

УДК 615.874
ББК 51.230
Э94

Рецензенты:

Б. Б. Дзантиев — руководитель отдела лиганд-рецепторных взаимодействий и биосенсорики, заведующий лабораторией иммунобиохимии ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, доктор химических наук, профессор

А. В. Погожева — ведущий научный сотрудник лаборатории демографии и эпидемиологии питания ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», доктор медицинских наук, профессор

Э94 **Эффекторные** звенья метаболизма. Биологически активные вещества пищи в лечении ожирения: от теории и модели к практике / И. В. Гмошинский, В. А. Шипелин, С. А. Апрятин, Н. В. Трусов, Шумакова и др. — Москва : Эксмо, 2022. — 496 с. : ил. — (Врач высшей категории).

ISBN 978-5-04-160832-3

В издании рассматриваются вопросы установления эффекторных звеньев метаболизма при алиментарно-зависимых заболеваниях (ожирении, метаболическом синдроме) в экспериментах с использованием *in vivo* моделей у лабораторных животных (крыс и мышей). Представлена сводка данных литературы о геномных, транскриптомных, протеомных и метаболомных (метаболических) биомаркерах нарушений обменных процессов при алиментарно-зависимых заболеваниях, рассмотрена роль нейромедиаторов и нейропептидов в регуляции пищевого поведения, чувства голода и насыщения. Приведены сведения о современных *in vivo* моделях ожирения и метаболического синдрома у генетически модифицированных, мутантных линий крыс и мышей, а также у животных стандартных линий, получающих гиперкалорийные рационы. Изложены методы анализа постгеномных маркеров ожирения и метаболического синдрома в эксперименте. Представлены результаты собственных исследований по оценке влияния биологически активных веществ пищи (кверцетина, ресвератрола, ароматических аминокислот) на эффекторные звенья метаболизма при генетически-детерминированном и диет-индуцированном ожирении на *in vivo* моделях.

УДК 615.874
ББК 51.230

ISBN 978-5-04-160832-3

© И.В. Гмошинский, В.А. Шипелин, С.А. Апрятин,
Н.В. Трусов, Н.А. Ригер, А.А.Шумакова, текст, ил., 2022
© ООО «Издательство «Эксмо», 2022

От авторов

В издании рассматриваются вопросы установления эффекторных звеньев метаболизма при алиментарно-зависимых заболеваниях (ожирении, метаболическом синдроме) в экспериментах с использованием *in vivo* моделей у лабораторных животных (крыс и мышей). Представлена сводка данных литературы о геномных, транскриптомных, протеомных и метаболомных (метаболических) биомаркерах нарушений обменных процессов при алиментарно-зависимых заболеваниях, рассмотрена роль нейромедиаторов и нейропептидов в регуляции пищевого поведения, чувства голода и насыщения. Приведены сведения о современных *in vivo* моделях ожирения и метаболического синдрома у генетически модифицированных, мутантных линий крыс и мышей, а также у животных стандартных линий, получающих гиперкалорийные рационы. Изложены методы анализа постгеномных маркеров ожирения и метаболического синдрома в эксперименте. Представлены результаты собственных исследований по оценке влияния биологически активных веществ пищи (кверцетина, ресвератрола, l-карнитина, ароматических аминокислот) на эффекторные звенья метаболизма при генетически детерминированном и диетиндуцированном ожирении на *in vivo* моделях.

Ключевые слова: ожирение, метаболический синдром, геном, транскриптом, метаболические пути, *in vivo* модели, крысы, мыши, дофамин, серотонин, биологически активные вещества пищи, диетотерапия.

© Коллектив авторов, 2021

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	8
ВВЕДЕНИЕ.....	11
ЧАСТЬ 1. БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ОЖИРЕНИЯ И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА	19
Глава 1. Геномные и эпигеномные маркеры ожирения.....	21
Глава 2. Изменение в транскриптоме клетки при ожирении.....	45
Глава 3. Регуляторные микроРНК в патогенезе ожирения.....	62
Глава 4. Нейропептиды и нейромедиаторы как маркеры ожирения и метаболического синдрома.....	76
Глава 5. Роль адипокинов и цитокинов в развитии ожирения....	104
ЧАСТЬ 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ОЖИРЕНИЯ	113
Глава 6. Модели ожирения у мутантных и нокаутных линий животных.....	115
Глава 7. Модели индуцированного рационом ожирения.....	129
ЧАСТЬ 3. РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ИЗУЧЕНИЯ ОЖИРЕНИЯ И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ НА IN VIVO МОДЕЛЯХ....	149
Глава 8. Исследование нейромоторики и поведенческих реакций	150
Глава 9. Методы изучения биохимических и метаболомных маркеров ожирения	178
Глава 10. Методы оценки иммунологических маркеров ожирения и метаболического синдрома	195
Глава 11. Изучение постгеномных (транскриптомных и протеомных) маркеров ожирения.....	210
Глава 12. Значение оценки статуса витаминов и минеральных веществ в экспериментальных исследованиях ожирения на <i>in vivo</i> моделях.....	217

**ЧАСТЬ 4. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МИНОРНЫХ
БАВ ПИЩИ НА *IN VIVO* МОДЕЛЯХ ОЖИРЕНИЯ
И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА 235**

Глава 13. Изучение эффектов кверцетина на *in vivo*
моделях ожирения у крыс линии Wistar и Zucker ZF 237

Глава 14. Изучение эффектов кверцетина
на моделях индуцированного рационом
и спонтанного ожирения у мышей 286

Глава 15. Влияние кверцетина на гомеостаз минеральных
веществ в организме крыс и мышей различных линий 322

Глава 16. Влияние ресвератрола на мышей на модели
индуцированного рационом ожирения..... 350

Глава 17. Влияние l-карнитина на мышей,
получающих рацион с избытком жира и фруктозы..... 368

Глава 18. Полнотранскриптомное исследование влияния
ресвератрола и l-карнитина на экспрессию генов
в печени у мышей 385

Глава 19. Сравнение эффективности l-карнитина
и ресвератрола в коррекции индуцированного рационом
ожирения у крыс..... 403

Глава 20. Воздействие потребления больших
нейтральных аминокислот на крыс
с индуцированным рационом ожирением 422

Глава 21. Оценка воздействий тирозина и триптофана
на мышей с различной склонностью к развитию ожирения..... 441

Глава 22. Полнотранскриптомное исследование влияния
ресвератрола, l-карнитина, тирозина и триптофана
на экспрессию генов в печени крыс..... 457

Глава 23. Концепция эффекторных звеньев метаболизма
в диетотерапии ожирения..... 477

СПИСОК ОСНОВНЫХ ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ...483

СПИСОК НАУЧНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ АВТОРОВ

ПО ТЕМЕ ПРОЕКТА 486

ПРЕДИСЛОВИЕ

В 2020 ГОДУ БЫЛА ОТМЕЧЕНА славная дата — 90 лет со дня основания Института питания, в настоящее время — ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии». На протяжении всего периода своей деятельности Институт и его сотрудники были заняты решением важнейших научных и народнохозяйственных проблем, связанных с питанием населения СССР и России. Сущность этих работ раскрывается в триединстве основных направлений науки о питании. Во-первых, это получение фундаментальных научных знаний о механизмах ассимиляции пищевых веществ, их структуре и функциях и, на этой основе, разработка, обоснование и в дальнейшем уточнение норм физиологических потребностей человека в пищевых веществах и энергии. Во-вторых, это комплекс исследований, направленных на обеспечение безопасности питания и снижения рисков, связанных с наличием в пищевых продуктах вредных для здоровья веществ химической и биологической природы. В-третьих, это создание, обоснование и оценка эффективности новых или актуализация уже имеющихся методов диагностики пищевого статуса и диетотерапии, инновационных технологий диетического лечебного и профилактического питания, включающих разработку специализированных пищевых продуктов и диет, предназначенных для групп пациентов с различными заболеваниями или людей с особыми пищевыми потребностями (дети раннего возраста, беременные и кормящие женщины, спортсмены и другие). Для решения этих проблем на каждом этапе эволюции научного знания привлекался самый современный на то время комплекс методов и подходов. Физиологическое направление в науке о питании активно развивалось уже в 20-е гг. прошлого века, а в деятельности Института питания получило отражение в трудах М. Н. Шатерникова, И. П. Разенкова, а в дальнейшем, в особенности, Г. К. Шлыгина и его учеников. Оно включало исследование на уровне организма как целого влияния пищевых веществ на деятельность центральной нервной системы, эффектов пищевого

термогенеза и специфического динамического действия пищи, закономерностей пищевого поведения в зависимости от состава диеты. В 1960-е годы в работе Института главенствующую роль заняли биохимические исследования, связанные с работами выдающегося ученого XX века, академика АМН СССР А.А. Покровского и плеяды его учеников — В. А. Тутельяна, М. М. Г. Гаппарова, И. Я. Коня и других. В этом направлении были достигнуты такие признанные в мировом масштабе результаты, как выяснение роли лизосомального аппарата клетки в системе внутриклеточного пищеварения, установление влияния диетических факторов на ферментные системы, обеспечивающие поддержание организменного гомеостаза, защиту от химических токсикантов и ксенобиотиков. Совокупность этих научных достижений позволила разработать теорию оптимального питания, строго количественную научную биологическую концепцию, основные положения которой продолжают действовать и в настоящее время. Третье направление, в котором развивалась деятельность Института, было связано с работами в области алиментарной морфологии, патологии и иммунологии питания, где большую роль сыграли исследования М. Н. Волгарева и его учеников, И. А. Морозова, И. Б. Куваевой и других ученых. И в конечном итоге на основе новейших достижений науки и медицины решались проблемы питания здорового и больного человека, научно-методические вопросы по организации диетического лечебного и профилактического питания, разрабатывались и внедрялись в клиническую работу научнообоснованные методы диагностики и диетотерапии различных заболеваний. Развитие данного направления и деятельность Клиники лечебного питания Института питания тесно связана с именами профессора М. И. Певзнера, члена-корреспондента Академии медицинских наук СССР, профессора М. А. Самсонова и их многочисленных учеников.

В течение длительного периода времени биохимическое, физиологическое и патоморфологическое направления в изучении питания функционировали относительно обособленно. Однако в последние десятилетия, ознаменовавшиеся бурным развитием и внедрением в научные исследования высокопроизводительного постгеномного анализа (транскриптомики, протеомики, метаболомики) и биоинформатических подходов стал возможным продуктивный синтез данных, получаемых биохимическими и постгеномными методами, с результатами исследования на уровне организма в целом, в том числе полученными в современных, объективных, строго количественных и информативных физиологических тестах. Это создало возможность подведения научной базы под разработку персонифицированной диетотерапии, назначаемой

при различных, в первую очередь, вызванных нерациональным питанием, заболеваниях, и подходящей в наибольшей степени для конкретного больного в зависимости от его гено- и фенотипа, происхождения, индивидуальных особенностей обмена веществ, стадии и тяжести патологического процесса, наличия сопутствующих заболеваний и других факторов.

Предлагаемая монография, являющаяся плодом деятельности коллектива, в основном, молодых ученых и исследователей ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», как раз и представляет собой попытку синтеза на современном уровне научных знаний, биохимического, постгеномного и физиологического подхода в разработке специализированных продуктов и БАД к пище, используемых в диетотерапии ожирения и связанных с ним метаболических расстройств. По нашему мнению, данная работа представляет значительный интерес для специалистов в области биохимии и гигиены питания, диетологов, эндокринологов и врачей других специальностей, технологов пищевой промышленности, занятых разработкой рецептур новых специализированных диетических продуктов и БАД.

Исследования, представленные в книге, основаны на новейших достижениях науки и техники; при их планировании, проведении и анализе широко применялся комплекс современных высокотехнологичных и высокоинформативных подходов. Реализация данного труда была бы невозможна без той поддержки, которая была оказана этому направлению со стороны Российского Научного Фонда, которому всем нам хотелось бы выразить за это самую искреннюю благодарность.

*А. В. Стародубова,
д.м.н., заместитель директора
по научной и лечебной работе
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»*

ВВЕДЕНИЕ

АЛИМЕНТАРНО-ЗАВИСИМЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ, в том числе сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет 2 типа (СД), ожирение, метаболический синдром, пищевая аллергия и непереносимость, дефициты микронутриентов и другие занимают одно из ведущих мест в структуре заболеваемости населения Российской Федерации. Многие из них способны приводить к высокой смертности и инвалидизации больных, а на поздних стадиях требуют применения высокотехнологичной медицинской помощи, что приводит к значительным непродуктивным финансовым затратам. Распространенность алиментарно-зависимых заболеваний интенсивно растет во всем мире, в частности, встречаемость метаболического синдрома в индустриальных странах среди лиц старше 30 лет составляет 10-20 %, в США — 34 % (или 44 % среди людей старше 50 лет), в России почти 20 %.

Распространенность ожирения в мире удвоилась с 1980 по 2008 годы, составляя по 500 млн случаев ежегодно [WHO, 2020], что позволяет говорить о глобальной эпидемии этого состояния [Swinburn et al., 2011; Imes & Burke, 2014; Баланова Ю.А. и др., 2018; Дедов И.И. и др., 2018; Стародубова А.В. и Стародубов В.И., 2017; Тутельян В.А. и др., 2014, 2019]. Однако в отличие от эпидемических инфекционных заболеваний, у ожирения нет единого этиологического фактора, его развитие связано как с образом жизни (питание, уровень физической активности), так и с генетической предрасположенностью. Ожирение с высокой вероятностью приводит к развитию СД 2-го типа, которым, по данным ВОЗ, в мире страдает более 350 млн человек. СД 2-го типа является седьмой по значимости причиной смерти в мире. Хронический метаболический дисбаланс и воспалительные процессы, протекающие в жировой ткани при ожирении, совместно с возникающей первичной резистентностью к инсулину, приводят к развитию метаболического синдрома, последствиями которого являются атеросклероз [Jahangir et al., 2014; Klop et al.,

2013], гипертоническая болезнь, подагра, аллергические заболевания, стеатоз печени с риском его последующей трансформации в неалкогольный стеатогепатит и цирроз печени [Must et al., 1999].

Ведущей причиной роста распространенности ожирения во всем мире является изменение образа жизни современного человека, состоящее в повсеместном распространении транспортных средств, механизации труда и быта, что приводит к резкому снижению энерготрат. Данные сдвиги усугубляются резко повышенной стрессорной нагрузкой на организм, связанной с высоким уровнем перенаселенности (особенно, в условиях мегаполисов), необходимостью и потребностью воспринимать большие дополнительные объёмы разнородной аудиовизуальной информации. При этом на количества потребляемых современным человеком основных макронутриентов (белков, жиров, углеводов) накладываются естественные ограничения снизу, связанные с необходимостью удовлетворения физиологической потребности в микронутриентах (витаминах и минеральных веществах) за счет их количеств, содержащихся в пищевых продуктах. Вследствие этих естественных причин возникает избыток энергетической ценности потребляемого рациона над энерготратами организма, приводящий к накоплению избытков жировой ткани. Фактором, дополнительно отягощающим этот процесс, является повышенное содержание в пище современного человека-горожанина в развитых странах насыщенных жиров животного происхождения и простых сахаров, высокая квота потребления продукции фастфуда, рафинированных продуктов, обедненных в силу технологии их производства пищевыми волокнами, витаминами и минеральными веществами [Тутельян В. А. и др., 2018].

Господствовавшее в медицине на протяжении столетий механистическое представление о патогенезе ожирения, как о простом накоплении неиспользуемого жира вследствие избыточной калорийности рациона, в последнее время активно пересматривается с учётом роли системного воспаления в жировой ткани, печени и некоторых отделах головного мозга, характер и выраженность которого зависит от сложного комплекса факторов, включая генетические полиморфизмы и различные алиментарные дисбалансы [Hjelmborg et al., 2008]. Дополнительным фактором, усиливающим развитие системного воспаления при ожирении, метаболическом синдроме и СД, является нарушение состава микрофлоры кишечника, приводящее к изменению функционирования местного иммунитета.

Перечисленные патогенетические факторы определяют как неоднозначную связь между потреблением высокожировых и высокоуглеводных

рационов с развитием ожирения в человеческой популяции, так и крайнюю вариабельность реакции больных ожирением на лечебные диеты и частое отсутствие либо нестойкость их результата [Лапик И. А. и др., 2016].

Диетические профилактика и лечение (терапия) ожирения традиционно осуществляются с использованием редуцированных по калорийности, ограниченных по квоте сахаров и животного жира, обогащенных пищевыми волокнами диет в сочетании с дозированной физической нагрузкой [WGO, 2009]. Однако комплаентность к такому лечению и стойкость его результата у больных ожирением часто являются неудовлетворительными [De Panfilis, et al., 2007; Burgess et al., 2017]. В связи с этим большой интерес представляет использование в диетотерапии ожирения минорных биологически активных веществ пищи (БАВ), способных активно влиять на процессы липидного и углеводно-энергетического обмена, стимулировать уровень основного обмена, снижать интенсивность липогенеза и глюконеогенеза, восстанавливать нарушенную инсулиновую чувствительность, модулировать путем воздействия на эфферентные центры головного мозга пищевое поведение, создавать условия для повышения физической активности больных [Volkow & Wise, 2005; Kenny, 2011]. Предполагается, что использование таких БАВ в качестве компонентов диетических лечебных продуктов или в форме БАД к пище способно значительно повысить результативность редуцирующей диетотерапии, повысить комплаентность к ней больных и достичь более стойкого ее результата [Тутельян В. А. и др., 2018].

По своему механизму воздействие БАВ на звенья метаболизма, нарушенные при ожирении, может быть как прямым (когда БАВ являются субстратами либо кофакторами ферментов и транспортных белков, хелаторами ионов металлов либо ловушками свободных радикалов), так и косвенным через влияния на экспрессию генов путем воздействия на продукцию сигнальных молекул (цитокинов, адипокинов, гормонов, микроРНК и др.), ядерные рецепторы, транскрипционные факторы и компоненты внутриклеточных сигнальных каскадов [Батурин А. К. и др., 2012].

В качестве кандидатных БАВ — ингредиентов специализированных продуктов для лечебного питания больных ожирением рассматриваются многочисленные фитонутриенты, принадлежащие к классам полифенольных соединений и фитостероидов [Тутельян В. А. и др., 2016], природные индольные соединения [Chang et al., 2010], аминокислоты [Cavaliere & Medeiros-Neto, 1997; Siddik & Shin, 2019], витаминоподобные вещества, включая коэнзим Q10 [Xu et al., 2017] и l-карнитин

[Rooyandjoo et al., 2016]. Однако, несмотря на такое разнообразие БАВ с предполагаемым антибезогенным действием, последовательная стратегия их использования в диетотерапии ожирения всё ещё не разработана, а результаты многочисленных разрозненных клинических тестов остаются противоречивыми. Причиной этого, по-видимому, является высокая генотипическая и фенотипическая гетерогенность больных ожирением, когда эффективность того или иного метода диетической коррекции может варьировать от высокой до практически нулевой в зависимости от генетических полиморфизмов пациента, стадии и тяжести заболевания, его длительности, возраста больного, наличия сопутствующей патологии. Выяснение всех этих обстоятельств в условиях клиники сталкивается с большим числом проблем как методического, так и этического характера. К их числу относятся сложности с получением информированного согласия больных на проведение клинических тестов, риск интенсивных диетических интервенций, трудности в формировании гомогенных по составу основных групп больных и групп сравнения, ограниченная доступность или полная недоступность большого числа субстратов для лабораторного исследования. В связи с этим большое значение приобретает проведение испытаний терапевтической эффективности БАВ на адекватных моделях ожирения и сопряженных алиментарно-зависимых состояний (метаболический синдром, дислипидемия, стеатоз печени и др.) у лабораторных животных на геномном и постгеномном уровнях с анализом максимально широкого спектра биосубстратов и с использованием современных геномных и постгеномных (транскриптомных, протеомных, метаболомных) технологий. При этом влияние генетического фактора на развитие вызванного рационом патологического процесса может быть смоделировано путём использования различных линий (инбредных и аутбредных) лабораторных животных, а также межлинейных гибридов. Путем сопоставления эффективности БАВ у животных различных видов и линий, различающихся по аллельным вариантам полиморфных генов липидного и углеводно-энергетического обмена, представляется возможным установить кандидатные гены, являющиеся мишенями применяемых диетических манипуляций. Отслеживание соответствующих транскриптомных, метаболомных и протеомных показателей животных, получающих в модельных *in vivo* экспериментах добавки БАВ, позволит в перспективе создать систему доклинических испытаний методов персонализированной диетической коррекции ожирения и родственных алиментарно-зависимых состояний.

В первой части предлагаемой монографии (главы 1-5) на основе анализа данных мировой научной литературы формулируются представления об основных группах молекулярных маркеров ожирения и метаболического синдрома, их значимости в клинической диагностике и в доклинических испытаниях БАВ и лекарственных антиобезогенных препаратов. В соответствии с центральной догмой молекулярной биологии о передаче биологической информации в последовательности ДНК → РНК → белки (ферменты) → метаболиты → фенотип подобные биомаркеры изложены в главах 1-5 как геномные → транскриптомные (полный транскриптом клетки, мРНК, микроРНК) → протеомные (ферменты, регуляторные белки, адипокины, цитокины) → метаболомные (метаболиты, нейромедиаторы и нейропептиды) маркеры.

Вторая часть (главы 6, 7) посвящена описанию основных видов *in vivo* моделей ожирения и метаболического синдрома у лабораторных животных, особенностях воспроизведения и ограничениях данных моделей.

Третья часть (главы 8-12) рассматривает методы изучения биомаркеров ожирения и метаболического синдрома у лабораторных животных на *in vivo* моделях алиментарно-зависимых состояний, в первую очередь, при ожирении.

Наконец, четвертая часть (главы 13-22) содержит результаты изучения влияния некоторых практически важных БАВ, включая полифенольные соединения (кверцетин, ресвератрол), витаминоподобное вещество l-карнитин и ароматические аминокислоты на поведенческие реакции, интегральные и биохимические показатели, гомеостаз минеральных веществ и постгеномные (транскриптомные и протеомные) маркеры, характеризующие развитие ожирения на различных экспериментальных *in vivo* моделях. В заключительной главе 23 предпринята попытка сформулировать, на основе собственных экспериментальных данных и публикаций в научной литературе, единой концепции эффекторных звеньев метаболизма в диетотерапии ожирения.

Экспериментальные данные, представленные в настоящей монографии, получены коллективом сотрудников ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» в исследованиях, выполненных при поддержке гранта Российского научного фонда № 17-16-01043 «Поиск эффекторных звеньев метаболизма, регулируемых алиментарными факторами при ожирении, для разработки инновационных специализированных пищевых продуктов» (2017-2019 гг.).

Литература

- Батури́н А. К., Сорокина Е. Ю., Погожева А.В., Тутельян В.А. Генетические подходы к персонализации питания // *Вопр. питания*. 2012. Т. 81, № 6. С. 4-11.
- Баланова Ю. А., Шальнова С. А., Деев А. Д., Имаева А. Э., Концевая А. В., Муромцева Г. А. и др. Ожирение в российской популяции — распространенность и ассоциации с факторами риска хронических неинфекционных заболеваний // *Российский кардиологический журнал*. 2018. Т. 23, № 6. С. 123-130. doi: 10.15829/1560-4071-2018-6-123-130.
- Дедов И. И., Романцова Т. И., Шестакова М. В. Рациональный подход к терапии пациентов с СД2 и ожирением: итоги Всероссийской наблюдательной программы «Аврора» // *Ожирение и метаболизм*. 2018. Т. 15, № 4. С. 48-58. doi: 10.14341/omet10076.
- Лапик И. А., Гаппарова К. М., Чехонина Ю .Г., Сорокина Е. Ю., Бородина С. В. Современные тенденции развития нутригеномики ожирения // *Вопр. питания*. 2016. Т. 85, № 6. С. 6-13.
- Стародубова А. В., Стародубов В. И. Тенденции, возрастные и региональные особенности заболеваемости ожирением населения Российской Федерации в 1992-2012 гг. // *Профилактическая медицина*. 2017. Т. 20, № 6. С. 32-40. doi: 10.17116/profmed201720632-40.
- Тутельян В. А., Батури́н А. К., Конь И. Я., Мартинчик А. Н., Углицких А. К., Коростелева М. М., Тоболева М. А., Алешина И. В. Распространенность ожирения и избыточной массы тела среди детского населения РФ: мультицентровое исследование // *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2014. Т. 93, № 5. С. 28-31.
- Тутельян В. А., Киселёва Т. Л., Кочеткова А. А., Смирнова Е. А., Киселёва М.А., Саркисян В. А. Перспективные источники фитонутриентов для специализированных пищевых продуктов с модифицированным углеводным профилем: опыт традиционной медицины // *Вопр. питания*. 2016. Т. 84, № 4. С. 46-60.
- Тутельян В. А., Кочеткова А. А., Саркисян В. А. Специализированные пищевые продукты в современной парадигме алиментарной коррекции нарушений метаболизма // *FOODLIFE 2018. Генетические ресурсы растений и здоровое питание: потенциал зерновых культур. Материалы конференции*. 2018. С. 22.
- Тутельян В. А., Никитюк Д.Б., Шарфетдинов Х.Х. Здоровое питание — основа здорового образа жизни и профилактики хронических неинфекционных заболеваний // В книге: *Здоровье молодежи: новые вызовы и перспективы*/ под ред. Герасименко Н.Ф. и др. М.: Научная книга, 2019. Т.3. С. 203-227. ISBN: 978-5-6043289-2-7.
- Burgess E., Hassmén P., Pumpa K.L. Determinants of adherence to lifestyle intervention in adults with obesity: a systematic review. *Clin. Obes.* 2017; 7: 123-135.

- Cavaliere H., Medeiros-Neto G. The anorectic effect of increasing doses of L-tryptophan in obese patients. *Eat. Weight Disord.* 1997; 2(4): 211-215.
- Chang J., Cizmecioglu O., Hoffmann I., Rhee K. PLK2 phosphorylation is critical for CPAP function in procentriole formation during the centrosome cycle. *EMBO J.* 2010; 29(14): 2395-2406. doi: 10.1038/emboj.2010.118.
- De Panfilis C., Cero S., Dall'Aglio E., Salvatore P., Torre M., Maggini C. Psychopathological predictors of compliance and outcome in weight-loss obesity treatment. *Acta Biomed.* 2007; 78 (1): 22-28.
- Hjelmborg J. V., Fagnani C., Silventoinenetal K. Genetic influences on growth traits of BMI: a longitudinal study of adult twins. *Obesity (Silver Spring)*. 2008; 16(4): 847-852. doi: 10.1038/oby.2007.135.
- Imes C. C., Burke L. E. The obesity epidemic: the United States as a cautionary tale for the rest of the world. *Curr. Epidemiol. Rep.* 2014; 1(2): 82-88. doi: 10.1007/s40471-014-0012-6.
- Jahangir E., De Schutter A., Lavie C. J. The relationship between obesity and coronary artery disease. *Transl. Res.* 2014; 164(4): 336-344. doi: 10.1016/j.trsl.2014.03.010.
- Kenny P. J. Reward mechanisms in obesity: new insights and future directions. *Neuron.* 2011; 69: 664-679. doi: 10.1016/j.neuron.2011.02.016.
- Klop B., Elte J. W., Cabezas M. C. Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients.* 2013; 5(4): 1218-1240. doi: 10.3390/nu5041218.
- Must A., Spadano J., Coakley E.H., Field A.E., Colditz G., Dietz W.H. The disease burden associated with overweight and obesity. *JAMA.* 1999; 282(16): 1523-1529. doi: 10.1001/jama.282.16.1523.
- Pooyandjoo M., Nouhi M., Shab-Bidar S., Djafarian K., Olyaeemanesh A. The effect of (L-) carnitine on weight loss in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Obes. Rev.* 2016; 17(10): 970-976.
- Siddik A. B., Shin A. C. Recent progress on branched-chain amino acids in obesity, diabetes, and beyond. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2019; 34(3): 234-246. doi: 10.3803/EnM.2019.34.3.234.
- Swinburn B. A., Sacks G., Hall K. D., McPherson K., Finegood D. T., Moodie M. L., Gortmaker S. L. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *Lancet.* 2011; 378(9793): 804-814. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60813-1.
- Volkow N .D., Wise R. A. How can drug addiction help us understand obesity? *Nat. Neurosci.* 2005; 8: 555-560. doi: 10.1038/nn1452.
- WGO. Глобальные Практические Рекомендации Всемирной Гастроэнтерологической Организации (WGO Global Guideline Obesity 1). World Gastroenterology Organization, 2009. [Электронный ресурс: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/obesity-russian-2009.pdf>. Дата обращения 10.04.2020].

ЛИТЕРАТУРА

- WHO. Global Health Observatory (GHO) data. World Health Statistics 2020: Monitoring health for the SDGs. [Электронный ресурс https://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2020/en/. Дата обращения 01.10.2020].
- Xu Z., Huo J., Ding X., Yang M., Li L., Dai J., et al. Coenzyme Q10 improves lipid metabolism and ameliorates obesity by regulating CaMKII-mediated PDE4 inhibition. *Sci Rep.* 2017; 7: 8253. doi: 10.1038/s41598-017-08899-7.

ЧАСТЬ 1.

Биологические
маркеры ожирения
и метаболического
синдрома

Геномные и эпигеномные маркеры ожирения

ОЖИРЕНИЕ ПРЕДСТАВЛЯЕТ СОБОЙ системное расстройство обмена веществ, не имеющее единого этиологического фактора. В качестве главной причины развития ожирения рассматривается несоответствие между энерготратами организма и энергетической ценностью потребляемого рациона. Вместе с тем, в последнее время предпринимаются активные попытки дополнить эту концепцию представлениями о роли в патогенезе ожирения процессов воспаления в жировой ткани, внутренних органах и центральной нервной системе (ЦНС), характер и выраженность которых зависят от сложного комплекса факторов, включая генетические полиморфизмы, экспрессию комплекса генов, отвечающих за жировой, белковый, углеводно-энергетический обмен и сигнальные пути про- и противовоспалительных факторов [Лапик И. А. и др., 2016, Бородина С. В. и др., 2016].

Одной из фундаментальных особенностей генома человека, сформировавшейся в процессе его эволюции, является наличие в нем генов, отвечающих за запасание метаболической энергии, что имело в прошлом важное адаптивное значение в условиях постоянной угрозы голода [Батурин А.К. и др., 2012а; Cheung & Mao, 2012]. В современных промышленно развитых странах адаптивная роль этих генов утрачивается и их активность становится патогенетическим фактором массового развития ожирения. Молекулярная диагностика полиморфизмов в генах-маркерах ожирения — это необходимое звено в выборе его персонализированной терапии.

Задачей настоящей главы является анализ данных литературы по вопросу о геномных маркерах ожирения и роли в патогенетических механизмах его развития модификаций наследственного аппарата клетки, что объединяется термином «эпигенетическое наследование».

Основные кандидатные гены ожирения

Вклад генетического фактора в развитие ожирения оценивается в семейных, близнецовых исследованиях [Stunkard et al., 1986a; Hjelmberg et al., 2008; Cheung & Mao, 2012] и по т.н. методу «приемных детей» [Stunkard et al., 1986b], основанному на сравнительном анализе фенотипического сходства детей с их биологическими и приемными родителями. Согласно данным близнецовых исследований, генетические факторы вносят до 40 % вклада в варибельность индекса массы тела (ИМТ), тогда как в исследованиях с дизайнами «семейный» и «приемных детей» этот вклад был оценен как 20 % [Stunkard et al., 1986ab, Turula et al., 1990, Cheung & Mao, 2012].

В основу метода кандидатных генов (КГ) положена идентификация связи между тем или иным вариантом мутации в определённом гене (полиморфизмом) и наличием ожирения [Tabor et al., 2002]. Отбор КГ для анализа проводится из данных, полученных на *in vivo* моделях ожирения у генетически модифицированных или «нокаутных» животных с отсутствием ключевых генов, а также на *in vitro* модельных системах, базирующихся на принципе «позиционного клонирования».

Стоимость исследований по секвенированию ДНК-последовательностей постоянно снижается, и при анализе получаемых данных в распоряжении исследователей имеются международные базы данных, включая dbSNP и International HarMap, по большому количеству видов животных и человеку. Ввиду этого, стало возможным углубленное изучение варибельности генов с помощью целенаправленного отбора «меток однонуклеотидных полиморфизмов» (tag SNPs), локализованных в области генома с высокой степенью неравновесия по сцеплению, предположительно маркирующей причинно-значимый вариант гена [Mao, 2011].

Первое важное достижение в отборе КГ ожирения было достигнуто в 1994 г., когда было показано, что гормон жировой ткани лептин играет ключевую роль в регуляции потребления и расходования энергии, включая аппетит и метаболизм [Zhang et al., 1997; Margetic et al., 2002]. Был описан ряд мутаций гена лептина у человека, ассоциированных с фенотипом ожирения различной степени выраженности [Montague et al., 1997; Strobel et al., 1998; Clement et al., 1998; Fischer-Posovszky et al., 2010].

Следующим важным результатом стала идентификация полиморфизма гена *CART*, отвечающего за синтез связанного с определёнными нейронами дугообразного ядра гипоталамуса нейропептида *CART*

(кокаин- и амфетамин-регулируемый транскрипт), обладающего функцией эндогенного фактора насыщения [Ong Z.Y. & McNally G.P., 2020]. У детей с ожирением мутационный скрининг этого гена выявил аминокислотную замену по остатку Leu34→Phe, связанную с уменьшением величины энерготрат основного обмена и сопутствующим фенотипом ожирения [Miraglia del Giudice et al., 2001]. Наличие данного аллельного варианта гена *CART* у подростков соответствует раннему развитию ожирения в сочетании с повышенной частотой развития депрессии [Miraglia del Giudice et al., 2006]. Считается, что полиморфизмы гена *CART* могут играть важную роль в расстройствах психики на фоне ожирения [Мао, 2011].

К числу генов ожирения, имеющих, по-видимому, наибольшую клиническую значимость, принадлежит идентифицированный в 2007 г. ген *FTO*. В первой из работ по этому вопросу [Frayling et al., 2007] определённые SNPs, наблюдаемые в *FTO*, были воспроизводимо соотнесены с массой тела у 13 когорт больных взрослых и детей общей численностью 38759 человек. Наличие гомозиготности по аллелям риска данного гена соответствует более чем 1.67-кратному увеличению риска избытка массы тела на три и более кг по сравнению с теми лицами, у которых данные аллели отсутствуют. Влияние полиморфизмов *Fto* на ожирение признаётся наибольшим из всех изученных локусов [Fawcett & Barroso I., 2010]. *FTO* — это ген, который кодирует Fe(II)- и 2-оксоглутарат-зависимую оксигеназу, предположительно участвующую в деметилировании ДНК [Stratigopoulos et al., 2008]. Исследования на мышах показали, что белок *FTO* в наибольшей степени экспрессирован в гипоталамусе. Гомозиготы мышей с делецией *FTO* погибают внутриутробно, демонстрируя грубые аномалии развития (дефект нервной трубки, резкая асимметрия правой и левой сторон тела), а гетерозиготы характеризуются олигодактилией (слившимися пальцами конечностей) при отсутствии какого-либо влияния на массу тела и накопление жира [Stratigopoulos et al., 2008]. При избыточной экспрессии *FTO* у мышей отмечаются повышенное потребление пищи и масса жировой ткани [Church et al., 2010]. Продукт трансляции *FTO* вызывает у грызунов повышенную экспрессию орексигенного (стимулирующего потребление пищи) нейропептида Y (NPY) [Fawcett et al., 2010]. Обсуждалось также участие *FTO* в регуляции циркадных ритмов [Fredriksson, 2008], нарушение которых связывают с ожирением [Gimble, 2009].

Клиническая значимость определенных полиморфизмов гена *FTO* как предикторов развития ожирения была подтверждена в большом числе клинических исследований [Батурин А. К. и др., 2012а, Бородина С. В.

и др., 2012, Лапик И. А. и др., 2016]. В исследованиях, проведенных в ФИЦ питания и биотехнологии, была доказана статистически достоверная связь полиморфизма rs9939609 гена *FTO* в аллельных сочетаниях AA и AT (гомозиготы и гетерозиготы по этой мутантной форме гена) с индексом массы тела и частотой развития алиментарного ожирения у женского (и, в меньшей степени у мужского) населения ряда регионов России [Батурин А. К. и др., 2014; Батурин А. К. и др., 2017]. Наличие полиморфизма данного типа было статистически значимо связано с частотой развития ожирения у женщин старше 30 лет и их детей в Астраханской области и Якутии и, при этом, обратным образом коррелировало с прибавкой массы тела в ходе беременности [Шилина Н. М. и др., 2017; Shilina et al., 2017]. Наличие в гомозиготе полиморфизма rs9939609 *FTO* было достоверно связано с ускоренным ростом детей в первые годы жизни и повышало последующий риск развития у них ожирения [Shilina et al., 2018].

В исследовании у 300 больных с тяжёлой наследственной формой ожирения было показано наличие делеции значительного фрагмента гена *SH2B1*, находящегося в локусе 16p11.2 [Bochukova et al., 2010]. Продукт экспрессии *SH2B1* в нейронах и большом числе клеток периферических тканей является важным фактором в контроле гомеостаза энергии и глюкозы [Kotani et al., 1998]. Нокаут *SH2B1* у мышей вызывает гиперлипидемию, резистентность к лептину и инсулину, гиперфагию, гипергликемию и ожирение. Восстановление функции *SH2B1* у этих мышей корректировало эти метаболические нарушения. Избыточная экспрессия *SH2B1* в нейронах мышей защищала их от развития резистентности к лептину и ожирения при потреблении высокожирового рациона. По своей биологической функции *SH2B1* является белком-адаптером рецептора инсулина, вовлеченным в передачу его сигнала через несколько членов семейства тирозиновых протеинкиназ, включая JAK, а также инсулиноподобный фактор роста I (IGF1), ростовые факторы NGF, BDNF, GDNF, PDGF и FGF [Maures et al., 2007].

В развитии ожирения важную роль играют нарушения обмена нейромедиатора серотонина (подробно в главе 4). Полиморфизмы ключевого гена серотонинового обмена *SLC6A14* и рецептора 2C серотонина *5-HTR2C* вовлечены в развитие ожирения [Miranda et al., 2015]. Так, у детей 7-8 лет, являющихся гомозиготами по вариантам rs12391221 и rs2312054 *SLC6A14*, отмечался повышенный аппетит, увеличенные потребление высококалорийной пищи, запасы подкожной жировой ткани в области трицепса. Эти же особенности были характерны для детей, гомозиготных по полиморфизмам rs3813928 и rs3813929 в *5-HTR2C*.

Белок SLC6A14 является Na^+/Cl^- -зависимым мембранным переносчиком нейтральных аминокислот, отвечающим за транспорт триптофана в головной мозг [Sloan & Mager, 1999].

Ещё один потенциальный КГ ожирения — куллин 4В (*CUL4B*), идентифицированный в качестве агента X-связанного синдрома умственной отсталости, сопряженного с тяжелой формой ожирения [Tarpey et al., 2007]. Локализованный в X-хромосоме ген *CUL4B* кодирует белок, обладающий функцией убиквитин-лигазы, участвующей в убиквитин-протеасомном пути регуляции липидного обмена, находящиеся под контролем сиртуина-7 [Yoshizawa et al., 2014].

Ген *ApoE*, кодирующий аполипопротеин E, ответственный за формирование и клеточную рецепцию липопротеинов низкой плотности, обладает большим числом SNP-полиморфизмов, для некоторых из которых доказана статистически значимая связь с риском развития тяжелых форм ожирения и атеросклероза. У пациентов, имеющих единственную SNP (с.388 T/T+с.526 C/T или с.388 T/C+с.526 C/C) в этом гене, развитие дислипидемии сопровождается неспецифической воспалительной реакцией повышенной интенсивности. Для носителей двух SNP в гене *ApoE* (с.388 T/T+с.526 T/T и с.388 T/C+с.526 C/T) характерны корреляционные связи маркеров липидного обмена и адипокинов (адипонектин, висфатин). При наличии трех SNP установлена взаимосвязь уровня адипокинов (апелин, висфатин, резистин) с провоспалительными цитокинами (IL-1 α), маркером апоптоза аннексином V и показателями липидного обмена [Сенцова Т. Б. и др., 2017]. Получены данные о роли полиморфизма $\epsilon 2/\epsilon 2$ в *ApoE* как фактора риска развития атеросклеротических повреждений сосудов при ожирении [Черняк О. Н. и др., 2015].

SNP-полиморфизмы генов адренорецепторов *ADRB2* и *ADRB3* играют важную роль в регуляции объема жировой массы тела. К их эффекторным механизмам относятся экспрессия рецепторов, ассоциированных с G-белками (GPCR), участвующих в активации адренергических нейронов периферической нервной системы, иннервирующей жировую ткань и отвечающих за активацию процессов липолиза [Лапик И. А. и др., 2016]. SNP, состоящая в замене триптофана (Трп) на аргинин в 64 позиции этого белка, ослабляет взаимодействие рецептора с GPCR адипоцитов, способствуя увеличению массы тела [Батулин А. К. и др., 2012b].

Генотипирование популяции 723 людей на наличие аллеля rs16147 гена *Npy* (ген белка предшественника нейропептида Y) показало, что наличие этого аллеля коррелировало с окружностью талии [Lin et al., 2015]. У лиц с указанным генотипом наблюдалась достоверная связь окружности талии и массы подкожного жира с содержанием жира

в рационе. Предполагается, что аллель rs16147 связан с усилением неблагоприятных изменений в абдоминальной белой жировой ткани (БеЖТ) при высокожировой диете.

Ген метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*) отвечает за важную реакцию переноса одноуглеродных фрагментов с использованием в качестве кофермента активной формы фолиевой кислоты. Наличие определенных полиморфизмов этого гена может быть связано (как и в случае *FTO*) с нарушением нормального уровня метилирования ДНК, имеющего важное значение в эпигенетических эффектах при ожирении, метаболическом синдроме и СД 2 типа (см. подробно в главе 1). Возможная роль этих SNP в качестве генетических маркеров ожирения интенсивно исследуется [Лапик И.А и др., 2016; Shilina et al., 2017].

Роль этих и других генетических полиморфизмов человека, выявленных в последнее время, играющих определенную роль в патогенезе или связанных с повышением риска развития ожирения, рассматривается в обзорных статьях [Singh et al., 2017; Kumar & Kelly, 2017; Fairbrother et al., 2018; Goodarzi, 2018; Kleinendorst et al., 2019; Rohde et al., 2019].

Генетические дефекты, приводящие к развитию ожирения, могут происходить не только из-за наличия однонуклеотидных замен (SNP) в отдельных генах, но и вследствие делеций или удвоения больших сегментов хромосом, возможно содержащих десятки или сотни генов или их повторов, что обозначается термином «варианты числа копий» (CNV) [Hjelmberg et al., 2008]. CNV тех или иных генов могут влиять на их активность и отвечать за значительную часть генетических различий между людьми [Beckmann et al., 2007]. В качестве примера можно привести данные о том, что массивная делеция в локусе 16p11.2, содержащем множественные копии рассмотренного выше гена *SH2B1*, приводит к повышенному аппетиту и диспропорционально увеличенным уровням инсулина при голоде [Vochukova et al., 2010]. Такие делеции обнаружены у пациентов старше 18 лет с тяжелыми формами ожирения [D'Angelo & Koiffmann, 2012; Cheng et al., 2009].

В исследовании у 15280 афроамериканцев смешанное картирование выявило 3 локуса на 5-й и X-хромосомах, являющихся потенциальным местоположением генетических вариантов, влияющих на ИМТ [Cheng et al., 2009]. С вероятностью 95 % в первом из этих участков содержится рассмотренный выше *Cart*. Сообщается также о предполагаемой с вероятностью более 95 % связи ожирения с генами в интервале локусов 4p15-p14 хромосомы 4 [Stone et al., 2006] и локусе Xq23-q24 длинного плеча X хромосомы [Ohman et al., 2000; Suviolahti et al., 2003]. Есть все основания полагать, что список «генов ожирения» будет и далее

пополняться новыми КГ, учитывая сложный характер патогенеза данного заболевания.

Выявление наследственных факторов ожирения в полногеномных исследованиях

Прогресс методов современной геномики, сделавший возможным одновременное высокопроизводительное прочтение огромных объёмов генетической информации, позволил по-новому подойти к поиску генов ожирения путем установления соответствия между этими данными и фенотипом ожирения.

Метод исследования полногеномного картирования (Genome-Wide Linkage Studies) [Bell et al., 2005] позволяет выявлять непредвиденные генетические варианты и сочетания, связанные с интересующим исследователя признаком. Скрининговые исследования генома методом полногеномного картирования дают довольно грубое разрешение и, как правило, показывают широкие интервалы, в которых может «лежать» мутантный аллель, что требует последующего генотипирования, чтобы определить, какой именно генетический маркер в данном интервале отвечает за сцепленность с исследуемым геном. С того момента, как первое исследование такого типа было проведено в популяции индейцев племени Пима, отличающихся высокой частотой развития ожирения [Norman et al., 1997], число идентифицированных хромосомных локусов, сцепленных с фенотипом ожирения, росло экспоненциально. Приведенная в работе [Rankinen et al., 2006] карта генов ожирения человека включала 253 локуса из 61 картированного генома, причем 15 выявленных локусов были далее подтверждены, как минимум, в 3 исследованиях. Однако ни один из этих подтверждённых локусов не был исследован до такой степени, чтобы выявить конкретные гены, ответственные за развитие признака. Метаанализ 37 исследований полногеномного картирования на более чем 31 000 добровольцах из 10 000 европейских семей не позволил идентифицировать единичный локус, ответственный за повышенный ИМТ или фенотип ожирения с достаточной доказательной базой [Saunders et al., 2007].

Альтернативным подходом является метод полногеномных ассоциаций (Genome-Wide Association Studies, GWAS), в котором изучают возможные ассоциации между множественными (сотнями и тысячами) генетических вариантов, проявляющихся обычно как SNP, с наличием искомого фенотипа. GWAS состоит в скрининге генома с большим

уровнем разрешения, чем в случае исследований полногеномного картирования, и поэтому способен локализовать положение целевого гена более точно [Bell, et al., 2005; Vimalaewaran & Loos, 2010]. С использованием GWAS было выявлено более 30 локусов, связанных с ИМТ, в числе которых были как подтвержденные гены ожирения, включая *FTO*, *SH2B1*, *CUL4B*, *SLC6A14*, так и неожиданные находки, например, глюкозамин-6-фосфат деаминаза 2, адренергический $\beta 3$ рецептор, метионин-сульфоксид редуктаза, пролактин [Vimalaewaran & Loos, 2010; Walley et al., 2009; McCarthy, 2010]. Ряд выявленных в GWAS КГ, такие как *BDNF* (нейротропный фактор головного мозга) и *NEGR1*, экспрессированные в нейронах дугообразного ядра гипоталамуса, подчеркивают связь патогенеза ожирения с функцией этого отдела ЦНС, отвечающего за центральную регуляцию аппетита, чувства голода и насыщения. Ожирение было также сильно ассоциировано с генетическими вариантами экспрессированного в анорексигенных (подавляющих аппетит) нейронах дугообразного ядра рецептора меланокортина-4 (*MC4R*), а также прогормона конвертазы 1 (*PCSK1*) и эндоканнабиноидного рецептора 1 (*CNR1*), точные функции которых ещё должны быть установлены [Hjelmborg et al., 2008].

Официальная карта генов ожирения человека, последняя редакция которой была доступна в редакции 2005 г., содержала информацию о 127 кандидатных генах, отвечающих за признаки ожирения [Rankinen, et al., 2006]. Однако дальнейшее расширение этого списка, согласно [Butler et al., 2015], привело к включению уже 350 генов, участвующих в процессах метаболизма и транспорта жирных кислот и липидов, пищевого поведения, аппетита, выбора пищи, энерготрат, физической активности и репродуктивной функции. В 2016 г. на основе мета-анализа большого объема литературных данных была сконструирована свободно масштабируемая генная сеть из 804 «узлов» и 971 «ребра», включающая 510 транслируемых и 115 нетранслируемых генов, 62 генных комплекса, 23 транскрипта (молекул РНК), 83 метаболита, 3 фено-типа и 3 фармакологических препарата в т. н. архитектуре «лук-тетива» (“bow-tie”), и описывающая генетически-детерминированные взаимосвязи между ИМТ, жировой массой, инсулиновым и лептиновым сигналингом [Jagannadham et al., 2016].

Эпигенетические механизмы ожирения

Наблюдаемая при развитии ожирения и связанных с ним патологических состояний (метаболический синдром, СД 2-го типа) стойкость

изменений в экспрессии генов в жировой ткани и внутренних органах, имеющиеся различия в склонности разных животных одной инбредной линии к алиментарному ожирению, а также возможность фенотипической передачи его признаков и ассоциированных состояний от матери к её потомству [Attig et al., 2013] указывают на наличие механизма модификации генетического аппарата клеток, не сводящегося к процессам перераспределения генов по законам Менделя и ненаправленного мутагенеза. В основе этих изменений, объединяемых термином «эпигенетическое наследование», по современным представлениям лежит энзиматическая модификация ядерного хроматина [Lee et al., 2014]. Её формами, представленными у млекопитающих, являются метилирование ДНК по остатку цитозина с формированием 5-метилцитозина [Jeltsch, 2002], происходящее, главным образом, в т.н. C_pG^* локусах, а также химическая модификация гистонов (ацетилирование, метилирование, фосфорилирование и убиквитинилирование) [Sun et al., 2015].

Биологический смысл этих изменений клетки, во многом, противоположен. Если метилирование ДНК, как правило, приводит к подавлению транскрипции («молчанию») генов, то модификация гистонов, вызывающая снижение величины изоэлектрической точки этих белков и ослабляющая, тем самым, их связывание с ДНК, способствует снятию защиты с кодируемых участков генов и часто сопровождается активацией транскрипции. Разнообразие последней группы эффектов определяется тем, что статус хроматина ядра клетки регулируется более чем 80 гистонами, контролирующими взаимодействие с транскрипционными факторами, а также с ферментами, способными модифицировать ДНК и ремоделировать нуклеосомы [Verrier et al., 2011].

По данным ряда экспериментальных исследований метилирование ДНК связано со стойкими изменениями в жировой ткани при ожирении. У мышей со связанным с питанием (диет-индуцированным, алиментарным) ожирением, вызванным высокожировым рационом (ВЖР), наблюдалось деметилирование ДНК адипоцитов, не связанное с дефицитом в рационе веществ — доноров метильных групп [Attig et al., 2013]. До известной степени эти изменения передавались от матерей с алиментарным ожирением к потомству в первом поколении, что приводило у него к большей склонности к развитию ожирения на ВЖР, в сравнении с потомством от самок с нормальной массой тела [Horii et al., 2009]. В преадипоцитах 3T3-L1 с использованием метода, называемого «микрочиповый интегрированный анализ метилирования изошизомеров»

* Фрагменты нуклеотидной последовательности, состоящие из остатков ЦГ в направлении от 5' к 3' концу.

(MIAMI), показано, что экзон гена *Rho*, фактора 19 обмена гуаниновых нуклеотидов (ARHGGEF19; WGEF) деметилировался в ходе дифференцировки этих клеток в адипоциты [Seki et al., 2012].

Эпигенетические факторы предположительно играют роль в процессах воспаления жировой ткани [Kumar et al., 2011]. Так, у трансгенных мышей с гиперэкспрессией гена *Dnmt3a* (ДНК-метилтрансфераза), участвующего в деметилировании, был повышен уровень экспрессии цитокинов TNF- α и MCP-1, что может вносить вклад в развитие воспаления жировой ткани, характерное для ожирения [Kamei et al., 2010].

У крыс и нокаутных линий мышей в результате потребления с рационом добавки фруктозы отмечалась дифференциальная экспрессия (ДЭ) в гиппокампе и гипоталамусе 581 и 146 генов соответственно, и были установлены миллионы сайтов измененного метилирования ДНК [Meng et al., 2016]. На основе биоинформатического анализа этих массивов данных построены сети взаимодействия генов, позволившие установить, что ключевыми генами, ответственными за изменения при этом многочисленных биохимических маркеров головного мозга и поведенческих реакций, являются *Vgn* и *Fmod*, кодирующие небольшие, богатые цистеином гликопротеиды внеклеточного матрикса. При этом у мышей с нокаутом этих генов выявлены изменения в упомянутых показателях, аналогичные наблюдавшимся при воздействии фруктозы.

Роль метилирования ДНК в нейрогормональной регуляции пищевого поведения состоит в изменениях уровня экспрессии и снижении метилирования генов обмена дофамина в гипоталамусе потомства самок мышей C57BL/6J, имевших индуцированное ВЖР алиментарное ожирение [Vucetic et al., 2010]. Имеется связь процессов метилирования ДНК с нарушениями циркадных ритмов при ожирении [Dan & Mitchell, 2012].

Экспрессия ряда генов, отвечающих за митохондриальное окислительное фосфорилирование, подавляется в скелетных мышцах крыс при потреблении избыточного количества жира, что рассматривается как одно из звеньев в патогенезе инсулиновой резистентности, опосредуемой митохондриальной дисфункцией и приводящей к СД 2-го типа [Gong et al., 2014]. В качестве основного механизма влияния ВЖР на экспрессию данной группы генов рассматривается метилирование ДНК. С использованием полногеномного анализа метилирования промоторов в скелетных мышцах в сочетании с препаративной ПЦР и бисульфитным секвенированием было выявлено избирательное метилирование промотора гена *Cox5a* субъединицы 5А цитохром-С оксидазы. Результатом этого явилось снижение активности АТФ-синтезирующего митохондриального комплекса IV. Эти данные были подтверждены на *in vitro*

модели крысиных миотрубочек (myotubes), в которой введение пальмитата вызывало гиперметилирование промотора *Sox5a*, а удаление метильных групп путем обработки 5-аза-29-дезоксцитидином приводило к восстановлению активности митохондриального комплекса IV и уровня АТФ.

Изменения качественного и количественного состава жира в рационе влияло на эпигенетическую регуляцию экспрессии гена десатуразы 2 жирных кислот (*FADS2*) у самок крыс, которых кормили рационами, содержащими 3,5 %, 7 % или 21 % жира в форме сливочного масла или рыбьего жира, начиная с 14-го дня до зачатия и далее на протяжении беременности и лактации. Потомство переводили на рацион с 4,5 % жира в форме соевого масла. Отмечено снижение у потомства экспрессии *FADS2* с ростом квоты жира в рационе матери, при том, что степень метилирования проксимального промотора этого гена увеличивалась, причем в большей степени на рационе со сливочным маслом, чем с рыбьим жиром [Hoile et al., 2013]. Метилирование C_pG сайта 394 в последовательности гена отрицательно коррелировало с экспрессией *FADS2* у потомства и с квотой длинноцепочечных $\omega 3$ ПНЖК в материнском рационе. Были выявлены сильные однофакторные эффекты влияния жира на метилирование указанного сайта [Kelsall et al., 2012]. Эти данные показывают, что изменение количества и типа жира в материнской диете могут приводить к эпигенетической модификации ДНК у потомства.

С целью выявления роли эпигенетической модификации ДНК в развитии ожирения у человека степень метилирования C_pG сайтов гена *Fto* у женщин, страдающих ожирением, была соотнесена с наличием гаплотипа этого гена, маркируемого SNP, обозначаемой как rs8050136 [Bell et al., 2010]. При этом сигнал метилирования был генетически детерминирован однонуклеотидными заменами в трёх сайтах в узкой области гена, включающей 900 пар нуклеотидов. Тем самым была намечена возможность объединения данных полногеномных и эпигенетических исследований при ожирении.

Обобщение данных о роли метилирования ДНК при алиментарно-индуцированном ожирении позволило высказать гипотезу, что уменьшение степени метилирования ДНК ряда т.н. «генов ожирения» может рассматриваться как первичный дефект, приводящий к активации этих генов, отвечающих за гиперплазию жировой ткани, ангиогенез, развитие системного воспаления и стеатоза печени [Suzuki et al., 2006].

Значение модификации гистонов при ожирении было изучено в большом числе исследований на различных моделях. Так, у потомства

беременных самок обезьян, получавших ВЖР, фиксировались изменения в эпигеноме, включающие профиль иммунопреципитации хроматина и степень ацетилирования H3 гистона клеток печени [Aagaard-Tillery et al., 2008], щитовидной железы [Suter et al., 2012a] и соответствующее снижение экспрессии деацетилазы гистонов сиртуина 1 (Sirt-1) [Suter et al., 2012b]. Модификацию гистонов, связанных с генами адипонектина и лептина, наблюдали у потомства самок мышей с алиментарным ожирением, потреблявших в течение 8 недель ВЖР [Masuyama & Hiramatsu, 2012]. В числе передаваемых от матери к потомству признаков отмечали повышение артериального давления, уровней лептина и триглицеридов, нарушенную толерантность к глюкозе. Эти эффекты коррелировали с повышением ацетилирования гистона H3K9 в области промотора гена адипонектина.

Среди процессов модификации гистонов ацетилирование изучено наиболее подробно. Охарактеризованы участвующие в этом процессе ферменты ацетилтрансферазы и деацетилазы гистонов. Так, гистон-деацетилаза 5 (HDAC5) была идентифицирована в качестве регулятора передачи сигнала лептина в процессах контроля энергетического баланса [Kabra et al., 2016]. У мышей с полным нокаутом *HDAC5* отмечались увеличение потребления пищи и бóльшая степень развития ожирения при потреблении ВЖР в сравнении с нормальными животными. Фармакологическое и генетически опосредованное ингибирование активности HDAC5 в медиобазальном гипоталамусе увеличивает потребление пищи и модулирует сигнальные пути лептина. Установлено, что HDAC5 прямо регулирует локализацию STAT3 и транскрипционную активность его гена за счёт деацетилирования Lys685 и фосфорилирования Tyr705. При генетическом дефекте HDAC5 у мышей в значительной мере нарушается чувствительность к лептину. Гиперэкспрессия HDAC5 в гипоталамусе восстанавливает действие лептина и частично защищает от нарушения его функции при алиментарном ожирении. Таким образом, HDAC5 рассматривается как универсальный регулятор действия лептина на эпигенетическом уровне .

У плодов, полученных от самок крыс линии Crl:OR(CD), генетически резистентных к ожирению и получавших в течение беременности ВЖР, отмечены изменения в профиле ацетилирования гистонов ядер клеток печени, влиявшие на функцию генов глюконеогенеза, включая фосфоенолпируват-карбоксикиназу, что приводило, в конечном счёте, к повышению уровня гликемии и развитию инсулиновой резистентности. Примечательно, что собственно у беременных самок подобных изменений выявлено не было [Strakovsky et al., 2011].

Изменения в ацетилировании гистонов, вызванные потреблением высокоуглеводных рационов, могут затрагивать транскрипционную активность генов, связанных с развитием СД, системного воспаления [Miao et al., 2008] и т.н. «гликемической памяти» [Siebel et al., 2010]. Резистентность к развитию ожирения у мышей маркировалась снижением модификации двух гистоновых сайтов H3K9ac и H3K9me1 в печени [Attig et al., 2013]. При этом в условиях метаболических нарушений, вызванных потреблением высокоуглеводного рациона, в печени и скелетных мышцах животных наблюдается ДЭ 15 генов, участвующих как в ацетилировании гистонов, так и в метилировании/деметиловании ДНК.

Экспрессия в печени генов, ответственных за циркадные ритмические процессы (*Clock*, *Bmal1*, *Rev-ERBa*, *Cry*, *Per*) и метаболизм липидов (*Ppara*, *Sirt1*), была снижена у потомства самок крыс с ожирением и/или получавших ВЖР [Borengasser et al., 2014]. Для объяснения этого феномена применительно к гену *PPARα* обсуждались два возможных механизма, включая замедление синтеза мРНК и ускорение её неспецифической деградаци. При этом было показано, что изменения в транскрипции гена *PPARα* коррелировали с эпигеномными изменениями в сайтах H3K4me3 и H3K27me3 гистонов, защищающих начало транскрибируемого участка этого гена, играющего важную роль как в процессах окисления жирных кислот, так и в поддержании циркадных ритмов.

Гиперацетилирование гистонов приводит к усилению транскрипционной активности гена *ChREBP*, кодирующего углевод-опосредованный элемент-связывающий белок, представляющий собой транскрипционный активатор семейства липогенных и гликолитических генов [Bricambert et al., 2010]. В качестве эффекторного звена данного вида эпигенетической модификации *ChREBP* рассматривается активатор гистоновой ацетилтрансферазы (НАТ) p300, стимулируемый глюкозой. Индуцируемая солями серин/треониновой киназа 2 (*SIK2*), фосфорилирующая остаток Сер89 в этом белке, приводит, в свою очередь, к снижению его активности и подавлению экспрессии *ChREBP*. На модели мышей было показано, что как нокдаун *SIK2*, так и гиперэкспрессия НАТ p300 имели результатом развитие инсулиновой резистентности и стеатоза печени.

Гиперацетилирование гистонов семейства H3 у мышей с ожирением усиливает экспрессию генов провоспалительных цитокинов TNFα и CCL2 (MCP-1) [Mikula et al., 2014]. Ещё одной мишенью данного типа эпигенетической модификации является печеночная стерол-12 α гидроксилаза (*CYP8B1*), отвечающая за утилизацию холестерина и синтез

холевой кислоты. Фактором, опосредующим гиперацетилирование гистонов промотора данного гена, является по данным [Pathak et al., 2013] ретиноевый орфанный рецептор α (ROR α), который в норме обладает функцией регулятора циркадного ритма, биосинтеза желчных кислот и холестерина.

В литературе обсуждается вопрос о возможности повлиять на процессы эпигенетического «наследования» за счёт включения в диету БАВ. В работе [Cordero et al., 2013] было показано, что обогащение рациона соединениями, участвующими в переносе метильных групп (холин, бетаин, витамин B₁₂, фолиевая кислота) повышает метилирование ядерной ДНК по ряду функционально значимых сайтов и одновременно способствует снижению накопления жира в печени у крыс на ВЖР.

Одной из важных догм, входящих в парадигму современной теоретической биологии, является положение об отсутствии наследования приобретенных (вызванных воздействием окружающей среды) признаков [Медников Б. М., 2005]. В этой связи важно понимать, что эпигенетическое «наследование» фенотипа ожирения, определяемое, в конечном счёте, влиянием такого фактора внешней среды, как дисбаланс между энергетической ценностью рациона и фактическими энергозатратами организма, в отличие от истинной хромосомной наследственности, детерминированной структурой генома (последовательностью нуклеотидов в генах), является нестойким, и уже во 2-3 поколении организм возвращается к норме в отсутствие адипогенного пищевого фактора. Это связано с наличием репаративных механизмов, способных восстанавливать исходный эпигенетический статус ДНК. В их числе наиболее изученными являются НАД-зависимые деацетилазы гистонов — сиртуины 1, 2, 6, 7 [Фефелова Ю. А. и др., 2016].

Необходимо остановиться и на ряде работ, в которых роль эпигенетических факторов в развитии ожирения ставится под сомнение. Так, было показано, что вызванная рационом стимуляция продукции лептина, экспрессии генов *Mest/Peg1* и *sFRP5* в БеЖТ в процессе развития ожирения у мышей не опосредуется изменениями в метилировании этих генов [Okada et al., 2008]. Не было выявлено связи между экспрессией гена резистина и степенью метилирования его ДНК у крыс с ожирением на ВЖР [Nowacka-Woszuik et al., 2015]. В исследовании [Dahlhoff et al., 2013] у мышей не было установлено зависимости метилирования ДНК как в глобальном геноме, так и в сайте промотора гена цистатионин- β -синтазы от потребления ВЖР.

Причины расхождений результатов различных работ относительно значимости эпигенетических эффектов в развитии ожирения не вполне

ясны, однако можно предположить, что они обусловлены как различиями в экспериментальных протоколах (выбор линии животных, культуры клеток, состава потенциальных генов-мишеней, методов контроля эпигенетической модификации), так и возможным отсутствием учёта связи эпигенетических изменений с циркадными ритмами организма. Для уточнения роли эпигенетических изменений в контроле массы тела и гомеостазе энергии необходимы дальнейшие исследования.

Заключение

Известно, что ожирение — многофакторное заболевание и в большинстве случаев имеет полигенный характер наследования. При этом установлено, что генетические факторы играют решающую роль в предрасположенности человека к повышению массы тела, формированию избыточной массы, ожирения и ассоциированных метаболических нарушений. За последние несколько лет наибольшие успехи достигнуты в диагностике редко встречающихся моногенных форм ожирения человека — выявлены генетические мутации, лежащие в их основе. Молекулярно-генетические основы других форм ожирения с полигенным характером наследования продолжают активно изучаться. Изучение полногеномных ассоциаций (GWAS) позволило выявить ряд генетических вариантов, связанных с предрасположенностью к ожирению. Кроме того, в последнее время показано, что изменение экологических и эпигенетических факторов также способствуют формированию ожирения и ассоциированных с ним нарушений. Наибольший интерес представляют возможности персонализации диетологических методов профилактики и лечения ожирения и сопутствующих метаболических нарушений.

В связи с практическим завершением расшифровки полной последовательности генома человека и аннотирования большей его части и значительного прогресса в области нутригеномных исследований в настоящее время в основном завершено картирование генов, функционально связанных с контролем массы тела, чувства голода и насыщения, регуляцией липидного и углеводно-энергетического обмена. Исследования, которые продолжают проводиться в данной области, направлены, преимущественно, на выявление ранее неизвестных (в том числе редких) полиморфизмов «генов ожирения» и на уточнение эпидемиологических данных относительно роли этих полиморфизмов

в развитии ожирения. Это порождает надежду, что уже в ближайшем будущем каждый индивид с помощью анализа его геномных последовательностей сможет при желании получить персонализированные рекомендации в отношении своего пищевого рациона, позволяющего свести до минимума риски избыточной массы тела и связанных с ней алиментарно-зависимых заболеваний. Вместе с тем большие пробелы остаются в нашем знании о механизмах, координирующих активность огромного ансамбля генов, отвечающих за энергетический гомеостаз, и, в частности, о роли в этих процессах эпигенетического «наследования», истинное значение которого только начинает проясняться.

Очевидно, что эпигенетическое «наследование» играет важную роль в регуляции активности генов липидного и энергетического обмена, связанных с патогенезом ожирения. В его основе лежит энзиматическая модификация ядерного хроматина, состоящая, главным образом,

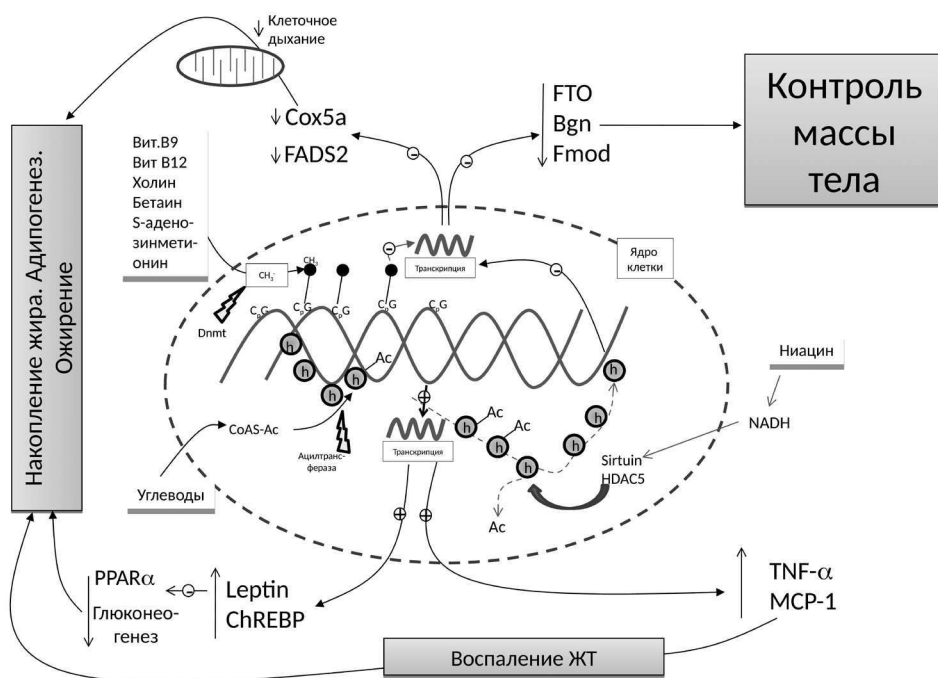


Рис. 1. Схема, поясняющая роль эпигенетических факторов (метилование ДНК, деацелирование гистонов) в эпигенетическом «наследовании» фенотипа ожирения

в метилировании/деметиляции ДНК и различная химическая модификация гистонов. Повышение степени метилирования ДНК рассматривается как один из основных механизмов «молчания» генов, ответственных за дифференцировку преадипоцитов в адипоциты БеЖТ, синтез и накопление триглицеридов, инсулиновую резистентность, воспалительные реакции в жировой ткани. В результате внедрения ацильных и других функциональных групп в гистоны понижаются их основные свойства, и ослабляется их связывание с промотерными участками «генов ожирения», что приводит к усилению их транскрипционной активности. Разрабатываются подходы к диетической коррекции нарушенных при ожирении эпигенетических механизмов, включая увеличение поступления с пищей соединений — доноров метильных групп. Происходящие в яйцеклетках эпигенетические изменения «наследственной плазмы» приводят к передаче от матери к её потомству ряда фенотипических признаков ожирения. Однако результат такого эпигенетического «наследования» является нестойким и утрачивается в последующих поколениях в отсутствие внешних адипогенных факторов.

Схема основных эпигенетических эффектов в гомеостазе массы тела и развитии ожирения приведена на рисунке 1.

Литература к главе 1

- Батурин А. К., Сорокина Е. Ю., Погожева А. В., Тутельян В. А. Генетические подходы к персонализации питания // *Вопр. питания.* 2012а. Т. 81, № 6. С. 4-11.
- Батурин А. К., Погожева А. В., Сорокина Е. Ю., Макурина О. Н., Тутельян В. А. Изучение Trp64arg полиморфизма гена бета3-адренорецепторов у лиц с избыточной массой тела и ожирением// *Вопр. питания.* 2012b. № 2. С. 23-27.
- Батурин А. К., Сорокина Е. Ю., Погожева А. В., Пескова Е. В., Макурина О. Н., Тутельян В. А. Региональные особенности полиморфизма генов, ассоциированных с ожирением (rs9939609 гена FTO и Trp64Arg гена ADRB3), у населения России// *Вопр. питания.* 2014. Т. 83, № 2. С. 35-41.
- Батурин А. К., Сорокина Е. Ю., Погожева А. В., Кешаянц Э. Э., Кобелькова И. В., Камбаров А. О., Елизарова Е. В., Тутельян В. А. Изучение ассоциации полиморфизмов RS993609 гена FTO и RS659366 гена UCP2 с ожирением у населения арктической зоны российской федерации// *Вопросы питания.* 2017. Т. 86. № 3. С. 32-39.
- Бородина С. В., Гаппарова К. М., Зайнудинов З. М., Григорьян О. Н. Генетические предикторы развития ожирения// *Ожирение и метаболизм.* 2016. Т. 13. № 2. С. 7-13.

- Лапик И. А., Гаппарова К. М., Чехонина Ю. Г., Сорокина Е. Ю., Бородина С. В. Современные тенденции развития нутригеномики ожирения// *Вопр. питания*. 2016. Т. 85. № 6. С. 6-13.
- Медников Б. М. Избранные труды. Организм, геном, язык. М.: Т-во научных изданий КМК., 2005. 452 с. ISBN 5-87317-197-1.
- Сенцова Т. Б., Тутельян В. А., Черняк О. О., Ворожко И. В., Гаппарова К. М. Протеомные и метаболомные проявления при различных вариантах полиморфизма гена аполипопротеина Е у больных ожирением// *Мол. медицина*. 2017. Т. 15. № 3. С. 15-20.
- Фефелова Ю. А., Сергеева Е. Ю., Новикова Л. В., Климина Г. М. Влияние характера питания на Sirtuin1-опосредованное изменение метаболических процессов// *Вопр. питания*. 2016. Т. 85. № 4. С. 5-13.
- Черняк О. Н., Сенцова Т. Б., Ворожко И. В., Тутельян В. А., Бородина С. В., Гаппарова К. М. Геномные, протеомные и метаболомные предикторы атеросклероза у больных ожирением. Сообщение II// *Вопр. питания*. 2015. Т. 84. № 5. С. 39-45.
- Шилина Н. М., Сорокина Е. Ю., Джумагазиев А. А., Пырьева Е. А., Конь И. Я., Дикарева Л. В., и др. Фенотипические проявления полиморфизма rs 9939609 гена FTO в диаде мать-дитя// *Вопросы детской диетологии*. 2017, №4. с.14-20.
- Aagaard-Tillery K. M., Grove K., Bishop J., Ke X., Fu Q., McKnight R., et al. Developmental origins of disease and determinants of chromatin structure: maternal diet modifies the primate fetal epigenome. *J. Mol. Endocrinol.* 2008; 41(2): 91-102.
- Attig L., Vige A., Gabory A., Karimi M., Beauger A., Gross M.S., et al. Dietary alleviation of maternal obesity and diabetes: increased resistance to diet-induced obesity transcriptional and epigenetic signatures. *PLoS One*. 2013; 8(6): e66816.
- Beckmann J.S., Estivill X., Antonarakis S.E. Copy number variants and genetic traits: closer to the resolution of phenotypic to genotypic variability. *Nat Rev Genet.* 2007; 8(8): 639-646.
- Bell C.G., Finer S., Lindgren C.M., Wilson G.A., Rakyan V.K., Teschendorff A.E., et al. Integrated genetic and epigenetic analysis identifies haplotype-specific methylation in the FTO type 2 diabetes and obesity susceptibility locus. *PLoS ONE*. 2010; 5(11): e14040.
- Bell C.G., Walley A.J., Froguel P. The genetics of human obesity. *Nature Rev. Genet.* 2005; 6(3): 221-234.
- Bochukova E.G., Huang N., Keogh J., Henning E., Purmann C., Blaszczyk K., et al. Large, rare chromosomal deletions associated with severe early-onset obesity. *Nature*. 2010; 463(7281): 666-670.
- Borengasser S., Kang P., Faske J., Gomez-Acevedo H., Blackburn M.L., Badger T.M., et al. High fat diet and in utero exposure to maternal obesity disrupts circadian rhythm

- and leads to metabolic programming of liver in rat offspring. *PLoS ONE*. 2014; 9(1): e84209.
- Bricambert J., Miranda J., Benhamed F., Girard J., Postic C., Dentin R. Salt-inducible kinase 2 links transcriptional coactivator P300 phosphorylation to the prevention of ChREBP-dependent hepatic steatosis in mice. *J. Clin. Investig.* 2010; 120(12): 4316-4331.
- Butler M.G., McGuire A., Manzardo A.M. Clinically relevant known and candidate genes for obesity and their overlap with human infertility and reproduction. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2015; 32(4): 495-508.
- Cheng C.Y., Kao W.H.L., Patterson N., Tandon A., Haiman C.A., Harris T.B., et al. Admixture mapping of 15,280 African Americans identifies obesity susceptibility loci on chromosomes 5 and X. *PLoS Genetics*. 2009; 5(5): 1000490.
- Cheung W.W., Mao P. Recent advances in obesity: genetics and beyond. *ISRN Endocrinology*. 2012; 2012: 536905. doi:10.5402/2012/536905.
- Church C., Moir L., McMurray F., Girard C., Banks G.T., Teboul L., et al. Overexpression of Fto leads to increased food intake and results in obesity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12): 1086-1092.
- Clement K., Vaisse C., Lahlou N., Cabrol S., Pelloux V., Cassuto D., et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature*. 1998; 392(6674): 398-401.
- Cordero P., Gomez-Uriz A.M., Campion J., Milagro F.I., Martinez J. A. Dietary supplementation with methyl donors reduces fatty liver and modifies the fatty acid synthase DNA methylation profile in rats fed an obesogenic diet. *Genes Nutr.* 2013; 8: 105-113.
- Dahlhoff C., Desmarchelier C., Sailer M., Fürst R.W., Haag A., Ulbrich S.E., et al. Hepatic methionine homeostasis is conserved in C57BL/6N mice on high-fat diet despite major changes in hepatic one-carbon metabolism. *PLoS ONE*. 2013; 8(3): e57387.
- Dan F., Mitchell A. Lazar clocks, metabolism, and the epigenome. *Mol. Cell*. 2012; 47(2): 158-167.
- D'Angelo C.S., Koiffmann C.P. Copy number variants in obesity-related syndromes: review and perspectives on novel molecular approaches. *J. Obes.* 2012; 2012: 845480.
- Fairbrother U., Kidd E., Malagamuwa T., Walley A. Genetics of severe obesity. *Curr. Diab. Rep.* 2018; 18(10): 85. doi: 10.1007/s11892-018-1053-x.
- Fawcett K.A., Barroso I. The genetics of obesity: FTO leads the way. *Trends Genet.* 2010; 26(6): 266-274.
- Fischer-Posovszky P., von Schnurbein J., Moepps B., Lahr G., Strauss G., Barth T.F., et al. A new missense mutation in the leptin gene causes mild obesity and hypogonadism without affecting T cell responsiveness. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010; 95(6): 2836-2840.

- Frayling T. M., Timpson N.J., Weedon M. N., Zeggini E., Freathy R. M., Lindgren C. M., et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*. 2007; 316(5826): 889-894.
- Fredriksson R. The obesity gene, FTO, is of ancient origin, up-regulated during food deprivation and expressed in neurons of feeding-related nuclei of the brain. *Endocrinology*. 2008; 149: 2062-2071.
- Gimble J.M. Circadian biology and sleep: missing links in obesity and metabolism. *Obes Rev*. 2009; 10(2): 1-5.
- Gong Y. Y., Liu Y. Y., Li J., Su L., Yu S., Zhu X. N., et al. Hypermethylation of Cox5a promoter is associated with mitochondrial dysfunction in skeletal muscle of high fat diet-induced insulin resistant rats. *PLoS ONE*. 2014; 9(12): 113784.
- Goodarzi M. O. Genetics of obesity: what genetic association studies have taught us about the biology of obesity and its complications. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2018;6(3):223-236. doi: 10.1016/S2213-8587(17)30200-0.
- Hjelmborg J. V., Fagnani C., Silventoinen K. Genetic influences on growth traits of BMI: a longitudinal study of adult twins. *Obesity (Silver Spring)*. 2008; 16(4): 847-852. doi: 10.1038/oby.2007.135.
- Hoile S. P., Irvine N. A., Kelsall C. J., Sibbons C., Feunteun A., Collister A., et al. Maternal fat intake in rats alters 20:4n-6 and 22:6n-3 status and the epigenetic regulation of Fads2 in offspring liver. *J. Nutr. Biochem*. 2013; 24(7): 1213-1220.
- Horii T., Morita S., Kimura M., Hatada I. Epigenetic regulation of adipocyte differentiation by a Rho guanine nucleotide exchange factor, WGEF. *PLoS One*. 2009; 4(6): e5809.
- Jagannadham J., Jaiswal H.K., Agrawal S., Rawal K. Comprehensive map of molecules implicated in obesity. *PLoS One*. 2016;11(2) :e0146759. doi: 10.1371/journal.pone.0146759.
- Jeltsch A. Beyond Watson and Crick: DNA methylation and molecular enzymology of DNA methyltransferases. *Chem. Bio. Chem*. 2002; 3(4): 275-293.
- Kabra D.G., Pfuhlmann K., García-Cáceres C., Schriever S.C., Casquero García V., Kebede A.F., et al. Hypothalamic leptin action is mediated by histone deacetylase 5. *Nat. Commun*. 2016; 7: 10782.
- Kamei Y., Suganami T., Ehara T., Kanai S., Hayashi K., Yamamoto Y., et al. Increased expression of DNA methyltransferase 3a in obese adipose tissue: studies with transgenic mice. *Obesity*. 2010; 18(2): 314-321.
- Kelsall C. J., Hoile S.P., Irvine N. A., Masoodi M., Torrens C., Lillycrop K. A., et al. Vascular dysfunction induced in offspring by maternal dietary fat involves altered arterial polyunsaturated fatty acid biosynthesis. *PloS One*. 2012; 7(4): e34492.
- Kleinendorst L., van Haelst M. M., van den Akker E. L. T. Genetics of Obesity. *Exp. Suppl*. 2019; 111: 419-441. doi: 10.1007/978-3-030-25905-1_19.

- Kotani K., Wilden P., Pillay T.S. SH2B-alpha is an insulin-receptor adapter protein and substrate that interacts with the activation loop of the insulin-receptor kinase. *Biochem J.* 1998; 335(1): 103-109.
- Kumar M. S., Priyanka J., Prashant M. Microarray evidences the role of pathologic adipose tissue in insulin resistance and their clinical implications. *J. Obes.* 2011; 2011: 587495.
- Kumar S, Kelly A.S. Review of childhood obesity: from epidemiology, etiology, and comorbidities to clinical assessment and treatment. *Mayo Clin. Proc.* 2017 ; 92(2): 251-265. doi: 10.1016/j.mayocp.2016.09.017.
- Lee J. H., Friso S., Choi S.-W. Epigenetic mechanisms underlying the link between non-alcoholic fatty liver diseases and nutrition. *Nutrients.* 2014; 6 (8): 3303-3325.
- Lin X, Qi Q, Zheng Y, Lathrop M., Zelenika D., Bray G.A., Sacks F.M., et al. Neuropeptide Y genotype, central obesity, and abdominal fat dis-tribution: the POUNDS LOST trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 2015; 102(2): 514-519.
- Mao P. Potential antidepressant role of neurotransmitter CART: implications for mental disorders. *Depression Res. Treatment.* 2011; 2011: 762139.
- Margetic S., Gazzola C., Pegg G.G., Hill R.A. Leptin: a review of its peripheral actions and inter-actions. *Int. J. Obes.* 2002; 26(11): 1407-1433.
- Masuyama H., Hiramatsu Y. Effects of a high-fat diet exposure in utero on the metabolic syndrome-like phenomenon in mouse offspring through epigenetic changes in adipocytokine gene expression. *Endocrinology.* 2012; 153(6): 2823-2830.
- Maures T. J., Kurzer J. H., Carter-Su C. SH2B1(SH2-B) and JAK2: a multifunctional adaptor protein and kinase made for each other. *Trends Endocrinol. Metab.* 2007; 18(1): 38-45.
- McCarthy M. I. Genomics, type 2 diabetes, and obesity. *New England J. Med.* 2010; 363(24): 2339-2350.
- Meng Q., Ying Z., Noble E., Zhao Y., Agrawal R., Mikhail A., et al. Systems nutrigenomics reveals brain gene networks linking metabolic and brain disorders. *EBioMedicine.* 2016; 7: 157-166.
- Miao F, Wu X., Zhang L., Riggs A.D., Natarajan R. Histone methylation patterns are cell-type specific in human monocytes and lymphocytes and well maintained at core genes. *J. Immunol.* 2008; 180(4): 2264-2269.
- Mikula M., Majewska A., Ledwon J.K., Dzwonek A., Ostrowski J. Obesity increases histone H3 lysine 9 and 18 acetylation at TNF α and CCL2 genes in mouse liver. *Int. J. Mol. Med.* 2014; 34(6): 1647-1654.
- Miraglia del Giudice E., Santoro N., Cirillo G., D'Urso L., Di Toro R., Perrone L. Mutational screening of the CART ISRN Endocrinology 9 gene in obese children: identifying a mutation (Leu34Phe) associated with reduced resting energy expenditure and cosegregating with obesity phenotype in a large family. *Diabetes.* 2001; 50(9): 2157-2160.

- Miraglia del Giudice E., Santoro N., Fiumani P., Dominguez G., Kuhar M.J., Perrone L. Adolescents carrying a missense mutation in the cart gene exhibit increased anxiety and depression. *Depression Anxiety*. 2006; 23(2): 90-92.
- Miranda R. C., Vetter S.B., Genro J.P., Campagnolo P.D., Mattevi V.S., Vitolo M.R., et al. SLC6A14 and 5-HTR2C polymorphisms are associated with food intake and nutritional status in children. *Clin. Biochem*. 2015; 48(18): 1277-1282.
- Montague C. T., Farooqi I.S., Whitehead J.P., Soos M.A., Rau H., Wareham N.J., et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*. 1997; 387(6636): 903-908.
- Norman R. A., Thompson D. B., Foroud T., Garvey W. T., Bennett P. H., Bogardus C., et al. Genomewide search for genes influencing percent body fat in Pima Indians: suggestive linkage at chromosome 11q21-q22. *Am. J. Hum. Genet*. 1997; 60(1): 166-173.
- Nowacka-Woszek J., Pruszyńska-Oszmerek E., Szydlowski M., Szczerbal I. Diet-induced variability of the resistin gene (*Retn*) transcript level and methylation profile in rats. *BMC Genet*. 2015; 16: 113.
- Ohman M., Oksanen L., Kaprio J. Genomic-wide scan obesity on Finish sibpairs reveals linkage to chromosome Xq24. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2000; 85(9): 3188-3190.
- Okada Y., Sakaue H., Nagare T., Kasuga M. Diet induced up-regulation of gene expression in adipocytes without changes in DNA methylation. *Kobe J. Med. Sci*. 2008; 54(5): E241-E249.
- Ong Z. Y., McNally G. P. CART in energy balance and drug addiction: Current insights and mechanisms. *Brain Res*. 2020; 1740: 146852. doi: 10.1016/j.brainres.2020.146852.
- Pathak P., Li T., Chiang J.Y. Retinoic acid-related orphan receptor α regulates diurnal rhythm and fasting induction of sterol 12 α -hydroxylase in bile acid synthesis. *J. Biol. Chem*. 2013; 288(52): 37154-37165.
- Rankinen T., Zuberi A., Chagnon Y.C., Weisnagel S. J., Argyropoulos G., Walts B., et al. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity*. 2006; 14(4): 529-644.
- Rohde K., Keller M., la Cour Poulsen L., Blüher M., Kovacs P., Böttcher Y. Genetics and epigenetics in obesity. *Metabolism*. 2019;92:37-50. doi: 10.1016/j.metabol.2018.10.007.
- Saunders C.L., Chiodini B. D., Sham P., Lewis C. M., Abkevich V., Adeyemo A.A., et al. Meta-analysis of genome-wide linkage studies in BMI and obesity. *Obesity*. 2007; 15(9): 2263-2275.
- Seki Y., Williams L., Vuguin P.M., Charron M. J. Epigenetic programming of diabetes and obesity: animal models. *Endocrinology*. 2012; 153(3): 1031-1038.
- Shilina N., Dzhumagaziev A., Malysheva I., Sorokina E., Bezrukova D., Dikareva L., et al. The study of rs9939609 of FTO, rs4994 of ADRB3 and C667T of MTHFR gene polymorphisms association with body mass index and weight gain in pregnant

- women and birth weight of their infants in the Kaspian region of Russia. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2017; 64(Suppl. 1): 1010.
- Shilina N., Legonkova T., Sorokina E., Shtykova O., Netunaeva E., Makurina O., Pyrieva E., Kon I. Anthropometric indices change rate in children with obesity risk polymorphisms rs9939609 of FTO gene and rs4994 of ADRB3 gene from birth to 4 years. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2018; 66(Suppl.2): 974.
- Siebel A. L., Fernandez A. Z., El-Osta A. Glycemic memory associated epigenetic changes. *Biochem Pharmacol.* 2010; 80(12): 1853-1859.
- Singh R.K., Kumar P., Mahalingam K. Molecular genetics of human obesity: A comprehensive review. *C R Biol.* 2017; 340(2): 87-108. doi: 10.1016/j.crv.2016.11.007.
- Sloan J.L., Mager S. Cloning and functional expression of a human Na(+) and Cl(-)-dependent neutral and cationic amino acid transporter B(0+). *J. Biol. Chem.* 1999; 274(34): 23740-23745.
- Stone S., Abkevich V., Hunt S. C. A major predisposition locus for severe obesity, at 4p15-p14. *Am. J. Hum. Genet.* 2006; 70(6): 529-644.
- Strakovsky R. S., Zhang X. Zhou D., Pan Y.X. Gestational high fat diet programs hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression and histone modification in neonatal offspring rats. *J. Physiol.* 2011; 589(Pt.11): 2707-2717.
- Stratigopoulos G., Padilla S.L., LeDuc C.A., Watson E., Hattersley A. T., McCarthy M. I., et al. Regulation of Fto/Ftm gene expression in mice and humans. *Am. J. Physiol.* 2008; 294(4): R1185-R1196.
- Strobel A., Issad T., Camoin L., Ozata M., Strosberg A.D. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat. Genet.* 1998; 18(3): 213-215.
- Stunkard A. J., Foch T.T., Hrubec Z. A twin study of human obesity. *JAMA.* 1986a; 256(1): 51-54.
- Stunkard A. J., Sorensen T.I.A., Hanis G. An adoption study of human obesity. *New England J. Med.* 1986b; 314(4): 193-198.
- Sun C., Fan J.-G., Qiao L. Potential epigenetic mechanism in non-alcoholic fatty liver disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16(3): 5161-5179.
- Suter M. A., Chen A., Burdine M. S., Choudhury M., Harris R. A., Lane R. H., et al. A maternal high-fat diet modulates fetal SIRT1 histone and protein deacetylase activity in nonhuman primates. *FASEB J.* 2012b; 26(12): 5106-5114.
- Suter M. A., Sangi-Haghpeykar H., Showalter L., Shope C., Hu M., Brown K., et al. Maternal high-fat diet modulates the fetal thyroid axis and thyroid gene expression in a nonhuman primate model. *Mol. Endocrinol.* 2012a; 26(12): 2071-2080.
- Suviolahti E., Oksanen L.J., Ohman M., Cantor R.M., Ridderstrale M., Tuomi T., et al. The SLC6A14 gene shows evidence of association with obesity. *J. Clin. Invest.* 2003; 112(11): 1762-1772.

ГЕНОМНЫЕ И ЭПИГЕНОМНЫЕ МАРКЕРЫ ОЖИРЕНИЯ

- Suzuki H., Toyota M., Sato H., Sonoda T., Sakauchi F., Mori M. Roles and causes of abnormal DNA methylation in gastrointestinal cancers. *Asian Pac. J. Cancer. Prev.* 2006; 7(2): 177-185.
- Tabor H. K., Risch N.J., Myers R. M. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. *Nature Rev. Genetics.* 2002; 3(5): 391-397.
- Tarpey P. S., Raymond F.L., O'Meara S., Edkins S., Teague J., Butler A., et al. Mutations in CUL4B, which encodes a ubiquitin E3 ligase subunit, cause an X-linked mental retardation syndrome associated with aggressive outbursts, seizures, relative macrocephaly, central obesity, hypogonadism, pes cavus, and tremor. *Am. J. Human Genet.* 2007; 80(2): 345-352.
- Turula M., Kaprio J., Rissanen A., Koskenvuo M. Body weight in the Finnish twin cohort. *Diabetes Res. Clin. Practice.* 1990; 10(Suppl 1): S33-S36.
- Verrier L., Vandromme M., Trouche D. Histone demethylases in chromatin cross-talks. *Biol. Cell.* 2011; 103(8): 381-401.
- Vimalaswaran K. S., Loos R. J. Progress in the genetics of common obesity and type 2 diabetes. *Expert Rev. Mol. Med.* 2010; 12: e7.
- Vucetic Z., Kimmel J., Totoki K., Hollenbeck E., Reyes T. M. Maternal high-fat diet alters methylation and gene expression of dopamine and opioid-related genes. *Endocrinology.* 2010; 151(10): 4756-4764.
- Walley A. J., Asher J.E., Froguel P. The genetic contribution to non-syndromic human obesity. *Nature Rev. Genet.* 2009; 10(7): 431-442.
- Yoshizawa T., Karim M. F., Sato Y., Senokuchi T., Miyata K., Fukuda T., et al. SIRT7 controls hepatic lipid metabolism by regulating the ubiquitin-proteasome pathway. *Cell. Metab.* 2014; 19(4): 712-721.
- Zhang F., Basinski M. B., Beals J. M., Briggs S.L., Churgay L.M., Clawson D. K., et al. Crystal structure of the obese protein leptin-E100. *Nature.* 1997; 387(6629): 206-209.

Изменение в транскриптоме клетки при ожирении

ДЛЯ ОЖИРЕНИЯ, как системного нарушения метаболизма, характерна повышенная либо пониженная экспрессия большого числа генов, связанных с воспалением, иммунным ответом, клеточной адгезией, обменом углеводов и липидов. Совокупность всех мРНК, синтезируемых на активных в том или ином виде клеток и тканей генах, представляет собой транскриптом биологического объекта. В условиях нормального функционирования клетки транскриптом может включать десятки тысяч нуклеотидных последовательностей (транскриптов), как кодирующих белки, так и не транслируемых (рибосомальные, транспортные РНК, малые интерферирующие РНК, микроРНК). Получение детальной информации о транскриптоме клетки требует наличия не только высокопроизводительных аналитических методов, базирующихся на ОТ-ПЦР и ДНК-гибридизации, так и биоинформатических подходов, позволяющих оценивать весьма большие объемы экспериментальных данных (так называемые «big data») и делать на их основе содержательные выводы об интегральном состоянии клетки, органов и систем, организма в целом. Целью данной главы является рассмотрение современных методов транскриптомных исследований и их основных результатов, применительно к биомаркерам ожирения и родственных алиментарно-зависимых заболеваний.

Метод ДНК-микрочипов

Значительного прогресса в получении информации об экспрессии многих тысяч генов одновременно и на одном биологическом образце удалось достичь после разработки в 1995 году метода

полнотранскриптомного анализа, использующего микромассивы кДНК (DNA microarrays), известные также как ДНК-микрочипы [Kim & Park, 2010]. Принцип метода состоит в выделении из исследуемого биологического образца тотальной мРНК и получении на её основе совокупной флуоресцентно меченой комплементарной ДНК (т.н. «библиотеки» кДНК) с её последующей гибридизацией с олигонуклеотидными зондами, расположенными в упорядоченной последовательности на микрочипе. Количество кДНК, которое гибридизируются с этими зондами, коррелирует с количеством мРНК в исходных образцах, которое в большинстве случаев связано с концентрациями и специфическими биологическими активностями продуктов генов [Cagney et al., 2005].

Первая работа по применению ДНК-микрочипов в изучении ожирения на *in vivo* модели относится к 2000 г. [Soukas et al., 2000]. Была изучена ДЭ около 6500 генов в жировой ткани нокаутной линии мышей, гомозиготной по дефектному гену, кодирующему лептин (*ob/ob*), и сходной с ними по остальным параметрам генотипа животных «родительской» линии. Впоследствии более чем в 300 работах этим методом были изучены изменения в транскриптоме жировой ткани, печени, гипоталамуса, скелетных мышц, тонкой кишки и почек, при ожирении, как у экспериментальных животных различных видов и линий, так и у людей. Однако в ряде исследований не были выполнены необходимые контроли, объём анализа транскриптома был недостаточным и результаты не были подтверждены независимыми методами (ОТ-ПЦР, иммунохимические и биохимические методы).

Большинство транскриптомных исследований было проведено на *in vivo* моделях животных и значительно меньшее число — в клинике, что связано с проблемами при отборе биологического материала у больных. В свою очередь, работы на животных могут быть подразделены на те, в которых применяли нокаутные или трансгенные линии с дефектами определенных «генов ожирения», и те, в которых алиментарное ожирение вызывалось путём кормления различными рационами с избыточной энергетической ценностью. Преимуществом первой группы моделей является относительная легкость их воспроизведения (ожирение развивается у животных, потребляющих стандартные виварные рационы) и большая степень увеличения финальной массы тела и жировых запасов по сравнению с моделями на обычных животных, получающих высококалорийные рационы [Maebuchi et al., 2003]. Однако они менее релевантны в отношении воспроизведения алиментарного ожирения у человека, которое, хотя и является генетически опосредованным,

но, в подавляющем большинстве случаев, не определяется каким-либо единственным генетическим дефектом.

В качестве примеров исследований первой группы следует привести вышеуказанную работу [Soukas et al., 2000], а также [Nadler et al., 2000], выполненные на лептин-дефицитных (ob/ob) мышах. Профилирование экспрессии генов было проведено также на JCR:LA-cp крысах [Deng et al., 2004], которые, наряду с ob/ob мышами, являются примерами наличия мутации единственного гена, приводящей к ожирению.

В большинстве других работ применяли модели алиментарного (диет-индуцированного) ожирения. При этом важным фактором, влияющим на профили экспрессии генов, являлся пол. Так, у отдельных нокаутных линий мышей до 70 % экспрессируемых генов в печени и жировой ткани различаются между самцами и самками [Yang X. et al., 2006].

Субстратами для проведения транскриптомных исследований на *in vivo* моделях ожирения являются, как правило, подкожная и висцеральная БеЖТ, бурая жировая ткань (БуЖТ), печень, гипоталамус, скелетные мышцы, тонкая кишка и почки. В клинических исследованиях основными объектами были биоптаты жировой ткани сальника от больных, проходивших лапароскопию или хирургические вмешательства на органах брюшной полости [Gomez-Ambrosi et al., 2004]. Биоптаты подкожного жира были также получены от добровольцев [Lee et al., 2005; Marrades et al., 2006]. Образцы печени были получены от потенциальных доноров трансплантатов печени, а также при ее резекциях [Younossi et al., 2005]. При проведении транскриптомных анализов с использованием микрочипов широко практикуется пулирование образцов тканей от 3-10 животных или 3-50 клинических биоптатов на базе эквивалентности по общему содержанию мРНК в отдельных образцах [Kim & Park, 2010]. Основная причина такого подхода состоит в снижении стоимости проводимых исследований, однако он может замаскировать биологическую вариабельность полученных данных и привести к ложному завышению значимости результата.

Изменения в транскриптоме органов и тканей при развитии ожирения

Жировая ткань

Метаанализ данных о ДЭ генов в БеЖТ как минимум в 2 раза в ту или иную сторону, согласованно установленной как минимум

в 2 исследованиях, представлен в работе [Kim & Park, 2010]. В результате было идентифицировано 58 генов, для которых экспрессия увеличилась и 30 — для которых она снизилась. Для генов, кодирующих лептин и глутатион-S-трансферазу, более чем 2-кратная ДЭ (соответственно, в сторону усиления и ослабления) выявлена не менее, чем в 5 работах. Тем самым, гены лептина и глутатион-S-трансферазы (GST), по-видимому, наиболее согласованно регулируются при алиментарном ожирении.

Не менее 39 из 88 выявленных с высокой степенью достоверности дифференциально-экспрессируемых генов в БеЖТ были связаны с воспалением, иммунным ответом и клеточной адгезией. Из числа прочих, 20 генов были вовлечены в липидный обмен и дифференцировку адипоцитов, 6 генов были связаны с окислительно-восстановительным статусом и реакцией на стресс, 6 — с метаболизмом белка и глюкозы, и оставшиеся 6 — с гормонами и передачей сигнала. Гены с более чем двукратным изменением экспрессии были классифицированы на категории в зависимости от предполагаемых биологических процессов, в которые они вовлечены, в соответствии с технологией Gene Ontology Consortium (GO) [Ashburner et al., 2000]. В частности, удалось установить, что запасание жиров адипоцитами отражается в усилении экспрессии адипонектина, повышающего чувствительность к инсулину, лептину, цитокинов, связанных с ангиогенезом. Положительная ДЭ отмечается для генов, ответственных за воспаление и клеточную адгезию в БеЖТ, включая гены, кодирующие катепсины B, D, K, S и Z; CD53, C2 компонент комплемента, цистатин B, белок связывающий липополисахарид, активатор 5-липоксигеназы, металлопротеазу матрикса (MMP12) и сывороточный амилоид A3 (SAA3). По данным [Henegar et al., 2008] фиброз интерстиция, инфильтруемого макрофагами, НК-клетками и Т-лимфоцитами, может опосредовать взаимодействие между воспалением и нарушенным метаболизмом жировой ткани. Факторы, ответственные за деградацию внеклеточного матрикса, такие как металлопротеазы матрикса (MMP) и катепсины, усиленно синтезируются в процессе дифференцировки адипоцитов [Kubo et al., 2000]. С этим согласуется тот факт, что гены MMP показали 6-35-кратное увеличение экспрессии у мышей с алиментарным ожирением в 4 исследованиях. У животных, нокаутных по генам, кодирующим внеклеточные катепсины K и S, отмечен рост соединительнотканых бляшек и атеросклеротических поражений в эндотелии сосудов, а также возрастание степени повреждения эластинового матрикса. Катепсины K и S также играют роль в метаболизме липидов, расщепляя акцепторы холестерина, уменьшая его клиренс и усиливая образование вспененных клеток. Катепсин

К участвует в ангиогенезе [Han et al., 2009]. Усиление в 2.5–12 раз у мышцей при ожирении экспрессии гена SAA3, кодирующего секретируемый адипоцитами белок острой фазы, является одним из свидетельств развития воспаления в жировой ткани. Наряду с катепсином S, SAA3 рассматривается как один из наиболее важных молекулярных маркеров ожирения [Taleb et al., 2005; Yang R.Z. et al., 2006].

Ещё одной группой генов с характерно изменяющейся экспрессией в жировой ткани при ожирении являются гены липидного обмена, такие как ген липопротеинлипазы (*LPL*), стеароил-КоА десатуразы (*SCD*) 1 и 2 типа, и рецептора, активируемого пероксисомным пролифератором, изоформы γ (*PPAR γ*). Одновременно, в числе генов, характеризующих отрицательной ДЭ, указывают на ген аполипопротеина E (*ApoE*) и транспортера жирных кислот (*FATP*), участвующего в энергозависимом транспорте жирных кислот в клетку [Huang et al., 2007].

В отношении генов углеводного обмена результат при ожирении был получен в отношении ДЭ гена, кодирующего фосфоенолпируват карбоксикиназу (*PEPCK-C*). Гиперэкспрессия этого фермента приводит к повышению концентрации в ткани глицерол-3-фосфата, используемого в липогенезе [Forest et al. 2003]. Транскриптомное исследование биоптатов жировой ткани больных, генетически предрасположенных к ожирению, позволило с высокой вероятностью выявить связь его фенотипических признаков с экспрессией гена, кодирующего фермент алкогольдегидрогеназу [Winnier et al., 2015].

Алиментарное ожирение маркируется ДЭ большого числа белков, связанных с иммунным ответом. Так, повышается экспрессия рецепторов Fc фрагментов антител, вероятно, в порядке компенсаторной реакции на снижение выработки IgG [Nieman et al., 1996]. Следствием этого может быть усиление фиксации IgE антител на первичных клетках мишенях с перспективой усиления аллергических реакций [Lee et al., 2016]. В адипоцитах при алиментарном ожирении экспрессируется множество генов воспалительного ответа. В их числе лиганд хемокинов (C-X-C motif)-12, потенциальный провоспалительный хемокин, гены, кодирующие молекулы адгезии — интегрин альфа 5 и тенасцин-С (*tenascin-C*), способствующие удержанию инфильтрирующих моноцитов и макрофагов в ткани, толл-подобный рецептор (TLR4) [Charriere et al., 2003], который осуществляет связь между врожденным иммунитетом, обменом липидов и инсулинорезистентностью [Shi et al., 2006]. Тенасцин-С стимулирует продукцию провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-8 в первичных макрофагах и синовиальных фибробластах через сигнальные пути TLR4 [Midwood et al., 2009]. Продукция IL-6,

в свою очередь, снижает чувствительность к инсулину через протеинкиназу С дельта (PKC δ), активатор транскрипции 3 (STAT3), являющийся одновременно супрессором 3 сигнального пути цитокинов (SOCS3) и протеинкиназы JNK, что опосредованно вызывает инсулиновую резистентность в периферических органах [Kim, 2006; Jain et al., 1999].

По данным метаанализа у человека при алиментарном ожирении доказано возрастание экспрессии, как минимум, 18 генов и снижение — 3 генов. Большинство их участвуют в процессах иммунного ответа и клеточной адгезии, передачи сигнала, метаболизма и пролиферации клеток. Следует, однако, отметить, что этот список почти не перекрывается с перечнем соответствующих генов у мышей в жировой ткани за исключением гена фактора роста фибробластов (*FGF1*), который является известным стимулятором роста сосудов, и биологический смысл его положительной экспрессии при ожирении может состоять в потребности организма увеличить кровоснабжение разрастающейся жировой ткани [Kim & Park, 2010]. *FGF1* также является ключевым регулятором адипогенеза [Widberg et al., 2009].

Поджелудочная железа

Было показано [Nobrega, 2013], что экспрессия гена TCF7L2, характеризующаяся тканевой специфичностью, не только оказывает прямое влияние на β -клетки поджелудочной железы, регулируя секрецию инсулина, экспрессию глюкагона и выживаемость островковых клеток, но и влияет на выраженность анорексигенного эффекта, опосредованного глюкагоноподобным пептидом-1 (ГПП-1). ГПП-1 является транскрипционным продуктом гена глюкагона в эндокринных L-клетках подвздошной кишки и некоторых нейронах мозга. Эффекты ГПП-1 на потребление пищи могут быть обусловлены посредством следующих механизмов: 1) ГПП-1, секретирующийся в кишечнике, влияет на мозг через ГПП-1 чувствительные нейроны блуждающего нерва; 2) ГПП-1 секретируется в головном мозге, что влияет на специфические центры, регулирующие аппетит в гипоталамусе [Secher et al., 2014]. Рецепторы ГПП-1, экспрессированные в дугообразном ядре и других структурах гипоталамуса, вовлечены в регуляцию пищевого поведения. Разрушение дугообразного ядра приводит к потере ингибирующего влияния ГПП-1 на пищевое поведение. Доклинические и клинические исследования показали, что ГПП-1 усиливает насыщение, снижает потребление пищи и, соответственно, массу

тела [van Can Jet al., 2014], что послужило основанием для его рассмотрения в качестве перспективной мишени в лечении ожирения.

Печень, почки, эндотелий сосудов и кровь

С использованием технологии микрочипов было показано, что в печени грызунов как с генетическим, так и с алиментарным ожирением, дифференцированно экспрессируется ряд генов [Ferrante et al., 2001; Liang & Tall, 2001; Kim S. et al., 2004; Inoue et al., 2005; Patsouris et al., 2006; Yang et al., 2008]. В числе генов, гиперэкспрессия которых была показана согласованно в ряде работ, транслоказа жирных кислот (*CD36/FAT*), карнитин-пальмитоилтрансфераза (*CPT1*), фруктозодифосфатальдолаза А (*ALDOA*) и тубулин- β (*TUBB*). Не менее 27 из изученных в указанных работах 52 генов были связаны с метаболизмом липидов и дифференцировкой адипоцитов. 15 из числа этих генов были вовлечены в защитные реакции на стресс, 4 связаны с функциями цитоскелета и клеточной адгезии, 4 — с инсулиновой резистентностью.

Экспрессия генов, кодирующих белок, связывающий стерол-регулирующий элемент (*SREBP-1c*) и *PPAR γ* , являющихся ключевыми транскрипционными факторами адипогенеза, изменялась при ожирении в 2.2–3.4 раза. Примечательно, что эффекты экспрессии часто имели противоположную направленность у мышей с генетическим и алиментарным ожирением. Например, экспрессия синтазы жирных кислот или малик-энзима, являющихся мишенями *PPAR γ* , возрастала в 2.4–5.2 раза у генетически тучных грызунов, тогда как у обычных животных, получавших ВЖР, она составляла 0.2–0.4 от контроля. *PPAR α* является фактором транскрипции, активирующим β -окисление; мишенями для него являются гены ацил-КоА оксидазы 1, карнитин-пальмитоилтрансферазы 1-го и 2-го типа, карнитин-О-октаноилтрансферазы, ацетил-КоА ацилтрансфераза 1-го типа. Активация этих генов происходит у грызунов как при генетическом, так и при алиментарном ожирении. Экспрессия генов биосинтеза холестерина, таких как гидроксиметилглутарил-КоА синтаза, ланостерин-14 α -деметилаза, 7-дегидрохолестерин редуктаза и скваленэпоксидаза снижалась у мышей, потреблявших высокожировую рацион, тогда как уровни мРНК гидроксиметилглутарил-КоА редуктазы, лимитирующей синтез холестерина, повышались у генетически тучных мышей по сравнению с обычными животными.

Гены защиты от стресса и детоксикации, такие как металлотионеин-1, ряд изоформ глутатионтрансфераз (GST- α 1, - α 4, и - μ 6), белки теплового шока 1 α , 1 β , 1B, и 8 и терморезистивный белок 12, были положительно дифференциально экспрессированы в 2 раза в печени грызунов с ожирением. Белки теплового шока с функцией шаперонов предположительно участвуют в репарации нарушенной структуры белков вследствие перегрева или перекисления липидов мембран. Получены данные, что экспрессия металлотионеина и GST согласованно регулируется общим фактором «антиоксидант-отвечающим элементом», что подчеркивает роль этих белков в совместной защите от оксидантного стресса [Ishii et al., 2000]. Экспрессируемый при ожирении разобщающий белок 2 (UCP2) способствует утилизации избытка энергосубстратов, например, жиров [Cortez-Pinto et al., 2009].

Транскриптомные эффекты при ожирении также выявлены в почках. У потомства беременных крыс с ожирением отмечалось снижение в почках экспрессии ядерного фарнезоид-рецептора X (FXR), играющего роль в гомеостазе и метаболизме глюкозы [Glastras, et al., 2015]. В этой же работе в системе *in vitro* эффект гипергликемии, сопровождающей ожирение и метаболический синдром, воспроизводили путем действия высоких концентраций глюкозы на культуру эпителиальных клеток проксимальных канальцев почек НК2. При этом отмечалась сниженная экспрессия FXR в почках и повышенная — хемоаттрактантного белка моноцитов MCP-1, трансформирующего фактора роста TGF- β 1, фибронектина и коллагена IV. Клетки с отключенным геном FXR характеризовались усилением провоспалительных и фиброзных маркеров, характерных для развития хронической почечной недостаточности.

В почках при ожирении отмечается дисрегуляция гена *SREBP-1* и липогенных генов, являющиеся его мишенями [Kolehmainen et al., 2001]. Экспрессия *SREBP-1c* в почках отрицательно коррелирует с экспрессией FXR [Watanabe et al., 2004]. Высокие уровни глюкозы в почечной ткани были также связаны с повышением экспрессии тирозиновой фосфатазы [Denhez et al., 2015].

Развившиеся внутриутробно изменения в экспрессии генов *FXR*, *MCP-1*, *TGF- β 1* и коллагена IV у потомства самок крыс с ожирением были установлены в первый день после рождения, прежде чем потомство успевало потребить достаточные количества материнского молока [Glastras et al., 2015]. К 20 дню жизни все эти эффекты существенно ослаблялись, что указывает на благотворное воздействие вскармливания материнским молоком даже самками с ожирением. Это согласуется с известными данными, что грудное вскармливание обладает протективным

эффектом в отношении ожирения и сопряженных с ним метаболических нарушений [Gopinath et al., 2012].

У двух линий крыс OLETF и LETO с высокой и низкой генетической предрасположенностью к ожирению, соответственно, была выявлена ДЭ 396 генов в эндотелии аорты и других сосудов [Jenkins et al., 2014]. Анализ функций этих транскриптов с помощью Gene Ontology позволил сделать вывод о «проатерогенном» сдвиге экспрессии генов при ожирении.

Полнотранскриптомное исследование цельной крови больных ожирением в сравнении со здоровыми лицами позволило выделить дифференциальную экспрессию ряда групп генов, относимых к группам рибосомального синтеза, апоптоза и окислительного фосфорилирования, что лежит в основе сдвигов в процессах синтеза белка, обновления клеток и энергопотребления в условиях действия провоспалительных и липотоксических факторов [Ghosh et al., 2010].

Центральная нервная система

Изучение транскриптома головного мозга, в особенности, центров дугообразного ядра гипоталамуса, отвечающих за пищевое поведение, позволяет пролить свет на молекулярные механизмы патогенеза ожирения. На ряде *in vivo* моделей установлено, что повышение экспрессии «гена ожирения» *FTO* соответствует возрастанию общего потребления пищи, переключению пищевого поведения в направлении потребления богатых жирами и сахаром продуктов, нарушению развития насыщения [Levian et al., 2014]. Напротив, сниженный уровень экспрессии гена *FTO* у мышей коррелировал со снижением потребления пищи [McMurray et al., 2013]. Механизм эффектов, наблюдаемых при гиперэкспрессии *FTO*, состоит, предположительно, в снижении метилирования мРНК препрогрелина с усилением его экспрессии, приводящей к изменениям пищевого поведения [Karra et al., 2013].

Влияние ожирения у самок мышей на экспрессию генов в головном мозге их потомства проявляло отчётливый половой диморфизм, причем у плодов мужского пола отмечалась ДЭ значительно большего числа генов, чем у плодов женского пола [Edlow et al., 2016].

Экспрессия генов гипоталамуса играет важную роль в передаче сигнала о состоянии липидного обмена в периферических тканях к центральным механизмам регуляции голода и насыщения. Так, например,

профили гипоталамической экспрессии генов CREB-опосредуемой передачи сигналов в нейронах у гомозигот нокаутных мышей *Acads⁺/Acads⁻* (по гену короткоцепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы) изменялись параллельно с ДЭ генов, участвующих в процессах окислительного фосфорилирования и других функциях митохондрий, что указывает на возможный механизм передачи в мозг информации о сниженном β -окислении жирных кислот [Kruger et al., 2012].

Важными компонентами механизма поддержания энергетического гомеостаза являются нейромедиаторы серотонин [Watanabe et al., 2016] и дофамин (см. главу 4). С использованием модели алиментарного ожирения у мышей C57BL6 были выявлены значительные изменения в гипоталамической экспрессии генов, отвечающих за обмен дофамина, не совпадающие с профилями их экспрессии в периферических органах. Изменения в степени метилирования ДНК в промоторных участках генов тирозингидроксилазы и транспортера дофамина (DAT) (подробнее о нем см. в главе 6) коррелировали с профилями их экспрессии, что указывает на возможную роль в этом эпигенетического механизма [Vucetic et al., 2012].

С использованием технологии микрочипов была изучена экспрессия 45102 транскриптов в гипоталамусе мышей C57BL6, получавших высокожировую рацион [Lee et al., 2010]. Результатом стало выявление ДЭ 1220 генов, из числа которых с использованием биоинформатического анализа были выделены с высокой степенью достоверности гены лептина (*Lep*), проопиомеланокортина (*Pomc*), кокаин- и амфетамин-регулируемый транскрипт (*Cart*), нейропептида Y (*Npy*) и агути-родственного полипептида (*Agrp*). Была также выявлена положительная ДЭ 5 генов, контролирующих обмен дофамина, включая тирозингидроксидазу (*TH*), дофаминовый транспортер нейронов (*DAT*), растворимый сосудистый переносчик катехоламинов (*Slc18a2*), дофаминовый переносчик (*Slc6a3*) и моноаминоксидазу (*MAOA*). В другой работе данные в отношении ДЭ генов *TH* и *DAT* [Li et al., 2009] в вентромедиальном отделе гипоталамуса мышей не были получены, однако результаты этих исследований трудно сравнивать из-за больших различий в методике эксперимента на животных.

Транскриптомное профилирование дугообразного ядра и латерального отдела гипоталамуса показало, что экспрессия гена, кодирующего островковый полипептид амилоида, предшественник амилина (*Iapp*), была значительно снижена у *ob/ob* мышей и нормализовалась при введении лептина [Li et al., 2015]. Амилин и лептин характеризовались сходным электрофизиологическим действием на экспрессирующие рецептор

лептина ObRb-нейроны в гипоталамусе, тогда как синтетический антагонист амилина AC187 ингибировал их активность и маскировал эффект лептина. Предположительно экспрессия амилина регулируется лептином, и этот белок может действовать на ObRb в ансамбле с лептином в регуляции пищевого поведения.

Трудности и проблемы в полнотранскриптомных исследованиях

Помимо своих очевидных преимуществ, метод полнотранскриптомного профилирования имеет ряд трудностей и ограничений. В отличие от структуры самих генов, их транскриптом зависит от типа клеток и их окружения, что определяет различия, получаемые в разных работах на различных органах и тканях [Kumar et al., 2011]. Отсутствуют стандартизованные единицы для измерения генной экспрессии; данные обычно представляются как относительные (в виде кратности изменения эффектов по отношению к т.н. «реперным» генам, уровень экспрессии которых условно рассматривается в качестве биологической константы, или по отношению к внутренним стандартам микрочипа). При использовании транскриптомики в клинических условиях отсутствуют данные о норме экспрессии, что затрудняет оценку изменений в условиях патологии [Gresham et al., 2008]. Множество данных было получено с использованием несовпадающих экспериментальных платформ, чипов и биоинформатических методов, что затрудняет сравнение этих результатов [MAQC Consortium, et al., 2006]. Значимость при ожирении ряда генов, выявленная в полнотранскриптомных исследованиях, не воспроизвелась при повторении этих работ другими авторами, и не была подтверждена количественными методами, таким как ОТ-ПЦР [Miklos & Maleszka, 2004]. Следует учитывать также источники ошибок и артефактов, связанных с отбором проб, их хранением, загрязнением посторонним генетическим материалом, объединением биологических образцов в пул и т.д.

Заключение

Современные методы транскриптомики, включая технологии количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией

и ДНК-микрочипов, позволили по-новому подойти к поиску чувствительных молекулярных маркеров ожирения. Профили дифференциальной экспрессии генов являются во многом органо- и тканеспецифичными для жировой ткани, печени, головного мозга и других органов и тканей, а также могут существенно различаться на *in vivo* моделях животных с генетически обусловленным и индуцированным рационом ожирением. Вместе с тем отмечается согласованная регуляция в органах и тканях экспрессии обширных групп генов, связанных с липидным, холестериновым и углеводным обменом, синтезом и циркуляцией нейромедиаторов дофамина и серотонина, пептидных гормонов, цитокинов, являющихся индукторами системного воспаления. Это свидетельствует о наличии регуляторных контуров, отвечающих за направленные сдвиги в сложном ансамбле биохимических процессов, участвующих в увеличении жировой ткани, вызванном алиментарным дисбалансом, генетическими дефектами либо сочетанием этих факторов.

Основной проблемой транскриптомных исследований на *in vivo* моделях является часто наблюдаемая рассогласованность между данными, полученными при полнотранскриптомном профилировании, и результатами определения в количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией величин экспрессии отдельных кандидатных генов, а также метаболомных и протеомных исследований. Выявление и устранение причин таких расхождений может стать одним из перспективных направлений совершенствования транскриптомных исследований.

Важным фактором, сдерживающим применение методов транскриптомики в клинической диагностике, является относительно малая доступность образцов органов и тканей (печень, поджелудочная железа, бурая жировая ткань и др.). Следствием этого является фрагментарность данных транскриптомного исследования у больных с алиментарным ожирением. Возможным путем устранения пробелов в данной области могла бы быть разработка методов оценки дифференциальной экспрессии генов в более доступных для исследования биосубстратах, например, различных субпопуляциях лейкоцитов периферической крови.

Литература к главе 2

- Ashburner M., Ball C.A., Blake J.A., Botstein D., Butler H., Cherry J.M., et al. Gene ontology: tool for the unification of biology The Gene Ontology Consortium. *Nat Genet.* 2000; 25(1): 25-29.

- Cagney G., Park S., Chung C., Tong B., O'Dushlaine C., Shields D. C., et al. Human tissue profiling with multidimensional protein identification technology. *J. Proteome Res.* 2005; 4(5): 1757-1767.
- Charriere G., Cousin B., Arnaud E., André M., Bacou F., Penicaud L., et al. Preadipocyte conversion to macrophage. Evidence of plasticity. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(11): 9850-9855
- Cortez-Pinto H., Machado M.V. Uncoupling proteins and non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol.* 2009; 50(5): 857-860.
- Deng X., Elam M.B., Wilcox H. G., Cagen L. M., Park E. A., Raghov R., et al. Dietary olive oil and menhaden oil mitigate induction of lipogenesis in hyperinsulinemic corpulent JCR:LA-cp rats: Microarray analysis of lipid-related gene expression. *Endocrinology.* 2004; 145(12): 5847-5861.
- Denhez B., Lizotte F., Guimond M-O., Jones N., Takano T., Geraldès P. Increased SHP-1 protein expression by high glucose levels reduces nephrin phosphorylation in podocytes. *J. Biol. Chem.* 2015; 290(1): 350-358.
- Edlow A. G., Guedj F., Pennings J. L. A., Sverdlow D., Neri C., Bianchi D.W. Males are from Mars, females are from Venus: sex-specific fetal brain gene expression signatures in a mouse model of maternal diet-induced obesity. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2016; 214(5): 623e1-623e10.
- Ferrante A. W., Thearle M., Liao T., Leibel R. L. Effects of leptin deficiency and short-term repletion on hepatic gene expression in genetically obese mice. *Diabetes.* 2001; 50(10): 2268-2278.
- Forest C., Tordjman J., Glorian M., Duplus E., Chauvet G., Quette J., et al. Fatty acid recycling in adipocytes: A role for glyceroneogenesis and phosphoenolpyruvate carboxykinase. *Biochem. Soc. Trans.* 2003; 31(Pt6): 1125-1129.
- Ghosh S., Dent R., Harper M.-E., Gorman S.A., Stuart J. S., McPherson R. Gene expression profiling in whole blood identifies distinct biological pathways associated with obesity. *BMC Med. Genomics.* 2010; 3: 56.
- Glastras S. J., Wong M. G., Chen H., Zhang J., Zaky A., Pollock C. A., et al. FXR expression is associated with dysregulated glucose and lipid levels in the offspring kidney induced by maternal obesity. *Nutr. Metab.* 2015; 12: 40.
- Gomez-Ambrosi J., Catalan V., Diez-Caballero A., Martinez-Cruz L. A., Gil M. J., García-Foncillas J., et al. Gene expression profile of omental adipose tissue in human obesity. *FASEB J.* 2004; 18(1): 215-217.
- Gopinath B., Subramanian I., Flood V. M., Baur L. A., Pfund N., Burlutsky G., et al. Relationship between breast-feeding and adiposity in infants and preschool children. *Public Health Nutr.* 2012; 15(9): 1639-1644.
- Gresham D., Dunham M. J., Botstein D. Comparing whole genomes using DNA microarrays. *Nature Rev Genet.* 2008; 9(4): 291-302.

- Han J., Luo T., Gu Y., Jia W., Luo M. Cathepsin K regulates adipocyte differentiation: Possible involvement of type I collagen degradation. *Endocr. J.* 2009; 56(1): 55-63.
- Huang Z. H., Luque R. M., Kineman R. D., Mazzone T. Nutritional regulation of adipose tissue apolipoprotein E expression. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2007; 293(1): E203-E209.
- Jain N., Zhang T., Kee W. H., Li W., Cao X. Protein kinase C delta associates with and phosphorylates Stat3 in an interleukin-6-dependent manner. *J. Biol. Chem.* 1999; 274(34): 24392-24400.
- Jenkins N. T., Padilla J., Thorne P. K., Martin J. S., Rector R. S., Davis J. W., et al. Transcriptome-wide RNA sequencing analysis of rat skeletal muscle feed arteries. I. Impact of obesity. *J. Appl. Physiol.* 2014; 116(8): 1017-1032.
- Inoue M., Ohtake T., Motomura W., Takahashi N., Hosoki Y., Miyoshi S., et al. Increased expression of PPARgamma in high fat diet-induced liver steatosis in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005; 336: 215-222.
- Ishii T., Itoh K., Takahashi S., Sato H., Yanagawa T., Katoh Y., et al. Transcription factor Nrf2 coordinately regulates a group of oxidative stress-inducible genes in macrophages. *J. Biol. Chem.* 2000; 275(21): 16023-16029.
- Karra E., O'Daly O. G., Choudhury A.I., Yousseif A., Millership S., Neary M. T., et al. A link between FTO, ghrelin, and impaired brain food-cue responsivity. *J. Clin. Invest.* 2013; 123(8): 3539-3551.
- Kim J. K. Fat uses a TOLL-road to connect inflammation and diabetes. *Cell. Metab.* 2006; 4(6): 417-419.
- Kim S., Sohn I., Ahn J.I., Lee K. H., Lee Y. S., Lee Y. S. Hepatic gene expression profiles in a long-term high-fat diet-induced obesity mouse model. *Gene.* 2004; 340(1): 99-109
- Kim Y., Park T. DNA microarrays to define and search for genes associated with obesity. *Biotechnol. J.* 2010; 5(1): 99-112.
- Kolehmainen M., Vidal H., Alhava E., Uusitupa M. I. Sterol regulatory element binding protein 1c (SREBP-1c) expression in human obesity. *Obes. Res.* 2001; 9(11): 706-712.
- Kruger C., Kumar K.G., Mynatt R. L., Volaufova J., Richards B. K. Brain transcriptional responses to high-fat diet in acads-deficient mice reveal energy sensing pathways. *PLoS ONE.* 2012; 7(8): e41709.
- Kubo Y., Kaidzu S., Nakajima I., Takenouchi K., Nakamura F. Organization of extracellular matrix components during differentiation of adipocytes in long-term culture. *In vitro Cell Dev. Biol. Anim.* 2000; 36(1): 38-44.
- Kumar M.S., Priyanka J., Prashant M. Microarray evidences the role of pathologic adipose tissue in insulin resistance and their clinical implications. *J. Obes.* 2011; 2011: 587495.
- Lee A. K., Mojtahed-Jaberi M., Kyriakou T., Astarloa E. A., Arno M., Marshall N. J., et al. Effect of high-fat feeding on expression of genes controlling availability of dopamine in mouse hypothalamus. *Nutrition.* 2010; 26(4): 411-422. doi: 10.1016/j.nut.2009.05.007.

- Lee J. H., Han K. D., Jung H. M., Youn Y. H., Lee J. Y., Park Y. G., et al. Association between obesity, abdominal obesity, and adiposity and the prevalence of atopic dermatitis in young Korean adults: the Korea National health and nutrition examination survey 2008-2010. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2016; 8(2): 107-114.
- Lee Y. H., Nair S., Rousseau E, Allison D. B., Page G. P, Tataranni P. A., et al. Microarray profiling of isolated abdominal subcutaneous adipocytes from obese vs non-obese Pima Indians: Increased expression of inflammation-related genes. *Diabetologia.* 2005; 48(9): 1776-1783.
- Levan C., Ruiz E., Yang X. The pathogenesis of obesity from a genomic and systems biology perspective. *Yale J. Biol. Med.* 2014; 87(2): 113-126.
- Li Z., Kelly L., Heiman M., Greengard P., Friedman J.M. Hypothalamic amylin acts in concert with leptin to regulate food intake. *Cell Metab.* 2015; 22(6): 1059-1067.
- Liang C. P, Tall A. R. Transcriptional profiling reveals global defects in energy metabolism, lipo-protein, and bile acid synthesis and transport with reversal by leptin treatment in ob/ob mouse liver. *J. Biol. Chem.* 2001; 276(52): 49066-49076.
- Maebuchi M., Machidori M., Urade R., Ogawa T., Moriyama T. Low resistin levels in adipose tissues and serum in high-fat fed mice and genetically obese mice: Development of an ELISA system for quantification of resistin. *Arch Biochem Biophys.* 2003; 416(2): 164-170.
- Marrades M. P, Milagro F.I., Martinez J. A., Moreno-Aliaga M. J. Differential expression of aquaporin 7 in adipose tissue of lean and obese high fat consumers. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006; 339(3): 785-789.
- MAQC Consortium, Shi L, Reid LH, et al. (всего 135 авторов). The microarray quality control (MAQC) project shows inter- and intraplatform reproducibility of gene expression measurements. *Nat Biotechnol.* 2006; 24(9): 1151-1161. doi: 10.1038/nbt1239.
- McMurray F, Church C. D., Larder R., Nicholson G., Wells S., Teboul L., et al. Adult onset global loss of the Fto gene alters body composition and metabolism in the mouse. *PLoS Genet.* 2013; 9(1): e1003166.
- Midwood K., Sacre S., Piccinini A. M. Tenascin-C is an endogenous activator of Toll-like receptor 4 that is essential for maintaining inflammation in arthritic joint disease. *Nat. Med.* 2009; 15(7): 774-780.
- Miklos G. L. G., Maleszka R. Microarray reality checks in the context of a complex disease. *Nature Biotechnology.* 2004; 22(5): 615-621.
- Nadler S. T., Stoehr J. P., Schueler K. L., Tanimoto G., Yandell B. S., Attie AD. The expression of adipogenic genes is decreased in obesity and diabetes mellitus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2000; 97(21): 11371-11376.

- Nieman D. C., Nehlsen-Cannarella S.L., Henson D. A., Butterworth D. E., Fagoaga O. R., Warren B. J., Rainwater M. K. Immune response to obesity and moderate weight loss. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 1996; 20(4): 353-360.
- Nobrega M. A. TCF7L2 and glucose metabolism: time to look beyond the pancreas. *Diabetes.* 2013; 62(3): 706-708.
- Patsouris D., Reddy J. K., Muller M., Kersten S. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha mediates the effects of high-fat diet on hepatic gene expression. *Endocrinology.* 2006; 147(3): 1508-1516.
- Shi H., Kokoeva M. V., Inouye K., Tzamelis I., Yin H., Flier J.S. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 2006; 116(11): 3015-3025.
- Soukas A., Cohen P., Socci N. D., Friedman J. M. Leptin specific patterns of gene expression in white adipose tissue. *Genes Dev.* 2000; 14(8): 963-980.
- Taleb S., Lacasa D., Bastard J. P., Poitou C., Canello R., Pelloux V., et al. Cathepsin S, a novel biomarker of adiposity: relevance to atherogenesis. *FASEB J.* 2005; 19(11): 1540-1542.
- van Can J., Sloth B., Jensen C.B., Flint A., Blaak E.E., Saris W.H. Effects of the once-daily GLP-1 analog liraglutide on gastric emptying, glycemic parameters, appetite and energy metabolism in obese, non-diabetic adults. *Intl. J. Obes.* 2014; 38: 784-793.
- Vucetic Z., Carlin J., Totoki K., Reyes T. M. Epigenetic dysregulation of the dopamine system in diet induced obesity. *J. Neurochem.* 2012; 120(6): 891-898.
- Watanabe H., Nakano T., Saito R., Akasaka D., Saito K., Ogasawara H., et al. Serotonin improves high fat diet induced obesity in mice. *PLoS One.* 2016; 11(1): e0147143.
- Watanabe M., Houten S. M., Wang L., Moschetta A., Mangelsdorf D. J., Heyman R. A., et al. Bile acids lower triglyceride levels via a pathway involving FXR, SHP, and SREBP-1c. *J. Clin. Invest.* 2004; 113(10): 1408-1418.
- Widberg C. H., Newell F. S., Bachmann A. W., Ramnøruth S. N., Spelta M. C., Whitehead J. P., et al. Fibroblast growth factor receptor 1 is a key reg-ulator of early adipogenic events in human preadipocytes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2009; 296(1): E121-E131.
- Winnier D. A., Fourcaudot M., Norton L., Abdul-Ghani M. A., Hu S .L., Farook V. S., et al. Transcriptomic identification of ADH1B as a novel candidate gene for obesity and insulin resistance in human adipose tissue in Mexican Americans from the Veterans administration genetic epidemiology study (VAGES). *PLoS One.* 2015; 10(4): e0119941.
- Yang R. L., Li W., Shi Y. H., Le G. W. Lipoic acid prevents high-fat diet-induced dyslipidemia and oxidative stress: a microarray analysis. *Nutrition.* 2008; 24(6): 582-588.
- Yang R. Z., Lee M. J., Hu H., Pollin T. I., Ryan A. S., Nicklas B. J., et al. Acute-phase serum amyloid A: an inflammatory adipokine and potential link between obesity and its metabolic complications. *PLoS Med.* 2006; 3(6): e287.

- Yang X., Schadt E.E., Wang S., Wang H., Arnold A. P., Ingram-Drake L., et al. Tissue-specific expression and regulation of sexually dimorphic genes in mice. *Genome Res.* 2006; 16(8): 995-1004.
- Younossi Z.M., Gorreta F., Ong J. P., Schlauch K., Del Giacco L., Elariny H., et al. Hepatic gene expression in patients with obesity-related nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int.* 2005; 25(4): 760-771.

Регуляторные микроРНК в патогенезе ожирения

ТРАНСКРИПТОМ КЛЕТКИ, то есть вся совокупность синтезируемых в процессах жизнедеятельности РНК (транскриптов генов), включает не только транслируемые последовательности, представленные разнообразными мРНК, кодирующими аминокислотные цепи белков, но и множество нетранслируемых РНК. В результате протекания процессов сплайсинга первичные транскрипты генов подвергаются многочисленным модификациям, включающим фрагментацию (разрезание), склеивание и перестановку фрагментов. В последнее время наибольшее внимание исследователей привлекает широкий класс объектов, представляющих собой продукты глубокой модификации исходных генных транскриптов, и присущие им регуляторные функции в метаболизме. Одним из новых и принципиально важных направлений в постгеномных исследованиях механизмов контроля массы тела является выявление роли микроРНК (miRs), присутствующих во всех метаболически активных тканях [Abente et al., 2016]. В задачи данной главы входит анализ данных литературы об экспрессии различных miRs как маркеров развития ожирения и родственных алиментарно-зависимых заболеваний.

MiRs: структура и механизмы действия

MiRs — это маленькие (в среднем по 22 нуклеотидных остатка) однонитевые РНК, которые образуются путем ограниченного расщепления более длинных РНК-предшественников и локализованы не только

внутриклеточно, но и циркулируют в крови, главным образом, в составе липидных микровезикул. Они секретируются адипоцитами, моноцитами и клетками эндотелия и являются компонентами универсального механизма, ответственного за установление коммуникаций между различными видами клеток и за системное распространение патологического процесса. В организме человека и лабораторных животных было идентифицировано свыше 1800 miRs [Peterson et al., 2014], нуклеотидные последовательности которых представлены в международной базе данных [Manchester University, 2020]. Последовательности множества miRs высоко консервативны и мало различаются у филогенетически далёких видов. Так, например, по данным [Manchester University, 2020] последовательности miR-29b-2 мыши и человека полностью идентичны, за исключением отсутствия у последней трёх остатков на 3'-конце. Ввиду этого, многие эффекты, выявленные для miRs на культурах клеток животных и всевозможных *in vivo* моделях, могут быть, с большой долей вероятности, экстраполированы на человека.

Изначально существовало предположение, что miRs являются регуляторами транскрипции, однако впоследствии было доказано, что действие miRs реализуется в основном на посттранскрипционном уровне [Hulsmans et al., 2011; Deiluiis, 2016]. Считается, что miRs, связываясь с мРНК на нетранслируемых участках, ускоряют её деградацию или блокируют трансляцию. Известно около 9 механизмов подавления трансляции белков под действием miRs, причём считается, что все они реализуются в той или иной степени [Morozova et al., 2012]. Наиболее популярным в литературе объяснением эффектов miRs является их действие в составе т. н. «РНК-индуцируемого комплекса выключения гена» (RISC) [Sen & Blau, 2005], содержащего miRs, малые интерферирующие РНК (siRNA) и белки группы Argonaute (AGO), представляющие собой эндонуклеазы, вызывающие специфическую деградацию двунитевой РНК [Turchinovich & Burwinkel, 2012].

Роль miRs в адипогенезе

MiRs активно вовлечены в регуляцию липидного обмена. Значительная часть miRs с установленной физиологической функцией обладают способностью усиливать адипо- и атерогенез, хотя есть и такие miRs, которые могут подавлять эти процессы. К числу «адипогенных» принадлежит полифункциональная miR-122, ключевой активатор синтеза холестерина

и жирных кислот в печени. Ингибирование её синтеза на модели алиментарного ожирения у мышей приводило к снижению уровня холестерина плазмы крови, существенному облегчению симптомов стеатоза печени, подавлению экспрессии таких липогенных генов, как синтаза жирных кислот (*FAS*), ацетил-КоА карбоксилаза типа 2 (*ACC2*), стеарил-КоА-десатураза 1 (*SCD-1*) и др. [Esau et al., 2006].

Синтез miR-143 повышается в преадипоцитах человека, дифференцирующихся в зрелые адипоциты, а также при аналогичных процессах в культуре мышечных преадипоцитов 3T3-L1 [Esau et al., 2004; Kajimoto et al., 2006]. В работе [Ahn et al., 2013] с использованием этой же *in vitro* модели показано, что в процессе адипогенеза возрастает синтез miR-146b. Наиболее вероятной мишенью этой miR является сиртуин 1 (*SIRT1*). Предполагается, что miR-146b подавляет экспрессию *SIRT1* и, соответственно, опосредуемое им деацетилирование транскрипционного фактора FOXO1. Ацетилированная форма FOXO1 имеет сниженную активность, и miR-146b, подавляя этот механизм, оказывает адипогенное действие.

Система сиртуинов (деацетилаз гистонов) является также объектом воздействия miR-486-5p, которая по данным [Kumar et al., 2011] экспрессируется в мезенхимальных стволовых клетках, происходящих из жировой ткани, выделенной от старых людей (линия hADSC). При инкубировании этих клеток *in vitro* с избытком глюкозы запускался синтез miR-486-5p. В клетках печени экспрессия *SIRT1* подавляется под действием miR-181a и, напротив, снижение уровня miR-181a приводит к возрастанию экспрессии *SIRT1*. На модели алиментарного ожирения у мышей супрессия miR-181a была способна улучшить гомеостаз глюкозы за счет увеличения чувствительности клеток к инсулину [Zhou et al., 2012].

Экспрессия miR-335 была в наибольшей степени, по сравнению с другими изученными miRs, положительно сопряжена с развитием ожирения [Nakanishi et al., et al., 2009], что было установлено методами Northern-блоттинга и количественной ПЦР «в реальном времени». У мышей C57Bl/6 наиболее высокая экспрессия этой miR отмечалась в БеЖТ, а также в головном мозге, лёгких, сердце и скелетных мышцах; в печени она была, напротив, относительно невелика. Однако у происходящих от этой линии генетически предрасположенных к ожирению db/db мышей экспрессия в печени miR-335 резко (в 3-5 раз) возрастала. Это коррелировало с накоплением триглицеридов и холестерина в печени. Ещё более сильным было у этих мутантных мышей усиление экспрессии miR-335 в БеЖТ.

MiR-27b печеночного происхождения была идентифицирована у мышей C57BL/6J в качестве по-разному экспрессируемой в зависимости

от потребления сбалансированного, либо т.н. «западного» (Western) рациона с избытком жира и сахаров [Vickers et al., 2013]. В дальнейшем было обнаружено, что эта miR непосредственно регулирует экспрессию таких вовлеченных в метаболизм липидов генов, как *Ppar-γ*, *Angpt3*, *Ndst1* и *Gpat*. Интронная miR-378/378*, встроенная в ген коактиватора 1b (*PGC-1b*) рецептора PPAR-γ, согласованно экспрессируется в ходе адипогенеза в тех же тканях, что и этот рецептор [Gerin et al., 2010]. Специфическими мишенями данной miR были экспрессия генов *Crot* (карнитин-О-ацетилтрансфераза) и *Med13* (субъединица медиаторного комплекса, полифункциональный белок, участвующий, в числе прочего, в обмене тиреоидных гормонов) [Carrer et al., 2012]. Авторы работы, используя мышей с нокаутом miR-378/378*, показали, что эти животные были устойчивы к развитию ожирения, когда им давали ВЖР, причем у них отмечалась повышенная интенсивность метаболизма жирных кислот.

MiR-107 воздействовала на ген синтазы жирных кислот (*Fasn*) так, что при этом возрастало накопление триглицеридов в клетках печени [Bhatia et al., 2014]. Мишенью miR-205 является ген ацил-КоА синтазы жирных кислот с большой длиной цепи (ACSL1) [Cui et al., 2014]. По данным [Ng et al., 2014] miR-24 антагонистична в отношении синтеза трансмембранного белка INSIG1, ответственного за удержание липогенного транскрипционного фактора SREBP от поступления в комплекс Гольджи и далее, после процессинга, в ядро клетки. Экспрессия miR-185 повышается у мышей на ВЖР, причем её мишенью является SREBP2, а синтез самой этой miR регулируется на транскрипционном уровне под действием SREBP-1c [Yang M. et al., 2014].

MiR-34a рассматривается в качестве фактора, ингибирующего действие ростовых факторов фибробластов FGF15 и FGF19, участвующих в регуляции энергетического обмена и предотвращении ожирения. У мышей, которым вводили синтетические антисмысловые последовательности для miR-34a, снижалось накопление триглицеридов и повышались запасы гликогена в печени, возрастала инсулиновая чувствительность. Напротив, при ожирении отмечено аномальное повышение экспрессии этой miR [Fu & Kemper, 2016].

MiRs как регуляторы процессов метаболизма

В отличие от перечисленных в предыдущем разделе главы miRs, стимулирующих процессы адипогенеза, продукция miR-27 (miR-27a

по классификации [Manchester University, 2020] снижается в ходе дифференцировки жировой ткани [Lin et al., 2009]. В эксперименте с дифференцировкой преадипоцитов 3T3-L1 miR-27a ингибировала экспрессию PPAR γ и C/EBP α (энхансер-связывающего белка альфа) [Zuo et al., 2006]. Эта miR была также идентифицирована как важный регулятор адипогенеза БУЖТ, воздействующий на ряд её транскрипционных факторов, таких как PRDM16, PPAR α и CREB [Sun & Trajkovski, 2014]. Кроме этого, miR-27 ингибирует адипогенез в мезенхимальных стволовых клетках hADSCs [Kang et al., 2013]. Таким образом, miR-27, имеющая значительную гомологию последовательности с рассмотренной выше miR-27b, обладает, в отличие от последней, отчетливой антиадипогенной функцией в жировой ткани.

MiR-199a-3p способна по данным [Cheng et al., 2017] подавлять накопление триглицеридов и экспрессию липогенных генов в печени мышей C57BL/6J. В качестве мишени воздействия данной miR был идентифицирован специфический липогенный белковый фактор (Sp1).

Роли miR-137 и miR-363 в адипогенезе были изучены на рассмотренной выше *in vitro* модели клеток hADSC. Первая из этих miRs ингибирует пролиферацию и адипогенез в hADSCs, воздействуя на ген, который кодирует фактор контроля деления клеток CDC42, а вторая ингибирует рост и пролиферацию hADSCs, блокируя переход от клональной экспансии к конечной дифференцировке [Shin et al., 2014].

У мышей с групповым нокаутом кластера miR-200b/a/429, получавших как сбалансированный рацион, так и ВЖР, возрастала склонность к набору жировой массы тела, снижались чувствительность к инсулину и толерантность к глюкозе. Следствием дефицита указанных miRs было подавление липолиза в адипоцитах и снижение чувствительности жировой ткани к синтетическому агонисту β -адренорецепторов CL-316,243 [Tao et al., 2016].

Повышенная экспрессия miR-145 ингибирует дифференцировку и накопление триглицеридов в ходе дифференцировки адипоцитов свиньи [Guo et al., 2012]. Экспрессия miR-540 снижается в ходе дифференцировки крысиных стволовых клеток в адипоциты. При этом miR-540 подавляет адипогенез, регулируя экспрессию PPAR γ [Chen L. et al., 2015].

Ряд идентифицированных miRs обладают сложным, амбивалентным характером влияния на адипогенез. Так, miR-21 дифференцированно экспрессируется в БУЖТ в ходе развития ожирения у мышей и может играть две функциональные роли: при низких уровнях miR-21 на ранних стадиях ожирения происходит пролиферация

предшественников адипоцитов, а высокие уровни этой miR на поздних стадиях ожирения вносят вклад в усиление адипогенной дифференцировки. Специфической мишенью miR-21 является STAT3, ингибирование которого снижает адипогенную дифференцировку [Kim Y.J. et al., 2012].

Стволовые клетки стромы жировой ткани дифференцируются в адипоциты благодаря серии регулируемых стадий, которые являются мишенью воздействия miR-143, опосредуемого MAP2K5-ERK5 сигнальным путем. Увеличение экспрессии miR-143 может ингибировать адипогенез на ранней стадии дифференцировки и, напротив, усиливать его на поздних стадиях (подавление роста и конечная дифференцировка). Предполагаемый механизм состоит в том, что miR-143 регулирует переход от клональной экспансии к конечной дифференцировке, что создает потенциальную мишень для терапевтического воздействия на эти процессы [Chen et al., 2014].

MiR-224-5p меняет функцию в зависимости от стадии дифференцировки адипоцитов [Peng et al., 2013]. На ранних стадиях адипогенеза эта miR присутствует в малых количествах, однако ее количество значительно возрастает на поздних стадиях. В ходе терминальных стадий дифференцировки miR-224-5p может регулировать метаболизм жирных кислот, воздействуя на ACSL4 (синтетазу ацил-КоА с большой длиной цепи), что приводит к возрастанию уровня свободных жирных кислот.

MiRs и термогенез бурой жировой ткани

Ряд miRs играют важную роль в термогенезе и функции БуЖТ. Так, miR-26a/b определяют развитие БуЖТ у мышей, причём их мишенью является ген пептидазы, осуществляющей высвобождение растворимой формы TNF- α — цитокина, активирующего процессы энергетического катаболизма и термогенеза [Karbiener et al., 2014]. Выработка miR-26a значительно усиливается при холодовом воздействии, требующем повышенной выработки тепла для поддержания постоянной температуры тела. Высказывается предположение, что модуляция уровней miR-26a *in vivo* может быть использована для сдвига обмена в БуЖТ в сторону большего расхода энергии. При этом в работе [Fu et al., 2015] было показано снижение экспрессии miR-26a у людей и мышей с ожирением. MiR-26a повышает чувствительность к инсулину, за счёт чего снижает глюконеогенез и синтез жирных кислот в печени мышей

с ожирением. С другой стороны, подавление miR-26a у мышей, получавших обычный рацион, приводит к нарушению инсулиновой чувствительности, повышенной продукции глюкозы и увеличению синтеза жирных кислот. В тестах *in vitro* и *in vivo* были идентифицированы гены, являющиеся мишенями этой miR, такие, как вовлеченные в глюконеогенез *Tcf7l2* и *Pck1*, участвующие в биосинтезе жирных кислот *Acsl3*, *Acsl4* и ответственные за передачу инсулинового сигнала *Gsk3b*, *PKCd* и *PKCq*. По данным [Xie et al., 2015] экспрессия miR-26a при ожирении снижена в хондроцитах ткани хряща суставов, что рассматривается как один из патогенетических признаков сопутствующего развития остеоартрита.

Пролиферацию БуЖТ также усиливает miR-196a, которая вызывает дифференцировку преадипоцитов в бурые адипоциты посредством ингибирования гена *Noxс8*, функционально связанного с белым жиром. *Noxс8* представляет собой репрессор фактора C/EBP β , который, в свою очередь, является главным регулятором бурого адипогенеза. Возрастание количества БуЖТ и повышенный термогенез были характерны для трансгенных мышей с увеличенной экспрессией miR-196a, причем у этих мышей на ВЖР не развивалось ожирение [Mori et al., 2012].

Экспрессия miR155 в БуЖТ возрастает в процессе пролиферации преадипоцитов и в конце дифференцировки снижается до базального уровня. Мишенью воздействия данной miR также является C/EBP β , чем обеспечивается формирование стабильной отрицательной обратной связи энерготрат с пролиферацией и дифференцировкой адипоцитов [Chen et al., 2013]. Ингибирование синтеза miR155 усиливает дифференцировку бурых адипоцитов и способно вызывать эффект «побурения» БуЖТ. С другой стороны, нокаут изоформ 5p и 3p гена miR155 предотвращал развитие вызванного ВЖР алиментарного ожирения у мышей, что указывает на полифункциональную роль данной miR [Gaudet et al., 2016].

Важную роль в контроле бурого адипогенеза играют также miR-133 и её транскрипционный регулятор *Mef2* [Trajkovski et al., 2012]. MiR-133a по данным [Liu & Kuang, 2013] подавляла уровень адипогенеза БуЖТ.

MiR-106b и miR-93 были идентифицированы как ингибиторы адипогенеза бурой жировой ткани и их уровни отрицательно коррелировали с экспрессией гена, кодирующего разобщающий белок UCP1. Обе эти miR присутствуют в большом количестве в буром жире от мышей, которых кормили ВЖР [Wu et al., 2013].

Связь MiRS с системами цитокинов и адипокинов

Ряд miRS идентифицированы в качестве факторов, влияющих на баланс цитокинов и инсулиновую резистентность при ожирении. Так, по данным [Arner et al., 2012] мишенью воздействия miR-126 и miR-193b у больных с ожирением является CCL2 (MCP-1) — хемокин, высвобождаемый адипоцитами вследствие воспалительной реакции в жировой ткани. У крыс линии Zucker, наследственно предрасположенных к ожирению, физические упражнения приводили к возрастанию экспрессии miR-126, играющей важную роль в регуляции сигнального каскада фактора роста эндотелия сосудов VEGF [Gomes et al., 2017].

В клиническом исследовании, в котором характеризовали экспрессию различных miR в абдоминальной жировой ткани больных с ожирением, была выявлена повышенная продукция miR-221. В первичных адипоцитах человека miR-221 прямо воздействует на ген ADIPOR1 рецептора адипонектина [Yamauchi & Kadowaki, 2013], и ETS1 — транскрипционный фактор, вовлеченный в метаболический гомеостаз и инсулиновую резистентность [Yang Y. et al., 2014].

С помощью полнотранскриптомного скрининга тканей генетически предрасположенных к ожирению мышей db/db (с нокаутом гена, кодирующего рецептор лептина) было отмечено значительное повышение в сравнении с мышами нормального генотипа C57Bl/6 уровней экспрессии miR-335 (в 4.7 раза), miR-183, miR-212, miR-328, miR-207, miR-19a, miR-434, miR-326, miR-409 и miR-467 и, напротив, подавление — miR-384 (в 26 раз), miR-133, miR-137, miR-33, miR-129, miR-34c, miR-142, miR-448, miR-144, miR-146 [Nakanishi et al., 2009].

Можно предположить, что в патогенезе ожирения участвуют и другие miRS, однако их точная роль неизвестна.

Схема основных воздействий miRS на обмен липидов, развитие БеЖТ, БуЖТ, контроль массы тела и ожирения, представлена на рисунке 1.

Перспективы терапевтического использования miRS

Установление уникальных профилей miRS, характерных для клеток различных типов, создало возможность разработки на этой основе

транскрипционных подходов к регуляции продукции miRs, являющихся эффекторами процессов липогенеза при ожирении, атеросклерозе и неалкогольном стеатогепатите. Так, был получен новый класс молекул, называемых «antagomirs», которые способны заставить «замолчать» эндогенные miRs [Hulsmans et al., 2011]. Они представляют собой синтетические короткие РНК, комплементарные определенным последовательностям мРНК, являющимся мишеням действия miRs. «Antagomirs»

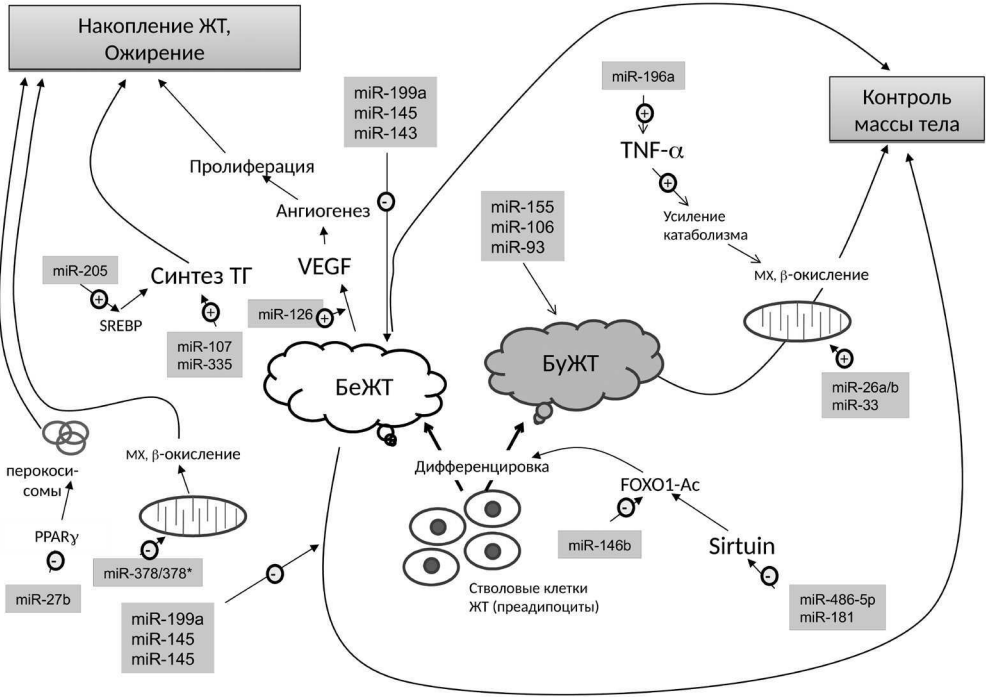


Рис. 1. Схема основных эффектов, опосредуемых действием miRs в развитии ожирения

могут быть химически модифицированы, с целью повысить их стойкость к биодegradации. Считается, что они также способны необратимо связываться с miRs, но это предположение требует подтверждения. В противоположность этому, существуют и подходы, позволяющие активировать miRs с помощью специфических т.н. miR-миметиков. Их функциональный участок идентичен соответствующему активному участку miRs, а нефункциональный присоединяет некую эффекторную

молекулу, например, холестерин, благодаря чему многократно усиливается их захват клетками.

Заключение

Таким образом, многочисленные miRs рассматриваются в качестве универсальных регуляторов активности генов, связанных с дифференцировкой жировой ткани, адипо- и ангиогенезом, синтезом и утилизацией липидов. Структура более чем 1800 идентифицированных miRs высоко консервативна и мало различается у человека и других млекопитающих, что косвенно указывает на общие для разных видов физиологические механизмы их действия. По современным представлениям miRs проявляют свои эффекты на пост-транскрипционном уровне, блокируя трансляцию мРНК или усиливая их деградацию. Большинство miRs, для которых доказано влияние на процессы адипогенеза, выступают в роли стимуляторов роста жировой ткани, накопления жира и развития инсулиновой резистентности, однако известен и ряд miRs, проявляющих противоположные этому виды активности. Секвенирование последовательности большого числа miRs наряду с установлением их функций позволило разработать новый класс фармакологических препаратов, включая синтетические антагонисты и агонисты отдельных miRs. Многие из miRs рассматриваются как удобные маркеры метаболических нарушений при ожирении как в клинике, так и на экспериментальных *in vivo* моделях.

Литература к главе 3

- Abente E. J., Subramanian M., Ramachandran V., Najafi-Shoushtari S. H. MicroRNAs in obesity-associated disorders. *Arch. Biochem. Biophys.* 2016; 589: 108-119.
- Ahn J., Lee H., Jung C. H., Jeon T. I., Ha T. Y. MicroRNA-146b promotes adipogenesis by suppressing the SIRT1-FOXO1 cascade. *EMBO Mol. Med.* 2013; 5(10): 1602-1612.
- Arner E., Mejhert N., Kulyte A., Balwierz P. J., Pachkov M., Cormont M., et al. Adipose tissue MicroRNAs as regulators of CCL2 production in human obesity. *Diabetes.* 2012; 61(8): 1986-1993.
- Bhatia H., Verma G., Datta M. MiR-107 orchestrates ER stress induction and lipid accumulation by post-transcriptional regulation of fatty acid synthase in hepatocytes. *Biochim. Biophys. Acta.* 2014; 1839(4): 334-343.

- Carrer M., Liu N., Grueter C. E., Williams A. H., Frisard M. I., Hulver M. W., et al. Control of mitochondrial metabolism and systemic energy homeostasis by microRNAs 378 and 378*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012; 109(38): 15330-15335.
- Chen L., Chen Y., Zhang S., Ye L., Cui J., Sun Q., et al. MiR-540 as a novel adipogenic inhibitor impairs adipogenesis via suppression of PPAR γ . *J. Cell. Biochem.* 2015; 116(6): 969-976
- Cheng Y., Huang L., Ping J., Chen T., Chen J. MicroRNA-199a-3p attenuates hepatic lipogenesis by targeting Sp1. *Am. J. Transl. Res.* 2017; 9(4): 1905-1913.
- Chen L., Hou J., Ye L., Chen Y., Cui J., Tian W., et al. MicroRNA-143 regulates adipogenesis by modulating the MAP2K5- ERK5 signaling. *Sci. Rep.* 2014; 4: 3819.
- Chen Y., Siegel F., Kipschull S., Haas B., Fröhlich H., Meister G., et al. miR-155 regulates differentiation of brown and beige adipocytes via a bistable circuit. *Nat. Commun.* 2013; 4: 1769.
- Cui M., Wang Y., Sun B., Ye L., Zhang X. MiR-205 modulates abnormal lipid metabolism of hepatoma cells via targeting acyl-CoA synthetase long-chain family member 1 (ACSL1) mRNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2014; 444(2): 270-275.
- Deiuliis J.A. MicroRNAs as regulators of metabolic disease: pathophysiologic significance and emerging role as biomarkers and therapeutics. *Int. J. Obes. (Lond).* 2016; 40(1): 88-101.
- Esau C., Davis S., Murray S. F., Yu X. X., Pandey S. K., Pear M., et al. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by *in vivo* antisense targeting. *Cell Metab.* 2006;3(2): 87-98.
- Esau C., Kang X., Peralta E., Hanson E., Marcusson E. G., Ravichandran L.V., et al. MicroRNA-143 regulates adipocyte differentiation. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(50): 52361-52365.
- Fu T., Kemper J. K. MicroRNA-34a and impaired FGF19/21 signaling in obesity. *Vitam. Horm.* 2016; 101: 175-196.
- Fu X., Dong B., Tian Y., Lefebvre P., Meng Z., Wang X., et al. MicroRNA-26a regulates insulin sensitivity and metabolism of glucose and lipids. *J. Clin. Invest.* 2015; 125(6): 2497-2509.
- Gaudet A.D., Fonken L. K., Gushchina L. V., Aubrecht T. G., Maurya S. K., Periasamy M., et al. miR-155 deletion in female mice prevents diet-induced obesity. *Sci. Rep.* 2016; 6: 22862.
- Gerin I., Bommer G. T., McCoin C. S., Sousa K. M., Krishnan V., MacDougald O. A. Roles for miRNA-378/378* in adipocyte gene expression and lipogenesis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2010; 299(2): E198-E206.
- Gomes J. L. P., Fernandes T., Soci U.P.R., Silveira A. C., Barretti M. D. L., Negrão C. E., et al. Obesity downregulates microRNA-126 inducing capillary rarefaction in skeletal

- muscle: effects of aerobic exercise training. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2017; 2017: 2415246.
- Guo Hulsmans M., De Keyzer D., Holvoet P. MicroRNAs regulating oxidative stress and inflammation in relation to obesity and atherosclerosis. *FASEB J.* 2011; 25(8): 2515-2527.
- Hulsmans M., De Keyzer D., Holvoet P. MicroRNAs regulating oxidative stress and inflammation in relation to obesity and atherosclerosis. *FASEB J.* 2011; 25(8): 2515-2527.
- Kajimoto K., Naraba H., Iwai N. MicroRNA and 3T3-L1 pre-adipocyte differentiation. *RNA.* 2006; 12(9): 1626-1632.
- Kang T., Lu W., Xu W., Anderson L., Bacanamwo M., Thompson W., et al. MicroRNA-27 (miR-27) targets prohibitin and impairs adipocyte differentiation and mitochondrial function in human adipose-derived stem cells. *J. Biol. Chem.* 2013; 288(48): 34394-34402. doi: 10.1074/jbc.M113.514372.
- Karbiener M., Pisani D. F., Frontini A., Oberreiter L. M., Lang E., Vegiopoulos A., et al. MicroRNA-26 family is required for human adipogenesis and drives characteristics of brown adipocytes. *Stem Cells.* 2014; 32(6.): 1578-1590.
- Kim S. J., Choi Y., Choi Y. H., Park T. Obesity activates toll-like receptor-mediated proinflammatory signaling cascades in the adipose tissue of mice. *J. Nutr. Biochem.* 2012; 23: 113-122. doi: 10.1016/j.jnutbio.2010.10.012.
- Kumar M. S., Priyanka J., Prashant M. Microarray evidences the role of pathologic adipose tissue in insulin resistance and their clinical implications. *J. Obes.* 2011; 2011: 587495.
- Lin Q., Gao Z., Alarcon R. M., Ye J., Yun Z. A role of miR-27 in the regulation of adipogenesis. *FEBS J.* 2009; 276(8): 2348-2358.
- Liu W., Kuang S. miR-133 links to energy balance through targeting Prdm16. *J. Mol. Cell Biol.* 2013; 5(6): 432-434.
- Manchester University. Homo sapiens miRNAs in the miRBase at Manchester University. [Электронный ресурс: http://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_summary.pl?org=has. Дата обращения 10.04.2020].
- Mori M., Nakagami H., Rodriguez-Araujo G., Nimura K., Kaneda Y. Essential role for miR-196a in brown adipogenesis of white fat progenitor cells. *PLoS Biol.* 2012; 10: e1001314
- Morozova N., Zinovyev A., Nonne N., Pritchard L. L., Gorban A. N., Harel-Bellan A. Kinetic signatures of microRNA modes of action. *RNA.* 2012; 18(9): 1635-1655.
- Nakanishi N., Nakagawa Y., Tokushige N., Aoki N., Matsuzaka T., Ishii K., et al. The up-regulation of microRNA-335 is associated with lipid metabolism in liver and white adipose tissue of genetically obese mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009; 385(4): 492-496.

- Ng R., Wu H., Xiao H., Willenbring H., Steer C. J., Song G. Inhibition of microRNA-24 expression in liver prevents hepatic lipid accumulation and hyperlipidemia. *Hepatology*. 2014; 60(2): 554-564.
- Peng Y., Xiang H., Chen C., Zheng R., Chai J., Peng J., et al. MiR-224 impairs adipocyte early differentiation and regulates fatty acid metabolism. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2013; 45(8): 1585-1593.
- Peterson S.M., Thompson J. A., Ufkin M. L., Sathyanarayana P., Liaw L., Congdon C.B. Common features of microRNA target prediction tools. *Front. Genet.* 2014; 5: 23.
- Sen G. L., Blau H. M. Argonaute 2/RISC resides in sites of mammalian mRNA decay known as cytoplasmic bodies. *Nat. Cell Biol.* 2005; 7(6): 633-636.
- Shin K. K., Kim Y. S., Kim J. Y., Bae Y. C., Jung J. S. miR-137 controls proliferation and differentiation of human adipose tissue stromal cells. *Cell. Physiol. Biochem.* 2014; 33(3): 758-768.
- Sun L., Trajkovski M. MiR-27 orchestrates the transcriptional regulation of brown adipogenesis. *Metabolism Clin. Exp.* 2014; 63(2): 272-282.
- Tao C., Ren H., Xu P., Cheng J., Huang S., Zhou R., et al. Adipocyte miR-200b/a/429 ablation in mice leads to high-fat-diet-induced obesity. *Oncotarget*. 2016; 7(42): 67796-67807.
- Trajkovski M., Ahmed K., Esau C. C., Stoffel M. MyomiR-133 regulates brown fat differentiation through Prdm16. *Nat. Cell. Biol.* 2012; 14(12): 1330-1335.
- Turchinovich A., Burwinkel B. Distinct AGO1 and AGO2 associated miRNA profiles in human cells and blood plasma. *RNA Biology*. 2012; 9(8): 1066-1075.
- Vickers K. C., Shoucri B. M., Levin M. G., et al. MicroRNA-27b is a regulatory hub in lipid metabolism and is altered in dyslipidemia. *Hepatology*. 2013; 57(2): 533-542.
- Wu Y., Zuo J., Zhang Y., Xie Y., Hu F., Chen L., et al. Identification of miR-106b-93 as a negative regulator of brown adipocyte differentiation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2013; 438(4): 575-580.
- Xie Q., Wei M., Kang X., Liu D., Quan Y., Pan X., et al. Reciprocal inhibition between miR-26a and NF- κ B regulates obesity-related chronic inflammation in chondrocytes. *Biosci. Rep.* 2015; 35(3): e00204.
- Yang Y., Wang Y., Zhou K., Hong A. Constructing regulatory networks to identify biomarkers for insulin resistance. *Gene*. 2014; 539(1): 68-74.
- Yamauchi T., Kadowaki T. Adiponectin receptor as a key player in healthy longevity and obesity-related diseases. *Cell. Metab.* 2013; 17(2): 185-196.
- Yang Y., Wang Y., Zhou K., Hong A. Constructing regulatory networks to identify biomarkers for insulin resistance. *Gene*. 2014; 539(1): 68-74.

- Zhou B., Li C., Qi W., Zhang Y., Zhang F., Wu J.X., et al. Downregulation of miR-181a upregulates sirtuin-1 (SIRT1) and improves hepatic insulin sensitivity. *Diabetologia*. 2012; 55(7): 2032-2043.
- Zuo Y., Qiang L., Farmer S. R. Activation of CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP) alpha expression by C/EBP beta during adipogenesis requires a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-associated repression of HDAC1 at the C/ebp alpha gene promoter. *J. Biol. Chem.* 2006; 281(12): 7960-7967.

Нейропептиды и нейромедиаторы как маркеры ожирения и метаболического синдрома

ПАТОГЕНЕЗ ОЖИРЕНИЯ имеет сложную структуру; важную роль в нем играют нарушения регуляции пищевого поведения, чувства голода, насыщения и аппетита. По современным данным, в центральной нервной системе (ЦНС) выделяют, как минимум, два контура такой регуляции, первый из которых, являющийся эволюционно древнейшим, может быть охарактеризован как «гомеостатический», смысл которого состоит в реакции ЦНС на поступающие от периферических органов и тканей химические сигналы об уровне потребления пищевых веществ и энергии [Vojanowska & Ciosek, 2016]. В норме такая реакция состоит в центральном подавлении чувства голода и аппетита, угасании пищевых поисковых рефлексов, результатом чего является снижение потребляемой калорийности. Однако при ожирении те или иные звенья в данной сигнальной цепи оказываются разрушенными, что приводит к потере адекватности в реакции ЦНС на количество потребляемых калорий.

Второй контур регуляции может быть условно охарактеризован как «гедонистический», поскольку в его основе лежит регуляция пищевого поведения, направленная на получение максимума удовольствия от самого процесса питания. Этот эволюционно более молодой контур опосредуется высшими отделами головного мозга, непосредственно связанными со вкусовым анализатором, и задействует активность каннабиноидных и опиоидных рецепторов, а также их эндогенных лигандов, воспроизводящих действие соответствующих психоактивных веществ. Стойкие изменения в этом контуре могут привести к извращению