

Оценка уровня транскрипционной активности экспрессионных мишеней белка несфатин-1 при внутрибрюшинном введении его аналогов белым крысам

О.И. Рудько, А.А. Шипилова, А.Ю. Тарасова, В.М. Скобелева, М.Л. Ловатъ

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

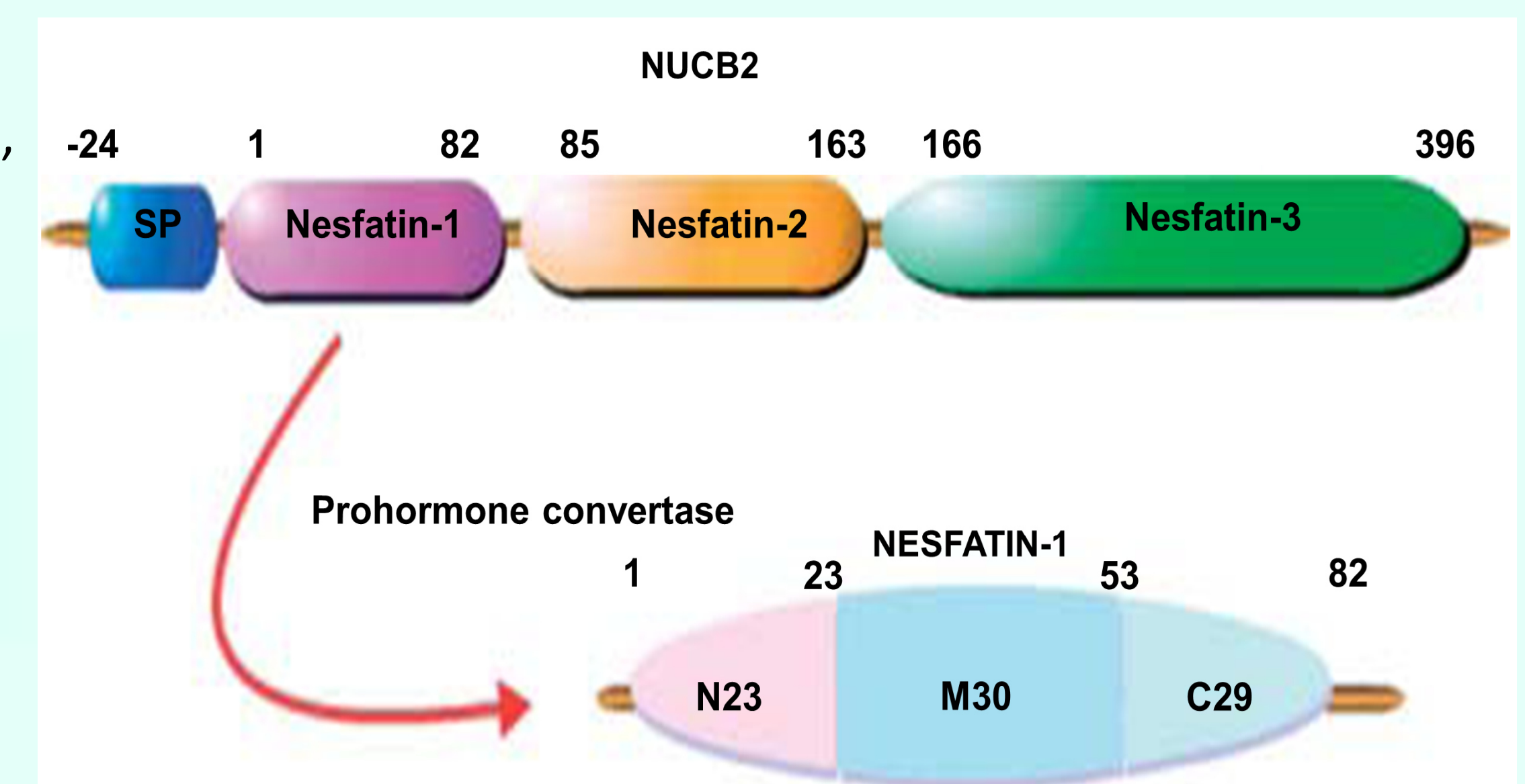
E-mail: 9395001@mail.ru

Несфатин-1:

- ✓ эндогенный пептид, состоящий из 82 аминокислот, выделен в 2006г. Masatomo Mori с соавт.
- ✓ продукт белка-предшественника нуклеобиндина-2, экспрессирующегося в некоторых областях мозга, в первую очередь, в гипоталамусе, а также в периферических тканях (Oh-I et al., 2006; Stengel et al., 2011).
- ✓ ответственным за функциональное действие пептида считается его центральный сегмент, состоящий из 30 аминокислот (Oh-I et al., 2006).
- ✓ широко распространен в ЦНС (гипоталамус, миндалины, голубое пятно, ядра шва, и др.) и на периферии (поджелудочная железа, жировая ткань, печень, семенники и др.).
- ✓ тесно связан с серотонин- и холецистокининергическими системами в ЦНС, что позволяет предположить их взаимодействие в регуляции пищевого и эмоционального поведения.
- ✓ необходим для распознавания голода и насыщения

Избыток несфатина-1 в мозге → потеря аппетита, чувство насыщения, уменьшение массы тела. (Shimizu et al., 2009a; Butler, 2012).

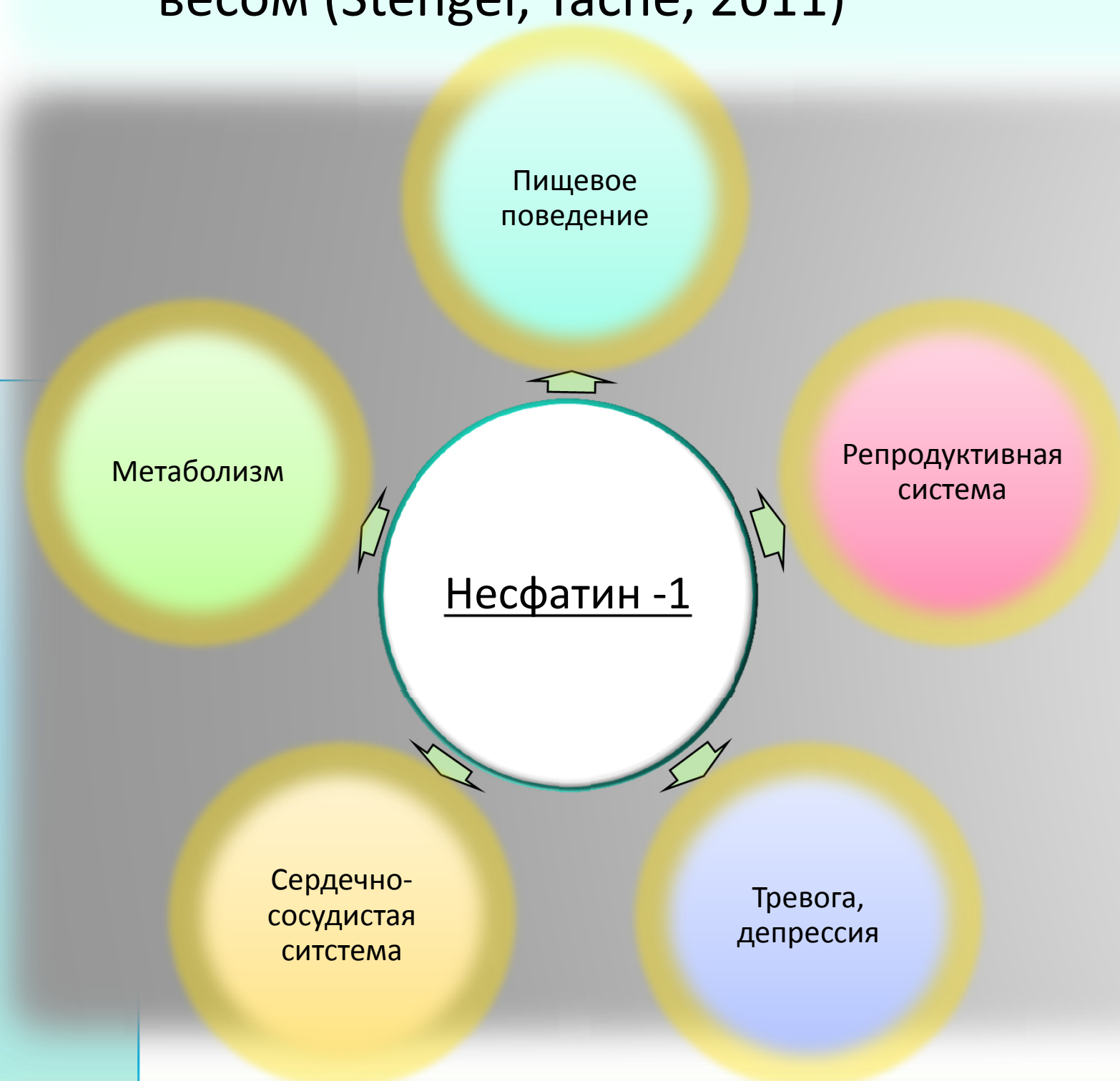
Недостаток несфатина-1 в мозге → обратные эффекты: уровень несфатина-1 у людей, страдающих ожирением, понижен по сравнению с людьми с нормальным весом (Stengel, Tache, 2011)



Расстройства поведения, связанного с приёмом пищи - группа синдромов в МКБ-10 с сильно различающимся содержанием: от способного самопроизвольно прекратить переизбыток, до нервной анорексии (F50.0), смертность при которой достигает 18%. Отличительной особенностью нервной анорексии можно считать значительный гендерный дисбаланс: более 95% заболевших - женщины, большей частью очень молодого возраста.

Данный феномен традиционно рассматривается с психологической позиции - предполагается, что одной из предпосылок нарушения пищевого поведения являются особенности гендерной идентичности у данных больных (Чебакова Ю.В. и др, 2012). В физиологическом плане многие исследователи связывают возникновение нервной анорексии с нарушением захвата серотонина, а также с отклонением в функционировании периферийных механизмов насыщения, однако точный механизм этих отклонений до сих пор не выяснен.

Все вышеизложенное делает несфатин-1 очень привлекательным для исследований с целью разработки новых лекарственных средств. Поэтому детальное понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе эффектов пептида, необходимо для его изучения как препарата терапии пищевых нарушений.



Цель работы

- ✓ Выявление экспрессионных мишеней белка несфатин-1
- ✓ Оценка изменения в уровне транскрипционной активности найденных мишеней при парентеральном введении его синтетических аналогов.

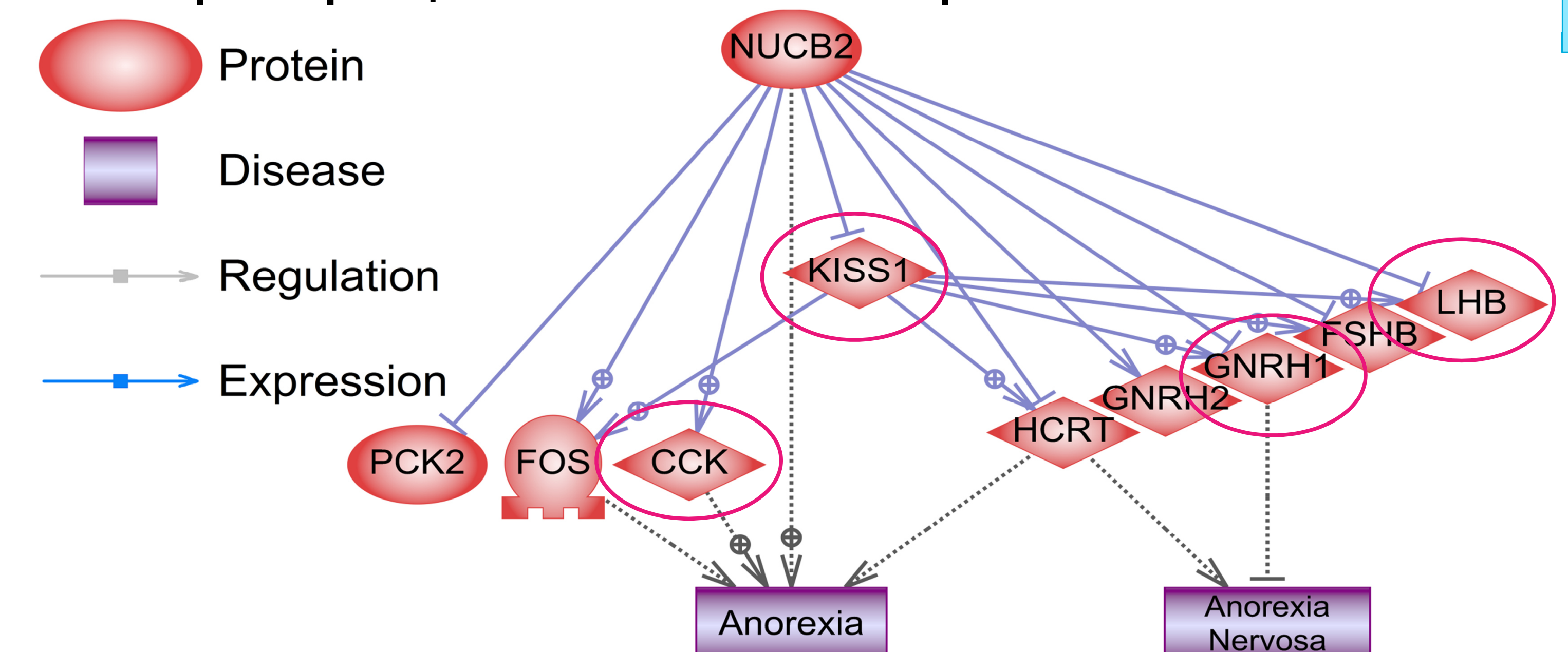
Объект:

- ✓ синтетические аналоги несфатина-1: Nesf-27c, Nesf-18, Nesf-8
- ✓ крысы Rattus norvegicus популяции Wistar массой 150-200 грамм

Методы:

- ✓ **In silico** программы PathwayStudio 10, BlastP, BeaconDesigner 8
- ✓ **In vivo** курсовое введение пептидов в дозе 100 мкг на крысу в течение 14 дней и тестирование пищевого поведения и эмоционального статуса животных
- ✓ **In vitro** выделение РНК из органов животных, наработка кДНК, ПЦР в реальном времени (CFX-96, BioRad)
- ✓ **Статистическая обработка:** t-критерий Стьюдента для независимых групп и U-критерий Вилкоксона-Манна-Уитни.

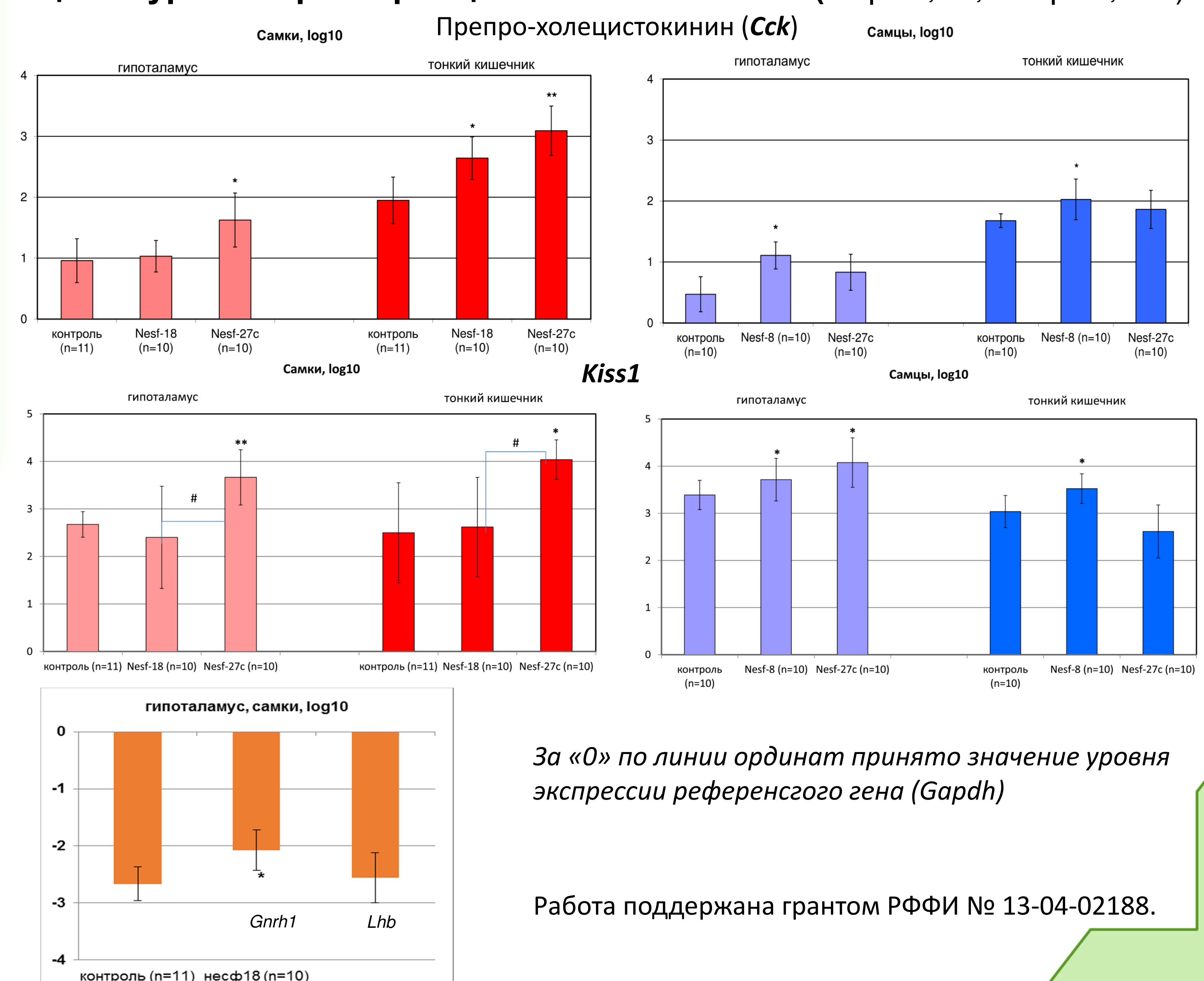
Поиск транскрипционных мишеней несфатина-1



Нами были выявлены экспрессионные мишени несфатина-1.

Среди них наиболее интересными являются кодирующие половые гормоны гены *Gnrh1* и *Lhb*, изменения в экспрессии которых могут объяснить гендерные различия при нарушениях пищевого поведения. Активирует экспрессию половых гормонов белок *Kiss1*, который регулируется несфатином-1 (Nucb2).

Оценка уровня транскрипционной активности (* - $p < 0,01$, ** - $p < 0,005$):



Выводы: длительное увеличение уровня несфатина-1 в организме животных при курсовом внутрибрюшинном введении его синтетических аналогов вызывает изменения в уровне транскрипционной активности генов *Cck*, *Kiss1* и *Gnrh1* крыс.

Транскрипционная активность лютеинизирующего гормона (*Lhb*) не изменялась.

Данные изменения имеют гендерные различия, согласуются с изменениями в поведении животных в поведенческих тестах и свидетельствуют об участии исследованных генов в реализации эффектов пептида.