https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-155-165
УДК 54.061:54.062:615.322

Check for updates
CC BY 4.0

Оригинальная статья / Research article

Модификация модели неалкогольной жировой болезни печени у крыс при сочетании гиперкалорийной диеты и гиподинамии

А. В. Бунят[1]*, О. М. Спасенкова[2], В. Е. Карев[3], А. В. Караваева[2], Д. Ю. Ивкин[2], А. Н. Куликов[1], С. В. Оковитый[2], Н. В. Кириллова[2]

[1] Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова», 197341, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2
[2] Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А
[3] Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 9

***Контактное лицо:** Бунят Анна Валерьевна. **E-mail:** tkaannavaler12@gmail.com

ORCID: А. В. Бунят – https://orcid.org/0000-0002-4048-4754; О. М. Спасенкова – https://orcid.org/0000-0002-2924-7651; В. Е. Карев – https://orcid.org/0000-0002-7972-1286; А. В. Караваева – https://orcid.org/0000-0001-8231-6364; Д. Ю. Ивкин – https://orcid.org/0000-0001-9273-6864; А. Н. Куликов – https://orcid.org/0000-0002-4544-2967; С. В. Оковитый – https://orcid.org/0000-0003-4294-5531; Н. В. Кириллова – https://orcid.org/0000-0003-3379-0646.

Статья поступила: 20.10.2021 **Статья принята в печать:** 07.12.2021 **Статья опубликована:** 27.12.2021

Резюме

Введение. Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) является наиболее распространенной патологией печени в мире, а неалкогольный стеатогепатит является второй по частоте причиной для трансплантации печени среди взрослого населения. Актуальной задачей является поиск и разработка оптимальной модели НАЖБП на лабораторных животных, которая бы воспроизвела все особенности этого заболевания в клинике.

Цель. Модификация модели НАЖБП на лабораторных животных (крысы), позволяющей максимально полно транслировать полученные данные на человека.

Материалы и методы. Исследование проведено на 52 аутбредных белых крысах самцах одного возраста. В качестве основы модели была использована гиперкалорийная высокожировая диета с добавлением усилителей пищевой привлекательности (натрия глутамат и жидкий экстракт креветки) и впервые применены условия гиподинамии – ограничение двигательной активности животных с помощью специально разработанных клеток, в которых для каждой особи выделялась индивидуальная ячейка размерами 11 × 18 см. Длительность исследования составила 12 месяцев. В ходе эксперимента оценивали массу тела, физическую работоспособность, биохимические показатели сыворотки крови и мочи в динамике, регистрировали летальность. После окончания исследования анализировали массу внутренних органов, висцерального и эпидидимального жира, производили гистологическое исследование печени.

Результаты и обсуждение. В ходе экспериментального исследования гистологически подтверждено развитие НАЖБП у крыс контрольной группы животных. Выявлена высокая смертность в группе животных с патологией. По сравнению с животными интактной группы выявлены статистически значимое повышение их массы тела, массы печени, висцерального и эпидидимального жира, снижение физической работоспособности, нарушения в липидном, углеводном и белковом обменах, а также обнаружены признаки ухудшения белоксинтетической и выделительной функций печени.

Заключение. Выявлен ряд преимуществ модели НАЖБП при сочетании гиперкалорийной диеты и условий гиподинамии, в том числе схожесть условий формирования и патогенеза заболевания у экспериментальных животных и человека, что обеспечивает адекватность трансляции данных из доклинической практики в клиническую.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, гиперкалорийная диета, гиподинамия, аттрактанты, натрия глутамат, физическая работоспособность, висцеральный жир, эпидидимальный жир

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

Вклад авторов. А. В. Бунят, С. В. Оковитый, Д. Ю. Ивкин и А. Н. Куликов разработали план и осуществили экспериментальное исследование, произвели статистическую обработку и описание полученных результатов, участвовали в написании текста статьи и обсуждении результатов. В. Е. Карев осуществлял гистологическое исследование полученных образцов печени. О. М. Спасенкова, Н. В. Киррилова и А. В. Караваева производили биохимические исследования.

Финансирование. Результаты работы получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

Для цитирования: Бунят А. В., Спасенкова О. М., Карев В. Е., Караваева А. В., Ивкин Д. Ю., Куликов А. Н., Оковитый С. В., Кириллова Н. В. Модификация модели неалкогольной жировой болезни печени у крыс при сочетании гиперкалорийной диеты и гиподинамии. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4–1):155–165. https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-155-165

Modification of a Model of Non-alcoholic Fat Liver Disease in Rats with a Combination of a Hypercaloric Diet and Hypodynamia

Anna V. Bunjat[1]*, Ol'ga M. Spasenkova[2], Vadim E. Karev[3], Anna V. Karavaeva[2], Dmitrij Ju. Ivkin[2], Aleksandr N. Kulikov[1], Sergey V. Okovityi[2], Nadezhda V. Kirillova[2]

[1] V. A. Almazov NMRC, 2, Akkuratov str., Saint Petersburg, 197341, Russia
[2] Saint-Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popov str., Saint-Petersburg, 197376, Russia
[3] Federal Medical and Biological Agency Federal State Institution Scientific and Research Institute of Children's Infections, 9, Professor Popov str., St. Petersburg, 197022, Russia

© Бунят А. В., Спасенкова О. М., Карев В. Е., Караваева А. В., Ивкин Д. Ю., Куликов А. Н., Оковитый С. В., Кириллова Н. В., 2021
© Bunjat A. V., Spasenkova O. M., Karev V. E., Karavaeva A. V., Ivkin D. Ju., Kulikov A. N., Okovityi S. V., Kirillova N. V., 2021

***Corresponding author:** Anna V. Bunjat. **E-mail:** tkaannavaler12@gmail.com

ORCID: Anna V. Bunjat – https://orcid.org/0000-0002-4048-4754; Ol'ga M. Spasenkova – https://orcid.org/0000-0002-2924-7651; Vadim E. Karev – https://orcid.org/0000-0002-7972-1286; Anna V. Karavaeva – https://orcid.org/0000-0001-8231-6364; Dmitrij Ju. Ivkin – https://orcid.org/0000-0001-9273-6864; Aleksandr N. Kulikov – https://orcid.org/0000-0002-4544-2967; Sergey V. Okovityi – https://orcid.org/0000-0003-4294-5531; Nadezhda V. Kirillova – https://orcid.org/0000-0003-3379-0646.

Received: 20.10.2021 **Revised:** 07.12.2021 **Published:** 27.12.2021

Abstract

Introduction. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common liver disease in the world, and non-alcoholic steatohepatitis is the second most common cause of liver transplantation in the adult population. An urgent task is to find and develop an optimal model of NAFLD in laboratory animals, which would reproduce all the features of this disease in the clinic.

Aim. Modification of the NAFLD model in laboratory animals (rats), which allows the obtained data to be transmitted to humans as fully as possible.

Materials and methods. The study was conducted on 52 outbred white male rats of the same age. As the basis of the model, a hypercaloric high-fat diet was used with the addition of food appeal enhancers (sodium glutamate and liquid shrimp extract) and for the first-time conditions of hypodynamia were used – restriction of the motor activity of animals using specially designed cells, in which an individual 11 × 18 cm cell was allocated for each individual. The duration of the study was 12 months. In the course of the experiment, body weight, physical performance, biochemical parameters of blood serum and urine in dynamics were assessed, and lethality was recorded. After the end of the study, the mass of internal organs, visceral and epididymal fat was analyzed, and a histological examination of the liver was performed.

Results and discussion. In the course of the experimental study, the development of NAFLD in rats of the control group of animals was histologically confirmed. A high mortality rate was revealed in the group of animals with pathology. Compared with animals of the intact group, a statistically significant increase in their body weight, liver weight, visceral and epididymal fat, a decrease in physical performance, disturbances in lipid, carbohydrate and protein metabolism were revealed, as well as signs of deterioration of the protein synthesis and excretory functions of the liver.

Conclusion. A number of advantages of the NAFLD model with a combination of a hypercaloric diet and hypodynamic conditions were revealed, including the similarity of the conditions for the formation and pathogenesis of the disease in experimental animals and humans, which ensures the adequacy of data translation from preclinical practice to clinical practice.

Keywords: non-alcoholic fatty liver disease, hypercaloric diet, physical inactivity, attractants, sodium glutamate, physical performance, visceral fat, epididymal fat

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Anna V. Bunjat, Sergey V. Okovityi, Dmitrij Ju. Ivkin and Aleksandr N. Kulikov developed a plan and carried out an experimental study, performed statistical processing and a description of the results obtained, participated in writing the text of the article and discussing the results. Vadim E. Karev carried out a histological examination of the obtained liver samples. Ol'ga M. Spasenkova, Nadezhda V. Kirillova and Anna V. Karavaeva carried out biochemical studies.

Funding. The results of the work were obtained using the equipment of the Center for Collective Use "Analytical Center of Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University" within the framework of agreement No. 075-15-2021-685 dated July 26, 2021 with the financial support of the Ministry of Education and Science of Russia.

For citation: Bunjat A. V., Spasenkova O. M., Karev V. E., Karavaeva A. V., Ivkin D. Ju., Kulikov A. N., Okovityi S. V., Kirillova N. V. Modification of a model of non-alcoholic fat liver disease in rats with a combination of a hypercaloric diet and hypodynamia. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(4–1):155–165. (In Russ.) https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-155-165

ВВЕДЕНИЕ

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) – мультисистемное метаболическое заболевание, характеризующееся избыточной аккумуляцией липидов в гепатоцитах (более чем 5 % по результатам гистологического исследования). Основными причинами данного заболевания является высококалорийная диета – избыточное потребление насыщенных жиров, рафинированных углеводов, сахаросодержащих напитков, высокое потребление фруктозы в сочетании с недостаточной физической активностью [1, 2].

НАЖБП является наиболее распространенной патологией печени в мире. Ее глобальная распространённость составляет 25,24 % с самой высокой на Ближнем Востоке (31,79 %) и самой низкой в Африке (13,48 %) [3]. В Российской Федерации, согласно многоцентровому исследованию DIREG 2 с 2015 по 2017 годы наблюдается неуклонный рост заболеваемости НАЖБП у амбулаторных пациентов с 27 % до 37 %, что выводит ее на первое место среди заболеваний печени – 71,6 % [4]. Неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) является второй ведущей причиной трансплантации печени среди взрослого населения [5]. Исходом заболевания является формирование фибротических изменений в тканях печени, цирроз и гепатоцеллюлярная карцинома.

Ключевыми подходами к лечению этой патологии являются физическая нагрузка и диета.

В данное время единой рекомендованной фармакотерапии НАЖБП не существует. Огромная роль в процессе разработки адекватной терапии данного заболевания принадлежит осуществлению доклинических исследований, а значит поиску и разработке оптимальной модели, которая бы воспроизвела все

особенности этого заболевания у человека на лабораторных животных.

Несмотря на то, что в литературе описано множество различных алиментарных [6–8] и генетических [9] моделей НАЖБП на животных, большинство исследователей признают, что единая модель, повторяющая все особенности этого заболевания у человека, все еще отсутствует.

Цель исследования – разработка модели НАЖБП на лабораторных животных (крысы), позволяющей максимально полно транслировать полученные данные в клинику.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все исследования проводились согласно требованиям решения совета Евразийского экономического союза в Сфере обращения лекарственных средств от 03.11.2016 № 81, с одобрения биоэтической комиссии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России, протокол БЭК NAFLD-Rats-2020 от 18.01.2020 г.

Основной эксперимент был проведен на 52 аутбредных белых крысах самцах одного возраста, полученных из ФГУП ПЛЖ «Рапполово» (Ленинградская обл.) и прошедших 14-дневный карантин. Средняя масса животных на момент введения в эксперимент составляла 257 ± 27 г.

Максимально приближенная к НАЖБП у человека по этиопатогенезу модель позволит одинаково успешно оценивать эффективность гепатотропных средств как синтетического, так и животного/растительного происхождения [10].

За последнее время многочисленными исследованиями выявлено, что у человека основным этиологическим фактором и предиктором НАЖБП является образ жизни: высококалорийное питание, избыточное потребление насыщенных жиров, рафинированных углеводов, подслащенных сахаром напитков и малоподвижный образ жизни [1, 2], именно поэтому для создания модели в нашем экспериментальном исследовании были использованы все перечисленные условия, включая впервые использованные для этих целей условия гиподинамии.

Грызуны (мыши и крысы) являются оптимальной тест-системой для моделирования НАЖБП, причем, самцы более восприимчивы к алиментарным нарушениям, и у них легче и быстрее развивается данная патология по аналогии с людьми (у мужчин чаще, чем у женщин) [11]. Аутбредные животные были выбраны для простоты популяционной экстраполяции и трансляции данных.

НАЖБП моделировали по методу B. L. Xu et al. [12] с помощью гиперкалорийной диеты, создаваемой путем добавления к стандартному корму 20 % топленого говяжьего жира (ООО «Протеин»), 5 % d-фруктозы (ЗАО «Вектон»), 5 % изолированного соевого белка (ООО «Пьюр протеин»), 2 % холина (ЗАО «Вектон»), 0,5 % холестерина (ЗАО «Вектон»).

Опыт проведения исследований говорит о том, что результат моделирования при использовании высокожировой диеты зависит от характера добавляемого в него жира. Животные жиры эффективнее растительных формируют метаболические нарушения, при этом, свиной жир – стеатогепатит, а говяжий – стеатоз [13]. В связи с этим, в нашем исследовании мы отдали предпочтение говяжьему топленому жиру.

В качестве углеводной основы корма была выбрана фруктоза, так как ее потребление достаточно быстро вызывает ожирение печени с развитием резистентности к лептину как у животных [14], так и у человека [15].

Серьезной проблемой всех алиментарных моделей НАЖБП, основанных на повышении калорийности корма является недостаточное для моделирования патологии его потребление. В данной работе мы попытались решить эту проблему введением в состав корма усилителей пищевой привлекательности. После анализа литературы о пищевых предпочтениях грызунов нами было проведено мини-исследование по подбору оптимального аттрактанта. Животные были рандомизированы на 5 групп: контрольная группа получала стандартный корм, опытным группам добавлялся натрия глутамат (1 % от общей массы корма) и одно из следующих веществ (по 1 % от общей массы корма): жареный сушеный репчатый лук, жидкий экстракт креветок, масло аниса. Каждой крысе был обеспечен свободный доступ к воде.

Влияние глутамата натрия на массу тела крыс уже рассматривалось отечественными учеными, при этом было выявлено, что животные, потребляющие данную добавку в дозе 30 мг/кг прибавляли в течение месяца 43 % от первоначального веса [16].

В ходе исследования было выявлено, что все заявленные вещества значимо повышают суточное потребление корма животными по сравнению с контрольной группой, однако наибольшее потребление из всех наблюдали в группе с экстрактом креветки (в 1,9 раза по сравнению с группой на стандартном корме), поэтому он, вместе с глутаматом натрия, был выбран для дальнейших исследований в качестве аттрактанта.

Учитывая, что наряду с гиперкалорийным питанием, гиподинамия является одним из важнейших факторов риска развития НАЖБП, в использованную модель было введено ограничение двигательной активности животных с помощью специально разработанных клеток, в которых для каждой крысы выделялась индивидуальная ячейка размерами 11 × 18 см.

Все животные методом случайных чисел были рандомизированы на 2 группы, сформированные из особей, сопоставимых по массе тела: интактная группа включала 11 крыс, содержащихся в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе со свободным доступом к воде; контрольная группа включала 41 животное на гиперкалорийной диете в условиях гиподинамии.

Рисунок 1. Протокол эксперимента

Figure 1. Experiment protocol

Общая продолжительность эксперимента составила 12 месяцев. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

В ходе исследования всем животным ежемесячно измеряли массу тела с помощью электронных весов.

В контрольных точках эксперимента (180-й и 360-й дни исследования) оценивали физическую работоспособность с помощью тредмила (Treadmill System for rats, TSE, Германия) после предварительного обучения. Скорость движения транспортерной ленты – 0,7 м/сек, угол наклона – 15°. Критерием полного утомления животного служило отсутствие реакции крысы на удар током 6 мА. Регистрировали время окончания бега в секундах, затем животное удаляли с транспортера [17].

Уровень глюкозы, общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови измеряли портативными анализаторами [Accu-Chek Active (Roche) и Accutrend Plus (Cobas)] после предварительного 8-ми часового голодания животных, путем забора крови из латеральной хвостовой вены в контрольных точках.

После вывода предварительно наркотизированных животных из эксперимента методом декапитации собирали кровь, в пробирки с активатором свертывания крови. После 30-минутного отстаивания кровь центрифугировали в течение 5 минут на 1000 об/мин, затем в течение 15 минут на 3000 об/мин. Отделенную сыворотку изучали на биохимической анализаторе Stat Fax 1904+ (Awareness Technology, США) и Эрба Лахема (Erba Lachema, Чехия). Определяли активность аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы (АлАТ и АсАТ), гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП), уровень креатинина, сывороточного альбумина и общего белка.

Внутренние органы и жировые депо (висцеральный и эпидидимальный жир) извлекались и производилось их взвешивание.

Также, перед окончанием эксперимента проводили сбор суточной мочи путем помещения животных в метаболические клетки. Измеряли объем мочи и с помощью анализатора мочи CL-50 HTI (тест-полоски UrinesRS H10 (H. Technology, Inc.) определяли наличие и количество белка, уробилиногена и билирубина.

Для гистологического исследования органы с предварительно измеренной массой на 24 часа помещали в 10 % раствор формалина с последующим приготовлением срезов и их окраской гематоксилин и эозином. В печени оценивали следующие признаки – выраженность некроза, лобулярного воспаления и баллонной дистрофии.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ GraphPad Prism 7. Осуществляли проверку на нормальность распределения количественных признаков при малом числе наблюдений с использованием W-крите-

рия Шапиро – Уилка, оценивали значимость различий при нормальном распределении количественных признаков с помощью t-критерия Стьюдента (для независимых выборок), а при распределении, не удовлетворяющем критериям нормальности распределении – с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни (для сравнения двух попарно не связанных между собой вариационных рядов). Статистическую значимость изменений показателей в динамике у животных одной и той же группы оценивали, применяя критерий Вилкоксона для связанных выборок. Сопоставление частотных характеристик качественных показателей проводилось с помощью непараметрического критерия Фишера. Числовые данные, приводимые в таблицах, представлены в виде: средняя арифметическая (M) ± стандартная ошибка среднего (m). Критерием статистической достоверности получаемых выводов мы считали общепринятую в медицине величину $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Золотым стандартом диагностики неалкогольной жировой болезни печени является биопсия печени с последующим гистологическим исследованием [1, 2].

В группе интактных животных патологических изменений выявлено не было. В группе контрольных животных у 62,5 % животных выявлены морфологические признаки неалкогольной жировой болезни печени (рисунок 2).

Используемая нами модель НАЖБП характеризовалась высокой смертностью. Так, первые эпизоды смертей животных начали регистрироваться с 7-го месяца исследования. К концу эксперимента процент выживших животных в контрольной группе составил 28,6 %, при наличии 100 % выживаемости в интактной группе ($p < 0,05$) (рисунок 3).

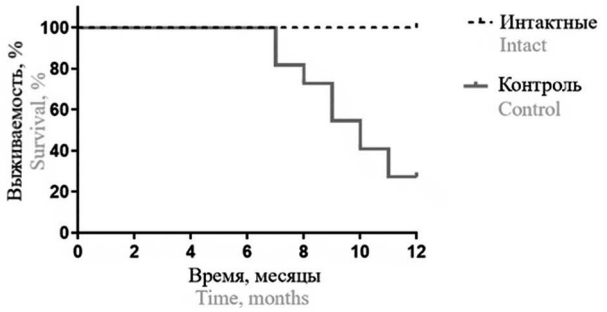

Рисунок 3. **График выживаемости (по Каплану – Мейеру)**

Figure 3. **Survival chart (Kaplan – Meier)**

Показатель смертности при НАЖБП, особенно при наличии фибротических изменений в печени, превышает аналогичный показатель в общей популяции [1].

Данные о летальности лабораторных животных в алиментарных моделях стеатоза печени немногочисленны. В основной массе источников она

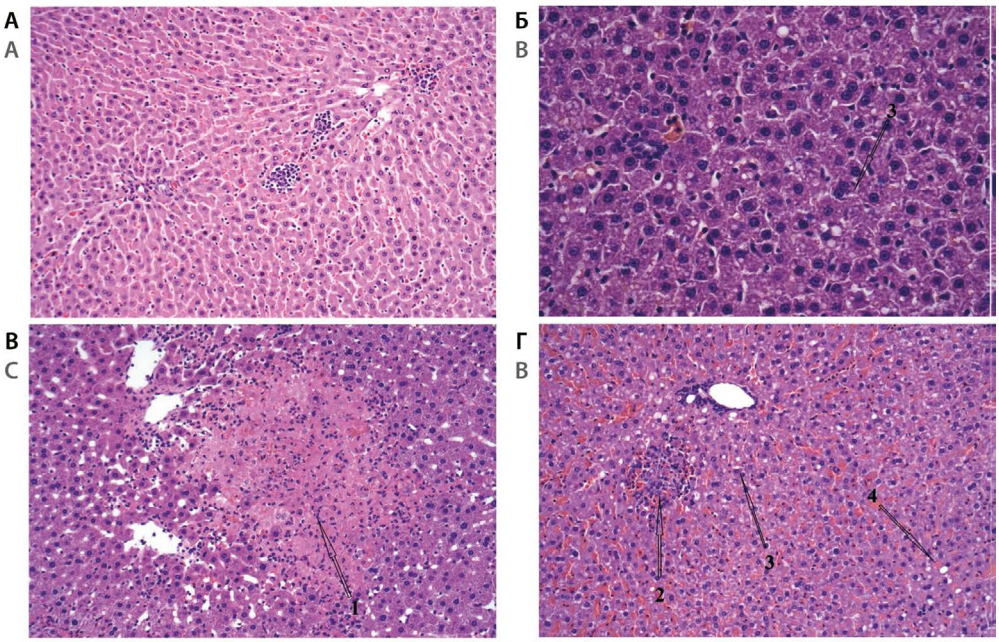

Рисунок 2. **Гистологические препараты печени. (окраска – гематоксилин-эозин). Увеличение x200.**

А – препарат печени из группы интактных животных. Печень с сохраненным дольковым и балочным строением; Б–Г – препараты печени из группы контрольных животных – мультилобулярные крупно- (1) и мелкоочаговые (2) некрозы ткани печени диффузный слабо выраженный гранулематозный гепатит с участками мелко- (3) и среднекапельного (4) стеатоза

Figure 2. **Histological preparations of the liver. (color – hematoxylin-eosin). Magnification x200.**

A – Liver preparation from the group of intact animals. Liver with preserved lobular and bar structure; B–D – liver preparations from the group of control animals – multilobular large (1) and small focal (2) necrosis of liver tissue, diffuse mild granulomatous hepatitis with areas of small (3) and medium droplet (4) steatosis

или не отмечалась, или такие результаты не были приведены.

При анализе динамики массы тела лабораторных животных выявлено статистически значимое ее повышением в группе контроля (рисунок 4).

Так, масса тела у животных контрольной группы на 6-м месяце диеты увеличилась в 1,7 раза по сравнению с исходной и в 1,2 раза превышала значения интактной группы, а к концу эксперимента увеличилась в 1,7 раза ($p < 0,05$).

В исследовании, где животные, получали гиперкалорийную диету с примерно равным соотношением жиров и углеводов (25,52 % и 20,1 % соответственно) к концу первого месяца исследования значимо прибавляли 40 % от первоначальной массы тела [18].

Учитывая литературные данные, повышение веса крыс в нашем исследовании происходило достаточно постепенно – к концу эксперимента разница между интактными особями и контрольной группой составляла в среднем 29 %. Это может объясняться тем, что мы использовали относительно небольшое количество углеводов, а также, учитывая изоляцию особей друг от друга, особи контрольной группы находились в условиях повышенного стресса, что могло влиять на количество потребляемой пищи, снижая его.

После 6-месячного моделирования патологии и в конце эксперимента изучали параметры физической работоспособности. Повышение массы тела у контрольной группы животных привело к ухудшению параметров их физической активности (таблица 1).

Среднее время нахождения животного на дорожке тредмила, а также пройденное расстояние у контрольной группы после 6-и месячного моделирования ожирения было в 1,93 раза и в 1,66 раза ниже значения интактной группы соответственно ($p < 0,05$). Дальнейшее наблюдение показало, что работоспособность контрольной группы ухудшилась по сравнению с показателями на 6-м месяце – среднее расстояние, пройденное животными на тредмиле снизилось в 1,3 раза ($p < 0,05$), при этом время бега не изменилось.

Ухудшение физической работоспособности в нашем исследовании, очевидно, связано не только с повышением массы тела, но и с длительным нахождением в условиях гиподинамии, что само по себе снижает адаптацию к физическим нагрузкам. Сходные данные, свидетельствующие о снижении физической работоспособности, были получены и на других экспериментальных моделях НАЖБП [19].

Анализ ключевых биохимических показателей сыворотки крови исследуемых групп животных выявил наличие нарушений липидного, углеводного, а также белкового обменов у контрольной группы.

Нарушения липидного обмена проявлялись синдромом дислипидемии, а именно: гиперхолестеринемией и гипертриглицеридемией у контрольной группы животных, нарастающими на протяжении всего эксперимента. При этом в показателях интактной группы никаких значимых колебаний данных показателей не наблюдалось (таблица 2).

Отмечено, что средний уровень триглицеридов (ТГ) животных через 6 и 12 месяцев пребывания на гиперкалорийной диете в условиях гиподинамии в 1,8

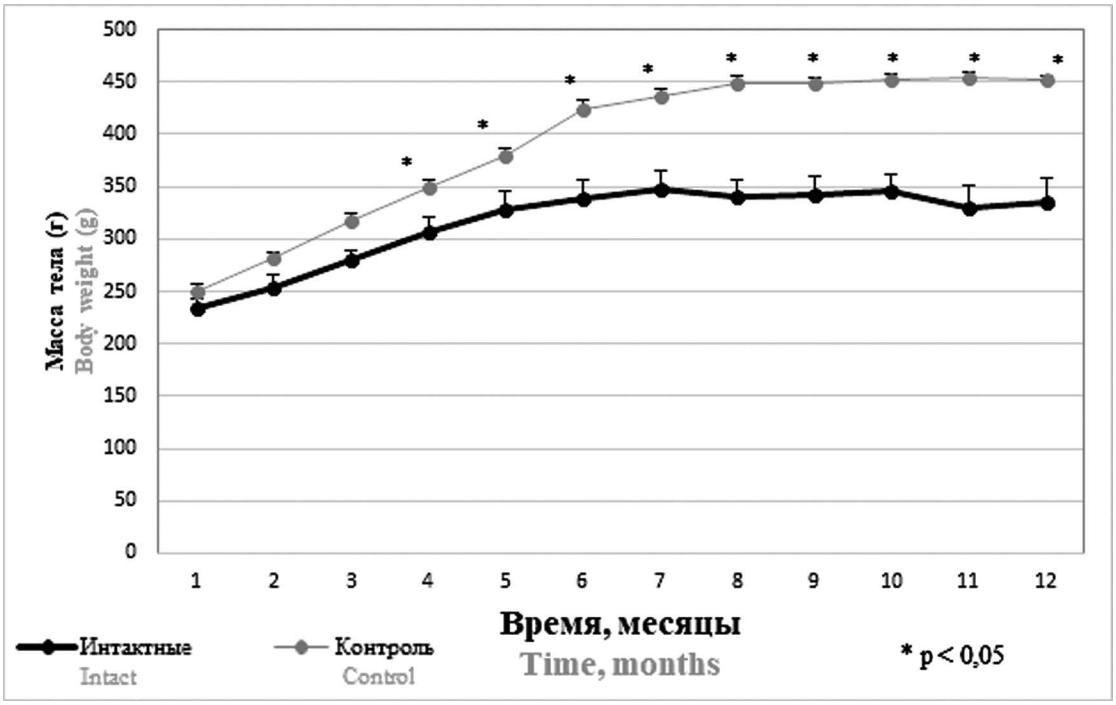

Рисунок 4. **Динамика массы тела у исследуемых групп животных на протяжении эксперимента**

Figure 4. **Dynamics of body weight in the studied groups of animals during the experiment**

Таблица 1. Показатели физической работоспособности животных в контрольных точках эксперимента (M ± *m*)

Table 1. Indicators of physical performance of animals at the control points of the experiment (*M* ± *m*)

Группа Group	6-й месяц 6th month		12-й месяц 12th month	
	Время бега (сек) Running time (sec)	Пройденное расстояние (м) Distance traveled (m)	Время бега (сек) Running time (sec)	Пройденное расстояние (м) Distance traveled (m)
Интактные Intact	141,8 ± 5,5	284 ± 8,15	146,17 ± 6,45	276,17 ± 9,68
Контроль Control	73,43 ± 3,98[1]	171,67 ± 8,22[1]	81,8 ± 7,43[1]	132,0 ± 11,7[1;2]

Примечание. [1] Различия (p<0,05) по сравнению с интактной группой; 2 – различия (p < 0,05) по сравнению с контрольной группой (6-й месяц).

Note. [1] Differences (p <0.05) compared with the intact group; 2- differences (p < 0.05) compared with the control group (6th month).

Таблица 2. Показатели липидного обмена и сывороточной глюкозы у исследуемых животных (*M* ± *m*)

Table 2. Indicators of lipid metabolism and serum glucose in the studied animals (*M* ± *m*)

Показатель/Группа Indicator/Group	Интактные Intact		Контроль Control	
	6-й месяц 6th month	12-й месяц 12th month	6-й месяц 6th month	12-й месяц 12th month
Общий холестерин (ммоль/л) Total cholesterol (mmol/L)	2,17 ± 0,16	2,26 ± 0,13	2,89 ± 0,15*	3,16 ± 0,14*
Триглицериды (ммоль/л) Triglycerides (mmol/L)	1,15 ± 0,05	1,14 ± 0,19	2,06 ± 0,06*	2,21 ± 0,28*
Глюкоза (ммоль/л) Glucose (mmol/L)	4,76 ± 0,12	4,19 ± 0,14	5,67 ± 0,09*	5,80 ± 0,23*

Примечание. * Различия (p < 0,05) по сравнению с интактной группой.

Note. * Differences (p < 0.05) compared with the intact group.

и в 1,94 раза превышал уровень интактной группы соответственно (p < 0,05).

Аналогичная тенденция наблюдалась при анализе уровня общего холестерина (ОХ) сыворотки крови. Показатель группы животных с патологией через 6 и 12 месяцев эксперимента превышал показатель интактной в 1,3 и 1,4 раза соответственно (p < 0,05).

При исследовании уровня трансаминаз перед окончанием исследования (12-й месяц), выявлена тенденция к повышению концентраций АсАТ и АлАТ сыворотки крови контрольной группы животных по сравнению с интактной группой, однако отличия статистически не значимы.

Влияние НАЖБП на показатели липидного обмена различно и зависит от морфологической формы заболевания, возраста пациентов, а также наличия сопутствующих заболеваний и синдромов. Как правило, стеатоз печени не проявляется изменениями в биохимических показателях крови. При этом, стеатогепатит часто проявляется сдвигами в липидограмме. Кроме того, некоторые исследования показывают прямую зависимость уровней ОХ и ТГ сыворотки крови от степени НАЖБП [20].

Также, изменения биохимических показателей крови могут быть связаны с преобладанием тех или иных веществ в диете. В исследованиях с выраженным преобладанием углеводов в диете у животных [21] уровень ТГ и ОХ повышался, в исследованиях с преобладанием жирового компонента диеты [6] наоборот, наблюдалась тенденция к снижению их концентраций.

Многие исследования подчеркивают связь между НАЖБП и несколькими факторами метаболического синдрома, включая абдоминальное ожирение, инсулинорезистентность (ИР) и дислипидемию (гиперхолестеринемию, гипертриглицеридемию, или их сочетание) [22]. Содержание жира в печени отражает равновесие между липолизом, окислением жирных кислот, липогенезом *de novo* и секрецией липопротеидов очень низкой плотности ЛПОНП. Накопление ТГ в печени, вероятно, является следствием избыточного окисления жирных кислот и секреции ЛПОНП, поскольку оба этих пути активируются у пациентов с НАЖБП [23]. Абдоминальное ожирение (преимущественно за счет висцерального жира), вызывая и сочетаясь с инсулинорезистентностью, вызывает изменения активности липопротеинлипазы и снижение уровня альфа-глицерофосфата в клетках жировой ткани и приводят к дефициту энергии и активации липолиза. Выделившиеся таким образом свободные жирные кислоты (СЖК) транспортируются в печень, где преобразуются в ТГ. Накопление триглицеридов

в печени сопровождается нарушением энергетического обмена и способности инсулина подавлять продукцию глюкозы и ЛПОНП, что приводит к гипергликемии, гиперхолестеринемии и гипертриглицеридемии [24]. Таким образом, можно предположить, что в условиях инсулинорезистентности активация липолиза (в частности, от увеличения массовой доли висцерального жира), вызывает перегрузку печени глицерином и СЖК, что компенсаторно усиливает синтез ТГ и глюконеогенез (где глицерин используется посредством бета-окисления в качестве глюконеогенного субстрата, а СЖК обеспечивают этот процесс молекулами АТФ.

Уровень гликемии половозрелой крысы в норме колеблется в диапазоне 2,75–5,51 ммоль/л (50–100 мг/дл) [25]. На нашей модели, уровень глюкозы контрольной группы животных на 6-м и 12-м месяце исследования статистически значимо превышал таковой интактной группы животных (в 1,19 и 1,4 раза ($p < 0,05$), однако выхода за пределы физиологической нормы не наблюдалось. Изменений концентрации глюкозы сыворотки в крови интактных животных на протяжении эксперимента не отмечалось (таблица 2).

Развитие гипергликемии описано во множестве моделей НАЖБП при использовании гиперкалорийной диеты, насыщенной фруктозой. Так, добавление 10 % фруктозы в питьевую воду в 12-ти недельном эксперименте на крысах линии Wistar, приводило к возникновению гипергликемии на фоне сопутствующего ожирения и нарушений липидного обмена [25]. При увеличении концентрации фруктозы в питьевой воде до 20 % подобные результаты регистрировались уже через 8 недель исследования [26].

Кроме того, в литературе описана отчетливая корреляция между той или иной формой экспериментальной НАЖБП и колебаниями уровня глюкозы в крови. Так, при преобладании стеатогепатита уровень глюкозы имеет тенденцию повышаться, а при преобладании стеатоза значительно не изменяется [21].

Было выявлено снижение сывороточного уровня альбуминов контрольной группы животных по сравнению с интактными в 1,3 раза ($p < 0,05$), а также значительное повышение у них уровня креатинина по сравнению с интактными в 2,9 раза ($p < 0,05$) (рисунок 5).

Снижение концентрации сывороточного альбумина может говорить о нарушении белоксинтетической функции печени [27] и подтверждается наличием у большинства особей многочисленных воспалительно-некротических изменений в печени по результатам морфологического исследования.

Гипоальбуминемия не является характерным признаком НАЖБП, но может появляться на поздней стадии стеатогепатита или при циррозе. По мнению некоторых исследователей, повышенная продукция фактора некроза опухоли альфа, являясь частым звеном патогенеза различных форм НАЖБП приводит к дефициту полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) и гипоальбуминемии. Альбумин же мобилизует ПНЖК из печени и других тканей и может способствовать активации образования противовоспалительных цитокинов, резольвинов, протектинов и простагландина Е1. Все это подавляет реакцию образования свободных радикалов (активных форм кислорода), вызванную воспалительным процессом [28]. Таким образом, возникновение гипоальбуминемии при НАЖБП является своего рода порочным кругом.

Выявление повышения концентрации сывороточного креатинина у контрольной группы животных, а также наличие протеинурии (рисунок 6), может говорить о повреждении и снижении функции почек.

Обсуждая возможные взаимосвязи между НАЖБП и формированием хронической болезни почек (ХБП), до сих пор неясно, является ли ХБП следствием кардиометаболических факторов риска или НАЖБП вносит свой вклад. Одним из возможных факторов, связывающих НАЖБП, альбуминурию и ИР, является ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС). Адипоциты экспрессируют все компоненты РААС, включая ангиотензин II, ангиотензин-превращающий

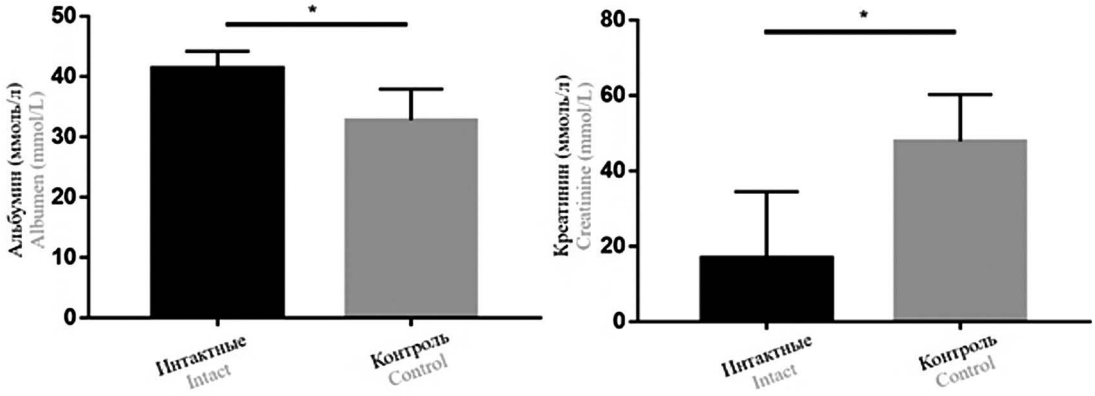

Рисунок 5. Показатели альбумина и креатинина в сыворотке крови исследуемых групп животных на 12-м месяце исследования (*M* ± *m*)

Figure 5. Indicators of albumin and creatinine in the blood serum of the studied groups of animals at the 12th month of the study (*M* ± *m*)

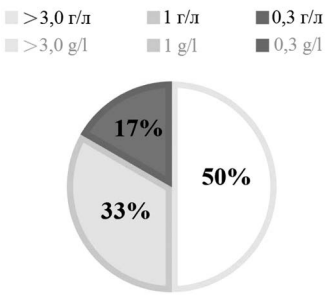

Рисунок 6. Уровень протеинурии у животных контрольной группы

Figure 6. The level of proteinuria of the control group of animals

фермент (АПФ), ренин и рецепторы ангиотензина II первого и 2-го типов. Также, известно, что атерогенная дислипидемия способствует развитию ХБП через рецепторно-опосредованное поглощение качественно аномальных липопротеинов клубочковыми и тубулоинтерстициальными клетками [29].

Кроме того, было выявлено, что в моче контрольных животных повышался уровень пигментов: уробилиногена до 55,0 ± 7,62 ммоль/л; билирубина до 43,13 ± 20,15 ммоль/л ($M \pm m$). При этом у интактных животных в моче они отсутствовали. Это может свидетельствовать о нарушении выделительной функции печени.

Жировая ткань у крыс представлена подкожной и висцеральной жировой тканью (включает мезентериальную, забрюшинную и эпидидимальную). Причем у грызунов в норме эпидидимальная жировая ткань имеет большую массу, чем в других локализациях [30]. Повышение массовой доли висцерального жира является характерной чертой метаболического синдрома как у людей [31], так и у животных [32], и является одним из важнейших прогностических факторов развития заболеваний, ассоциированных с ожирением [33].

Нами было отмечено значительное накопление висцерального жира в организме лабораторных животных. Так, средняя масса висцерального и эпидидимального жира контрольной группы животных в 3,98 и 1,83 раза соответственно превышала массу интактной группы ($p < 0,05$) (рисунок 7).

Масса печени контрольной группы животных в 1,33 раза превышала массу печени интактной группы ($p < 0,05$). Масса сердца опытных групп животных несколько превышала таковую интактной группы животных, однако отличия были статистически не значимы. Подобная тенденция наблюдалась при анализе массы почек.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, модифицированная модель НАЖБП у крыс характеризуется не только схожестью условий формирования (гиперкалорийное питание, гиподинамия, развитие висцерального ожирения), но и морфологическими (признаки стеатогепатита) и биохимическими (дислипидемия, гипергликемия) проявлениями. Это потенциально повышает адекватность трансляции данных, получаемых на такой модели, из доклинической практики в клиническую. Однако, значимым недостатком модифицированной модели является высокая продолжительность формирования патологии, и как следствие – ее трудозатратность.

ЛИТЕРАТУРА

1. European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD), European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL–EASD–EASO clinical practice guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*. 2016;64(6):1388–1402. DOI: 10.1016/j.jhep.2015.11.004.
2. Лазебник Л. Б., Голованова Е. В., Туркина С. В., Райхельсон К. Л., Оковитый С. В., Драпкина О. М., Маев И. В., Мартынов А. И., Ройтберг Г. Е., Хлынова О. В., Абдулганиева Д. И., Алексеен-

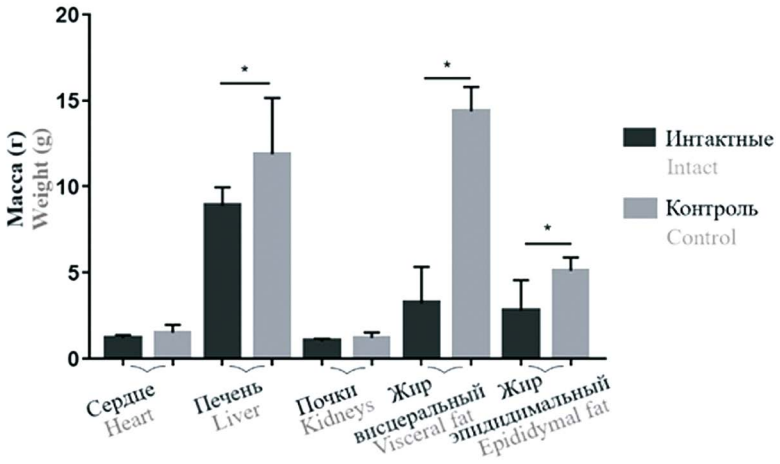

Рисунок 7. Масса внутренних органов, висцерального и эпидидимального жира экспериментальных животных ($M \pm m$)

Figure 7. Mass of internal organs, visceral and epididymal fat of experimental animals ($M \pm m$)

ко С. А., Ардатская М. Д., Бакулин И. Г., Бакулина Н. В., Буеверов А. О., Виницкая Е. В., Волынец Г. В., Еремина Е. Ю., Гриневич В. Б., Долгушина А. И., Казюлин А. Н., Кашкина Е. И., Козлова И. В., Конев Ю. В., Корочанская Н. В., Кравчук Ю. А., Ли Е. Д., Лоранская И. Д., Махов В. М., Мехтиев С. Н., Новикова В. П., Остроумова О. Д., Павлов Ч. С., Радченко В. Г., Самсонов А. А., Сарсенбаева А. С., Сайфутдинов Р. Г., Селиверстов П. В., Ситкин С. И., Стефанюк О. В., Тарасова Л. В., Ткаченко Е. И., Успенский Ю. П., Фоминых Ю. А., Хавкин А. И., Цыганова Ю. В., Шархун О. О. Неалкогольная жировая болезнь печени у взрослых: клиника, диагностика, лечение. Рекомендации для терапевтов, третья версия. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2021;1(1):4–52. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-185-1-4-52.

3. Cariou B., Byrne C. D., Loomba R., Sanyal A. J. Nonalcoholic fatty liver disease as a metabolic disease in humans: A literature review. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2021;23(5):1069–1083. DOI: 10.1111/dom.14322.
4. Драпкина О. М., Ивашкин В. Т. Эпидемиологические особенности неалкогольной жировой болезни печени в России (результаты открытого многоцентрового проспективного исследования наблюдения DIREGL 01903). *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2014;24(4):32–38.
5. Cotter T. G., Charlton M. Nonalcoholic steatohepatitis after liver transplantation. *Liver Transplantation*. 2020;26(1):141–159. DOI: 10.1002/lt.25657.
6. Оковитый С. В., Шустов Е. Б., Белых М. А., Кириллова Н. В., Спасенкова О. М., Иванов А. Г., Караваева А. В., Ткачева А. В. Моделирование неалкогольного стеатоза печени: особенности метаболических изменений в организме лабораторных животный. Биомедицина. 2018;4:29–43.
7. Le K. A., Tappy L. Metabolic effects of fructose. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. 2006;9(4):469–475. DOI: 10.1097/01.mco.0000232910.61612.4d.
8. Panchal S. K., Poudyal H., Iyer A., Nazer R., Alam A., Diwan V., Kauter K., Sernia C., Campbell F., Ward L., Gobe G., Fenning A., Brown L. High-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2011;57(5):611–624. DOI: 10.1097/FJC.0b013e3181feb90a.
9. Michaelis O. E., Ellwood K. C., Judge J. M. Scoene N. W., Hansen C. T. Effect of dietary sucrose on the SHR/N-corpulent rat: a new model for insulinindependent diabetes. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1984;39(4):612–618. DOI: 10.1093/ajcn/39.4.612.
10. Zhong F., Zhou X., Xu J., Gao L. Rodent models of nonalcoholic fatty liver disease. *Digestion*. 2020;101(5):522–535. DOI: 10.1159/000501851.
11. Макарова М. Н., Макаров В. Г. Диет-индуцированные модели метаболических нарушений. Сообщение 4: экспериментальная неалкогольная жировая болезнь печени. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2018;4:41–49. DOI: 10.29296/2618723X-2018-04-04.
12. Xu B. L., Wang R., Ma L., Dong W., Zhao W., Zhang Z., Wang J., Zhang X. Effects of caloric intake on learning and memory function in juvenile C57BL/6J mice. *BioMed Research International*. 2015;2(1):1–7. DOI: 10.1155/2015/759803.
13. Wang H. Y. Zheng Y., Wang G. L., Li H. X. Identification of microRNA and bioinformatics target gene analysis in beef cattle intramuscular fat and subcutaneous fat. *Molecular BioSystems*. 2013;9(8):2154–2162. DOI: 10.1039/c3mb70084d.
14. Spruss A., Kanuri G., Wagnerberger S., Haub S., Bischoff S. C., Bergheim I. Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *Hepatology*. 2009;50(4):1094–1104. DOI: 10.1002/hep.23122.
15. Wang D., Sievenpiper J. L., de Souza R. J., Cozma A. I., Chiavaroli L., Ha V., Mirrahimi A., Carleton A. J., Buono M. D., Jenkins A. L., Leiter L. A., Wolever T. M. S., Beyene J., Kendall C. W. C., Jenkins D. J. A. Effect of fructose on postprandial triglycerides: a systematic review and meta-analysis of controlled feeding trials. *Atherosclerosis*. 2014;232(1):125–133. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.10.019.
16. Дерхо М. А., Середа Т. И., Голобородько Г. Н. Влияние глутамата натрия на массу тела и внутренних органов крыс. Фундаментальные проблемы науки. Уфа: РИО МЦИИ ОМЕГА САЙНС; 2015. 142 с.
17. Куликов А. Н., Оковитый С. В., Ивкин Д. Ю., Карпов А. А., Лисицкий Д. С., Любишин М. М. Эффекты эмпаглифлозина при экспериментальной модели хронической сердечной недостаточности у крыс с нормогликемией. *Журнал Сердечная Недостаточность*. 2016;17(6):454–460. DOI: 10.18087/rhfj.2016.6.2289.
18. Давыдов В. В., Медведев Д. В., Шодиев Д. Р., Некрасова М. С. Влияние нарушения светового режима на липидный обмен и функциональные показатели у интактных крыс и животных с алиментарным ожирением. *Наука Молодых (Eruditio Juvenium)*. 2017;2:175–184.
19. Приходько В. А., Сысоев Ю. И. Поверяева М. А., Бунят А. В., Карев В. Е., Ивкин Д. Ю., Суханов Д. С., Шустов Е. Б., Оковитый С. В. Оценка влияния L-орнитина L-аспартата и эмпаглифлозина на физическую работоспособность при экспериментальном стеатогепатите. *Биомедицина*. 2020;16(3):77–80. DOI: 10.33647/2074-5982-16-3-77-80.
20. Khalil F., Nabil Rafat M., Salah V., Attia M., Ibrahim W. Study of lipid profile in different grades of non-alcoholic fatty liver disease. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 2018;73(8):7388–7393.
21. Трашков А. П., Брус Т. В., Васильев А. Г., Артеменко М. Р., Печатникова В. А., Гуменная М. А. Биохимический профиль крыс с неалкогольной жировой болезнью печени различной степени тяжести и его коррекция препаратом ремаксол. *Педиатр*. 2017;8(4):78–85. DOI: 10.17816/PED8478-85.
22. Souza M. R., Diniz M. F., Medeiros-Filho J. E., Araujo M. S. Metabolic syndrome and risk factors for non-alcoholic fatty liver disease. *Arquivos de Gastroenterologia*. 2012;49(1):89–96. DOI: 10.1590/s0004-28032012000100015.
23. Adiels M., Taskinen M. R., Packard C., Caslake M. J., Soro-Paavonen A., Westerbacka J., Vehkavaara S., Hakkinen A., Olofsson S. O., Yki-Jarvinen H., Boren J. Overproduction of large VLDL particles is driven by increased liver fat content in man. *Diabetologia*. 2006;49(4):755–765. DOI: 10.1007/s00125-005-0125-z.
24. Gaggini M., Morelli M., Buzzigoli E., DeFronzo R. A., Bugianesi E., Gastaldelli A. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease. *Nutrients*. 2013;5(5):1544–1560. DOI: 10.3390/nu5051544.
25. Mahmoud A. A., Elshazly S. M. Ursodeoxycholic acid ameliorates fructose-induced metabolic syndrome in rats. *PLoS One*. 2014;9(9):e106993. DOI: 10.1371/journal.pone.0106993.
26. Mamikutty N., Thent Z. C., Sapri S. R., Sahruddin N. N., Mohd Y. M. R., Haji S. F. The establishment of metabolic syndrome model by induction of fructose drinking water in male Wistar rats. *BioMed Research International*. 2014;2014:263897. DOI: 10.1155/2014/263897.
27. D'Amico G., Garcia-Tsao G., Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: A systematic review of 118 studies. *Journal of hepatology*. 2006;44(1):217–231. DOI: 10.1016/j.jhep.2005.10.013.
28. Undurti N. D. Beneficial role of bioactive lipids in the pathobiology, prevention, and management of HBV, HCV and alcoholic hepatitis, NAFLD, and liver cirrhosis: A review. *Journal of Advanced Research*. 2019;17:17–29. DOI: 10.1016/j.jare.2018.12.006.
29. Gyebi L., Soltani Z., Reisin E. Lipid nephrotoxicity: new concept for an old disease. *Current hypertension reports*. 2012;14(2):177–181. DOI: 10.1007/s11906-012-0250-2.
30. Sackmann-Sala L., Berryman D. E., Munn R. D., Kopchick J. J. Heterogeneity among white adipose tissue depots in male c57bl/6j mice. *Obesity*. 2012;20(1):101–111. DOI:10.1038/oby.2011.235.
31. Азимова М. О., Блинова Н. В., Жернакова Ю. В., Чазова И. Е. Ожирение как предиктор сердечно-сосудистых заболеваний: роль локальных жировых депо. *Системные Гипертензии*. 2018;15(3):39–43. DOI: 10.26442/2075-082X_2018.3.39-43.
32. Rocha-Rodrigues S., Rodriguez A., Becerril S., Ramirez B., Goncalves I., Beleza J., Fruhbeck G., Ascensao A., Magalhaes J. Physical exercise remodels visceral adipose tissue and mitochondrial lipid metabolism in rats fed a high-fat diet. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2017;44(3):386–394. DOI: 10.1111/1440-1681.12706.
33. Бутрова А. С., Дзгоева Ф. Х. Висцеральное ожирение – ключевое звено метаболического синдрома. *Ожирение и метаболизм*. 2004;1:10–16.

REFERENCES

1. European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD), European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL–EASD–EASO clinical practice guidelines for the management of non-alcoholic

fatty liver disease. *Journal of Hepatology*. 2016;64(6):1388–1402. DOI: 10.1016/j.jhep.2015.11.004.
2. Lazebnik L. B., Golovanova E. V., Turkina S. V., Raikhelson K. L., Okovityy S. V., Drapkina O. M., Maev I. V., Martynov A. I., Roitberg G. E., Khlynova O. V., Abdulganieva D. I., Alekseenko S. A., Ardatskaya M. D., Bakulin I. G., Bakulina N. V., Bueverov A. O., Vinitskaya E. V., Volynets G. V., Eremina E. Yu., Grinevich V. B., Dolgushina A. I., Kazyulin A. N., Kashkina E. I., Kozlova I. V., Konev Yu. V., Korochanskaya N. V., Kravchuk Yu. A., Li E. D., Loranskaya I. D., Makhov V. M., Mekhtiev S. N., Novikova V. P., Ostroumova O. D., Pavlov Ch. S., Radchenko V. G., Samsonov A. A., Sarsenbaeva A. S., Sayfutdinov R. G., Seliverstov P. V., Sitkin S. I., Stefanyuk O. V., Tarasova L. V., Tkachenko E. I., Uspensky Yu. P., Fominykh Yu. A., Khavkin A. I., Tsyganova Yu. V., Sharhun O. O. Non-alcoholic fatty liver disease in adults: clinical picture, diagnosis, treatment. Guidelines for therapists, third version. *Jeksperimental'naja i Klinicheskaja Gastrojenterologija = Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2021;1(1):4–52. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-185-1-4-52.
3. Cariou B., Byrne C. D., Loomba R., Sanyal A. J. Nonalcoholic fatty liver disease as a metabolic disease in humans: A literature review. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2021;23(5):1069–1083. DOI: 10.1111/dom.14322.
4. Drapkina O. M., Ivashkin V. T. Epidemiological features of non-alcoholic fatty liver disease in Russia (results of an open multicenter prospective observation study DIREGL 01903). *Rossijskij Zhurnal Gastrojenterologii, Gepatologii, Koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2014;24(4):32–38. (In Russ.)
5. Cotter T. G., Charlton M. Nonalcoholic steatohepatitis after liver transplantation. *Liver Transplantation*. 2020;26(1):141–159. DOI: 10.1002/lt.25657.
6. Okovityj S. V., Shustov E. B., Belyh M. A., Kirillova N. V., Spasenkova O. M., Ivanov A. G., Karavaeva A. V., Tkacheva A. V. Modeling of non-alcoholic hepatic steatosis: features of metabolic changes in the body of laboratory animals. *Biomeditsina = Journal Biomed*. 2018;4:29–43. (In Russ.)
7. Le K. A., Tappy L. Metabolic effects of fructose. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. 2006;9(4):469–475. DOI: 10.1097/01.mco.0000232910.61612.4d.
8. Panchal S. K., Poudyal H., Iyer A., Nazer R., Alam A., Diwan V., Kauter K., Sernia C., Campbell F., Ward L., Gobe G., Fenning A., Brown L. High-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2011;57(5):611–624. DOI: 10.1097/FJC.0b013e3181feb90a.
9. Michaelis O. E., Ellwood K. C., Judge J. M. Scoene N. W., Hansen C. T. Effect of dietary sucrose on the SHR/N-corpulent rat: a new model for insulinindependent diabetes. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1984;39(4):612–618. DOI: 10.1093/ajcn/39.4.612.
10. Zhong F., Zhou X., Xu J., Gao L. Rodent models of nonalcoholic fatty liver disease. *Digestion*. 2020;101(5):522–535. DOI: 10.1159/000501851.
11. Makarova M. N., Makarov V. G. Diet-induced models of metabolic disorders. Report 4: Experimental non-alcoholic fatty liver disease. *Laboratornye zhivotnye dlja nauchnyh issledovanij*. 2018;4:41–49. (In Russ.) DOI: 10.29296/2618723X-2018-04-04.
12. Xu B. L., Wang R., Ma L., Dong W., Zhao W., Zhang Z., Wang J., Zhang X. Effects of caloric intake on learning and memory function in juvenile C57BL/6J mice. *BioMed Research International*. 2015;2(1):1–7. DOI: 10.1155/2015/759803.
13. Wang H. Y. Zheng Y., Wang G. L., Li H. X. Identification of microRNA and bioinformatics target gene analysis in beef cattle intramuscular fat and subcutaneous fat. *Molecular BioSystems*. 2013;9(8):2154–2162. DOI: 10.1039/c3mb70084d.
14. Spruss A., Kanuri G., Wagnerberger S., Haub S., Bischoff S. C., Bergheim I. Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *Hepatology*. 2009;50(4):1094–1104. DOI: 10.1002/hep.23122.
15. Wang D., Sievenpiper J. L., de Souza R. J., Cozma A. I., Chiavaroli L., Ha V., Mirrahimi A., Carleton A. J., Buono M. D., Jenkins A. L., Leiter L. A., Wolever T. M. S., Beyene J., Kendall C. W. C., Jenkins D. J. A. Effect of fructose on postprandial triglycerides: a systematic review and meta-analysis of controlled feeding trials. *Atherosclerosis*. 2014;232(1):125–133. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.10.019.
16. Derho M. A., Sereda T. I., Goloborod'ko G. N. Effect of monosodium glutamate on body weight and internal organs of rats. Fundamental'nye problemy nauki. Ufa: RIO MTsII OMEGA SAYNS; 2015. 142 p. (In Russ.)
17. Kulikov A. N., Okovityj S. V., Ivkin D. Yu., Karpov A. A., Lisickij D. S., Ljubishin M. M. Effects of empagliflozin in an experimental model of chronic heart failure in rats with normoglycemia. *Zhurnal Serdechnaja Nedostatochnost'*. 2016;17(6):454–460. (In Russ.) DOI: 10.18087/rhfj.2016.6.2289.
18. Davydov V. V., Medvedev D. V., Shodiev D. R., Nekrasova M. S. Influence of violation of the light regime on lipid metabolism and functional parameters in intact rats and animals with alimentary obesity. *Nauka molodyh (Eruditio Juvenium)*. 2017;2:175–184. (In Russ.)
19. Prikhodko V. A., Poveryaeva M. A., Sysoev Yu. I., Shustov E. B., Bunyat A. V. Effects of L-ornithine L-aspartate on the physical performance with experimental non-alcoholic fatty liver disease. *Biomeditsina = Biomed*. 2020;16(3):77–80. (In Russ.) DOI: 10.33647/2074-5982-16-3-77-80.
20. Khalil F., Nabil Rafat M., Salah V., Attia M., Ibrahim W. Study of lipid profile in different grades of non-alcoholic fatty liver disease. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 2018;73(8):7388–7393.
21. Trashkov A. P., Brus T. V., Vasil'ev A. G., Artemenko M. R., Pechatnikova V. A., Gumennaja M. A. Biochemical profile of rats with non-alcoholic fatty liver disease of varying severity and its correction with Remaxol. *Pediatr*. 2017;8(4):78–85. (In Russ.) DOI: 10.17816/PED8478-85.
22. Souza M. R., Diniz M. F., Medeiros-Filho J. E., Araujo M. S. Metabolic syndrome and risk factors for non-alcoholic fatty liver disease. *Arquivos de Gastroenterologia*. 2012;49(1):89–96. DOI: 10.1590/s0004-28032012000100015.
23. Adiels M., Taskinen M. R., Packard C., Caslake M. J., Soro-Paavonen A., Westerbacka J., Vehkavaara S., Hakkinen A., Olofsson S. O., Yki-Jarvinen H., Boren J. Overproduction of large VLDL particles is driven by increased liver fat content in man. *Diabetologia*. 2006;49(4):755–765. DOI: 10.1007/s00125-005-0125-z.
24. Gaggini M., Morelli M., Buzzigoli E., DeFronzo R. A., Bugianesi E., Gastaldelli A. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease. *Nutrients*. 2013;5(5):1544–1560. DOI: 10.3390/nu5051544.
25. Mahmoud A. A., Elshazly S. M. Ursodeoxycholic acid ameliorates fructose-induced metabolic syndrome in rats. *PLoS One*. 2014;9(9):e106993. DOI: 10.1371/journal.pone.0106993.
26. Mamikutty N., Thent Z. C., Sapri S. R., Sahruddin N. N., Mohd Y. M. R., Haji S. F. The establishment of metabolic syndrome model by induction of fructose drinking water in male Wistar rats. *BioMed Research International*. 2014;2014:263897. DOI: 10.1155/2014/263897.
27. D'Amico G., Garcia-Tsao G., Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: A systematic review of 118 studies. *Journal of hepatology*. 2006;44(1):217–231. DOI: 10.1016/j.jhep.2005.10.013.
28. Undurti N. D. Beneficial role of bioactive lipids in the pathobiology, prevention, and management of HBV, HCV and alcoholic hepatitis, NAFLD, and liver cirrhosis: A review. *Journal of Advanced Research*. 2019;17:17–29. DOI: 10.1016/j.jare.2018.12.006.
29. Gyebi L., Soltani Z., Reisin E. Lipid nephrotoxicity: new concept for an old disease. *Current hypertension reports*. 2012;14(2):177–181. DOI: 10.1007/s11906-012-0250-2.
30. Sackmann-Sala L., Berryman D. E., Munn R. D., Kopchick J. J. Heterogeneity among white adipose tissue depots in male c57bl/6j mice. *Obesity*. 2012;20(1):101–111. DOI:10.1038/oby.2011.235.
31. Azimova M. O., Blinova N. V., Zhernakova Ju. V., Chazova I. E. Obesity as a predictor of cardiovascular disease: the role of local fat depots. *Sistemnye Gipertenzii*. 2018;15(3):39–43. (In Russ.) DOI: 10.26442/2075-082X_2018.3.39-43.
32. Rocha-Rodrigues S., Rodriguez A., Becerril S., Ramirez B., Goncalves I., Beleza J., Fruhbeck G., Ascensao A., Magalhaes J. Physical exercise remodels visceral adipose tissue and mitochondrial lipid metabolism in rats fed a high-fat diet. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2017;44(3):386–394. DOI: 10.1111/1440-1681.12706.
33. Butrova A. S., Dzgoeva F. H. Visceral obesity is a key link in metabolic syndrome. *Ozhirenie i metabolizm*. 2004;1:10–16. (In Russ.)