Влияние гиперкалорийного рациона и кверцетина на полнотранскриптомный профиль ткани печени крыс линии Zucker-*LEPR*^{fa}

© Н.В. Трусов[1], С.А. Апрятин[1]*, А.Ю. Горбачев[1], В.А. Наумов[2], К.В. Мжельская[1], И.В. Гмошинский[1]

[1]ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва, Россия;
[2]ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

Пептидный гормон лептин (Lep) занимает центральное место в контроле энергетического гомеостаза и массы тела. Удобной моделью для изучения роли нарушенной рецепции Lep являются крысы Zucker-*LEPR*^{fa}, несущие в гомозиготе мутацию гена *LEPR*. В качестве одного из перспективных биологически активных веществ, корригирующих нарушения обмена веществ при ожирении и метаболическом синдроме, в настоящее время рассматривается кверцетин (Q; 3,3′,4′,5,7-пентагидроксифлавон).

Цель исследования — изучить экспрессию генов в ткани печени крыс с нарушенной рецепцией Lep под влиянием высокожирового и высокоуглеводного рациона (ВУВЖД) и/или добавки к рациону кверцетина.

Материал и методы. Использовали четыре группы крыс самцов линии Zucker-*LEPR*^{fa}. В течение 61-х суток животные 1-й группы (контроль) получали сбалансированный полусинтетический рацион, 2-й группы — такой же рацион с добавкой Q в дозе 50 мг/кг массы тела, 3-й группы — ВУВЖД (30% жиров по массе сухих веществ и 20% фруктозы вместо воды), 4-й группы — такой же рацион и добавку Q. Полнотранскриптомное профилирование ткани печени выполняли на микрочипах из набора Gene Expression Hybridization Kit («Agilent Technologies»). Полимеразную цепную реакцию в «реальном времени», совмещенную с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), выполняли для содержащихся в ткани печени транскриптов генов *Crot, FTO, NpY, Prdx1, Prom1, Ugt2b37* и *GAPDH*.

Результаты. Потребление Q и/или ВУВЖД крысами Zucker-*LEPR*^{fa} приводит к значимым изменениям в уровне транскрипции 1604 генов в ткани печени, из которых эффект собственно Q проявляется для 1396 генов. Изменения в транскриптоме ткани печени, вызываемые ВУВЖД, более выражены, чем обусловленные добавкой Q на фоне стандартного рациона. Q оказывал влияние на экспрессию генов, отвечающих за процессы детоксикации ксенобиотиков *(UGT2b37)*, редокс-гомеостаз (*Prdx1*), бета-окисления жирных кислот (*Crot*) и центральные механизмы, воздействующие на чувство голода и насыщения (*NpY*), а также потенцировал либо отменял эффекты ВУВЖД в отношении ряда других функционально значимых генов. Биоинформатический анализ выявил влияние потребления ВУВЖД и/или Q на 23 метаболических пути (KEGGS), из которых 7 [метаболизм стероидов, арахидоновой и линолевой кислот, ретиноидов, лекарственных препаратов и ксенобиотиков (под действием цитохрома Р-450), секреции желчи] были затронуты во всех опытных группах.

Заключение. Изменения в транскриптоме печени крыс Zucker-*LEPR*^{fa}, вызванные потреблением ВУВЖД и/или Q, согласовались с экспериментальными данными об изменении показателей краткосрочной памяти, тревожности и минерального обмена у этих животных.

Ключевые слова: транскриптом, печень, крысы, лептин, ожирение, метаболические пути.

The effect of hypercaloric diet and Quercetin on the full-transcriptome liver tissue profile of Zucker-*LEPR*^{fa} rats

Nikita V. Trusov[1], Sergey A. Apryatin[1]*, Aleksey Yu. Gorbachev[1], Vladimir A. Naumov[2], Kristina V. Mzhelskaya[1], Ivan V. Gmoshinski[1]

[1]Federal Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia;
[2]National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

The peptidic hormone leptin (Lep) occupies a central place in the control of energy homeostasis and body weight in mammals. A convenient model for studying the role of impaired Lep reception is the Zucker-*LEPR*^{fa} rats, which carry a mutation in the homozygote of the *LEPR* gene. Quercetin (Q; 3.3 ‘, 4’, 5.7-pentahydroxyflavone) is currently being considered as one of the promising biologically active substances, which allows to correct metabolic disorders in obesity and metabolic syndrome.

Aim — to study changes in the expression of genes in liver tissue of rats with impaired receptivity of Lep under the influence of high-fat and high-carbohydrate diet (HFCR) or/and Q supplementation.

Material and methods. 4 groups of six male Zucker-*LEPR*^{fa} male rats were used in experiment. Within 61 days the animals of the 1st group (control) received a balanced semi-synthetic diet, the second group received the same diet with the addition of quercetin in a dose of 50 mg/kg of body weight, the third group — the HFCR (30% fat by dry weight and 20% fructose instead of water), the 4th group is the same diet and supplement of quercetin. Full transcriptional profiling of liver tissue was performed on microchips from the Gene Expression Hybridization Kit (Agilent Technologies), a real-time polymerase chain reaction combined with reverse transcription (RT-PCR) was performed for liver transcripts of *Crot, FTO, NpY, Prdx1, Prom1, Ugt2b37* and *GAPDH* genes contained in liver tissue.

Results. It was shown that feeding of Zucker-*LEPR*^{fa} rats with Q and/or HFCR led to significant changes in the level of transcription of 1604 genes in liver tissue, from which the effect of quercetin proper was manifested for 1396 genes. Changes were more pronounced in the transcriptome of liver tissue caused by HFCR, than caused by the addition of Q against the background of a standard diet. Q influenced the expression of genes responsible for xenobiotic detoxification processes (*UGT2b37*), redox homeostasis (*Prdx1*), beta-oxidation of fatty acids (*Crot*), and central mechanisms affecting hunger and satiety (*NpY)*, and potentiated, or

Copyright © 2018 by the MediaSphere
Licensee: CC BY-NC-ND
doi: 10.14341/probl9936

 DOI: https://dx.doi.org/10.14341/probl9936

abolished the effects of HFCR against a number of other functionally important genes. Bioinformatic analysis revealed the influence of HFCR and/or Q on 23 metabolic pathways (KEGGS), of which 7 (the metabolism of steroids, arachidonic and linoleic acids, retinoids, drugs and xenobiotics (due to cytochrome P-450), bile secretion) were affected in all experimental groups.
Conclusions. Changes in the transcriptome of the liver of Zucker-*LEPR*^{fa} rats, caused by consumption of HFCR and/or Q, were consistent with experimental data on changes in short-term memory, anxiety and mineral metabolism in these animals.

Keywords: transcriptome, liver, rats, leptin, obesity, metabolic networks and pathways.

Поддержание гомеостаза энергии у человека и млекопитающих в условиях разнообразного питания осуществляется при участии нейрогуморальной регуляции потребления пищи со стороны центральной нервной системы (ЦНС). В литературе рассматриваются два контура такой регуляции, включая «гомеостатический», опосредуемый реакцией нейронов дугообразных ядер гипоталамуса на поступающие от периферических тканей гормональные сигналы, такие, как адипокины — лептин (Lep) и грелин [1, 2], и «гедонистический», сосредоточенный в высших отделах головного мозга, непосредственно связанных со вкусовым анализатором, и реализуемый при участии каннабиноидных и опиоидных рецепторов, а также их эндогенных лигандов [3]. Поломки этих регуляторных механизмов могут вызвать дисрегуляцию чувства голода и насыщения, приводящую к развитию алиментарного ожирения и метаболического синдрома. Взаимодействие обоих регуляторных контуров имеет сложный характер, в частности, важную роль в нем может играть развитие системного воспаления [4].

Lep, секретируемый адипоцитами белой жировой ткани, занимает центральное место в контроле энергетического гомеостаза и массы тела. Гематоэнцефалический барьер частично проницаем для Lep, что приводит к его поступлению в гипоталамус и связыванию с его специфическим рецептором *LEPR* [5] с последующей активацией сигнального каскада SOCS3 [6]. По мере накопления жировых запасов уровень циркулирующего Lep повышается, он проникает в гипоталамус в большем количестве, стимулируя POMC-нейроны и ингибируя NPY/AgRP-нейроны [1]. В норме Lep у млекопитающих оказывает анорексигенное, катаболическое, липолитическое и гипогликемическое действие, благодаря которому формируется механизм отрицательной обратной связи. При ожирении действие Lep нарушается вследствие ослабления его нормального переноса через ГЭБ, или связывания с циркулирующей в крови формой рецептора [7].

Удобной моделью для изучения роли нарушенной рецепции Lep при ожирении являются крысы Zucker-*LEPR*^{fa}, несущие в гомозиготе мутацию гена *LEPR*, делающую соответствующий рецептор нефункциональным. В результате у этих животных, с одной стороны, отсутствует влияние запасов жира на объем потребляемой пищи, что приводит к быстрому развитию ожирения даже при потреблении стандартного сбалансированного рациона. С другой стороны, нарушение процессов рецепции и интернализации Lep клетками ослабляет его клиренс, что приводит к резкому повышению уровня этого гормона в крови и развитию не свойственных ему в норме иммунотропных эффектов, обусловленных частичной гомологией структуры Lep и ряда цитокинов и хемокинов [8, 9]. В органах и тканях таких животных меняется экспрессия большого числа генов, отвечающих за функционирование разнообразных метаболических путей, определяющих гомеостаз организма. Эти изменения в значительной степени соответствуют таковым у больных с алиментарным ожирением.

В качестве перспективных средств, позволяющих осуществлять коррекцию указанных нарушений, в настоящее время рассматриваются минорные биологически активные вещества, принадлежащие к группе биофлавоноидов, в частности кверцетин (Q; 3,3',4',5,7-пентагидроксифлавон). Согласно ряду экспериментальных данных [10, 11] и клинических наблюдений [12], Q в дозах, характерных для его содержания в пищевых продуктах, смягчает проявления метаболического синдрома, вызванного потреблением избытка легкоусвояемых углеводов. Предполагается, что действие Q связано с активацией транскрипционных факторов PPAR-γ, SREBP1 и AMPk [13]. Эффективность Q в плане коррекции ожирения и побочных иммунотропных влияний при нарушенной рецепции Lep исследована недостаточно.

Цель исследования — изучить изменения в экспрессии генов в ткани печени крыс Zucker-*LEPR*^{fa} под влиянием рациона с избыточной энергетической ценностью и/или добавки к рациону Q методами анализа полнотранскриптомного профиля на мультивалентных ДНК-микрочипах с биоинформатическим анализом получаемых данных в среде «R», а также методом от-ПЦР в «реальном времени».

Материал и методы

Исследования проведены на 24 самцах крыс (возраст 8—10 нед, средняя исходная масса тела 176±7 г) линии Zucker-*LEPR*^{fa}, полученных из питомника «Charles River», Италия. Правила работы с животными соответствовали Приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации №193 н от 01.04.16 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Экспериментальный дизайн был рассмотрен и одобрен Комитетом по этике ФГБУН «ФИЦ

питания и биотехнологии» (протокол №4 от 20.04.17). Животные были разделены на четыре группы равной численности (n=6). В течение 61-х суток животные 1-й группы (контроль) получали сбалансированный рацион по AIN93M, 2-й группы — такой же рацион с добавкой Q в дозе 50 мг/кг массы тела, 3-й группы — высокожировой рацион (30% жиров по массе сухих веществ) и 20% фруктозы вместо воды (ВУВЖД), 4-й группы — такой же рацион с добавкой Q. Рацион и питьевые жидкости предоставляли животным в режиме неограниченного свободного доступа. Крыс содержали по 2 особи в клетках из поликарбоната при 12/12 часовом режиме освещенности и температуре воздуха 22±1 ˚С. Ежедневно фиксировали количество съеденного корма и выпитой жидкости и рассчитывали потребленную энергетическую ценность рациона. Массу тела определяли еженедельно на электронных весах с точностью ±1 г.

Выведение животных из эксперимента осуществляли на 62-е сутки путем декапитации под эфирной анестезией. Кровь собирали в пробирки с 1,0% раствором гепарина в 0,15 М NaCl (1:10 по объему), плазму отделяли центрифугированием и проводили исследование биохимических показателей на анализаторе Konelab 20i (Финляндия). Печень отбирали стерильными хирургическими инструментами из нержавеющей стали, немедленно охлаждали на льду до температуры 0—2 ˚С, взвешивали с точностью ±0,01 г и хранили до исследования при −80 ˚С.

мРНК из ткани печени выделяли с использованием набора Agilent Total RNA Isolation Mini Kit («Agilent Technologies», США). Навеску 20 мг замороженной ткани печени быстро гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе Поттера—Эдельвейма в 500 мм^3 лизирующего буфера (с добавлением 5 мм^3 β-меркаптоэтанола на 500 мм^3 буфера) при температуре 0—2 ˚С. Дальнейшие процедуры проводили в соответствии со стандартным протоколом [14]. Полученную общую РНК дополнительно обрабатывали *ДНК-азой I* для удаления следов геномной ДНК. Концентрацию РНК определяли на спектрофотометре NanoDrop 1000, после чего разбавляли ее водой без нуклеаз до концентрации 200 нг/мм^3 и проводили анализ степени фрагментации на Agilent Bioanalyzer 2100 с определением показателя RIN (RNA Integrity Number показатель целостности РНК). РНК хранили в воде, свободной от нуклеаз, или в виде изопропанольных осадков при −80 ˚С. кДНК на основе тотальной мРНК синтезировали с помощью набора Agilent AffinityScript QPCR cDNA Synthesis Kit («Agilent Technologies», США), согласно протоколу производителя.

Полнотранскриптомное профилирование ткани печени выполняли на микрочипах из набора Gene Expression Hybridization Kit («Agilent Technologies»), по протоколу Agilent One-Color Microarray-Based Gene Expression Analysis Low Input Quick Amp Labeling, version 6.8 [15]. Сканирование микрочипов выполняли на приборе SureScan Microarray Scaner, производства «Agilent Technologies». Величину экспрессии выражали в виде логарифма по основанию 2 (logFC) возрастания или убывания флуоресценции по сравнению с контрольной группой. Всего для каждого образца кДНК были получены данные для дифференциальной экспрессии 30 003 генов, представленных на микрочипе.

Полимеразную цепную реакцию в «реальном времени», совмещенную с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) для содержащихся в ткани печени транскриптов генов *Crot, FTO, NpY, Prdx1, Prom1, Ugt2b37* и *GAPDH*, проводили на приборе CFX96 («Bio-Rad», США) в объеме 25 мкл реакционной смеси, включавшей следующие компоненты: 10х буфер для TaqPol (содержит 2 мМ $MgCl_2$; «Евроген», Россия) — 2,5 мкл; (R+F) праймеры (10 мкМ; «ДНК-Синтез», Россия) — 1 мкл; зонд (10 мкМ; «ДНК-Синтез», Россия) — 0,5 мкл; смесь dNTPs (5 мМ; «СИбЭнзим», Россия) – 0,5 мкл; вода без ДНКаз и РНКаз «TermoScientific», США) – 18,5 мкл; Taq-полимераза (5 ед/мкл; «Евроген», Россия) — 0,5 мкл и кДНК (400 нг/мкл) — 1 мкл. На первом этапе Taq-полимеразу активировали 3 мин при 95 ˚С, затем проводили 45 циклов амплификации (95 ˚С — 15 с, 60 ˚С — 1 мин). Величину экспрессии выражали в единицах логарифма по основанию 2-го отношения к количеству мРНК конститутивного гена β-актин.

Статистическую обработку результатов выполняли согласно непараметрическому ранговому критерию Манна—Уитни. Достоверность изменения дифференциальной экспрессии генов оценивали путем анализа логарифмов интенсивности флуоресценции, нормализованных по внутренним контролям (Spike-In), с использованием Т-теста с множественной коррекцией Benjamini—Hochberg [16]. Для расчетов применяли пакет статистических программ SPSS 16.0.

Результаты

Как показало полнотранскриптомное профилирование, из общего числа генов, представленных на микрочипе, более чем 1,41-кратная по модулю дифференциальная экспрессия ($|\log_2 FC| \geqslant 0{,}5$) по сравнению с показателем для 1-й группы, вызванная потреблением Q или/и ВУВЖД, во 2, 3 и 4-й группах животных выявлена в общей сложности для 1604 генов (5,35% от общего количества). Во 2-й группе (потребление контрольного рациона с добавкой Q) выявлено 117 (7,3%) уникальных (свойственных только этой группе) генов из общего числа 1396 дифференциально экспрессированных генов, в 3-й группе (потребление ВУВЖД) — 393 (24,5%) гена, в 4-й группе (потребление ВУВЖД и Q) — 391 (24,4%) ген. Одновременно только во 2-й и 3-й группах отмечалась дифференциальная экспрессия 34 (2,1%) генов, во 2-й и 4-й группах — 29 (1,8%) генов, в 3-й и 4-й группах —

 DOI: https://dx.doi.org/10.14341/probl9936

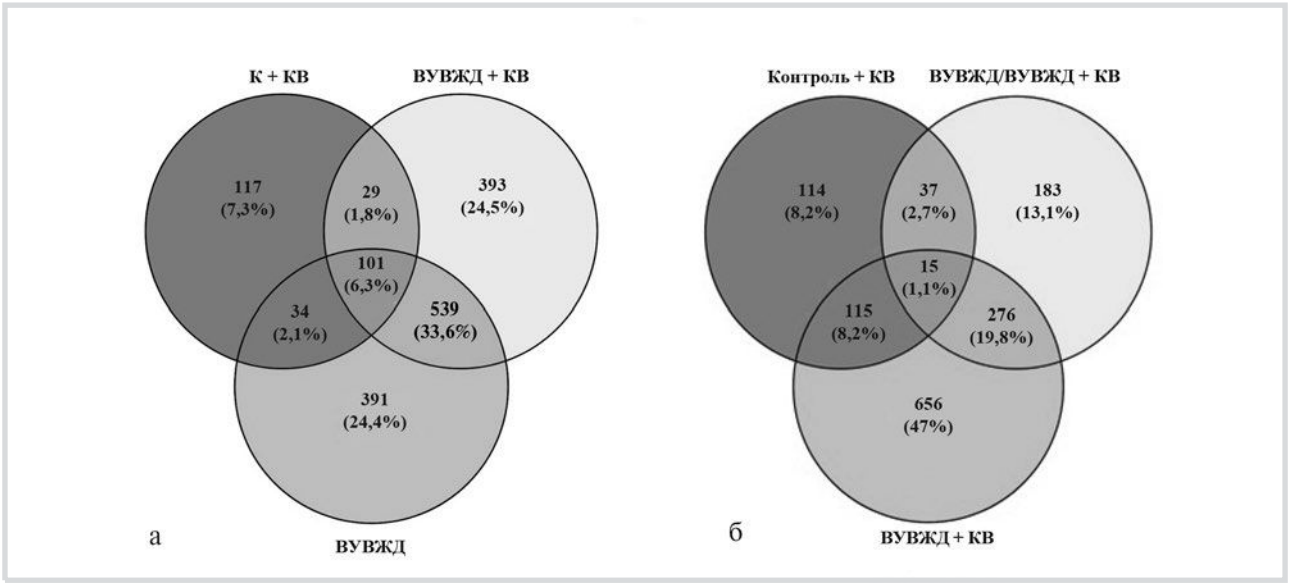

Рис. 1. **Диаграммы Венна.**

а — распределения дифференциально экспрессированных ($|\log_2 FC| \geqslant 0{,}5$) генов в опытных группах крыс Zucker-*LEPR*^{fa} 2, 3 и 4-й в сравнении с 1-й группой; б — распределения генов, дифференциально экспрессированных ($|\log_2 FC| \geqslant 0{,}5$) в ответ на потребление кверцетина у крыс вышеуказанной линии, в 4-й группе в сравнении с группами 1-й и 3-й и во 2-й группе в сравнении с 1-й группой.

539 (33,6%) генов **(рис. 1, а)**. Сразу во всех трех экспериментальных группах животных дифференциально экспрессированным в сравнении с 1-й группой был 101 (6,3%) ген. В **табл. 1** приведен перечень кратких международных символов генов, для которых выявлена наибольшая положительная дифференциальная экспрессия, а в **табл. 2** — тех, для которых дифференциальная экспрессия была отрицательной.

Представляло интерес также установление генов, отвечающих дифференциальной экспрессией на потребление собственно Q при различных пищевых режимах. Для этого была дополнительно просчитана дифференциальная экспрессия генов в 4-й группе в сравнении с 3-й группой, и полученное множество соотнесено с множествами генов, дифференциально экспрессированных в 4-й группе и во 2-й группе в сравнении с 1-й группой. Общее число таких генов составило 1396 **(см. рис. 1, б)**. При этом число генов, ответивших на потребление Q во всех случаях (т.е. независимо от потребления ВУВЖД, либо контрольного рациона), составило 15.

На **рис. 2 на цв. вклейке** представлены диаграммы рассеяния («volcano plots») в координатах: логарифм дифференциальной экспрессии гена ($\log_2 FC$); минус логарифм вероятности ($-\lg(p)$ нуль-гипотезы данного эффекта для всех изученных генов, качественно демонстрирующие степень влияния применяемых экспериментальных рационов на транскриптом. Потребление ВУВЖД животными 3-й и 4-й групп сопровождается наибольшей дисперсией (в сторону как положительной, так и отрицательной дифференциальной экспрессии) транскриптома, тогда как эффект Q на стандартном рационе оказывается значительно менее выраженным.

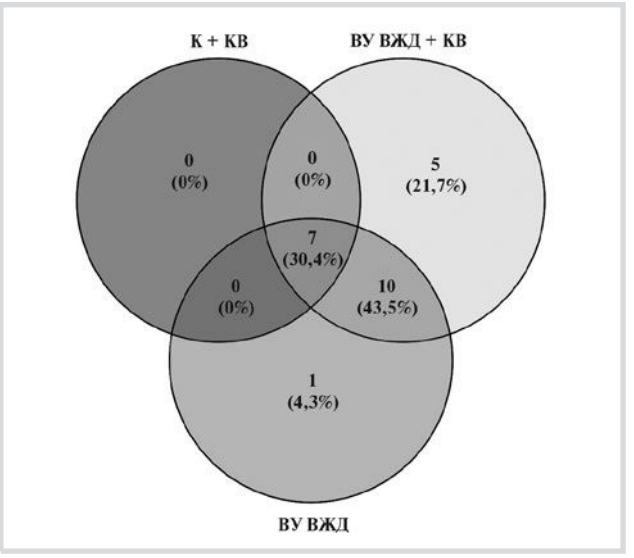

Рис. 3. **Диаграмма Венна распределения по группам крыс Zucker-LEPRfa метаболических путей, являющихся мишенями применявшихся диетических воздействий.**

Анализ профилей дифференциальной экспрессии генов по отдельным группам животных в среде "R" позволил выявить наборы метаболических путей, являющихся мишенями применяемых рационов. Распределение (в виде диаграммы Венна) по группам животных метаболических путей, изменившихся в зависимости от всех опытных пищевых режимов, при сравнении с 1-й группой, приведено на **рис. 3**.

Таблица 1. **Список генов с наибольшей положительной дифференциальной экспрессией, вызванной потреблением опытных рационов при уровне значимости $p \leq 0,05$ для крыс 2, 3 и 4-й групп (в сравнении с 1-й группой, получавшей сбалансированный полусинтетический рацион)***

Группа	Экспрессия, $\lvert\log_2 FC\rvert$		
	+>1	+0,7–1	+0,5–0,7
2-я	*LOC102549203*	*Sult1c3*	*Defb17*
	Car3	*LOC102556574*	*Isg15*
	Nat8	*Tsku*	*LOC102549099*
	Cml2	*Socs2*	*Pkib*
	Zswim5	*Rgs3*	*Tac3*
	Slc25a30	*Onecut1*	*LOC103693809*
	LOC102548450	*Per1*	*Crygd*
	Grin3a	*Sult1e1*	*Cry1*
		Kcnip1	*LOC102547221*
		Ctgf	*LOC100909643*
3-я	*Cyp2c11*	*Ppp1r3b*	*Ltbp2*
	Gfra1	*Ip6k2*	*Rup2*
	LOC100912658	*LOC103690477*	*Cth*
	Slfn4	*Heph*	*Arhgap22*
	Slc6a6	*Nipal2*	*Nmt2*
	Comp	*Myzap*	*Gria3*
	Dcn	*Acsm3*	*Zbtb16*
	LOC102551151	*Cd274*	*LOC102555870*
	Spp1	*Ch25h*	*Hnrnpa2b1*
	Ccdc68	*LOC102552977*	*Cystm1*
4-я	*Ubd*	*Dcn*	*Itga4*
	Btnl5	*Hmgb1*	*Fam180a*
	Abcb1b	*LOC685067*	*Trim30*
	G6pc	*Cldn23*	*Ube2c*
	RT1-CE5	*Rhoc*	*Tspo2*
	Rbm25	*Zswim5*	*Flvcr2*
	Lpl	*Usp2*	*Slpil3*
	Nol3	*Cox6a2*	*Fam105a*
	Rrm2	*Comp*	*LOC102551574*
	A2m	*Ddit4l2*	*Ppp1r3b*
Гены с положительной экспрессией, общие для групп:	2-й и 3-й	*Onecut1, Gck, Defb17, LOC102549099, Cry1, MGC108823, Gcnt4, Apol9a, LOC102552977, Slc6a7*	
	2-й и 4-й	*Pcdh19, Zswim5, Grin3a, Lzts3, A2m, Lhfpl4, Bicc, LOC103690085, Pkib, LOC102547637*	
	3-й и 4-й	*Tsx, Sds, Sdr16c6, Scd2, Stac3, Cyp2c12, LOC100366030, Cyp2c24, Aldh1b1, LOC102549932*	
	2-й, 3-й и 4-й	*LOC102555663, Cdh17, Oasl, LOC103693974, Cox6a2, Cyp7b1, LOC102552001, Sult1c3, Tsku, Smoc2*	

Примечание. * — В каждой группе представлено до 10 генов с наибольшей дифференциальной экспрессией.

Из числа выявленных, 7 метаболических путей были затронуты во всех трех опытных группах животных. Это были такие метаболические пути, как:

— rno00830 Retinol metabolism (метаболизм производных ретинола);

— rno00140 Steroid hormone biosynthesis (биосинтез стероидных гормонов);

— rno00591 Linoleic acid metabolism (метаболизм линолевой кислоты);

— rno04976 Bile secretion (секреция желчи);

— rno00982 Drug metabolism — cytochrome P450 (метаболизм лекарственных препаратов системой цитохромов P450);

— rno00590 Arachidonic acid metabolism (метаболизм арахидоновой кислоты);

— rno00980 Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450 (метаболизм ксенобиотиков системой цитохромов P450).

Помимо этого, общими для 3-й и 4-й групп, получавших ВУВЖД, были 10 изменившихся метаболических путей. Только в 3-й группе (ВУВЖД) модифицировался один, а в 4-й группе (ВУВЖД+Q) — 5 метаболических путей.

Анализ изменений в 7 общих для всех пищевых режимов метаболических путей крыс Zucker-*LEPR*^{fa} показал, что эти изменения под действием ВУВЖД

 DOI: https://dx.doi.org/10.14341/probl9936

Таблица 2. **Список генов с наибольшей (по модулю) отрицательной дифференциальной экспрессией, вызванной потреблением опытных рационов при уровне значимости $p \leq 0{,}05$ для крыс 2, 3 и 4-й групп (в сравнении с 1-й группой, получавшей сбалансированный полусинтетический рацион)***

Группа	Экспрессия, $\lvert\log_2 FC\rvert$		
	<–1	(–1)—(–0,7)	(–0,5)—(–0,7)
2-я	*Olr292*	*Rgs4*	*Slc7a2*
		Wfdc11	*Lhx8*
	Kcnj15	*Hsd3b5*	*Ppef2*
		Nucb2	*Kcnk5*
	LOC103690608	*LOC103694173*	*LOC100360128*
		LOC102552001	*LOC691485*
	Slc39a5	*Trpm8*	*Ccnb2*
		Olr1353	*Zfp90*
	Upp2	*RGD1309540*	*Tmem179*
		RGD1561517	*Adcy10*
3-я	*Fmo1*	*Rgs4*	*Pdhb*
	Samd15	*Wfdc11*	*Slc13a5*
	Tmem179	*Hsd3b5*	*LOC102555010*
	Bmp7	*Nucb2*	*Slc16a11*
	Slc2a5	*LOC103694173*	*Agpat3*
	Tas1r1	*Trpm8*	*LOC103692524*
	LOC691485	*Olr1353*	*LOC108348296*
	Rgs12	*LOC102552001*	*Appl2*
	Cacnb4	*RGD1309540*	*Cyp26a1*
		RGD1561517	*LOC103692812*
4-я	*LOC103692325*	*Dnajc5b*	*Lipe*
	Olr1583	*Bmp7*	*Galt*
	Prtg	*Lamb3*	*Srd5a1*
	Col9a2	*LOC501346*	*Mcpt8*
	Ppef2	*LOC102551647*	*Tp53i13*
	LOC102552469	*RGD1564786*	*Pdzd7*
	Cib2	*LOC102552306*	*Fpr1*
	Mt1	*LOC102551879*	*Taf1d*
	Acot1	*LOC691485*	*Slc25a47*
	LOC10255627	*Cacnb4*	*Retnlg*
Гены с отрицательной экспрессией, общие для групп:	2-й и 3-й	*LOC108349355, Ptprs, LOC100911949, Plekha6, Fnip2, Slc25a29, Derl2, LOC103690779, Lpal2, LOC102547508*	
	2-й и 4-й	*Ino80. LOC100911891, Nr0b2, LOC102550442, LOC103694148, Slc7a2, Shank2, RGD1564786*	
	3-й и 4-й	*Hfe2, Olr1583, Afg1l, LOC102551374, LOC102547136, Lpar2, Rhobtb3, Palm, Sh3d21, Coq10a*	
	2-й, 3-й и 4-й	*Cpt1a, Fut8, Zfp266, Scgb1a1, Dtx1, Mrnip, Agfg2, Cpeb3, Sdr42e1, Wwox*	

Примечание. * — В каждой группе представлено до 10 генов с наибольшей дифференциальной экспрессией.

и/или Q различаются. Пример этих изменений для метаболического пути Steroid hormone biosynthesis (rno00140) представлен на **рис. 4 на цв. вклейке** (см. раздел Дополнительная информация).

Модификации метаболического пути Retinol metabolism (rno00830) включали такие эффекты, как угнетение транскрипции *DHRS4* (Dehydrogenase/reductase SDR family member 4) и *RDH* (retinol dehydrogenase) при потреблении ВУВЖД. Q (4-я группа) частично отменял первый из этих эффектов. Изменения в метаболическом пути Drug metabolism — cytochrome P450 (rno00982) под действием применявшихся диетических режимов заключались в увеличении под действием Q экспрессии моноаминооксидазы (КФ 1.4.3.4.), снижении глутатион-S-трансферазы (КФ 2.5.1.18), причем эти эффекты были в основном противоположными наблюдаемым при действии ВУВЖД.

Особо следует также отметить, что, в отличие от крыс 2-й группы, потребление ВУВЖД крысами 3-й и 4-й групп приводило к модификации PPAR-сигнального (rno 03320) пути в сравнении с 1-й группой. При этом добавка Q на фоне ВУВЖД (4-я группа) возвращала показатели дифференциальной экс-

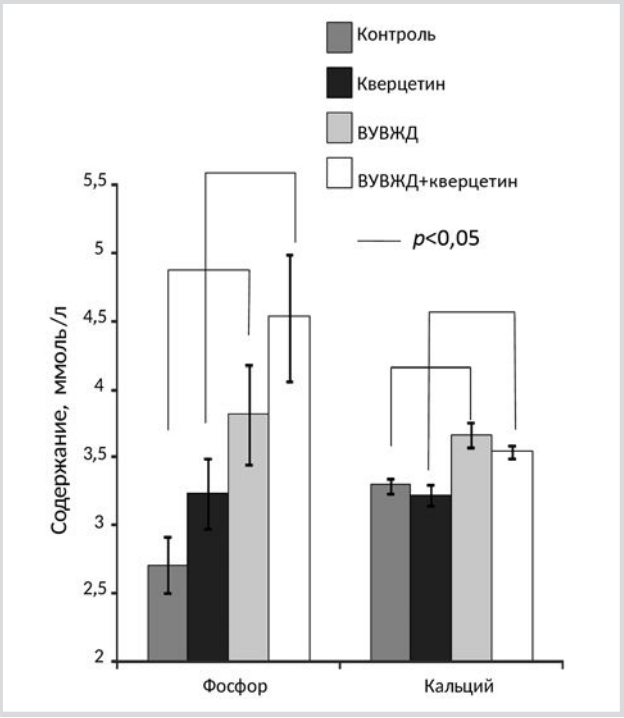

Рис. 5. **Уровни общего кальция и фосфора в плазме крови крыс Zucker-*LEPR*^{fa} 1—4-й групп при выведении из эксперимента.**

прессии ряда ферментов этих метаболических путей (КФ 2.1.1.245, КФ 4.2.3.140, *PGAR, PDK1, faBP, AQP1, MRP4, PKA, ABCG8*) к нейтральному уровню.

Как следует из данных, представленных на **рис. 5**, у крыс линии Zucker-*LEPR*^{fa}, получавших ВУВЖД, отмечалось значимое (p<0,05) повышение уровня общего кальция и фосфора в плазме по сравнению с животными, получавшими контрольный сбалансированный рацион, независимо от присутствия Q в составе диеты.

Анализ относительной экспрессии 7 генов методом ОТ-ПЦР в реальном времени **(рис. 6)** выявил различные воздействия со стороны применявшихся рационов. Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA и/или критерий Краскелла—Уоллиса) для 1—4-й групп показал, что повышенная квота жира и фруктозы в рационе животных значимо (p<0,05) влияла на уровни мРНК *Prom1*, *GAPDH* и *FTO,* тогда как добавка Q — на *UGT2b37* и *Prdx1.* Кроме того, для генов *NpY* и *Crot* было выявлено совместное влияние ВУВЖД и Q. Усиление под влиянием ВУВЖД экспрессии *Prom1, GAPDH* и *FTO* наблюдалось только у крыс, не получавших Q.

Обсуждение

Анализ изменений, наблюдавшихся у крыс в метаболическом пути Steroid hormone biosynthesis (rno00140), показал, что во 2-й группе (потребление Q на фоне сбалансированного рациона) отмечается значительное подавление экспрессии гена *UGT2B7*, (УДФ-глюкуронозилтрансфераза, КФ 2.4.1.17). Функцией этого фермента является присоединение остатка глюкуроновой кислоты к стероидным гормонам (и другим гидрофобным метаболитам), что способствует их экскреции с мочой. В результате этого возможно возрастание в циркуляции концентраций тестостерона, 2-метокси- и 2-гидроксиэстрадиола-17β-эстрона, 2-метоксиэстрона и др. В отличие от этого, у животных 3-й группы экспрессия *UGT2B7* значительно повышена ($\log_2$FC>2), а в 4-й группе эти эффекты, по-видимому, взаимно нейтрализуются. Другим геном, затронутым в рамках данного метаболического пути, является *CYP17A1* (стероид-17α-монооксигеназа, КФ 1.14.14.19). Этот фермент системы цитохромов Р-450 осуществляет 17α-гидроксилирование стероидов. Из данных, приведенных на **рис. 4**, видно, что Q на фоне стандартного рациона значимо не влияет на его экспрессию. ВУВЖД значительно подавляет экспрессию данного фермента, что не отменяется добавкой Q (4-я группа). Биологические последствия этого эффекта могут состоять в том, что вследствие метаболического блока взаимопревращения кортизола и его неактивного предшественника кортикостерона возможно опосредованное влияние на минеральный обмен, в частности, на уровни Са и Р. Действительно, у крыс 3-й и 4-й групп были повышены уровни кальция и фосфора в плазме в сравнении с 1-й группой, причем Q значимым образом не влиял на изменения этих показателей **(см. рис. 5)**. Одновременно крысы 4-й группы, получавшие ВУВЖД и Q, характеризовались меньшим уровнем краткосрочной памяти и повышенной тревожностью в тесте условного рефлекса пассивного избегания, в сравнении с 1-й контрольной группой [17], что может быть объяснено усилением стресса у этих животных, вызванным нарушениями в метаболизме кортизола.

Экспрессия изозима 2 11β-дегидрогеназы кортикостероидов (КФ:1.1.1.145) значимо не менялась под действием Q на контрольном рационе. ВУВЖД вызывал значительное усиление экспрессии ($\log_2$FC>1) независимо от потребления Q. Последствиями этого эффекта может быть метаболический блок, приводящий к накоплению 11-дегидрокортикостерона и далее 3α, 20α,21α-тригидро-5β-прегнан-11,20-диона.

Экспрессия катехол-О-метилтрансферазы (КФ 2.1.1.6) выраженно подавляется Q ($\log_2$FC<−1), тогда как эффект ВУВЖД отсутствует. Снижение экспрессии этого многофункционального фермента, переносящего метильную группу от S-аденозилметионина на различные субстраты (катехол, адреналин, норадреналин, стероиды), приводит к блокаде образования 2-метоксиэстрадиола-17β, а также, возможно, снижает уровень активных форм катехоламинов, что может быть соотнесено с выявленным ранее снижением показателя подвижности (локомоторной ак-

 DOI: https://dx.doi.org/10.14341/probl9936

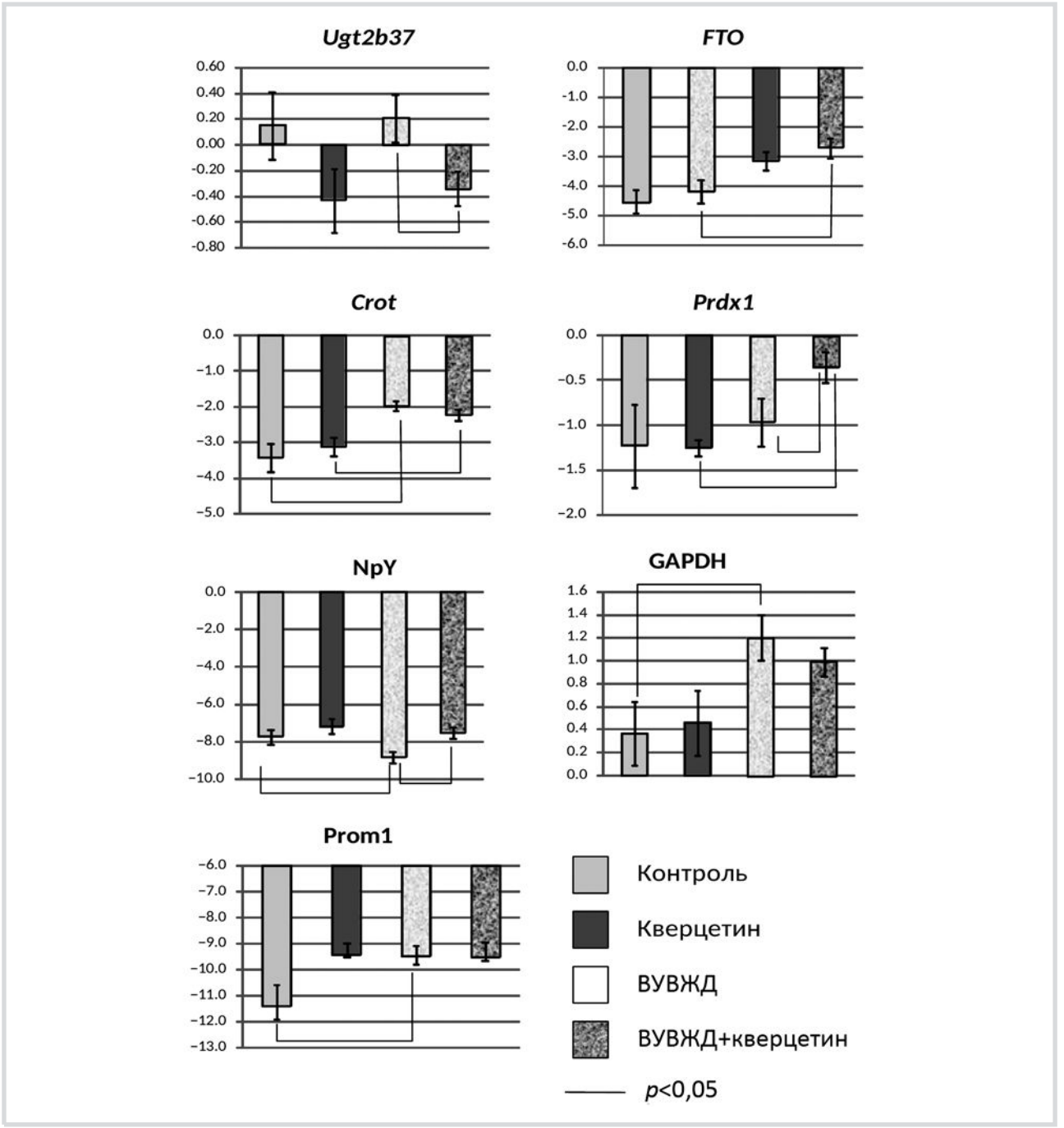

Рис. 6. **Изменения в экспрессии генов *Crot, FTO, NpY, Prdx1, Prom1, Ugt2b37, GAPDH* в печени крыс Zucker-*LEPR*^{fa} по данным ОТ ПЦР.**

Ось абсцисс — группы животных (см. легенду к рисунку), ось ординат — логарифм по основанию 2 экспрессии, нормированный на уровень мРНК β-актина. Стрелки — различие между группами достоверно $p<0,05$; непараметрический U-тест Манна—Уитни.

тивности) крыс Zucker-*LEPR*^{fa} под действием Q в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» [17].

Экспрессия гена *CYP11B1*, кодирующего стероидную 11β-монооксигеназу (КФ 1.4.15.4), аналогично некоторым другим генам семейства цитохрома Р-450 значимо подавляется при потреблении ВУВЖД (что соответствует данным литературы [18]), тогда как Q (4-я группа) ослабляет эффект только частично. Это может усиливать блокаду образования кортикостерона с соответствующими влияниями на минеральный обмен **(см. рис. 5)**. Важно отметить также, что данный фермент является ключевым фактором, обеспечивающим связь обмена глюкокортикоидов (взаимопревращения кортизола и кортизона) с уровнями цитокинов и Lep [19], нарушенная рецепция которого является главной чертой фенотипа крыс

Zucker-*LEPR*^{fa}. Активность CYP11B1 в печени отрицательно коррелировала с уровнем циркулирующего Lep и его растворимого рецептора [20].

Следствием изменений в метаболическом пути Retinol metabolism (rno00830) у крыс подопытных групп может быть развивающийся при ожирении метаболический блок образования 9-цис-ретиноевой кислоты, сопровождаемый активацией множественных ядерных транскрипционных факторов. Изменение экспрессии UGT2B7 в контексте метаболизма ретиноидов должно было приводить к усилению глюкуронирования (и клиренса) all-trans ретиноевой кислоты. Q и ВУВЖД оказывали противоположное действие и на экспрессию лецитин-ретинол ацилтрансферазы (КФ 2.3.1.135), следствием чего могло быть увеличение уровней эфира ретинола за счет его свободной формы при потреблении ВУВЖД, частично отменяемое Q. При ожирении данный эффект может снижать действие витамина А даже при его нормальном поступлении с пищей. Между ожирением, уровнем Lep и нарушениями метаболизма ретинола и его производных существует прямая связь [21].

В рамках данного метаболического пути меняется и экспрессия ряда ферментов системы цитохрома Р-450 (*CYP3A, CYP4A1* и др.), причем эффекты ВУВЖД и Q на эти звенья метаболизма ретиноидов в большинстве случаев противоположны. Активизация экспрессии *CYP3A*, наблюдаемая при потреблении ВУВЖД у крыс Zucker-*LEPR*^{fa}, согласуется с известными данными о повышении активности этой изоформы Р450 при ожирении [22].

Изменения экспрессии ряда ключевых генов углеводно-энергетического обмена, системы детоксикации ксенобиотиков, поддержания редокс-гомеостаза были выявлены у крыс Zucker-*LEPR*^{fa}, получавших ВУВЖД и его комбинацию с Q при использовании таргетной ПЦР-ОТ отдельных нуклеотидных последовательностей. В числе этих дифференциально экспрессированных генов идентифицирован *GAPDH,* отвечающий за обратимое окислительное фосфорилирование глицеральдегид-3-фосфата в присутствии неорганического фосфата и NAD [23]. Ген *Prom1* кодирует рецептор CD133 (проминин), являющийся маркером гематопоэтических клеток [24]. Потребление ВУВЖД также потенцирует экспрессию «гена ожирения» *FTO* (α-кетоглутаратзависимой деметилазы нуклеиновых кислот), участвующего в эпигенетической регуляции метаболических процессов [25].

Отрицательная дифференциальная экспрессия гена *Ugt2b37* (изоформа УДФ-глюкуронозилтрансферазы) под действием Q во 2-й и 4-й группах может свидетельствовать о снижении функции детоксикации эндогенных гидрофобных метаболитов, включая липиды, гиперпродукция которых может протекать на фоне жировой дегенерации печени [26]. Важно отметить, что данный результат качественно согласуется с данными полнотранскриптомного профилирования.

Пероксиредоксин, кодируемый геном *Prdx1* (тиолзависимой пероксидазы, регулятора внутриклеточного Red/Ox гомеостаза), участвует в окислительно-восстановительной регуляции клетки и играет важную роль в устранении пероксидов, образующихся в процессах метаболизма, регулируя внутриклеточные концентрации H_2O_2. Также белок может разрушать внутримолекулярную дисульфидную связь в GDPD5 (глицерофосфодиэфирный фосфодиэстеразный домен 5), которая обеспечивает способность GDPD5 управлять дифференцировкой постмитотических моторных нейронов [27]. Уровень экспрессии гена *Prdx1* у крыс, получавших Q на фоне ВУВЖД, был повышен в 2 раза в сравнении с контролем. Таким образом, можно предположить прямое влияние Q на экспрессию гена, кодирующего пероксиредоксин, при повышенном количестве пероксидов, образующихся в ходе перекисного окисления липидов на фоне потребления насыщенного жирами ВУВЖД.

Экспрессия гена орексигенного нейропептида *NpY*, отвечающего у грызунов за гиперфагию и развитие ожирения [28], достоверно подавляется при потреблении ВУВЖД, а Q, по-видимому, отменяет этот эффект. Причем в отличие, например, от гипоталамуса, подобный эффект дифференциальной транскрипции гена *NpY* в ткани печени был обнаружен впервые. Экспрессия гена *NpY* у крыс, склонных к развитию алиментарного ожирения, находится под контролем эпигенетических факторов [29].

Фермент карнитин-октаноилтрансфераза, кодируемый геном *Crot,* катализирует обратимый перенос ацильных групп жирных кислот между коэнзимом А и карнитином, что обеспечивает транспортировку средне- и длинноцепочечных молекул ацил-СоА из пероксисом в цитозоль и митохондрии [30]. Повышение уровня экспрессии этого гена в 3-й и 4-й группах позволяет предположить сопряженную с циклом Кребса активацию процессов β-окисления жирных кислот в митохондриях под действием избыточных количеств экзогенных жиров, получаемых с ВУВЖД.

Заключение

На модели крыс самцов Zucker-*LEPR*^{fa}, генетически склонных к развитию ожирения вследствие нарушенной рецепции лептина, показано, что Q или/и ВУВЖД значимо меняют уровни транскрипции 1604 генов в ткани печени, из которых эффект собственно Q проявляется для 1396 генов. Изменения в транскриптоме ткани печени, вызываемые ВУВЖД, выражены значительнее, чем обусловленные добавкой Q на фоне стандартного рациона. С помощью количественной ПЦР-ОТ установлено, что Q влияет на экспрессию генов, отвечающих за процессы детоксикации ксенобиотиков (*UGT2b37*), редокс-гомео-

 DOI: https://dx.doi.org/10.14341/probl9936

стаз (*Prdx1*), бета-окисления жирных кислот (*Crot*) и центральные механизмы регуляции чувств голода и насыщения (*NpY*), а также потенцирует, либо отменяет эффекты ВУВЖД в отношении ряда других функционально значимых генов. Биоинформатический анализ выявил влияние потребления ВУВЖД и/или Q на 23 метаболических пути (KEGGS), из которых 7 [метаболизм стероидов, арахидоновой и линолевой кислот, ретиноидов, лекарственных препаратов и ксенобиотиков (под действием цитохрома P-450), секреции желчи] были затронуты во всех подопытных группах. Изменения в транскриптоме печени крыс Zucker-*LEPR*^{fa}, вызванные потреблением ВУВЖД и/или Q, согласуются с экспериментальными данными об изменении показателей краткосрочной памяти, тревожности и минерального обмена у этих животных. Выявленные при анализе дифференциальной экспрессии генов ключевые маркеры путей метаболизма стероидов, арахидоновой и линолевой кислот, ретиноидов, лекарственных препаратов и ксенобиотиков (под действием цитохрома P-450), и секреции желчи могут быть использованы при доклинических испытаниях фармакологических препаратов и специализированных функциональных пищевых продуктов, предназначенных для коррекции обменных нарушений при ожирении.

Дополнительная информация

Дополнительные материалы к статье

Рис. 2. **Диаграммы рассеяния «Volcano plots» дифференциальной экспрессии генов в группах животных 2-й (а), 3-й (б) и 4-й (в) в сравнении с 1-й группой.**

Доступен на цветной вклейке и в сети Интернет: https://doi.org/10.14341/probl9936-3229.

Рис. 4. **Сравнительные изменения в метаболическом пути STEROID HORMONE BIOSYNTHESIS у крыс Zucker-*LEPR*^{fa} 2-й группы (а), 3-й (б) и 4-й (в) в сравнении с 1-й группой.**
Доступен на цветной вклейке и в сети Интернет:

а — https://doi.org/10.14341/probl9936-3231

б — https://doi.org/10.14341/probl9936-3421

в — https://doi.org/10.14341/probl9936-3422

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант РНФ № 17-16-01043).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов: Полнотранскриптомный анализ на микрочипе — Н.В. Трусов; разработка дизайна эксперимента, проведение ПЦР в режиме реального времени, написание статьи (разделы «Методы», «Результаты») — С.А. Апрятин; проведение биоинформатического анализа — А.Ю. Горбачев, В.А Наумов.; работа с животными, выделение мРНК из ткани печени, проведение обратной транскрипции — К.В. Мжельская; разработка общей концепции исследования, сбор и анализ данных литературы, статистическая обработка и интерпретация данных, написание статьи (разделы «Введение», «Обсуждение», «Заключение») — Гмошинский И.В. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

Благодарности. Авторы благодарят к.м.н., главного специалиста ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» Хорхе Селада Сото за предоставленные данные биохимического исследования плазмы крови.

ЛИТЕРАТУРА | REFERENCES

1. Deck CA, Honeycutt JL, Cheung E, et al. Assessing the functional role of leptin in energy homeostasis and the stress response in vertebrates. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8:63. doi: http://doi.org/10.3389/fendo.2017.00063
2. Hsu TM, Hahn JD, Konanur VR, et al. Hippocampus ghrelin signaling mediates appetite through lateral hypothalamic orexin pathways. *Elife*. 2015;4. doi: http://doi.org/10.7554/elife.11190
3. Bojanowska E, Ciosek J. Can we selectively reduce appetite for energy-dense foods? An overview of pharmacological strategies for modification of food preference behavior. *Curr Neuropharmacol*. 2016;14(2):118-142. doi: http://doi.org/10.2174/1570159x14666151109103147
4. Ouchi N, Parker Jl, Lugus Jj, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(2):85-97. doi: http://doi.org/10.1038/nri2921
5. Londraville RL, Prokop JW, Duff RJ, et al. On the molecular evolution of leptin, leptin receptor, and endospanin. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8:58. doi: http://doi.org/10.3389/fendo.2017.00058
6. Pedroso JA, Silveira MA, Lima LB, et al. Changes in leptin signaling by Socs3 modulate fasting-induced hyperphagia and weight regain in mice. *Endocrinology*. 2016;157(10):3901-3914. doi: http://doi.org/10.1210/en.2016-1038
7. Schaab M, Kratzsch J. The soluble leptin receptor. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2015;29(5):661-670. doi: http://doi.org/10.1016/j.beem.2015.08.002
8. Lopez-Jaramillo P, Gomez-Arbelaez D, Lopez-Lopez J, et al. The role of leptin/adiponectin ratio in metabolic syndrome and diabetes. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2014;18(1):37-45. doi: http://doi.org/10.1515/hmbci-2013-0053

9. Perez-Perez A, Vilarino-Garcia T, Fernandez-Riejos P, et al. Role of leptin as a link between metabolism and the immune system. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2017;35:71-84. doi: http://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2017.03.001
10. Kobori M, Masumoto S, Akimoto Y, Oike H. Chronic dietary intake of quercetin alleviates hepatic fat accumulation associated with consumption of a western-style diet in C57/Bl6J mice. *Mol Nutr Food Res*. 2011;55(4):530-540. doi: http://doi.org/10.1002/mnfr.201000392
11. Panchal SK, Poudyal H, Brown L. Quercetin ameliorates cardiovascular, hepatic, and metabolic changes in diet-induced metabolic syndrome in rats. *J Nutr*. 2012;142(6):1026-1032. doi: http://doi.org/10.3945/jn.111.157263
12. Edwards RL, Lyon T, Litwin SE, et al. Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. *J Nutr*. 2007;137(11):2405-2411. doi: http://doi.org/10.1093/jn/137.11.2405
13. Castrejon-Tellez V, Rodriguez-Perez JM, Perez-Torres I, et al. The effect of resveratrol and quercetin treatment on PPAR mediated uncoupling protein (UCP–) 1, 2, and 3 expression in visceral white adipose tissue from metabolic syndrome rats. *Int J Mol Sci*. 2016;17(7). doi: http://doi.org/10.3390/ijms17071069
14. *Agilent Total Rna Isolation Mini Kit Protocol*. 5th Ed. 2015.
15. *One-Color Microarray-Based Gene Expression Analysis Low Input Quick Amp Labeling*. 2015.
16. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Statist Soc B*. 1995;57(1):289-300.
17. Mzhel'skaya KV, Shipelin VA, Shumakova AA, et al. Effects of quercetin on neuromotor function and behavioral responses of the Zucker rats on a high-fat and highcarbohydrate diet. In: Proceedings of the 25th multidisciplinary international neuroscience and biological psychiatry conference «Stress, Brain and Behavior». Saint-Petersburg, 16—18 May 2018. Saint-Petersburg. 2018;41.
18. Tomankova V, Anzenbacher P, Anzenbacherova E. Effects of obesity on liver cytochromes P450 in various animal models. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2017;161(2):144-151. doi: http://doi.org/10.5507/bp.2017.026
19. Mattsson C, Rask E, Carlstrom K, et al. Gender-specific links between hepatic 11beta reduction of cortisone and adipokines. *Obesity (Silver Spring)*. 2007;15(4):887-894. doi: http://doi.org/10.1038/oby.2007.587
20. Tomlinson JW, Stewart PM. The functional consequences of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase expression in adipose tissue. *Horm Metab Res*. 2002;34(11-12):746-751. doi: http://doi.org/10.1055/s-2002-38242
21. Jeyakumar SM, Vajreswari A. Vitamin A as a key regulator of obesity and its associated disorders: evidences from an obese rat model. *Indian J Med Res*. 2015;141(3):275-284. doi: http://doi.org/10.4103/0971-5916.156554
22. Chen HW, Tsai CW, Yang JJ, et al. The combined effects of garlic oil and fish oil on the hepatic antioxidant and drug-metabolizing enzymes of rats. *Br J Nutr*. 2003;89(2):189-200. doi: http://doi.org/10.1079/bjn2002766
23. Burke JR, Enghild JJ, Martin ME, et al. Huntingtin and DRPLA proteins selectively interact with the enzyme GAPDH. *Nat Med*. 1996;2(3):347-350. doi: http://doi.org/10.1038/nm0396-347
24. Torrente Y, Belicchi M, Sampaolesi M, et al. Human circulating AC133(+) stem cells restore dystrophin expression and ameliorate function in dystrophic skeletal muscle. *J Clin Invest*. 2004; 114(2):182-195. doi: http://doi.org/10.1172/jci20325
25. Boissel S, Reish O, Proulx K, et al. Loss-of-function mutation in the dioxygenase-encoding FTO gene causes severe growth retardation and multiple malformations. *Am J Hum Genet*. 2009;85(1):106-111. doi: http://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.06.002
26. Beaulieu M, Levesque E, Hum DW, Belanger A. Isolation and characterization of a novel CDNA encoding a human UDP-glucuronosyltransferase active on C19 steroids. *J Biol Chem*. 1996;271(37): 22855-22862. doi: http://doi.org/10.1074/jbc.271.37.22855
27. Hirotsu S, Abe Y, Okada K, et al. Crystal structure of a multifunctional 2-Cys peroxiredoxin heme-binding protein 23 KDA/ Proliferation-associated gene product. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999;96(22):12333-12338. doi: http://doi.org/10.1073/pnas.96.22.12333
28. Vahatalo LH, Ruohonen ST, Ailanen L, Savontaus E. Neuropeptide Y in noradrenergic neurons induces obesity in transgenic mouse models. *Neuropeptides*. 2016;55:31-37. doi: http://doi.org/10.1016/j.npep.2015.11.088
29. Kim YJ, Bi S. Knockdown of neuropeptide Y in the dorsomedial hypothalamus reverses high-fat diet-induced obesity and impaired glucose tolerance in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2016;310(2):R134-R142. doi: http://doi.org/10.1152/ajpregu.00174.2015
30. Ferdinandusse S, Mulders J, L IJ, et al. Molecular cloning and expression of human carnitine octanoyltransferase: evidence for its role in the peroxisomal beta-oxidation of branched-chain fatty acids. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;263(1):213-218. doi: http://doi.org/10.1006/bbrc.1999.1340

Рукопись получена: 08.10.18

Одобрена к публикации: 30.11.2018

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

***Апрятин Сергей Алексеевич** — к.б.н. [Sergey A. Apryatin, PhD]; адрес: 109240 Москва, Устьинский проезд, д. 2/14 [address: 2/4, Ustyinsky proyezd, Moscow, Russia 109240]; ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6543-7495; elibrary SPIN-код: 4250-2758; e-mail: apryatin@mail.ru

Трусов Никита Вячеславович [Nikita V. Trusov]; ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1919-9297; elibrary SPIN-код: 5182-2665; e-mail: nikkitosu@yandex.ru

Горбачев Алексей Юрьевич — к.б.н. [Aleksey Yu. Gorbachev, PhD]; ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2743-5835; elibrary SPIN-код: 3630-9218; e-mail: augorbachev@gmail.com

Наумов Владимир Александрович [Vladimir A. Naumov]; elibrary SPIN-код: 9218-7997; e-mail: looongdog@gmail.com;

Мжельская Кристина Владимировна [Kristina V. Mzhelskaya]; ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0723-5860; elibrary SPIN-код: 8608-1400; e-mail: kristik13@yandex.ru;

Гмошинский Иван Всеволодович — д.б.н. [Ivan V. Gmoshinski, PhD]; ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3671-6508; elibrary SPIN-код: 4501-9387; e-mail: gmosh@ion.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:
Трусов Н.В., Апрятин С.А., Горбачев А.Ю., Наумов В.А., Мжельская К.В., Гмошинский И.В. Влияние гиперкалорийного рациона и кверцетина на полнотранскриптомный профиль ткани печени крыс линии Zucker-*LEPR*^{fa}. // *Проблемы эндокринологии*. — 2018. — Т. 64. — № 6. — С. 371-382. doi: http://doi.org/10.14341/probl9936

TO CITE THIS ARTICLE:
Trusov NV, Apryatin SA, Gorbachev AY, Naumov VA, Mzhelskaya KV, Gmoshinski IV. The effect of hypercaloric diet and Quercetin on the full-transcriptome liver tissue profile of Zucker-*LEPR*^{fa} rats. *Problems of Endocrinology*. 2018;64(6):371-382. doi: http://doi.org/10.14341/probl9936

К статье *Н.В. Трусова и соавт.* «Влияние гиперкалорийного рациона и кверцетина на полнотранскриптомный профиль ткани печени крыс линии Zucker-*LEPR*^{fa}»

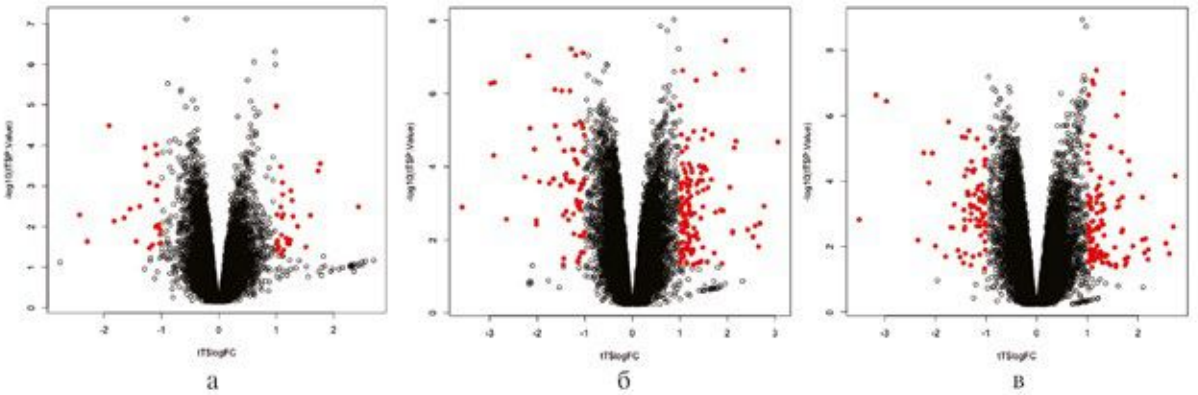

Рис. 2. **Диаграммы рассеяния «Volcano plots» дифференциальной экспрессии генов в группах животных 2 (а), 3 (б) и 4 (в) в сравнении с 1-й группой.**

Ось абсцисс — двоичный логарифм дифференциальной экспрессии гена (FC), ось ординат — минус десятичный логарифм статистической значимости эффекта (*p*). Заливкой (цветом) выделены гены, находящиеся в квадрантах $|\log_2 FC|>1$; $-\lg(p) >1{,}301$ ($p<0{,}05$).

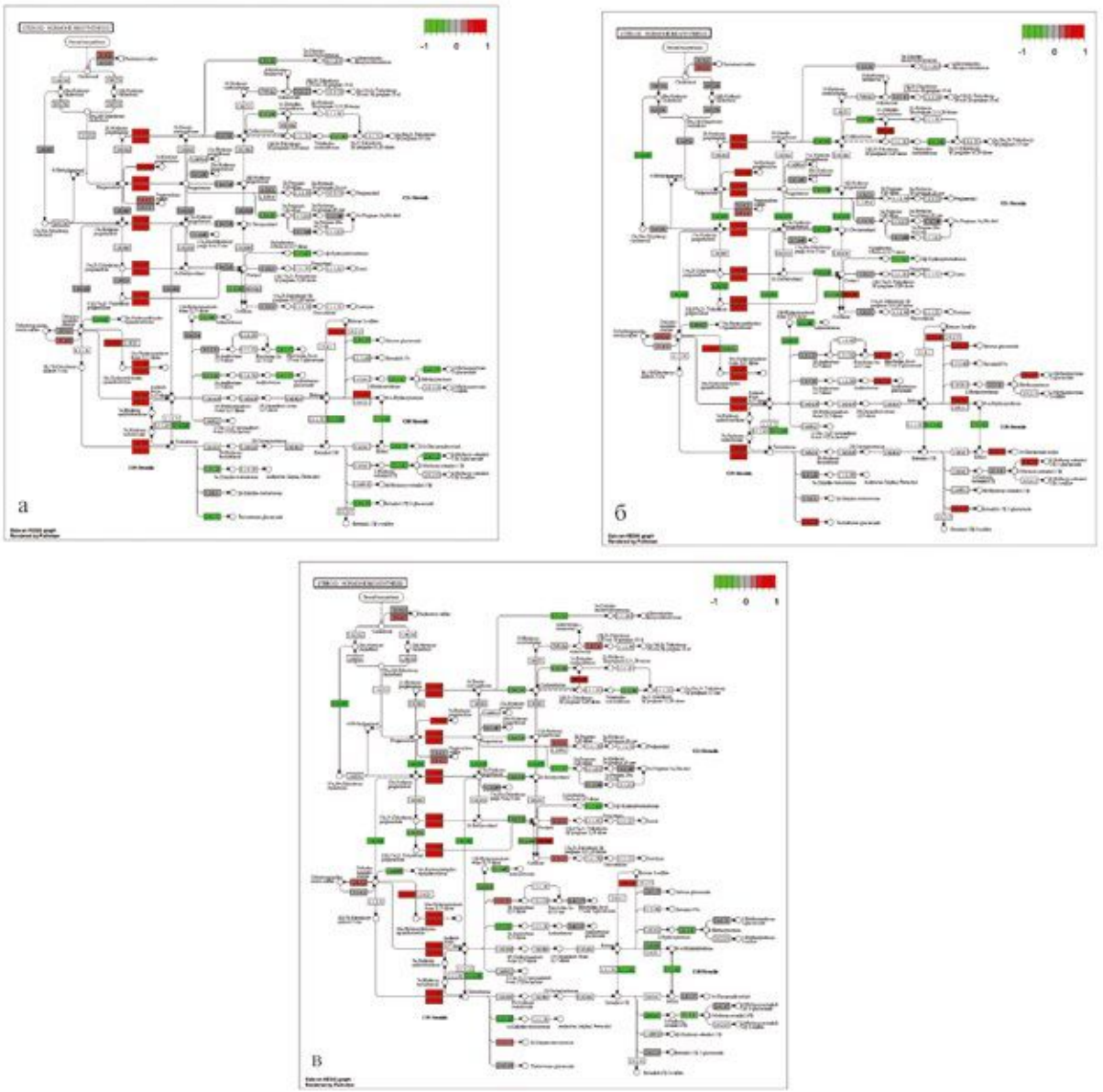

Рис. 4. **Сравнительные изменения в метаболическом пути STEROID HORMONE BIOSYNTHESIS у крыс Zucker-*LEPR*^{fa} группы 2 (а), 3 (б) и 4 (в) в сравнении с 1-й группой.**