

ПОЛНОТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ В СРАВНИТЕЛЬНОМ ИССЛЕДОВАНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ КВЕРЦЕТИНА НА ДВУХ МОДЕЛЯХ ОЖИРЕНИЯ



© Н.В. Трусов^{1*}, С.А. Апрытин¹, В.А. Шипелин^{1,2}, И.В. Гмошинский¹

¹Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, Россия

²Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, Москва, Россия

ОБОСНОВАНИЕ. Кверцетин (Q; 3,3',4',5,7-пентагидроксифлавонол) при поступлении в организм в составе диетических лечебных продуктов и биологически активных добавок (БАД) может способствовать облегчению патологических последствий алиментарного ожирения и метаболического синдрома. Механизмы действия Q на генетическом уровне недостаточно изучены.

ЦЕЛЬ. Изучить экспрессию генов в ткани печени мышей с индуцированным диетой и генетически детерминированным ожирением при поступлении Q с рационом.

МЕТОДЫ. В течение 46 суток эксперимента на 32 самцах мышей линии C57Bl/6J, получавших рацион с избытком жира и фруктозы, и 24 самцах генетически тучных мышей линии db/db изучено влияние добавки Q в дозе 25 или 100 мг/кг массы тела на дифференциальную экспрессию 39 430 генов методом полнотранскриптомного профилирования на микрочипе по протоколу Agilent One-Color Microarray-Based Gene Expression Analysis Low Input Quick Amp Labeling (version 6.8). Для выявления метаболических путей (KEGGs), являющихся мишенями воздействия Q, транскриптомные данные анализировали методами биоинформатики в среде «R».

РЕЗУЛЬТАТЫ. Выявлены различия в характере влияния добавки Q на животных с индуцированным диетой и генетически детерминированным ожирением на ряд ключевых метаболических путей, включая обмен липидов и стероидов (гены *Saa3*, *Cidec*, *Scd1*, *Apoa4*, *Acss2*, *Fabp5*, *Car3*, *Acacb*, *Insig2*), аминокислот и азотистых оснований (*Ngef*, *Gls2*), углеводов (*G6pdx*, *Pdk4*), регуляцию клеточного роста, апоптоза и пролиферации (*Btg3*, *Cgref1*, *Fst*, *Nrep*, *Tuba8*), нейротрансмиссию (*Grin2d*, *Camk2b*), реакции иммунной системы (*CD14*, *Jchain*, *Ifi272b*).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Полученные данные позволяют объяснить неоднозначную эффективность Q, как и других полифенолов, в диетотерапии различных форм ожирения у людей, а также сформировать набор чувствительных маркеров, позволяющих оценивать результативность применения минорных биологически активных веществ пищи в доклинических испытаниях новых средств метаболической коррекции ожирения и метаболического синдрома.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: транскриптом; печень; мыши; ожирение; кверцетин; *in vivo* модели.

FULL TRANSCRIPTOME ANALYSIS OF GENE EXPRESSION IN LIVER OF MICE IN A COMPARATIVE STUDY OF QUERCETIN EFFICIENCY ON TWO OBESITY MODELS

© Nikita V. Trusov^{1*}, Sergey A. Apryatin¹, Vladimir A. Shipelin^{1,2}, Ivan V. Gmoshinski¹

¹Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Russia, Moscow

²Plekhanov Russian University of Economics, Russia, Moscow

BACKGROUND: Quercetin (Q; 3,3',4',5,7 - pentahydroxyflavone) can help alleviate the pathological effects of nutritional obesity and metabolic syndrome when taken as part of products for special dietary needs and food supplements. The mechanisms of action of Q at the genetic level are not well understood.

AIMS: To study gene expression in liver tissue of mice with alimentary and genetically determined obesity upon intake of Q with diet.

MATERIALS AND METHODS: During 46 days of the experiment on 32 male C57Bl/6J mice fed a diet with an excess of fat and fructose and 24 male genetically obese db/db mice the effect of Q in dose of 25 or 100 mg/kg of body weight was studied on differential expression of 39430 genes in mice livers by full transcriptome profiling on microchip according to the Agilent One-Color Microarray-Based Gene Expression Analysis Low Input Quick Amp Labeling protocol (version 6.8). To identify metabolic pathways (KEGGs) that were targets of Q exposure, transcriptomic data were analyzed using bioinformatics methods in an "R" environment.

RESULTS: Differences were revealed in the nature of Q supplementation action in animals with dietary induced and genetically determined obesity on a number of key metabolic pathways, including the metabolism of lipids and steroids (*Saa3*, *Cidec*, *Scd1*, *Apoa4*, *Acss2*, *Fabp5*, *Car3*, *Acacb*, *Insig2* genes), amino acids and nitrogen bases (*Ngef*, *Gls2*), carbohydrates

(*G6pdx*, *Pdk4*), regulation of cell growth, apoptosis and proliferation (*Btg3*, *Cgref1*, *Fst*, *Nrep*, *Tuba8*), neurotransmission (*Grin2d*, *Camk2b*), immune system reactions (*CD14i*, *Jchain*, *Ifi2712b*).

CONCLUSIONS: The data obtained help to explain the ambiguous effectiveness of Q, like other polyphenols, in the dietary treatment of various forms of obesity in humans, as well as to form a set of sensitive biomarkers that allow us to elucidate the effectiveness of minor biologically active food substances in preclinical trials of new means of metabolic correction of obesity and metabolic syndrome.

KEYWORDS: transcriptome; liver; mice; obesity; quercetin; in vivo models.

ОБОСНОВАНИЕ

Одной из основных проблем здравоохранения является массовое распространение ожирения и сопутствующих заболеваний (метаболический синдром, диабет 2-го типа, неалкогольный стеатогепатит и др.), связанных с несоответствием энергетической ценности рациона фактическим энерготратам. У млекопитающих, включая людей, поддержание постоянства состава и массы тела за счет обеспечения баланса поступающей с пищей и расходуемой энергии обеспечивается нейрогуморальными контрольными механизмами, в числе которых выделяются эволюционно древние и относительно более новые. Первые используют реакции нейронов дугообразных ядер гипоталамуса на регулируемые количеством поступающих пищевых субстратов уровни нейромедиаторов (нейропептид Y, проопиомеланокортин, лептин, грелин, биогенные амины, включая дофамин и серотонин) [1, 2], а вторые обусловлены активностью высших отделов ЦНС, связанных со вкусовыми рецепторами и отвечающих за получение удовольствия от процесса потребления пищи [3]. Вызванные избыточным поступлением нутриентов нарушения в этих регуляторных контурах лежат в основе влияния вкусной и высококалорийной пищи на уровень аппетита и насыщения, следствием чего становится вышеуказанный энергетический дисбаланс. При этом важную роль играет снижение чувствительности клеток к инсулину, лептину и грелину [4].

Коррекция указанных нарушений за счет снижения калорийности потребляемого рациона часто плохо переносится больными и не всегда достигает стойкого результата. Поэтому в качестве альтернативы рассматривается обогащение рациона минорными биологически активными веществами пищи (БАВ), в частности флавоноидом кверцетином (Q; 3,3',4',5,7-пентагидроксифлавоны). Q содержится в большом числе пищевых продуктов растительного происхождения, включая фрукты и овощи (преимущественно ярко окрашенные), зелень, ягоды, чай, красное вино и др., и представлен в них в форме гликозидов, легко расщепляющихся в желудочно-кишечном тракте. Он входит в группу биофлавоноидов (ранее известных как «Р-активные вещества»), впервые выделенных из сладкого перца нобелевским лауреатом Альбертом Сент-Дьёрдьи (Szent-Györgyi Albert) в 1930-е гг. По некоторым экспериментальным и клиническим данным [5–7], потребление Q в дозах, характерных для его содержания в пищевых продуктах, может способствовать снижению калорийности потребляемой пищи, облегчать метаболические последствия развившегося ожирения. Действие Q на организм объясняется эффектами на генетическом уровне, связанными прежде всего с активацией транскрипционных факторов PPAR-γ, SREBP1 и AMPK [8]. Вместе с тем данные о клини-

ческой эффективности Q при коррекции ожирения и метаболического синдрома противоречивы, что может быть связано с генетической гетерогенностью у обследуемых больных. Для разработки персонализированных подходов к применению Q (как и других БАВ) в регуляции аппетита, диетотерапии ожирения необходимы исследования на биологических моделях, воспроизводящих различные формы метаболического дисбаланса, вызванного как избыточной калорийностью рациона, так и возможными генетическими нарушениями энергетического обмена.

ЦЕЛЬ

Изучить влияние Q на экспрессию генов в печени вместе с оценкой морфологических, интегральных и метаболических показателей у самцов двух линий мышей: db/db с нокаутом гена *Lepr*, кодирующего рецептор лептина, склонных к спонтанному развитию ожирения, и мышей инбредной линии C57Black/6J, получающих гиперкалорийный высокоуглеводно-высокожировой рацион (ВУВЖР). В качестве основного метода исследования был выбран полнотранскриптомный анализ матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК), являющейся фракцией тотальной РНК, выделенной из ткани печени животных, с последующей биоинформатической обработкой полученных данных.

МЕТОДЫ

В эксперименте использовали 24 самца мышей линии db/db (возраст 8 недель, средняя исходная масса тела (м.т.) $40,2 \pm 3,2$ г), полученных из питомника «ИЦиГ СО РАН» (Россия), и 32 самца мышей инбредной линии C57Black/6J (C57Bl/6J) того же возраста (средняя исходная масса тела $21,1 \pm 0,2$ г), полученных из питомника филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России».

Работу с животными выполняли в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199 н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Дизайн эксперимента был одобрен Комитетом по этике ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (протокол №4 от 20.04.2017 г.).

Мыши линии db/db были разделены на три группы (№ 1, 2, 3) равной численности (N=8), а C57Bl/6J — на 4 группы (№ 4, 5, 6, 7), N=8. Мыши 1-й и 4-й групп получали контрольный сбалансированный полусинтетический рацион согласно AIN93M [9], 2-й и 3-й групп — такой же рацион с добавкой Q из расчета 25 и 100 мг/кг м.т. соответственно, 5-й группы — высокожировой (30% жиров) рацион с 20% раствором фруктозы вместо воды (ВУВЖР), 6-й и 7-й групп — ВУВЖР и добавку Q в дозах

25 и 100 мг/кг м.т. соответственно. Животные получали все рационы, воду и раствор фруктозы без ограничений. Мышей содержали по одной (C57Bl/6J) или две (db/db) особи в клетках из поликарбоната при 12/12-часовом режиме освещения и температуре воздуха $22 \pm 1^\circ\text{C}$. Ежедневно определяли количество потребленного корма и жидкостей и рассчитывали удельное энергопотребление и дозу Q. Общее время эксперимента составило 46 суток.

Выведение животных из эксперимента осуществляли на 47-е сутки путем обескровливания из нижней поллой вены под эфирной анестезией. Печень отбирали в асептических условиях стерильными хирургическими инструментами, немедленно охлаждали до температуры 0°C и делили на порции для проведения морфологического и транскриптомного исследования.

Морфологическое исследование ткани печени выполняли после окрашивания парафиновых срезов тканей гематоксилин-эозином, как указано в работе [10].

Выделение тотальной РНК из ткани печени проводили с помощью набора Agilent Total RNA Isolation Mini Kit (Agilent Technologies, США) согласно протоколу производителя. Навеску 20 мг печени гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе Поттера–Эдельвейма в 500 мкл лизирующего буфера (с добавлением 5 мкл β -меркаптоэтанола на 500 мкл буфера) при температуре 0 – 2°C . Полученную тотальную РНК дополнительно обрабатывали ДНКазой I для удаления следов геномной ДНК. Концентрацию РНК определяли на спектрофотометре NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, США), после чего разбавляли ее водой без нуклеаз до концентрации 200 нг/мкл и проводили анализ степени фрагментации на биоанализаторе Agilent 2100 (Agilent Technologies, США) с определением показателя RIN (RNA Integrity Number). РНК хранили в воде, свободной от нуклеаз, или в виде изопропанольных осадков при -80°C .

Полнотранскриптомный анализ проводили с использованием 100 нг тотальной РНК из ткани печени методом анализа на микрочипах из набора Gene Expression Hybridization Kit (Agilent Technologies, США) по протоколу Agilent One-Color Microarray Based Gene Expression Analysis Low Input Quick Amp Labeling, version 6.8. В работе использовали микрочипы SurePrint G3 Mouse GE 8x60K Microarray Kit (каталожный номер G4852A). Согласно информации производителя, на микрочипе представлены олигону-

клеотидные зонды длиной 60 нуклеотидов для покрытия 39 430 генов мыши, 16 251 длинных межгенных некодирующих РНК (long intergenic noncoding RNAs, lincRNAs) (https://www.agilent.com/en/product/gene-expression-microarray-platform/gene-expression-exon-microarrays/model-organism-microarrays/sureprint-g3-mouse-gene-expression-microarrays-228472#zoomELIBRARY_669002). На микрочипах представлены 24 независимых образца РНК печени из всех 7 исследуемых групп мышей: из группы 1 — 4 образца, группы 2 — 3, группы 3 — 3, группы 4 — 4, группы 5 — 4, группы 6 — 3, группы 7 — 3. Сканирование микрочипов выполняли на приборе Sure Scan Microarray Scanner (Agilent Technologies, США).

Дифференциальную экспрессию (ДЭ) генов выражали в виде логарифма по основанию 2 возрастания или убывания флуоресценции ($\log_2\text{FC}$) по сравнению с группами, рассматриваемыми в качестве контроля (мыши C57Bl/6J, получающие контрольный рацион (группа 4); мыши C57Bl/6J, получающие ВУВЖР (группа 5); мыши db/db, получающие контрольный рацион (группа 1) — для разных вариантов сравнений). Данные сканирования чипов загружали в среду «R» и проводили биоинформатический анализ с квантильной нормализацией и дальнейшим анализом ДЭ в пакете limma. Для выявления метаболических путей среди представленных в международной базе данных генов, метаболических путей и функций биологических систем Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) [11] и их визуализации применяли пакеты AnnotationDbi, org.Rn.eg.db, pathview, gage, gageData. Для визуализации результатов на всех этапах применяли стандартную графику «R» и дополнительные пакеты ggplot2, ggrepel и gplots. Достоверность изменения экспрессии оценивали путем анализа логарифмов интенсивности флуоресценции, нормализованных по внутреннему контролю (Spike-In), с использованием Т-теста с множественной коррекцией Benjamini–Hochberg [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Морфология печени

Анализ морфологической картины печени (рис. 1) показал, что у мышей db/db, потреблявших Q в обеих дозах на сбалансированном рационе, наблюдается резкое

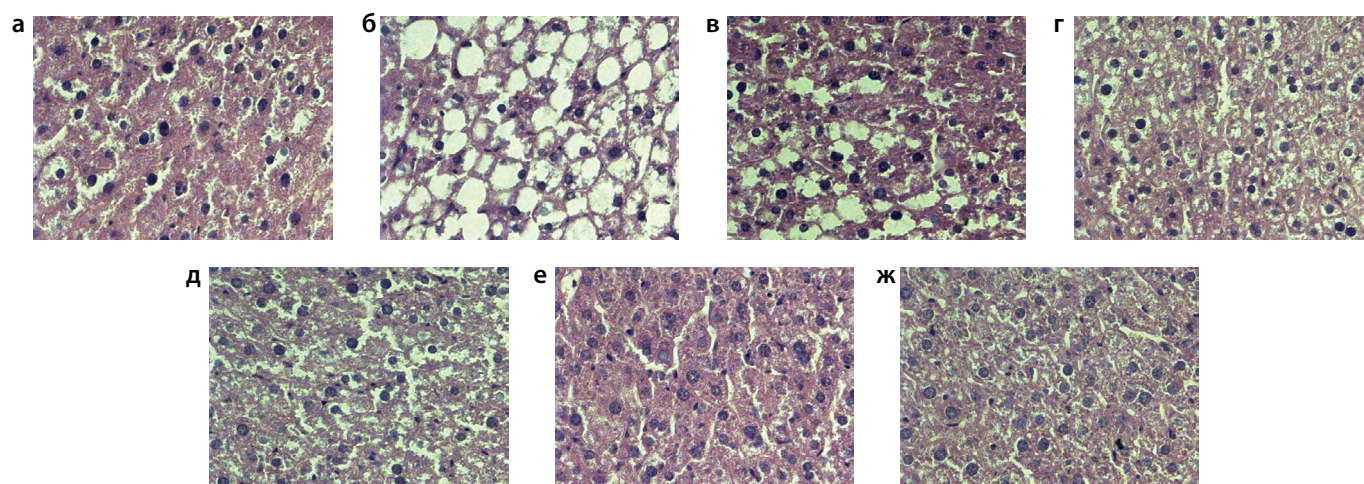


Рисунок 1. Репрезентативные микропрепараты печени мышей. Мыши db/db: а) группа 1; б) группа 2; в) группа 3; мыши C57Bl/6J: г) группа 4; д) группа 5; е) группа 6; ж) группа 7 (см. текст статьи).

усиление накопления жира в гепатоцитах печени, проявляющееся в образовании крупных жировых вакуолей, вытесняющих ядра и органеллы на периферию клетки. Напротив, у мышей C57Bl/6J контрольной (4-й) и получавшей ВУВЖР (5-й) групп накопление жира в печени было значительно слабее выражено и имело диффузный характер, а добавление в рацион Q приводило (особенно при дозе 100 мг/кг м.т.) к практически полному исчезновению жировых включений.

Общая характеристика полного транскриптома ткани печени

Полнотранскриптомное профилирование РНК в ткани печени было выполнено для 39 430 генов, 16 251 длинных межгенных некодирующих РНК, представленных на чипе. Сравнение проводили для мышей db/db контрольной группы с мышами C57Bl/6J группы 4, получавшими контрольный рацион, и с мышами db/db групп 2 и 3, получавшими добавку Q. В группах мышей C57Bl/6J определяли ДЭ в группе 5, получавшей ВУВЖР, против контрольной группы 4 и в группах 6 и 7, получавших Q, против группы 5, получавшей ВУВЖР. Тем самым была сопоставлена экспрессия генов при воспроизведении обеих экспериментальных моделей (мыши db/db и мыши C57Bl/6J на ВУВЖР в сравнении с контрольными мышами C57Bl/6J) и под воздействием Q на каждой из моделей по отдельности.

ДЭ как минимум для одного из этих межгрупповых сравнений в размере $|\log_2 FC| \geq 0,5$ (в сторону как усиления, так и ослабления) и при уровне значимости $p_{\text{value}} \leq 0,05$ выявлена для 2614 транскриптов (6,6% от общего числа представленных на чипе). Из этого количе-

ства в аннотированной международной базе данных <http://genemania.org/>, интегрированной с Национальным центром биотехнологической информации США NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), имелись сведения о 1898 транскриптах, отождествляемых с молекулами белков и/или РНК с известной функцией.

Как следует из результатов теоретико-множественного анализа, представленных на рис. 2а, у мышей db/db контрольной группы 1 в сравнении с контрольной группой мышей C57Bl/6J (группа 4) наблюдалась ДЭ 1827 генов, а потребление мышами линии C57Bl/6J ВУВЖР приводило к значимому изменению экспрессии 154 генов, причем 100 дифференциально экспрессированных генов были общими для обоих сравнений. 67 из этих генов имели известную функцию. При сопоставлении величин $\log_2 FC$ для сравниваемых групп видно (рис. 2б), что для подавляющего большинства генов знак ДЭ у мышей db/db и у мышей C57Bl/6J, получавших ВУВЖР, был противоположным. Величина ДЭ для двух линий мышей совпала только для 1 гена из 67 (*Ces2b*), а для 5 генов (*Crym*, *Camk2b*, *Tlr12*, *G6Pdx* и *Jchain*) различие в ДЭ было аномально большим.

Потребление Q в дозе 25 мг/кг м.т. вызывало ДЭ 125 генов у мышей C57Bl/6J, получавших ВУВЖР (группа 6 против группы 5), а у мышей db/db — 279 генов (группа 2 против группы 1), причем 6 из этих генов были общими (рис. 2в). При дозе Q 100 мг/кг м.т. ответ ДЭ выявлен для 139 генов мышей C57Bl/6J (группа 7 против группы 5) и 925 генов мышей db/db (группа 3 против группы 1); общим для обоих списков был 31 ген. Наконец, при сравнении двух доз Q (100 и 25 мг/кг м.т.) выявлена ДЭ 155 генов мышей C57Bl/6J и 392 генов мышей db/db, из числа которых

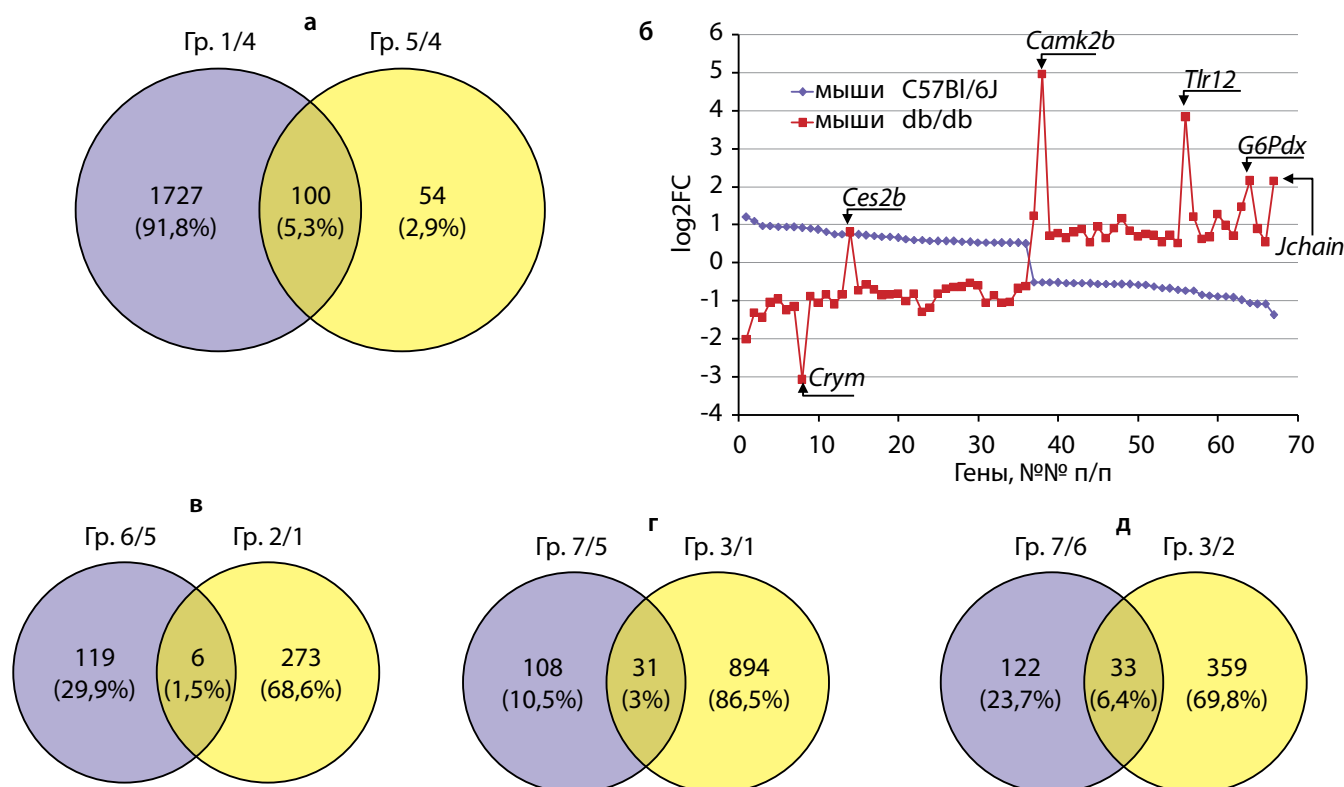


Рисунок 2. Теоретико-множественный анализ (диаграммы Венна) распределения числа дифференциально экспрессированных генов при сравнении экспериментальных *in vivo* моделей у db/db- и C57Bl/6J-мышей: а) гены, дифференциально экспрессированные в группе 1 и в группе 5 в сравнении с группой 4; б) сопоставление величин дифференциальной экспрессии 67 генов для этих двух сравнений; в–д) гены, дифференциально экспрессированные под действием Q у мышей db/db и у мышей C57Bl/6J, получавших высокоуглеводно-высокожировую рацион. Сравнения: в) доза 25 мг/кг массы тела против контроля; г) доза 100 мг/кг массы тела против контроля; д) доза 100 мг/кг массы тела против 25 мг/кг массы тела. Обозначения внутри секторов — число элементов подмножества (доля в %).

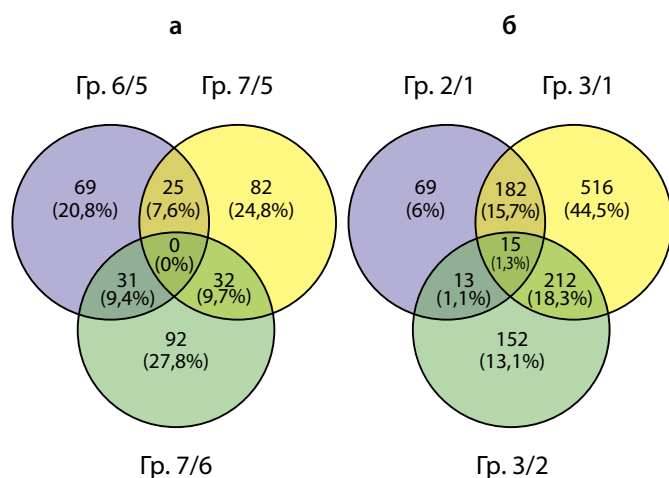


Рисунок 3. Теоретико-множественный анализ (диаграммы Венна) распределения числа дифференциально экспрессированных генов у мышей C57Bl/6J (а) и db/db (б) в зависимости от дозы Q. Обозначения см. рис. 2.

33 были общими. Таким образом, наблюдается закономерность возрастания числа ответивших генов с ростом дозы Q (более заметная для мышей db/db) и большего разнообразия дифференциально экспрессированных генов у мышей с генетическим ожирением в сравнении с нормальными мышами, получавшими ВУВЖР.

Как следует из данных рис. 3а, у мышей C57Bl/6J было выявлено 69 генов, ответивших статистически значимой ДЭ только на дозе Q 25 мг/кг м.т., 82 — только на дозе 100 мг/кг м.т. и 92 гена — только при сравнении групп на двух разных дозах. У мышей db/db это количество составило 69; 516 и 152 соответственно. Ответивших одновременно на двух дозах у мышей C57Bl/6J было 25, а у мышей db/db — в 8 раз больше (197 генов). 15 генов у мышей db/db характеризовались ДЭ совместно на обеих дозах и при сравнении двух доз (гены *G6pdx*, *Btg3*, *Srxn1*, *Tacc3*, *Afmid*, *Igfals*, *Upp2*, *Synj2*, *AK051754*, *Ces3b*, *Tk1*, *Ihh*, *Hsd3b2*, *Hsd3b3*, *Hsd3b6*), а у C57Bl/6J общие гены для такого сравнения отсутствовали.

В таблице 1 приведены в сравнительном аспекте данные о ДЭ генов, имеющих важное значение в процессах жирового и углеводного обмена и/или ответивших одновременно на двух экспериментальных моделях. Представленные данные позволяют предположить, что изменения экспрессии генов, участвующих в обмене липидов и стероидов (*Saa3*, *Cidec*, *Scd1*, *Apoa4*, *Acsc2*, *Fabp5*, *Car3*, *Acacb*, *Insig2*), аминокислот и азотистых оснований (*Ngef*, *Gls2*), углеводов (*G6pdx*, *Pdk4*), регуляции клеточного роста, апоптоза и пролиферации (*Btg3*, *Cgref1*, *Fst*, *Nrep*, *Tuba8*), нейротрансмиссии (*Grin2d*, *Camk2b*), реакции иммунной системы в печени и жировой ткани (*CD14*, *Jchain*, *Ifi2712b*), могут рассматриваться как чувствительные биологические маркеры, определяющие специфические различия в действии Q на мышей db/db и C57Bl/6J, характеризующихся соответственно генетической предрасположенностью и относительной резистентностью к развитию ожирения. Наличие ДЭ генов *Bcl6* (B cell leukemia/lymphoma 6) и *Tlr12* (toll-like receptor 12) позволяет рассматривать их транскрипты как маркирующие различия двух экспериментальных моделей ожирения как таковых, безотносительно воздействия БАВ.

Сравнение влияния Q на метаболические пути

Анализ профилей ДЭ в среде «R» позволил выявить ряд метаболических путей (KEGGs), достоверно являющихся мишенями воздействия Q у мышей обеих линий. Всего было выявлено 34 метаболических пути (KEGGs), в которых произошли изменения под действием БАВ, в том числе 2 метаболических пути, относящихся к обмену белка, 2 — углеводов, 10 — липидов (включая стерины), 4 — к внутриклеточной передаче сигнала (PPAR-, JAK/STAT-, p53-, TLR-сигналинг), 3 — метаболизму ксенобиотиков, 7 — реакциям иммунной системы, 1 — обмену триптофана, 5 — другим важным биологическим процессам (аутофагия, рецепция, клеточная дифференцировка). При этом у мышей C57Bl/6J на дозе Q 25 мг/кг м.т. было затронуто 7 метаболических путей, при дозе 100 мг/кг м.т. — 13, совместно при этих двух дозах — 5, при сравнении двух доз — 6 (рис. 4). Количество дифференциально ответивших KEGGs у мышей db/db составило 10, 20, 5 и 12 соответственно, что, опять же, указывает на большую лабильность метаболического ответа у животных с генетически обусловленным ожирением.

При меньшей дозе Q (25 мг/кг м.т.) одновременно у животных обеих линий наиболее статистически значимым было влияние на обменные пути *mtmu00830* (секреция желчи, *bile secretion*) и *mtmu04620* (сигналинг Toll-рецепторов, *Toll-like receptor signaling pathway*). В первом из этих случаев ответ у мышей db/db и C57Bl/6J имел ряд принципиальных различий, включавших, в частности, активацию у первых и подавление у вторых

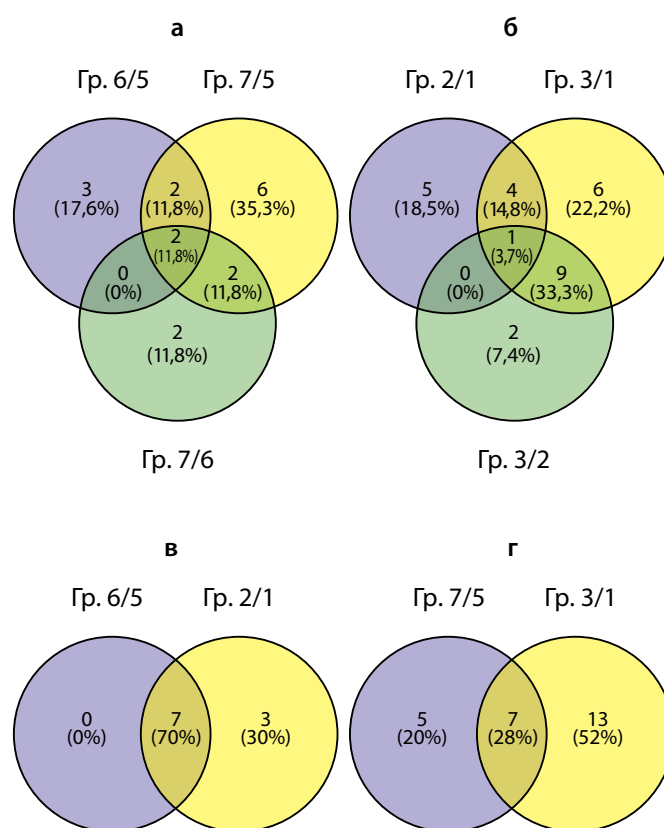


Рисунок 4. Теоретико-множественный анализ (диаграммы Венна) распределения числа модифицированных метаболических путей (KEGGs) у мышей C57Bl/6J (а) и db/db (б) в зависимости от дозы Q и при сравнении мышей двух этих линий между собой при дозах Q 25 (в) и 100 мг/кг массы тела (г). Обозначения см. рис. 2.

Таблица 1. Аннотированный список генов, различающихся по дифференциальной экспрессии на двух экспериментальных моделях мышей в ответ на потребление Q₁ (начало таблицы)

№ п/п	Ген	Название согласно http://genemania.org/	Ответ, log ₂ FC; (p _{value})						Роль в развитии и ожирения и метаболического синдрома, ссылки
			У db/db		У C57Bl/6J				
			На Q 25 Гр. 2/Гр. 1	На Q 100 Гр. 3/Гр. 1	Против C57Bl/6J Гр. 1/Гр. 4	На Q 25 Гр. 6/Гр. 5	На Q 100 Гр. 7/гр. 5	На ВУВЖР Гр. 5/Гр. 4	
1	<i>Saa3</i>	serum amyloid A 3	н/о	3,396 (5×10 ⁻⁴)	2,539 (0,003)	н/о	н/о	н/о	[17, 18]
2	<i>Cidec</i>	cell death-inducing DFFA-like effector c.	2,102 (0,013)	2,085 (0,014)	н/о	н/о	н/о	н/о	[19, 20]
3	<i>S100a4</i>	S100 calcium binding protein A4	1,304 (0,011)	1,105 (0,028)	1,179 (0,012)	н/о	н/о	н/о	-
4	<i>S100a11</i>	S100 calcium binding protein A11	0,933 (0,016)	1,905 (0,006)	н/о	н/о	н/о	н/о	-
5	<i>Scd1</i>	stearoyl-Coenzyme A desaturase 1	1,031 (0,025)	н/о	1,219 (0,003)	н/о	-0,944 (0,038)	н/о	[23, 24]
6	<i>Apoa4</i>	apolipoprotein A-IV	0,876 (0,034)	1,279 (0,003)	н/о	н/о	н/о	н/о	[21]
7	<i>Ngef</i>	neuronal guanine nucleotide exchange factor.Синонимы: Tims2; ephexin	-1,005 (3×10 ⁻⁵)	-0,918 (9×10 ⁻⁵)	н/о	н/о	н/о	0,546 (0,005)	[22]
8	<i>Grin2d</i>	glutamate receptor, ionotropic, NMDA2D (epsilon 4).	0,805 (9×10 ⁻⁴)	н/о	н/о	-0,612 (0,008)	-0,598 (0,009)	н/о	[38, 39]
9	<i>Gls2</i>	glutaminase 2	н/о	н/о	-0,856 (2×10 ⁻⁵)	-0,641 (0,013)	н/о	н/о	-
10	<i>Acsc2</i>	acyl-CoA synthetase short-chain family member 2	н/о	н/о	1,265 (5×10 ⁻⁵)	-0,736 (0,012)	-0,754 (0,010)	н/о	[30]
11	<i>Fabp5</i>	Fabp5 fatty acid binding protein 5, epidermal	н/о	н/о	4,022 (5×10 ⁻¹²)	-1,354 (2×10 ⁻⁴)	-1,167 (0,001)	н/о	[31–33]
12	<i>Bcl6</i>	B cell leukemia/lymphoma 6	н/о	н/о	-2,000 (5×10 ⁻⁴)	н/о	н/о	1,201 (0,023)	[44]
13	<i>Btg3</i>	BTG anti-proliferation factor 3	-0,573 (0,028)	1,900 (2×10 ⁻⁴)	1,287 (1×10 ⁻⁴)	н/о	н/о	-0,873 (0,004)	[45]
14	<i>Camk2b</i>	calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, beta	-0,583 (0,004)	-0,570 (0,004)	4,959 (3×10 ⁻¹⁸)	н/о	н/о	-0,504 (0,006)	[37]
15	<i>Car3</i>	carbonic anhydrase 3	н/о	-1,405 (0,001)	-1,038 (0,008)	н/о	н/о	0,972 (0,012)	[46]

Примечание: н/о — ответ дифференциальной экспрессии не обнаружен ($|\log_2 FC| < 0,5$ и/или $p_{value} > 0,05$).

Таблица 1. Аннотированный список генов, различающихся по дифференциальной экспрессии на двух экспериментальных моделях мышей в ответ на потребление Q₂ (окончание таблицы)

№ п/п	Ген	Название согласно http://genemania.org/	Ответ, log ₂ FC; (p _{value})						Роль в развитии ожирения и метаболического синдрома, ссылки
			У db/db		У C57Bl/6J				
			Ha Q 25 Гр. 2/Гр. 1	Ha Q 100 Гр. 3/Гр. 1	Против C57Bl/6J Гр. 1/Гр. 4	Ha Q 25 Гр. 6/Гр. 5	Ha Q 100 Гр. 7/гр. 5	Ha ВУВЖР Гр. 5/Гр. 4	
16	<i>Cd14</i>	CD14 antigen	н/о	2,383 (1×10 ⁻⁴)	1,473 (0,005)	н/о	н/о	-0,971 (0,049)	[47]
17	<i>Crym</i>	crystallin, mu	н/о	н/о	-3,064 (2×10 ⁻¹⁰)	н/о	-1,071 (0,001)	0,921 (0,002)	-
18	<i>G6pdx</i>	glucose-6-phosphate dehydrogenase X-linked	0,701 (0,037)	1,451 (2×10 ⁻⁴)	2,161 (2×10 ⁻⁵)	н/о	н/о	-1,047 (0,002)	[27]
19	<i>Jchain</i>	immunoglobulin joining chain	н/о	1,275 (0,010)	2,149 (5×10 ⁻⁵)	н/о	н/о	-1,361 (0,004)	[49]
20	<i>Tlr12</i>	toll-like receptor 12	н/о	н/о	3,841 (7×10 ⁻¹¹)	н/о	н/о	-0,725 (0,029)	[50]
21	<i>Ifi272b</i>	interferon, alpha-inducible protein 27 like 2B	0,859 (0,012)	0,889 (0,009)	0,907 (0,005)	-1,149 (0,001)	-0,668 (0,042)	н/о	[48]
22	<i>Acacb</i>	acetyl-Coenzyme A carboxylase beta синонимы Acc2; Accb	н/о	0,642 (9×10 ⁻⁴)	0,777 (6×10 ⁻⁵)	н/о	-0,645 (9×10 ⁻⁴)	н/о	[25,26]
23	<i>Cgref1</i>	cell growth regulator with EF hand domain 1 синоним Cgr11	1,049 (0,012)	1,518 (7×10 ⁻⁴)	0,834 (0,029)	н/о	-0,964 (0,020)	н/о	[42]
24	<i>Fst</i>	folistatin	н/о	0,929 (0,005)	-1,095 (7×10 ⁻⁴)	н/о	-0,744 (0,002)	н/о	[28]
25	<i>Igfals</i>	insulin-like growth factor binding protein, acid labile subunit	-0,608 (0,007)	-1,188 (1×10 ⁻⁵)	н/о	н/о	0,602 (0,008)	н/о	[51]
26	<i>Igfbp1</i>	Insulin-like growth factor binding protein 1	н/о	1,114 (0,006)	-1,468 (2×10 ⁻⁴)	н/о	-0,930 (0,018)	н/о	[51]
27	<i>Insig2</i>	insulin induced gene 2	0,890 (0,001)	0,715 (0,007)	-0,631 (0,005)	н/о	-0,540 (0,022)	н/о	[52]
28	<i>Nrep</i>	neuronal regeneration related protein синоним: p311	-1,271 (0,038)	-1,740 (0,006)	1,135 (0,004)	н/о	1,214 (0,046)	н/о	[43]
29	<i>Pdk4</i>	pyruvate dehydrogenase kinase, isoenzyme 4	н/о	1,611 (0,001)	-1,722 (4×10 ⁻⁴)	н/о	-1,033 (0,028)	н/о	[41]
30	<i>Tuba8</i>	tubulin, alpha 8	1,352 (0,005)	1,816 (4×10 ⁻⁴)	1,255 (0,005)	н/о	-1,218 (0,011)	н/о	[40]

Примечание: n/o — ответ дифференциальной экспрессии не обнаружен (log₂FC<0,5 и/или P_{value}>0,05).

секреции воды в желчные каналцы за счет разнонаправленных изменений экспрессии гена, кодирующего аквапорин 8 (*Aqp8*). Напротив, у *db/db*-мышей значительно подавлялась секреция холестерина посредством транспортера *Abscg8* [13] в отличие от *C57Bl/6J*, характеризующихся несущественной активацией этого пути. В совокупности выявленные изменения указывают на способность *Q* усиливать накопление стероидов в печени у *db/db*-мышей. При этой же дозе *Q* у мышей *db/db* отмечается повышение экспрессии гена *Cd14*, связанного с развитием иммунной реакции по TLR4-опосредуемому пути, в то время как у *C57Bl/6J*, возможно, активируются другие пути TLR-сигналинга, опосредуемые, например, фосфоинозитид-3-киназой (PI3k) [14].

При дозе *Q* 100 мг/кг м.т. большие различия на двух мышинных моделях выявлены в ответе метаболического пути *mtm00140* (биосинтез стероидов, Steroid hormone biosynthesis), рис. 5. А именно, у мышей *db/db* подавление с $|\log FC| > 1$ экспрессии *steroid Delta-isomerase* (код фермента (КФ) 5.3.3.1) и *3-beta-hydroxy-Delta5-steroid dehydrogenase* (КФ 1.1.1.45) приводит к метаболическому блоку образования кортикостерона, прогестерона, кортизола и тестостерона из их предшественников, тогда как у мышей *C57Bl/6J* эти пути обмена, напротив, активируются. Противоположной направленностью характеризовались у мышей двух линий и ДЭ у КФ 2.8.2.4 (*estrone sulfotransferase*) и КФ 2.4.1.17 (*glucuronosyltransferase*), следствием чего могут быть усиление у мышей *db/db* сульфатирования, ослабление глюкуронирования стероидов и противоположная направленность изменений у мышей *C57Bl/6J*.

В дозе *Q* 100 мг/кг м.т. в метаболическом пути PPAR-сигналинга (*mtm03320*) у *db/db*-мышей, в отличие от *C57Bl/6J*, подавляется экспрессия ретиноидного X-рецептора RXR, регулирующего экспрессию генов липогенеза (рис. 6). Вследствие этого у *db/db*-мышей, по-видимому, нарушается нормальный уровень продукции таких вторичных мишеней PPAR-пути, как *ApoA1*, *ApoCIII*, *CYP7A1*, *CYP4A1* и других. Одновременно у *db/db* отмечается дисрегуляция в экспрессии генов, кодирующих печеночные транспортеры липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) и хиломикрон — *FATP* и *CD36*.

Q в дозе 100 мг/кг м.т. также неодинаково влиял у мышей двух линий на метаболические пути детоксикации ксенобиотиков. Так, у *db/db*-мышей отмечалось увеличение экспрессии вышеуказанной УДФ-глюкуронозилтрансферазы (КФ 2.4.1.17) и альдегидоксидазы (КФ 1.2.3.1), и подавление глутатион-S-трансферазы (КФ 2.5.1.18), а у *C57Bl/6J* эти изменения были противоположными. С другой стороны, у *C57Bl/6J* усиливается экспрессия альдегиддегидрогеназы (КФ 1.2.1.5), что не наблюдается у *db/db*. Противоположную направленность имеет у двух линий мышей и экспрессия карбоксилэстеразы (КФ 3.1.1.1); уровень экспрессии цитидиндеаминазы (КФ 3.5.4.5) повышается только у мышей *C57Bl/6J*.

У мышей *db/db*, получавших *Q* в дозе 100 мг/кг м.т., отмечается метаболический блок в путях трансформации триптофана по триптаминовому (декарбоксилирование) и кинурениновому пути за счет подавления экспрессии декарбоксилазы ароматических аминокислот (КФ 4.1.1.28, КФ 4.1.1.105) и арилформамидазы (КФ 3.5.1.9) соответственно. У *C57Bl/6J*-мышей первый из этих путей

затрагивается незначительно, а второй активируется. Наблюдаемые особенности влияния *Q* на обмен триптофана у *db/db*-мышей могут приводить у них к нарушению образования серотонина, следствием чего может быть активация дофаминовой системы, принимающей непосредственное участие в регуляции метаболических процессов, и способствовать накоплению токсичных аномальных метаболитов триптофана.

В продолжение рассмотрения влияния высокой дозы *Q* на процессы рецепции нейропептидов (метаболический путь *mtm04080*) обращают на себя внимание свойственные двум линиям различия в экспрессии анорексигенного кисспептида (*KISS1*) [15] (повышение у *C57Bl/6J* и снижение у *db/db*), предшественника брадикинина *KNG* (активация у *C57Bl/6J* при отсутствии эффекта у *db/db*) и рецептора пролактина *PRLR* (активация у *db/db* при отсутствии ответа у *C57Bl/6J*). Ожидаемым образом у *C57Bl/6J*-мышей *Q* вызывал усиление экспрессии рецептора лептина *LEPR*, тогда как у *db/db* этого не наблюдалось, несмотря на резко повышенный у них уровень циркулирующего лептина [16].

По-видимому, ключевую роль в различной реакции мышей двух линий на *Q* играют влияния этого БАВ на экспрессию генов метаболизма ретинола (*mtm00830*), рис. 7. При большой дозе *Q* наблюдается противоположный ответ вышеуказанной мультифункциональной альдегидоксидазы (КФ 1.2.3.1), *CYP2A* и УДФ-глюкуронозилтрансферазы (*UGT*) — повышение у *C57Bl/6J* и подавление у *db/db*, *CYP3A* — повышение только у *db/db*. При этом у мышей обеих линий *Q* в указанной дозе одинаково подавлял экспрессию дегидрогеназы ретинола (*RDH*). Следствием этих эффектов может быть, в частности, метаболический блок в образовании 9-цис-ретиноевой кислоты в пользу полной транс-ретиноевой кислоты и ее метаболитов, а также накопление аномальных ретиноидов и замедление их экскреции у мышей *db/db*. В совокупности это может внести существенный вклад в развитие токсического повреждения печени у мышей *db/db* на высокой дозе *Q* с учетом важной роли ретиноидов в процессах клеточной дифференцировки, пролиферации и межклеточного распознавания. Примечательно, что в отличие от мышей *C57Bl/6J*, получавших ВУВЖР, у мышей *db/db* отмечаются зависимые от дозы *Q* изменения ДЭ вышеуказанных факторов *CYP3A*, *RDH*, а также *CYP26*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полнотранскриптомный анализ ткани печени был проведен для двух линий мышей, из которых первая, *db/db*, характеризовалась спонтанным развитием ожирения, гиперлипидемии и гипергликемии даже при потреблении сбалансированного стандартного рациона, а вторая, *C57Bl/6J*, была относительно резистентна к увеличению жировой массы при потреблении гиперкалорийного ВУВЖР. При этом воздействие *Q* на мышей *C57Bl/6J*, получавших ВУВЖР, с одной стороны, и мышей *db/db*, с другой, также имело свои особенности.

В ранее опубликованном исследовании, выполненном на рассматриваемых группах животных [16], отмечалась гибель трех из восьми мышей *db/db* во 2-й группе и пяти из восьми мышей в 3-й группе при явлениях острой циркуляторной дисфункции легких и миокарда.

Q100 Steroid hormone biosynthesis

Black

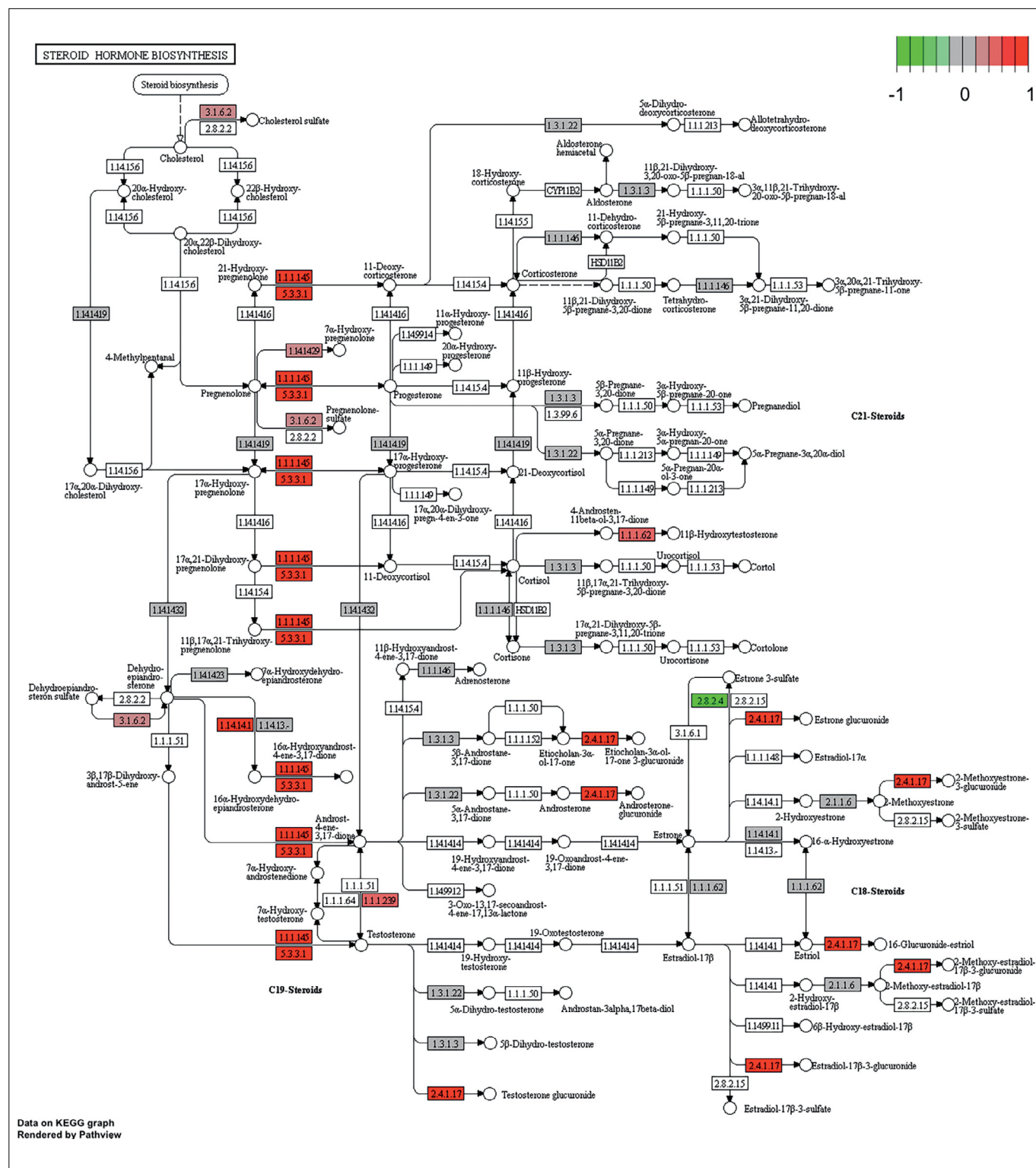


Рисунок 5. Сравнение изменений метаболических путей Steroid hormone biosynthesis у мышей db/db и C57Bl/6J под действием Q в дозе 100 мг/кг массы тела.

DB

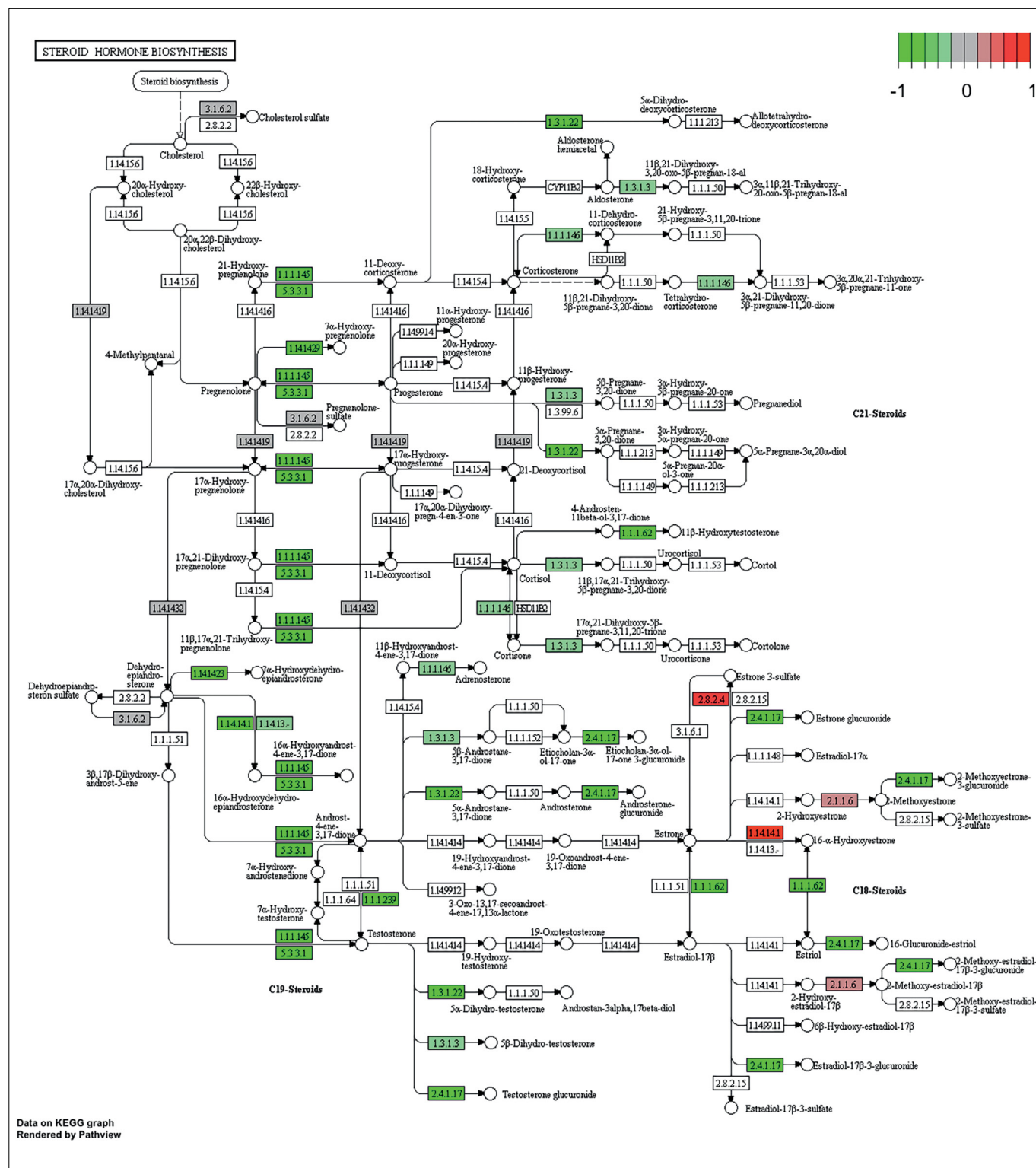
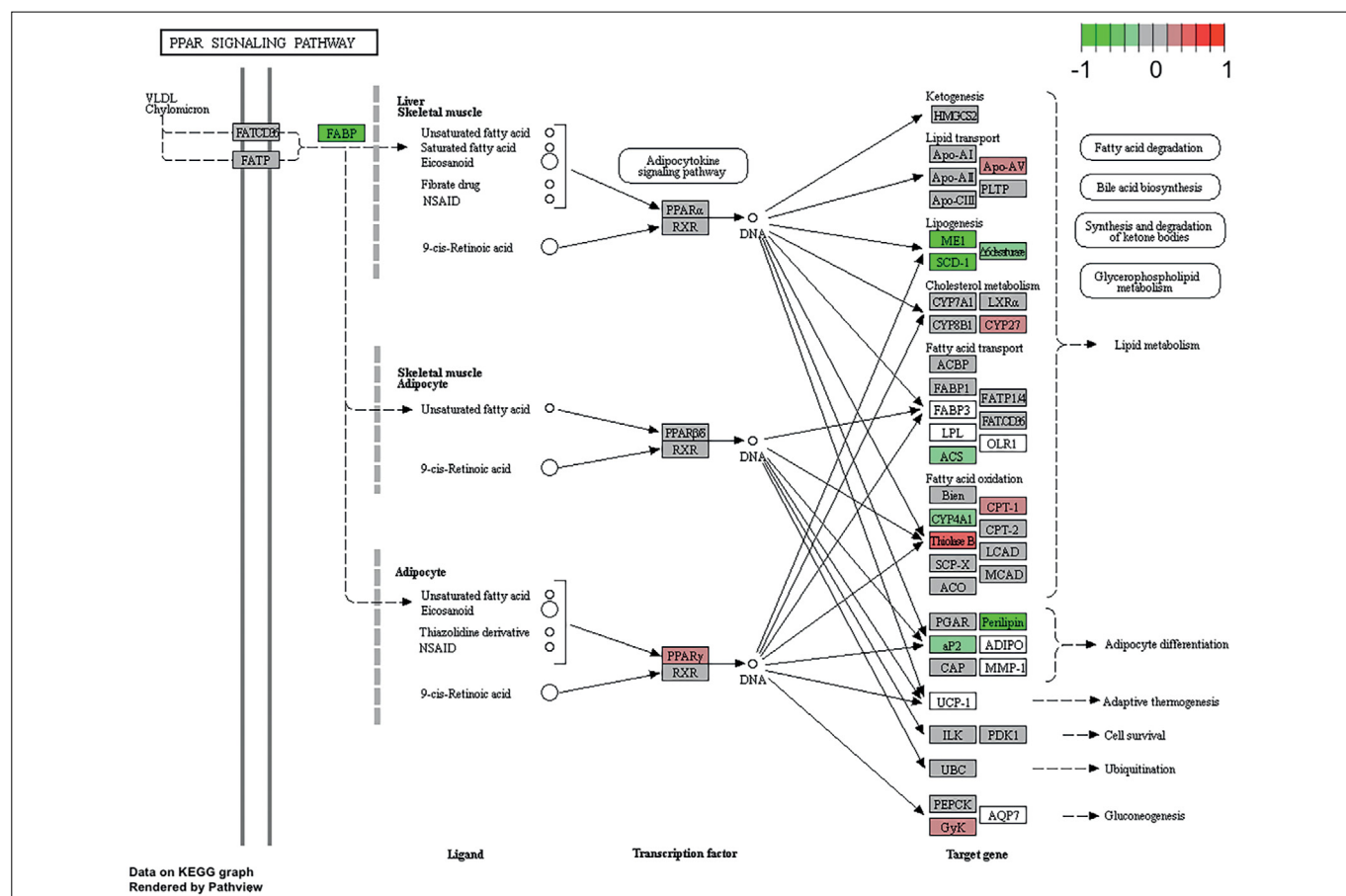


Рисунок 5, продолжение. Сравнение изменений метаболических путей Steroid hormone biosynthesis у мышей db/db и C57Bl/6J под действием Q в дозе 100 мг/кг массы тела.

Q100 PPAR SIGNALING

Black



DB

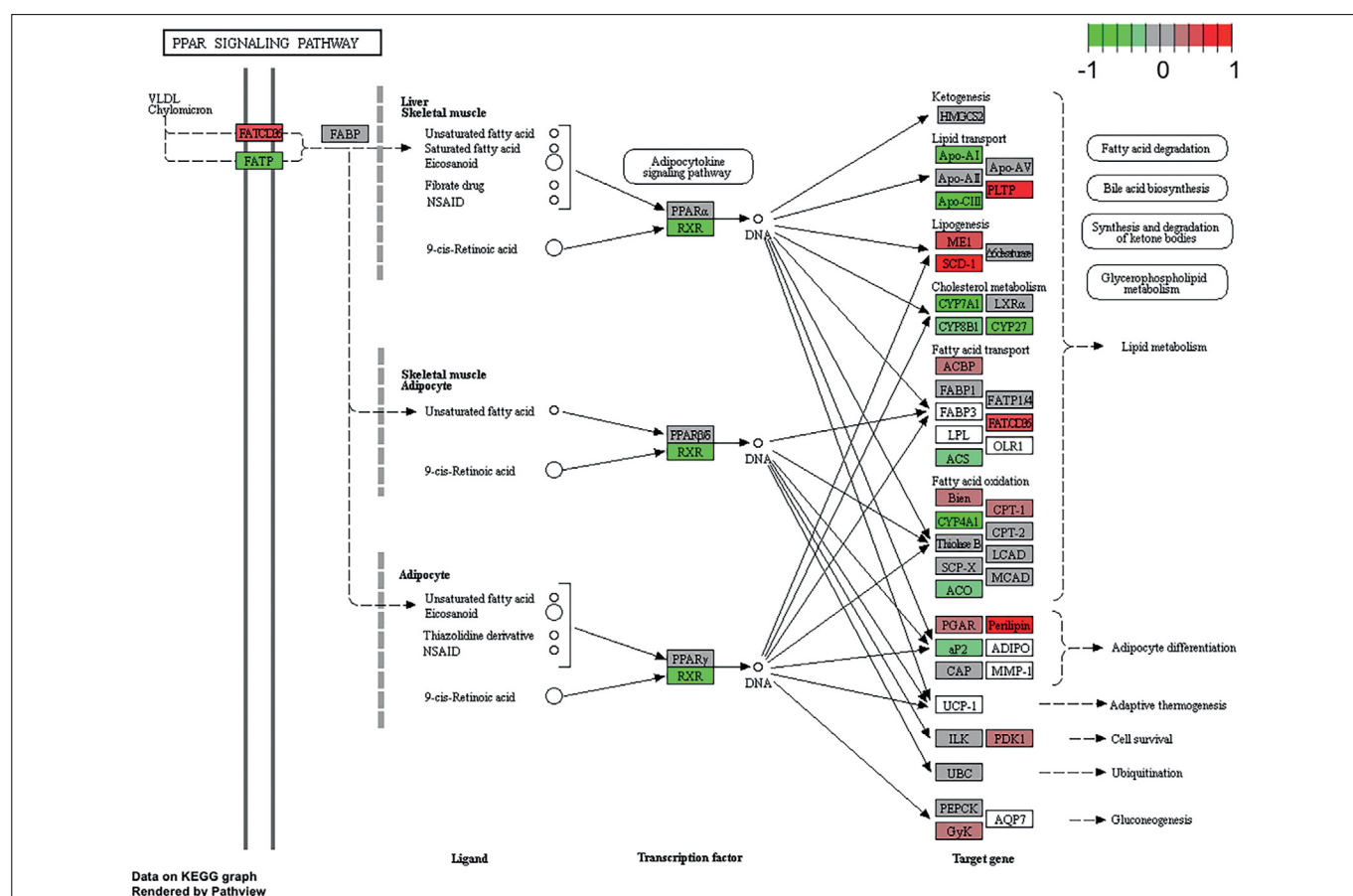


Рисунок 6. Сравнение изменений метаболических путей PPAR Signaling у мышей db/db и C57Bl/6J под действием Q в дозе 100 мг/кг массы тела.

Black

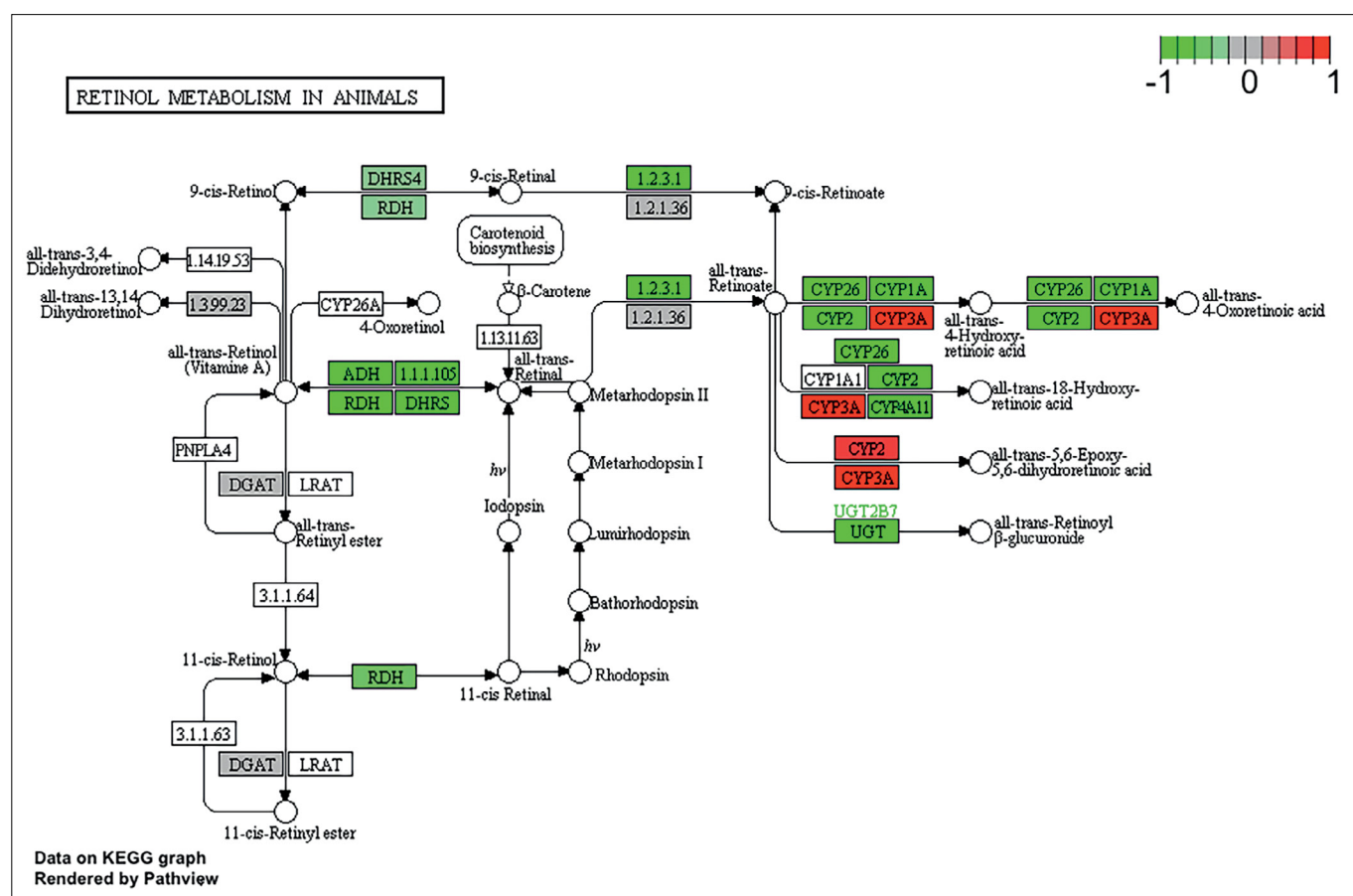


Рисунок 7. Сравнение изменений метаболических путей Retinol metabolism у мышей db/db и C57Bl/6J под действием Q в дозе 100 мг/кг массы тела.

Все животные остальных опытных групп имели нормальный внешний вид и систематически прибавляли в массу тела. Среднее удельное энергопотребление, выраженное в ккал/г м.т. в сутки, у мышей db/db достоверно не различалось между группами. Все мыши db/db демонстрировали выраженные фенотипические признаки ожирения. Потребление Q мышами db/db не оказывало влияния на их интегральные показатели, за исключением возрастания массы забрюшинного жира в группе, получавшей Q в дозе 25 мг/кг м.т. Мыши C57Bl/6J 5-й группы характеризовались достоверно повышенным удельным энергопотреблением в сравнении с группой 4. Q достоверно снижал этот показатель в группе 6 и на уровне тенденции в группе 7.

У мышей C57Bl/6J группы 5, получавших ВУВЖР, м.т. и масса жировой ткани достоверно не отличались от контроля. Потребление Q мышами C57Bl/6J приводило к снижению массы печени, повышению массы забрюшинного белого жира (группа 6) и снижению запасов подлопаточного бурого жира по сравнению с животными, потреблявшими только ВУВЖР.

У мышей db/db контрольной группы были многократно повышены уровни циркулирующего лептина в сравнении с мышами C57Bl/6J, получавшими как сбалансированный рацион, так и ВУВЖР. В сопоставимых условиях у db/db-мышей был также достоверно повышен в сравнении с C57Bl/6J уровень провоспалительного цитокина IL-10. Q не оказывал влияния на уровень лептина, грелина и IL-10 у db/db.

Под действием Q у мышей db/db достоверно снижался уровень глюкозы, возрастало содержание липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), а уровни липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) и триглицеридов демонстрировали тенденцию к снижению. У мышей C57Bl/6J Q не вызывал достоверного изменения указанных биохимических показателей. Суммарная липолитическая активность плазмы крови достоверно снижалась под действием Q только у мышей C57Bl/6J.

У мышей db/db группы 1 были достоверно повышены уровни глюкозы, общего холестерина, холестерина ЛПВП и ЛПНП и триглицеридов и при этом, понижено отношение активностей аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы (коэффициент де Ритиса) в сравнении с мышами C57Bl/6J групп 4 и 5. У C57Bl/6J кормление ВУВЖР не приводило к изменению коэффициента де Ритиса.

Представленная морфологическая картина печени свидетельствует о неблагоприятном эффекте Q у мышей db/db, проявлявшемся в резком усилении аккумуляции жира в печени (что может быть связано, в частности, с усилением транспорта холестерина в печень посредством повышенных уровней ЛПВП), в то время как у получавших Q мышей C57Bl/6J накопление жира в гепатоцитах видимым образом снижалось.

Указанные фенотипические особенности получили свое отражение и на транскриптомном уровне. Так, ДЭ гена *Saa3* (serum amyloid A 3) повышалась только у db/db, получавших Q, что может быть связано с развитием воспаления на фоне резкого усиления метаболической активности. SAA3 представляет собой аполипопротеин, жестко регулируемый при различных воспалительных процессах и рассматриваемый как провоспалительный медиатор [17], способствующий пролиферации макро-

фагов в жировую ткань [18]. Ген *Cidec* (cell death-inducing DFFA-like effector c), также экспрессируемый в ответ на Q только у мышей db/db, рассматривается как подавляющий мобилизацию жира из депо и способствующий его накоплению [19]. Фармакологическая блокада CIDEc у мышей ob/ob приводила к снижению запасов висцерального жира, улучшению инсулиновой чувствительности, активации генов, участвующих в распаде и синтезе жиров [20].

По данным Duvenger et al. [21], гиперэкспрессия гена *Apoa4* (apolipoprotein A-IV) вызывала увеличение уровней ЛПНП, что согласовалось с нашими данными для мышей db/db, получавших Q [16], и сопровождалась усилением транспорта холестерина из периферических органов в печень, что на фоне метаболического блока окисляющих стерины ферментов (см. рис. 6) могло быть одной из причин наблюдаемого усиления аккумуляции липидов в печени. Избирательное подавление под влиянием Q экспрессии *Ngef* (neuronal guanine nucleotide exchange factor, синонимы: *Tims2*; *ephexin*) наблюдалось только у db/db мышей. Shi et al. [22] показали, что нокаут этого гена приводил к нарушению координации движений и мышечной усталости, что согласуется с нашими данным определения мышечного тонуса у db/db, получавших Q [16].

Наблюдаемое у db/db повышение уровня экспрессии *Scd1* (стеарил-КоА десатураза) как по сравнению с мышами C57Bl/6J, так и при низкой дозе Q в рационе согласуется с усилением в этих условиях накопления жира в печени (см. рис. 1), поскольку активность данного фермента является фактором, предрасполагающим к развитию как вызванного алкоголем, так и неалкогольного стеатогепатита на мышинной модели [23]. Аналогичными этому были различия в направленности ДЭ гена *Scd1* под действием Q у двух линий крыс — относительно резистентной и склонной к развитию ожирения, по данным [24].

Повышенная экспрессия гена *Acacb* (ацетил-коэнзим А карбоксилаза бета), рассматриваемого в качестве регулируемого АМПК (cAMP-activated protein kinase) промотера липогенеза и фактора, препятствующего митохондриальному β -окислению жирных кислот [25, 26], отмечалась у db/db-мышей, получавших Q, в то время как ответ этого гена у мышей C57Bl/6J был противоположным. Малонил-КоА, генерируемый ацетил-КоА-карбоксилазами, является ключевым метаболитом в синтезе жирных кислот. Сходные с выявленными нами закономерности были обнаружены ранее для экспрессии родственного гена *Acaca* на крысиных моделях в работе [24].

Ключевой ген пентозофосфатного пути *G6pdx* (glucose-6-phosphate dehydrogenase X-linked) показал повышенную ДЭ у db/db-мышей в сравнении с C57Bl/6J, а Q вызывал дальнейшее усиление его экспрессии в печени, что по данным [27] может рассматриваться как признак развития инсулиновой резистентности и оксидантного стресса. Характерно, что у мышей C57Bl/6J экспрессия этого гена под воздействием ВУВЖР снижалась, что подчеркивает способность этих животных к адаптации при потреблении избыточного по энергетической ценности рациона.

Экспрессия *Fst* (фоллистатин), рассматриваемого как маркер печеночной инсулинорезистентности у мышей [28], имела противоположную направленность у мышей двух линий при высокой дозе Q. Интерпретация этого факта, однако, затрудняется тем обстоя-

тельством, что уровень мРНК этого гена был снижен у мышей db/db контрольной группы по сравнению с контрольными C57Bl/6J.

В отличие от вышеперечисленных генов, ДЭ гена *Gls2* (glutaminase 2), кодирующего ключевой фермент катаболизма глутамина, наблюдалась только у C57Bl/6J, получавших Q. Это может означать, что, вероятно, у этих животных БАВ способен вызывать переключение энергетического обмена с использования белка на углеводные субстраты и кетонные тела, что может осуществляться посредством PPARα сигнального каскада [29].

Однозначно подавляемыми только у C57Bl/6J под действием Q явились ключевые гены липогенеза *Acs2* (acyl-CoA synthetase short-chain family member 2) и *Fabp5* (fatty acid binding protein 5, epidermal). Регулируемая при участии SREBP-1a (sterol regulatory element-binding protein 1) *Acs2* способствует увеличению жировых запасов и отягощению ожирения [30]. Кодированный *Fabp5* переносчик жирных кислот препятствует апоптозу адипоцитов [31] посредством системы эндоканнабиноидов и GIP, повышает потребление пищи и на высококалорийных рационах, чем способствует развитию диет-индуцированного ожирения [32, 33]. Характерно, что у мышей db/db контрольной группы экспрессия обоих этих генов была, по-видимому, изначально повышена по сравнению с контрольными C57Bl/6J.

Повышенная экспрессия генов, связанных с кальциевым обменом: Ca-связывающих белков *S100a4* (S100 calcium binding protein A4), *S100a11* (S100 calcium binding protein A11) и кальций/кальмодулин-зависимой протеинкиназы 2 бета *Camk2b* у мышей db/db в сравнении с C57Bl/6J и под воздействием Q может быть связана с ролью этих факторов в развитии ожирения, которая в настоящее время недостаточно изучена. По некоторым данным, белки семейства S100a способны препятствовать олигомеризации и транспорту p53 [34], необходимо, в частности, для активации анорексигенных AgRP нейронов гипоталамуса при избыточном по калорийности питании [35]. Однако вопрос о том, каким образом может быть связана с этими процессами эктопическая гиперэкспрессия генов *S100a4* и *S100a11* в печени, остается открытым.

Ген *Camk2b*, экспрессия которого у db/db-мышей повышена в 32 раза по сравнению с получавшими ВУВЖР мышами C57Bl/6J, рассматривается как маркер апоптоза и оксидантного стресса в эндоплазматическом ретикулуме [36]. По данным [37], в хабенуле эпителия головного мозга гиперэкспрессия *Camk2b* может маркировать развитие депрессии. Противоположная направленность экспрессии *Grin2d* (glutamate receptor, ionotropic, NMDA2D (epsilon 4)) у получавших Q мышей двух линий может определяться участием этого ионофорного рецептора анионных аминокислот во внутриклеточном транспорте кальция, приводящем к активации транскрипционного фактора CREB (cAMP response element-binding protein) [38], играющего роль триггера в развитии воспаления в жировой ткани при ожирении [39].

Ряд генов, ответивших положительной ДЭ у db/db и отрицательной у C57Bl/6J, получавших Q, могут рассматриваться как маркеры развития жирового гепатоза у мышей первой из этих линий. В их числе *Tuba8* (tubulin, alpha 8), активируемый на мышинной модели неалкогольного стеатогепатита [40], *Pdk4* (pyruvate dehydrogenase

kinase, isoenzyme 4), являющийся мишенью воздействия PPAR β/δ [41], и *Cgref1* (cell growth regulator with EF hand domain 1, синоним *Cgr11*), повышенная экспрессия которого связывается с арестом клеточного цикла и ингибированием тканевых репаративных процессов [42]. Противоположную направленность имела экспрессия *Nrep* (neuronal regeneration related protein, синоним p311) — гена, связанного с регуляцией накопления липидов в печени через обмен ретиноидов [43]. Обращает на себя внимание противоположный знак ДЭ у db/db и C57Bl/6J, получавших ВУВЖР, при сравнении с C57Bl/6J на контрольном рационе таких генов, как *Bcl6* (B cell leukemia/lymphoma 6) и *Btg3* (BTG anti-proliferation factor 3). При дефиците первого из этих факторов, принадлежащего к группе ядерных белков «цинковые пальцы», у мышей наблюдается дисрегуляция липидного обмена, опосредуемая SOC-сигналингом и связанная с экспрессией *Scd1* и *Chrebp* [44], второй предположительно активируется при оксидантном стрессе [45]. В этой связи также примечательна активация транскрипции *Btg3* у db/db, но не у C57Bl/6J, получавших высокую дозу Q. Сходный с *Bcl6* профиль экспрессии наблюдался у *Car3* (carbonic anhydrase 3), с той разницей, что Q подавлял его у db/db. Снижение экспрессии данного гена маркирует токсическое повреждение печени, связанное с избыточными уровнями ионов Cu^{2+} или болезнью Вильсона [46].

Различия в ДЭ отмечались также для комплекса генов, участвующих в иммунной реакции. У мышей db/db в норме и при потреблении Q повышалась экспрессия *CD14* (CD14 antigen), *Ifi272b* (interferon, alpha-inducible protein 27 like 2B) и *Jchain* (immunoglobulin joining chain), рассматриваемых как маркеры иммунологически опосредуемого воспаления при накоплении жира в печени [47, 48, 49]. На возможную роль TLR-сигналинга в этих процессах указывает гиперэкспрессия гена toll-рецептора *Tlr12* [50] у db/db-мышей одновременно с подавлением экспрессии этого гена у C57Bl/6J на ВУВЖР.

О различном влиянии Q в двух использованных *in vivo* моделях на гормональную регуляцию углеводно-энергетического обмена указывает реципрокная экспрессия факторов связывания инсулиноподобного фактора роста ИФР *Igfals* (insulin-like growth factor binding protein, acid labile subunit) и *Igfbp1* (insulin-like growth factor binding protein 1) у db/db и C57Bl/6J-мышей. Первый из этих генов кодирует полипептид, являющийся нормальным компонентом регуляторного комплекса ИФР и гормона роста, тогда как гиперэкспрессия второго, находящаяся под контролем PPAR-пути, приводит к развитию гипергликемии и снижению толерантности к глюкозе [51]. Еще одним геном, противоположно отвечающим на прием Q у мышей двух линий, явился *Insig2* (insulin induced gene 2), повышенная экспрессия которого может рассматриваться как один из маркеров инсулиновой резистентности [52].

Подводя итог анализу ответа транскриптома печени мышей двух линий на применяемые генетические воздействия, следует отметить, что в основе фундаментальных различий в реакции на Q генетического аппарата мышей db/db и их родительской линии C57Bl/6J лежит отсутствие у первых нормальной рецепции лептина, вследствие чего его нейротропные и регуляторные функции не могут адекватно реализоваться [53].

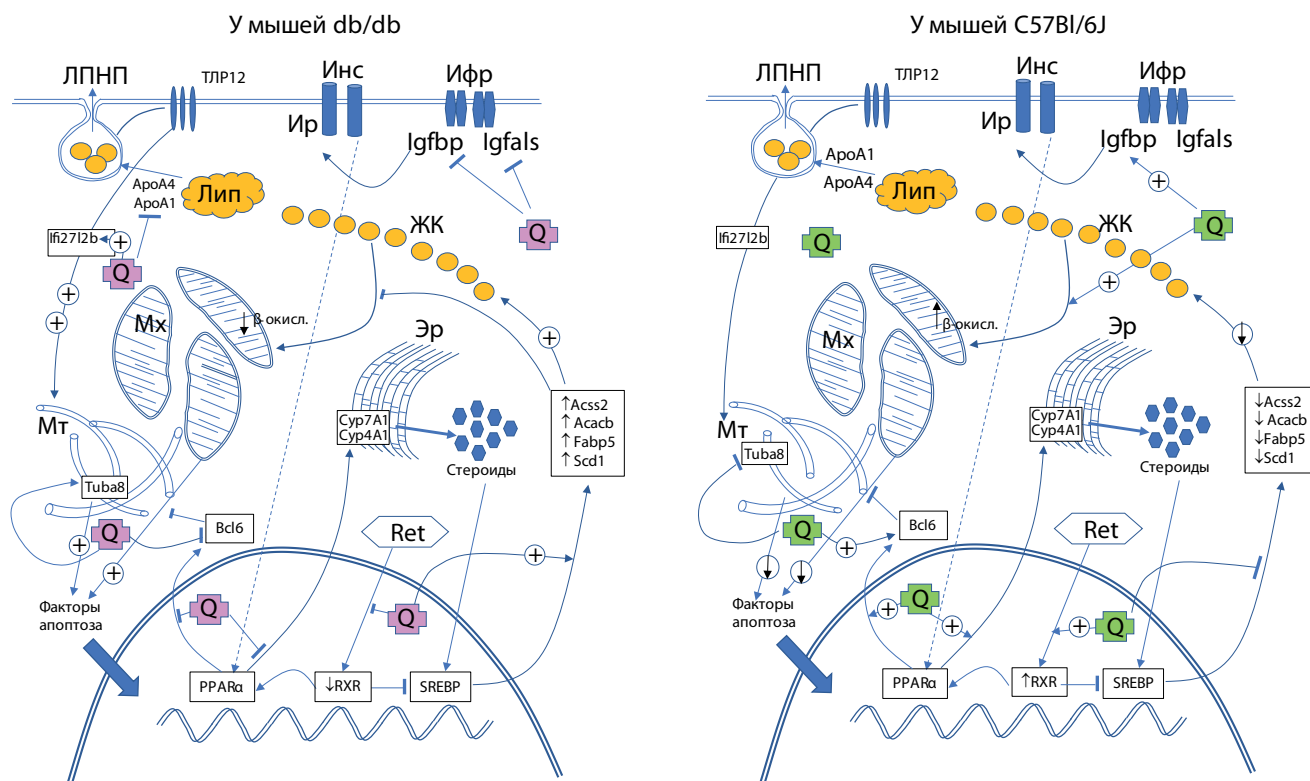


Рисунок 8. Схема, основанная на результатах полнотранскриптомного анализа, взаимосвязи внутриклеточных процессов, являющихся мишенями воздействия кверцетина в гепатоцитах мышей db/db и C57Bl/6J. Обозначения: ЖК — жирные кислоты; Инс — инсулин; Ир — рецептор инсулина; Ифр — инсулиноподобный фактор роста; Лип — липиды; Мх — митохондрии; Мт — микротрубочки; Эр — эндоплазматический ретикулум; Q — кверцетин; ↑ — усиление экспрессии; ↓ — ослабление экспрессии; + — активация (потенцирование), — — подавление (ингибирование).

На рис. 8 представлена обобщенная схема, демонстрирующая в сопоставлении основные различия во влиянии Q на экспрессию генов и связанные с ней изменения в метаболических процессах в клетках печени мышей линий db/db и C57Bl/6J.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полнотранскриптомное профилирование ткани печени мышей db/db и C57Bl/6J, представляющих две *in vivo* модели, первая из которых соответствует спонтанному генетически обусловленному ожирению, а вторая — состоянию относительной резистентности к развитию ожирения при потреблении высококалорийного рациона, выявили множественные различия во влиянии БАВ полифенольной природы Q на экспрессию генов (см. рис. 8). Эти различия распространялись на группы ключевых генов жирового и углеводно-энергетического обмена, биосинтеза стероидов, обмена производных ретинола, PPAR-сигналинга, развития инсулиновой резистентности, опосредованной Toll-рецепторами иммунной реакции, внутриклеточных и секреторных транспортных процессов и других показателей.

Во всех проанализированных случаях изменения активности транскрипции генов согласовались с фенотипическими изменениями организма мышей, состоявшими в повышенной летальности, утяжелении состояния дислипидемии и жирового гепатоза у мышей db/db, и противоположной, благоприятной для организма реакцией у мышей C57Bl/6J на потребление данного БАВ. Выявленные на геномном уровне различия в эффектах Q позволяют, во-первых, пролить свет на неоднозначную эффективность этого БАВ, как и других полифенолов,

в диетотерапии различных форм ожирения у людей и, во-вторых, сформировать набор чувствительных маркеров, которые позволят в перспективе, при наличии клинически доступного биосубстрата, оценивать результативность применения БАВ при диетотерапии ожирения, метаболического синдрома, других метаболических состояний, в том числе опосредованных нейродегенеративными нарушениями.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Работа выполнена 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 декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов. Трусев Н.В. — полнотранскриптомный анализ на микрочипе, написание статьи (разделы «Методы», «Обсуждение»); Апрытин С.А. — разработка дизайна эксперимента, написание статьи (разделы «Методы», «Результаты»); Шипелин В.А. — написание статьи (раздел «Обсуждение»); Гмошинский И.В. — разработка общей концепции исследования, сбор и анализ данных литературы, статистическая обработка и интерпретация данных, написание статьи (разделы «Введение», «Обсуждение», «Заключение»). Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

Благодарности. Коллектив авторов благодарит Наумова Владимира Александровича (elibrary SPIN-код: 9218-7997; e-mail: loongdog@gmail.com) за проведение биоинформатического анализа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- 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: 10.3389/fendo.2017.00063.
- Hsu TM, Hahn JD, Konanur VR, et al. Hippocampus ghrelin signaling mediates appetite through lateral hypothalamic orexin pathways. *Elife*. 2015;4:e11190. doi: 10.7554/eLife.11190.
- 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 Neuropsychopharmacol*. 2016;14(2):118–142. doi: 10.2174/1570159X1466615110 9103147.
- Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(2):85–97. doi: 10.1038/nri2921.
- 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: 10.1002/mnfr.201000392.
- 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: 10.3945/jn.111.157263.
- Edwards RL, Lyon T, Litwin SE, et al. Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. *J Nutr*. 2007;137(11):2405–2411. doi: 10.1093/jn/137.11.2405.
- Castrejón-Tellez V, Rodríguez-Pérez JM, Pérez-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):1069. doi: 10.3390/ijms17071069.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*. 1993;123(11):1939–1951. doi: 10.1093/jn/123.11.1939.
- Апратин С.А., Трусов Н.В., Горбачев А.Ю., и др. Сравнительный анализ полнотранскриптомного профиля печени крыс Wistar, получавших рационы с различным содержанием жира, фруктозы и холестерина // Биохимия. — 2019. — Т. 84. — №9. — С. 1344–1358. [Apriyatn SA, Trusov NV, Gorbachev AYU, 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. (In Russ.)]. doi: 10.1134/S0320972519090124.
- Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). Available from: <https://www.genome.jp/kegg/>.
- 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. doi: 10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x.
- Kosters A, Kunne C, Looije N, et al. The mechanism of ABCG5/ABCG8 in biliary cholesterol secretion in mice. *J Lipid Res*. 2006;47(9):1959–1966. doi: 10.1194/jlr.M500511-JLR200.
- Мургина Н.Е., Будихина А.С., Максимчик П.В., и др. Синергическое взаимодействие рецепторов NOD1 и TLR4 врожденного иммунитета: транскрипционные и метаболические аспекты // Иммунология. — 2019. — Т. 40. — №2. — С. 9–16. [Muragina NE, Budikhina AS, Maximchik PV, et al. Synergistic interactions of NOD1 and TLR4 receptors of innate immunity: transcriptional and metabolic aspects. *Immunologiya*. 2019;40(2):9–16. (In Russ.)]. doi: 10.2411/0206-4952-2019-12002.
- Yang JA, Yasrebi A, Snyder M, Roepke TA. The interaction of fasting, caloric restriction, and diet-induced obesity with 17 β -estradiol on the expression of KNDy neuropeptides and their receptors in the female mouse. *Mol Cell Endocrinol*. 2016;437:35–50. doi: 10.1016/j.mce.2016.08.008.
- Апратин С.А., Шипелин В.А., Трусов Н.В., и др. Влияние кверцетина на метаболизм и поведенческие реакции мышей с нормальной и нарушенной рецепцией лептина // Известия РАН. Серия биологическая. — 2020. — №4. — С. 411–422. [Apriyatn SA, Shipelin VA, Trusov NV, et al. The effect of quercetin on metabolism and behavioral responses in mice with normal and impaired leptin reception. *Biology Bulletin*. 2020;47(4):407–416. (In Russ.)]. doi: 10.1134/s1062359020040020.
- Ather JL, Poynter ME. Serum amyloid A3 is required for normal weight and immunometabolic function in mice. *PLoS One*. 2018;13(2):e0192352. doi: 10.1371/journal.pone.0192352.
- Sanada Y, Yamamoto T, Satake R, et al. Serum amyloid A3 gene expression in adipocytes is an indicator of the interaction with macrophages. *Sci Rep*. 2016;6:38697. doi: 10.1038/srep38697.
- Puri V, Konda S, Ranjit S, et al. Fat-specific protein 27, a novel lipid droplet protein that enhances triglyceride storage. *J Biol Chem*. 2007;282(47):34213–34218. doi: 10.1074/jbc.M707404200.
- Langhi C, Arias N, Rajamoorthi A, et al. Therapeutic silencing of fat-specific protein 27 improves glycemic control in mouse models of obesity and insulin resistance. *J Lipid Res*. 2017;58(1):81–91. doi: 10.1194/jlr.M069799.
- Duverger N, Tremp G, Caillaud JM, et al. Protection against atherogenesis in mice mediated by human apolipoprotein A-IV. *Science*. 1996;273(5277):966–968. doi: 10.1126/science.273.5277.966.
- Shi L, Butt B, Ip FC, et al. Ephexin1 is required for structural maturation and neurotransmission at the neuromuscular junction. *Neuron*. 2010;65(2):204–216. doi: 10.1016/j.neuron.2010.01.012.
- Lounis MA, Escoula Q, Veillette C, et al. SCD1 deficiency protects mice against ethanol-induced liver injury. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1861(11):1662–1670. doi: 10.1016/j.bbalip.2016.07.012.
- Мжельская К.В., Трусов Н.В., Апратин С.А., и др. Влияние кверцетина на экспрессию генов ферментов углеводного и липидного обмена в печени у крыс с генетически обусловленным и алиментарным ожирением // Вопросы питания. — 2019. — Т. 88. — №2. — С. 6–16. [Mzhelskaya KV, Trusov NV, Apriyatn SA, et al. Effect of quercetin on the expression of the carbohydrate and lipid metabolism genes in the liver of rats with genetic. *Vopr Pitan*. 2019;88(2):6–16. (In Russ.)]. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10012.
- Takagi H, Ikehara T, Kashiwagi Y, et al. ACC2 deletion enhances IMCL reduction along with acetyl-CoA metabolism and improves insulin sensitivity in male mice. *Endocrinology*. 2018;159(8):3007–3019. doi: 10.1210/en.2018-00338.
- Jeon SM, Chandel NS, Hay N. AMPK regulates NADPH homeostasis to promote tumour cell survival during energy stress. *Nature*. 2012;485(7400):661–665. doi: 10.1038/nature11066.
- Ham M, Choe SS, Shin KC, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency improves insulin resistance with reduced adipose tissue inflammation in obesity. *Diabetes*. 2016;65(9):2624–2638. doi: 10.2337/db16-0060.
- Tao R, Wang C, Stöhr O, et al. Inactivating hepatic follistatin alleviates hyperglycemia. *Nat Med*. 2018;24(7):1058–1069. doi: 10.1038/s41591-018-0048-0.
- Velázquez-Villegas LA, Charabati T, Contreras AV, et al. PPAR α downregulates hepatic glutaminase expression in mice fed diets with different protein:carbohydrate ratios. *J Nutr*. 2016;146(9):1634–1640. doi: 10.3945/jn.116.232868.
- Huang Z, Zhang M, Plec AA, et al. ACS2 promotes systemic fat storage and utilization through selective regulation of genes involved in lipid metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(40):E9499–E9506. doi: 10.1073/pnas.1806635115.
- Ma X, Ren X, Han P, et al. siRNA against Fapb5 induces 3T3-L1 cells apoptosis during adipocytic induction. *Mol Biol Rep*. 2010;37(8):4003–4011. doi: 10.1007/s11033-010-0059-5.
- Hamilton J, Koumas C, Clavin BH, et al. Fatty acid-binding proteins 5 and 7 gene deletion increases sucrose consumption and diminishes forced swim immobility time. *Behav Pharmacol*. 2018;29(6):503–508. doi: 10.1097/FBP.0000000000000402.
- Shibue K, Yamane S, Harada N, et al. Fatty acid-binding protein 5 regulates diet-induced obesity via GIP secretion from enteroendocrine K cells in response to fat ingestion. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015;308(7):E583–591. doi: 10.1152/ajpendo.00543.2014.
- Fernandez-Fernandez MR, Vepintsev DB, Fersht AR. Proteins of the S100 family regulate the oligomerization of p53 tumor suppressor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(13):4735–4740. doi: 10.1073/pnas.0501459102.
- Quiñones M, Al-Massadi O, Folgueira C, et al. p53 in AgRP neurons is required for protection against diet-induced obesity via JNK1. *Nat Commun*. 2018;9(1):3432. doi: 10.1038/s41467-018-05711-6.

36. Roe ND, Ren J. Oxidative activation of Ca(2+) / calmodulin-activated kinase II mediates ER stress-induced cardiac dysfunction and apoptosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013;304(6):H828–839. doi: 10.1152/ajpheart.00752.2012.
37. Li K, Zhou T, Liao L, et al. β CaMKII in lateral habenula mediates core symptoms of depression. *Science*. 2013;341(6149):1016–1020. doi: 10.1126/science.1240729.
38. Hardingham GE, Fukunaga Y, Bading H. Extrasynaptic NMDARs oppose synaptic NMDARs by triggering CREB shut-off and cell death pathways. *Nat Neurosci*. 2002;5(5):405–414. doi: 10.1038/nn835.
39. Qi L, Saberi M, Zmuda E, et al. Adipocyte CREB promotes insulin resistance in obesity. *Cell Metab*. 2009;9(3):277–286. doi: 10.1016/j.cmet.2009.01.006.
40. Rein-Fischboeck L, Pohl R, Haber EM, et al. Tubulin alpha 8 is expressed in hepatic stellate cells and is induced in transformed hepatocytes. *Mol Cell Biochem*. 2017;428(1-2):161–170. doi: 10.1007/s11010-016-2926-4.
41. Degenhardt T, Saramäki A, Malinen M, et al. Three members of the human pyruvate dehydrogenase kinase gene family are direct targets of the peroxisome proliferator-activated receptor beta/delta. *J Mol Biol*. 2007;372(2):341–355. doi: 10.1016/j.jmb.2007.06.091.
42. Rabinovich RA, Drost E, Manning JR, et al. Genome-wide mRNA expression profiling in vastus lateralis of COPD patients with low and normal fat free mass index and healthy controls. *Respir Res*. 2015;16(1):1. doi: 10.1186/s12931-014-0139-5.
43. Leung JK, Cases S, Vu TH. P311 functions in an alternative pathway of lipid accumulation that is induced by retinoic acid. *J Cell Sci*. 2008;121(Pt 16):2751–2758. doi: 10.1242/jcs.027151.
44. LaPensee CR, Lin G, Dent AL, Schwartz J. Deficiency of the transcriptional repressor B cell lymphoma 6 (Bcl6) is accompanied by dysregulated lipid metabolism. *PLoS One*. 2014;9(6):e97090. doi: 10.1371/journal.pone.0097090.
45. Seo MS, Lee MS, Lim IK. Expression of rat BTG(3) gene, Rbgt3, is regulated by redox changes. *Gene*. 1999;240(1):165–173. doi: 10.1016/S0378-1119(99)00415-1.
46. Carter WG, Vigneswara V, Newlaczyl A, et al. Isoaspartate, carbamoyl phosphate synthase-1, and carbonic anhydrase-III as biomarkers of liver injury. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;458(3):626–631. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.01.158.
47. Roncon-Albuquerque R, Moreira-Rodrigues M, Faria B, et al. Attenuation of the cardiovascular and metabolic complications of obesity in CD14 knockout mice. *Life Sci*. 2008;83(13-14):502–510. doi: 10.1016/j.lfs.2008.07.021.
48. Lu MY, Liao F. Interferon-stimulated gene ISG12b2 is localized to the inner mitochondrial membrane and mediates virus-induced cell death. *Cell Death Differ*. 2011;18(6):925–936. doi: 10.1038/cdd.2010.160.
49. Arai S, Maehara N, Iwamura Y, et al. Obesity-associated autoantibody production requires AIM to retain the immunoglobulin M immune complex on follicular dendritic cells. *Cell Rep*. 2013;3(4):1187–1198. doi: 10.1016/j.celrep.2013.03.006.
50. Kim SJ, Choi Y, Choi YH, Park T. Obesity activates toll-like receptor-mediated proinflammatory signaling cascades in the adipose tissue of mice. *J Nutr Biochem*. 2012;23(2):113–122. doi: 10.1016/j.jnutbio.2010.10.012.
51. Ueki I, Giesy SL, Harvathine KJ, et al. The acid-labile subunit is required for full effects of exogenous growth hormone on growth and carbohydrate metabolism. *Endocrinology*. 2009;150(7):3145–3152. doi: 10.1210/en.2008-1740.
52. Yabe D, Komuro R, Liang G, et al. Liver-specific mRNA for Insig-2 down-regulated by insulin: implications for fatty acid synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(6):3155–3160. doi: 10.1073/pnas.0130116100.
53. Kobayashi K, Forte TM, Taniguchi S, et al. The db/db mouse, a model for diabetic dyslipidemia: molecular characterization and effects of Western diet feeding. *Metabolism*. 2000;49(1):22–31. doi: 10.1016/S0026-0495(00)90588-2.

Рукопись получена: 05.08.2020. Одобрена к публикации: 17.09.2020. Опубликовано online: 30.10.2020.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Трусов Никита Вячеславович [Nikita V. Trusov]**, 109240 Москва, Устьинский проезд, д. 2/14 [address: 2/4, Ustyinsky proezd, Moscow, Russia 109240]. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1919-9297>; elibrary SPIN-код: 5182-2665, E-mail: nikkitosu@yandex.ru

Апрятин Сергей Алексеевич, к.б.н. [Sergey A. Apryatin, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6543-7495>; elibrary SPIN-код: 4250-2758, E-mail: apryatin@mail.ru

Шипелин Владимир Александрович, к.м.н. [Vladimir A. Shipelin, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0015-8735>; elibrary SPIN-код: 6779-8351, E-mail: v.shipelin@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., Шипелин В.А., Гмошинский И.В. Полнотранскриптомный анализ экспрессии генов в печени мышей в сравнительном исследовании эффективности кверцетина на двух моделях ожирения // Проблемы эндокринологии. — 2020. — Т. 66. — №5. — С. 31–47. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12561>

TO CITE THIS ARTICLE:

Trusov TV, Apryatin SA, Shipelin VA, Gmoshinski IV. Full transcriptome analysis of gene expression in liver of mice in a comparative study of quercetin efficiency on two obesity models. *Problems of Endocrinology*. 2020;66(5):31–47. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12561>