

doi 10.18699/vjgb-26-88

Способность FGF21 снижать выраженность признаков неалкогольной жировой болезни печени у мышей зависит от пола и диеты

Н.Ю. Балыбина , Е.Н. Макарова , Т.В. Яковлева , А.Ю. Казанцева , Н.М. Бажан 

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

 n.yu.balybina@gmail.com

Аннотация. Потребление высококалорийной пищи вызывает развитие ожирения и неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). Патогенез НАЖБП зависит от состава диеты. Введение фактора роста фибробластов 21 (FGF21) ожиревшим мышам улучшает метаболизм и состояние печени, однако зависимость этого эффекта от пола и состава диеты еще не изучена. Цель нашего исследования – изучить влияние пола на состояние печени у мышей с алиментарным ожирением, вызванным диетами разного состава, и на способность FGF21 благотворно влиять на метаболическую функцию печени. Ожирение индуцировали у самцов и самок мышей C57BL/6J высокожирной диетой (ВЖД) или диетой кафетерия (ДК). После развития ожирения мышам вводили FGF21 (1 мг/кг, 7 дней) и оценивали морфофункциональное состояние печени и экспрессию генов, участвующих в процессах метаболизма жиров и углеводов, воспаления, фиброза и апоптоза в ткани печени. При содержании на ВЖД стеатоз печени у самок был менее выражен, чем у самцов. FGF21 не влиял на площадь липидных капель у особей обоих полов, но оказывал зависящее от пола влияние на экспрессию генов: у самок снижал экспрессию генов гликолиза и липогенеза, препятствуя отложению липидов, а у самцов – генов воспаления, апоптоза и фиброза, предотвращая переход стеатоза в стеатогепатит (воспаление печени). При содержании на ДК у мышей обоих полов развивался выраженный стеатоз. FGF21 снижал содержание липидов в печени независимо от пола. Однако только у самок FGF21 снижал экспрессию гена *Cidec*, участвующего в образовании липидных капель, и повышал количество апоптотных телец. У самцов эффект FGF21 на накопление липидов в печени, по-видимому, опосредован действием на другие ткани: жировую, мышечную и т.д. Таким образом, у мышей с ожирением половые различия в степени выраженности стеатоза печени зависели от типа диеты и проявлялись только на фоне ВЖД. Введение FGF21 приводило к уменьшению общей площади липидных капель в печени у мышей обоих полов только на фоне выраженного стеатоза, вызванного содержанием на ДК. Влияние FGF21 на экспрессию генов в печени зависело от пола как на фоне высокожирной диеты, так и на фоне диеты кафетерия.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП); стеатоз; FGF21; диета; ожирение; половые различия; печень

Для цитирования: Балыбина Н.Ю., Макарова Е.Н., Яковлева Т.В., Казанцева А.Ю., Бажан Н.М. Способность FGF21 снижать выраженность признаков неалкогольной жировой болезни печени у мышей зависит от пола и диеты. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(6):863-874. doi 10.18699/vjgb-26-88

Финансирование. Работа выполнена при поддержке РНФ, проект № 23-15-00093.

Вклад авторов. Балыбина Наталья Юрьевна – обработка результатов эксперимента, написание статьи; Казанцева Антонина Юрьевна – проведение экспериментов, обработка результатов экспериментов, редактирование статьи; Макарова Елена Николаевна – планирование и проведение экспериментов, редактирование статьи; Яковлева Татьяна Владимировна – обработка результатов, редактирование статьи; Бажан Надежда Михайловна – идея работы, планирование экспериментов, утверждение окончательной версии публикации.

The ability of FGF21 to ameliorate signs of non-alcoholic fatty liver disease in mice depends on sex and diet

N.Yu. Balybina , E.N. Makarova , T.V. Jakovleva , A.Yu. Kazantseva , N.M. Bazhan 

Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

 n.yu.balybina@gmail.com

Abstract. Consumption of high-calorie food leads to the development of obesity and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). The pathogenesis of NAFLD depends on the composition of the diet. Administration of fibroblast growth factor 21 (FGF21) to obese mice improves metabolism and liver condition; however, the dependence of this effect on sex and diet composition has not been studied. Objective: To investigate the influence of sex on liver condition in mice with diet-induced obesity caused by different diets and on the ability of FGF21 to beneficially affect liver function. Obesity was induced in male and female C57BL/6J mice using a high-fat diet (HFD) or a cafeteria diet (DCaf). After obesity development, mice were administered FGF21 (1 mg/kg for 7 days), and the morphofunctional state and gene expression

in the liver were assessed. When maintained on an HFD, hepatic steatosis was less severe in females than in males. FGF21 did not affect the lipid droplet area in individuals of either sex but exerted a sex-dependent influence on gene expression: in females, it reduced the expression of glycolysis and lipogenesis genes, preventing lipid accumulation, while in males, it reduced the expression of inflammation, apoptosis, and fibrosis genes, preventing the transition from steatosis to steatohepatitis. When maintained on a DCaf, pronounced steatosis developed in mice of both sexes. FGF21 reduced liver lipid content regardless of sex. However, only in females did FGF21 reduce the expression of the *Cidec* gene involved in lipid droplet formation and increase the number of apoptotic bodies. In males, the effect of FGF21 on lipid accumulation in the liver appeared to be mediated by its action on other tissues. Thus, in obese mice, sex differences in the severity of hepatic steatosis depended on the diet type and were observed only against the background of HFD. Administration of FGF21 led to a reduction in the total area of lipid droplets in the liver in mice of both sexes only against the background of pronounced steatosis induced by the DCaf. The influence of FGF21 on gene expression in the liver was sex-dependent, both against the background of HFD and DCaf.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD); steatosis; FGF21; diet; obesity; sex differences; liver

For citation: Balybina N.Yu., Makarova E.N., Jakovleva T.V., Kazantseva A.Yu., Bazhan N.M. The ability of FGF21 to ameliorate signs of non-alcoholic fatty liver disease in mice depends on sex and diet. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(6):863-874. doi 10.18699/vjgb-26-88

Введение

Ожирение – заболевание, которое влечет за собой развитие ряда метаболических нарушений, в частности неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). Это заболевание характеризуется избыточным накоплением липидов в печени и имеет прогрессирующее течение от стеатоза печени (отложения липидов в гепатоцитах) до неалкогольного стеатогепатита (воспаления печени), фиброза и цирроза (Friedman et al., 2018; Haas et al., 2019). Поиск эффективного лечения НАЖБП требует адекватных лабораторных моделей, воспроизводящих нарушения, возникающие у человека.

Одной из наиболее распространенных моделей ожирения и сопутствующих заболеваний на мышах является ожирение, индуцированное высокожирной диетой (ВЖД) (Speakman, 2019). При таком типе диеты животные получают от 40 до 65 % ккал из жира (Speakman, 2019). Эта диета способствует развитию выраженного ожирения и связанных с ним нарушений и наиболее часто используется в исследованиях неалкогольной жировой болезни печени (Hu et al., 2018). Однако в популяции человека основной причиной ожирения чаще служит потребление комбинации жиров и углеводов. Соответствующая модель у лабораторных животных известна как «диета кафетерия» (ДК) (Buyukdere et al., 2019). При этом подходе животным предоставляется свободный выбор между высокожирной: сало, чипсы, колбаса и т. п. – и высокоуглеводной пищей: печенье, бисквиты, сладкие напитки. Предполагается, что механизмы развития ожирения и сопутствующих нарушений у животных точнее воспроизводятся на рационе близком к типу питания человека.

Пол оказывает влияние на развитие ожирения. Показано, что при содержании мышей на ВЖД у самок обычно ниже масса тела и печени, а также содержание триглицеридов в печени, чем у самцов (Senthil et al., 2014; Makarova et al., 2021b). А экспрессия гена инсулинового рецептора (*InsR*) и генов, участвующих в метаболизме липидов (*Ppara*, *Pgc1a*, *Fgf21*, *Acca*, *Acdb*, *Fasn*), выше у самок по сравнению с самцами (Makarova et al., 2021b). Однако неизвестно, наблюдаются ли при этом половые различия в степени развития неалкогольной жировой болезни печени. В настоящей работе впервые комплексно исследованы

гены воспаления, фиброза и апоптоза, экспрессия которых изменяется при развитии неалкогольной жировой болезни печени. При содержании мышей на ДК самки имеют более выраженные признаки нарушения морфологии и функции печени, включая большее накопление липидных капель и триглицеридов, и более высокий уровень экспрессии генов провоспалительных факторов, чем самцы (Gasparin et al., 2018). Исходя из этого, терапевтические подходы к лечению НАЖБП могут зависеть от пола и типа диеты.

Одним из перспективных кандидатов для лечения НАЖБП считается фактор роста фибробластов 21 (Fibroblast growth factor 21, FGF21) – член семейства факторов роста фибробластов с широким спектром метаболических функций (Li H. et al., 2013). Введение экзогенного FGF21 ослабляет проявления стеатоза печени (Leow et al., 2023), способствует снижению ожирения, инсулинорезистентности и содержания свободных жирных кислот в крови как у грызунов, так и у приматов (Fisher, Maratos-Flier, 2016; Makarova et al., 2021b; Bazhan et al., 2023). Эти данные стимулировали изучение FGF21 в качестве средства терапии НАЖБП и других метаболических нарушений.

Показано, что у мышей экспрессия эндогенного FGF21 и эффекты рекомбинантного FGF21 на углеводно-жировой обмен зависят от пола животного и этиологии ожирения (Makarova et al., 2020, 2021a; Bazhan et al., 2023). На фоне ВЖД FGF21 улучшает общие метаболические показатели у обоих полов (Makarova et al., 2021b) и снижает признаки НАЖБП у самцов (Keinicke et al., 2020), тогда как у самок, содержащихся на ВЖД, влияние FGF21 на признаки НАЖБП не изучено. При содержании животных на ДК FGF21 снижает уровни жирных кислот и лептина в крови, повышает толерантность к глюкозе и экспрессию генов, вовлеченных в регуляцию жирового обмена в печени, только у самцов мышей (Bazhan et al., 2023). Можно предположить, что при содержании на ДК существует половой диморфизм эффектов FGF21 на признаки неалкогольной жировой болезни печени. Исследование этого вопроса пока не проводилось. Цель нашей работы – изучение влияния пола на состояние печени у мышей с алиментарным ожирением, вызванным диетами разного состава, и на способность FGF21 благотворно влиять на метаболическую функцию печени.

Материалы и методы

Животные. Данная работа продолжает эксперименты по оценке влияния экзогенного FGF21 на выбор пищи и метаболические показатели у мышей разного пола с ожирением, индуцированным диетами разного состава. Схема эксперимента и состав диет подробно описаны ранее (Makarova et al., 2021b; Bazhan et al., 2023). Было проведено два эксперимента, в которых использованы самцы и самки мышей линии C57BL/6J из вивариев Института цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск.

Эксперимент по влиянию введения FGF21 на метаболические признаки у мышей с ожирением, вызванным содержанием на высокожирной диете (ВЖД), проводили в SPF-виварии Института цитологии и генетики СО РАН. Для индукции ожирения мышам (17 самцов и 20 самок) в возрасте 12 недель к стандартному корму (Ssniff Spezialdiäten GmbH, белки 19 %, жиры 3.3 %) добавляли гранулы высокожирного корма, в котором 60 % ккал приходится на жир (D12492, Ssniff Spezialdiäten GmbH, белки 24.4 %, жиры 34.6 %), и в дальнейшем животных содержали на смеси этих кормов, 80–90 % энергии мыши потребляли с ВЖД (Makarova et al., 2021b). В этом эксперименте самки набирали вес менее интенсивно, чем самцы. Введение FGF21 начинали, когда масса тела самцов составляла 44–46 г, а у самок превышала 30 г. Возраст мышей к началу введения FGF21 варьировал от 28 до 38 недель.

Эксперимент по влиянию введения FGF21 на метаболические признаки у мышей с ожирением, вызванным содержанием на диете кафетерия (ДК), проводили в конвенциональном виварии Института цитологии и генетики СО РАН (Bazhan et al., 2023). Для индукции ожирения мышам в возрасте 10 недель к стандартному корму (Assortiment Agro, Тураково, Московская область, Россия) добавляли свиное сало и сладкое сдобное печенье. Ранее мы показали, что на такой диете темпы набора веса у самок и самцов не различаются (Bazhan et al., 2023). Введение FGF21 начинали в возрасте 28 недель, когда средний вес самцов мышей был 42.13 г (36.1–47.5 г), средний вес самок 41.6 г (37.3–44.2 г).

В каждом эксперименте животные были разделены на четыре группы: самцы, которым вводили растворитель – фосфатно-солевой буфер (ФСБ); самцы, получавшие FGF21; самки, которым вводили ФСБ; и самки, получавшие FGF21. В каждой группе было по 5–7 особей.

В течение семи дней мышам подкожно вводили рекомбинантный мышинный белок FGF21 в дозе 1 мг/кг веса тела или эквивалентное количество ФСБ. Доза была выбрана в соответствии с результатами J. Xu с коллегами, которые вводили FGF21 в дозе 0.1, 1 и 10 мг/кг и показали, что фармакологический эффект FGF21 начинает проявляться с дозы 1 мг/кг веса тела (Xu et al., 2009). По окончании эксперимента, через сутки после последнего введения, животных декапитировали. Печень выделяли и взвешивали. Относительную массу печени определяли к тощей массе животного (масса тела за вычетом массы жира). Для дальнейшего изучения экспрессии генов образцы печени замораживали в жидком азоте. Образцы печени для гистологического анализа помещали в 10 % раствор формалина.

Получение и очистка мышинного рекомбинантного белка FGF21. Получение и очистку мышинного рекомбинантного FGF21 мыши проводили в соответствии с ранее опубликованной методикой (Makarova et al., 2021b).

Определение уровня триглицеридов в печени. Для определения уровня триглицеридов образцы печени помещали в ФСБ в соотношении 8 мл ФСБ на 1 мг образца. Далее образец гомогенизировали и центрифугировали на низкой скорости (~50 g). После отбирали супернатант и центрифугировали повторно на той же скорости. После повторного центрифугирования супернатант отбирали для определения содержания триглицеридов. Концентрацию триглицеридов измеряли с помощью энзиматического колориметрического метода набором для определения концентрации триглицеридов «Триглицериды-Ново жидкая форма» фирмы Вектор-Бест (Новосибирск, Россия) (кат. № В-8323).

Анализ гистологической структуры печени. Для оценки степени развития стеатоза: накопления липидов в печени, содержания макрофагов и апоптозных телец печени – использовали общепринятый диагностический подход (Янко и др., 2021; Leow et al., 2023), препараты печени окрашивали гематоксилином и эозином по стандартному протоколу (Makarova et al., 2021a). F.R.S. Gasparin с коллегами показали, что неокрашиваемые округлые включения, обнаруженные с помощью окраски гематоксилином и эозином, являются липидными включениями и их количество коррелирует с количеством липидов, определенных с помощью окраски Sudan III (Gasparin et al., 2018).

Для исследования гистологической структуры печени использовали световой микроскоп фирмы Zeiss (Axioskop 2 plus, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Йена, Германия) со встроенной камерой. Для каждого животного делали по 10 фотографий срезов печени на увеличении $\times 400$. Статистическую обработку проводили по усредненным данным для каждого животного ($n = 5-7$). Подсчет площади липидных капель, количества макрофагов и апоптозных телец производили с помощью программы ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, США). Выделяли липидные капли различного размера. Крупными считали липидные капли, смещавшие ядро к периферии клетки; средними – плотно прилегающие липидные включения, которые не смещали ядро; и мелкими – липидные капли, расположенные на расстоянии друг от друга. Рассчитывали площадь, занимаемую липидами в целом (сумма площадей липидных капель различного размера) и липидными каплями различного размера от общей площади фотографии (Makarova et al., 2021a).

Оценка уровня мРНК генов. Уровень мРНК генов, участвующих в процессах метаболизма жиров и углеводов, воспаления, фиброза, апоптоза, изучали методом относительной оценки с помощью обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени (Relative quantitation real-time PCR). Из образцов тканей выделяли РНК с использованием реагента для выделения суммарной РНК ExtractRNA (Евроген, Москва, Россия) согласно инструкции производителя. Обратную транскрипцию проводили с использованием MMLV обратной

транскриптазы (Евроген, Москва, Россия) и олиго-dT праймера по протоколу производителя. ПЦР проводили согласно инструкции с использованием готовой реакционной смеси qPCRmix-HS LowROX (Евроген, Москва, Россия) и реагентов фирмы Applied Biosystems: TaqMan Gene Expression Assay для генов мыши Beta-actin, *Actb*, Mm00607939_s1C. Исследовали экспрессию генов, вовлеченных в различные процессы и системы печени: гликолиз (Glucokinase, *Gck*, Mm00439129_m1; Pyruvate kinase liver and red blood cell, *Pklr*, Mm00443090_m1); глюконеогенез (Glucose-6-phosphatase, *G6p*, Mm00839363_m1; Phosphoenolpyruvate carboxykinase 1, *Pck1*, Mm01247058_m1); система FGF21 (Fibroblast growth factor 21, *Fgf21*, Mm00840165_g1; Klotho beta, *Klb*, Mm00473122_m); окисление липидов (Peroxisome proliferator activated receptor alpha, *Ppara*, Mm0040939_m1; Carnitine palmitoyltransferase 1a, *CPT1a*, Mm01231183_m1; Peroxisome proliferative activated receptor, gamma, coactivator 1 alpha, *Ppargc1a*, Mm01208835_m1); синтез липидов (Fatty acid synthase, *Fasn*, Mm00662319_m1; Acetyl-coenzyme A carboxylase alpha, *Acca*, Mm01304285_m1; Acetyl-coenzyme A carboxylase beta, *Accb*, Mm01204683_m1; Cell death-inducing DFFA-like effector c, *Cidec*, Mm00617672_m1); воспаление и фиброз (Tissue inhibitor of metalloproteinase 1, *Timp1*, Mm01341361_m1; Transforming growth factor, beta 1, *Tgfb1*, Mm01178820_m1; CD68 antigen, *Cd68*, Mm03047343_m1; Tumor necrosis factor alpha, *Tnfa*, Mm00443258_m1; Interleukin 1 beta, *Il1b*, Mm00434228_m1; Nuclear factor, erythroid derived 2, like 2, *Nfe2l2*, Mm00477784_m1; Chemokine (C-C motif) ligand 3, *Ccl3*, Mm00441259_g1); апоптоз (BCL2, apoptosis regulator, *Bcl2*, Hs04986394_s1; BCL2-antagonist/killer 1, *Bak1*, Mm00432045_m1); фактор поста (Insulin-like growth factor 1, *Igf1*, Mm00439560_m1). В качестве эндогенного контроля использовали бета-актин. Полимеразную цепную реакцию и флуоресцентную детекцию проводили на ПЦР-системе Applied Biosystems VIIA 7 в режиме реального времени. Относительное ко-

личественное определение проводили с помощью метода сравнительного порогового цикла (CT) ($2^{-\Delta\Delta Ct}$).

Статистический анализ. Для анализа влияния FGF21 на накопление липидов в печени использовали двухфакторный дисперсионный анализ (two-way ANOVA) с факторами «Пол» и «ЭГ» (экспериментальная группа). Для множественных сравнений использовали *post-hoc* Newman–Keuls test. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

В связи с неоднородностью дисперсий данные по экспрессии генов анализировали с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни (U test), $n = 5-7$. Значимость определялась как $p < 0.05$. Данные по экспрессии генов представлены в виде медианных, средних, максимальных и минимальных значений, а также 25–75 % разброса значений для каждого показателя.

Все анализы проводили с использованием программного пакета STATISTICA 6 (StatSoft, TIBCO Software Inc., Пало-Альто, Калифорния, США).

Результаты

Эксперимент «Высокожирная диета». Структура печени. На рис. 1, а представлена типичная гистологическая картина печени при ожирении: с гепатоцитами, содержащими большие, средние и малые жировые капли, а также с макрофагами и апоптозными тельцами.

При содержании животных на высокожирной диете (ВЖД) у самок в печени признаки стеатоза были менее выражены, чем у самцов (см. рис. 1, б). Относительная масса печени у самок была ниже, чем у самцов (влияние фактора «Пол», $F_{(1,20)} = 7.52, p < 0.05$) (рис. 2, а). Площадь мелких липидных капель и содержание триглицеридов в печени у самок и самцов, получавших ФСБ, не различались, тогда как общая площадь липидных капель (влияние фактора «Пол», $F_{(1,20)} = 7.45, p < 0.05$) и капель среднего (влияние фактора «Пол», $F_{(1,20)} = 12.39, p < 0.01$) и крупного размеров (влияние фактора «Пол», $F_{(1,20)} = 9.93, p < 0.01$)

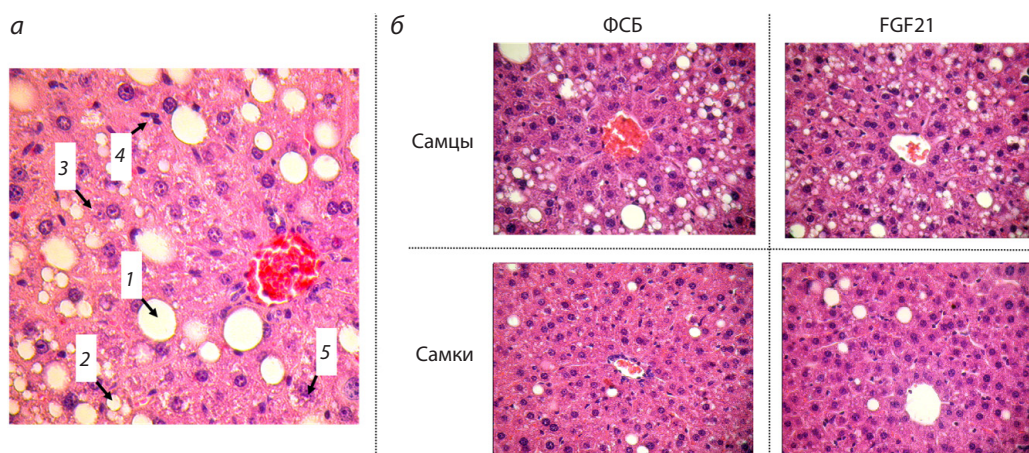


Рис. 1. Репрезентативный рисунок: а – накопление липидов в печени у самцов и самок мышей, содержащихся на высокожирной диете, получавших ФСБ или FGF21; б – общий план строения печени мышей при ожирении.

Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$. Липидные капли: крупные (1), средние (2) и мелкие (3); 4 – макрофаги; 5 – апоптозные тельца.

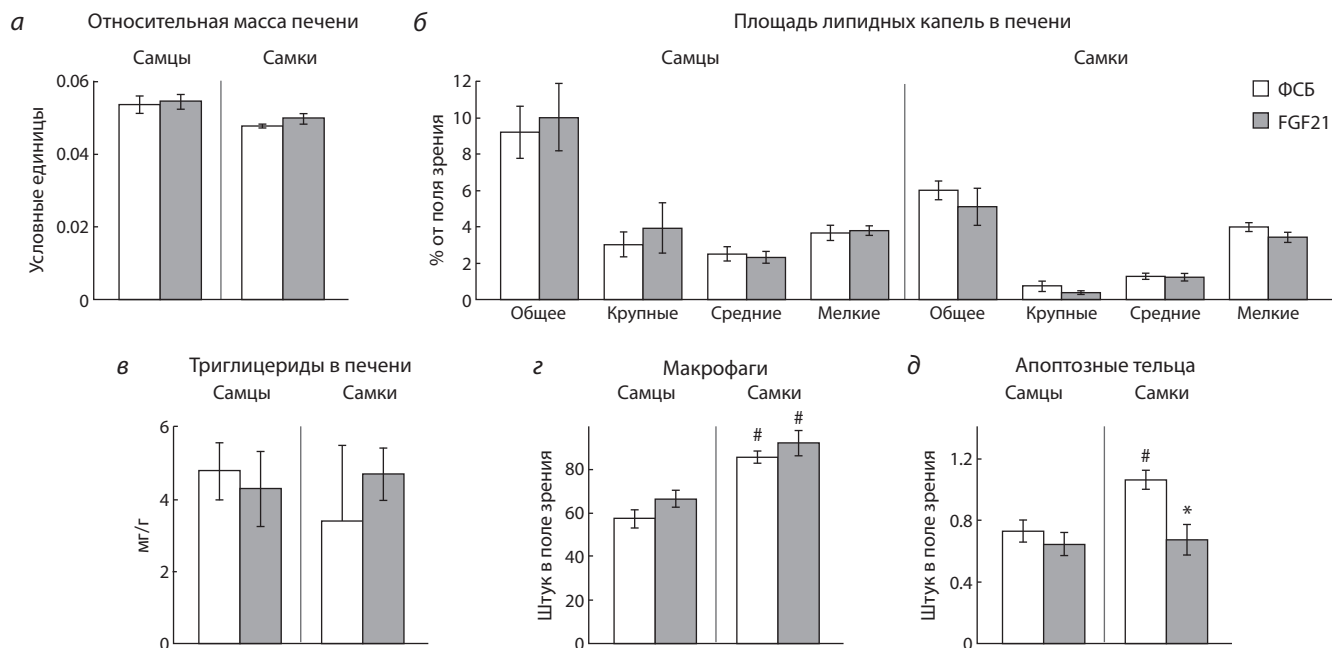


Рис. 2. Относительная масса печени (а), площадь липидных капель (б), содержание ТГ (в), количество макрофагов (г) и апоптозных телец (д) в печени самцов и самок мышей, содержащихся на высокожирной диете, получавших ФСБ или FGF21.

$p < 0.05$, сравнение с самцами, *post-hoc* Newman–Keuls test; * $p < 0.05$, сравнение с ФСБ, *post-hoc* Newman–Keuls test.

была достоверно ниже у самок, чем у самцов (см. рис. 2, б, в, д). Однако количество макрофагов (влияние фактора «Пол», $F_{(1,20)} = 39.07$, $p < 0.001$; *post-hoc* Newman–Keuls test, $p < 0.05$) и апоптозных телец (влияние фактора «Пол», $F_{(1,20)} = 5.02$, $p < 0.05$; *post-hoc* Newman–Keuls test, $p < 0.05$) у самок превышало данный показатель у самцов, что свидетельствует о более выраженном воспалении у самок, чем у самцов (см. рис. 2, г).

Введение FGF21 не влияло на относительную массу печени, содержание триглицеридов, макрофагов и площадь липидных капель в печени, но снижало количество апоптозных телец (влияние фактора «ЭГ», $F_{(1,20)} = 8.67$, $p < 0.01$; *post-hoc* Newman–Keuls test, $p < 0.05$ для самок) в печени мышей обоих полов (см. рис. 2, г, д).

Экспрессия генов, участвующих в процессах метаболизма липидов и углеводов

При содержании на ВЖД у самок, получавших ФСБ, уровень экспрессии генов *Fgf21* ($p < 0.01$, $U = 0.00$, $n(\text{♀}) = 5$, $N(\text{♂}) = 7$), *Acca* ($p < 0.01$, $U = 0.00$, $n(\text{♀}) = 5$, $N(\text{♂}) = 7$) и *Ppara* ($p < 0.05$, $U = 4.00$, $n(\text{♀}) = 5$, $N(\text{♂}) = 7$) был выше по сравнению с самцами. Введение FGF21 снижало экспрессию генов *Gck* ($p < 0.05$, $U = 3.00$, $n = 5$ для обеих групп), *Pklr* ($p < 0.05$, $U = 2.00$, $n = 5$ для обеих групп) и *Fasn* ($p < 0.05$, $U = 2.00$, $n = 5$ для обеих групп) у самок и не влияло на экспрессию изученных генов у самцов (рис. 3).

Экспрессия генов, участвующих в процессах воспаления, фиброза и апоптоза

При введении ФСБ уровень экспрессии генов *Tnfa* ($p < 0.05$, $U = 5.00$, $n(\text{♀}) = 5$, $N(\text{♂}) = 7$) и *Nfe2l2* ($p < 0.05$, $U = 2.00$, $n(\text{♀}) = 5$, $N(\text{♂}) = 7$) у самок был выше, чем у самцов. Вве-

дение FGF21 снижало экспрессию генов *Tgf1b* ($p < 0.05$, $U = 6.50$, $n = 7$ для обеих групп), *Nfe2l2* ($p < 0.05$, $U = 9.00$, $n = 7$ для обеих групп), *Bak1* ($p < 0.05$, $U = 2.00$, $n = 7$ для обеих групп), *Igf1* ($p < 0.05$, $U = 5.00$, $n = 7$ для обеих групп) у самцов и не влияло на экспрессию изученных генов у самок (рис. 4).

Эксперимент «Диета кафетерия». Структура печени. При содержании животных на диете кафетерия (ДК) мыши обоих полов в контроле демонстрировали высокое содержание липидов в печени, половых различий по этому показателю не обнаружено (рис. 5 и 6, б). Относительная масса печени и содержание триглицеридов в печени не различались у самцов и самок мышей (см. рис. 6, а, в). У самок отмечено повышенное количество макрофагов по сравнению с самцами (влияние фактора «Пол», $F_{(1,14)} = 4.56$, $p < 0.05$) (см. рис. 6, г). Количество апоптозных телец в контроле у самок и самцов не различалось (см. рис. 6, д).

Введение FGF21 снижало относительную массу печени (влияние фактора «ЭГ», $F_{(1,14)} = 4.94$, $p < 0.05$) и общую площадь липидных капель как у самцов, так и у самок (влияние фактора «ЭГ», $F_{(1,14)} = 4.68$, $p < 0.05$) (см. рис. 6, а, б). Введение FGF21 не влияло на содержание триглицеридов, количество макрофагов и апоптозных телец печени особей обоих полов (см. рис. 6, в, г, д).

Экспрессия генов, участвующих в процессах метаболизма жиров и углеводов

При ожирении, вызванном содержанием животных на диете кафетерия, только экспрессия *Cidec* была ниже у самок ($p < 0.05$, $U = 3.00$, $n = 5$ для обеих групп), чем у самцов, и FGF21 снижал ее только у особей женского пола

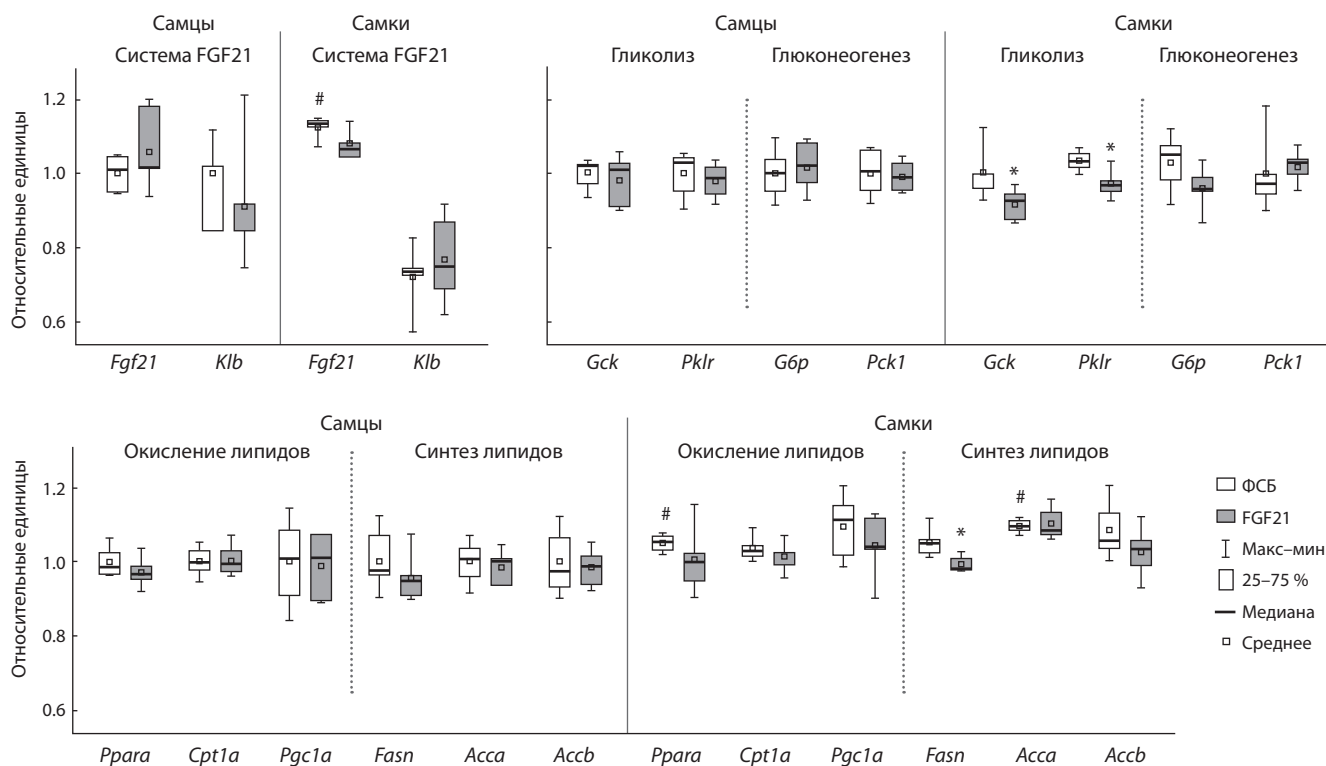


Рис. 3. Относительный уровень экспрессии генов метаболизма углеводов и липидов в печени у самцов и самок мышей, содержащихся на высокожирной диете, получавших ФСБ или FGF21.

$p < 0.05$, сравнение с самцами, U тест Манна–Уитни; * $p < 0.05$, сравнение с ФСБ, U тест Манна–Уитни.

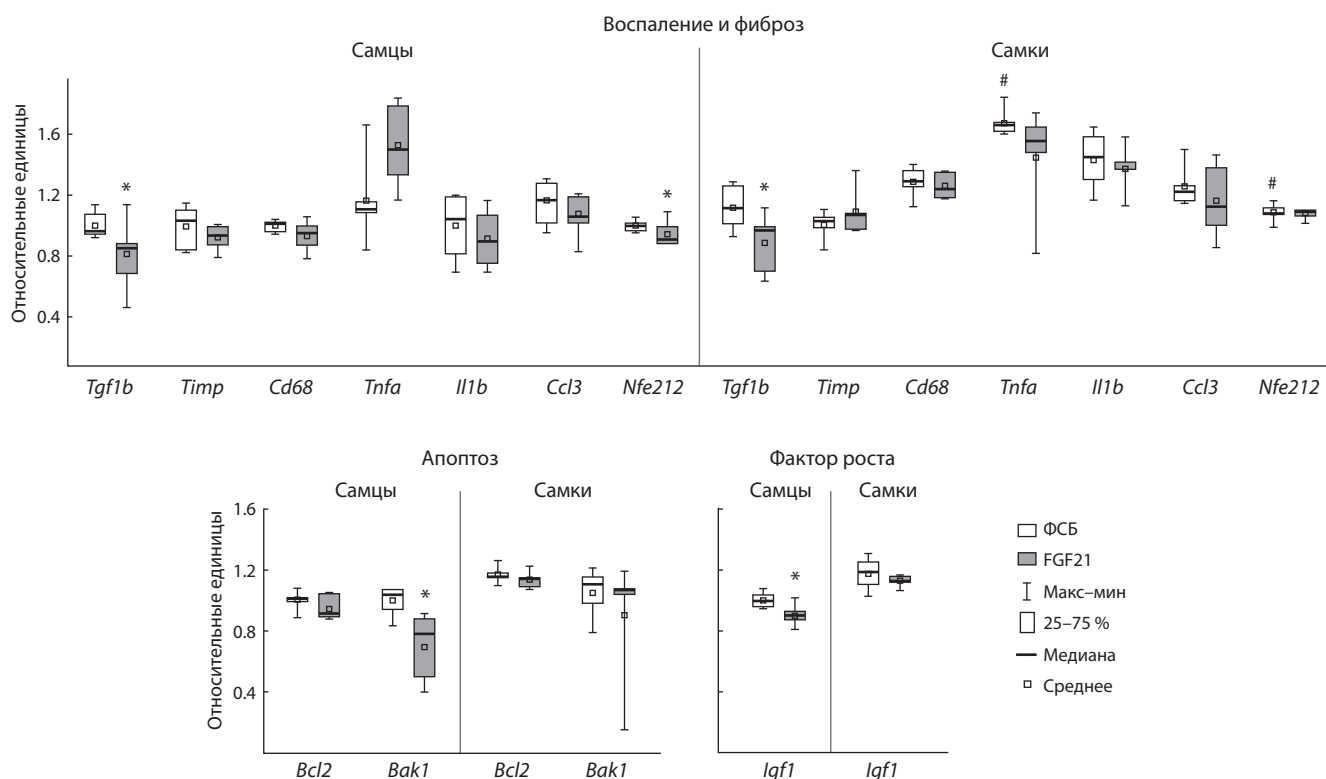


Рис. 4. Относительный уровень экспрессии генов воспаления, фиброза, апоптоза и инсулиноподобного фактора роста в печени у самцов и самок мышей, содержащихся на высокожирной диете, получавших ФСБ или FGF21.

$p < 0.05$, сравнение с самцами, U тест Манна–Уитни; * $p < 0.05$, сравнение с ФСБ, U тест Манна–Уитни.

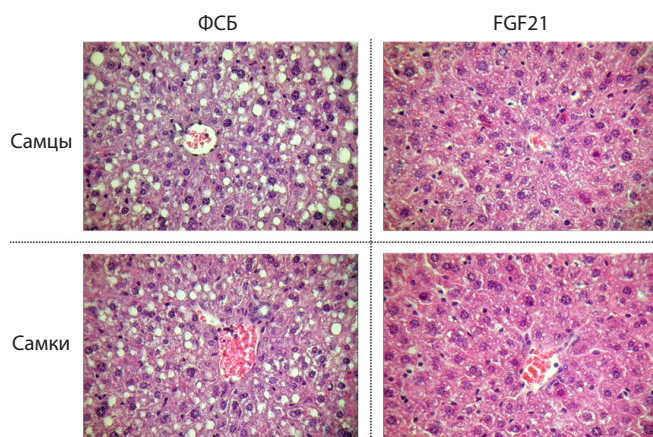


Рис. 5. Репрезентативный рисунок: накопление липидов в печени у самцов и самок мышей, содержащихся на диете кафетерия, получавших ФСБ или FGF21.

Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$.

($p < 0.01$, $U = 0.00$, $n = 5$ для обеих групп) (рис. 7). Влияния пола и FGF21 на экспрессию других исследованных генов участников регуляции метаболизма жиров и углеводов не обнаружено.

Экспрессия генов, участвующих в процессах воспаления, фиброза и апоптоза

Половых различий в уровне экспрессии генов воспаления и фиброза в печени при ожирении, индуцированном ДК, и влияния введения FGF21 на экспрессию этих генов не выявлено (рис. 8).

Обсуждение

В работе исследовали половые особенности формирования стеатоза при алиментарном ожирении, вызванном потреблением пищи разного состава, а также влияние FGF21 на морфофункциональное состояние печени и экспрессию генов, участвующих в углеводно-жировом обмене, воспалении, фиброзе, апоптозе, в печени у самцов и самок мышей при различных типах ожирения.

Диета с повышенным содержанием жиров (ВЖД) широко используется при исследовании механизмов развития ожирения и потенциальных средств коррекции связанных с ним нарушений (Li J. et al., 2020). Ранее показано, что потребление ВЖД способствует развитию ожирения и неалкогольной жировой болезни печени у самцов мышей (Lau et al., 2017). В нашем исследовании применялась смешанная диета: стандартный корм и корм с повышенным содержанием жира, в котором 60 % ккал приходится на жир. Согласно данным S. Hu с коллегами, у самцов мышей такое питание вызывает более выраженные нарушения метаболических параметров, более быстрое развитие ожирения, значительное снижение чувствительности к инсулину и большее отложение жира в печени по сравнению с диетами, в которых 10 и 45 % ккал получаются из жира (Hu et al., 2018).

Потребление ВЖД выявило существенные половые различия в гистологическом строении печени. Относительная масса печени и площадь, занимаемая липидными каплями, у самок были значительно ниже, чем у самцов, что указывает на меньшую выраженность стеатоза (см. рис. 1 и 2). Ранее другими авторами (Hwang et al., 2010) и нами в этом эксперименте (Makarova et al., 2021b) показано, что при потреблении ВЖД самки мышей демонстрируют меньшую

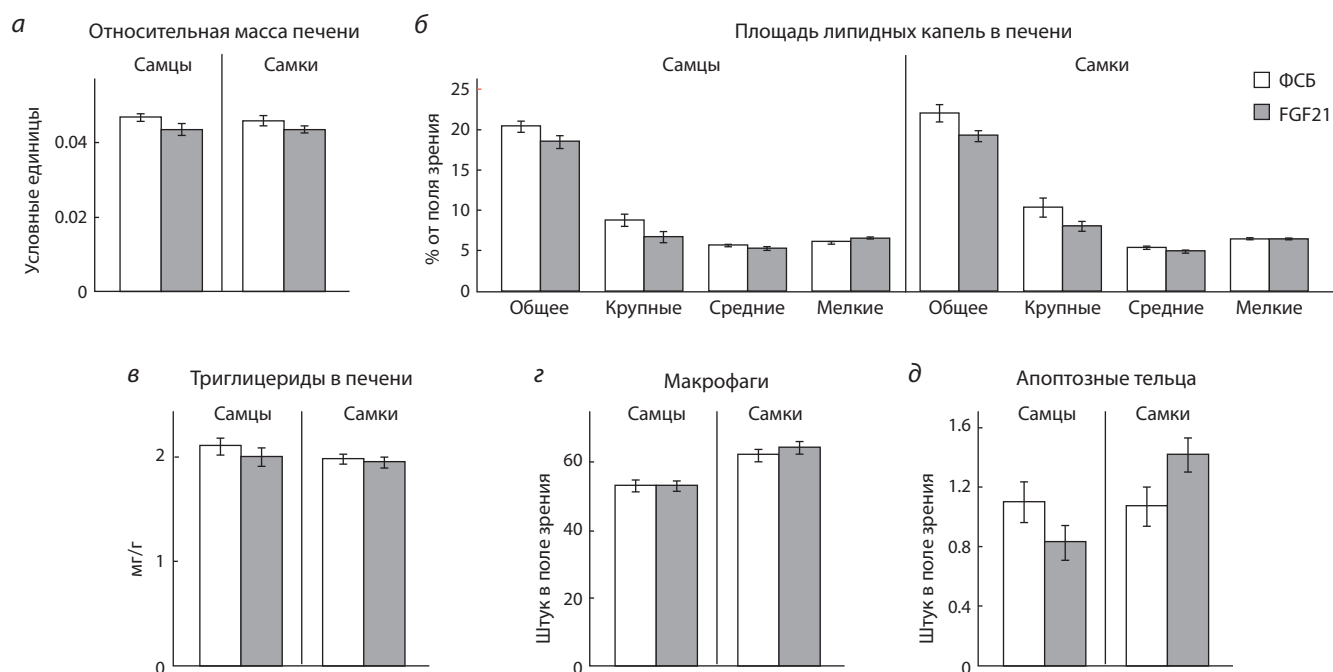


Рис. 6. Относительная масса печени (а), площадь липидных капель (б), содержание ТГ (в), количество макрофагов (г) и апоптотических телец (д) в печени самцов и самок мышей, содержащихся на диете кафетерия, получавших ФСБ или FGF21.

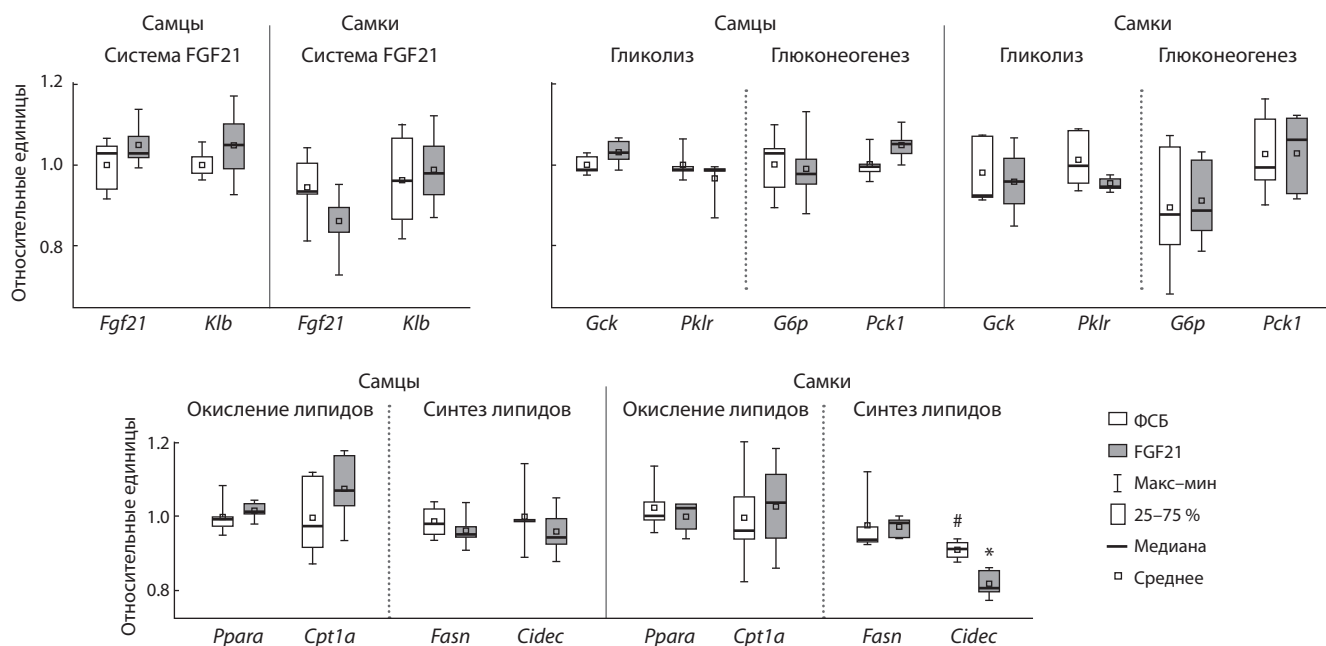


Рис. 7. Относительный уровень экспрессии генов метаболизма углеводов и липидов в печени у самцов и самок мышей, содержащихся на диете кафетерия, получавших ФСБ или FGF21.

$p < 0.05$, сравнение с самцами, U тест Манна–Уитни; * $p < 0.05$, сравнение с ФСБ, U тест Манна–Уитни.

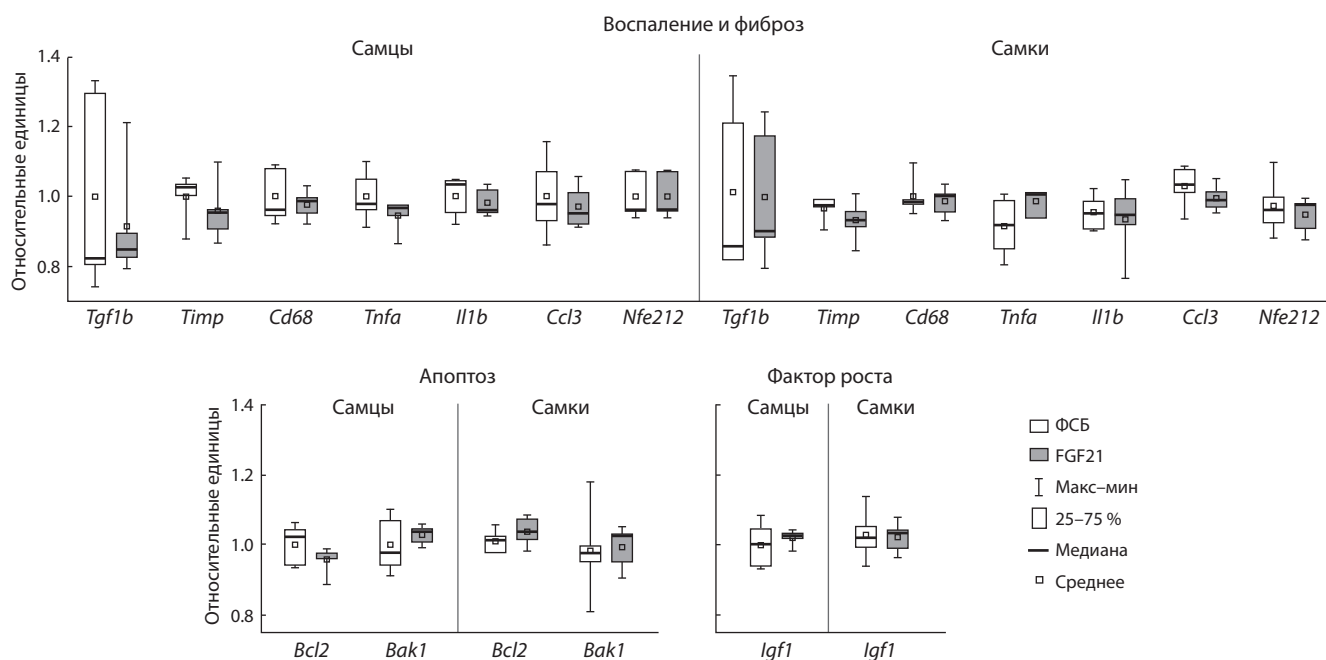


Рис. 8. Относительный уровень экспрессии генов воспаления, фиброза, апоптоза и инсулиноподобного фактора роста в печени у самцов и самок мышей, содержащихся на диете кафетерия, получавших ФСБ или FGF21.

степень ожирения на уровне всего организма, проявляющуюся в меньшей массе тела, количестве жировой ткани и массе печени по сравнению с самцами.

Снижение чувствительности к инсулину способствует отложению липидов в печени и развитию НАЖБП (Takaki et al., 2013). В нашем эксперименте (Makarova et al., 2021b) и другими исследователями (Hwang et al., 2010)

было показано, что самки мышей более чувствительны к инсулину, чем самцы. Вероятно, меньшее накопление липидов в печени у самок может быть следствием их большей чувствительности к инсулину.

Меньшее накопление липидов в печени у самок при содержании на ВЖД можно также объяснить более высокой активностью липидного метаболизма. Уровень экспрессии

генов, кодирующих ферменты липогенеза (*Acca*) и окисления жирных кислот (*Ppara*), был выше у самок (см. рис. 3). У самок также наблюдался повышенный уровень экспрессии гена *Fgf21* в печени. FGF21 способен запускать экспрессию генов, участвующих в окислении свободных жирных кислот, тем самым снижая отложение липидов в печени (Kleiner et al., 2012; Fisher, Maratos-Flier, 2016).

При содержании на ВЖД у самок выявлен более высокий, чем у самцов, уровень экспрессии гена провоспалительного фактора *Tnfa* и сниженный уровень экспрессии гена *Nfe2l2*, кодирующего транскрипционный фактор, защищающий клетки от окислительного стресса через активацию генов, участвующих в антиоксидантных и детоксикационных реакциях (см. рис. 4). Показано, что при длительном стрессорном воздействии его уровень может снижаться, усугубляя признаки окислительного стресса (Ye et al., 2023). Эти факты указывают на то, что, несмотря на меньшие жировые отложения в печени, признаки окислительного стресса у самок были более выраженными, чем у самцов.

Мы наблюдали у самок, содержащихся на ВЖД, большее количество макрофагов и апоптозных телец в паренхиме печени по сравнению с самцами как на фоне введения ФСБ, так и FGF21 (см. рис. 2). Сходные изменения наблюдали и при генетическом меланокортиновом ожирении (Makarova et al., 2021a). Макрофаги, в свою очередь, экспрессируют провоспалительные цитокины, такие как *Il1b*, *Tnfa*, *Il6*, что способствует прогрессированию воспаления и развитию стеатогепатита (Alkhoury et al., 2011).

Таким образом, нами впервые показано, что при потреблении высокожирной пищи самки демонстрируют меньшее накопление липидных капель в печени по сравнению с самцами. Однако у них наблюдаются более высокий уровень экспрессии гена *Tnfa* и большее количество макрофагов и апоптозных телец, что может указывать на большую степень воспаления или быть адаптивной реакцией к потреблению высокожирного корма у самок мышей. Вопрос требует дальнейших исследований.

При введении FGF21 мышам, получавшим ВЖД, только у самок мы наблюдали подавление экспрессии генов гликолиза (*Pklr*, *Gck*) и липогенеза (*Fasn*) (см. рис. 3), что может свидетельствовать о запуске адаптивных механизмов, защищающих печень от избыточного отложения жиров. Несмотря на это, снижения количества липидных капель у самок не обнаружено. Мы связываем это с тем, что, по данным литературы, исходный уровень липидов у самок был лишь слегка повышен по сравнению с нормой (Kim et al., 2013), что ограничивало возможности для видимого улучшения.

У самцов, содержащихся на ВЖД, при более выраженном стеатозе, чем у самок, FGF21 также не влиял на содержание липидов в печени (см. рис. 2). Отсутствие эффекта можно объяснить тем, что FGF21 подавлял экспрессию гена *Igf1* в печени (см. рис. 4) (Borai et al., 2015). Известно, что IGF1 препятствует накоплению жира в печени (Ma, Stanley, 2023). Возможно, выявленное нами и другими исследователями ингибирующее действие

FGF21 на экспрессию *Igf1* может нивелировать прямое, снижающее липиды действие IGF1.

При содержании на ВЖД у особей обоих полов наблюдалось снижение количества апоптозных телец в печени в ответ на введение FGF21 (см. рис. 2), а у самцов также наблюдалось снижение экспрессии проапоптотического гена *Bak1* (см. рис. 5). Так как воспаление часто сопряжено с апоптозом, эти изменения могут указывать на снижение воспаления в печени (Chen et al., 2018). Кроме того, у самцов FGF21 снижал экспрессию профиброгенного гена *Tgfb*, что, возможно, препятствует развитию фиброза – характерного признака прогрессирования неалкогольной жировой болезни печени.

Таким образом, при ожирении, вызванном содержанием на высокожирной диете, эффект FGF21 на состояние печени зависел от степени развития стеатоза: при незначительном количестве липидов, как у самок мышей, эффект направлен на предотвращение отложения жира путем подавления экспрессии генов гликолиза и липогенеза. При выраженных признаках стеатоза, как у самцов в данном исследовании, эффекты FGF21 были направлены на снижение экспрессии генов, вовлеченных в воспалительный процесс.

Ранее нами и другими исследователями показано, что при добавлении в рацион, наряду с избыточным количеством жиров, избыточного количества углеводов самки достигают большей степени ожирения, чем самцы (Gasparin et al., 2018; Bazhan et al., 2020). Однако в нашем исследовании мы обнаружили, что площадь липидных капель в печени у самцов и самок не различалась (см. рис. 6). Отсутствие различий в накоплении липидов в печени при большей степени ожирения самок, наблюдаемого при содержании животных на ДК, может быть связано с относительно низким уровнем экспрессии у них гена *Cidec* по сравнению с самцами (см. рис. 7). Продукт этого гена играет ключевую роль в образовании липидных капель в печени. Показано, что у животных со сниженным уровнем экспрессии *Cidec* наблюдается заметное уменьшение запасов липидов в различных тканях (Chen et al., 2018).

При ожирении, вызванном содержанием животных на ДК, у самок в печени обнаружено больше макрофагов, чем у самцов; это может указывать на то, что у самок ожирение печени отягощено воспалением (см. рис. 6). Ранее F.R.S. Gasparin (Gasparin et al., 2018) и A. Spruss с коллегами (2012) наблюдали более выраженные признаки воспаления печени у самок, чем у самцов. Таким образом, при содержании животных на диете кафетерия не обнаружено различий в степени развития стеатоза печени, однако самки проявляли признаки большего воспаления печени, чем самцы.

Введение FGF21 мышам, содержащимся на ДК, привело к снижению относительной массы печени и содержания липидов в гепатоцитах у представителей обоих полов (рис. 6). Механизм этого эффекта различался: у самок FGF21 подавлял экспрессию гена *Cidec* в печени, продукт которого играет ключевую роль в формировании и слипании липидных капель (см. рис. 7) (Chen et al., 2018). При

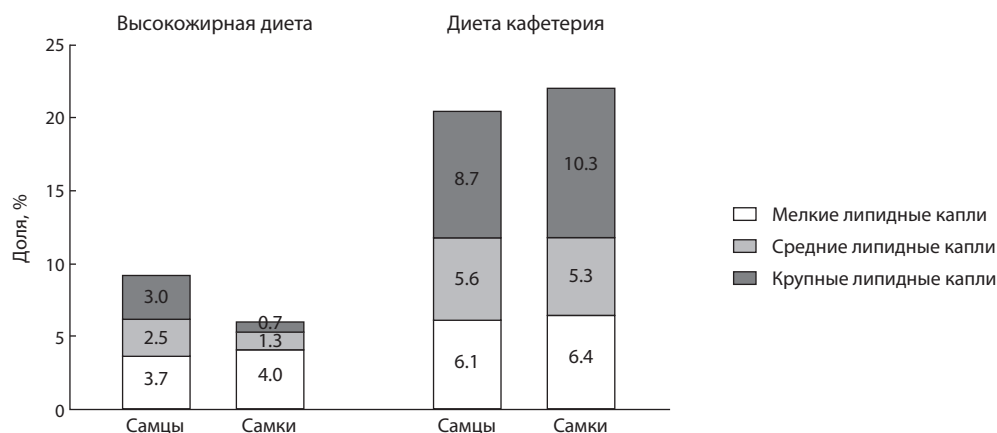


Рис. 9. Доля площади (в %) мелких, средних и крупных липидных капель от площади поля зрения, фиксируемой по фото (см. рис. 1 и 5), у самцов и самок мышей при содержании на высокожирной диете и диете кафетерия.

содержании животных на ДК у самцов FGF21 не влиял на экспрессию генов печени, вовлеченных в регуляцию жирового обмена. Можно предположить, что у самцов вызванное FGF21 снижение площади липидов в печени было связано с его действием на белую жировую ткань, которая служит главным органом-мишенью для FGF21 (Makarova et al., 2021b). Ранее мы показали, что у самцов мышей с ожирением, вызванным содержанием на ДК, FGF21 снижает уровни в крови свободных жирных кислот (Bazhan et al., 2023). Это может способствовать снижению захвата жиров в печени и отложению там в виде липидных капель.

Таким образом, FGF21 оказывал схожее воздействие на количество липидов в печени у самцов и самок мышей линии C57BL/6J, находящихся на диете кафетерия. Однако механизмы реализации этого эффекта различны: возможно, у самок он осуществлялся через подавление экспрессии гена липогенеза в печени, а у самцов через внепеченочные механизмы.

Известно, что проявление половых различий во влиянии FGF21 на метаболические параметры зависит от причин развития ожирения. Так, на высокожирной диете FGF21 оказывает однонаправленное влияние у самцов и самок на массу тела и жира, уровень в крови холестерина, глюкозы, инсулина и экспрессию генов гликолиза и синтеза жирных кислот в печени (Makarova et al., 2021b). При содержании животных на диете кафетерия терапевтические эффекты введения FGF21 заметны в большей степени у самцов, выражаясь в снижении уровней жирных кислот и лептина в плазме, улучшении толерантности к глюкозе и повышении регуляции экспрессии генов, участвующих в передаче сигналов инсулина и метаболизме липидов в печени (Bazhan et al., 2023).

В нашем исследовании мы обнаружили, что степень развития стеатоза печени зависит от типа диеты, предлагаемой животным. При этом половые различия в накоплении липидов в печени обнаружены в модели ВЖД, которая характеризовалась ранними стадиями развития стеатоза печени у мышей. При потреблении ВЖД у самок мышей наблюдалось незначительное содержание липидных капель мелкого размера при практическом отсутствии капель

крупного и среднего размеров. Общая площадь липидных капель у самок составляла примерно 6 % от площади поля зрения, что соответствует незначительному превышению нормы для мышей (норма ~5 %) (Leow et al., 2023), в то время как у самцов мышей в печени присутствовали липидные капли всех размеров и общая площадь превышала 9 % от площади поля зрения, что соответствует начальным этапам первой (легкой) стадии развития стеатоза печени у мышей (Leow et al., 2023) (рис. 9).

Потребление ДК вызывало более выраженное накопление липидных капель различного размера в печени у мышей обоих полов, чем потребление ВЖД, при этом половые различия по степени развития стеатоза отсутствовали. И у самцов, и у самок общая площадь липидных капель превышала 20 %, что соответствует более позднему этапу первой стадии стеатоза печени (Leow et al., 2023) (см. рис. 9).

Обнаруженные нами различия в накоплении липидов в печени при различных типах диеты могут быть обусловлены несколькими факторами. Диета кафетерия – не только жиры, но и избыточное количество простых углеводов (сахара), при потреблении которых активируются специфические пути синтеза жиров (*de novo* lipogenesis), которые могут функционировать параллельно с путями усвоения пищевых жиров (Sanders, Griffin, 2016). Это создает дополнительную нагрузку на липидный обмен. Кроме того, избыточное количество углеводов в пище способствует развитию инсулинорезистентности, что, в свою очередь, приводит к накоплению жиров в печени (Takaki et al., 2013). Помимо этого, ДК также может вызывать более выраженное окислительное повреждение клеток печени из-за сочетания различных типов жиров и избытка сахаров, что нарушает процессы утилизации липидов и способствует развитию стеатоза (Asrih, Jornayvaz, 2013).

Влияние FGF21 на печень зависело от степени развития стеатоза. У самок мышей, содержащихся на ВЖД, при отсутствии выраженного стеатоза влияние FGF21 сводилось к предотвращению накопления липидов в печени путем снижения экспрессии генов гликолиза и липогенеза. У самцов мышей на этой же диете, но при ранней

стадии стеатоза, эффект FGF21 заключался в подавлении экспрессии генов воспаления и фиброгенеза. Известно, что уже на ранних этапах развития НАЖБП происходит повышение экспрессии провоспалительных цитокинов, что способствует усугублению течения болезни (Asrih, Jornayvaz, 2013). По-видимому, основное действие FGF21 в этом случае направлено на предотвращение развития неалкогольного стеатогепатита.

При более выраженной стадии развития стеатоза печени, наблюдаемой у самцов и самок, содержащихся на ДК, эффект FGF21 был направлен на снижение площади липидов в печени. Механизм этого воздействия различен у самцов и самок: у самок наблюдалось снижение экспрессии гена *Cidec*, играющего ключевую роль в образовании и слиянии липидных капель (Chen et al., 2018), а у самцов прямого влияния FGF21 на печень не обнаружено.

Заключение

Настоящее исследование выявило половые различия в развитии неалкогольной жировой болезни печени и ответе на терапию FGF21 в зависимости от типа диеты. При высокожирной диете у самок наблюдался менее выраженный стеатоз, который ассоциировался с более высоким уровнем экспрессии генов метаболизма липидов и более высокой базальной экспрессией *Fgf21*. Однако, судя по экспрессии генов воспаления и количеству макрофагов и апоптотных телец в печени, стеатоз у самок сопровождался усиленным воспалительным ответом, повышающим риск стеатогепатита. В отличие от этого, при диете кафетерия стеатоз был выражен в равной степени у обоих полов, с более выраженными признаками воспаления у самок, по сравнению с самцами.

Эффекты FGF21 зависели от пола и стадии стеатоза: на ранних стадиях стеатоза (высокожирная диета) у самок, судя по экспрессии *Gck* и *Pklr*, он подавлял гликолиз (оба гена относятся к гликолизу) и липогенез (*Fasn*), предотвращая накопление липидов, а у самцов снижал признаки воспаления и оказывал антифиброзное действие. При более выраженной стадии стеатоза (диета кафетерия) FGF21 уменьшал содержание липидов в печени как у самцов, так и у самок мышей, но разными механизмами – у самок через подавление экспрессии гена *Cidec*, у самцов опосредованно, по-видимому, через воздействие на жировую ткань. Таким образом, терапевтическая стратегия применения FGF21 при неалкогольной жировой болезни печени требует учета пола пациента, стадии стеатоза и этиологии ожирения.

Соблюдение этических стандартов. Исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации и одобрено Независимым этическим комитетом Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (протокол № 47 от 23 февраля 2019 г. для ВЖД, от 8 ноября 2021 г. для ДК).

Список литературы / References

Янко Р.В., Чака Е.Г., Зинченко А.С., Сафонов С.Л., Левашов М.И. Особенности моделирования жирового гепатоза у крыс разного возраста на основе высококалорийного рациона. *Ожирение и метаболизм*. 2021;18(4):387-397. doi 10.14341/omet12789

- [Yanko R.V., Chaka E.G., Zinchenko A.S., Safonov S.L., Levashov M.I. Features of modeling fatty liver disease in rats of different ages based on a high-calorie diet. *Obes Metab*. 2021;18(4):387-397. doi 10.14341/omet12789 (in Russia)]
- Alkhoury N., Carter-Kent C., Feldstein A.E. Apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease: diagnostic and therapeutic implications. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;5(2):201-212. doi 10.1586/egh.11.6
- Asrih M., Jornayvaz F.R. Inflammation as a potential link between nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance. *J Endocrinol*. 2013;218(3):R25-R36. doi 10.1530/JOE-13-0201
- Bazhan N.M., Iakovleva T.V., Dubinina A.D., Makarova E.N. Impact of sex on the adaptation of adult mice to long consumption of sweet-fat diet. *Vavilov J Genet Breed*. 2020;24(8):844-852. doi 10.18699/VJ20.682
- Bazhan N.M., Jakovleva T.V., Kazantseva A.Yu., Kostina N.E., Orlov P.E., Balybina N.Yu., Baranov K.O., Makarova E.N. Studying sex differences in responses to fibroblast growth factor 21 administration in obese mice consuming a sweet-fat diet. *Vavilov J Genet Breed*. 2023;27(4):333-341. doi 10.18699/VJGB-23-40
- Boparai R.K., Arum O., Miquet J.G., Masternak M.M., Bartke A., Khardori R.K. Resistance to the beneficial metabolic effects and hepatic antioxidant defense actions of fibroblast growth factor 21 treatment in growth hormone-overexpressing transgenic mice. *Int J Endocrinol*. 2015;2015:282375. doi 10.1155/2015/282375
- Buyukdere Y., Gulec A., Akyol A. Cafeteria diet increased adiposity in comparison to high fat diet in young male rats. *PeerJ*. 2019;7:e6656. doi 10.7717/peerj.6656
- Chen X.L., Han Y.D., Wang H. Relations of hepatic steatosis with liver functions, inflammations, glucolipid metabolism in chronic hepatitis B patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018;22(17):5640-5646. doi 10.26355/eurrev_201809_15830
- Fisher F.M., Maratos-Flier E. Understanding the physiology of FGF21. *Annu Rev Physiol*. 2016;78:223-241. doi 10.1146/annurev-physiol-021115-105339
- Friedman S.L., Neuschwander-Tetri B.A., Rinella M., Sanyal A.J. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nat Med*. 2018;24(7):908-922. doi 10.1038/s41591-018-0104-9
- Gasparin F.R.S., Carreño F.O., Mewes J.M., Gilglioni E.H., Pagadigorria C.L.S., Natali M.R.M., Utsunomiya K.S., Constantin R.P., Ouchida A.T., Curti C., Gaemers I.C., Elferink R.P.J.O., Constantin J., Ishii-Iwamoto E.L. Sex differences in the development of hepatic steatosis in cafeteria diet-induced obesity in young mice. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2018;1864(7):2495-2509. doi 10.1016/j.bbdis.2018.04.004
- Haas J.T., Vonghia L., Mogilenko D.A., Verrijken A., Molendi-Coste O., Fleury S., Deprince A., ... Driessen A., Lefebvre P., Staels B., Francque S., Dombrowicz D. Transcriptional network analysis implicates altered hepatic immune function in NASH development and resolution. *Nat Metab*. 2019;1(6):604-614. doi 10.1038/s42255-019-0076-1
- Hu S., Wang L., Yang D., Li L., Togo J., Wu Y., Liu Q., ... Mazidi M., Luo L., Wang S., Douglas A., Speakman J.R. Dietary fat, but not protein or carbohydrate, regulates energy intake and causes adiposity in mice. *Cell Metab*. 2018;28(3):415-431.e4. doi 10.1016/j.cmet.2018.06.010
- Hwang L.L., Wang C.H., Li T.L., Chang S.D., Lin L.C., Chen C.P., Chen C.T., Liang K.C., Ho I.K., Yang W.S., Chiou L.C. Sex differences in high-fat diet-induced obesity, metabolic alterations and learning, and synaptic plasticity deficits in mice. *Obesity*. 2010;18(3):463-469. doi 10.1038/oby.2009.273
- Keinicke H., Sun G., Mentzel C.M.J., Fredholm M., John L.M., Andersen B., Raun K., Kjaergaard M. FGF21 regulates hepatic metabolic pathways to improve steatosis and inflammation. *Endocr Connect*. 2020;9(8):755-768. doi 10.1530/EC-20-0152
- Kim H.W., Lee J.E., Cha J.J., Hyun Y.Y., Kim J.E., Lee M.H., Song H.K., Nam D.H., Han J.Y., Han S.Y., Han K.H., Kang Y.S.,

- Cha D.R. Fibroblast growth factor 21 improves insulin resistance and ameliorates renal injury in *db/db* mice. *Endocrinology*. 2013; 154(9):3366-3376. doi 10.1210/en.2012-2276
- Kleiner S., Mepani R.J., Laznik D., Ye L., Jurczak M.J., Jornayvaz F.R., Estall J.L., Chatterjee B.D., Shulman G.I., Spiegelman B.M. Development of insulin resistance in mice lacking PGC-1 α in adipose tissues. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109(24):9635-9640. doi 10.1073/pnas.1207287109
- Lau J.K., Zhang X., Yu J. Animal models of non-alcoholic fatty liver disease: current perspectives and recent advances. *J Pathol*. 2017; 241(1):36-44. doi 10.1002/path.4829
- Leow W.Q., Chan A.W.H., Mendoza P.G.L., Lo R., Yap K., Kim H. Non-alcoholic fatty liver disease: the pathologist's perspective. *Clin Mol Hepatol*. 2023;29(Suppl):S302-S318. doi 10.3350/cmh.2022.0329
- Li H., Zhang J., Jia W. Fibroblast growth factor 21: a novel metabolic regulator from pharmacology to physiology. *Front Med*. 2013;7(1): 25-30. doi 10.1007/s11684-013-0244-8
- Li J., Wu H., Liu Y., Yang L. High fat diet induced obesity model using four strains of mice: Kunming, C57BL/6, BALB/c and ICR. *Exp Anim*. 2020;69(3):326-335. doi 10.1538/expanim.19-0148
- Ma I.L., Stanley T.L. Growth hormone and nonalcoholic fatty liver disease. *Immunometabolism* 2023;5(3):e00030. doi 10.1097/IN9.000000000000030
- Makarova E.N., Yakovleva T.V., Balybina N.Yu., Baranov K.O., Denisova E.I., Dubinina A.D., Feofanova N.A., Bazhan N.M. Pharmacological effects of fibroblast growth factor 21 are sex-specific in mice with the *lethal yellow* (*A^y*) mutation. *Vavilov J Genet Breed*. 2020;24(2):200-208. doi 10.18699/VJ20.40-o
- Makarova E., Kazantseva A., Dubinina A., Denisova E., Jakovleva T., Balybina N., Bgatova N., Baranov K., Bazhan N. Fibroblast growth factor 21 (FGF21) administration sex-specifically affects blood insulin levels and liver steatosis in obese *A^y* mice. *Cells*. 2021a;10(12): 3440. doi 10.3390/cells10123440
- Makarova E., Kazantseva A., Dubinina A., Jakovleva T., Balybina N., Baranov K., Bazhan N. The same metabolic response to FGF21 administration in male and female obese mice is accompanied by sex-specific changes in adipose tissue gene expression. *Int J Mol Sci*. 2021b;22(19):10561. doi 10.3390/ijms221910561
- Sanders F.W., Griffin J.L. *De novo* lipogenesis in the liver in health and disease: more than just a shunting yard for glucose. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2016;91(2):452-468. doi 10.1111/brv.12178
- Senthil K.S.P., Shen M., Spicer E.G., Goudjo-Ako A.J., Stumph J.D., Zhang J., Shi H. Distinct metabolic effects following short-term exposure of different high-fat diets in male and female mice. *Endocr J*. 2014;61(5):457-470. doi 10.1507/endocrj.EJ13-0455
- Speakman J.R. Use of high-fat diets to study rodent obesity as a model of human obesity. *Int J Obes*. 2019;43(8):1491-1492. doi 10.1038/s41366-019-0363-7
- Spruss A., Henkel J., Kanuri G., Blank D., Püschel G.P., Bischoff S.C., Bergheim I. Female mice are more susceptible to nonalcoholic fatty liver disease: Sex-specific regulation of the hepatic AMP-activated protein kinase-plasminogen activator inhibitor 1 cascade, but not the hepatic endotoxin response. *Mol Med*. 2012;18(1):1346-1355. doi 10.2119/molmed.2012.00223
- Takaki A., Kawai D., Yamamoto K. Multiple hits, including oxidative stress, as pathogenesis and treatment target in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Int J Mol Sci*. 2013;14(10):20704-20728. doi 10.3390/ijms141020704
- Xu J., Stanislaus S., Chinookoswong N., Lau Y.Y., Hager T., Patel J., Ge H., ... Hecht R., Li Y.-S., Li Y., Lindberg R., Véniant M.M. Acute glucose-lowering and insulin-sensitizing action of FGF21 in insulin-resistant mouse models – association with liver and adipose tissue effects. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009;297(5):E1105-E1114. doi 10.1152/ajpendo.00348.2009
- Ye Q., Jiang Y., Wu D., Cai J., Jiang Z., Zhou Z., Liu L., Ling Q., Wang Q., Zhao G. Atractylodin alleviates nonalcoholic fatty liver disease by regulating Nrf2-mediated ferroptosis. *Heliyon*. 2023; 9(7):e18321. doi 10.1016/j.heliyon.2023.e18321

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 14.11.2025. После доработки 02.04.2026. Принята к публикации 24.04.2026.