

УДК 577.214.5; 612.393; 616-092.9

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОЛНОТРАНСКРИПТОМНОГО ПРОФИЛЯ ПЕЧЕНИ КРЫС WISTAR, ПОЛУЧАВШИХ РАЦИОНЫ С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ЖИРА, ФРУКТОЗЫ И ХОЛЕСТЕРИНА

© 2019 С.А. Апрятин¹, Н.В. Трусков¹, А.Ю. Горбачев¹, В.А. Наумов²,
А.С. Балакина¹, К.В. Мжельская¹, И.В. Гмошинский^{1*}

¹ Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи,
109240 Москва, Россия; электронная почта: gmosh@ion.ru

² Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии
и перинатологии им. В.И. Кулакова Минздрава России, 117198 Москва, Россия

Поступила в редакцию 20.02.2019

После доработки 27.05.2019

Принята к публикации 28.05.2019

В печени самок крыс линии Wistar, получавших изокалорийные рационы с избытком жира, фруктозы, холестерина или сочетаний фруктозы с жиром и холестерином в течение 62 сут, изучали дифференциальную экспрессию 30 003 генов методом полнотранскриптомного профилирования на микрочипе, а также определяли относительные уровни экспрессии мРНК генов *Asah2*, *Crot*, *Crtc2*, *Fmo3*, *GSTA2*, *LOC1009122026*, *LOC102551184*, *NpY*, *NqO1*, *Prom1*, *Retsat*, *RGD1305464*, *Tmem104* и *Whsc1* методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Выявлен различный характер влияния экспериментальных рационов на ряд ключевых метаболических путей (KEGGs). При всех экспериментальных рационах (кроме сочетания избытка жира с фруктозой) высокосignификантными были изменения в экспрессии генов метаболического пути обмена стероидов в печени. Как высокожировой, так и высокофруктозный рационы вызывали достоверное снижение уровней экспрессии гена *FDFT1*, который кодирует сквален-синтазу, отвечающую за начальный этап синтеза холестерина. Напротив, при избытке (0,5%) холестерина экспрессия *FDFT1* не отличалась от контрольной группы, но были выявлены изменения экспрессии генов обмена глюкозы и гликогена, способные приводить к подавлению синтеза гликогена и глюконеогенеза. При этом в указанной группе наблюдалась иная, в сравнении с избытком жира и фруктозы, морфологическая картина ткани печени в виде меньшего размера липидных вакуолей в гепатоцитах. Для групп животных, получавших фруктозу и ее сочетание с жиром, были характерны влияния на метаболические пути, связанные с внутриклеточным катаболизмом белка (эндоцитоз, фагосомы, протеасомы, процессинг белка в эндоплазматическом ретикулуме), плотными и межклеточными контактами, молекулами адгезии и внутриклеточным транспортом РНК. У крыс, получавших избыток жира с фруктозой или холестерин, методом ОТ-ПЦР в реальном времени выявлены согласованные изменения в относительных уровнях экспрессии генов *Crot*, *Prom1* и *RGD1305464*, отражающие интегрированные сдвиги в регуляции липидного и углеводного обмена.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: транскриптом, печень, крысы, ОТ-ПЦР, дислипидемия, *in vivo* модели.

DOI: 10.1134/S0320972519090124

Принятые сокращения: AIN93M (93M diet of American Institute of Nutriron) – модифицированный рацион 93 Американского института питания; *Ugt2b37* (uridine diphosphate glycosyltransferase 2 family, member b17) – ген b37 2-го семейства UDP-глюкуронозилтрансферазы; *Inhbb* (Inhibin beta b) – ген β-субъединицы активина; *FDFT1* (farnesyl diphosphate farnesyltransferase 1 (squalenesynthase)) – ген сквален-синтазы; *Crot* (carnitine octanoyltransferase) – ген карнитин-октаноил-трансферазы; *Asah2* (N-acylsphingosine amidohydrolase 2) – ген 2-й N-ацилсфингозин-амидогидролазы (церамидазы); *Crtc2* (CREB regulated transcription coactivator 2) – коактиватор 2 транскрипции, регулируемый CREB; *Fmo3* (flavin-containing monooxygenase 3) – ген 3-й флавинодерживающей монооксигеназы; *GSTA2* (glutathione-S-transferase alpha 2) – ген глутатион-S-трансферазы класса альфа 2; *LOC1009122026* – ген 1009122026; *LOC102551184* – ген 102551184; *NpY* (neuropeptide Y) – ген нейропептида игрек; *NqO1* (NAD(P)H-dehydrogenase, quinone 1) – ген НАДФ-зависимой дегидрогеназы, хинон 1; *Prom1* (prominin 1) – ген проминина 1; *Retsat* (retinol saturase) – ген ретинол-сатуразы; *RGD1305464* (*Sept14*) – ген 14-го септина или GTP-связывающего цитоскелетного белка *1305464*; *Tmem104* (transmembrane protein 104) – ген трансмембранного белка 104; *Whsc1* (Wolf-Hirschhorn syndrome candidate 1) – ген-кандидат 1 синдрома Вольфа-Хиршхорна; TGF-β (tumor growth factor beta) – фактор роста опухолей бета; FAM – карбоксифлуоресцеин; MC – метаболический синдром; ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией; ПСР – полусинтетический рацион; ВЖР – высокожировой рацион; ВФР – высокофруктозный рацион; ВЖФР – рацион с избытком жира и фруктозы; ВХР – высокохолестериновый рацион; ВХФР – рацион с избытком холестерина и фруктозы.

* Адресат для корреспонденции.

Во всем мире одной из ведущих причин роста заболеваемости ожирением, метаболическим синдромом (МС), сахарным диабетом 2-го типа и неалкогольной жировой болезнью печени является дисбаланс пищевого рациона, состоящий в избыточном потреблении легкоусвояемых углеводов, животных жиров, а также холестерина в условиях малоподвижного образа жизни и высокой стрессовой нагрузки [1]. По современным представлениям, определяющую роль в развитии указанных патологий играет хроническое воспаление в жировой ткани и в печени, приводящее к нарушению экспрессии ядерных транскрипционных факторов, регулирующих метаболические пути углеводного и липидного обмена, биосинтеза стероидов, цитокинов и хемокинов, ферментов системы детоксикации ксенобиотиков и др. [2–4]. Направленность и характер этих изменений в значительной степени зависят от генотипа больного, характера пищевого дисбаланса и поэтому требуют адекватных методов дифференциальной диагностики и персонализированной диетотерапии, для выбора которых необходимо использование высокоизбирательных биомолекулярных маркеров патологического процесса. Выявление таких маркеров возможно в модельных экспериментах на различных видах и линиях лабораторных животных [5]. Значительный прогресс в этих исследованиях был достигнут благодаря внедрению высокопроизводительных транскриптомных технологий, позволяющих одновременно отслеживать согласованные изменения в дифференциальной экспрессии многих тысяч генов и интерпретировать получаемые результаты с применением методов биоинформатики [6]. Подобные исследования позволили выявить на моделях МС изменения в экспрессии генов, входящих в такие ключевые метаболические пути, как системы транскрипционных факторов PPAR α и PPAR γ [7], ChREBP и SREBP [8], липогенез и катаболизм жирных кислот [9], синтез стероидов [10], обмен железа [11], детоксикация ксенобиотиков [12], иммунные реакции [13]. Однако большинство указанных данных было получено фактически на единственной модели мышей (главным образом, линии C57Bl/6J), получавших рацион с избытком жира, а меньшинство – также на мышах с дефектом единственного гена (лептин или его рецептор, PPAR α , NFR2, SREBP и др. [14–17]). Практически отсутствуют работы, в которых была бы сопоставлена дифференциальная экспрессия генов при различных пищевых режимах, приводящих к МС, гиперлипидемии, ожирению и жировому гепатозу. В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение в сравнительном аспекте диф-

ференциальной экспрессии генов печени самок крыс аутбредной линии Wistar в условиях потребления трех типов рационов, способных привести к развитию дислипидемических состояний (с повышенным содержанием жира, фруктозы и холестерина), методом полнотранскриптомного профилирования выделенной из ткани органа общей РНК на мультивалентных ДНК-микрочипах, а также методом ОТ-ПЦР в реальном времени.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные. В работе использованы 48 самок крыс аутбредной линии Wistar со средней начальной массой тела (123 ± 4) г, полученных из питомника «Столбовая» (Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России). Животных содержали по две особи в прозрачных пластмассовых клетках из поликарбоната на подстилке из опилок при температуре (21 ± 1) °C в режиме искусственного освещения 12/12 ч. Работу с животными выполняли в соответствии с руководством [18] и приказом Минздрава России № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Крысы были разделены на шесть групп равной численности по восемь животных.

Рационы. В течение 63 дней животные 1-й группы (контроль) получали сбалансированный полусинтетический рацион (ПСР) по AIN93M с некоторыми модификациями [19], 2-й группы – модифицированный ПСР с повышенным содержанием общих жиров (30% от массы сухого корма) за счет снижения содержания крахмала (высокожировой рацион, ВЖР); 3-й группы – ПСР и 20%-ный раствор фруктозы вместо воды (высокофруктозный рацион, ВФР); 4-й группы – модифицированный ПСР с повышенным содержанием жира и раствор фруктозы вместо воды (высокожировой высокофруктозный рацион, ВЖФР); 5-й группы – модифицированный ПСР с повышенным содержанием холестерина (0,5% от массы сухого корма) за счет снижения количества жира (высокохолестериновый рацион, ВХР); 6-й группы – модифицированный ПСР с повышенным содержанием холестерина (0,5%) и 20%-ный раствор фруктозы вместо воды (высокохолестериновый высокофруктозный рацион, ВХФР). Животным предоставляли воду (группы 1, 2 и 5) или раствор фруктозы (группы 3, 4 и 6) в режиме свободного доступа и рацион – изначально из расчета 15 г сухого корма на крысу в сутки. Для достижения изокалорийности рационов, а также удовлетворения изменяющейся с возрастом физиологической потреб-

ности животных в экзонутриентах и энергии в ходе эксперимента производили коррекцию количественного состава рационов с частотой 1 раз в неделю.

Процедура выведения животных из эксперимента и пробоподготовка образцов печени. Выведение животных из эксперимента осуществляли на 63-й день путем декапитации под эфирной анестезией. Печень препарировали стерильными хирургическими инструментами из нержавеющей стали, немедленно охлаждали на льду до температуры 0–2 °С, взвешивали с точностью ± 0,01 г и хранили до исследования при температуре –80 °С.

Выделение мРНК из ткани печени проводили с помощью набора Agilent Total RNA Isolation Mini Kit («Agilent Technologies», США). 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 °С. Дальнейшие процедуры проводили в соответствии со стандартным протоколом [20]. Полученную общую 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 °С.

Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием набора Agilent Affinity Script QPCR cDNA Synthesis Kit («Agilent Technologies», США) согласно протоколу производителя.

Полнотранскриптомное профилирование ткани печени на микрочипах проводили по протоколу Agilent One-Color Microarray Based Gene Expression Analysis Low Input Quick Amp Labeling, version 6.8 [21]. В работе использовали материалы и реактивы из набора SurePrint G3 Rat GE 8 × 60k Microarray Kit («Agilent Technologies», США), содержавшего 30 003 последовательности, включая сплайсинговые варианты для ряда генов в соответствии с информацией о геноме крысы в базе данных RefSeq Build 36.2, Ensemble Release #55, Unigene Build 177, GenBank (обновление от января 2009 г.). Сканирование микрочипов выполняли на приборе Sure Scan Microarray Scanner («Agilent Technologies», США). Величину экспрессии выражали в виде логарифма по основанию 2

(logFC) возрастания или убывания флуоресценции по сравнению с контрольной группой.

Для шести крыс из каждой группы были определены относительные (против конститутивного гена *GAPDH*) уровни экспрессии генов *Asah2*, *Crot*, *Crtc2*, *Fmo3*, *GSTA2*, *LOC1009122026*, *LOC102551184*, *NpY*, *NqO1*, *Prom1*, *Retsat*, *RGD1305464*, *Tmem104* и *Whsc1* методом ПЦР в реальном времени, совмещенной с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), с использованием специфических олигонуклеотидных праймеров (R + F) и 5'-зонда (флуоресцентный краситель FAM) фирмы ООО «ДНК-Синтез» (Россия) согласно инструкции производителя. Измерения проводили на приборе CFX96 («Bio-Rad», США) в объеме 25 мкл реакционной смеси, включавшей следующие компоненты: 10× буфер для TaqPol (содержит 2 mM MgCl₂; «Евроген», Россия) – 2,5 мкл; (R + F) праймеры (10 мкМ; «ДНК-Синтез», Россия) – 1 мкл; зонд (10 мкМ; «ДНК-Синтез», Россия) – 0,5 мкл; смесь dNTP (5 mM; «СибЭнзим», Россия) – 0,5 мкл; вода без ДНКаз и РНКаз («Thermo Scientific», США) – 18,5 мкл; Taq-полимераза (5 ед/мкл; «Евроген», Россия) – 0,5 мкл; кДНК (20 нг/мкл) – 1 мкл. На первом этапе Taq-полимеразу активировали в течение 3 мин при 95 °С, затем проводили 45 циклов амплификации (95 °С – 15 с, 60 °С – 1 мин).

Окрашивание микропрепаратов печени. Микропрепараты печени окрашивали гематоксилин-эозином по стандартной методике [22]. Светооптическое микроскопическое исследование проводили с использованием микроскопа «AxioImager.Z1» («Zeiss», Германия), оснащенного цифровой фотокамерой, при увеличении ×200.

Биоинформатический анализ. Биоинформатический анализ дифференциальной экспрессии проводили в среде «R» путем квантильной нормализации и дальнейшей обработки в дополнительном пакете *limma*. Для выявления метаболических путей (KEGGs) и их визуализации применяли пакеты *AnnotationDbi*, *org.Rn.eg.db*, *pathview*, *gage* и *gageData*. Для визуализации результатов использовали стандартную графику «R» и дополнительные пакеты *ggplot2*, *ggrepel* и *gplots*. «Тепловую» карту получали с использованием пакета *heatmap2*. Достоверность изменения экспрессии оценивали путем анализа логарифмов интенсивности флуоресценции, нормализованных по внутренним контролям (Spike-In), с использованием Т-теста с множественной коррекцией *Benjamini-Hochberg* [23]. Достоверность различия в группах величин экспрессии в тесте ОТ-ПЦР устанавливали с использованием однофакторного

дисперсионного анализа (ANOVA) и U-критерия Манна–Уитни в качестве *post hoc*-теста в программе SPSS 20.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологическое исследование печени. На рис. 1 показаны образцы макро- и микропрепаратов печени крыс, получавших ПСР, ВЖР, ВФР и ВХР. Ткань печени в группе ПСР не имела выраженного отклонения от нормы. При этом при потреблении ВЖР и ВФР наблюдались большие скопления крупных липидных вакуолей (представляющих собой, по-видимому, патологически измененные гепатоциты), что может говорить о начальной стадии развития стеатоза печени. В группе ВХР было также выявлено значительное возрастание численности липидных включений, однако, в отличие от двух других опытных групп, они были распределены равномерно по всей видимой площади микропрепарата, и их размер был меньше, чем при потреблении ВЖР и ВФР, что свидетельствует о качественных различиях процесса жировой дегенерации ткани печени под действием пищевого жира и фруктозы, с одной стороны, и избытка холестерина – с другой.

Полнотранскриптомное профилирование ткани печени. Из числа проанализированных генов дифференциальная экспрессия на уровне $|\log_2 FC| \geq 0,5$ (в сторону как усиления, так и ослабления, по сравнению с показателями для группы ПСР), вызванная потреблением экспериментальных рационов, в группах ВЖР, ВФР и ВХР установлена в общей сложности для 255 генов (0,85% от общего количества). В табл. 1 приведен перечень кратких международных символов генов, для которых выявлена положительная (а) и отрицательная (б) дифференциальная экспрессия.

Распределение числа генов с выявленной дифференциальной экспрессией по группам животных представлено в виде диаграммы Венна (рис. 2). Как показывает диаграмма, в группе ВЖР выявлено 126 (49,4%) уникальных (свойственных только этой группе) генов из общего числа 255 дифференциально экспрессированных генов, в группе ВФР – 46 генов (18%), в группе ВХР – 57 генов (22,4%). При этом общими для ВЖР и ВФР являются 11 генов из 255 (4,3%), для ВФР и ВХР – 5 генов (2%), для ВЖР и ВХР – 8 генов (3,1%).

Одновременная дифференциальная экспрессия во всех трех указанных экспериментальных группах наблюдалась для двух генов (0,8%) – *Inhbb* и *Ugt2b37*. Ген *Inhbb* кодирует

β -субъединицу активина, который является членом суперсемейства факторов роста опухолей (TGF- β). Активиновые лиганды действуют как факторы роста и дифференцировки во многих клетках и тканях [24]. Ген *Ugt2b37* кодирует UDP-глюкуронозилтрансферазу. Дифференциальная экспрессия этого гена может свидетельствовать об усилении процессов клиренса эндогенных гидрофобных метаболитов, включая стероиды и измененные липиды [25], избыточная продукция которых может происходить в ходе жировой дегенерации ткани печени.

На рис. 3 показана «тепловая» карта экспрессии генов во всех шести группах животных (включая контрольную) по отношению к внутренним контролям (Spike-In). Как следует из представленных данных, наибольшее сходство в профиле дифференциальной экспрессии наблюдается в группах ВЖР и ВХР, а также ВЖФР и ВХР; группы ВФР, ВЖФР и ВХР образуют выраженный кластер, а профиль экспрессии генов в контрольной группе ПСР не проявляет сходства ни с одной из опытных групп.

В табл. 2 приведен список метаболических путей (KEGGs), являющихся мишенями воздействия применяемых экспериментальных рационов. Некоторые из этих метаболических путей были характерны для всех групп животных независимо от типа применяемого рациона. Так, в четырех опытных группах из пяти (кроме ВЖФР) высокозначимыми были изменения в экспрессии генов обмена стероидов в печени (рис. 4), что указывает на универсальность дан-

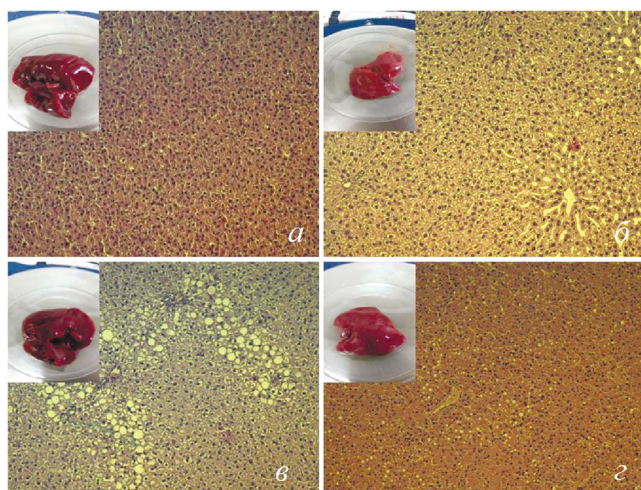


Рис. 1. Макропрепараты печени и результаты ее морфологического исследования (окрашивание гематоксилин-эозином, увеличение $\times 200$) у самок крыс линии Wistar, получавших ПСР (а), ВЖР (б), ВФР (в) и ВХР (г).

С цветным вариантом рис. 1 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/>

Таблица 1. Список генов с положительной (а) и отрицательной (б) дифференциальной экспрессией, вызванной потреблением опытных рационов, при уровне значимости $p \leq 0,05$ для крыс групп ВЖР, ВФР и ВХР (в сравнении с группой 1, получавшей сбалансированный полусинтетический рацион)

<i>a</i>		
Группа	Экспрессия, \log_2FC	
	>1	0,7–1
ВЖР	<i>Selenoh, Pnpla5, Calu, Gas6, Tmem268, Ugp2, Cpa1, Uqcrfs1, Npm1, Tufm</i>	<i>Rab28, Rsl1d1, March2, C8g, Tst, Eif3f, RGD1309350, Rps2</i>
ВФР	<i>Ubd, Inhbb, Crot, Otx1, Tbc1d2, Etnk2, Ncl, Ugt2b37, Nrip1, Trem12</i>	<i>Brd4, Btd, Erlin1, Nit2, Ybx1</i>
ВХР	<i>Cpa1, Msmo1, Sqle, RGD1564515, Sult2a2, Cyp3a9, Nptx2, Lss, Insig1, Hist1h1c</i>	<i>Itpa, Cpsf4, Ybx1, Tbcc</i>
Гены с положительной экспрессией, общие для групп	ВЖР и ВФР	<i>Trem12, Marc1, Ncl, H2afy, RGD1309730, Mark3</i>
	ВЖР и ВХР	<i>Cpa1, Hist1h1c, Prlr, Ghr, Pebp1, Bmp1, Tmem64, Chpt1</i>
	ВФР и ВХР	<i>Crot, Nfx1, Ybx1</i>
	ВЖР, ВФР и ВХР	<i>Inhbb, Ugt2b37</i>
<i>б</i>		
Группа	Экспрессия, \log_2FC	
	<(-1)	(-1) ... (-0,7)
ВЖР	<i>Npas2, Dnm2, Tgfa, LOC680491, Ran, Psmab, Cops9, Gal3st4, Hsp90ab1, LOC501934</i>	<i>Tmub2, Sgsm3, Pcbd2</i>
ВФР	<i>Anxa2, Ubl3, Akr1c13, Timp2, Tkfc, Tmem176b, LOC100912026, RT1-A2, RT1-A, Lgals3</i>	<i>Eif5a, LOC100910973, Oas1b</i>
ВХР	<i>Pdlim1, Bcl3, Saa4, Gpi, Asmtl, Zfp629, Eif4g2, Creg1, LOC100912026</i>	<i>Mrpl18</i>
Гены с отрицательной экспрессией, общие для групп	ВЖР и ВФР	<i>Oas1b, Abi3, Plekhj1, LOC103693487, Psmab</i>
	ВЖР и ВХР	–
	ВФР и ВХР	<i>Saa4, LOC100912026</i>
	ВЖР, ВФР и ВХР	–

Примечание. Гены в группах представлены выборочно (до 10 генов с наибольшей (а) или наименьшей (б) дифференциальной экспрессией).

ного механизма в развитии нарушений обмена при гиперлипидемии. Применительно к ВЖР этот результат согласуется с данными, полученными ранее на эквивалентной *in vivo* модели на мышах [26, 27]. В случае ВЖР и ВЖФР статистически достоверное снижение уровней экспрессии было выявлено для гена *FDFT1*, кодирующего сквален-синтазу (КФ 2.5.1.21), осуществляющую начальный этап данного метаболического

пути и отвечающую за регуляцию уровня холестерина в клетках и плазме крови [28]. Напротив, в группе ВХР экспрессия гена *FDFT1* не отличалась от таковой в контрольной группе. В этой связи характерно, что в группе ВХР наблюдалась иная, в сравнении с группами ВЖР и ВФР, морфологическая картина ткани печени в виде меньшего размера липидных вакуолей в гепатоцитах (рис. 1). Повышенная дифференциальная

экспрессия ряда других генов, кодирующих ферменты биосинтеза стероидов, наблюдалась в группах ВЖР и ВФР, а в группе ВХР относительные уровни экспрессии этих генов снижались, что могло приводить к метаболической блокаде на стадии утилизации латостерола, авенастерола и эпистерола (рис. 4, б).

Потребление крысами ВХР (рис. 5, см. стр. 1354) вызывало изменение уровней экспрессии генов метаболических путей обмена глюкозы и гликогена – снижение для гликогенсинтазы (КФ 2.4.1.11), глюкозо-6-фосфатазы (КФ 3.1.3.9) и глюкозо-6-фосфатизомеразы (КФ 5.3.1.9) и повышение для нуклеотиддифосфатазы (КФ 3.6.1.9). Роль нуклеотиддифосфатазы в метаболическом пути синтеза гликогена состоит в расщеплении УДФ-глюкозы с образованием глюкозо-1-фосфата, что является дополнительным фактором, тормозящим синтез и запасание гликогена. Полученный результат указывает на способность поступающего с рационом избытка холестерина подавлять синтез гликогена в печени.

Особенностью профиля дифференциальной экспрессии в группах, получавших фруктозу (ВФР и ВЖФР), не наблюдаемой в других группах, была вовлеченность метаболических путей,

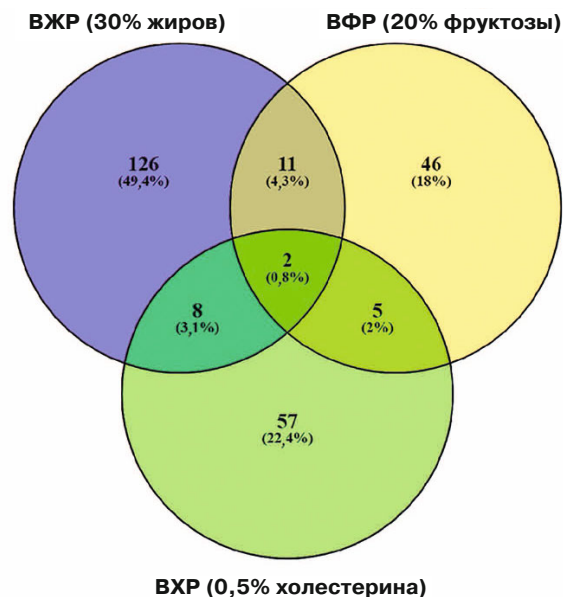


Рис. 2. Диаграмма Венна, демонстрирующая распределение числа генов с дифференциальной экспрессией по опытным группам ВЖР, ВФР и ВХР: $|\log_2FC| \geq 0,5$; сравнение с контрольной группой.

С цветным вариантом рис. 2 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/>

Таблица 2. Метаболические пути, являющиеся мишенями воздействия экспериментальных рационов

Группа	Метаболические пути (KEGGs): идентификатор по базе данных и известная функция	Достоверность изменения, <i>p</i>
ВЖР	gno03010 рибосомы	0,036
	gno00100 биосинтез стероидов	0,049
ВФР	gno04612 процессинг и презентация антигенов	0,001
	gno04144 эндоцитоз	0,009
	gno00100 биосинтез стероидов	0,012
	gno04514 молекулы клеточной адгезии (CAMs)	0,016
	gno04145 фагосомы	0,021
	gno04530 плотные контакты	0,036
	gno03010 рибосомы	0,045
ВЖФР	gno03050 протеасомы	0,004
	gno04141 процессинг белка в эндоплазматическом ретикулуме	0,010
	gno04540 щелевые контакты	0,024
	gno03013 транспорт РНК	0,031
ВХР	gno00100 биосинтез стероидов	0,005
	gno00500 метаболизм глюкозы и гликогена	0,045
	gno04146 пероксисомы	0,050
ВХФР	gno00100 биосинтез стероидов	0,013
	gno03010 рибосомы	0,020

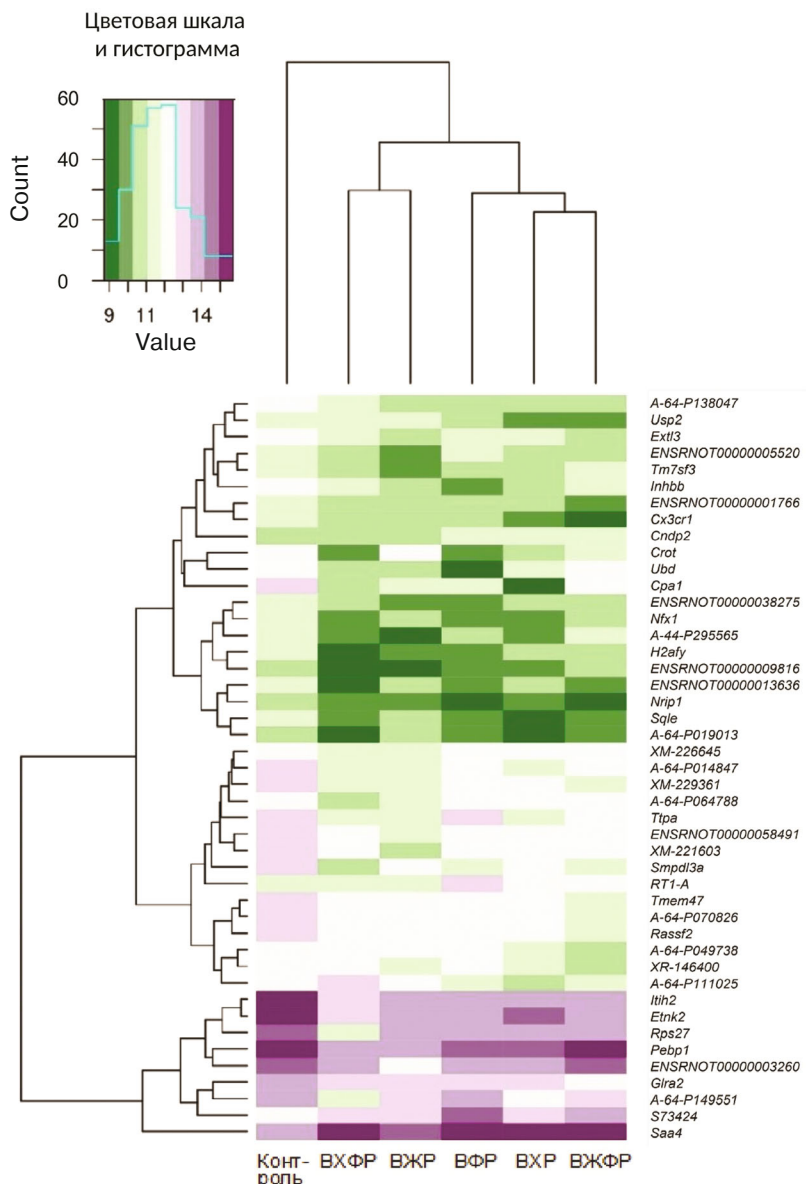


Рис. 3. «Тепловая» карта дифференциальной экспрессии генов (по отношению к внутреннему контролю) для всех исследуемых групп крыс.

С цветным вариантом рис. 3 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/>

связанных с внутриклеточным катаболизмом белка (эндоцитоз, фагосомы, протеасомы, процессинг белка в эндоплазматическом ретикулуме), плотными и межклеточными контактами, молекулами адгезии, внутриклеточным транспортом РНК. Это может быть отражением наблюдаемых при морфологическом исследовании признаков жировой дистрофии печени, сопровождаемых перестройкой субклеточных структур, протеолизом и нарушением межклеточных взаимодействий. Наблюдаемые при избытке фруктозы изменения в метаболическом пути процессинга и презентации антигенов (*rno04612*)

могут свидетельствовать в пользу вклада иммунной реакции в указанные патологические изменения, что проявляет определенное сходство с эффектами, наблюдаемыми у мышей на высокожировом рационе [13].

Характерно, что дифференциальная экспрессия генов, кодирующих рибосомальные белки (рис. 6, см. стр. 1355), в группе ВФР была повышена, тогда как в группе ВЖР экспрессия большинства из этих генов снижалась. При этом у животных, получавших ВХР, вышеуказанные изменения дифференциальной экспрессии генов не были выявлены.

Определение дифференциальной экспрессии генов методом ОТ-ПЦР. В табл. 3 (см. стр. 1356) представлены данные количественной оценки экспрессии 14 генов печени крыс методом ОТ-ПЦР. Наблюдалась отрицательная дифференциальная экспрессия (в сравнении с контрольной группой) для генов *Prom1* (группы ВФР и ВХР), *Crot* (группы ВХР и ВХФР) и *RGD1305464* (ВХФР). Помимо этого однофакторный дисперсионный анализ выявил влияние входящих в рацион жира (группы ВЖР и ВЖФР) на экспрессию гена *LOC102551184* и холестерина (группы ВХР и ВХФР) на экспрессию генов *Crtc2* и *LOC102551184*, однако однозначно установить направленность этих изменений не представляется возможным. Для гена *Asah2*, кодирующего церамидазу, в группе ВХР прослеживалась тенденция к снижению экспрессии ($p = 0,055$; ANOVA).

Ген *Prom1* кодирует рецептор CD133, являющийся маркером гематопоэтических клеток [29]. Кроме того, показана роль *Prom1* в развитии злокачественных новообразований [30]. Фермент карнитин-октаноилтрансфераза, кодируемый геном *Crot*, катализирует реакцию обратимого переноса ацильных групп жирных кислот между коэнзимом А и карнитином, что обеспечивает транспортировку средне- и длинноцепочечных молекул ацил-СоА из пероксисом в цитозоль и митохондрии [31]. Снижение уровня экспрессии этого гена позволяет предположить подавление процессов β -окисления жирных кислот в митохондриях под действием избыточных количеств экзогенного холестерина, что согласуется с наблюдаемым избыточным накоплением липидов в печени животных, получавших относительно небольшую (в сравнении с общим содержанием жиров в рационе) добавку холестерина, что было показано для этой группы животных в нашем предыдущем исследовании [32].

Ген *RGD1305464* кодирует белок SEPT14, принадлежащий к семейству септинов – GTP-связывающих цитоскелетных белков, участвующих в трансмембранном транспорте, регуляции клеточного цикла, апоптозе и других клеточных функциях [33]. Показана роль *Sept14* в миграции нейронов через взаимодействие с *Sept4* [34]. Поскольку в настоящей работе экспрессия данного гена в коре головного мозга не изучалась, говорить о маркерной роли *RGD1305464* при МС можно только предположительно. Характерно, однако, что при изучении поведенческих реакций в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» в группе крыс, получавших ВЖФР, нами ранее было выявлено возрастание тревожности [35].

Ген *Crtc2* (CREB regulated transcription coactivator 2) регулирует ряд важных функций липогенеза на уровне транскрипции. Белок *Crtc2*

функционирует как посредник mTOR7-сигнального пути, в который вовлечен белок SREBP1. В ответ на передачу сигналов инсулина SREBP1 транспортируется из эндоплазматического ретикулума в комплекс Гольджи, а затем и в ядро, чем индуцирует транскрипцию генов липогенеза [36]. *Crtc2* также конкурирует с белком Sec23A, являющимся частью комплекса COPII complex 8, тем самым нарушая через взаимодействие с Sec31A транспортировку белка SREBP1. Во время приема пищи mTOR фосфорилирует белок *Crtc2*, в результате чего ослабляется его угнетающее действие на COPII-зависимую SREBP1-активацию.

Полнотранскриптомный анализ ткани печени самок крыс аутбредной линии Wistar выявил как сходство, так и различия в профилях дифференциальной экспрессии генов с наиболее широко изученной моделью на мышах, получавших высокожировые рационы. Общим с данными работ [10, 26, 27] было выявленное в группах ВЖР, ВФР и ВЖФР влияние на биосинтез стероидов, при том что в группе ВХР, характеризующейся избыточным поступлением холестерина, эти эффекты были противоположными. Однако в отличие от мышей, потреблявших избыток жира [9, 10, 26], в группах крыс самок Wistar, получавших ВЖР, ВФР и ВЖФР, не было выявлено существенного влияния на экспрессию генов липогенеза, β -окисления жирных кислот и сигнального пути PPAR- α . Подавление экспрессии гена *Crot*, характерное для мышей, потреблявших избыток жира [10], у крыс проявилось на высокохолестериновом рационе. Это позволяет предположить, что картина жировой дистрофии печени у крыс на высокожировом и высокофруктозном рационах, по-видимому, не связана непосредственно с усилением липогенеза в данном органе, а имеет в своей основе альтернативный механизм (например, повышение содержания липопротеинов высокой плотности в плазме крови, осуществляющих транспорт липидов из периферических тканей в печень в случае высокофруктозной модели [32]).

Различие в профилях экспрессии генов печени крыс на высокожировом и высокофруктозном рационах наиболее ярко проявилось в отношении группы генов, кодирующих комплекс рибосомальных белков. С учетом высокой энергетической емкости процесса рибосомального синтеза данный результат может свидетельствовать о переключении энергозависимых метаболических путей при поступлении различных макронутриентов с пищей. Влияние ВЖР на экспрессию рибосомальных белков качественно согласуется с данными работы Neo et al. [37], выполненной на аналогичной *in vivo* модели на мышах.

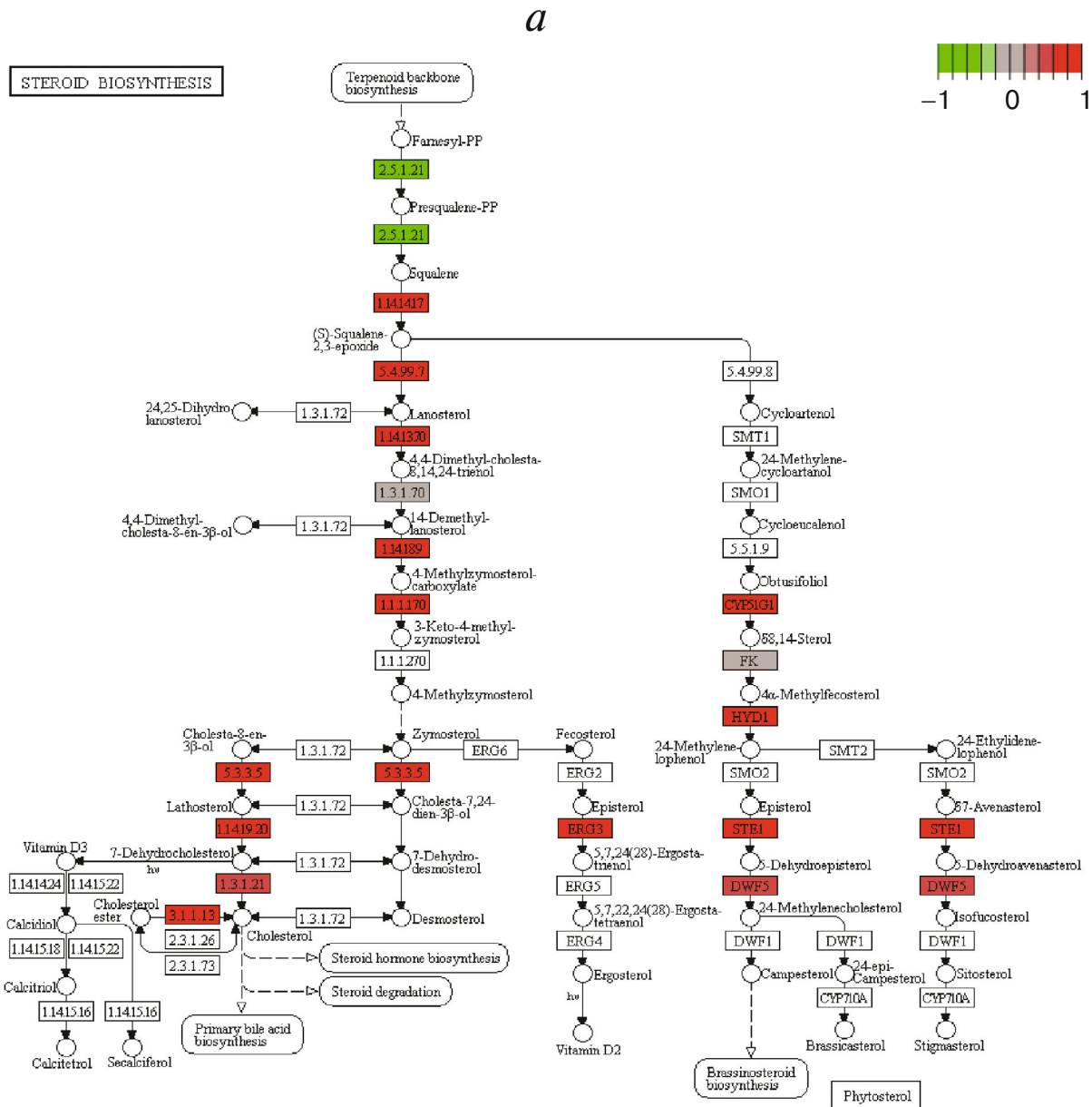


Рис. 4. *a* – Дифференциальная экспрессия генов, кодирующих ферменты биосинтеза стероидов (rno00100), в группе ВФР

Таким образом, различные диетические режимы (ВЖР, ВФР, ВХР и их комбинации), приводящие у самок крыс Wistar в той или иной степени к развитию признаков МС, ожирения и дислипидемии [32], принципиально по-разному влияют на профили дифференциальной экспрессии генов в печени. При этом наблюдается как сходство с мышами, получающими высокожировую рацион (эффекты в отношении метаболического пути синтеза стероидов), так и межвидовые различия (влияние на процессы синтеза и β -окисления жирных кислот, метаболизм аминокислот и белка). Новым, не описан-

ным ранее в литературе, является выявленный эффект относительно небольшого избытка холестерина, состоящий в подавлении метаболического пути запасания гликогена в печени. Это же относится к вовлеченности ряда метаболических путей, связанных с биосинтезом и катаболизмом белка, межклеточными взаимодействиями, презентацией антигенов при потреблении рациона с избытком фруктозы. Полученные результаты указывают на важность адекватного выбора биологической модели (вид, пол животного, пищевой режим) при воспроизведении МС, ожирения и дислипидемий в доклини-

б

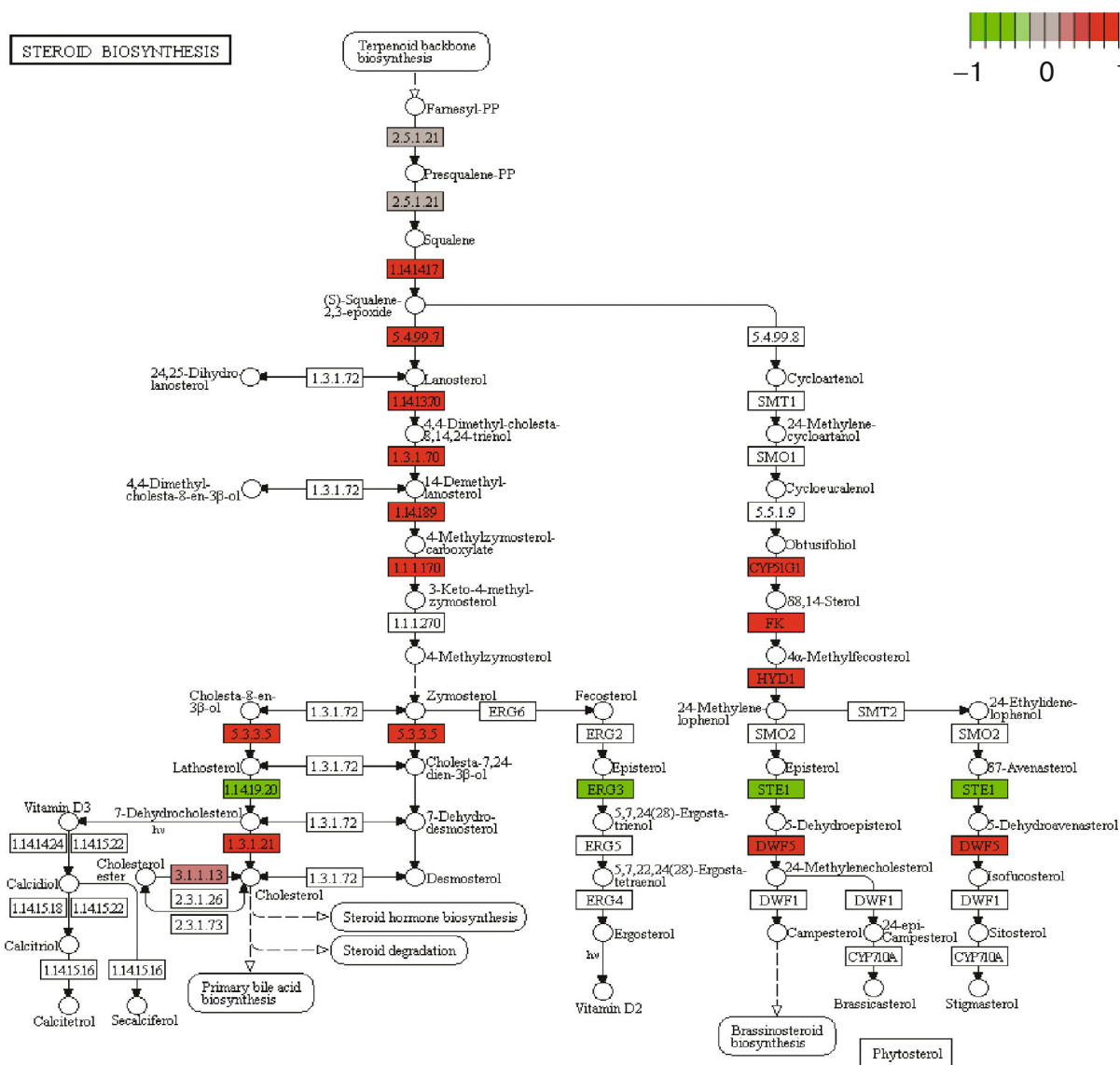


Рис. 4. б – Дифференциальная экспрессия генов, кодирующих ферменты биосинтеза стероидов (pno00100), в группе ВХР

ческих исследованиях. Применительно к клинике выявленные новые маркеры метаболических путей, продемонстрировавшие выраженный специфический ответ при качественно различающихся алиментарных дисбалансах, могут иметь потенциальную значимость в случае наличия доступного биосубстрата для их исследования (в роли которого могут выступать, например, лейкоциты периферической крови [38]).

Финансирование. Работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственно-

го задания в рамках Программы фундаментальных научных исследований (тема Минобрнауки России № 0529-2015-0006 «Поиск новых молекулярных маркеров алиментарно-зависимых заболеваний: геномный и постгеномный анализ»).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований.

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

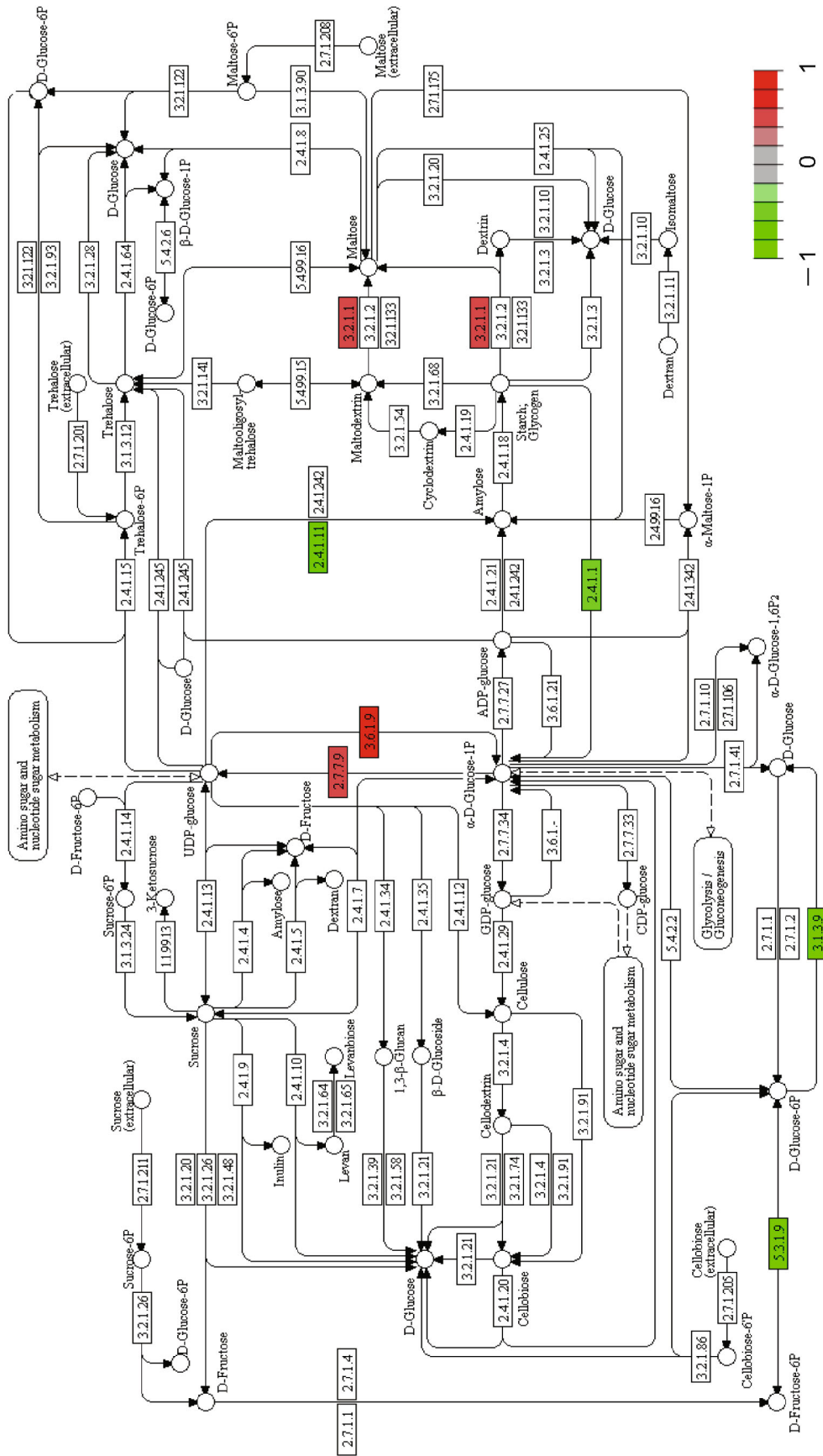


Рис. 5. Дифференциальная экспрессия генов, кодирующих ферменты метаболизма глюкозы и гликогена (по00500), в группе ВХР

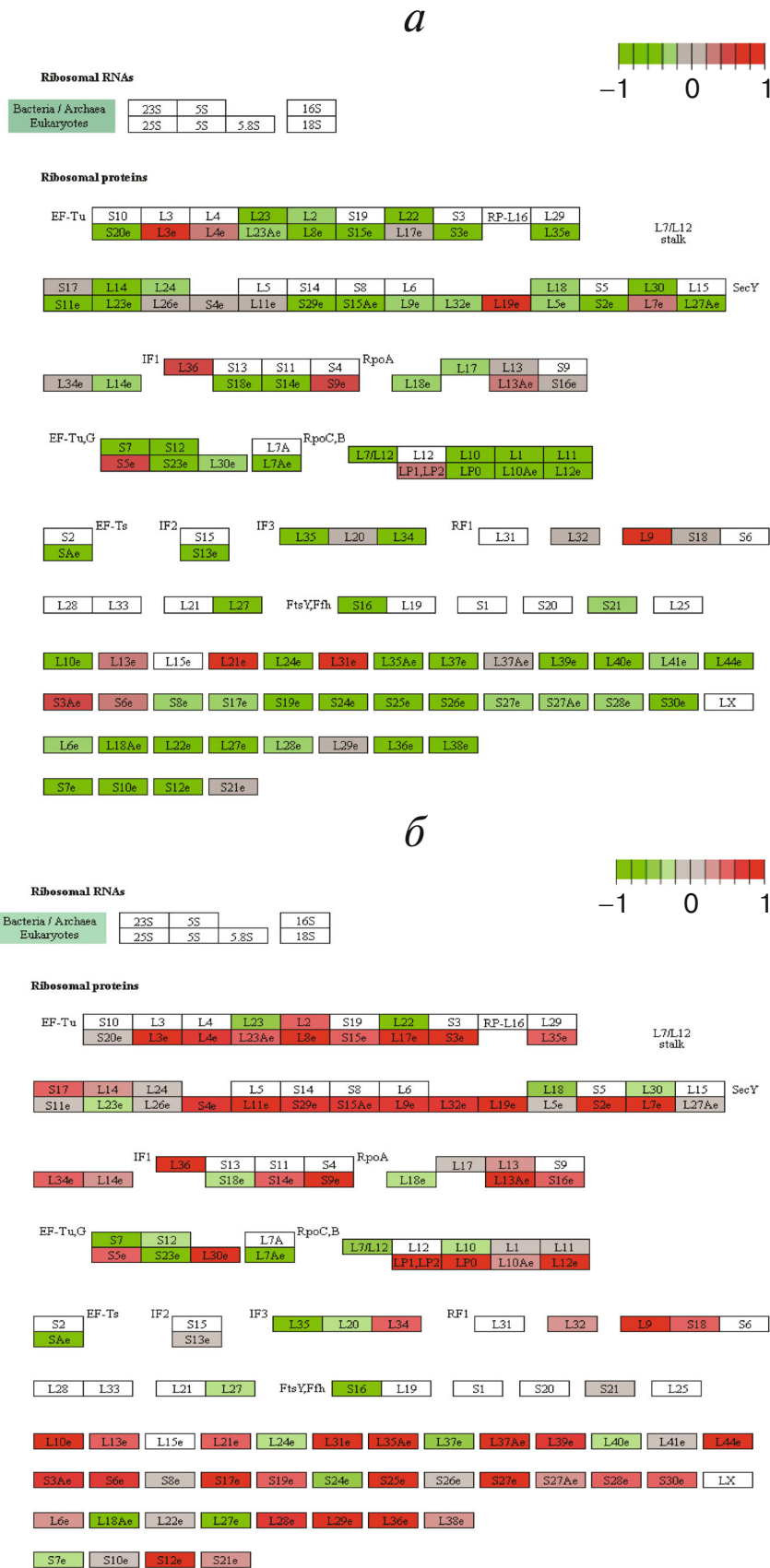


Рис. 6. Дифференциальная экспрессия генов, кодирующих рибосомальные белки (rpo03010), в группах ВЖР (а) и ВФР (б)

Таблица 3. Относительные уровни экспрессии генов в печени крыс экспериментальных групп

Рационы		log ₂ FC по отношению к GAPDH, медиана (в скобках – интервал изменения) для указанных генов						
		<i>GSTA</i>	<i>NpY</i>	<i>NqO1</i>	<i>RGD1305464</i>	<i>LOC1009122026</i>	<i>LOC102551184</i>	<i>Prom1</i>
ПСР (контроль)		–3,0 (–3,7... –1,5)	–8,05 (–8,5... –6,7)	–6,15 (–7,0... –5,4)	–6,55 (–8,1... –5,6)	–10,35 (–11,5... –7,0)	–2,95 (–4,7... –1,8)	–6,15 (–8,9... –5,6)
ВЖР		–2,1 (–4,0... –1,2)	–8,2 (–8,9... –6,3)	–5,75 (–7,8... –4,6)	–6,95 (–7,9... –4,8)	–9,15 (–11,0... –7,6)	–3,15 (–3,6... –2,8)	–7,2 (–7,7... –5,7)
ВФР		–1,75 (–3,4... –0,7)	–7,6 (–8,5... –6,1)	–5,85 (–7,3... –4,9)	–6,95 (–7,7... –6,2)	–8,9 (–19,5... –5,8)	–2,9 (–3,2... –2,6)	–8,95* (–10,1... –7,2)
ВЖФР		–2,5 (–4,2... –1,5)	–7,85 (–10,3... –6,7)	–6,4 (–7,0... –6,0)	–6,75 (–7,5... –5,7)	–8,6 (–12,3... –4,3)	–3,2 (–4,1... –2,6)	–7,4 (–9,6... –5,6)
ВХР		–2,45 (–3,9... –1,4)	–7,85 (–9,5... –5,1)	–6,05 (–6,6... –5,4)	–6,6 (–8,5... –5,9)	–8,45 (–12,2... –7,0)	–2,65 (–3,1... –1,8)	–8,3* (–3,7... –1,5)
ВХЖР		–1,85 (–4,2... –1,1)	–7,85 (–8,7... –6,8)	–6,25 (–6,8... –4,0)	–7,5* (–9,0... –7,0)	–8,65 (–10,8... –6,9)	–2,9 (–3,5... –1,8)	–7,45 (–9,9... –4,6)
Однофакторный дисперсионный анализ, ANOVA, <i>p</i>	жир	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	0,036	> 0,1
	фруктоза	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
	холестерин	> 0,1	> 0,1	> 0,1	0,033	> 0,1	0,019	> 0,1
Рационы		log ₂ FC по отношению к GAPDH, медиана (в скобках – интервал изменения) для указанных генов						
		<i>Retsat</i>	<i>Asah2</i>	<i>Fmo3</i>	<i>Crtc2</i>	<i>Whsc1</i>	<i>Crot</i>	<i>Tmem104</i>
ПСР (контроль)		–2,1 (–4,7... –0,5)	–8,8 (–9,4... –7,6)	–1,65 (–3,0... –0,1)	–3,15 (–4,3... –2,6)	–7,3 (–8,0... –6,2)	–4,6 (–5,1... –3,6)	–5,05 (–5,6... –4,7)
ВЖР		–1,2 (–3,5... –0,4)	–8,8 (–9,3... –7,6)	–2,1 (–3,2... –1,0)	–3,35 (–4,1... –2,7)	–7,4 (–7,7... –6,6)	–3,8 (–6,6... –2,5)	–4,9 (–5,3... –4,5)
ВФР		–1,8 (–2,7... 0,1)	–8,9 (–10,0... –8,2)	–1,65 (–2,7... –1,0)	–3,8 (–4,2... 2,9)	–7,55 (–8,0... –6,0)	–4,4 (–7,0... –3,8)	–5,15 (–6,2... –4,4)
ВЖФР		–2,2 (–4,0... –1,2)	–8,35 (–9,8... –7,2)	–1,8 (–2,6... –1,2)	–3,6 (–4,9... –1,5)	–7,3 (–8,1... –6,3)	–4,65 (–6,3... –3,0)	–5,05 (–5,9... –4,5)
ВХР		–1,6 (–2,6... –0,6)	–9,25 (–10,0... –7,7)	–1,8 (–2,3... –1,1)	–2,8 (–3,6... –1,6)	–7,35 (–8,2... –6,9)	–5,65* (–7,5... –3,6)	–5,1 (–5,6... –4,2)
ВХЖР		–2,95 (–4,3... –1,1)	–8,8 (–10,0... –8,6)	–1,9 (–3,1... –0,9)	–3,2 (–3,8... –2,5)	–7,25 (–7,5... –6,5)	–6,75* (–7,8... –5,5)	–5,2 (–5,8... –4,7)
Однофакторный дисперсионный анализ, ANOVA, <i>p</i>	жир	> 0,1	0,086	> 0,1	> 0,1	> 0,1	0,007	> 0,1
	фруктоза	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
	холестерин	> 0,1	0,055	> 0,1	0,040	> 0,1	0,000	> 0,1

Примечание. В каждой группе было по восемь животных, если не указано иное. Отрицательные величины означают снижение экспрессии соответствующей мРНК в сравнении с мРНК гена *GAPDH*. Жирным шрифтом показаны статистически достоверные отличия (однофакторный дисперсионный анализ, ANOVA).

* Различие с контрольной группой (ПСР) достоверно ($p < 0,05$; непараметрический критерий Манна–Уитни).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Woods, S.C., Seeley, R.J., Rushing, P.A., D'Alessio, D., and Tso, P. (2003) A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats, *J. Nutr.*, **133**, 1081–1087, doi: 10.1093/jn/133.4.1081.
2. Rask-Madsen, C., and Kahn, C. (2012) Tissue-specific insulin signaling, metabolic syndrome and cardiovascular disease, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **32**, 2052–2059, doi: 10.1161/ATVBAHA.111.241919.
3. Dietrich, P., and Hellerbrand, C. (2014) Non-alcoholic fatty liver disease, obesity and the metabolic syndrome, *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, **28**, 637–653, doi: 10.1016/j.bpg.2014.07.00.
4. Catrysse, L., and van Loo, G. (2017) Inflammation and the metabolic syndrome: the tissue-specific functions of NF- κ B trends, *Cell Biol.*, **27**, 417–429, doi: 10.1016/j.tcb.2017.01.006.
5. Wong, S.K., Chin, K.-Y., Suhaimi, F.H., Fairus, A., and Ima-Nirwana, S. (2016) Animal models of metabolic syndrome: a review, *Nutr. Metab. (Lond.)*, **13**, 65–77, doi: 10.1186/s12986-016-0123-9.
6. Kim, Y., and Park, T. (2010) DNA microarrays to define and search for genes associated with obesity, *Biotechnol. J.*, **5**, 99–112, doi: 10.1002/biot.200900228.
7. Soltis, A.R., Kennedy, N.J., Xin, X., Zhou, F., Ficarro, S.B., Yap, Y.S., Matthews, B.J., Lauffenburger, D.A., White, F.M., Marto, J.A., Davis, R.J., and Fraenkel, E. (2017) Hepatic dysfunction caused by consumption of a high-fat diet, *Cell Rep.*, **21**, 3317–3328, doi: 10.1016/j.celrep.2017.11.059.
8. Softic, S., Gupta, M.K., Wang, G.X., Fujisaka, S., O'Neill, B.T., Rao, T.N., Willoughby, J., Harbison, C., Fitzgerald, K., Ilkayeva, O., Newgard, C.B., Cohen, D.E., and Kahn, C.R. (2017) Divergent effects of glucose and fructose on hepatic lipogenesis and insulin signaling, *J. Clin. Invest.*, **127**, 4059–4074, doi: 10.1172/JCI94585.
9. Kirpich, I.A., Gobejishvili, L.N., Bon Homme, M., Waigel, S., Cave, M., Arteel, G., Barve, S.S., McClain, C.J., and Deaciuc, I.V. (2011) Integrated hepatic transcriptome and proteome analysis of mice with high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease, *J. Nutr. Biochem.*, **22**, 38–45, doi: 10.1016/j.jnutbio.2009.11.009.
10. Kim, S., Sohn, I., Ahn, J.I., Lee, K.H., Lee, Y.S., and Lee, Y.S. (2004) Hepatic gene expression profiles in a long-term high-fat diet-induced obesity mouse model, *Gene*, **340**, 99–109, doi: 10.1016/j.gene.2004.06.015.
11. Hasebe, T., Tanaka, H., Sawada, K., Nakajima, S., Ohtake, T., Fujiya, M., and Kohgo, Y. (2017) Bone morphogenetic protein-binding endothelial regulator of liver sinusoidal endothelial cells induces iron overload in a fatty liver mouse model, *J. Gastroenterol.*, **52**, 341–351, doi: 10.1007/s00535-016-1237-6.
12. Liu, Y., Cheng, F., Luo, Y.X., Hu, P., Ren, H., and Peng, M.L. (2017) The role of cytochrome P450 in nonalcoholic fatty liver induced by high-fat diet: a gene expression profile analysis, *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.*, **25**, 285–290, doi: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2017.04.010.
13. Kim, J., Kwon, E.Y., Park, S., Kim, J.R., Choi, S.W., Choi, M.S., and Kim, S.J. (2016) Integrative systems analysis of diet-induced obesity identified a critical transition in the transcriptomes of the murine liver and epididymal white adipose tissue, *Int. J. Obes. (Lond.)*, **40**, 338–345, doi: 10.1038/ijo.2015.147.
14. Patsouris, D., Reddy, J.K., Muller, M., and Kersten, S. (2006) Peroxisome proliferator-activated receptor α mediates the effects of high-fat diet on hepatic gene expression, *Endocrinology*, **147**, 1508–1516, doi: 10.1210/en.2005-1132.
15. Holvoet, P., Rull, A., Garcia-Heredia, A., Lopez-Sanroma, S., Geeraert, B., Joven, J., and Camps, J. (2015) Stevia-derived compounds attenuate the toxic effects of ectopic lipid accumulation in the liver of obese mice: a transcriptomic and metabolomic study, *Food Chem. Toxicol.*, **77**, 22–33, doi: 10.1016/j.fct.2014.12.017.
16. Chartoumpekis, D.V., Ziros, P.G., Zaravinos, A., Iskrenova, R.P., Psyrogiannis, A.I., Kyriazopoulou, V.E., Sykiotis, G.P., and Habeos, I.G. (2013) Hepatic gene expression profiling in Nrf2 knockout mice after long-term high-fat diet-induced obesity, *Oxid. Med. Cell Longev.*, **2013**, 340731, doi: 10.1155/2013/340731.
17. Knebel, B., Hartwig, S., Jacob, S., Kettel, U., Schiller, M., Passlack, W., Koellmer, C., Lehr, S., Muller-Wieland, D., and Kotzka, J. (2018) Inactivation of SREBP-1a phosphorylation prevents fatty liver disease in mice: identification of related signaling pathways by gene expression profiles in liver and proteomes of peroxisomes, *Int. J. Mol. Sci.*, **19**, E980, doi: 10.3390/ijms19040980.
18. Guide for the care and use of laboratory animals. Eighth edition/Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Research (ILAR); Division on Earth and Life Studies (DELS); National Research Council of the national academies. (2011) The National Academies Press, Washington.
19. Reeves, P.G., Nielsen, F.H., and Fahey, G.C. (1993) 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.*, **123**, 1939–1951, doi: 10.1093/jn/123.11.1939.
20. Agilent Total RNA Isolation Mini Kit. Protocol, 5th edn. (2015) URL: http://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/Public/5188_2710_A1.pdf.
21. One-color microarray-based gene expression analysis (low input quick Amp labeling), version 6.9.1 (2015) URL: http://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/Public/G4140-90040_GeneExpression_OneColor_6.9.pdf.
22. Роскин Г.И., Левинсон Л.Б. (1957) *Микроскопическая техника*, Советская наука, Москва, 469 с.
23. Benjamini, Y., and Hochberg, Y. (1995) Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing, *J. R. Statist. Soc. B*, **57**, 289–300, doi: 10.2307/2346101.
24. Brown, C.W., Houston-Hawkins, D.E., Woodruff, T.K., and Matzuk, M.M. (2000) Insertion of *Inhbb* into the *Inhba* locus rescues the *Inhba*-null phenotype and reveals new activin functions, *Nat. Genet.*, **25**, 453–457, doi: 10.1038/78161.
25. Beaulieu, M., Levesque, E., Tchernof, A., Beatty, B.G., Belanger, A., and Hum, D.W. (1997) Chromosomal localization, structure, and regulation of the *UGT2B17* gene, encoding a C19 steroid metabolizing enzyme, *DNA Cell Biol.*, **16**, 1143–1154, doi: 10.1089/dna.1997.16.1143.
26. Capel, F., Rolland-Valognes, G., Dacquet, C., Brun, M., Lonchamp, M., Ktorza, A., Lockhart, B., and Galizzi, J.P. (2013) Analysis of sterol-regulatory element-binding protein 1c target genes in mouse liver during aging and high-fat diet, *J. Nutrigenet. Nutrigenomics*, **6**, 107–122, doi: 10.1159/000350751.
27. Choi, J.Y., McGregor, R.A., Kwon, E.Y., Kim, Y.J., Han, Y., Park, J.H., Lee, K.W., Kim, S.J., Kim, J., Yun, J.W., and Choi, M.S. (2016) The metabolic response to a high-fat diet reveals obesity-prone and -resistant phenotypes in mice with distinct mRNA-seq transcriptome profiles, *Int. J. Obes. (Lond.)*, **40**, 1452–1460, doi: 10.1038/ijo.2016.70.
28. Do, R., Kiss, R.S., Gaudet, D., and Engert, J.C. (2009) Squalene synthase: a critical enzyme in the cholesterol biosynthesis pathway, *Clin. Genet.*, **75**, 19–29, doi: 10.1111/j.1399-0004.2008.01099.x.

29. Torrente, Y., Belicchi, M., Sampaolesi, M., Pisati, F., Meregalli, M., D'Antona, G., Tonlorenzi, R., Porretti, L., Gavina, M., Mamchaoui, K., Pellegrino, M.A., Furling, D., Mouly, V., Butler-Browne, G.S., Bottinelli, R., Cossu, G., and Bresolin, N. (2004) Human circulating AC133⁺ stem cells restore dystrophin expression and ameliorate function in dystrophic skeletal muscle, *J. Clin. Invest.*, **114**, 182–195, doi: 10.1172/JCI20325.
30. Zhu, L., Gibson, P., Currie, D.S., Tong, Y., Richardson, R.J., Bayazitov, I.T., Poppleton, H., Zakharenko, S., Ellison, D.W., and Gilbertson, R.J. (2009) Prominin 1 marks intestinal stem cells that are susceptible to neoplastic transformation, *Nature*, **457**, 603–607, doi: 10.1038/nature07589.
31. Ferdinandusse, S., Mulders, J., Denis, S., Dacremont, G., Waterham, H.R., and Wanders, R.J. (1999) Molecular cloning and expression of human carnitine octanoyltransferase: evidence for its role in the peroxisomal β -oxidation of branched-chain fatty acids, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **263**, 213–218, doi: 10.1006/bbrc.1999.1340.
32. Апрытин С.А., Мжельская К.В., Трусов Н.В., Балакина А.С., Кулакова С.Н., Сого Х.С., Макаренко М.А., Ригер Н.А., Тутельян В.А. (2016) Сравнительная характеристика *in vivo* моделей гиперлипидемии у крыс линии Вистар и мышей линии C57Bl/6, *Вопросы питания*, **85**, 24–33.
33. Peterson, E.A., Kalikin, L.M., Steels, J.D., Estey, M.P., Trimble, W.S., and Petty, E.M. (2007) Characterization of a SEPT9 interacting protein, SEPT14, a novel testis-specific septin, *Mamm. Genome*, **18**, 796–807, doi: 10.1007/s00335-007-9065-x.
34. Shinoda, T., Ito, H., Sudo, K., Iwamoto, I., Morishita, R., and Nagata, K. (2010) Septin 14 is involved in cortical neuronal migration via interaction with septin 4, *Mol. Biol. Cell*, **21**, 1324–1334, doi: 10.1091/mbc.E09-10-0869.
35. Apryatin, S.A., Sidorova, Yu.S., Shipelin, V.A., Balakina, A.S., Trusov, N.V., and Mazo, V.K. (2017) Neuromotor activity, anxiety and cognitive function in the *in vivo* model of alimentary hyperlipidemia and obesity, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **163**, 37–41, doi: 10.1007/s10517-017-3732-z.
36. Bengoechea-Alonso, M.T., and Ericsson, J. (2016) The phosphorylation-dependent regulation of nuclear SREBP1 during mitosis links lipid metabolism and cell growth, *Cell Cycle*, **15**, 2753–2765, doi: 10.1080/15384101.2016.1220456.
37. Heo, H.S., Kim, E., Jeon, S.M., Kwon, E.Y., Shin, S.K., Paik, H., Hur, C.G., and Choi, M.S. (2013) A nutrigenomic framework to identify time-resolving responses of hepatic genes in diet-induced obese mice, *Mol. Cells*, **36**, 25–38, doi: 10.1007/s10059-013-2336-3.
38. Jung, U.J., Seo, Y.R., Ryu, R., and Choi, M.S. (2016) Differences in metabolic biomarkers in the blood and gene expression profiles of peripheral blood mononuclear cells among normal weight, mildly obese and moderately obese subjects, *Br. J. Nutr.*, **116**, 1022–1032, doi: 10.1017/S0007114516002993.

COMPARATIVE FULL-TRANSCRIPTOMIC LIVER PROFILEMENT OF WISTAR RATS, RECEIVING DIETS WITH DIFFERENT AMOUNTS OF FAT, FRUCTOSE AND CHOLESTEROL

S. A. Apryatin¹, N. V. Trusov¹, A. Yu. Gorbachev¹, V. A. Naumov²,
A. S. Balakina¹, K. V. Mzhel'skaya¹, and I. V. Gmshinski^{1*}

¹ Federal Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 109240 Moscow, Russia; E-mail: gmsh@ion.ru

² National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V. I. Kulakov of the Ministry of Health of the Russian Federation, 117198 Moscow, Russia

Received February 20, 2019

Revised May 27, 2019

Accepted May 28, 2019

The differential expression of 30,003 genes in liver of female Wistar rats fed isocaloric diets high in fat, fructose, cholesterol, or combinations thereof for 62 days was studied by full-length transcriptome profiling on a microchip. The relative levels of mRNA expression for *Asah2*, *Crot*, *Crtc2*, *Fmo3*, *GSTA2*, *LOC1009122026*, *LOC102551184*, *NpY*, *NqO1*, *Prom1*, *Retsat*, *RGD1305464*, *Tmem104*, and *Whsc1* genes were also determined using RT-PCR in real-time. The experimental diets imposed different effects on a number of key metabolic pathways (KEGGs). On all experimental diets (except for the combination of excess fat and fructose), changes in gene expression of the metabolic pathway of steroids in liver were highly significant. Both high-fat and high-fructose rations caused a significant decrease in the expression levels of *FDFT1* gene coding for squalene synthase, which is responsible for the initial stage of cholesterol synthesis. On the contrary, with an excess (0.5%) of cholesterol, expression of *FDFT1* did not differ from that in control group, but there were changes in the expression of the glucose and glycogen synthesis pathway genes, which could lead to the suppression of glycogen synthesis and gluconeogenesis. At the same time, in this group, a different morphological picture of liver tissue was observed in comparison with an excess of fat and fructose, characterized by smaller size of lipid vacuoles in hepatocytes. In groups of animals receiving fructose and its combination with fat, there were effects on metabolic pathways associated with intracellular protein catabolism (endocytosis, phagosomes, proteasomes, protein processing in endoplasmic reticulum), as well as with tight junctions and intercellular contacts, adhesion molecules, and with intracellular RNA transport. In rats fed with excess fat with fructose or cholesterol, RT-PCR in real time revealed consistent changes in the relative expression levels of *Crot*, *Prom1*, and *RGD1305464* genes, reflecting integrated changes in the regulation of lipid and carbohydrate metabolism.

Keywords: transcriptome, liver, rats, RT-PCR, dyslipidemia, *in vivo* model