

ЭФФЕКТОРНЫЕ ЗВЕНЬЯ МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ДИЕТ-ИНДУЦИРОВАННОМ И ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННОМ ОЖИРЕНИИ: ПОЛНОТРАНСКРИПТОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТКАНИ ПЕЧЕНИ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ У ГРЫЗУНОВ

Апратин С.А.¹,
Трусов Н.В.²,
Гмошинский И.В.²,
Тутельян В.А.^{2,3}

¹ Институт трансляционной биомедицины, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» (199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9, Россия)

² ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи» (109240, г. Москва, Устьинский пр-д, 2/14, Россия)

³ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Гмошинский Иван Всеволодович,
e-mail: gmosh@ion.ru

Статья поступила: 12.10.2022

Статья принята: 25.05.2023

Статья опубликована: 11.07.2023

РЕЗЮМЕ

Обоснование. При разработке методов персонализированной диетотерапии ожирения актуальной задачей является изучение молекулярно-генетических особенностей его патогенеза с использованием экспериментальных моделей у лабораторных животных.

Цель исследования. Определение эффекторных звеньев метаболизма при ожирении на основе сравнительного анализа полнотранскриптомных профилей ткани печени мышей и крыс различных линий.

Методы. Проведён сравнительный анализ изменений транскриптома печени крыс и мышей, получавших рационы с избыточной калорийностью и липогенным действием. Данные полнотранскриптомного профилирования с использованием технологии ДНК-микрочипов были представлены ранее в 8 публикациях.

Результаты. У мышей трёхлиней, получавших высокоуглеводный высокожировой рацион (ВУВЖР), выявлена достоверная дифференциальная экспрессия (ДЭ) 1849 генов, из которых 74 совместно ответили как минимум в двух группах животных. У крыс линий Wistar и Zucker^{fa} на потребление ВУВЖР ответили 2109 генов, из них 242 – в двух группах животных совместно. Для грызунов, различающихся по генетической предрасположенности к развитию диет-индуцированного ожирения, были определены группы генов, ответивших противоположной по знаку ДЭ (в зависимости от генотипа) в ответ на потребление ВУВЖР. Биоинформатический анализ позволил установить наличие у крыс 43, а у мышей – 77 метаболических путей, являющихся мишенями воздействия применяемых экспериментальных рационов. Из них 4 – путь обмена ретиноидов, сопряжённый с ним PPAR-сигнальный путь, метаболизм ксенобиотиков и метаболизм лекарственных препаратов под действием системы цитохрома P450 – ответили у всех групп животных (за исключением самок мышей). Показана важная роль экспрессии гена *Tat*, кодирующего тирозинамино-трансферазу, в модуляции синтеза биогенных аминов при диет-индуцированном ожирении, что, возможно, является новой нейрометаболической регуляторной функцией печени в ответ на потребление высококалорийных рационов.

Заключение. Анализ результатов полнотранскриптомных исследований показал, что в пределах каждого изученного вида (*Rattus rattus* и *Mus domesticus*) и пола животных можно выявить ряд генетических вариантов с большей или меньшей склонностью к развитию фенотипа диет-индуцированного ожирения; при этом в пределах каждого из этих вариантов отмечается во многом сходный характер ответа эффекторных звеньев метаболизма на потребление гиперкалорийного рациона. Эта закономерность создаёт новые перспективы для трансляции результатов транскриптомных и метаболомных исследований на лабораторных животных в клиническую практику для обоснования новых подходов к персонализированной диетотерапии алиментарно-зависимых заболеваний у пациентов, различающихся по генетической предрасположенности к ожирению.

Ключевые слова: ожирение, *in vivo* модели, крысы, мыши, печень, транскриптом, метаболические пути, нейрометаболическая функция

Для цитирования: Апратин С.А., Трусов Н.В., Гмошинский И.В., Тутельян В.А. Эффекторные звенья метаболизма при диет-индуцированном и генетически детерминированном ожирении: полнотранскриптомное исследование ткани печени на экспериментальных моделях у грызунов. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(3): 25–41. doi: 10.29413/ABS.2023-8.3.3

METABOLISM EFFECTOR LINKS IN DIET-INDUCED AND GENETICALLY-BASED OBESITY: A FULL-TRANSCRIPTOME STUDY OF LIVER TISSUE IN EXPERIMENTAL MODELS IN RODENTS

Apryatin S.A.¹,
Trusov N.V.²,
Gmoshinski I.V.²,
Tutelyan V.A.^{2,3}

¹ Institute of Translational Biomedicine, St Petersburg University (Universitetskaya emb. 7–9, Saint Petersburg 199034, Russian Federation)

² Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety (Ustyinskiy road 2/14, Moscow 109240, Russian Federation)

³ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russian Federation (Sechenov University) (Trubetskaya str. 8 building 2, Moscow 119991, Russian Federation)

Corresponding author:
Ivan V. Gmoshinski,
e-mail: gmosh@ion.ru

ABSTRACT

Background. When developing methods for personalized diet therapy of obesity, an urgent task is to study the molecular genetics features of the obesity pathogenesis using *in vivo* experimental models in laboratory animals.

The aim. To determine metabolism effector links in obesity based on a comparative analysis of full-transcriptome profiles of the liver tissue of mice and rats of various strains.

Materials and methods. We carried out a comparative analysis of the changes in liver transcriptome in rats and mice fed with diets of excessive energy value and exerting lipogenic effect. Data of full-transcriptome profiling using DNA microarray technology have been presented previously in 8 publications.

Results. In three strains of mice treated with a high-carbohydrate high-fat diet (HCHFD), a significant differential expression (DE) of 1849 genes was revealed, of which 74 genes responded jointly in at least two groups of animals. In Wistar and Zucker^{fa} rats, 2109 genes responded to the consumption of HCHFD, of which 242 genes responded jointly in two groups of animals. For rodents different in genetic predisposition to the development of diet-induced obesity, the groups of genes that responded with the opposite sign of DE (depending on the genotype) in reaction to the consumption of HCHFD were identified. Bioinformatical analysis allowed establishing the presence of 43 metabolic pathways, which are targeted for the applied experimental diets exposure, in rats and 77 pathways – in mice. Four of these pathways – the pathway of retinoid metabolism, PPAR signaling pathway associated with it the previous one, xenobiotics metabolism and drugs metabolism mediated by cytochrome P450 system – responded in all groups of animals (except for female mice). The importance of the expression of *Tat* gene encoding tyrosine aminotransferase in the modulation of biogenic amines synthesis in diet-induced obesity was shown, which may represent a new neurometabolic regulatory function of the liver in response to the consumption of high-calorie diets.

Conclusion. The analysis of the results of full-transcriptome studies showed that within each studied species (*Rattus rattus* and *Mus domesticus*) and animal sex, a number of genetic variants with a greater or lesser predisposition to the development of diet-induced obesity phenotype can be identified; and at the same time, within these variants, there is a largely similar pattern in the response of metabolism effector links to hypercaloric dietary intake. This pattern creates new prospects for translating the results of transcriptomic and metabolomic studies of laboratory animals into clinical practice in order to substantiate new approaches to personalized diet therapy of alimentary dependent diseases in patients with different genetic predisposition to obesity.

Key words: obesity, *in vivo* models, rats, mice, liver, transcriptome, metabolic pathways, neurometabolic function

For citation: Apryatin S.A., Trusov N.V., Gmoshinski I.V., Tutelyan V.A. Metabolism effector links in diet-induced and genetically-based obesity: A full-transcriptome study of liver tissue in experimental models in rodents. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(3): 25-41. doi: 10.29413/ABS.2023-8.3.3

Received: 12.10.2022

Accepted: 25.05.2023

Published: 11.07.2023

ВВЕДЕНИЕ

Алиментарно-зависимые заболевания, ведущей причиной развития которых является избыточное по энергетической ценности и (или) несбалансированное питание, представляют собой один из главных вызовов для современной медицины. В последние годы накоплен большой объём экспериментальных данных о том, что в основе патогенеза алиментарно-зависимых заболеваний лежит влияние избыточного либо несбалансированного поступления макронутриентов – жиров и углеводов – на экспрессию большого числа генов, функционально связанных с процессами липогенеза, углеводно-энергетического и белкового обменов, терморегуляции, системного воспаления, циркадных ритмов, контроля количества потребляемой пищи. При этом амплитуда и направленность изменений экспрессии генов вследствие воздействия диетических факторов определяются как генотипом организма (наличием полиморфизмов в генах ключевых ферментов, регуляторных и транспортных белков), так и эпигенетическими факторами (метилирование ДНК, ацетилирование гистонов и др.), в свою очередь также находящимися под влиянием состава рациона питания [1]. Совокупность вопросов взаимодействия генотипа организма с таким важнейшим фактором внешней среды, как состав пищевых веществ рациона, в формировании фенотипа на молекулярном, клеточном, тканевом, органном и организменном уровнях является предметом исследования нового раздела науки о питании, известного как нутригеномика [2].

Получаемые в ходе нутригеномных исследований данные играют важную роль при разработке методов персонализированной диетотерапии алиментарно-зависимых заболеваний, комплексно учитывающих такие факторы, как генотип больного, состояние его питания, стадия и тяжесть патологического процесса. Поскольку проведение нутригеномных исследований в клинике встречает определённые трудности, связанные с выбором подходящего биосубстрата, востребованными являются доклинические исследования на экспериментальных *in vivo* моделях соответствующих заболеваний у лабораторных животных, характеризующихся различной генетически-детерминированной склонностью к нарушениям липидного и углеводно-энергетического обменов. Была разработана серия таких моделей, основанных на использовании как генетически-модифицированных (мутантных или нокаутных), так и принадлежащих к конвенциональным линиям животных, получающих с рационом избыток жира, простых сахаров или их комбинацию (т. н. «диету западного типа» или «диету кафетерия») [3]. С использованием современных методов молекулярной генетики и транскриптомики был получен значительный объём данных о том, что у таких животных в процессе развития ожирения происходят стойкие изменения экспрессии ключевых групп генов, отвечающих за процессы метаболизма в печени и жировой ткани. Так, у мышей, получавших в течение 1 года высокоуглеводно-высокожировую рацион (ВУВЖР), наблюдается дифференциальная экспрессия (ДЭ) генов, отвечаю-

щих за метаболические пути β -окисления жирных кислот, биосинтеза и деградации стероидных гормонов, PPAR-сигналинга, процессинга и презентации антигенов, протеасомной деградации белка [4]. Методы транскриптомики были использованы для выявления эффекторных генов, являющихся мишенями воздействия диетических факторов у собак, получавших гиперкалорийный рацион [5], у мышей с диет-индуцированным ожирением (ДИО) и неалкогольной жировой болезнью печени [6]. Были охарактеризованы эпигенетические факторы, способствующие передаче фенотипа ожирения от беременных самок грызунов к их потомству [7]. При наличии подходящего, согласно требованиям медицинской этики, биоматериала (например, образцов белой жировой ткани, получаемых в ходе бариатрического хирургического вмешательства) возникает возможность трансляции транскриптомных диагностических критериев в клиническую практику [8].

Вместе с тем в литературе в настоящее время недостаточно освещён вопрос о природе нутригеномных механизмов, определяющих большую или меньшую предрасположенность организма к развитию алиментарного ожирения, что может быть установлено путём сравнительного анализа результатов транскриптомных исследований, выполненных с использованием животных различных видов и линий. В серии работ, выполненных в ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи» на протяжении 2017–2022 гг., метод полнотранскриптомного анализа ткани печени на ДНК-микрочипе был использован для выявления эффекторных звеньев метаболизма – мишеней воздействия минорных биологически-активных веществ рациона (БАВ), таких как полифенольные соединения, l-карнитин, аминокислоты, на моделях ДИО и спонтанного (генетически-детерминированного) ожирения у крыс и мышей [9–13]. Ряд использованных при этом линий крыс (Wistar и Zucker^{fa}), а также мышей (самцы линий C57Bl/6J, DBA/2J, терагибридные мыши) различались по степени выраженности фенотипа ожирения при потреблении рационов с избыточной калорийностью, однако вопрос о том, какие различия в показателях транскриптома являются наиболее значимыми у животных, более или менее склонных к развитию ДИО, не получил достаточного освещения в указанных публикациях.

Целью настоящей работы является анализ данных транскриптомных исследований по вопросу о характере ответа транскриптома печени на гиперкалорийные рационы в сравнительном аспекте у крыс и мышей различных линий, различающихся по восприимчивости к развитию диет-индуцированного или спонтанного ожирения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использованы материалы полнотранскриптомных исследований, выполненных у мышей и крыс различного пола и линий, получавших на протяжении 8–9 недель сбалансированный контрольный рацион

по AIN-93M или модифицированные полусинтетические рационы с относительным избытком жира (высокожировой рацион (ВЖР)), простого углевода фруктозы (высокофруктозный рацион (ВФР)), их комбинации (ВУВЖР) или холестерина (высокохолестериновый рацион (ВХР)). В таблице 1 содержится сводка экспериментов со ссылками на публикации, раскрывающие их дизайн. Все исследования были проведены с соблюдением правил биомедицинской этики и были одобрены решением Этического комитета ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи» (протокол № 4 от 20.04.2017).

После выведения животных из эксперимента от них получали пробы ткани печени, из которых выделяли общую РНК с помощью реактивов набора Agilent Total RNA Isolation Mini Kit (Agilent Technologies, Inc., США) и выполняли полнотранскриптомный анализ на ДНК-микрочипах Gene Expression Hybridization Kit (Agilent Technologies, Inc., США) по протоколу Agilent One-Color Microarray-Based Gene Expression Analysis Low Input Quick Amp Labeling, version 6.8 (Agilent Technologies, Inc., США), применяя авторизованное сертифицированное оборудование фирмы-изготовителя (Agilent Technologies, Inc., США).

Использованные ДНК-микрочипы различных серий содержали от 30 000 до 32 000 аннотированных индивидуальных комплементарных последовательностей генома крыс или мышей, включая нетранслируемые последовательности ДНК и сплайсинговые варианты. Во всех экспериментах на микрочипах было проанализировано по 4 независимых образца матричной РНК (мРНК) из каждой группы животных. Сканирование микрочипов выполняли на приборе SureScan Microarray Scanner (Agilent Technologies, Inc., США). Величину ДЭ генов, определённую путём анализа микрочипов, выражали в виде двоичного логарифма изменения флуоресценции ($\log_2 FC$) по сравнению с контрольными группами животных, получавшими сбалансированный рацион, или по сравнению с внутренними контролями микрочипа (Spike-In). Данные о ДЭ загружали в среду «R» и проводили биоинформатический анализ с квантильной нормализацией и дальнейшим анализом в пакете limma. Для выявления метаболических путей с использованием международного ресурса Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGs) и их визуализации применяли пакеты AnnotationDbi, org.Rn.eg.db, pathview, gage, gageData. Статистическую значимость изменения

ТАБЛИЦА 1
ГРУППЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ ПО ИЗУЧЕНИЮ ВЛИЯНИЯ ОЖИРЕНИЯ И ДИСЛИПИДЕМИИ НА ТРАНСКРИПТОМ ПЕЧЕНИ

TABLE 1
GROUPS OF ANIMALS USED IN EXPERIMENTS TO STUDY THE EFFECT OF OBESITY AND DYSLIPIDEMIA ON THE LIVER TRANSCRIPTOME

Вид, пол животных	Линия	In vivo модель	Состав экспериментального рациона ²	Ссылки на публикации
Крысы-самки	Wistar ¹	Метаболический синдром (МетС)	Полусинтетический по AIN-93M с заменой питьевой воды на 30%-й раствор фруктозы (ВФР)	[10]
Мыши самки	C57Bl/6J ¹	МетС	ВФР	[9]
Крысы-самки	Wistar ¹	Дислипидемия (Дис)	Полусинтетический по AIN-93M с заменой 0,5 % жира по массе рациона на холестерин (ВХР)	[10]
Мыши самки	C57Bl/6J ¹	Дис	ВХР	[9]
Крысы-самки	Wistar ¹	ДИО	Полусинтетический по AIN-93M с заменой 20 % крахмала по массе рациона на жир (ВЖР)	[10]
Мыши самки	C57Bl/6J ¹	ДИО	ВЖР	[9]
Крысы-самцы	Wistar ¹	ДИО	Полусинтетический по AIN-93M с заменой 20 % крахмала по массе рациона на жир, питьевой воды – на 20%-й раствор фруктозы (ВУВЖР)	[11, 12]
Крысы-самцы	Zucker ^{fa 3}	ДИО	ВУВЖР	[13]
Мыши-самки	C57Bl/6J ¹	ДИО	ВУВЖР	[9]
Мыши-самцы	C57Bl/6J ¹	ДИО	ВУВЖР	[13]
Мыши-самцы	DBA/2J ¹	ДИО	ВУВЖР	[12, 13]
Мыши-самцы	Тетрагибриды DBCB ⁴	ДИО	ВУВЖР	[13]

Примечание. ¹ – получены из питомника филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России; ² – животные контрольных групп каждого вида, линии и пола получали сбалансированный по макронутриентам и основным микронутриентам полусинтетический рацион AIN-93M; ³ – получены из питомника «Charles River» (Италия); ⁴ – мыши DBCB, гибрид 2-го поколения (F2), были самостоятельно выведены автором исследования (С.А.А.) в виварии ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи» путём последовательной гибридизации мышей родительских линий DBA/2J, CBA/lac (самок) и BALB/c, C57Black/6J (самцов), как указано в [13].

экспрессии оценивали с использованием Т-теста с множественной коррекцией Benjamini – Hochberg. Дополнительно проводили анализ линейной регрессии с расчётом коэффициентов корреляции между величинами ДЭ по Пирсону (R) и их статистической значимости (α). Аннотирование генов, ответивших статистически значимыми величинами ДЭ при развитии ДИО у животных, осуществляли с использованием международного сетевого ресурса Genemania (<https://genemania.org>), интегрированного с наукометрической базой данных PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>). Теоретико-множественный анализ, построение диаграмм Вена и тепловых карт проводили с использованием сетевого приложения Venny 2.1 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) и электронных таблиц MS Excel 2007 (Microsoft Corp., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ответ транскриптома печени на развитие ДИО у мышей

В результате полнотранскриптомного анализа печени мышей четырёх групп, принадлежащих к трём линиям (самки и самцы линии C57Bl/6J, самцы линии DBA2J, самцы-тетрагибриды DBCB), при сравнении животных, получавших ВУВЖР, с мышами контрольных групп выявлена ДЭ на уровне свыше 0,5 единиц по модулю $\log_2(FC)$ (то есть в 1,41 раза и более в сторону как повышения, так и снижения) для 1849 генов, из которых 74 гена ответили как минимум в двух группах животных совместно. Полные данные о проведённых экспериментах представлены ранее [9, 13]. Анализ «тепловой карты» ДЭ этих генов (рис. 1а) показал, что наибольшим сходством по профилю ДЭ в ответ на потребление ВУВЖР отличаются самцы линейных мышей C57Bl/6J и DBA2J, обладающие, по данным ранее проведённых исследований, сравнительно высокой фенотипической резистентностью к развитию ДИО [13], к которым примыкают самки мышей C57Bl/6J, а мыши-тетрагибриды DBCB характеризуются наименьшей степенью сходства с остальными группами. При этом именно тетрагибридные мыши были наиболее фенотипически склонны к развитию ДИО по данным прибавки массы тела и морфологическим признакам жировой дистрофии печени [13]. Регрессионный анализ показал, что между величинами ДЭ генов, совместно ответивших у самцов C57Bl/6J и DBA2J (рис. 1б), наблюдается статистически значимая положительная линейная регрессия ($R = +0,562$; $\alpha = 0,005$), тогда как для самцов DBA2J и тетрагибридов DBCB (рис. 1в) соответствующая регрессия была, напротив, отрицательной ($R = -0,689$; $\alpha < 0,001$), а для сравнений ДЭ между мышами DBCB и самцами C57Bl/6J, а также между самцами и самками последней линии (рис. 1г, д) статистически значимая регрессия отсутствовала ($\alpha > 0,1$).

Таким образом, профиль генетической экспрессии в разных линиях мышей, фенотипически сходных по резистентности к развитию ДИО, в основном согласуется, тогда как у мышей, выражено различающихся по склон-

ности к развитию ДИО (таких как DBA2J и DBCB), направленность ДЭ оказывается в значительной степени противоположной.

Аннотирование генов, ответивших достоверной ДЭ у мышей различных линий, показало несколько групп генов, ответивших противоположными по знаку величинами ДЭ на потребление ВУВЖР у мышей-тетрагибридов DBCB и линейных животных DBA/2J, C57Bl/6J, входящих в число родительских линий указанного тетрагибрида. Из них наиболее представительными явились две группы генов, входящих в метаболические пути липидного обмена, первая из которых включала *Tff3*, *Scd1*, *Pltp* (положительная ДЭ у DBCB и отрицательная – у DBA2J и (или) C57Bl/6J мышей), а вторая – *Pparg*, *Usp18*, *Crot*, *Ifi202b*, *Mvk*, *Sqle*, *Msmo1*, *Idi1* (направленность ДЭ – противоположная первой группе). Экспрессия *Tff3* в печени грызунов в высокой степени подвержена изменениям в моделях раннего диабета и жировой болезнью печени. Белок TFF3 уменьшал стеатоз печени, вызванный диетой с высоким содержанием жиров, за счёт увеличения окисления жирных кислот, опосредованного PPAR α [14]. Функция *Scd1* – синтез олеата из стеарата и пальмитоолеата из пальмитата. Подавление экспрессии *Scd1* защищает мышей от развития печёночного стеатоза и ожирения [13]. Ген *Pltp* отвечает за процессы синтеза фосфолипидов, входящих в состав слёзной жидкости, легочного сурфактанта и др. У мышей с нокаутом данного гена в плазме крови снижались концентрации холестерина, фосфолипидов, аполипопротеина А1 и аполипопротеина В, липопротеинов высокой плотности. При этом PLTP защищал мышей от развития атеросклероза, не вызывая накопления липидов в печени [15].

Pparg кодирует ядерный транскрипционный фактор, влияющий на элементы генома, называемые пероксисомными профераторами и отвечающие за регуляцию сложного комплекса генов, участвующих в метаболизме и пероксисомном β -окислении жирных кислот, дифференцировке адипоцитов и гомеостазе глюкозы. Его экспрессия связана с другими генами семейства *Ppar*, а также *Fabp4*, *Mapk1* и др. Функция PPAR γ осуществляется в ансамбле с ретиноидными X-рецепторами RXR. Доказана роль *Pparg* в активации жирозапасающих клеток Ито печени [16]. Ген *Crot* отвечает за присоединение остатков среднецепочечных жирных кислот к карнитину в ходе их пероксисомного β -окисления [13]. *Usp18* стимулирует липолиз, окисление жирных кислот в трансформированных клетках лёгочного эпителия, защищает мышей от стеатоза печени и развития инсулиновой резистентности [17]. С ним тесно связана экспрессия гена *Ifi202b*, который участвует в дифференцировке стволовых жировых клеток в зрелые адипоциты. Повышенная экспрессия *Ifi202b* стимулирует адипогенез у мышей и людей [18]. Сходный профиль экспрессии у мышей-тетрагибридов в сравнении с линейными мышами отмечен у функционально тесно связанной группы генов *Msmo1*, *Mvk*, *Idi1*, *Sqle1*, участвующих в процессах обмена холестерина и стероидов. Из них *Msmo1*, по данным литературы, обладает способностью к подавлению адипогенеза и дифференцировки незрелых адипоцитов [19]. С дру-

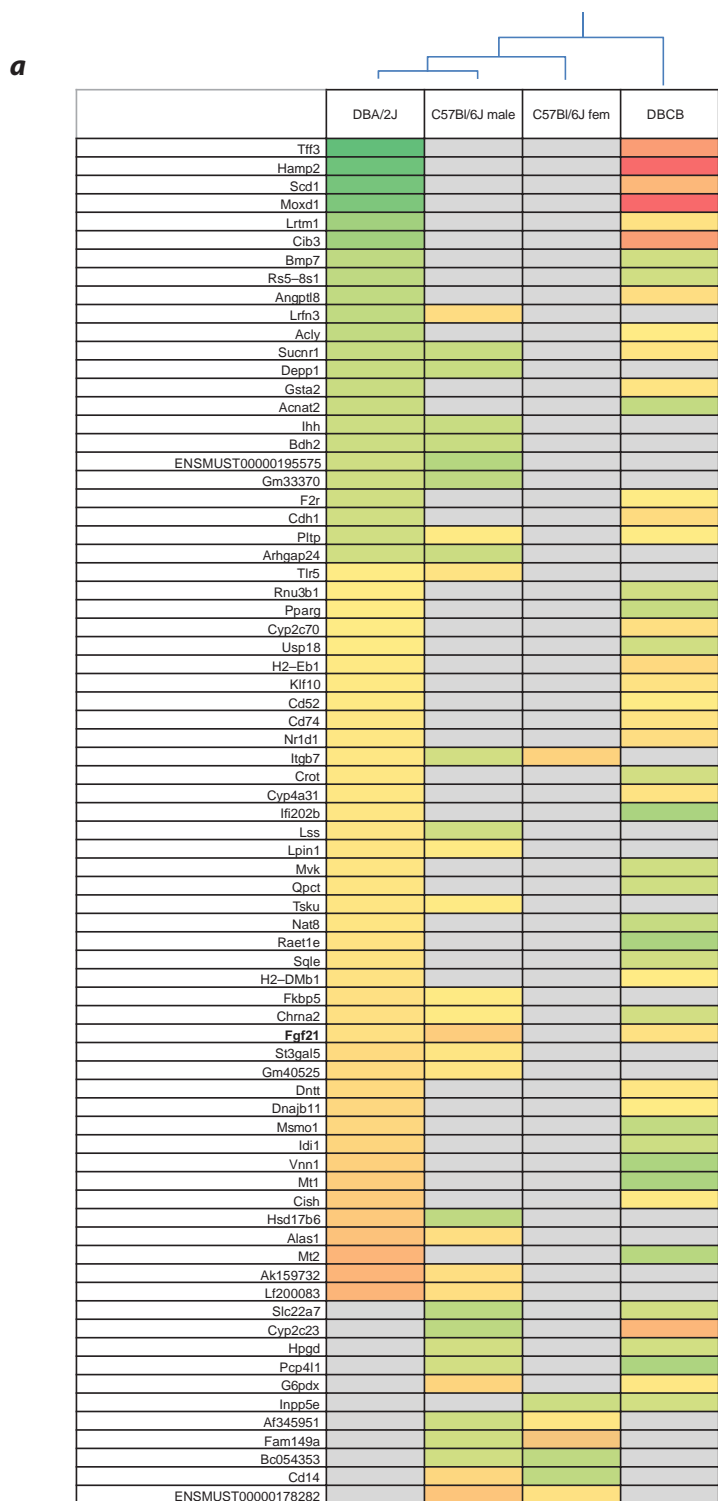


РИС. 1. Сравнительный анализ величин ДЭ генов, совместно ответивших на потребление ВУВЖР у мышей линий DBA/2J (самцы), C57Bl/6J (самцы и самки) и тетрагибрида DBCB (самцы): **a** – тепловая карта ДЭ генов мышей 4 групп; **б** – регрессия DBA/2J – C57Bl/6J (самцы); **в** – регрессия DBA/2J – DBCB; **г** – регрессия C57Bl/6J (самцы) – DBCB; **д** – регрессия C57Bl/6J (самцы) – C57Bl/6J (самки). Расчет степени сходства (X) осуществляли по формуле: $X = N \times (C - M)$, где N – общее число совместно ответивших генов; C – число генов с совпавшей по знаку ДЭ; M – число генов с противоположной по знаку ДЭ

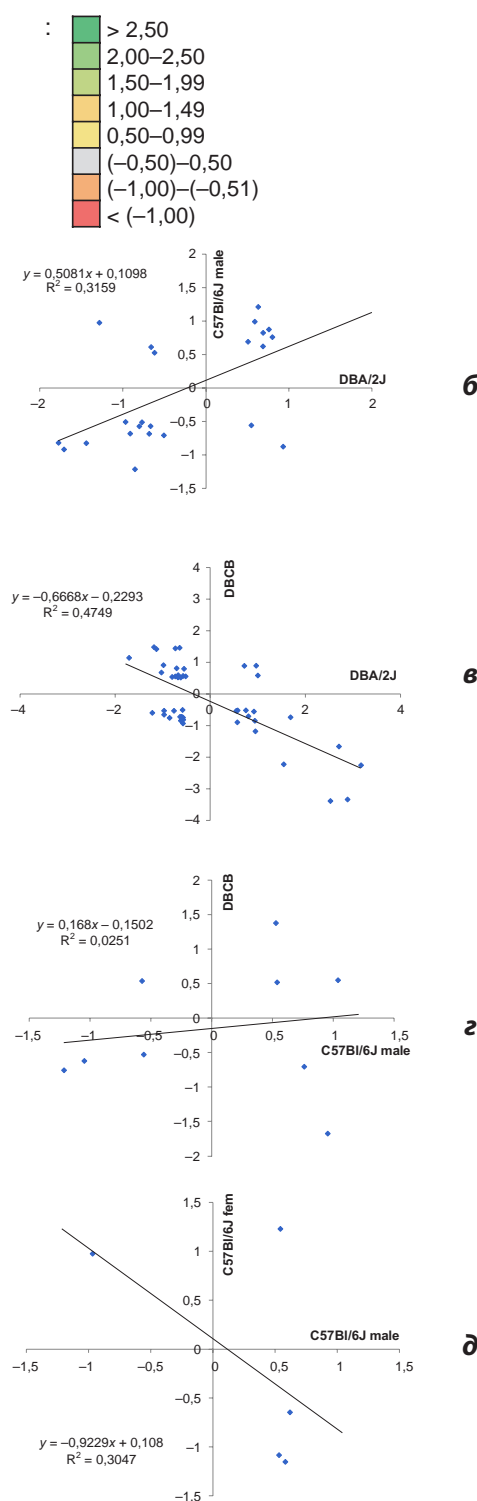


FIG. 1. Comparative analysis of the differential expression values of genes that jointly responded to the consumption of high-carbohydrate high-fat diet in DBA/2J mice (males), C57Bl/6J (males and females), and tetrahybrid DBCB (males): **a** – heat map of differential expression of genes in mice of 4 groups; **б** – DBA/2J – C57Bl/6J (males) regression; **в** – DBA/2J – DBCB regression; **г** – C57Bl/6J (males) – DBCB regression; **д** – C57Bl/6J (males) – C57Bl/6J (females) regression. The degree of similarity (X) was calculated according to the formula: $X = N \times (C - M)$, where N is the total number of jointly responding genes; C is the number of genes with the same sign of differential expression; M is the number of genes with the opposite sign of differential expression

гой стороны, *Sqle* идентифицирован как один из генов, способствующих ожирению у мышей [20].

По-разному ответила величинами ДЭ у линейных и тетрагибридных мышей группа генов, участвующих в минеральном обмене. Из них *Mt1* и *Mt2* характеризовались отрицательной ДЭ у мышей DBA/2J и положительной – у DBCB. Кодированные этими генами белки представляют собой металлопротеины, играющие важную роль в гомеостазе ряда эссенциальных (медь, цинк, марганец) и токсичных (кадмий, свинец, ртуть) микроэлементов; при этом количество синтезируемых металлопротеинов связано с развитием ожирения и жирового гепатоза [13]. В связи с выявленными фактами уместно заметить, что в проведенном ранее исследовании на мышах DBA/2J и DBCB, получавших ВУВЖР, было выявлено значимое влияние их генотипа на показатели бионакопления ряда двухвалентных катионов микроэлементов (свинца, марганца, меди, кадмия и др.) [13].

Противоположный профиль ДЭ (положительный у линейных мышей и отрицательный – у тетрагибридов DBCB) был характерен для *Moxd1* и *Hamp2*. *Moxd1* кодирует медь-связывающий белок, обладающий активностью β-монооксигеназы дофамина и участвующий в биосинтезе биогенных аминов октопамина и норадреналина. Величины экспрессии *Moxd1* и *Dbh* (dopamine beta hydroxylase) тесно связаны между собой по данным анализа на <https://genemania.org>. Значение этих данных будет дополнительно обсуждено ниже. Продуктом экспрессии *Hamp2* является пептидный гормон гепцидин, регулирующий метаболизм железа. Отмечаются повышенное содержание этого белка в плазме крови у детей с ожирением, что коррелирует со сниженным статусом железа и развитием системного воспаления, оцениваемого по продукции интерлейкина (ИЛ) 6 [21].

Противоположной по знаку ДЭ на потребление ВУВЖР у мышей тетрагибридов DBCB и линейных мышей ответил также ряд генов, участвующих в презентации антигенов, сигнальных путях цитокинов и развитии воспаления. В их числе гены *Sucnr1*, *Cdh1*, *Raet1e*, *F2r*. Особенности профилей ДЭ этих генов могут быть соотнесены с различиями в продукции цитокинов у получающих ВУВЖР тетрагибридов DBCB и линейных мышей DBA/2J в ответ на потребление ряда БАВ [13].

Ответ транскриптома печени на развитие ДИО у крыс

При анализе транскриптома крыс самцов линии Zucker^{fa}, самок линии Wistar и самцов линии Wistar (два повтора эксперимента), получавших ВУВЖР, для 2109 генов выявлена ДЭ на уровне по модулю более 0,5 единиц $\log_2(FC)$ по сравнению с группой животных тех же линий, получавших контрольный рацион. Из их числа 174 гена ответили совместно у самцов линий Zucker^{fa} и Wistar; 11 – у самцов и самок Wistar; 6 – у самцов Zucker^{fa} и самок Wistar; 51 – у самцов Wistar в двух повторных экспериментах. Детальная информация о транскриптоме печени, полученная в данных экспериментах, приведена ранее [10, 11, 13].

Тепловая карта распределения генов по величине их ДЭ (рис. 2а) показывает, что наибольшее сходство

в профиле ДЭ наблюдается для самцов линий Wistar и Zucker^{fa}, отличие которых от самок Wistar является более значительным. Согласно рисунку 2б, отмечается статистически значимая ($R = +0,422$; $\alpha < 0,001$), хотя и не очень мощная положительная регрессия между величинами ДЭ для самцов Wistar и Zucker^{fa}. Из данных рисунка 2в следует, что регрессия между ДЭ генов, произведшейся в двух повторах эксперимента на крысах-самцах Wistar, является положительной, высоко статистически значимой ($R = +0,947$; $\alpha < 0,001$), а регрессионная прямая проходит вблизи начала координат. Для самцов и самок линии Wistar (рис. 2г) регрессионная зависимость ДЭ совместно ответивших генов является статистически значимой и отрицательной ($R = -0,651$; $\alpha = 0,042$), то есть реакция транскриптома на потребление ВУВЖР является в определенной степени рассогласованной между ними.

Аннотирование генов, ответивших противоположной по знаку ДЭ на потребление ВУВЖР у крыс-самцов Zucker^{fa} и Wistar, позволило выявить несколько групп генов, отвечающих в процессе развития ДИО, включая *Abhd2*, *Cpt1a*, *Kiss1*, *Myc*, *Prlr*, *Ppp1r3c*, *Tsc22d1* и *Upp2*. *Cpt1a*, кодирующий карнитин-пальмитилтрансферазу 1-го типа, характеризуется отрицательной экспрессией у самцов Zucker^{fa} и положительной – у самцов Wistar. Положительная экспрессия этого гена, отвечающего за процесс β-окисления жирных кислот, рассматривается как нормальная реакция организма на потребление избытка жира [13]; можно предположить, что у крыс Zucker^{fa} этот механизм нарушен.

Аналогичный профиль ДЭ свойственен для гена *Kiss1*, кодирующего предшественник нейропептида кисспептин, предположительно обладающий анорексигенным действием (снижающим аппетит и потребление пищи) [13]. Согласно многочисленным данным литературы, снижение экспрессии *Kiss1* наблюдается в процессе развития алиментарного ожирения [13]. Ту же направленность у крыс двух линий имеет экспрессия *Abhd2* (субъединица гормон-зависимой липазы), *Upp2* (кофактор печеночных X-рецепторов, PPARα- и HNF-4α-сигнальных путей), *Tsc22d1* (ко-регулятор PPARα), *Prlr* (рецептор пролактина, стимулирующий окисление липидов и термогенез в бурой жировой ткани, один из кофакторов действия дофамина [22]) и *Ppp1r3c* (протеинфосфатаза, отвечающая за регуляцию запаса гликогена в клетках печени).

Противоположная по направленности, то есть положительная у крыс Zucker^{fa} и отрицательная у самцов Wistar, ДЭ отмечена для гена *Myc*. Он кодирует многофункциональный ядерный фосфопротеин, играющий роль в клеточном цикле, апоптозе и злокачественной трансформации. В числе его функций – запуск процессов развития фиброза печени, регуляция отвечающих на глюкозу генов через сигнальный путь CREBP [23].

К следующей группе генов, контрастно ответивших на потребление ВУВЖР у крыс двух рассматриваемых линий, относятся гены, отвечающие за реализацию функции протоонкогенов (т. е. внутриклеточный сигнальный каскад фосфорилирования белков) и стимуляцию апоптоза. Помимо рассмотренного *Myc*, к ним относятся *Jun*,

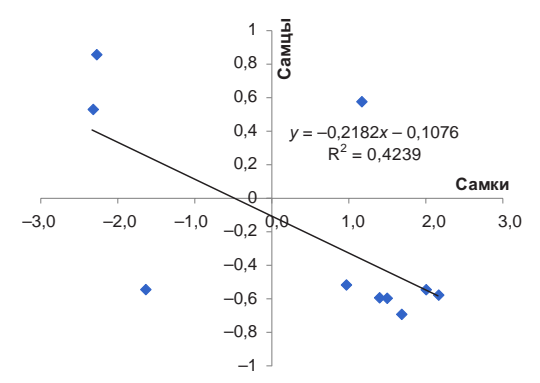
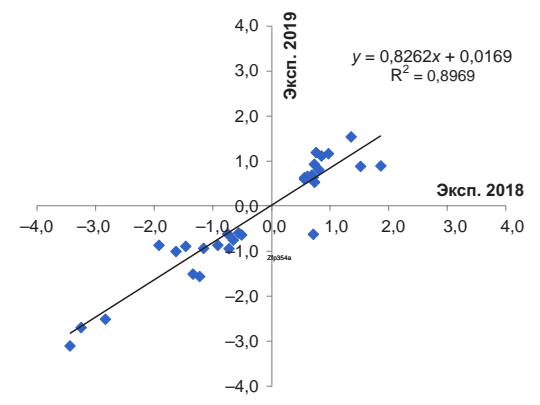
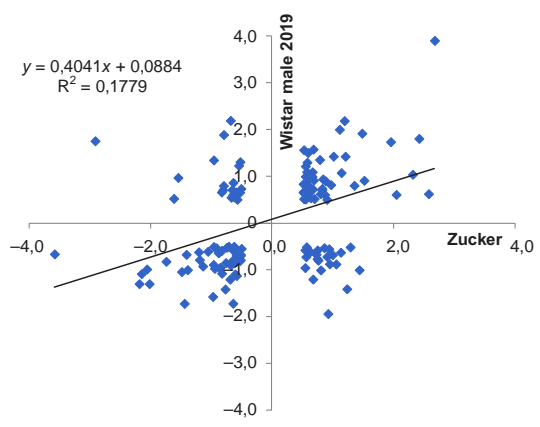
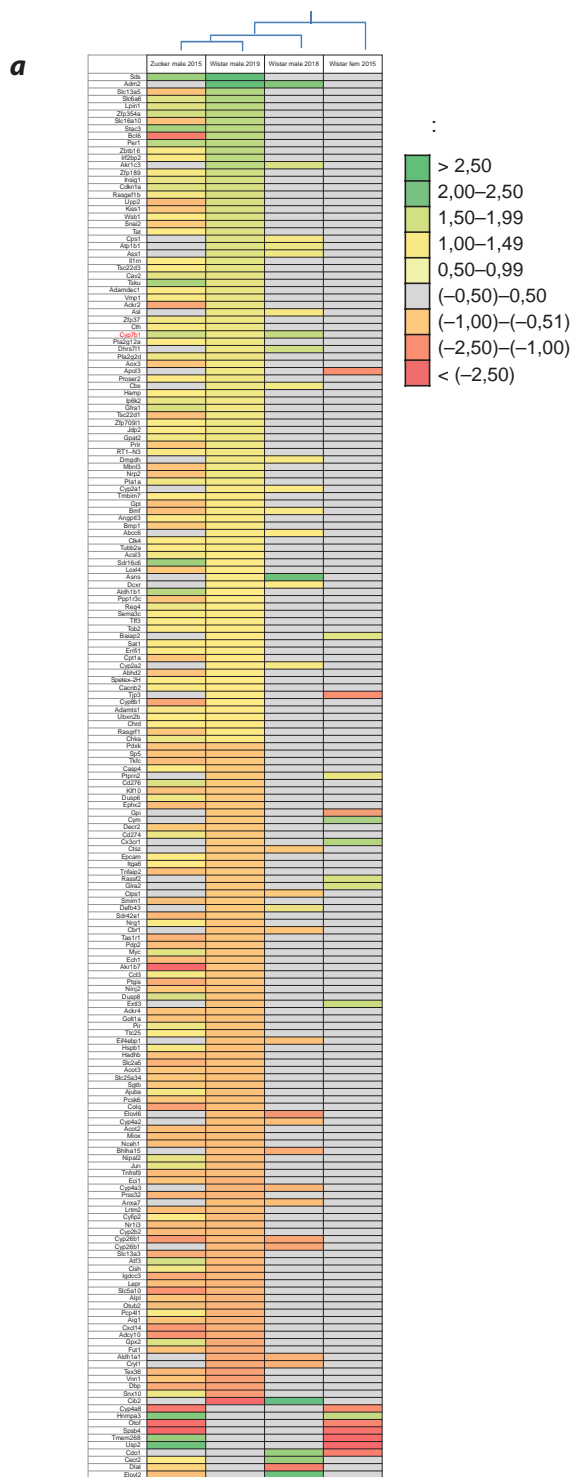


РИС. 2.

Сравнительный анализ величин ДЭ генов, совместно ответивших на потребление ВУВЖР, у крыс линий Zucker^{fa} (самцы), Wistar (самцы (2 эксперимента) и самки): **а** – тепловая карта ДЭ генов крыс 4 групп; **б** – регрессия Zucker^{fa} – Wistar (самцы, эксперимент 2019 г.); **в** – регрессия для двух групп самцов Wistar в экспериментах 2018 и 2019 гг.; **г** – регрессия между группами самок и самцов Wistar. Расчёт степени схожести (X) выполнялся по формуле: $X = N \times (C - M)$, где N – общее число совместно ответивших генов; C – число генов с совпавшей по знаку ДЭ; M – число генов с противоположной по знаку ДЭ

FIG. 2.

Comparative analysis of the differential expression values of genes that jointly responded to the consumption of high-carbohydrate high-fat diet in the Zucker^{fa} rat lines (males), Wistar rats (males (2 experiments) and females): **a** – heat map of differential expression of genes in 4 groups of rats; **b** – Zucker^{fa} – Wistar (males, experiment of 2019) regression; **в** – regression for two groups of Wistar males in experiments of 2018 and 2019; **г** – Wistar females and males groups regression. The degree of similarity (X) was calculated according to the formula: $X = N \times (C - M)$, where N is the total number of jointly responding genes; C is the number of genes with the same sign of differential expression; M is the number of genes with the opposite sign of differential expression

Atf3, Dusp6,7, Epcam и *Casp4*. В частности, протеинкиназа *Jun*, положительно экспрессируемая у *Zucker^{fa}* и отрицательно – у *Wistar*, является компонентом сигнальной цепи JNK, отвечающей за развитие последствий окислительного стресса, включая апоптоз, и инсулиновой резистентности. По данным [24], экспрессия *Jun* повышена у мышей с жировым гепатозом, вызванным потреблением ВЖР. *Jun* также функционально связан с *Mlxip1*, регулирующим метаболизм глюкозы, и рассмотренным выше *Kiss1*.

Среди дифференциально экспрессированных генов, участвующих в процессах воспаления и сигнальных путях цитокинов, положительной ДЭ у *Zucker^{fa}* и отрицательной у *Wistar* отличаются гены *Ccl3* (Mip-1a), *CD274,276* и *Cish*, а противоположным профилем ДЭ – *Ackr2*, *Vclb* и *Bmf*. Из них *Vclb* – это функционально значимый ген, продукт экспрессии которого подавляет пролиферацию макрофагов, стимулированную ИЛ-6 [25], синтез ИЛ-18 и дифференцировку Th2-клеток, что в совокупности может вносить вклад в купирование системного воспаления, вызванного избыточным адипогенезом. У крыс *Zucker^{fa}* данный молекулярный механизм, по-видимому, нарушен.

Следует также указать на противоположную направленность у крыс *Zucker^{fa}* и *Wistar* вызванной ВУВЖР ДЭ ряда генов (*Aox3, Bmp1, Gpx2, Hspb1, Lox4, Pir*), отвечающих за процессы минерального обмена (связывание железа, меди), функцию биоантиоксидантов (селена) и ингибирование окислительного стресса. Это же относится к таким генам метаболического пути стероидных гормонов, как *Cyp8b1* и *Nrg1*, а также обмена и транспорта аминокислот (*Gpt, Slc16a10*). При этом аланиновая аминотрансфераза (АлАТ), экспрессия которой снижается у крыс *Zucker^{fa}* и активируется у крыс *Wistar* при потреблении ВУВЖР, является геном, подавляемым инсулином и, подобно рассматриваемой ниже *Tat*, стимулируемым глюкокортикоидами [26]. АлАТ играет важную роль в катаболизме белка и глюконеогенезе [13].

Сравнение особенностей ответа транскриптома печени на ВУВЖР между крысами и мышами

Общими в отношении дифференциальной экспрессии генов для обоих видов грызунов процессами регуляции обмена веществ были гены, входящие в сигнальный путь PPAR γ , метаболизм ксенобиотиков цитохромами P450, обмен ретинола, трансаминирование и другие пути метаболизма ароматических аминокислот.

Характерно, что гены, связанные с трансаминированием и апоптозом, были активированы у обоих видов грызунов.

Общие для двух видов грызунов процессы свидетельствуют о том, что трансаминирование и апоптоз являются одними из наиболее важных процессов регуляции метаболических реакций у грызунов в ответ на потребление гиперкалорийного рациона с избытком жиров и простых углеводов (ВУВЖР), определяя соотношение катаболических и анаболических реакций наряду с другими трансаминазами, например, аспартатаминотрансфераза (АсАТ) и АлАТ. Отличия между двумя видами грызунов могут объясняться различиями в АТФ-зависимых процессах, регуляторных каскадах (PPAR γ), механизмах энергетического

обмена (коэнзим А), окислительного стресса (глутатион) и апоптоза между видами и линиями животных.

Сравнительный анализ результатов исследований различных линий мышей и крыс выявил 198 общих для обоих видов грызунов ДЭ гена (рис. 3). Генами, совместно ответившими дифференциальной экспрессией на потребление ВУВЖР хотя бы у одной из изученных линий мышей и у крыс, явились *Cish, Lpin1, Nat8, Pcp411, Tsku, Bmp7, Cd52, Cd74, Depp1, Fgf21, Idi1, Ihh, Klf10, Lss, Nr1d1, Pparg, Tff3, Usp18, Vnn1*, причём первые пять из этого списка ответили как у крыс *Zucker^{fa}*, так и у самцов *Wistar*. Некоторые из перечисленных генов играют ключевую роль в регуляции процессов окисления липидов, липогенеза и пролиферации жировой ткани.

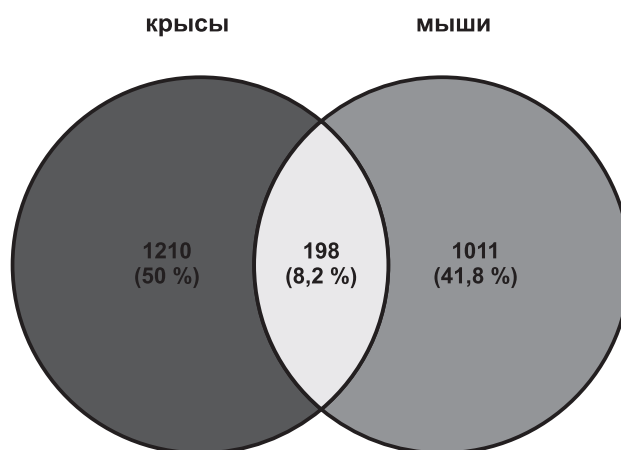


РИС. 3. Диаграмма Венна совместно ответивших на потребление ВУВЖР ДЭ генов крыс и мышей различных линий

FIG. 3. Venn diagram of differential expressions of genes in rats and mice of different lines that jointly responded to the consumption of high-carbohydrate high-fat diet

Так, *Lpin1* кодирует фосфолипазу С, генерирующую диацилглицерин, являющийся ко-регулятором большого числа транскрипционных факторов. При гиперэкспрессии *Lpin1* у мышей подавляется развитие алкогольного гепатита за счёт ингибирования липолиза и снижения количества жирных кислот, поступающих в печень, а подавление активности этого гена наблюдается при развитии метаболического синдрома [13]. Экспрессия *Tsku* связана с *Ppara*, повышается при неалкогольном стеатогепатите [27]. *Fgf21* – это важный гепатокин с плейотропной функцией, известный как метаболический регулятор гомеостаза глюкозы и липидов, обладающий анорексигенным действием [28]. Наконец, *Vnn1*, рассматриваемый как биомаркер токсического повреждения почек и находящийся под контролем PPAR α , играет роль в воспалении, окислительном стрессе и пролиферации клеток [29].

ДЭ гена *Tat*, кодирующего тирозинаминотрансферазу, была выявлена под воздействием ВУВЖР у крыс-самцов *Wistar* и *Zucker^{fa}*, мышей-самцов DBA/2J и самок C57Bl/6J, а также у спонтанно тучных мышей db/db по сравнению

с их родительской линией C57Bl/6J (подробнее описано ниже). Другими общими для обоих видов грызунов дифференциально экспрессированными генами были *Plekha7* (гомолог плекстрина), *Atp1b1* (субъединица b1 Na⁺/K⁺-АТФазы), *Chka* (холинкиназа альфа). Субъединица b1 Na⁺/K⁺-АТФазы *Atp1b1* представляет собой плазматический мембранный насос с многочисленными физиологическими функциями. Он поддерживает ионный гомеостаз, который имеет решающее значение для выживания, дифференцировки и апоптоза клеток [30]. Схожая с геном *Tat* картина положительной дифференциальной экспрессии в ткани печени была получена для гена *Plekha7* (*LAPF*) у крыс линии Wistar и инбредной линии мышей DBA/2J, но не C57Bl/6J. Функция данного гена в патогенезе ожирения в настоящее время не ясна. *Chka* является вторым АТФ-зависимым белком, показавшим прямо противоположные показатели экспрессии печени у мышей и крыс. Это может быть связано с различиями в скорости АТФ-зависимых процессов энергетического обмена между двумя видами грызунов (у мышей она выше).

Роль в адипогенезе и развитии ДИО таких генов, как *Idi1*, *Cish*, *Pparg*, *Tff3* и *Usp18*, была рассмотрена выше.

Метаболические пути крыс и мышей различных линий, ответившие на потребление гиперкалорийных и гиперлипидемических рационов

Биоинформатический анализ ДЭ генов позволил идентифицировать метаболические пути (KEGGs), статистически значимо изменяющиеся под влиянием экспериментальных гиперкалорийных рационов. Подробно полученные сведения о KEGGs-мишенях различных диетических воздействий в эксперименте представлены в предыдущих публикациях [9–13].

У мышей линий C57Bl/6J (самцов и самок), самцов DBA/2J (в двух повторах эксперимента) и тетрагибридов DBCB на уровне статистической значимости $p < 0,05$ выявлено влияние ВУВЖР на 77 метаболических путей. Анализ тепловой карты этих влияний, построенной по величине статистической значимости эффекта (p_{val}), показал (рис. 4а), что мыши-самцы C57Bl/6J и DBA/2J, а также, с другой стороны, DBA/2J и тетрагибриды DBCB образуют два сходных кластера, а их отличие от мышей-самок C57Bl/6J оказывается более существенным. Таким образом, пол мышей является, по-видимому, более сильным фактором, определяющим направленность изменений KEGGs при ДИО по сравнению с генотипом (линией). Теоретико-множественный анализ по методу диаграмм Венна (рис. 4б) свидетельствует об отсутствии метаболических путей, одновременно ответивших на ВУВЖР у мышей всех полов и линий. Вместе с тем у мышей-самцов C57Bl/6J и DBA/2J совместно на потребление ВУВЖР ответили 9 метаболических путей, у DBA/2J и тетрагибридов DBCB – также 9, у самцов C57Bl/6J и DBCB – 5, у самок и самцов C57Bl/6J – 1. Четыре метаболических пути (*mmu00982* Drug metabolism – cytochrome P450; *mmu00980* Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450; *mmu00830* Retinol metabolism; *mmu00330* Arginine and proline metabolism) ответили во всех группах мышей, за исключением самок C57Bl/6J.

Заслуживают внимания различия в характере влияния ВУВЖР на метаболические пути *mmu00830* Retinol metabolism и сопряжённого с ним *mmu03320* PPAR signaling pathway у мышей-самцов DBA/2J и DBCB, контрастно различающихся по развитию фенотипа ДИО в ответ на потребление ВУВЖР. Как следует из рисунка 4в, у тетрагибридов DBCB имеет место частично обходный метаболический блок на стадии превращения витамина А в его активную форму all-trans retinal под действием ретинолдегидрогеназы (RDH), что может приводить к снижению продукции 9-cis-retinoate. Последний, в свою очередь, является лигандом для RXR-рецептора PPAR-сигнального пути (рис. 4г), по-разному экспрессированного у мышей этих двух линий. В совокупности с наличием дифференциальной экспрессии PPARβδ-рецепторов это приводит к серии разнонаправленных изменений (частичных или полных метаболических блоков) в процессах транспорта и β-окисления жирных кислот, что, вероятно, находит отражение в рассмотренных выше различиях в фенотипе этих животных.

У крыс-самцов Zucker^{fa} и Wistar в двух повторностях исследования (данные экспериментов детально представлены в публикациях [11, 13]) потребление ВУВЖР вызвало в общей сложности изменения в 43 метаболических путях, из которых 7 были общими для всех проведённых исследований (рис. 5а). При сравнении двух параллельных тестов на крысах-самцах Wistar [11, 13] отмечено совпадение 18 из 39 (46 % от общей численности) идентифицированных KEGGs, что является довольно хорошим показателем для воспроизводимости транскриптомных исследований по данным MAQC Consortium (цитируется по [13]) в свете того, что исследования проводились на разных когортах животных и с использованием ДНК-микрочипов разных серий.

Все 7 метаболических путей, включая *rno00830* Retinol metabolism, *rno00980* Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450, *rno00982* Drug metabolism – cytochrome P450, *rno03320* PPAR signaling pathway, *rno00590* Arachidonic acid metabolism, *rno01140* Steroid hormone biosynthesis, *rno01040* Biosynthesis of unsaturated fatty acids, ответившие на потребление ВУВЖР во всех группах крыс, одновременно ответили на это воздействие как минимум в части групп мышей, причём первые четыре из этих KEGGs ответили одновременно в трёх из четырёх исследованных групп мышей (у всех самцов). Это указывает на достаточно высокую степень достоверности идентификации указанных KEGGs как мишеней воздействия гиперкалорийного рациона на различных моделях ДИО у грызунов. Всего же совместно у крыс и мышей хотя бы в двух экспериментах на потребление ВУВЖР ответил 31 метаболический путь (рис. 5б).

С использованием метода тепловых карт (рис. 5в) была проанализирована мера сходства в ответе различных метаболических путей на различные гиперкалорийные (ВЖР, ВФР, ВУВЖР) и гиперлипидемический (ВХР) рационы у крыс и мышей с целью выявить в этом возможные диетические, генотипические и гендерные закономерности. Результаты проведённой по группам животных кластеризации приведены на рисунке 5г в виде

a

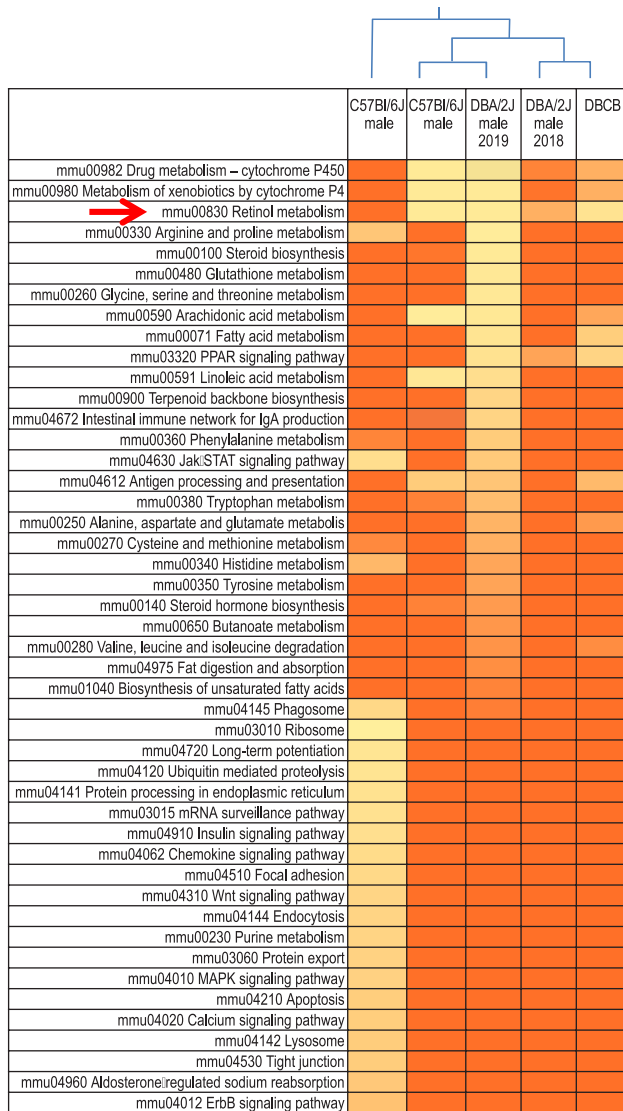
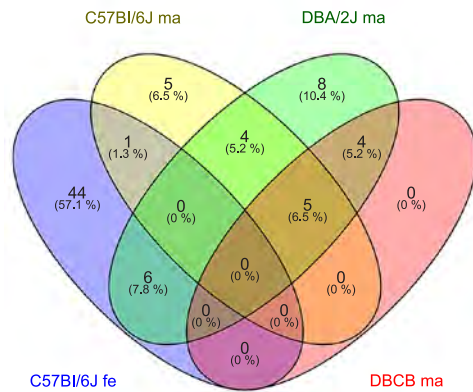
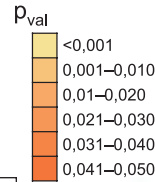
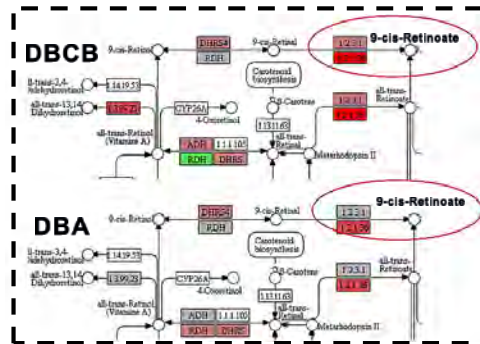


РИС. 4.

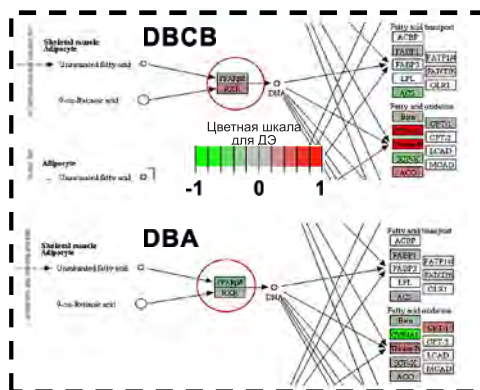
Сравнительный анализ метаболических путей (KEGGs), статистически значимо ($p_{val} < 0,05$) ответивших на потребление ВУВЖР у мышей линий C57Bl/6J (самцы и самки), DBA/2J (самцы, 2 эксперимента) и тетрагибридов DBCB: **a** – тепловая карта значений p_{val} метаболических путей мышей 5 групп; **б** – диаграмма Венна распределения метаболических путей, совместно ответивших в различных группах мышей; **в** – фрагменты метаболического пути mmu00830 Retinol metabolism у мышей DBCB и DBA/2J; **г** – фрагменты метаболического пути mmu03320 PPAR signaling pathway у мышей DBCB и DBA/2J. C57Bl/6J fe – самки C57Bl/6J; C57Bl/6J ma – самцы C57Bl/6J; DBA/2J ma – самцы DBA/2J; DBCB ma – самцы DBCB. Расчёт меры сходства по критерию числа статистически значимо ($p < 0,05$) совместно ответивших KEGGS



б



в



г

FIG. 4.

Comparative analysis of metabolic pathways (KEGGs) significantly ($p_{val} < 0.05$) responding to the consumption of high-carbohydrate high-fat diet in C57Bl/6J mice (males and females), DBA/2J (males, 2 experiments) and DBCB tetrahybrids: **a** – heat map of the p_{val} values of the metabolic pathways in 5 groups of mice; **b** – Venn diagram of the distribution of metabolic pathways that jointly responded in different groups of mice; **c** – fragments of the metabolic pathway mmu00830 Retinol metabolism in DBCB and DBA/2J mice; **d** – fragments of the metabolic pathway mmu03320 PPAR signaling pathway in DBCB and DBA/2J mice. C57Bl/6J fe – C57Bl/6J females; C57Bl/6J ma – C57Bl/6J males; DBA/2J ma – DBA/2J males; DBCB ma – DBCB males. The measure of similarity was calculated by the criterion of the number of significantly ($p < 0.05$) jointly responded KEGGS

графа («филогенетического древа»). Они показывают четкое отделение мышей-самок C57Bl/6J от всех остальных групп животных (как крыс, так и мышей). С другой стороны, в ответе на изучаемые диеты прослеживаются два других кластера, из которых один представлен самцами мышей C57Bl/6J и DBCB на ВУВЖР и самками крыс Wistar на ВЖР, а другой – самцами мышей DBA/2J на ВУВЖР и самками Wistar на ВФР и ВХР. Самки крыс Wistar и самцы Zucker^{fa}, наиболее склонные к развитию ДИО, не входят ни в один из этих кластеров, демонстрируя высокую специфичность своего метаболического ответа.

При сравнении особенностей метаболических путей у крыс-самцов Wistar и Zucker^{fa}, контрастно различающихся по выраженности фенотипа ожирения, было отмечено, что в пути rno00830 Retinol metabolism у крыс Wistar, получавших ВУВЖР, наблюдается частично преодолимый метаболический блок в ферментативных путях образования all-trans-retinoate и термодинамически необратимого образования из него – 9-cis-retinoate, тогда как у крыс Zucker^{fa} оба этих метаболических блока являются, по-видимому, непреодолимыми. С другой стороны, у крыс Zucker^{fa} имеет место метаболический блок глюкуронирования all-trans-retinoate, способный привести к торможению его клиренса. В совокупности эти эффекты могут гипотетически повлиять на соотношение цис- и транс-изомеров ретиноевой кислоты, играющих различную роль в регуляции внутриклеточных процессов через взаимодействие с RXR-рецепторами (см. выше на примере мышей). Однако доказательство возможности такого механизма невозможно без проведения кинетического моделирования соответствующих ферментативных реакций, для чего в настоящее время недостаточно экспериментальных данных.

Важную роль в различии ответа на потребление ВУВЖР между крысами Zucker^{fa} и Wistar может играть и метаболический путь rno00590 Arachidonic acid metabolism. А именно: у крыс Wistar, получающих ВУВЖР, наблюдается метаболический блок (непреодолимый либо частично преодолимый) в биосинтезе PGF₂α, 5-НЕТЕ и 15(S)-НЕТЕ, в отличие от крыс Zucker^{fa}, у которых эти реакции, напротив, активируются. Следствием этих различий может быть неодинаковый характер реагирования у крыс этих двух линий профиля оксипиринов – производных полиненасыщенных жирных кислот, играющих важную роль в регуляции экспрессии большого числа генов, в том числе участвующих в процессах липогенеза, жирового обмена, иммунной реакции и воспаления [13].

Существенным ограничением использованного в настоящей работе подхода является неполнота охвата вызываемых диетическими факторами транскриптомных изменений у мышей и крыс обоего пола и различных линий, что определяется совокупностью данных, представленных в оригинальных исследованиях [9–13] в сопоставимых условиях. Однако даже на такой фрагментарной выборке комбинаций вида, пола и линий животных стало возможным выявление общей закономерности, состоящей в том, что под воздействием кормления гиперкалорийными рационами как у крыс, так и у мышей выделяются одни и те же группы генов, противоположно отвечаю-

щих величинами ДЭ на один и тот же диетический фактор в зависимости от степени генетической предрасположенности к развитию ДИО. С некоторой долей схематизации к ним можно отнести 1) гены, участвующие в регуляции липогенеза и липидного обмена; 2) гены сигнальных путей протоонкогенов и внутриклеточных мессенджеров, в том числе отвечающие за клеточную дифференцировку и апоптоз; 3) гены факторов воспаления, регуляторных молекул иммунных клеток, цитокинов и их рецепторов; 4) гены белков, участвующих в связывании, транспорте и биологической функции микроэлементов; 5) гены ферментов аминокислотного обмена, в особенности те из них, которые способны контролировать доступность субстратов синтеза биогенных аминов (включая следовые амины и классические нейромедиаторы), участвующих в регуляции энерготрат, физической подвижности, пищевого поведения и аппетита, что будет дополнительно обсуждено ниже применительно к гену *Tat*.

Особенно важно отметить общую для обоих видов грызунов закономерность, состоящую во влиянии избыточного по энергетической ценности рациона на экспрессию генов, участвующих в регуляции обмена веществ посредством PPARγ-сигнального пути, метаболизма ксенобиотиков цитохромами P450, обмена ретинола, метаболизма аминокислот (включая трансаминирование ТАТ) и регуляции апоптоза. В то же время остальные дифференциально экспрессированные гены характеризовались не только межвидовыми различиями между мышами и крысами, но и межлинейными различиями в пределах мышей двух инбредных линий и тетрагибрида.

Роль экспрессии гена *Tat* в метаболических эффектах ДИО на моделях у крыс и мышей

Ген *Tat* кодирует фермент тирозинаминотрансферазу (КФ 2.6.1.5), катализирующую обратимую реакцию переноса аминокислоты с аминокислоты тирозина на α-кетоглутарат с образованием из них п-гидроксифенилпирувата и глутамата соответственно. Фермент ТАТ, как и другие аминотрансферазы, является витамином В₆-зависимым и играет важную роль в метаболическом пути биотрансформации тирозина. Фермент также может использовать фенилаланин в качестве донора аминокислоты, а фенилпируват – как её акцептор [31]. Фактически через метаболическое звено, катализируемое ТАТ печени, происходит регуляция количества условно незаменимой аминокислоты тирозина, доступной для синтеза биогенного амина дофамина и его производных, включая адреналин, норадреналин, эпинефрин, норэпинефрин. Генетический дефект *Tat* у человека приводит к тирозинемии типа 2, сопровождаемой глубокими неврологическими нарушениями.

Как следует из данных таблицы 2, достоверная ДЭ гена *Tat* была выявлена под воздействием ВУВЖР у крыс-самцов Wistar и Zucker^{fa}, мышей-самцов DBA/2J и самок C57Bl/6J, а также у спонтанно тучных мышей db/db по сравнению с их родительской линией C57Bl/6J (данные эксперимента представлены в монографии [13]). Во всех случаях, за исключением мышей db/db и самок C57Bl/6J, факторы, приводящие к развитию ожире-

ния, вызывали положительную ДЭ *Tat*. Интересно отметить, что для крыс Wistar показатель дифференциальной экспрессии гена *Tat* был более чем в два раза выше ($\log_2(FC) = 1,212$; $p_{val} = 0,002$; $adj.p_{val} = 0,067$) по сравнению с контрольным рационом, в то время как у крыс линии Zucker^{fa} – всего на 46 % ($\log_2(FC) = 0,553$; $p_{val} = 0,041$; $adj.p_{val} > 0,1$). При этом у мышей db/db экспрессия *Tat* была снижена почти в два раза ($\log_2(FC) = -0,962$; $p_{val} = 0,001$; $adj.p_{val} = 0,006$).

На роль реакций трансаминирования и обмена тирозина как эффекторных звеньев метаболизма при ДИО и ожирении, обусловленном генетическими факторами, указывают изменения активности АсАТ и значения коэффициента де Ритиса (АсАТ/АлАТ) в плазме крови не только гомозиготных (*in vivo* модель гиперактивности, сопровождаемой повышенной резистентностью к развитию ДИО), но и гетерозиготных крыс линии DAT-KO [13]. Эти результаты указывают на влияние избыточных количеств внеклеточного дофамина в синаптической щели дофаминергических нейронов стриатума на регуляцию обменных процессов посредством активации катаболических процессов, включая липидный и углеводный обмен. Вследствие этого у крыс нокаутной линии DAT-KO, получающих ВУВЖР, наблюдалось снижение ключевых показателей фенотипа ожирения (масса тела, относительная масса печени, белой забрюшинной жировой ткани и др.) в сравнении с животными «дикого типа», в роли которых выступала родительская для крыс DAT-KO линия Wistar.

Как и в случае нокаута гена *DAT*, обусловленное диетой повышение экспрессии и активности ТАТ может снижать уровень внеклеточного дофамина в синапсах дофаминергических нейронов, действуя, в частности, на нигростратную и мезолимбическую дофаминовые системы головного мозга. Наблюдаемые изменения в экс-

прессии ТАТ, наряду с трансаминазами АлАТ и АсАТ, могут влиять на выраженность и направленность катаболических и/или анаболических реакций организма, особенно пищевого поведения и способность контролировать объемы потребляемой пищи.

С этими данными согласуются результаты транскриптомного исследования, свидетельствующие о том, что как у крыс, так и у мышей, более склонных к развитию фенотипа ожирения (крысы Zucker^{fa}, мыши db/db, мыши-самки C57Bl/6J), наблюдается менее выраженная экспрессия *Tat* по сравнению с животными, фенотипически сравнительно более резистентными к развитию ожирения (крысы-самцы Wistar, мыши DBA/2J). Сюда же примыкают результаты, показывающие наличие ДЭ у мышей различных линий генов *Moxd1* и *Dbh*, отвечающих за некоторые стадии метаболизма дофамина и его производных. Связь экспрессии рассмотренного выше гена *Hamp2* (гепцидин) с метаболизмом дофамина, по-видимому, может опосредоваться ролью этого гена в регуляции тканевого статуса железа, являющегося важным кофактором ряда стадий обмена этого биогенного амина.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что в печени существует ТАТ-зависимое влияние на активацию процессов трансаминирования посредством изменения скорости катаболических реакций, а также регуляции уровня дофамина через утилизацию тирозина по не-дофаминовому пути, что, возможно, является новой нейрометаболической регуляторной функцией печени в ответ на потребление высококалорийных рационов.

Анализ межгенных взаимодействий с помощью инструмента «генетических сетей», реализуемого в ресурсе Genemania, показывает связь экспрессии *Tat* с другими аминотрансферазами, включая рассмотренную выше *Gpt* (АлАТ), *Got* (АсАТ), а также участвующие в липогенезе

ТАБЛИЦА 2
ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА *Tat*
В РАЗЛИЧНЫХ ГРУППАХ ЖИВОТНЫХ В ОТВЕТ
НА РАЗВИТИЕ СПОНТАННОГО
ИЛИ ДИЕТ-ИНДУЦИРОВАННОГО ОЖИРЕНИЯ
И ДИСЛИПИДЕМИИ

Модели	Вид, пол животных	Линия	Log(FC)	p_{val}	$adj.p_{val}$	Ссылки на публикации
МетС (кормление ВФР)	Мыши-самки	C57Bl/6J	-0,554	< 0,001	0,08	[9]
ДИО (кормление ВУВЖР)	Мыши-самки	C57Bl/6J	0,775	< 0,001	0,043	[9]
Дислипидемия (кормление ВХР)	Мыши-самки	C57Bl/6J	0,403	0,002	–	[9]
Спонтанное ожирение (сбалансированный рацион)	Мыши-самцы	db/db ¹	-0,962	0,001	0,006	[13]
ДИО (кормление ВУВЖР)	То же	DBA/2J	1,449	< 0,001	0,004	[12]
ДИО (кормление ВУВЖР)	Крысы-самцы	Zucker	0,553	0,041	–	[13]
ДИО (кормление ВУВЖР)	Крысы-самцы	То же	1,212	0,002	0,067	[13]

Примечание. ¹ – линия мышей с нокаутом гена рецептора лептина. Контролем в этом эксперименте служили получавшие тот же рацион мыши линии C57Bl/6J, являющиеся «родительской» линией для данной нокаутной линии [13].

TABLE 2
DIFFERENTIAL EXPRESSION OF THE *Tat* GENE
IN DIFFERENT GROUPS OF ANIMALS IN RESPONSE
TO THE DEVELOPMENT OF SPONTANEOUS
OR DIET-INDUCED OBESITY AND DYSLIPIDEMIA

и ответе на ВУВЖР гены *Vnn1*, *Fos*, *Jun* и некоторые другие. Это указывает на закономерную роль *Tat* как метаболического звена в ответе фенотипа организма на потребление избыточного по калорийности рациона. Экспрессия *Tat* повышается у мышей, получающих гиперкалорийный рацион, на фоне метаболической коррекции путём приёма пищевого волокна *Luffa cylindrica*, причём, по мнению авторов, механизм данного эффекта опосредуется благоприятным влиянием метаболитов кишечной микрофлоры на генную экспрессию в печени хозяина [32]. В нашем исследовании на крысах Wistar содержание белка ТАТ было увеличено в клетках печени крыс, получавших ВУВЖР, по данным иммуногистохимического анализа [33].

Другой предполагаемый механизм метаболической регуляции экспрессии *Tat* связывается с системными эффектами глюкокортикоидов. Так, известно, что *Tat* стимулируется при введении кортикостерона или же при мобилизационном стрессе, сопровождаемом массивным выбросом глюкокортикоидов [34]. В этой связи актуальным представляется анализ связи экспрессии *Tat* с метаболическими путями (KEGGs) биосинтеза и метаболизма стероидных гормонов, являющихся, по данным транскриптомных исследований, мишенями воздействия ВУВЖР и других гиперкалорийных рационов у различных видов и линий грызунов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использование метода полнотранскриптомного профилирования позволило выявить на моделях диет-индуцированного ожирения, гиперлипидемии и метаболического синдрома у крыс и мышей нутригеномные эффекты, связанные с различным характером влияния избыточного потребления жира и (или) углеводов рациона на транскриптом ткани печени у животных, более или менее наследственно предрасположенных к развитию ДИО или наследственно детерминированного ожирения, жировой дистрофии печени и дислипидемии. Показана важная роль экспрессии гена *Tat*, кодирующего тирозинаминотрансферазу, в регуляции метаболических реакций у грызунов в ответ на потребление ВУВЖР и при развитии ожирения.

Полученные результаты в большом числе случаев являются воспроизводимыми, совпадают у животных различных видов и линий, характеризуются похожим фенотипом, и согласуются с данными анализа у них интегральных, биохимических, микроэлементных и морфологических показателей. При этом в пределах каждого изученного вида (*Rattus rattus* и *Mus domesticus*) и определённого пола животных можно выявить ряд генетических вариантов с большей или меньшей склонностью к развитию фенотипа ДИО; в пределах этих вариантов отмечается во многом сходная направленность ответа транскриптома на диетическое воздействие.

Указанный обобщающий результат позволяет вспомнить высказанное в 1-й половине XX века научное положение выдающегося генетика Николая Ивановича Вавилова о том, что «Виды и роды, генетически близкие, ха-

рактеризуются сходными рядами наследственной изменчивости с такой правильностью, что, зная ряд форм в пределах одного вида, можно предвидеть нахождение параллельных форм у других видов и родов». Данный постулат, известный как «закон гомологических рядов наследственности», был эмпирически выведен на основе исследований на генетических вариантах хлебных злаковых растений. Однако сам Н.И. Вавилов отмечал, что «закон гомологических рядов» может быть применён также и к животным. Если предположение о том, что различные варианты реагирования транскриптома и связанного с ним метаболома на потребление избыточной по энергетической ценности пищи являются сходными у различных видов (включая и человека), то это улучшает перспективы трансляции результатов, полученных в экспериментах *in vivo*, в клиническую практику.

Общая направленность реакции транскриптома и производного от него метаболома может способствовать как развитию ДИО, так и формированию резистентности к нему за счёт роста энергозатрат и контроля объёма потребляемой пищи. То, какой из этих вариантов реализуется с наибольшей вероятностью, зависит от генотипа организма, то есть от наличия аллельных полиморфизмов ключевых «генов ожирения». Поиск таких генов и по настоящее время является актуальной задачей нутригеномики, но из имеющихся данных литературы очевидно, что не все проблемы в данной области решены. В частности, недостаточно данных о продуктах экспрессии генов, способных стать мишенями планируемых персонализированных диетических воздействий. Из числа генов, ставших предметом рассмотрения в настоящей работе, наиболее многочисленные клинические подтверждения связи с патогенезом ожирения имеются, как известно, для полиморфизмов гена *Pparg*. Вместе с тем есть основания предполагать, что фронт работ по поиску «кандидатных генов ожирения» может быть существенно сужен, а сами эти исследования – дополнительно структурированы и таргетированы с учётом генов, входящих в метаболические пути, контрастно реагирующие в зависимости от фенотипа ожирения. В соответствии с данными, представленными в настоящей работе, такие гены целесообразно искать в составе метаболических путей обмена ретиноидов, RRAR-сигналинга, метаболизма стероидных гормонов, оксипинонов (включая эйкозаноиды), микроэлементов, ароматических аминокислот, являющихся предшественниками следовых аминов и нейромедиаторов с известной нейрорегуляторной функцией.

Источник финансирования

Работа проведена за счёт средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках Программы фундаментальных научных исследований (тема Минобрнауки России № 0529-2015-0006 «Поиск новых молекулярных маркеров алиментарно-зависимых заболеваний: геномный и постгеномный анализ») и при поддержке гранта Российского научного фонда № 17-16-01043 «Поиск эффекторных звеньев метаболизма, регулируемых алиментарными факторами при ожирении, для разработки инновационных специализированных пищевых продуктов».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. DiStefano JK. Fructose-mediated effects on gene expression and epigenetic mechanisms associated with NAFLD pathogenesis. *Cell Mol Life Sci.* 2020; 77(11): 2079-2090. doi: 10.1007/s00018-019-03390-0
2. Тутельян В.А. Персонализированная диетология: настоящее и будущее. *Федеральный справочник. Здравоохранение России.* М.; 2014; 14(VI). URL: <http://federalbook.ru/projects/fsz/structura-14.html> [дата доступа: 12.09.2022]. [Tutelyan VA. Personalized dietetics: present and future. *Federal'nyy spravochnik. Zdravookhraneniye Rossii.* Moscow; 2014; 14(VI). (In Russ.)). URL: <http://federalbook.ru/projects/fsz/structura-14.html> [date of access: 12.09.2022].
3. Wong SK, Chin K-Y, Suhaimi FH, Fairus A, Ima-Nirwana S. Animal models of metabolic syndrome: A review. *Nutr Metab.* 2016; 13: 65. doi: 10.1186/s12986-016-0123-9
4. Harris SE, Poolman TM, Arvaniti A, Cox RD, Gathercole LL, Tomlinson JW. The American lifestyle-induced obesity syndrome diet in male and female rodents recapitulates the clinical and transcriptomic features of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2020; 319(3): G345-G360. doi: 10.1152/ajpgi.00055.2020
5. Park M, Kim KH, Jaiswal V, Choi J, Chun JL, Seo KM, et al. Effect of black ginseng and silkworm supplementation on obesity, the transcriptome, and the gut microbiome of diet-induced overweight dogs. *Sci Rep.* 2021; 11(1): 16334. doi: 10.1038/s41598-021-95789-8
6. Moeckli B, Delaune V, Prados J, Tihy M, Peloso A, Oldani G, et al. Impact of maternal obesity on liver disease in the offspring: A comprehensive transcriptomic analysis and confirmation of results in a murine model. *Biomedicines.* 2022; 10(2): 294. doi: 10.3390/biomedicines10020294
7. de Barros Mucci D, Kusinski LC, Wilsmore P, Loche E, Panta-leão LC, Ashmore TJ, et al. Impact of maternal obesity on placental transcriptome and morphology associated with fetal growth restriction in mice. *Int J Obes (Lond).* 2020; 44(5): 1087-1096. doi: 10.1038/s41366-020-0561-3
8. Carruthers NJ, Strieder-Barboza C, Caruso JA, Flesher CG, Baker NA, Kerk SA, et al. The human type 2 diabetes-specific visceral adipose tissue proteome and transcriptome in obesity. *Sci Rep.* 2021; 11(1): 17394. doi: 10.1038/s41598-021-96995-0
9. Apryatin SA, Trusov NV, Gorbachev AJ, Naumov VA, Mzhel'skaya KV, Balakina AS, et al. Full transcriptome profiling of the liver of fat-, fructose and cholesterol-fed C57Black/6J mice. *Russian J Genetics.* 2019; 55(4): 399-410. doi: 10.1134/S1022795419040021
10. Apryatin SA, Trusov NV, Gorbachev AYU, Naumov VA, Balakina AS, Mzhel'skaya KV, et al. Comparative whole transcriptome profiling of liver tissue from Wistar rats fed with diets containing different amounts of fat, fructose, and cholesterol. *Biochemistry (Moscow).* 2019; 84(9): 1093-1106. doi: 10.1134/S0006297919090128
11. Гмошинский И.В., Трусов Н.В., Шипелин В.А. Влияние комплекса ресвератрола и карнитина на транскриптом печени крыс с индуцированным рационом ожирением. *Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева: Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции*

*с международным участием (Рязань, 26–27 января 2022 г.). Рязань; 2022: 17-20. [Gmoshinsky IV, Trusov NV, Shipelin VA. Effect of a complex of resveratrol and carnitine on the liver transcriptome of diet-induced obesity rats. *Biokhimiicheskie nauchnye chteniya pamyati akademika RAN E.A. Stroevo: Sbornik materialov Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem (Ryazan, 26–27 yanvarya 2022 g.).* Ryazan; 2022: 17-20. (In Russ.)].*

12. Гмошинский И.В., Апрытин С.А., Трусов Н.В. Сравнительная характеристика транскриптома печени на различных моделях ожирения у грызунов. *Современные проблемы генетики, геномики и биотехнологии: Сборник тезисов Республиканской научной конференции (18 мая 2022 г.).* Ташкент: Академия наук Республики Узбекистан; 2022: 68-70. [Gmoshinsky IV, Apryatin SA, Trusov NV. Comparative characteristics of the liver transcriptome in various models of obesity in rodents. *Sovremennyye problemy genetik, genomiki i biotekhnologii: Sbornik tezisov Respublikanskoj nauchnoy konferentsii (18 maya 2022 g.).* Tashkent; 2022: 68-70. (In Russ.)].
13. Гмошинский И.В., Шипелин В.А., Апрытин С.А., Трусов Н.В., Ригер Н.А., Шумакова А.А. Эффекторные звенья метаболизма. *Биологически-активные вещества пищи в лечении ожирения: от теории к практике.* М.: Эксмо; 2022. [Gmoshinsky IV, Shipelin VA, Apryatin SA, Trusov NV, Riger NA, Shumakova AA. Effector links of metabolism. *Biologicheskii-aktivnyye veshchestva pishchi v lechenii ozhireniya: ot teorii k praktike.* Moscow: Eksmo; 2022. (In Russ.)].
14. Wu X, Zheng H, Yang R, Luan X, Zhang L, Jin Q, et al. Mouse trefoil factor 3 ameliorated high-fat-diet-induced hepatic steatosis via increasing peroxisome proliferator-activated receptor-mediated fatty acid oxidation. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2019; 317(3): E436-E445. doi: 10.1152/ajpendo.00454.2018
15. Zhang K, Zheng J, Chen Y, Dong J, Li Z, Chiang YP, et al. Inducible phospholipid transfer protein deficiency ameliorates atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2021; 324: 9-17. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2021.03.011
16. Ni XX, Li XY, Wang Q, Hua J. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activity affects the hepatic stellate cell activation and the progression of NASH via TGF-β1/Smad signaling pathway. *J Physiol Biochem.* 2021; 77(1): 35-45. doi: 10.1007/s13105-020-00777-7
17. Liu X, Lu Y, Chen Z, Liu X, Hu W, Zheng L, et al. The ubiquitin-specific peptidase USP18 promotes lipolysis, fatty acid oxidation, and lung cancer growth. *Mol Cancer Res.* 2021; 19(4): 667-677. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-20-0579
18. Stadion M, Schwerbel K, Graja A, Baumeier C, Rödiger M, Jonas W, et al. Increased Ifi202b/IFI16 expression stimulates adipogenesis in mice and humans. *Diabetologia.* 2018; 61(5): 1167-1179. doi: 10.1007/s00125-018-4571-9
19. Xin Y, Li C, Guo Y, Xiao R, Zhang H, Zhou G. RNA-Seq analysis reveals a negative role of MSMO1 with a synergized NSDHL expression during adipogenesis of 3T3-L1. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2019; 83(4): 641-652. doi: 10.1080/09168451.2018.1559719
20. Stylianou IM, Clinton M, Keightley PD, Pritchard C, Tymowska-Lalanne Z, Bünger L, et al. Microarray gene expression analysis of the Fob3b obesity QTL identifies positional candidate gene Sqle and perturbed cholesterol and glycolysis pathways. *Physiol Genomics.* 2005; 20(3): 224-232. doi: 10.1152/physiolgenomics.00183.2004
21. Del Giudice EM, Santoro N, Amato A, Brienza C, Calabrò P, Wiegierinck ET, et al. Hepcidin in obese children as a potential mediator of the association between obesity and iron deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94(12): 5102-5107. doi: 10.1210/jc.2009-1361

22. Crambert S, Sjöberg A, Eklöf AC, Ibarra F, Holtbäck U. Pro-lactin and dopamine 1-like receptor interaction in renal proximal tubular cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010; 299(1): F49-F54. doi: 10.1152/ajprenal.00582.2009
23. Zhang P, Metukuri MR, Bindom SM, Prochownik EV, O'Doherty RM, Scott DK. c-Myc is required for the CHREBP-dependent activation of glucose-responsive genes. *Mol Endocrinol.* 2010; 24(6): 1274-1286. doi: 10.1210/me.2009-0437
24. Dorn C, Engelmann JC, Saugspier M, Koch A, Hartmann A, Müller M, et al. Increased expression of c-Jun in nonalcoholic fatty liver disease. *Lab Invest.* 2014; 94(4): 394-408. doi: 10.1038/labinvest.2014.3
25. Yu RY, Wang X, Pixley FJ, Yu JJ, Dent AL, Broxmeyer HE, et al. Bcl-6 negatively regulates macrophage proliferation by suppressing autocrine IL-6 production. *Blood.* 2005; 105(4): 1777-1784. doi: 10.1182/blood-2004-08-3171
26. Jackson ER, Kilroy C, Joslin DL, Schomaker SJ, Prui-boom-Brees I, Amacher DE. The early effects of short-term dexamethasone administration on hepatic and serum alanine aminotransferase in the rat. *Drug Chem. Toxicol.* 2008; 31(4): 427-445. doi: 10.1080/01480540802390247
27. Mouchiroud M, Camiré É, Aldow M, Caron A, Jubinville É, Turcotte L, et al. The hepatokine Tsukushi is released in response to NAFLD and impacts cholesterol homeostasis. *JCI Insight.* 2019; 4(15): e129492. doi: 10.1172/jci.insight.129492
28. Recinella L, Leone S, Ferrante C, Chiavaroli A, Di Nisio C, Martinotti S, et al. Effects of central fibroblast growth factor 21 (FGF21) in energy balance. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2017; 31(3): 603-613.
29. van Diepen JA, Jansen PA, Ballak DB, Hijmans A, Hooveld GJ, Rommelaere S, et al. PPAR-alpha dependent regulation of vanin-1 mediates hepatic lipid metabolism. *J Hepatol.* 2014; 61(2): 366-372. doi: 10.1016/j.jhep.2014.04.013
30. Li Y, Yang J, Li S, Zhang J, Zheng J, Hou W, et al. N-myc downstream-regulated gene 2, a novel estrogen-targeted gene, is involved in the regulation of Na⁺/K⁺-ATPase. *J Biol Chem.* 2011; 286: 32289-32299.
31. Mehere P, Han Q, Lemkul JA, Vavricka CJ, Robinson H, Beva DR, et al. Tyrosine aminotransferase: biochemical and structural properties and molecular dynamics simulations. *Protein Cell.* 2010; 1(11): 1023-1032. doi: 10.1007/s13238-010-0128-5
32. Zhang L, Wang P, Shi M, Fang Z, Ji J, Liao X, et al. The modulation of *Luffa cylindrica* (L.) Roem supplementation on gene expression and amino acid profiles in liver for alleviating hepatic steatosis via gut microbiota in high-fat diet-fed mice: insight from hepatic transcriptome analysis. *J Nutr Biochem.* 2020; 80: 108365. doi: 10.1016/j.jnutbio.2020.108365
33. Трусов Н.В., Семин М.О., Шипелин В.А., Апрытин С.А., Гмошинский И.В. Экспрессия генов в печени крыс, получавших с рационом комплекс ресвератрола и L-карнитина, в норме и при ожирении. *Вопросы питания.* 2021; 90(5): 26-37. [Trusov NV, Semin MO, Shipelin VA, Apryatin SA, Gmoshinski IV. Liver gene expression in normal and obese rats received resveratrol and L-carnitine. *Problems of Nutrition.* 2021; 90(5): 26-37. (In Russ.)]. doi: 10.33029/0042-8833-2021-90-5-25-37
34. Smith C, Wilson NW, Louw A, Myburgh KH. Illuminating the interrelated immune and endocrine adaptations after multiple exposures to short immobilization stress by *in vivo* blocking of IL-6. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007; 292(4): R1439-R1447. doi: 10.1152/ajpregu.00602.2006

Сведения об авторах

Апрытин Сергей Алексеевич – доктор биологических наук, научный сотрудник лаборатории нейробиологии и молекулярной фармакологии, Институт трансляционной биомедицины, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», e-mail: apryatin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6892-4387>

Гмошинский Иван Всеволодович – доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий, ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», e-mail: gmosh@ion.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3671-6508>

Трусов Никита Вячеславович – научный сотрудник лаборатории энзимологии питания, ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», e-mail: nikitosu@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1919-9297>

Тутельян Виктор Александрович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель, ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»; заведующий кафедрой гигиены питания и токсикологии, ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), e-mail: gmosh@ion.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4164-8992>

Information about the authors

Sergey A. Apryatin – Dr. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Neurobiology and Molecular Pharmacology, Institute of Translational Biomedicine, St Petersburg University, e-mail: apryatin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6892-4387>

Ivan V. Gmoshinski – Dr. Sc. (Biol.), Chief Research Officer at the Laboratory of Food Toxicology and Safety Assessment of Nanotechnologies, Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, e-mail: gmosh@ion.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3671-6508>

Nikita V. Trusov – Research Officer at the Laboratory of Nutrition Enzymology, Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, e-mail: nikitosu@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1919-9297>

Victor A. Tutelyan – Dr. Sc. (Med.), Professor, Academician of the RAS, Scientific Advisor, Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety; Head of the Department of Food Hygiene and Toxicology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russian Federation, e-mail: gmosh@ion.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4164-8992>

Вклад авторов

Апрытин С.А. – методы; исследования (оригинальные данные); проверка первичных данных; написание статьи.

Гмошинский И.В. – концепция исследования; расчёты; материальное обеспечение; проверка первичных данных; написание статьи; администрирование проекта, взаимодействие с источниками финансирования.

Трусов Н.В. – методы; исследования (оригинальные данные).

Тутельян В.А. – концепция исследования; материальное обеспечение; научное редактирование статьи; администрирование проекта, взаимодействие с источниками финансирования.