Изменения в профиле жирных кислот печени крыс при экспериментальном неалкогольном стеатогепатите

Е. Б. Шустов^{1,2}, А. В. Бунят^{3*}, А. Г. Платонова², О. М. Спасенкова², Н. В. Кириллова²,
Д. Ю. Ивкин², С. В. Оковитый², А. Н. Кимаев¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», 192019, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д. 1

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, лит. А

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова», 197341, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

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

ORCID: Е. Б. Шустов – <https://orcid.org/0000-0001-5895-688X>; А. В. Бунят – <https://orcid.org/0000-0002-4048-4754>; А. Г. Платонова – <https://orcid.org/0000-0002-3344-8026>;
О. М. Спасенкова – <https://orcid.org/0000-0002-2924-7651>; Н. В. Кириллова – <https://orcid.org/0000-0003-3379-0646>; Д. Ю. Ивкин – <https://orcid.org/0000-0001-9273-6864>;
С. В. Оковитый – <https://orcid.org/0000-0003-4294-5531>; А. Н. Кимаев – <https://orcid.org/0000-0003-4899-5548>.

Статья поступила: 20.10.2021

Статья принята в печать: 15.12.2021

Статья опубликована: 27.12.2021

Резюме

Введение. Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) – самое распространённое заболевание печени в мире. Неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), являясь клинически прогрессирующей морфологической формой НАЖБП, занимает второе место в списке причин для пересадки печени у взрослого населения. В патогенезе данного заболевания важную роль играет метаболизм и распределение свободных жирных кислот (СЖК). Большое количество исследований установило, что уровень СЖК в периферической крови прямо коррелирует с тяжестью НАСГ, однако до сих пор отсутствует полная картина того, как изменяется спектр жирных кислот (ЖК) в печени при этом заболевании.

Цель. Изучение профиля жирных кислот в печени лабораторных животных при экспериментальном неалкогольном стеатогепатите, вызванным высокожировой диетой и гиподинамией.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 17 белых беспородных крысах самцах, которые были рандомизированы на две группы – интактную ($n=6$) и контрольную (стеатогепатит) ($n=11$). Стеатогепатит моделировали 12-месячным применением гиперкалорийного высокожирового рациона на фоне гиподинамии. Содержание ЖК в печени определяли в реакции метанолиза при экстрагировании гексаном смеси их метиловых эфиров. Разделяли ЖК методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ-МС). Калибровку для количественного расчета осуществляли по дейтерированной тридекановой кислоте. Исследовали содержание насыщенных и мононенасыщенных высших ЖК, их альдегидов и гидроксипроизводных, а также стеролов.

Результаты и обсуждение. Выявлено суммарное снижение содержания СЖК в печени животных со стеатогепатитом. Наиболее значимое снижение происходило преимущественно в классе мононенасыщенных ЖК и холестерина. Также установлено существенное снижение активности Δ^2 -десатуразы – ключевого фермента синтеза мононенасыщенных ЖК из их предшественника с той же длиной углеродной цепи, что проявилось достоверным снижением их количества в печени. Статистически значимых изменений в уровнях альдегидов и гидроксикислот между исследуемыми группами выявлено не было, также как и в уровне стеролов (кроме холестерина, содержание которого значимо уменьшалось).

Заключение. Таким образом, в печени крыс со стеатогепатитом, вызванным сочетанием гиперкалорийной диеты и гиподинамией, обнаружены статистически значимые изменения профиля и концентраций жирных кислот по сравнению со здоровыми животными. Проявленные сдвиги состава ЖК могут отражать как адаптационные, так и патологические изменения в печени животных с НАЖБП и требуют дальнейшего изучения.

Ключевые слова: жирные кислоты, стеролы, стеатогепатит, неалкогольная жировая болезнь печени, газовая хромато-масс-спектрометрия, гиперкалорийная диета, гиподинамия

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 разработали план и осуществили экспериментальное исследование. А. В. Платонова, О. М. Спасенкова и Н. В. Кириллова производили биохимические исследования. Е. Б. Шустов, А. Н. Кимаев произвели статистическую обработку и описание полученных результатов. Все авторы участвовали в написании текста статьи и обсуждении результатов.

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: Шустов Е. Б., Бунят А. В., Платонова А. Г., Спасенкова О. М., Кириллова Н. В., Ивкин Д. Ю., Оковитый С. В., Кимаев А. Н. Изменения в профиле жирных кислот печени крыс при экспериментальном неалкогольном стеатогепатите. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4–1):206–214. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4\(1\)-206-214](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-206-214)

Changes in Rat Liver Fatty Acid Profile in Experimental Non-alcoholic Steatohepatitis

Evgeniy B. Shustov^{1,2}, Anna V. Bunyat^{3*}, Anna G. Platonova², Olga M. Spasenkova²,
Nadezhda V. Kirillova², Dmitry Yu. Ivkin², Sergey V. Okovityi², Aleksandr N. Kimaev²

© Шустов Е. Б., Бунят А. В., Платонова А. Г., Спасенкова О. М., Кириллова Н. В., Ивкин Д. Ю., Оковитый С. В., Кимаев А. Н., 2021

© Shustov E. B., Bunyat A. V., Platonova A. G., Spasenkova O. M., Kirillova N. V., Ivkin D. Yu., Okovityi S. V., Kimaev A. N., 2021

¹ Institute of Toxicology Federal Medical Biological Agency of Russia, 1, Behterev str., Saint Petersburg, 192019, Russia
² Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, 14A, Professor Popov str., St. Petersburg, 197376, Russia
³ V. A. Almazov NMRC, 2, Akkuratov str., Saint Petersburg, 197341, Russia

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

ORCID: Evgeniy B. Shustov – <https://orcid.org/0000-0001-5895-688X>; Anna V. Bunjat – <https://orcid.org/0000-0002-4048-4754>; Anna G. Platonova – <https://orcid.org/0000-0002-3344-8026>; Olga M. Spasenkova – <https://orcid.org/0000-0002-2924-7651>; Nadezhda V. Kirillova – <https://orcid.org/0000-0003-3379-0646>; Dmitry Yu. Ivkin – <https://orcid.org/0000-0001-9273-6864>; Sergey V. Okovityi – <https://orcid.org/0000-0003-4294-5531>; Aleksandr N. Kimaev – <https://orcid.org/0000-0003-4899-5548>.

Received: 20.10.2021 Revised: 15.12.2021 Published: 27.12.2021

Abstract

Introduction. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common liver disease in the world. Non-alcoholic steatohepatitis (NASH), a clinically progressive morphological form of NAFLD, ranks second in the list of reasons for liver transplantation in the adult population. In the pathogenesis of this disease, metabolism and distribution of free fatty acids (FFA) play an important role. A large number of studies have established that the level of FFA in peripheral blood directly correlates with the severity of NASH, but it is still unclear what effect fluctuations in the profile of fatty acids (FA) in the liver have in steatohepatitis.

Aim. Study of changes in the profile of fatty acids in the liver of laboratory animals with experimental non-alcoholic steatohepatitis.

Materials and methods. The study was carried out on 17 white outbred male rats, which were randomized into two groups – intact ($n = 6$) and control (steatohepatitis) ($n = 11$). Steatohepatitis was modeled by 12-month use of a hypercaloric high-fat diet against the background of hypodynamia. The content of fatty acids in the liver was determined in the reaction of methanolysis and extraction with a hexane mixture of their methyl esters. The LC was separated by gas chromatography-mass spectrometry. Calibration for quantitative calculation was carried out with deuterated tridecanoic acid. The content of saturated and monounsaturated higher FAs, their aldehydes and hydroxy derivatives, as well as sterols were studied.

Results and discussion. A total decrease in the content of FFA in the liver of animals with steatohepatitis was revealed. The most significant decrease occurred mainly in the class of monounsaturated fatty acids and cholesterol. Also, a significant decrease in the activity of Δ^9 -desaturase, a key enzyme in the synthesis of monounsaturated FAs from their precursor with the same carbon chain length, was revealed, which was manifested by a significant decrease in their amount in the liver. There were no statistically significant changes in the levels of aldehydes and hydroxy acids between the study groups, as well as in the level of sterols (except for cholesterol, the content of which decreased significantly).

Conclusion. Thus, in the liver of rats with steatohepatitis caused by a combination of a hypercaloric diet and hypodynamia, statistically significant changes in the profile and concentration of fatty acids were found in comparison with healthy animals. The demonstrated shifts in FA composition may reflect both adaptive and pathological changes in the liver of animals with NAFLD and require further study.

Keywords: fatty acids, sterols, steatohepatitis, non-alcoholic fatty liver disease, gas chromatography-mass spectrometry, hypercaloric diet, hypodynamia

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, Dmitry Yu. Ivkin developed a plan and carried out an experimental study. Anna G. Platonova, Olga M. Spasenkova and Nadezhda V. Kirillova performed biochemical studies. Evgeniy B. Shustov, Aleksandr N. Kimaev performed statistical processing and description of the results. All authors participated in writing the text of the article and discussing the results.

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: Shustov E. B., Bunjat A. V., Platonova A. G., Spasenkova O. M., Kirillova N. V., Ivkin D. Yu., Okovityi S. V., Kimaev A. N. Changes in rat liver fatty acid profile in experimental non-alcoholic steatohepatitis. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(4–1):206–214. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4\(1\)-206-214](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-206-214)

ВВЕДЕНИЕ

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) – метаболическое заболевание, связанное с избыточным накоплением липидов в печени (более 5 % гепатоцитов), включающее широкий спектр состояний от стеатоза до стеатогепатита и гепатоцеллюлярной карциномы [1].

Неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) – клинически прогрессирующая форма неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). Это заболевание, на фоне избыточного отложения триглицеридов в гепатоцитах, сопровождается наличием воспаления, некроза и фиброза печени. НАСГ является самостоятельной нозологической единицей и характеризуется повышением активности печеночных ферментов в сыворотке

крови и морфологические изменениями в печени по результатам биопсии [2].

НАЖБП является одной из наиболее распространенных заболеваний печени. В Соединенных Штатах она занимает 20–30 % в структуре популяции, в азиатских странах – 12–24 % [3]. В Российской Федерации, согласно результатам Всероссийского эпидемиологического исследования распространенности НАЖБП у более чем 50 тысяч амбулаторных пациентов, она выявлена у 37,3 %. Факторами риска заболевания в человеческой популяции являются мужской пол, избыточная масса тела и ожирение, гипергликемия и гипертриглицеридемия [4].

В патогенезе НАЖБП важную роль играет комплекс факторов, таких как липотоксичность, инсулино-резистентность, воспаление, окислительный стресс и

др. [2]. Возникающий в результате этих факторов дисбаланс в липогенезе *de novo*, липолизе и бета-окислении ЖК приводит к высвобождению в кровоток избыточного количества свободных жирных кислот (СЖК) [5]. Это, в свою очередь способствует периферической и печеночной инсулинорезистентности, а также ухудшает базальное и стимулированное инсулином поглощение глюкозы мышцами за счет блокирования передачи сигналов инсулина [6]. На фоне инсулинорезистентности, способность жировой ткани метаболизировать поглощенные СЖК с периферии ограничена, поэтому избыток липидов накапливается в виде эктопического жира и развивается липотоксичность [7]. Доказано, что уровень СЖК в периферической крови коррелируют с тяжестью НАСГ [8], однако данные об изменениях в профиле жирных кислот в различных тканях и органах (в частности – печени) у таких пациентов немногочисленны.

При изучении профиля ЖК в эритроцитах у пациентов с фиброзом печени было показано, что у больных с тяжелым течением НАЖБП в мембранах эритроцитов отмечается снижение индекса насыщенности (SI), определяемого как отношение содержания стеариновой кислоты (C18:0) к олеиновой кислоте (C18:1) [9–11]. У пациентов с прогрессирующим фиброзом печени в мембранах эритроцитов отмечено более высокое содержание насыщенных и мононенасыщенных ЖК и более низкие значения полиненасыщенных жирных кислот по сравнению с пациентами с легким течением заболевания [12]. Таким образом, показана отрицательная корреляционная связь между количеством в мембранах эритроцитов ненасыщенных пальмитолеиновой, эйкозопентаеновой, докозопентаеновой, докозогептаеновой кислот и положительная связь между содержанием в них насыщенной пальмитиновой кислоты и прогрессированием фиброза печени при стеатогепатите [9, 13].

Изменение метаболизма ЖК при избыточном поступлении липидов в организм экспериментальных животных и НАЖБП изучалось в нескольких исследованиях. Было выявлено, что при однократном поступлении в организм лабораторных мышей эмульсии липидов, в жировой ткани с большей вероятностью накапливаются нечетные жирные кислоты, и скорость их метаболизма ниже, чем четных [14]. В печени мышей с генетически детерминированной тучностью (линия C57BLKS/J-*lepr^{db/db}*) распределение ненасыщенных жирных кислот было значительно увеличено по сравнению с худыми мышами обычной линии C57BLKS/J (на 20 % увеличилось содержание олеиновой кислоты и линолевой кислоты ($p < 0,05$), и напротив, насыщенные жирные кислоты, пальмитиновая кислота и стеариновая кислота были снижены на 15 % и 32 %, соответственно, у мышей с ожирением [15]. Кроме того, в том же исследовании было продемонстрировано, что насыщенные ЖК способствуют TLR4-опосредованной активации ядерного фактора каппа В (NF- κ B), а ненасыщенные жирные кисло-

ты этому препятствуют. Так как NF- κ B индуцирует экспрессию провоспалительных цитокинов в жировой ткани печени, то можно предположить, что накопление насыщенных ЖК в печени лабораторных животных является отягчающим фактором при НАЖБП [17].

Более точное представление динамики и влияния изменений в профиле ЖК печени при неалкогольном стеатогепатите может приблизить к полноценному пониманию патогенеза данного заболевания. Кроме того, это может позволить использовать ЖК и их рецепторы в качестве фармакологических мишеней действия лекарственных средств, замедляющих или прекращающих развитие липидной инфильтрации гепатоцитов.

Целью настоящей работы стало изучение изменений в профиле жирных кислот в печени лабораторных животных при экспериментальном неалкогольном стеатогепатите, вызванном высокожировой диетой и гиподинамией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

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

Лабораторные животные – белые беспородные крысы самцы массой 257 ± 27 г, были получены из ФГУП ПЛЖ «Рапполово» (Ленинградская обл.).

Для моделирования стеатогепатита была использована модификация модели гиперкалорийной высокожировой диеты [17] с составом: стандартный корм [65,5 % от общей массы корма (здесь и далее)], топленый говяжий жир (20 %), изолированный соевый белок (5 %), d-фруктоза (5 %), холин (2 %), холестерин (0,5 %), добавлением натрия глутамата (1 %) и жидкого экстракта креветок (1 %), в сочетании с условиями гиподинамии. Такая диета оказывает влияние на жировой и углеводный обмен животных, способствуя развитию у них стеатоза печени и формированию дисгликемии.

После завершения 14-дневного карантина лабораторные животные были рандомизированы на две группы: интактную ($n = 6$) и контрольную – с моделированием жировой болезни печени ($n = 11$). Интактных животных содержали в вентилируемых клетках (Tecniplast, Италия) при температуре воздуха 20–22 °C, относительной влажности 40–60 %, световом режиме 12:12. Животные контрольной группы находились в условиях гиподинамии (клетках с ячейками, ограничивающими пространство для одной особи, размерами 11 × 18 см) со свободным доступом к воде, и получали в течение 12 месяцев высокожировую диету.

По окончании эксперимента предварительно наркотизированных животных (хлоралгидрат, 350 мг/кг, Merck KGaA, Германия) подвергали эвтаназии, печень извлекали и делали навески массой 5,4 мг. Кроме то-

го, образцы фиксировали в формалине для гистологического исследования. Методом метанолиза сложных липидов в 400 мкл 1 М раствора соляной кислоты в метаноле, в течение 50 минут при 80 °С освобождали жирные кислоты в виде метиловых эфиров. Далее экстрагировали их гексаном (400 мкл), высушивали и обрабатывали в 25 мкл N,O-бис(триметилсилил)-трифторацетамида в течение 7–8 мин при 80 °С для получения триметилсилильных эфиров гидрокси-кислот.

Смесь эфиров в количестве 2 мкл вводили в инжектор ГХ-МС системы 7820N-5975 (Agilent Technologies, США) посредством автоматической системы ввода проб, которая обеспечивает воспроизводимость времен удерживания хроматографических пиков и повышает точность автоматической обработки данных. Для управления и обработки данных использовали штатные программы прибора. Хроматографическое разделение пробы осуществляли на капиллярной колонке с метилсиликоновой привитой фазой HP-5ms Agilent Technologies длиной 25 м и внутренним диаметром 0,25 мм, газ-носитель – гелий. Режим анализа – программированный, скорость нагрева термостата колонки 7 °С/мин в диапазоне 125–320 °С. Выдержка при начальной температуре 1,5 мин. Температура испарителя – 280 °С, соединительного элемента двух приборов – 270 °С, масс-спектрометра – 150–230 °С. Масс-спектрометр – квадрупольный, с ионизацией электронами (70 эВ) использовали в режиме селективных ионов, или масс-фрагментографии, при периодическом сканировании до тридцати ионов в пяти интервалах времени.

Площади пиков маркеров на масс-фрагментограммах интегрировали автоматически по заданной программе с использованием внутреннего стандарта. Затем эти данные вводили в программу расчета, подготовленную в электронных таблицах Excel. Для количественного расчета использовали данные калибровки по дейтерированной тридекановой кислоте. Найденные пики были разделены на высшие ЖК насы-

щенные и ненасыщенные (монодиеновые), альдегиды ЖК, гидрокси-ЖК и стерины.

В качестве биомаркера повреждения печени использовали индекс активности стериол-коА-десатуразы, определяемой как отношение C16:1ω7/C16:0 жирных кислот в составе триглицеридов плазмы [18–20].

Статистическую обработку результатов проводили методами описательной статистики, непараметрического дисперсионного анализа с помощью пакета «Анализ данных» процессора таблиц Excel и специализированной программы статистической обработки данных Statistica v.10. Достоверность различий между группами оценивалась по непараметрическому критерию дисперсионного анализа рангов (тест Краскела – Уоллиса).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе содержания в печени ЖК различных классов обращает на себя внимание существенное снижение суммарного содержания жирных кислот в органе (таблица 1).

Наиболее отчетливо это снижение происходит в классах мононенасыщенных жирных кислот, несколько слабее – для насыщенных жирных кислот. Содержание минорных фракций жирных кислот – их альдегидов и гидрокси-производных, оказалось на низком уровне.

Среди представителей насыщенных жирных кислот при моделировании стеатогепатита статистически значимой динамики не было обнаружено, за исключением додекановой (лауриловой) кислоты, для которой отмечалась тенденция к снижению ее содержания в печени (таблица 2). Однако вкладом этого снижения в общую динамику содержания насыщенных кислот в тканях печени можно пренебречь, так как лауриловая кислота занимает 2–3 % в структуре этой группы ЖК.

Важным является тот факт, что ни для одной из насыщенных жирных кислот не выявлено их накопление в печени. Это подтверждается также тем, что в профи-

Таблица 1. Суммарное содержание жирных кислот разных классов в печени исследуемых групп животных ($M \pm m$, мкг/г ткани)

Table 1. The total content of fatty acids of different classes and sterols in the liver of the studied groups of animals ($M \pm m$, mcg/g of tissue)

Жирные кислоты Fatty acids	Интактные животные Intact animals	Контрольные животные Control animals	Эффект моделирования, % от интактных Modeling effect, % of intact	Достоверность различий, p Significance of differences, p
Насыщенные ЖК Saturated FAs	740 ± 168	544 ± 49	–27	<0,05
Мононенасыщенные ЖК Monounsaturated FAs	636 ± 62	338 ± 48	–47	<0,005
Альдегиды ЖК Aldehydes FAs	26 ± 7	30 ± 4	+17	>0,1
Гидрокси-ЖК Hydroxy-FAs	8 ± 2	6 ± 1	–27	>0,1
Суммарное количество жирных кислот Total fatty acids	1551 ± 22	999 ± 97	–36	<0,05

Таблица 2. Изменение содержания насыщенных жирных кислот в печени крыс при моделировании стеатогепатита ($M \pm m$, мкг/г ткани)

Table 2. Changes in the content of saturated fatty acids in rats liver when modeling steatohepatitis ($M \pm m$, mcg/g of tissue)

Насыщенная жирная кислота Saturated fatty acid	Группа животных Group of animals		Эффект моделирования, % от интактных Modeling effect, % of intact	Достоверность различий, p Significance of differences, p
	Интактные животные Intact animals	Контрольные животные Control animals		
Изотетрадекановая Isotetradecanoic	2,6 $\pm$ 0,6	2,1 $\pm$ 0,6	-27	>0,1
Изопентадекановая Isopentadecanoic	7,5 $\pm$ 1,7	6,2 $\pm$ 1,8	-17	>0,1
Антеизопентадекановая Anteisopentadecanoic	7,0 $\pm$ 1,4	6,4 $\pm$ 1,6	-7	>0,1
Изогексадекановая Isohexadecanoic	35,4 $\pm$ 6,3	25,4 $\pm$ 4,7	-28	>0,1
Гептадекановая Heptadecanoic	566 $\pm$ 143	403 $\pm$ 35	-29	>0,1
Изононадекановая Isononedecanoic	8,3 $\pm$ 1,6	7,6 $\pm$ 1,7	-8	>0,1
Антеизогептадекановая	43,0 $\pm$ 7,6	41,0 $\pm$ 5,1	-5	>0,1
Додекановая Dodecanoic	20,6 $\pm$ 6,2	11,1 $\pm$ 1,9	-45	<0,1
Антеизононадекановая Anteisononeadecanoic	50,1 $\pm$ 3,9	41,1 $\pm$ 5,0	-17	>0,1
Насыщенные ЖК (суммарно) Saturated fatty acids (in total)	740 $\pm$ 167	544 $\pm$ 49	-27	<0,05

ле насыщенных жирных кислот не происходит изменения их структуры. Так, в интактной группе животных ведущую роль в пуле насыщенных жирных кислот играет гептадекановая или стеариновая кислота, доля которой среди всех насыщенных кислот печени составляет 76,5 %. При моделировании стеатогепатита ее доля составляет 74,1 %. Вторую по значимости группу образуют антеизононадекановая, антеизогептеновая и изогексеновая кислоты, доля каждой из которых у животных интактной группы составляет 6,7 %, 5,8 % и 4,8 % соответственно. При моделировании стеатогепатита их доля составила 7,6 %, 7,5 % и 4,7 % соответственно.

Моделирование стеатогепатита у лабораторных животных сопровождалось выраженным (в 2 раза) и статистически значимым снижением содержания мононенасыщенных жирных кислот в печени (таблица 3). Наиболее существенным было уменьшение содержания 9-тетрадеценовой, 7-гексадеценовой, 11-октадеценовой и транс-9-гексадеценовых кислот. На уровне статистических тенденций отмечалось снижение содержания 9-изогексадеценовой и 9-гептадеценовой кислоты.

Наиболее значимую роль играли изменения 11-октадеценовой и транс-9-гексадеценовой кислот, доля которых среди всех мононенасыщенных кислот печени в группе интактных животных достигает 54,8 % и 20,4 %. При моделировании стеатогепатита их доля составила 57,5 % и 13,2 % соответственно. Вторую по значимости группу образуют 7-гексадеценовая и 9-гептадеценовая кислоты, доля которых составляет 7,6 % и 3,7 % соответственно. При моделировании сте-

атогепатита их количество было определено в 5,7 % и 3,2 % соответственно. Вероятно, такое скоординированное снижение содержания этих кислот отражает возникающие при стеатогепатите нарушения в синтезе соответствующих жирных кислот.

Наряду с ЖК определенную роль в физико-химических свойствах клеточных мембран играют альдегиды жирных кислот. Они являются промежуточными продуктами окисления жирных кислот, предшественниками синтеза простагландинов. В группе минорных представителей жирных кислот (альдегиды ЖК и гидрокси-ЖК кислоты) их содержание в тканях печени при моделировании стеатогепатита изменялось незначительно. В таблице 4 представлены данные по представителям этих групп жирных кислот, сдвиги содержания которых носят достоверный характер. Однако даже для них, в связи с крайне низкой представленностью, этими сдвигами можно пренебречь.

Для остальных представителей минорных ЖК (альдегид изогексадекановой, альдегид 11-октадеценовой, альдегид изогептпдекановой, альдегид изотетрадекановой, 3-гидроксидодекановой, 3-гидрокситетрадекановой, 3-гидроксигексадекановой, 10-гидроксидодекановой, 2-гидроксидокозаной, 2-гидрокситетракозановой, 2-гидроксигексакозановой) статистически значимых изменений в их содержании в печени при моделировании стеатогепатита выявлено не было.

В группе стеролов не выявлено существенной динамики их содержания в тканях печени при моделировании стеатогепатита, за исключением холестерина,

Таблица 3. Изменение содержания мононенасыщенных жирных кислот в печени крыс при моделировании стеатогепатита ($M \pm m$, мкг/г ткани)

Table 3. Changes in the content of monounsaturated fatty acids in rats liver when modeling steatohepatitis ($M \pm m$, mcg/g of tissue)

Мононенасыщенная жирная кислота Monounsaturated fatty acid	Группа животных Group of animals		Эффект моделирования, % от интактных Modeling effect, % of intact	Достоверность различий, p Significance of differences, p
	Интактные животные Intact animals	Контрольные животные Control animals		
9-тетрадеценвая 9-tetradecenoic	2,1 $\pm$ 0,5	0,7 $\pm$ 0,1	-68	<0,005
11-тетрадеценвая 11-tetradecenoic	7,7 $\pm$ 2,1	5,0 $\pm$ 1,6	-35	>0,1
7-пентадеценвая 7-pentadecenoic	0,9 $\pm$ 0,3	0,4 $\pm$ 0,1	-51	>0,1
9-изо-гексадеценвая 9-iso-hexadecenoic	0,8 $\pm$ 0,5	0,1 $\pm$ 0,1	-85	<0,1
7-гексадеценвая 7-hexadecenoic	48,6 $\pm$ 12,8	19,3 $\pm$ 2,4	-60	<0,01
11-октадеценвая 11-octadecenoic	349 $\pm$ 35	194 $\pm$ 25	-44	<0,005
9-гептадеценвая 9-heptadecenoic	23,2 $\pm$ 7,6	10,7 $\pm$ 2,2	-54	<0,1
11-эйкозеновая 11-eicosenic	25,5 $\pm$ 3,7	20,9 $\pm$ 3,9	-18	>0,1
транс-9-гексадеценвая trans-9-hexadecenoic	129 $\pm$ 28	44 $\pm$ 13	-65	<0,01
11-гексадеценвая 11-hexadecenoic	9,1 $\pm$ 2,7	12,5 $\pm$ 4,6	+37	>0,1
7-тетрадеценвая 7-tetradecenoic	0,6 $\pm$ 0,2	0,4 $\pm$ 0,1	-20	>0,1
9-эйкозеновая 9-eicosenic	39,6 $\pm$ 6,2	28,7 $\pm$ 3,7	-28	>0,1
Мононенасыщенные ЖК (суммарно) Monounsaturated FA (total)	636 $\pm$ 85	338 $\pm$ 47	-47	<0,005

уровень которого снижался практически в 3 раза по сравнению с контролем (таблица 5).

Обращает на себя внимание, что доля стеролов в печени животных разных групп не меняется, хотя их абсолютное количество становится меньше. Оно сопоставимо с общим снижением содержания ЖК в тка-

нях печени (-36 %). Это снижение может быть частично объяснено снижением клеточной массы печени, обусловленной некротическими и апоптотическими изменениями. Однако для холестерина снижение его содержания в тканях печени было существенно более выражено (-61 %). Достаточно высокая избыточ-

Таблица 4. Изменение содержания минорных жирных кислот в печени при моделировании стеатогепатита (мкг/г ткани, $M \pm m$)

Table 4. Changes in the content of minor fatty acids in liver during modeling of steatohepatitis (mcg/g of tissue, $M \pm m$)

Жирная кислота Fatty acid	Группа животных Group of animals		Эффект моделирования, % от интактных Modeling effect, % of intact	Достоверность различий, p Significance of differences, p
	Интактные животные Intact animals	Контрольные животные Control animals		
Альдегид тетрадекановой кислоты Tetradecanoic acid aldehyde	2,3 $\pm$ 0,5	1,4 $\pm$ 0,1	-37	<0,05
Альдегид 9-октадеценвой кислоты Aldehyde of 9-octadecene acid	7,4 $\pm$ 1,2	16,1 $\pm$ 2,4	+120	<0,05
Aldehydes FAs (sum-marno)	25,8 $\pm$ 7,1	30,3 $\pm$ 3,8	+17	>0,1
3-гидрокситетрадекановая кислота 3-hydroxytetradecanoic acid	0,55 $\pm$ 0,13	0,24 $\pm$ 0,04	-58	<0,05
10-гидроксиоктадекановая кислота 10-hydroxyoctadecanoic acid	3,19 $\pm$ 0,97	1,17 $\pm$ 0,22	-64	<0,05
Гидроксикислоты (суммарно) Hydroxy acids (total)	8,17 $\pm$ 1,77	6,00 $\pm$ 0,83	-23	>0,1

Таблица 5. Изменение содержания стеролов в печени при моделировании стеатогепатита (мкг/г ткани, $M \pm m$)

Table 5. Changes in the content of sterols in liver during modeling of steatohepatitis (mcg/g of tissue, $M \pm m$)

Стерол Sterol	Группа животных Group of animals		Эффект моделирования, % от интактных Modeling effect, % of intact	Достоверность различий, p Significance of differences, p
	Интактные животные Intact animals	Контрольные животные Control animals		
Копростенол Coprostenol	2,6 $\pm$ 0,6	3,2 $\pm$ 1,1	+24	>0,1
Холестендиол Cholestenediol	1,9 $\pm$ 0,3	1,6 $\pm$ 0,2	-13	>0,1
Кампестерол Campesterol	21,0 $\pm$ 4,3	18,2 $\pm$ 0,9	-30	>0,1
Холестадиенон Cholestadienone	1,3 $\pm$ 0,9	1,7 $\pm$ 0,6	+33	>0,1
β -ситостерол β -sitosterol	24,6 $\pm$ 4,8	19,4 $\pm$ 0,8	-21	>0,1
Холестерол Cholesterol	91,9 $\pm$ 13,9	36,3 $\pm$ 9,83	-61	<0,01
Стеро́лы (суммарно) Sterols (total)	143,6 $\pm$ 22,5	81,1 $\pm$ 13,3	-44	<0,05

ная разница не позволяет отнести снижение тканевого уровня холестерина к последствию только гибели гепатоцитов, но может быть связана с угнетением его синтеза.

Известно, что биологическим маркером активности синтеза ненасыщенных жирных кислот является активность печеночного фермента Δ^9 -десатуразы, определяемого по отношению содержания ненасыщенной ЖК к концентрации ее предшественника (насыщенной ЖК) [20]. Среди жирных кислот, содержание которых определялось в данном исследовании, для оценки активности десатуразы была использована пара 9-гептадеценовая и гептадекановая кислоты (таблица 6).

Таблица 6. Содержание 9-гептадеценовой и гептадекановой кислот в печени при моделировании стеатогепатита

Table 6. The content of 9-heptadecenoic and heptadecanoic acids in the liver during modeling of steatohepatitis

Показатель Index	Интактные животные (среднегрупповые значения, n = 6) Intact animals (mean group values, n = 6)	Контрольные животные (среднегрупповые значения, n = 11) Control animals (mean group values, n = 11)
Гептадекановая кислота (мкг/г ткани) Heptadecanoic acid (mcg/g tissue)	566	403
9-гептадеценовая кислота (мкг/г ткани) 9-heptadecene acid (mcg/g tissue)	23,2	10,7
Индекс активности Δ^9 -десатуразы (отн.ед) Δ^9 -desaturase activity index (rel.units)	0,041	0,027

Анализ данных показывает, что в ходе моделирования стеатогепатита гиперкалорийным высоколипидным рационом питания у лабораторных животных возникло снижение синтеза 9-гептадеценовой и гептадекановой кислот соответственно в 2,2 и 1,4 раза.

Еще одна реакция, связанная с синтезом жирных кислот – элонгация, ведущая к наращиванию длины цепи. В случае повышения активности элонгазы должен наблюдаться сдвиг структуры представленности ЖК в сторону роста длины цепи, а при угнетении – снижение доли длинноцепочечных жирных кислот. Данные, характеризующие структуру представленности насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот в печени в зависимости от длины цепи, представлены в таблице 7.

Для мононенасыщенных жирных кислот происходит некоторое снижение доли изоформ гексадеценовой кислоты (на 7 %) при увеличении доли изоформ октадеценовой (+5 %) и эйкозеновой (+5 %) кислот. Статистически значимой такая перестройка структуры представленности мононенасыщенных жирных кислот в печени при моделировании стеатогепатита не является в связи с относительно небольшим числом наблюдений в интактной группе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в печени крыс со стеатогепатитом, вызванным сочетанием гиперкалорийной диеты и гиподинамией, обнаружены статистически значимые изменения профиля и концентраций жирных кислот по сравнению со здоровыми животными – снижение количества как мононенасыщенных, так и насыщенных ЖК. Выявлен факт отсутствия накопления насыщенных ЖК в печени крыс с патологией. Кроме того, при стеатогепатите снижалась активность 5-десатуразы. Продемонстрированные сдвиги состава ЖК могут

отражать как адаптационные, так и патологические изменения в печени животных с НАЖБП и требуют дальнейшего изучения.

Таблица 7. Структура представленности жирных кислот в печени в зависимости от длины цепи (% от суммарной массы соответствующего типа жирных кислот)

Table 7. Structure of fatty acid representation in liver depending on the chain length (% of the total mass of the corresponding type of fatty acids)

Длина цепи Chain length	Насыщенные жирные кислоты Saturated fatty acids		Мононенасыщенные жирные кислоты Monounsaturated fatty acids	
	Интakтные животные Intact animals	Контрольные животные Control animals	Интakтные животные Intact animals	Контрольные животные Control animals
C14	0,5	0,5	1,9	1,9
C15	2	2	0,1	0,1
C16	4,5	4,5	30	23
C17	82	82	4	3
C18	0	0	54	57
C19	8	9	0	0
C20	3	2	10	15
Длинноцепочечные жирные кислоты (C19-C20) суммарно Long-chain fatty acids (C19-C20) in total	11	11	10	15

ЛИТЕРАТУРА

- 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., Алексеенко С. А., Ардатская М. Д., Бакулин И. Г., Бакулина Н. В., Буевров А. О., Виноцкая Е. В., Волюнец 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., Успенных 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):4–52. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-185-1-4-52.
- 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.
- Chalasani N., Younossi Z., Lavine J. E., Charlton M., Cusi K., Rinella M., Harrison S. A., Brunt E. M., Sanyal A. J. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice

- guidance from the American Association for the study of liver diseases. *Hepatology*. 2018;67(1):328–57. DOI: 10.1002/hep.29367.
- 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.
- Saponaro C., Gaggini M., Carli F., Gastaldelli A. The subtle balance between lipolysis and lipogenesis: a critical point in metabolic. *Homeostasis. Nutrients*. 2015;7(11):9453–9474. DOI: 10.3390/nu7115475.
- Boden G., Lebed B., Schatz M., Homko C., Lemieux S. Effects of acute changes of plasma free fatty acids on intramyocellular fat content and insulin resistance in healthy subjects. *Diabetes*. 2001;50(7):1612–1617. DOI: 10.2337/diabetes.50.7.1612.
- Rada P., González-Rodríguez A., García-Monzón C., Valverde Á. M. Understanding lipotoxicity in NAFLD pathogenesis: is CD36 a key driver? *Cell Death & Disease*. 2020;11(9):802. DOI: 10.1038/s41419-020-03003-w.
- Pardo V., González-Rodríguez A., Muntane J., Kozma S. C., Valverde Á. M. Role of hepatocyte S6K1 in palmitic acid-induced endoplasmic reticulum stress, lipotoxicity, insulin resistance and in oleic acid-induced protection. *Food and Chemical Toxicology*. 2015;80:298–309. DOI: 10.1016/j.fct.2015.03.029.
- Cansancao K., Monteiro L. S., Leite N. C., Davalos A., do Carmo M. G. T., Peres W. A. F. Advanced liver fibrosis is independently associated with palmitic acid and insulin levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrients*. 2018;10(11):1586. DOI: 10.3390/nu10111586.
- Hodson L., Bhatia L., Scorletti E., Smith D. E., Jackson N. C., Shojaae-Moradie F., Umpleby M., Calder P. C., Byrne C. D. Docosahexaenoic acid enrichment in NAFLD is associated with improvements in hepatic metabolism and hepatic insulin sensitivity: a pilot study. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2017;71(8):973–979. DOI: 10.1038/ejcn.2017.145.
- Notarnicola M., Caruso M. G., Tutino V., Bonfiglio C., Cozzolongo R., Giannuzzi V., De Nunzio V., De Leonardi G., Abbrescia D. I., Franco I., Intini V., Mirizzi A., Osella A. R. Significant decrease of saturation index in erythrocytes membrane from subjects with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Lipids in Health and Disease*. 2017;16(1):160–167. DOI: 10.1186/s12944-017-0552-0.
- Maciejewska D., Marlicz W., Ryterska K., Banaszczak M., Jamioł-Milc D., Stachowska E. Changes of the fatty acid profile in erythrocyte membranes of patients following 6-month dietary intervention aimed at the regression of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2018;2018:5856201. DOI: 10.1155/2018/5856201.
- Maciejewska D., Drozd A., Ossowski P., Ryterska K., Jamioł-Milc D., Banaszczak M., Raszeja-Wyszomirska J., Kaczorowska M., Sabinicz A., Stachowska E. Fatty acid changes help to better understand regression of nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology*. 2015;21(1):301–310. DOI: 10.3748/wjg.v21.i1.301.
- Goton N., Moroda K., Watanabe H., Yoshinaga K., Tanaka M., Mizobe H., Ichioka K., Tokairin S., Wada S. Metabolism of odd-numbered fatty acids and even-numbered fatty acids in mouse. *Journal of Oleo Science*. 2008;57(5):293–299. DOI: 10.5650/JOS.57.293.
- Li M., Fu W., Li X.-A. Differential fatty acid profile in adipose and non-adipose tissues in obese mice. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2010;3(4):303–307.
- Figueiredo P. S., Inada A. C., Marcelino G., Cardozo C. M. L., Freitas K. C., Guimarães R. C. A., de Castro A. P., do Nascimento V. A., Hiane P. A. Fatty acids consumption: the role metabolic aspects involved in obesity and its associated disorders. *Nutrients*. 2017;9(10):1158. DOI: 10.3390/ijms21114093.
- 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.

18. Осипенко А. Н. Жирные кислоты и их альдегиды как участники атеросклеротического процесса. *Сибирский медицинский журнал*. 2012;27(2):122–126.
19. Kang M., Lee A., Yoo H. J., Kim M., Shin D. Y. Association between increased visceral fat area and alterations in plasma fatty acid profile in overweight subjects: a crosssectional study. *Lipids in Health and Disease*. 2017;16(1):248–257. DOI: 10.1186/s12944-017-0642-z.
20. Lee J. J., Lambert J. E., Hovhannisyan Y., Ramos-Roman M. A., Trombold J. R., Wagner D. A., Parks E. J. Palmitoleic acid is elevated in fatty liver disease and reflects hepatic lipogenesis. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2015;101(1):34–43. DOI: 10.3945/ajcn.114.092262.
10. Hodson L., Bhatia L., Scorletti E., Smith D. E., Jackson N. C., Shojaae-Moradie F., Umpleby M., Calder P. C., Byrne C. D. Docosa-hexaenoic acid enrichment in NAFLD is associated with improvements in hepatic metabolism and hepatic insulin sensitivity: a pilot study. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2017;71(8):973–979. DOI: 10.1038/ejcn.2017.145.
11. Notarnicola M., Caruso M. G., Tutino V., Bonfiglio C., Cozzolongo R., Giannuzzi V., De Nunzio V., De Leonardis G., Abbrescia D. I., Franco I., Intini V., Mirizzi A., Osella A. R. Significant decrease of saturation index in erythrocytes membrane from subjects with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Lipids in Health and Disease*. 2017;16(1):160–167. DOI: 10.1186/s12944-017-0552-0.
12. Maciejewska D., Marlicz W., Ryterska K., Banaszczak M., Jamioł-Milc D., Stachowska E. Changes of the fatty acid profile in erythrocyte membranes of patients following 6-month dietary intervention aimed at the regression of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2018;2018:5856201. DOI: 10.1155/2018/5856201.
13. Maciejewska D., Drozd A., Ossowski P., Ryterska K., Jamioł-Milc D., Banaszczak M., Raszeja-Wyszomirska J., Kaczorowska M., Sabinicz A., Stachowska E. Fatty acid changes help to better understand regression of nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology*. 2015;21(1):301–310. DOI: 10.3748/wjg.v21.i1.301.
14. Goton N., Moroda K., Watanabe H., Yoshinaga K., Tanaka M., Mizobe H., Ichioka K., Tokairin S., Wada S. Metabolism of odd-numbered fatty acids and even-numbered fatty acids in mouse. *Journal of Oleo Science*. 2008;57(5):293–299. DOI: 10.5650/JOS.57.293.
15. Li M., Fu W., Li X.-A. Differential fatty acid profile in adipose and non-adipose tissues in obese mice. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2010;3(4):303–307.
16. Figueiredo P. S., Inada A. C., Marcelino G., Cardozo C. M. L., Freitas K. C., Guimarães R. C. A., de Castro A. P., do Nascimento V. A., Hiane P. A. Fatty acids consumption: the role metabolic aspects involved in obesity and its associated disorders. *Nutrients*. 2017;9(10):1158. DOI: 10.3390/ijms21114093.
17. 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.
18. Osipenko A. N. Fatty acids and their aldehydes as participants in the atherosclerotic process. *Sibirskij Medicinskij Zhurnal = Siberian Medical Journal*. 2012;27(2):122–126. (In Russ.).
19. Kang M., Lee A., Yoo H. J., Kim M., Shin D. Y. Association between increased visceral fat area and alterations in plasma fatty acid profile in overweight subjects: a crosssectional study. *Lipids in Health and Disease*. 2017;16(1):248–257. DOI: 10.1186/s12944-017-0642-z.
20. Lee J. J., Lambert J. E., Hovhannisyan Y., Ramos-Roman M. A., Trombold J. R., Wagner D. A., Parks E. J. Palmitoleic acid is elevated in fatty liver disease and reflects hepatic lipogenesis. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2015;101(1):34–43. DOI: 10.3945/ajcn.114.092262.

REFERENCES

1. 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., Abduganieva 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., Kazuyulin 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. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2021;(1):4–52. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-185-1-4-52.
2. 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.
3. Chalasani N., Younossi Z., Lavine J. E., Charlton M., Cusi K., Rinella M., Harrison S. A., Brunt E. M., Sanyal A. J. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice guidance from the American Association for the study of liver diseases. *Hepatology*. 2018;67(1):328–57. DOI: 10.1002/hep.29367.
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). *Rossiiskij zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2014;24(4):32–38. (In Russ.)
5. Saponaro C., Gaggini M., Carli F., Gastaldelli A. The subtle balance between lipolysis and lipogenesis: a critical point in metabolic. *Homeostasis. Nutrients*. 2015;7(11):9453–9474. DOI: 10.3390/nu7115475.
6. Boden G., Lebed B., Schatz M., Homko C., Lemieux S. Effects of acute changes of plasma free fatty acids on intramyocellular fat content and insulin resistance in healthy subjects. *Diabetes*. 2001;50(7):1612–1617. DOI: 10.2337/diabetes.50.7.1612.
7. Rada P., González-Rodríguez A., García-Monzón C., Valverde Á. M. Understanding lipotoxicity in NAFLD pathogenesis: is CD36 a key driver? *Cell Death & Disease*. 2020;11(9):802. DOI: 10.1038/s41419-020-03003-w.
8. Pardo V., González-Rodríguez A., Muntane J., Kozma S. C., Valverde Á. M. Role of hepatocyte S6K1 in palmitic acid-induced endoplasmic reticulum stress, lipotoxicity, insulin resistance and in oleic acid-induced protection. *Food and Chemical Toxicology*. 2015;80:298–309. DOI: 10.1016/j.fct.2015.03.029.
9. Cansancao K., Monteiro L. S., Leite N. C., Davalos A., do Carmo M. G. T., Peres W. A. F. Advanced liver fibrosis is independently associated with palmitic acid and insulin levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrients*. 2018;10(11):1586. DOI: 10.3390/nu10111586.