерина, — может быть многообещающим эпигенетическим маркером снижения веса после бариатрической операции [42]. Имеющиеся противоречивые данные между исследованиями на жировой ткани, скелетной мускулатуре и ПК подчеркивают важность выбора исследуемого материала и точной популяции у лиц с ожирением.

ВЫБОР МАТЕРИАЛА И МЕТОДА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК У ЛИЦ С ОЖИРЕНИЕМ

Исследования, изучающие связь между метилированием ДНК и ожирением, неоднородны по своему дизайну, методологии и результатам. При сборе образцов исследователи учитывают два основных подхода. Первый подход предполагает сбор образцов участника исследования в динамике, то есть на протяжении периода активного набора или снижения массы тела, во время физических упражнений или во время хирургического вмешательства. Это позволяет изучить динамику изменения метилирования ДНК в связи с изменениями массы тела. Второй подход заключается в сборе образцов в определенный момент времени, выбранном в соответствии с гипотезой исследования. Общепризнанным является сбор образцов участников, имеющих одинаковый индекс массы тела, для изучения метилирования ДНК в контексте определенной степени ожирения [7]. Для исследования потенциала сайтов метилирования в качестве клинических биомаркеров учёные используют унифицированные исследовательские когорты, которые состоят из участников, сопоставимых по полу, возрасту, массе тела и лабораторным показателям. Для достижения надежных результатов и выявления значимых взаимосвязей между метилированием ДНК и ожирением требуется большой размер выборки. Это особенно актуально для полногеномных исследований, поскольку они требуют высокой

статистической мощности, с целью исключения ошибочных результатов. С учетом невозможности дать общие цифры по размеру выборки из-за гетерогенности маркеров и образцов, мы предлагаем несколько примеров из анализа данных литературы в таблице 1.

Клинически доступные биомаркеры должны обладать двумя характеристиками — неинвазивность диагностики и быстрота количественной оценки [5]. Поэтому большинство исследователей, изучая метилирование ДНК при ожирении, используют в качестве основного материала кровь [43–47]. Однако метилирование ДНК зачастую тканеспецифично, и исследователи должны быть уверены, что интересующая ткань отражает изменения метилирования, связанные с заболеванием. Адипоциты — специализированные метаболические клетки, играющие важную роль в локальном хранении и расходовании энергии, энергии всего тела и гомеостазе глюкозы, а также в патогенезе ожирения и СД2 [32]. Несмотря на то, что адипоциты составляют более 90% объема, они составляют менее 50% клеток жировой ткани [48]. Но проблема исследований заключается в том, что жировая ткань является гетерогенным материалом, содержащим, помимо адипоцитов иммунные, эндотелиальные, мультипотентные мезенхимальные клетки-предшественники, дающие начало адипогенным, остеогенным и хондрогенным клонам, а также антиадипогенные клетки-предшественники [49]. Тем не менее исследования последних лет показали убедительные данные о дифференциальном уровне метилирования ДНК в жировой ткани.

Таблица 1. Общие сведения об анализах, основанных на полногеномном/широкогеномном подходах, в контексте изучения метилирования ДНК при ожирении за последние 10 лет

Table 1. Summary of analyses based on whole genome/genome wide approaches to study DNA methylation in obesity over the past 10 years

Материал для исследования	Размер выборки	Используемый метод	Источник
Скелетная мускулатура	24	Люминометрический анализ метилирования ДНК (Luminometric Methylation Assay, LUMA)	Barres и др. (2013) [40]
Мононуклеарные клетки ПК, Т-лимфоциты, В-лимфоциты	44	Проточная цитометрия с использованием антител к 5-метилцитозину	Simar и др. (2014) [43]
Жировая ткань, лейкоциты ПК	106	Infinium Human Methylation450k BeadChip	Agha и др. (2015) [6]
Скелетная мускулатура	22	RRBS	Day и др. (2016) [55]
Жировая ткань	30	Infinium Human Methylation450k BeadChip	Macartney-Coxson и др. (2017) [56]
Печень	21	Infinium Human Methylation450k BeadChip	Shen и др. (2018) [57]
Лейкоциты ПК	263	RRBS	He и др. (2019) [44]
Эозинофилы жировой ткани и ПК	2	WGBS	Hernandez и др. (2020) [45]
Лейкоциты ПК	4	Infinium Human DNA Methylation EPIC 850k BeadChip	Wang и др. (2021) [46]
Пятна крови	40	RRBS	Sasaki и др. (2022) [47]
Жировая ткань	86	Infinium Human Methylation450k BeadChip, Infinium Human DNA Methylation EPIC 850k BeadChip	McAllan и др. (2023) [58]

Надлежащее сохранение резецированной ткани также имеет решающее значение для широкого спектра биологических исследований. Наиболее эффективным методом сохранения ткани для анализа метилирования ДНК является глубокая заморозка, что требует специализированного оборудования, в частности, морозильной камеры с температурой -80°C с надежным электроснабжением или хранилищем жидкого азота [50]. Стандартная процедура фиксации материала формалином (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded, FFPE) приводит к деградации ДНК и различным артефактам [51]. Следовательно, существует растущий спрос на альтернативные подходы к фиксации, облегчающие использование фиксированной ткани в молекулярной биологии, и такие альтернативы уже коммерчески доступны [52].

Методологии, используемые в исследованиях метилирования ДНК при ожирении, основаны на полно-

геномном/широкогеномном анализе метилирования и анализе генов-кандидатов [53]. В настоящее время ученые сосредоточены на широкогеномных подходах с использованием технологии ДНК чипов, из которых выделяют Illumina Infinium HumanMethylation 27k, 450k и массив EPIC BeadChip, которые охватывают более 27 000, 485 000 и 850 000 CpG соответственно. Массив 27k представляет менее 0,1% из 28 миллионов сайтов CpG в геноме человека, охватывая в среднем 2 динуклеотида CpG в промоторных областях примерно 14 000 генов с промоторами CpG-островков. Массив размером 450k представляет собой 1,7% сайтов CpG в геноме, охватывая 99% генов RefSeq с зондами, расположенными внутри промоторов, тел генов, 3'-нетранслируемых областях (3'-untranslated region, 3'-UTR) и других межгенных последовательностей, но остается промоторцентричным (рис. 1). Массив

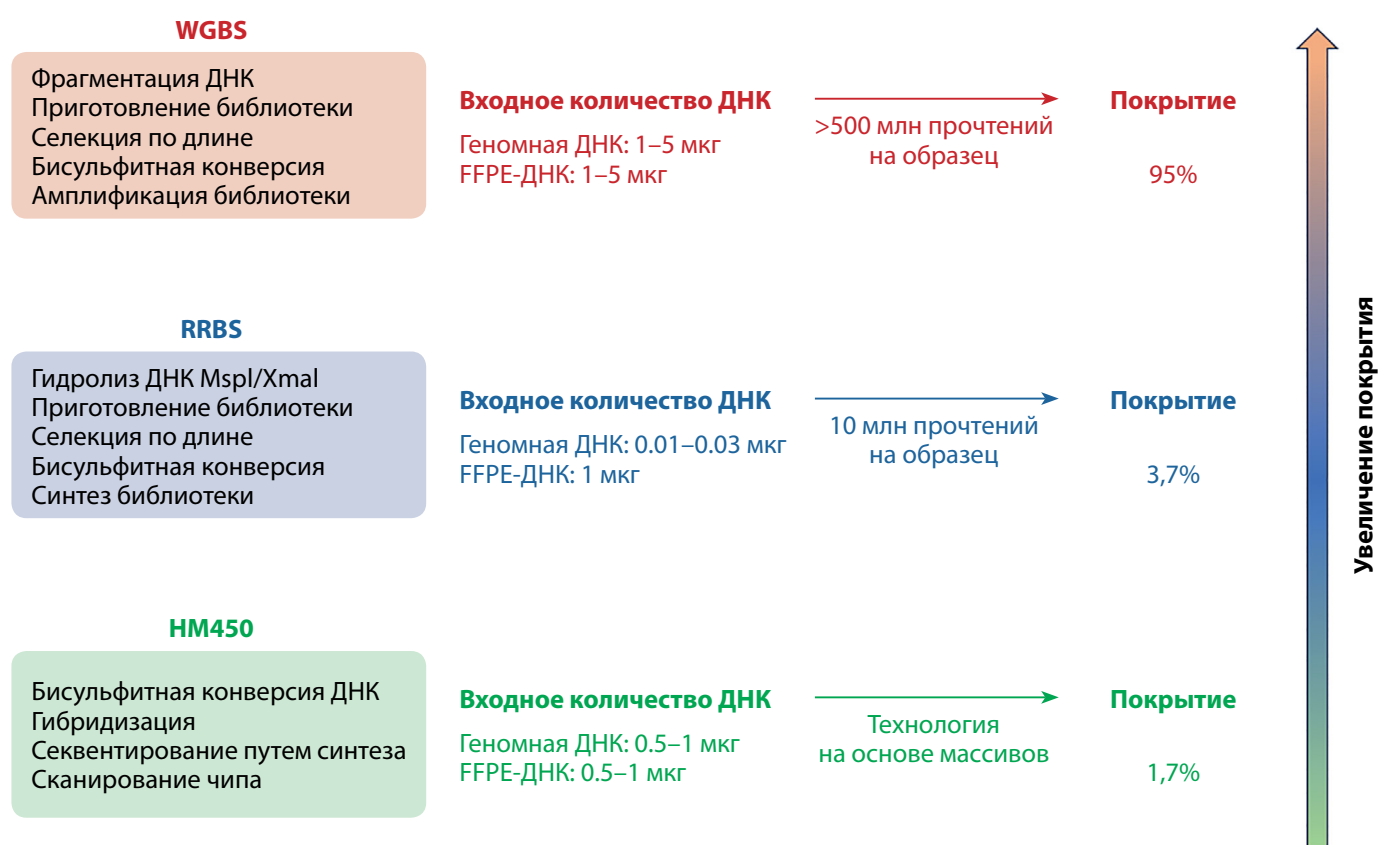


Рисунок 1. Краткое изложение полногеномных/широкогеномных методов исследования метилирования ДНК (адаптировано из работы Stirzaker C. и соавт., 2014).

Примечание. На рисунке сравниваются максимальный охват полногеномного бисульфитного секвенирования (WGBS, оранжевый; наибольший геномный охват), бисульфитного секвенирования ограниченных наборов геномных локусов (RRBS, синий) и подхода, основанном на технологии ДНК-чипов Infinium HumanMethylation450 BeadChip (HM450, зеленый). Показано краткое описание стандартного рабочего процесса для каждого метода (цветные прямоугольники слева). Количество геномной ДНК, выделенной из фиксированной формалином ткани, залитой в парафин (FFPE), необходимое для надежного выполнения каждого метода, надежно колеблется от 0,01 мкг (RRBS) до 5 мкг (WGBS), что может влиять на выбор платформы. Минимальное количество прочтений варьируется от 10 миллионов чтений (RRBS) до >500 миллионов чтений (WGBS), тогда как платформа HM450 использует технологию массивов. Таким образом, стоимость каждого метода примерно пропорциональна объему данных, необходимому для надежного анализа данных, и охвату генома [диапазон 1,7% (HM450) — 95% (WGBS)].

Figure 1. Summary of whole genome/wide genome methods for DNA methylation studies (adapted from Stirzaker C. et al., 2014).

Note. The figure compares the maximum coverage of whole genome bisulfite sequencing (WGBS, orange; most genomic coverage), reduced representation bisulfite sequencing (RRBS, blue), and HumanMethylation450 BeadChip (HM450, green) assays for measuring genome-wide DNA methylation. A summary of the standard workflow for each method is shown (colored boxes, left). The amount of genomic DNA or formalin-fixed paraffin-embedded tissue (FFPE) required to perform each technique reliably ranges from 0,01 ug (RRBS) to 5 ug (WGBS), which may influence platform selection. The minimum number of unique sequencing reads varies from 10 million reads (RRBS) to >500 million reads (WGBS), whereas the HM450 platform utilizes array technology. Therefore, the cost of each technique is approximately proportional to the amount of data required to analyze reliably the data, and the coverage of the genome [range, 1,7% (HM450) — 95% (WGBS)].

EPIC BeadChip представляет 3% сайтов CpG в геноме, охватывая важные регуляторные элементы, включая 58% энхансеров FANTOM5, 7% дистальных и 27% проксимальных регуляторных элементов ENCODE, ранее не захватываемые массивом 450k. Примечательно, что только 1% зондов массивов 450k и EPIC BeadChip анализируют CpG-динуклеотиды в регионах с «эпигенетическими полиморфизмами» (CoRSIV, correlated regions of systemic interindividual variation).

Золотым стандартом количественного анализа уровня метилирования является бисульфитное секвенирование, в приложении к масштабу генома, реализуемое полногеномным бисульфитным секвенированием (whole genome bisulfite sequencing, WGBS). WGBS на сегодняшний день является единственным методом, который лучше всего отображает области с более низкой плотностью CpG, такие как межгенные области («gene deserts»), частично метилированные домены и дистальные регуляторные элементы (например, энхансеры). В сравнении с WGBS, бисульфитное секвенирование ограниченных наборов геномных локусов (reduced representation bisulfite sequencing, RRBS) является менее дорогостоящим методом и увеличивает относительную информационную ценность анализа метилирования ДНК по сравнению с полногеномным бисульфитным секвенированием: каждая считанная последовательность RRBS включает по крайней мере одну информативную позицию CpG. По ряду характеристик RRBS лучше, чем полногеномное бисульфитное секвенирование, применимо к крупномасштабным исследованиям метилирования ДНК, поиска маркеров эпигенетических процессов в норме и при патологии, поскольку RRBS фокусируется на функционально значимом метилировании в островках CpG, которые составляют незначительную часть генома, игнорируя тем самым его менее значимую для клинических исследований часть [54].

В отличие от методов, основанных на микрочипах, WGBS является наиболее информативным, обнаруживающим более широкий спектр геномных характеристик и охват почти каждого отдельного динуклеотида CpG (~2 019 500), а RRBS дает возможность анализа непрерывно расположенных CpG-пар в локусе, охватывающий ~1 054 280 динуклеотидов CpG. Принимая во внимание эти преимущества, для разработки биомаркеров на основе метилирования ДНК можно использовать полногеномный (WGBS)/широкогеномный (RRBS) подход в качестве первоначального скрининга. Такой скрининг приводит к определению большого количества потенциальных маркеров метилирования ДНК. Следовательно, необходимы дальнейшие исследования для подтверждения результатов, выявления наиболее значимых таргетов и проверки маркеров в валидирующей когорте.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно данным литературы, динамика массы тела при ожирении сопровождается стойкими эпигенетическими изменениями, характеризующимися разным спектром метилирования ДНК. Показано, что метилирование ДНК может модулироваться диетиче-

скими вмешательствами, что делает его подходящим биомаркером, предсказывающим ответ на то или иное воздействие.

Вместе с тем на данный момент существуют противоречивые данные: одни исследования подтверждают глобальное гиперметилирование до и гипометилирование после снижения массы тела, что связывают с пассивным деметилированием ДНК, другие свидетельствуют о гиперметилировании после потери массы тела.

Осторожность при выборе цельной крови в качестве материала для изучения метилирования ДНК связана с гетерогенностью клеток, ведь каждый тип клеток крови имеет свой собственный эпигенетический профиль, который может быть изменен воспалением и другими сопутствующими ожирению заболеваниями. Жировая ткань — основной тип ткани, в котором происходят изменения при ожирении. Однако есть свидетельства того, что уровень метилирования некоторых генов аналогичен в нескольких типах образцов и что уровень метилирования в крови аналогичен уровню, встречающемуся в жировой ткани. Учитывая методологический подход, можно также рассмотреть возможность применения более надежных методов, таких как WGBS/RRBS, открывающих новые возможности исследования генов и путей, которые еще не рассматривались.

Поэтому актуальны дальнейшие исследования, проводимые на больших популяциях по стандартизированному протоколу для получения надежных доказательств и данных о связи метилирования ДНК с генетическим профилем и другими характеристиками пациентов. Бесспорно, дальнейшее изучение роли метилирования ДНК в развитии воспаления, связанного с ожирением, откроет новые возможности в потенциальном использовании эпигенетических маркеров для профилактики и лечения сопутствующих нарушений обмена веществ.

Правильно спланированные исследования в области эпигенетики могут помочь использовать метилирование ДНК в качестве новой терапевтической мишени для профилактики, диагностики и лечения ожирения и других метаболических заболеваний.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ «МГНЦ» на выполнение НИР в 2023 г. и при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (номер гранта: 075-15-2022-310) для ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Конфликт интересов. Работа выполнена в соавторстве с членом редакционной коллегии журнала «Ожирение и метаболизм» Н.Г. Мокрышевой.

Участие авторов. Все авторы участвовали в формировании концепции работы, поиске, анализе и отборе источников информации, написании статьи. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Voruganti VS. Precision Nutrition: Recent Advances in Obesity. *Physiology*. 2023;38(1):42-50. doi: <https://doi.org/10.1152/physiol.00014.2022>
2. Silventoinen K, Jelenkovic A, Sund R, et al. Genetic and environmental effects on body mass index from infancy to the onset of adulthood: an individual-based pooled analysis of 45 twin cohorts participating in the Collaborative project of Development of Anthropometrical measures in Twins (CODATwins) study. *Am J Clin Nutr*. 2016;104(2):371-379. doi: <https://doi.org/10.3945/AJCN.116.130252>
3. Locke AE, Kahali B, Berndt SJ, et al. Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. *Nature*. 2015;518(7538):197-206. doi: <https://doi.org/10.1038/nature14177>
4. Trerotola M, Relli V, Simeone P, Alberti S. Epigenetic inheritance and the missing heritability. *Hum Genomics*. 2015;9(1):17. doi: <https://doi.org/10.1186/s40246-015-0041-3>
5. Heikkinen A, Bollepalli S, Ollikainen M. The potential of DNA methylation as a biomarker for obesity and smoking. *J Intern Med*. 2022;292(3):390. doi: <https://doi.org/10.1111/JOIM.13496>
6. Agha G, E Houseman A, Kelsey KT, et al. Adiposity is associated with DNA methylation profile in adipose tissue. *Int J Epidemiol*. 2015;44(4):1277-1287. doi: <https://doi.org/10.1093/IJE/DYU236>
7. Trang K, Grant SFA. Genetics and epigenetics in the obesity phenotyping scenario. *Rev Endocr Metab Disord*. 2023;24(5):775-793. doi: <https://doi.org/10.1007/s11154-023-09804-6>
8. Maugeri A. The Effects of Dietary interventions on DNA methylation: Implications for obesity management. *Int J Mol Sci*. 2020;21(22):1-17. doi: <https://doi.org/10.3390/IJMS21228670>
9. Bekdash RA. Methyl donors, epigenetic alterations, and brain health: understanding the connection. *Int J Mol Sci*. 2023;24(3):2346. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms24032346>
10. Mahmoud A, Ali M. Methyl donor micronutrients that modify DNA methylation and cancer outcome. *Nutrients*. 2019;11(3):608. doi: <https://doi.org/10.3390/nu11030608>
11. Bray GA, Frühbeck G, Ryan DH, Wilding JPH. Management of obesity. *Lancet*. 2016;387(10031):1947-1956. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00271-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00271-3)
12. Lurbe E, Aguilar F, Lvarez J, et al. Determinants of cardiometabolic risk factors in the first decade of life: A longitudinal study starting at birth. *Hypertension*. 2018;71(3):437-443. doi: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.10529>
13. Gaillard R, Steegers EAP, Duijts L, et al. Childhood cardiometabolic outcomes of maternal obesity during pregnancy: the Generation R Study. *Hypertension*. 2014;63(4):683-691. doi: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02671>
14. Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(44):17046-17049. doi: <https://doi.org/10.1073/PNAS.0806560105>
15. Smith FM, Garfield AS, Ward A. Regulation of growth and metabolism by imprinted genes. *Cytogenet Genome Res*. 2006;113(1-4):279-291. doi: <https://doi.org/10.1159/000090843>
16. Heijmans BT, Kremer D, Tobi EW, et al. Heritable rather than age-related environmental and stochastic factors dominate variation in DNA methylation of the human IGF2/H19 locus. *Hum Mol Genet*. 2007;16(5):547-554. doi: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm010>
17. Roseboom T, de Rooij S, Painter R. The Dutch famine and its long-term consequences for adult health. *Early Hum Dev*. 2006;82(8):485-491. doi: <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2006.07.001>
18. Olefsky JM, Glass CK. Macrophages, inflammation, and insulin resistance. *Annu Rev Physiol*. 2010;72(1):219-246. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135846>
19. Юдаева А.Д., Стафеев Ю.С., Мичурина С.С., и др. Взаимодействие воспаления и инсулиновой резистентности: молекулярные механизмы в инсулинопродуцирующих и инсулинозависимых тканях // *Сахарный диабет*. — 2023. — Т. 26. — №1. — С. 75-81. [Yudaeva AD, Stafeyev IS, Michurina SS, et al. The interactions between inflammation and insulin resistance: molecular mechanisms in insulin-producing and insulin-dependent tissues. *Diabetes Mellit*. 2023;26(1):75-81. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/DM12981>
20. Ali MM, Naquiallah D, Qureshi M, et al. DNA methylation profile of genes involved in inflammation and autoimmunity correlates with vascular function in morbidly obese adults. *Epigenetics*. 2022;17(1):93-109. doi: <https://doi.org/10.1080/15592294.2021.1876285>
21. Mathis D, Shoelson SE. Immunometabolism: an emerging frontier. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(2):81-83. doi: <https://doi.org/10.1038/nri2922>
22. Kaikkonen KM, Korpelainen R, Vanhala ML, et al. Long-term effects on weight loss and maintenance by intensive start with diet and exercise. *Scand J Med Sci Sports*. 2023;33(3):246-256. doi: <https://doi.org/10.1111/sms.14269>
23. Sánchez EC, Barajas-Olmos F, Baca P, et al. DNA methylation remodeling after bariatric surgery correlates with clinical parameters. *Adv Biol*. 2023;7(9). doi: <https://doi.org/10.1002/adbi.202300001>
24. Houseman EA, Accomando WP, Koestler DC, et al. DNA methylation arrays as surrogate measures of cell mixture distribution. *BMC Bioinformatics*. 2012;13(1):86. doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-86>
25. Lehmann-Werman R, Neiman D, Zemmour H, et al. Identification of tissue-specific cell death using methylation patterns of circulating DNA. *Proc Natl Acad Sci*. 2016;113(13). doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1519286113>
26. Bacos K, Gillberg L, Volkov P, et al. Blood-based biomarkers of age-associated epigenetic changes in human islets associate with insulin secretion and diabetes. *Nat Commun*. 2016;7(1):11089. doi: <https://doi.org/10.1038/ncomms11089>
27. Ray A, Bonorden MJL, Pandit R, et al. Infections and immunity: associations with obesity and related metabolic disorders. *J Pathol Transl Med*. 2023;57(1):28-42. doi: <https://doi.org/10.4132/JPTM.2022.11.14>
28. Zhu X, Chen Z, Shen W, et al. Inflammation, epigenetics, and metabolism converge to cell senescence and ageing: the regulation and intervention. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6(1):245. doi: <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00646-9>
29. Ramos-Lopez O, Milagro FI, Riezu-Boj JI, Martinez JA. Epigenetic signatures underlying inflammation: an interplay of nutrition, physical activity, metabolic diseases, and environmental factors for personalized nutrition. *Inflamm Res*. 2021;70(1):29-49. doi: <https://doi.org/10.1007/S00011-020-01425-Y>
30. Fogel O, Richard-Miceli C, Tost J. Epigenetic changes in chronic inflammatory diseases. *Adv Protein Chem Struct Biol*. 2017;106:139-189. doi: <https://doi.org/10.1016/BS.APCSB.2016.09.003>
31. Richard C, Wadowski M, Goruk S, et al. Individuals with obesity and type 2 diabetes have additional immune dysfunction compared with obese individuals who are metabolically healthy. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2017;5(1):e000379. doi: <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2016-000379>
32. Suárez R, Chapela SP, Álvarez-Córdova L, et al. Epigenetics in Obesity and Diabetes Mellitus: New Insights. *Nutrients*. 2023;15(4):811. doi: <https://doi.org/10.3390/nu15040811>
33. Zatterale F, Raciti GA, Prevezano I, et al. Epigenetic reprogramming of the inflammatory response in obesity and type 2 diabetes. *Biomolecules*. 2022;12(7):982. doi: <https://doi.org/10.3390/biom12070982>
34. Samblas M, Milagro FI, Martínez A. DNA methylation markers in obesity, metabolic syndrome, and weight loss. *Epigenetics*. 2019;14(5):421-444. doi: <https://doi.org/10.1080/15592294.2019.1595297>
35. Bouchard L, Rabasa-Lhoret R, Faraj M, et al. Differential epigenomic and transcriptomic responses in subcutaneous adipose tissue between low and high responders to caloric restriction. *Am J Clin Nutr*. 2010;91(2):309-320. doi: <https://doi.org/10.3945/AJCN.2009.28085>
36. Driller K, Pagenstecher A, Uhl M, et al. Nuclear factor I X deficiency causes brain malformation and severe skeletal defects. *Mol Cell Biol*. 2007;27(10):3855-3867. doi: <https://doi.org/10.1128/MCB.02293-06>
37. Crujeiras AB, Campion J, Díaz-Lagares A, et al. Association of weight regain with specific methylation levels in the NPY and POMC promoters in leukocytes of obese men: A translational study. *Regul Pept*. 2013;186:1-6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2013.06.012>
38. Shankar P, Boylan M, Sriram K. Micronutrient deficiencies after bariatric surgery. *Nutrition*. 2010;26(11-12):1031-1037. doi: <https://doi.org/10.1016/J.NUT.2009.12.003>
39. Benton MC, Johnstone A, Eccles D, et al. An analysis of DNA methylation in human adipose tissue reveals differential modification of obesity genes before and after gastric bypass and weight loss. *Genome Biol*. 2015;16(1):8. doi: <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0569-x>

40. Barres R, Kirchner H, Rasmussen M, et al. Weight loss after gastric bypass surgery in human obesity remodels promoter methylation. *Cell Rep.* 2013;3(4):1020-1027. doi: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.03.018>
41. Fraszczek E, Luijten M, Spijkerman AMW, et al. The effects of bariatric surgery on clinical profile, DNA methylation, and ageing in severely obese patients. *Clin Epigenetics.* 2020;12(1):14. doi: <https://doi.org/10.1186/s13148-019-0790-2>
42. Talukdar FR, Escobar Marcillo DI, Laskar RS, et al. Bariatric surgery-induced weight loss and associated genome-wide DNA-methylation alterations in obese individuals. *Clin Epigenetics.* 2022;14(1):176. doi: <https://doi.org/10.1186/s13148-022-01401-9>
43. Simar D, Versteyhe S, Donkin I, et al. DNA methylation is altered in B and NK lymphocytes in obese and type 2 diabetic human. *Metabolism.* 2014;63(9):1188-1197. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmetabol.2014.05.014>
44. He F, Berg A, Imamura Kawasawa Y, et al. Association between DNA methylation in obesity-related genes and body mass index percentile in adolescents. *Sci Rep.* 2019;9(1):2079. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38587-7>
45. Hernandez JD, Tew BY, Li T, et al. A FACS-based approach to obtain viable eosinophils from human adipose tissue. *Sci Rep.* 2020;10(1):13210. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70093-z>
46. Wang C, Wang M, Ma J. Analysis of genome-wide DNA methylation patterns in obesity. *Endocr J.* 2021;68(12):EJ20-0734. doi: <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ20-0734>
47. Sasaki A, Murphy KE, Briollais L, et al. DNA methylation profiles in the blood of newborn term infants born to mothers with obesity. *PLoS One.* 2022;17(5):e0267946. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0267946>
48. Eto H, Suga H, Matsumoto D, et al. Characterization of structure and cellular components of aspirated and excised adipose tissue. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124(4):1087-1097. doi: <https://doi.org/10.1097/PRS.0B013E3181B5A3F1>
49. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* 2001;7(2):211-228. doi: <https://doi.org/10.1089/107632701300062859>
50. Noehammer C, Pulverer W, Hassler MR, et al. Strategies for validation and testing of DNA methylation biomarkers. *Epigenomics.* 2014;6(6):603-622. doi: <https://doi.org/10.2217/epi.14.43>
51. Frankel A. Formalin fixation in the 'omics' era: a primer for the surgeon-scientist. *ANZ J Surg.* 2012;82(6):395-402. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1445-2197.2012.06092.x>
52. An Y, Zhao X, Zhang Z, et al. DNA methylation analysis explores the molecular basis of plasma cell-free DNA fragmentation. *Nat Commun.* 2023;14(1):287. doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-35959-6>
53. Lima RS, de Assis Silva Gomes J, Moreira PR. An overview about DNA methylation in childhood obesity: Characteristics of the studies and main findings. *J Cell Biochem.* 2020;121(5-6):3042-3057. doi: <https://doi.org/10.1002/jcb.29544>
54. Signin VO, Kalinkin AI, Kuznetsova EB, et al. DNA methylation markers panel can improve prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in luminal B breast cancer. *Sci Rep.* 2020;10(1):9239. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66197-1>
55. Day SE, Coletta RL, Kim JY, et al. Next-generation sequencing methylation profiling of subjects with obesity identifies novel gene changes. *Clin Epigenetics.* 2016;8(1):77. doi: <https://doi.org/10.1186/s13148-016-0246-x>
56. Macartney-Coxson D, Benton MC, Blick R, et al. Genome-wide DNA methylation analysis reveals loci that distinguish different types of adipose tissue in obese individuals. *Clin Epigenetics.* 2017;9(1):48. doi: <https://doi.org/10.1186/s13148-017-0344-4>
57. Shen J, Zhu B. Integrated analysis of the gene expression profile and DNA methylation profile of obese patients with type 2 diabetes. *Mol Med Rep.* 2018;17(6). doi: <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8804>
58. McAllan L, Baranasic D, Villicaña S, et al. Integrative genomic analyses in adipocytes implicate DNA methylation in human obesity and diabetes. *Nat Commun.* 2023;14(1):2784. doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38439-z>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]:

***Николаева Александра Федоровна [Aleksandra F. Nikolaeva];** адрес: 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1 [address: 1 Moskvorechye st., 115522 Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3805-8879>; e-mail: nikolaevaepi@gmail.com

Петрова Кристина Олеговна [Kristina O. Petrova]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1909-2171>; eLibrary SPIN: 4502-9117; e-mail: tina.petrova11@gmail.com

Васюкова Ольга Владимировна, к.м.н. [Olga V. Vasyukova, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9299-1053>; eLibrary SPIN: 6432-3934; e-mail: o.vasyukova@mail.ru

Гусейнова Раисат Магомедкамиловна [Raisat M. Guseinova, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8694-2474>; eLibrary SPIN: 9719-3850; Scopus Author ID: 58077013800; Researcher ID: HDO-1221-2022; e-mail: rasgus-9@mail.ru

Миннихметов Илдар Рамилович, к.б.н [Ildar R. Minniakhmetov, PhD in biology]; eLibrary SPIN: 8643-7056; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7045-8215>; e-mail: minniakhmetov@gmail.com

Хусаинова Рита Игоревна, д.б.н [Rita I. Khusainova, MD, PhD in biology]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8643-850X>; eLibrary SPIN: 4091-9326; e-mail: ritakh@mail.ru

Мокрышева Наталья Георгиевна, д.м.н., профессор [Natalia G. Mokrysheva, MD, PhD, Professor]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9717-9742>; eLibrary SPIN: 5624-3875; e-mail: mokryshevan@yandex.ru

Сигин Владимир Олегович, к.б.н [Vladimir O. Signin, PhD in biology]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8020-3577>; eLibrary SPIN: 9156-3209; e-mail: signin.vladimir@gmail.com

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

ЦИТИРОВАТЬ:

Николаева А.Ф., Петрова К.О., Васюкова О.В., Гусейнова Р.М., Миннихметов И.Р., Хусаинова Р.И., Мокрышева Н.Г., Сигин В.О. Потенциал маркеров метилирования ДНК в изучении ожирения // Ожирение и метаболизм. — 2023. — Т. 20. — №4. — С. 301-308. doi: <https://doi.org/10.14341/omet13058>

TO CITE THIS ARTICLE:

Nikolaeva AF, Petrova KO, Vasyukova OV, Guseinova RM, Minniakhmetov IR, Khusainova RI, Mokrysheva NG, Signin VO. The potential of DNA methylation markers in the study of obesity. *Obesity and metabolism.* 2023;20(4):301-308. doi: <https://doi.org/10.14341/omet13058>