

Методические подходы к экспериментальному моделированию неалкогольной жировой болезни печени

Н.В. Бивалькевич, Ю.К. Денисенко, Т.П. Новгородцева

*Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский
институт медицинской климатологии и восстановительного лечения*

Methodical approaches in experimental modelling of non-alcoholic fatty liver disease

N.V. Bivalkevich, Yu.K. Denisenko, T.P. Novgorodtseva

*Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration –
Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment*

Цель обзора. Обобщить данные литературы по способам моделирования неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) у экспериментальных животных, выявить преимущества различных методик, ознакомить с результатами собственных исследований по формированию диет-индуцированной НАЖБП у крыс.

Основные положения. Представлены сведения литературы и собственные данные по экспериментальному моделированию НАЖБП. Имеющиеся на сегодня способы моделирования НАЖБП можно разделить на две обширные группы: развитие патологии печени, вызванной генетической мутацией, и формирование НАЖБП в фенотипе вследствие воздействия алиментарного фактора. Генетические модели подразделяются на две категории. В первой печень лабораторных животных является основной патогенетической мишенью, метаболические нарушения развиваются незначительно (линии животных с отсутствием гена ацил-КоА оксидазы, нокаут-мыши по гену метионин-аденозил трансферазы-1А и животные с удаленным специфическим печеночным геном гомолога фосфатазы и тензина). Ко второй

The aim of review. To generalize literature data on ways of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) modelling in experimental animals, to reveal advantages of various techniques, to present results of original studies on diet-induced NAFLD at rats.

Key points. Data of the literature and author's original data on experimental NAFLD modelling are presented. Today's methods of NAFLD modelling can be divided into two extensive groups: induction of liver disease by genetic mutation, and phenotypic development of NAFLD due to alimentary factor. Genetic models are subdivided into two categories. In the first the liver of laboratory animals is the main pathogenic target, metabolic disorders develop insignificantly (lines of animals with of Acetyl-CoA oxidase gene deletion, knockout-mice for methionine-adenosyl transferases-1A gene and animals with deleted specific hepatic phosphatase and tensin homologue gene). Genetic models of NAFLD developing on background of obesity and metabolic syndrome represent the second category (animals, with leptin gene deletion – ob/ob, mice resistant to leptin action, – db/db and transgenic mice with excessive expression of styrene-regulating element of protein-1

Бивалькевич Наталия Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований Владивостокского филиала ДНЦ ФПД – НИИМКВЛ. Контактная информация: natellav@inbox.ru; 690105, Владивосток, ул. Русская, д. 73-г. Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения
Денисенко Юлия Константиновна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией биомедицинских исследований Владивостокского филиала ДНЦ ФПД – НИИМКВЛ
Новгородцева Татьяна Павловна – доктор биологических наук, профессор, заместитель директора по науке Владивостокского филиала ДНЦ ФПД – НИИМКВЛ

категории относятся генетические модели НАЖБП, развивающиеся на фоне ожирения и метаболического синдрома (животные, лишённые гена лептина, – ob/ob, мыши, имеющие резистентность к действию лептина, – db/db и трансгенные мыши с избыточной экспрессией стиролрегулирующего элемента изоформы белка-1). Диет-индуцированные модели НАЖБП вызывают воздействием на животных различными алиментарными факторами. К ним относят метионин-холиндефицитную диету, рацион, обогащенный фруктозой, и разнообразные вариации высокожировой диеты. При формировании диет-индуцированной НАЖБП развивается комплекс гистологических и метаболических нарушений в печени, максимально приближенных к клиническим проявлениям данного заболевания у человека.

Заключение. Существует большое количество разнообразных способов моделирования НАЖБП у животных. Различные методы могут использоваться для подтверждения или опровержения гипотез патогенеза НАЖБП. В зависимости от поставленных задач исследования необходимо выбирать наиболее оптимальный способ моделирования НАЖБП, позволяющий выявить то или иное звено патологических механизмов развития заболевания и определить стратегию гепатотропного лечения.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, неалкогольный стеатогепатит, стеатоз, экспериментальное моделирование.

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) является одним из наиболее распространенных заболеваний гепатобилиарной системы. В США на ее долю приходится 20–30% в структуре популяции, в азиатских странах – 12–24%. В связи с тенденцией к увеличению потребления населением высококалорийной пищи и снижением физической активности жителей развитых стран распространенность НАЖБП по всему миру значительно увеличилась за последние десятилетия [8, 9, 13, 18, 23, 31, 40]. При этом в настоящее время существует очень мало эффективных подходов к решению вопросов профилактики и лечения НАЖБП, чему мешает отсутствие четкого понимания этиологии и механизмов развития этого заболевания [9, 15, 16]. Важную роль в изучении данных вопросов играет использование приемлемых экспериментальных моделей формирования НАЖБП.

Исследование патогенетических и саногенетических аспектов заболеваний печени необходимо проводить с использованием экспериментальных моделей, преимуществом которых является возможность изучить структурные изменения ткани органа, сходные с таковыми у человека, но формирующимися за более короткий период времени [11, 12, 20, 38]. Оптимальная модель неалкогольной жировой болезни печени на животных

isoform. Diet-induced models of NAFLD are engendered by modulation of various alimentary factors. They include methionine choline-deficient diet, fructose-enriched diet and various variations of high-fat diet. At diet-induced NAFLD the liver undergoes a complex of histological and metabolic disorders to the high extent close to clinical symptoms of this disease in humans.

Conclusion. There is a set of various ways of NAFLD modelling in animals. Numerous methods can be used for confirmation or refutation of NAFLD pathogenesis hypotheses. It is necessary to choose the optimal way of NAFLD modelling, allowing to reveal certain part of pathologic mechanisms of disease and to determine strategy of hepatotropic treatment according to determined task.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis, steatosis, experimental modelling.

должна отражать все гистопатологические и патофизиологические особенности поражения печени, встречающиеся у человека при рассматриваемом заболевании. Соответственно в печени у животных с моделью НАЖБП должен выявляться стеатоз, внутридольковое воспаление, гепатоцеллюлярная баллонная дистрофия, перисинусоидальный фиброз. Кроме того, должны наблюдаться метаболические нарушения, такие как инсулинорезистентность, гипергликемия, дислипидемия, изменение адипокинового профиля, развитие ожирения [11, 22, 34, 37].

У животных НАЖБП может быть воспроизведена разными способами, которые приводят к изменению жирового обмена в печени – дисбалансу между липогенезом и липолизом. Эти способы можно разделить на две обширные группы: развитие патологии печени, вызванной генетической мутацией, и формирование НАЖБП в фенотипе (см. таблицу). Последняя группа объединяет модели, индуцированные алиментарным фактором [11, 12, 20, 38].

Генетические модели НАЖБП можно подразделить также на две категории: первая категория – развитие стеатогепатита сопровождается минимальными метаболическими отклонениями, во второй – стеатоз развивается в контексте ожирения и метаболического синдрома, но с незначи-

тельной и непрогрессирующей формой поражения печени [11, 20, 26, 29].

В первом случае используются линии мышей с инактивированным геном *ацил-КоА оксидазы* (АСОХ), нокаут-мыши по гену метионин-аденозил трансферазы-1А (линия МАТО-мышей) и животные (мыши) с удаленным специфическим *печеночным геном гомолога фосфатазы и тензина* (PTEN) [17, 26, 35]. Экспрессия ацил-КоА оксидазы является первой и лимитирующей стадией пероксисомального β -окисления длинноцепочечных жирных кислот. Удаление гена АСОХ приводит к тяжелым формам стеатоза, воспалительной инфильтрации печени и активному апоптозу гепатоцитов. Однако у животных не наблюдаются признаки метаболического синдрома. Кроме того, на 6–8-м месяце у мышей с инактивируемым геном АСОХ формируется устойчивость к развитию стеатоза после запуска процесса регенерации печени, что связано с индукцией пероксисомального *пролифератор-активируемого рецептора* (PPAR) [19, 26, 32]. Данный феномен ограничивает применение этой модели для изучения патогенеза стеатогепатита.

У мышей линии МАТО (лишенные гена МАТ-1А) стеатогепатит развивается примерно в возрасте 8 месяцев. Известно, что метионин-аденозил трансфераза-1А участвует в синтезе фосфатидилхолина — фосфолипиды, необходимого для экспорта триглицеридов печени. Стеатогепатит у МАТО-мышей сопряжен с повышением окис-

лительного стресса, усилением экспрессии медиаторов воспаления и гепатоканцерогенезом на более поздней стадии заболевания печени. Однако на фоне гипергликемии у них обнаруживается нормальный уровень инсулина и не развиваются другие признаки метаболического синдрома [30].

У животных, лишенных гена многофункциональной фосфатазы PTEN, которая отвечает за специфическое дефосфорилирование сигнального липида фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфата, развивается стеатогепатит на фоне повышенной чувствительности к инсулину. Как и у мышей МАТО, в печени животных с удаленным геном PTEN наблюдается предрасположенность к гепатоканцерогенезу, сроки развития которого совпадают с развитием стеатогепатита. Поэтому трудно разграничить эффекты стеатогепатита и опухолевой трансформации печени при данных методах моделирования НАЖБП [17].

Во втором случае для развития генетически индуцированной модели НАЖБП используются: линии животных, имеющие мутации гена лептина (*ob/ob*) — лептин-дефицитные; линии животных с мутацией рецептора лептина (*db/db*) — резистентные к действию лептина; трансгенные животные с избыточной экспрессией стиролрегулирующего элемента изоформы белка-1 (SREBP-1c) в жировой ткани.

У животных линий *ob/ob*, *db/db* наблюдаются развитие ожирения, инсулинорезистентность

Основные метаболические и гистологические показатели при моделировании неалкогольной жировой болезни печени у животных

Модель НАЖБП	Ожирение	Инсулино-резистентность	Дислипидемия	Стеатоз	Стеатогепатит	Фиброз
Генетические модели						
АСОХ	—	—	Нет данных	+/- (не устойчивый)	+/- (не устойчивый)	—
МАТО-мыши	—	—	Нет данных	+	+	+
PTEN	—	—	Нет данных	+	-/+ (не спонтанный)	—
<i>ob/ob</i> -мыши	+	+	+	+	—	—
<i>db/db</i> -мыши	+	+	+	+	—	—
SREBP-1c	—	+	+	+	+	+
Диет-индуцированные модели						
МХД	—	—	Нет данных	+	+	+
Фруктоза	+	+	+	+	+/- (отличие в локализации)	—
ВЖД [21]	+	+	+	+	+	—
ВЖД [29]	+	+	+	+	+	+
ВЖД [10]	+	+	+	+	+	+

Примечания: АСОХ — мыши, лишенные гена ацетил-КоА оксидазы; МАТО-мыши — животные, лишенные гена метионин-аденозил трансферазы-1А; PTEN — животные, лишенные гена гомолога фосфатазы и тензина; SREBP-1c — мыши, лишенные гена стиролрегулирующего элемента изоформы белка; МХД — метионин-холиндефицитная диета; ВЖД — высокожировая диета. «—» — нет данного признака, «+» — данный признак хорошо проявляется.

и стеатоз печени. Однако отмечается устойчивость к прогрессированию НАЖБП до стеатонекроза и фиброза [28]. Так как лептин играет значительную роль в прогрессировании стеатоза у пациентов с ожирением, что связано с его способностью активировать фиброгенную трансформацию звездчатых клеток печени [27, 28, 32], то запускаемые патогенетические процессы у крыс в данных генетических моделях не соответствуют реальным механизмам формирования НАЖБП у людей.

У трансгенных мышей с избыточной экспрессией SREBP-1с формируется врожденная липодистрофия, при которой развиваются инсулинорезистентность и нарушение жировой дифференциации. У животных отмечается потеря жировой массы [33]. В печени уже в 8-дневном возрасте наблюдается накопление липидов. На 20-й неделе при стандартном рационе у SREBP-1с трансгенных мышей формируются стеатоз, очаговое воспаление, превенулярный и перипортальный фиброз. Отмечаются такие важные гистологические особенности для диагностики стеатогепатита, как баллонная дистрофия гепатоцитов и формирование телец Маллори. Тем не менее, в возрасте 20 недель у животных снижаются уровни сывороточного лептина и адипонектина на фоне повышенного содержания триглицеридов и холестерина в крови. При этом уровень аланинаминотрансферазы не увеличивается, тогда как количество аспартатаминотрансферазы в сыворотке крови возрастает [26]. В целом эта модель хорошо подходит для изучения стеатогепатита, связанного с липодистрофией. Однако формирование НАЖБП в клинической практике, как правило, сопровождается ожирением и повышенным уровнем сывороточного лептина [23, 26]. Таким образом, использование данной генетической модели в исследованиях патогенеза НАЖБП ограничено.

Формирование диет-нидующих моделей также широко применяется в области экспериментального моделирования НАЖБП. Использование *метионин-холиндефицитной* (МХД) диеты позволяет моделировать тяжелую степень стеатоза печени и некротические изменения с воспалительным ответом уже на 2-й неделе эксперимента с дальнейшим прогрессированием до септального и препортального фиброза [20]. При всем сходстве патологических изменений в печени между НАЖБП, вызванной метионин-холиндефицитной диетой у крыс, и клиническим течением НАЖБП отмечаются и некоторые различия. Так, при экспериментальном моделировании заболевания у крыс, содержащихся на МХД диете, наблюдается значительная потеря мышечной и жировой массы (до 40% за 10 нед). В эксперименте при МХД диете у животных не возникает инсулинорезистентность [36]. Эти изменения не отражают патофизиологию НАЖБП в клинической практике. Кроме того, заболевание развивается не у всех

животных, содержащихся на экспериментальном рационе (см. таблицу). В зависимости от вида, пола и линии животных может наблюдаться резистентность к МХД диете. Эти несоответствия ограничивают использование указанной модели в исследованиях [20].

Поскольку неалкогольная жировая болезнь печени рассматривается как печеночное проявление метаболического синдрома, данный факт предполагает использование экспериментальных моделей последнего для формирования НАЖБП у животных [11, 26], например модели с применением рациона, богатого фруктозой. При содержании животных на диете, включающей 70% фруктозы, на 5-й неделе эксперимента у них развиваются макровезикулярный стеатоз и внутريدольковое воспаление, увеличивается масса печени. Однако распределение жирового гепатоза внутри долек печени обнаруживается в 1-й аценарной зоне, в то время как в гистологических образцах, взятых у людей с НАЖБП, преобладание стеатозированных гепатоцитов отмечается в 3-й зоне [24, 38].

Диета с высоким содержанием жиров также довольно широко используется для формирования стеатоза и неалкогольного стеатогепатита у животных [7, 10, 11, 12, 20, 21, 26, 38, 40, 41]. НАЖБП, вызванная в эксперименте воздействием *высокожировой диеты* (ВЖД), аналогична этому заболеванию у человека. У подопытных животных, содержащихся на такой диете, помимо гистопатологических изменений, характерных для НАЖБП у людей, развиваются ожирение, дислипидемия, инсулинорезистентность. Кроме того, высокожировой рацион вызывает формирование НАЖБП у всех экспериментальных животных [2, 3, 7, 10, 21].

Высокожировая диета может приводить к различной степени развития стеатоза, воспаления и фиброза, что определяется характером рациона (процентное содержание и состав жиров) и продолжительностью его применения. Так, при воздействии ВЖД по J.G. Fan и соавт. (10% растительного масла, сала и 2% холестерина от общего состава рациона) у крыс в течение 12 нед происходит жировая инфильтрация печени и формируется стеатоз. Недостатком данного метода является низкая вероятность развития глубоких структурных повреждений печени, способствующих формированию стеатогепатита и фиброза [21]. Известна модель C.S. Lieber и соавт. при которой НАЖБП формируется путем интрагастрального кормления животных эмульсией с высоким содержанием растительных жиров (71% от общего рациона). При данной экспериментальной модели на 21-е сутки происходит формирование стеатоза, воспалительной инфильтрации печени на фоне окислительного стресса и инсулинорезистентности [29].

Обзор данной литературы по моделированию НАЖБП показал, что наиболее часто в экспери-

менте используются линии животных ob/ob и db/db, а также диет-индуцированная модель с дефицитом метионин-холина. Тем не менее, эти модели по механизму развития отличаются от патогенеза неалкогольной жировой болезни печени в клинической практике [11, 12, 20, 38], в связи с чем актуальной задачей современной экспериментальной гепатологии является разработка способа моделирования НАЖБП, максимально отражающего ее клинические проявления у человека.

Авторами статьи был разработан способ моделирования неалкогольной жировой болезни печени у крыс линии Вистар [10]. В основе модели лежит пролонгированное воздействие на животных (в течение 180 сут) высокожировой диетой, обогащенной топленым говяжьим салом (19%) и холестерином (2%) от общего рациона. Избыточное потребление жиров является патогенетическим механизмом развития стеатоза печени, при этом введение в рацион холестерина оказывает дополнительную нагрузку, способствующую развитию воспаления. К тому же увеличение срока алиментарного воздействия позволяет сформировать тяжелую степень стеатогепатита и запустить механизмы фиброгенеза [25, 31].

Подтверждением развития НАЖБП у крыс при использовании высокожировой диеты стало изменение гистоструктуры печени. Уже на 30-е сутки эксперимента морфологическое исследование выявило нарушение балочной структуры печеночных долек, гепатоциты в паренхиме располагались беспорядочно. Гипертрофированные клетки печени были наполнены жировыми включениями, отмечалось сужение просветов синусоидных капилляров. Данная морфологическая картина характеризует формирование стеатоза. Высокожировая нагрузка в течение 90 сут способствовала переходу стадии стеатоза в стеатогепатит, что подтверждалось формированием фокальных участков некроза гепатоцитов с лимфомакрофагальной инфильтрацией паренхимы печени.

На 180-е сутки воздействия высокожировым рационом гистоструктура подвергалась значительным изменениям, выразившимся в увеличении площади некротизированных зон (10–15% от общей площади исследуемых участков печени), окруженных лимфомакрофагальным инфильтратом, в нарушении балочного строения печеночных долек. На препаратах, окрашенных по Ван-Гизону, в препортальной зоне четко обнаруживались коллагеновые волокна, что является прямым доказательством сформировавшегося фиброза.

Результаты исследования показали, что воздействие высокожировым рационом способствовало развитию у крыс неалкогольной жировой болезни

печени: на 30-е сутки моделирования НАЖБП формировался стеатоз, на 90-е сутки — стеатогепатит, на 180-е сутки — фиброз [2, 3, 10].

Помимо структурной реорганизации печени предложенный способ моделирования НАЖБП сопровождается стабильной прибавкой в весе, а также метаболическими нарушениями у всех подопытных животных. Формируются основополагающие патогенетические факторы, индуцирующие заболевания печени, такие как дислипидемия (проявляющаяся увеличением в сыворотке крови уровня общего холестерина, триглицеридов, холестерина липопротеинов очень низкой плотности), гипергликемия (выражающаяся повышением уровня глюкозы в крови на всех сроках моделирования НАЖБП), окислительный стресс (характеризующийся интенсификацией процессов *перекисного окисления липидов* — ПОЛ и истощением механизмов антиоксидантной защиты) [6, 7, 10].

В предложенном способе моделирования НАЖБП были инициированы основные патогенетические триггерные механизмы, запускающие процессы фиброгенеза. Так, нарушение липидного обмена, отложение в печени избыточного количества легкоокисляемого жира активируют процессы ПОЛ, усугубляют структурно-функциональную дезорганизацию органа, становятся независимыми патогенетическими звеньями в общей цепочке механизмов формирования заболевания гепатобилиарной системы. Продукты липопероксидации способны повреждать мембраны гепатоцитов, активировать звездчатые клетки печени с развитием воспаления и фиброза. Гиперактивация процессов перекисидации липидов сопровождается значительным изменением состава и степени окисленности мембранных фосфолипидов, что в конечном итоге приводит к нарушению целостности клеточных мембран, расстройству функционирования рецепторного аппарата, снижению толерантности к глюкозе, развитию гипергликемии, гиперферментемии [1, 4, 14]. Следовательно, высокожировой рацион является наиболее приближенным детерминирующим фактором развития НАЖБП у людей.

Проведенный обзор показал, что на сегодняшний день в экспериментальной гепатологии применяется большое количество способов моделирования НАЖБП, которые могут использоваться для подтверждения или опровержения многочисленных гипотез патогенеза заболевания. В зависимости от поставленных задач исследования необходимо выбирать наиболее оптимальный способ, позволяющий выявить то или иное звено патологических механизмов развития НАЖБП и определить стратегию гепатотропного лечения.

Список литературы

1. *Бабак О.Я., Колесникова Е.В.* Патогенетические механизмы формирования неалкогольной жировой болезни печени: фокус на клиническое применение адеметионина. *Сучасна Гастроентерологія* 2011; 59(3):56-63.
1. *Babak O.Ya., Kolesnikova Ye.V.* Pathogenic mechanisms of development of non-alcoholic fatty liver disease: focus on clinical application of ademetionine. *Suchasna Gastroenterologiya* 2011; 59(3):56-63.
2. *Бивалькевич Н.В., Караман Ю.К.* Морфологические изменения ткани печени при экспериментальной дислипидемии. *Бюлл СО РАМН* 2010; 141(1):48-52.
2. *Bivalkevich N.V., Karaman Yu.K.* Morphological changes of liver tissue at experimental dyslipidemia. *Byull SO RAMN* 2010; 141(1):48-52.
3. *Бивалькевич Н.В., Караман Ю.К.* Экспериментальное обоснование применения фукоидана в качестве гепатопротекторного средства при неалкогольной жировой болезни печени. *Тихоокеанский мед журн* 2012; 47(1):41-3.
3. *Bivalkevich N.V., Karaman Yu.K.* Experimental proof of fucoidan application as hepatoprotector agent at non-alcoholic fatty liver disease. *Tikhookeansky med zhurn* 2012; 47(1):41-3.
4. *Буеверова Е.Л., Драпкина О.М., Ивашкин В.Т.* Атерогенная дислипидемия и печень. *Рос мед вести* 2008; 8(1):17-23.
4. *Buyeverova Ye.L., Drapkina O.M., Ivashkin V.T.* Atherogenic dyslipidemia and the liver. *Ros med vesti* 2008; 8(1):17-23.
5. *Звенигородская Л.А., Егорова Е.Г.* Поражение печени при инсулинорезистентности. *Экспер клин гастроэнтерол* 2007; 1:20-4.
5. *Zvenigorodskaya L.A., Yegorova Ye.G.* Liver injury at insulin resistance. *Ekspier klin gastroenterol* 2007; 1:20-4.
6. *Караман Ю.К., Новгородцева Т.П., Бивалькевич Н.В.* и др. Регуляторная роль оксида азота и монооксида углерода при окислительном стрессе в условиях экспериментальной дислипидемии. *Рос физиол журн им. И.М. Сеченова* 2010; 5:529-38.
6. *Karaman Yu.K., Novgorodtseva T.P., Bivalkevich N.V.* et al., Regulatory role of nitric oxide and carbon monoxide at oxidizing stress in experimental dyslipidemia. *Ros fiziol zhurn im. I.M. Sechenova* 2010; 5:529-38.
7. *Караман Ю.К., Новгородцева Т.П., Гвозденко Т.А.* и др. Моделирование неалкогольного стеатогепатита. *Бюлл эксперим биол мед* 2012; 153(3):378-82.
7. *Karaman Yu.K., Novgorodtseva T.P., Gvozdenko T.A.* et al. Modelling of non-alcoholic steatohepatitis. *Byull eksperim biol med* 2012; 153(3):378-82.
8. *Кривошеев А.Б., Куимов А.Д., Кривошеева И.А.* и др. Метаболические нарушения у больных неалкогольным стеатогепатитом. *Бюлл СО РАМН* 2007; 128(6):91-8.
8. *Krivosheev A.B., Kuimov A.D., Krivosheyeva I.A.* et al. Metabolic disorders in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Byull SO RAMN* 2007; 128(6):91-8.
9. *Павлов Ч.С., Глушенков Д.В., Буличенко М.А.* и др. Неалкогольная жировая болезнь печени в клинике внутренних болезней. *Рус мед журн. Болезни органов пищеварения* 2010; 28:1742-8.
9. *Pavlov Ch.S., Glushenkov D.V., Bulichenko M.A.* et al. Non-alcoholic fatty liver disease in internal diseases clinic. *Rus med zhurn. Bolezni organov pischevareniya* 2010; 28:1742-8.
10. Патент РФ № 2394281. «Способ моделирования неалкогольного стеатогепатита у крыс» (авторы – *Караман Ю.К., Новгородцева Т.П., Бивалькевич Н.В., Лобанова Е.Г.*). Опубликовано 10.07.2010 *Бюлл. № 19.*
10. Patent of the Russian Federation № 2394281. «The method of modelling of non-alcoholic steatohepatitis in rats» (authors: *Karaman Yu.K., Novgorodtseva T.P., Bivalkevich N.V., Lobanova E.G.*). Published on 10.07.2010 *Bull. № 19.*
11. *Anstee Q.M., Goldin R.D.* Mouse models in non-alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis research. *Int J Exp Pathol* 2006; 87:1-16.
12. *Baumgardner J., Shankar K., Hennings L.*, et al. A new model for nonalcoholic steatohepatitis in the rat utilizing total enteral nutrition to overfeed a high-polyunsaturated fat diet. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294:27-38.
13. *Bedogni G., Miglioli L., Masutti F.*, et al. Incidence and natural course of fatty liver in the general population: The Dionysus Study. *Hepatology* 2007; 46:1387-91.
14. *Choi S.S., Diehl A.M.* Hepatic triglyceride synthesis and nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Lipidol* 2008; 3(19):295-300.
15. *Cobo Martin M.* Treatment of fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 4:229-38.
16. *Dunjak M., Tomasic V., Gomercic M.*, et al. Therapy of nonalcoholic fatty liver disease: current status. *J Physiol Pharmacol* 2009; 7:57-66.
17. *Horie Y., Suzuki A., Kataoka E.*, et al. Hepatocyte-specific Pten deficiency results in steatohepatitis and hepatocellular carcinomas. *J Clin Invest* 2004; 113:1774-83.
18. *Hubscher G.* Histological assessment of non-alcoholic fatty liver disease. *Histopathology* 2008; 49:450-65.
19. *Fan C.-Y., Pan J., Usuda N.*, et al. Steatohepatitis, spontaneous peroxisome proliferation and liver tumours in mice lacking peroxisomal fatty acyl-CoA oxidase. *J Biol Chem* 1998; 273:639-45.
20. *Fan J.G., Qiao L.* Commonly used animal models of non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 8:233-40.
21. *Fan J.G., Zhong L., Xu Z.J.*, et al. Effect of low-calorie diet on steatohepatitis in rats with obesity and hyperlipidemia. *World J Gastroenterol* 2003; 9:2045-9.
22. *Fracanzani A.L., Valenti L., Bugianesi E.*, et al. Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: a role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology* 2008; 48:792-8.
23. *Jou J., Choi S., Diehl A.* Mechanisms of disease progression in nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis* 2008; 28:370-9.
24. *Kawasaki T., Igarashi K., Koeda T.*, et al. Rats fed fructose-enriched diets have characteristics of nonalcoholic hepatic steatosis. *J Nutr* 2009. Vol. 11:2067-71. doi:10.3945/jn.109.105858.
25. *Kleemann R., Verschuren L., van Erk M.J.*, et al. Atherosclerosis and liver inflammation induced by increased dietary cholesterol intake: a combined transcriptomics and metabolomics analysis. *Genome Biol* 2007; 8:200.1-200.16. doi:10.1186/gb-2007-8-9-r200.
26. *Larter C., Yeh M.* Animal models of NASH: getting both pathology and metabolic context right. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23:1635-48.
27. *Leclercq I.A., Farrell G.C., Schriemer R.*, et al. Leptin is essential for the hepatic fibrogenic response to chronic liver injury. *J Hepatol* 2002; 37:206-13.
28. *Li Z., Oben J.A., Yang S.*, et al. Norepinephrine regulates hepatic innate immune system in leptin-deficient mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2004; 38:434-41.
29. *Lieber C.S., Leo M.A., Mak K.M.*, et al. Model of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Clin Nutr* 2004; 3(79):502-9.
30. *Masuko H.C., Chalasani N.* Nonalcoholic fatty liver disease: an emerging threat to obese and diabetic individuals. *Ann N Y Acad Sci* 2013. doi:10.1111/nyas.12016.
31. *Matsusue K., Haluzik M., Lambert G.*, et al. Liver specific disruption of PPAR in leptin-deficient mice improves fatty liver but aggravates diabetic phenotypes. *J Clin Invest* 2003; 111:737-47.
32. *Martinez-Chantar M.L., Corrales F.J., Martinez-Cruz L.A.*, et al. Spontaneous oxidative stress and liver tumors in mice lacking methionine adenosyltransferase 1A. *FASEB J* 2002; 16:1292-4.

33. Nakayama H., Otabe S., Ueno T., et al. Transgenic mice expressing nuclear sterol regulatory element-binding protein 1c in adipose tissue exhibit liver histology similar to nonalcoholic steatohepatitis. *Metabolism* 2007; 56:470-5.
34. Paschos P., Paletas P. Non alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. *Hippokratia* 2009; 13(1):9-19.
35. Puppala J., Siddapuram S.P., Akka J., et al. Genetics of nonalcoholic Fatty liver disease: an overview. *J Genet Genomics* 2013; 40(1):15-22.
36. Rinella M.E., Elias M.S., Smolak R.R., et al. Mechanisms of hepatic steatosis in mice fed a lipogenic methionine choline-deficient diet. *J Lipid Res* 2008; 5(49):1068-76. doi:10.1194/jlr.M800042-JLR200.
37. Stein L., Dong M., Loomba R. Insulin sensitizers in nonalcoholic fatty liver disease and steatohepatitis: Current status. *Adv Ther* 2009; 10:893-907.
38. Takahashi Y., Soejima Y., Fukusato T. Animal models of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2012; 19(19):2300-8.
39. Tilg H., Moschen A. Update on nonalcoholic fatty liver disease: genes involved in nonalcoholic fatty liver disease and associated inflammation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010; 13(4):391-6.
40. Wang Y., Ausman L., Greenberg A., et al. Nonalcoholic steatohepatitis induced by a high-fat diet promotes diethylnitrosamine-initiated early hepatocarcinogenesis in rats. *Int J Cancer* 2009; 3:540-6.
41. Wang Y., Ausman L., Russell R., et al. Increased apoptosis in high-fat diet-induced nonalcoholic steatohepatitis in rats is associated with c-Jun NH2-Terminal Kinase. Activation and elevated proapoptotic bax. *J Nutr* 2008; 10:1866-71.