

Апоптоз в печени самцов мышей *db/db* при развитии ожирения и сахарного диабета 2-го типа

С.В. Мичурина¹, И.Ю. Ищенко¹✉, С.А. Архипов¹, М.А. Черепанова¹, Д.В. Васендин³, Е.Л. Завьялов²

¹ Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Федеральный исследовательский центр Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

³ Сибирский государственный университет геосистем и технологий, Новосибирск, Россия

✉ e-mail: irenisch@mail.ru

Аннотация. Известно, что ожирение и сахарный диабет приводят к развитию метаболического синдрома и неалкогольной жировой болезни печени. В поддержании клеточного гомеостаза при неалкогольной жировой болезни печени принимают активное участие механизмы запрограммированной клеточной гибели. Белки семейства BCL-2 являются ключевым регулятором физиологического и патологического апоптоза. Используемые в исследовании гомозиготные самцы мышей линии BKS.Cg-Dock7^mLepr^{db}/+/+J (мыши *db/db*) характеризуются прогрессирующим ожирением и развитием сахарного диабета 2-го типа (СД2), выраженной гипергликемией с 4–8-й недели жизни и развитием органических поражений после 8–10-й недели. Целью работы было изучить экспрессию молекулярно-клеточных регуляторов апоптоза в клетках печени самцов мышей *db/db* на разных сроках развития ожирения и сахарного диабета (в возрасте 10 и 18 нед). Проведены иммуногистохимический анализ (с помощью непрямого авидин-биотинового пероксидазного метода) и морфометрическая оценка экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 и проапоптотического протеина Bad в клетках печени исследуемых животных на разных сроках развития ожирения и СД2. В печени исследуемых самцов в возрасте 10 нед установлено превышение значения площади окрашивания на белок Bcl-2 над белком Bad. Индекс соотношения площадей экспрессии Bcl-2/Bad у 10-недельных животных оказался в два раза выше по сравнению с 18-недельными особями, что свидетельствует о наличии условий для блокирования процессов апоптоза в печени мышей *db/db* более раннего возраста. На 18-й неделе жизни у самцов мышей *db/db* обнаружено почти трехкратное увеличение площади экспрессии белка Bad на фоне неизменившейся экспрессии белка Bcl-2. Снижение значения соотношения площадей окрашивания Bcl-2/Bad у 18-недельных животных произошло за счет роста площади экспрессии Bad, что подтверждает отсутствие антиапоптотической защиты клеток и создает условия для активации митохондриальной «ветви» апоптоза в печени самцов мышей *db/db* с выраженными признаками ожирения и СД2.

Ключевые слова: мыши *db/db*; ожирение; сахарный диабет 2-го типа; печень; эндотелиоциты; гепатоциты; Bcl-2; Bad.

Для цитирования: Мичурина С.В., Ищенко И.Ю., Архипов С.А., Черепанова М.А., Васендин Д.В., Завьялов Е.Л. Апоптоз в печени самцов мышей *db/db* при развитии ожирения и сахарного диабета 2-го типа. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2020;24(4):435-440. DOI 10.18699/VJ20.43-0

Apoptosis in the liver of male *db/db* mice during the development of obesity and type 2 diabetes

S.V. Michurina¹, I.Yu. Ishchenko¹✉, S.A. Arkhipov¹, M.A. Cherepanova¹, D.V. Vasendin³, E.L. Zavjalov²

¹ Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

³ Siberian State University of Geosystems and Technologies, Novosibirsk, Russia

✉ e-mail: irenisch@mail.ru

Abstract. Obesity and diabetes mellitus are known to lead to the development of metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). The mechanisms of programmed cell death are actively involved in maintaining cellular homeostasis along development of NAFLD. Proteins of the BCL-2 family are key regulators of physiological and pathological apoptosis. Homozygous males of BKS.Cg-Dock7^mLepr^{db}/+/+J mice (*db/db* mice) are characterized by progressive obesity and the development of type 2 diabetes mellitus (DM2) with severe hyperglycemia at 4–8 weeks and organ lesions at 8–10 weeks of age. The aim of this research was to study the expression of molecular cell regulators of apoptosis in liver cells of *db/db* mice males at different stages of obesity and diabetes development (at the age of 10 and 18 weeks). Immunohistochemical analysis (using the indirect avidin-biotin peroxidase method) and morphometric evaluation of the expression of the antiapoptotic protein Bcl-2 and the proapoptotic protein Bad in liver cells of studied animals at different stages of obesity and DM2 were carried out. An excess of the value of the Bcl-2 protein staining area over the Bad protein staining area was revealed in the liver of 10-week-old animals. The Bcl-2/Bad expression area ratio in 10-week-old animals was twice as high as in 18-week-old animals, which indicates the presence of conditions for blocking apoptosis in the liver

of younger *db/db* mice. At the 18th week of life, *db/db* mice displayed an almost threefold increase in the expression area of the Bad protein against the background of an unchanged expression of the Bcl-2 protein. The decrease in the Bcl-2/Bad staining area ratio in 18-week-old animals was due to the increase in the Bad expression area, which indicates the absence of antiapoptotic cell protection and creates conditions for activation of the mitochondrial pathway of apoptosis in the liver of male *db/db* mice with pronounced signs of obesity and DM2.

Key words: *db/db* mice; obesity; type 2 diabetes mellitus (DM2); liver; endothelial cells; hepatocytes; Bcl-2; Bad.

For citation: Michurina S.V., Ishchenko I.Yu., Arkhipov S.A., Cherepanova M.A., Vasendin D.V., Zavjalov E.L. Apoptosis in the liver of male *db/db* mice during the development of obesity and type 2 diabetes. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(4):435-440. DOI 10.18699/VJ20.43-o

Введение

В условиях развития неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) в поддержании клеточного гомеостаза принимают активное участие механизмы запрограммированной клеточной гибели (Schuppan, Schattenberg, 2013). Ожирение и связанные с ним нарушения обмена веществ, включая накопление липидов в печени и воспаление, играют важную роль в канцерогенезе печени. Последние данные указывают на то, что ожирение и сахарный диабет приводят к развитию метаболического синдрома и НАЖБП, которые у пациентов с этим заболеванием могут прогрессировать до неалкогольного стеатогепатита, включающего риск развития цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы (Shimizu et al., 2011). Белки семейства BCL-2 являются ключевым регулятором физиологического и патологического апоптоза. Согласно современной модели регуляции апоптоза, соотношение белков регуляторов апоптоза Bcl-2, Bad и Bax определяет чувствительность клеток к воздействию апоптотических факторов и служит «молекулярным переключателем», определяющим, будет ли происходить рост либо атрофия ткани (Sun et al., 2015). Молекулярные особенности развития митохондриальной «ветви» апоптоза в печени самцов мышей *db/db* в постнатальном онтогенезе на разных сроках развития ожирения и сахарного диабета 2-го типа (СД2) до настоящего времени не изучены.

Цель нашего исследования – изучить экспрессию молекулярно-клеточных регуляторов апоптоза белков семейства BCL-2 – антиапоптотического белка Bcl-2 и проапоптотического протеина Bad – в клетках печени самцов мышей *db/db* на разных сроках развития ожирения и СД2 (в возрасте 10 и 18 нед).

Материалы и методы

Эксперименты проведены в ЦКП SPF-виварий Института цитологии и генетики СО РАН на гомозиготных самцах мышей линии BKS.Cg-Dock7^mLepr^{db/+}/+J (мыши *db/db*). Гомозиготные особи этой линии имеют дефект рецептора лептина (*Lepr^{db}*) и характеризуются полифагией, прогрессирующим ожирением с 3–4-й недели жизни, выраженной гипергликемией с 4–8-й недели жизни, развитием органических поражений после 8–10-й недели. Животных содержали в помещении с регулярным световым циклом 14С:10Т, постоянной комнатной температурой 24±2 °С и относительной влажностью 45±10 %, на стандартном корме (Ssniff, Германия) и воде *ad libitum*.

Исследования проводили на мышках в возрасте 10 (*n* = 7) и 18 (*n* = 7) недель, который сопоставим с 10 и 18 годами человека соответственно (Flurkey et al., 2006). Животных

выводили из эксперимента методом краниоцервикальной дислокации и забирали образцы печени для светооптических и иммуногистохимических исследований. Все экспериментальные работы на животных были выполнены с соблюдением принципов гуманности, проведены в соответствии с «Правилами работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755) и директивой Европейского сообщества (86/609/ЕЭС). Исследование одобрено локальным этическим комитетом (Протокол № 128 от 15.03.2017).

Образцы печени фиксировали в 10 % забуференном формалине (BioVitrum, Россия) в течение 48 ч, обезживали в серии спиртов возрастающей концентрации и заключали в гистомикс (BioVitrum). Срезы ткани толщиной 3 мкм получали на микротоме LEICA RM2155 (Германия). Для светооптического исследования использовали препараты, окрашенные гематоксилином Майера и эозином.

Иммуногистохимическое исследование экспрессии белков Bcl-2 и Bad проводили на парафиновых срезах печени с помощью непрямого авидин-биотинового пероксидазного метода с использованием набора “Vectastain Universal Elite ABC Kit” (Vector Laboratories, Catalog Number PK-7200). На последнем этапе иммуногистохимическую окраску осуществляли в хромогенном субстрате, содержащем диаминобензидин (раствор готовится *ex tempore* из компонентов набора “ImmPACT DAB” (Vector Laboratories, Catalog Number SK-4105). Часть срезов докрашивали гематоксилином Майера, промывали водой и после дегидратации монтировали под покровные стекла. Для количественной оценки экспрессии Bcl-2 и Bad в печени мышей проводили компьютерный морфометрический анализ цифровых фотографий, полученных при помощи микроскопа LEICA DM 2500 с видеокамерой LEICA DFC425C (Германия) при увеличении ×400. С помощью программы “Image J” на цифровых снимках определяли среднюю площадь зон окрашивания на Bcl-2 и Bad. Вычисляли индекс отношения площади экспрессии Bcl-2 к площади экспрессии Bad.

Статистическую обработку результатов исследований проводили при помощи лицензионного пакета программ Statistica 6.1 (серийный № AXXR101E832903FA). Для анализа данных, подчиняющихся нормальному распределению (среднюю площадь окрашивания белков Bcl-2 и Bad), рассчитывали среднее арифметическое и стандартную ошибку средней арифметической; достоверность различий исследуемых групп устанавливали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Достоверность различий данных,

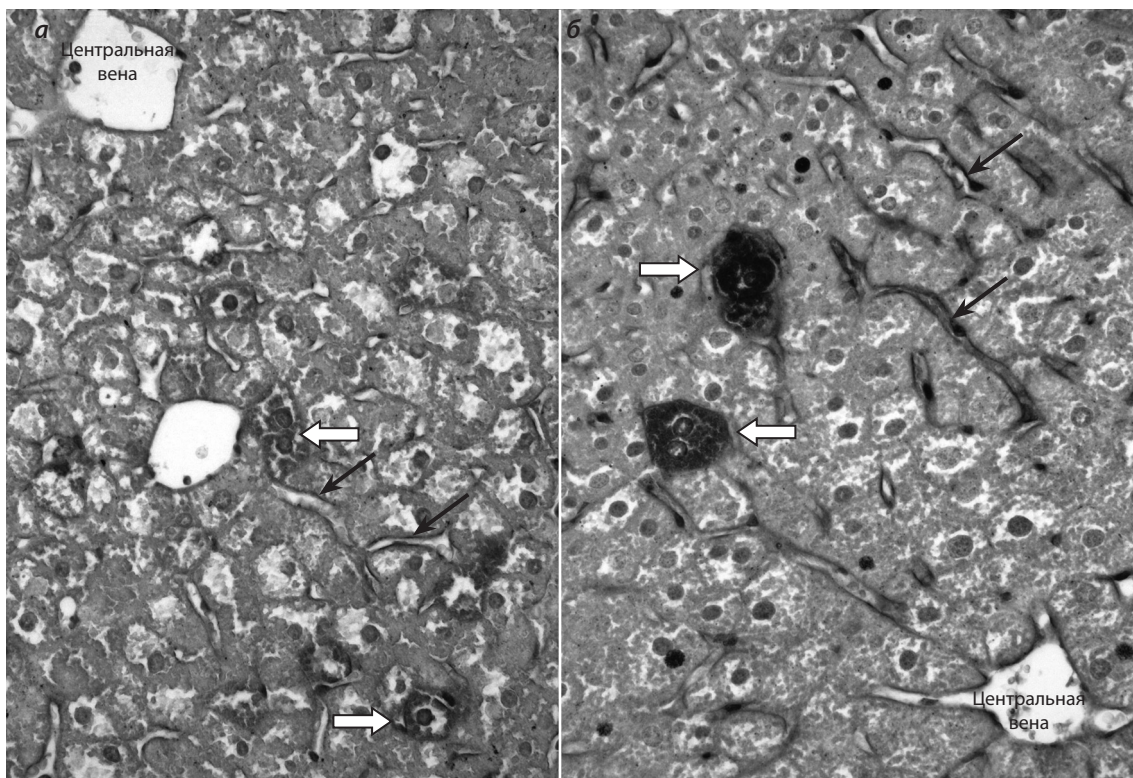


Рис. 1. Печень мышей *db/db* в возрасте 10 нед: *a* – слабо выраженное иммуногистохимическое окрашивание на проапоптотический белок Bad с докраской гематоксилином Майера; *b* – ярко выраженное иммуногистохимическое окрашивание на антиапоптотический белок Bcl-2 с докраской гематоксилином Майера.

Здесь и на рис. 3: черными стрелками указаны синусоидные капилляры печени, белыми – иммуногистохимически окрашенные гепатоциты. Окуляр $\times 10$, объектив $\times 40$.

отличных от нормального распределения (индекс отношения площади экспрессии Bcl-2 к площади экспрессии Bad), определяли с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Различия сравниваемых величин считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты

В печени исследуемых самцов мышей в возрасте 10 нед обнаружены застойные явления в междольковых венах, расширение лимфатических сосудов, желчных протоков. В отдельных гепатоцитах и группах паренхиматозных клеток, расположенных главным образом в промежуточных зонах печеночных долек, отмечены признаки белковой дистрофии и аккумуляции липидов, преимущественно мелкокапельного характера.

Имуногистохимически был выявлен слабый Bad-положительный сигнал в отдельных гепатоцитах и в гетерогенной популяции синусоидных клеток кровеносных капилляров печени (рис. 1, *a*), участвующих в образовании гемато-лимфатического барьера печени, включающего эндотелиоциты, клетки Купфера, клетки Ито и Pit-клетки (Мичурина и др., 2016). При этом в клетках печени наблюдалось выраженное иммуногистохимическое окрашивание и на антиапоптотический белок Bcl-2. В печеночных дольках исследуемый маркер был сосредоточен в основном в эндотелиальных клетках выстилки кровеносных синусоидных капилляров и в единичных гепатоцитах (см. рис. 1, *b*).

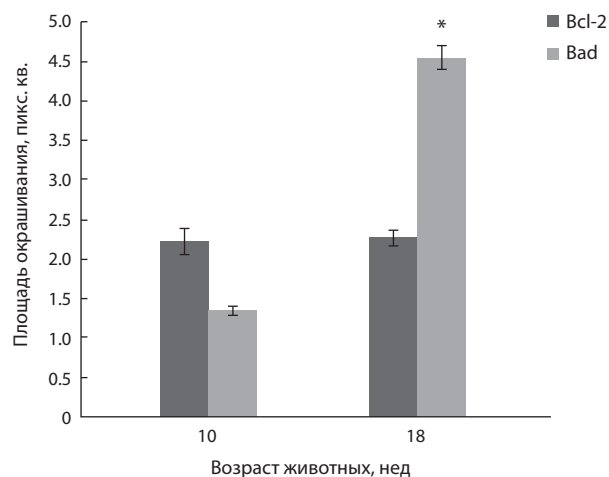


Рис. 2. Площадь окрашивания белков Bcl-2 и Bad в печени мышей *db/db* в возрасте 10 и 18 нед.

* Различия достоверны между группами «10 нед» и «18 нед» ($p < 0.05$).

Количественная оценка экспрессии молекулярно-клеточных регуляторов апоптоза антиапоптотического белка Bcl-2 и проапоптотического протеина Bad в печени самцов мышей *db/db* показала, что в клетках органа у животных в возрасте 10 нед происходит превышение значения площади иммуногистохимического окрашивания на белок Bcl-2 над значением этого параметра для белка Bad (рис. 2).

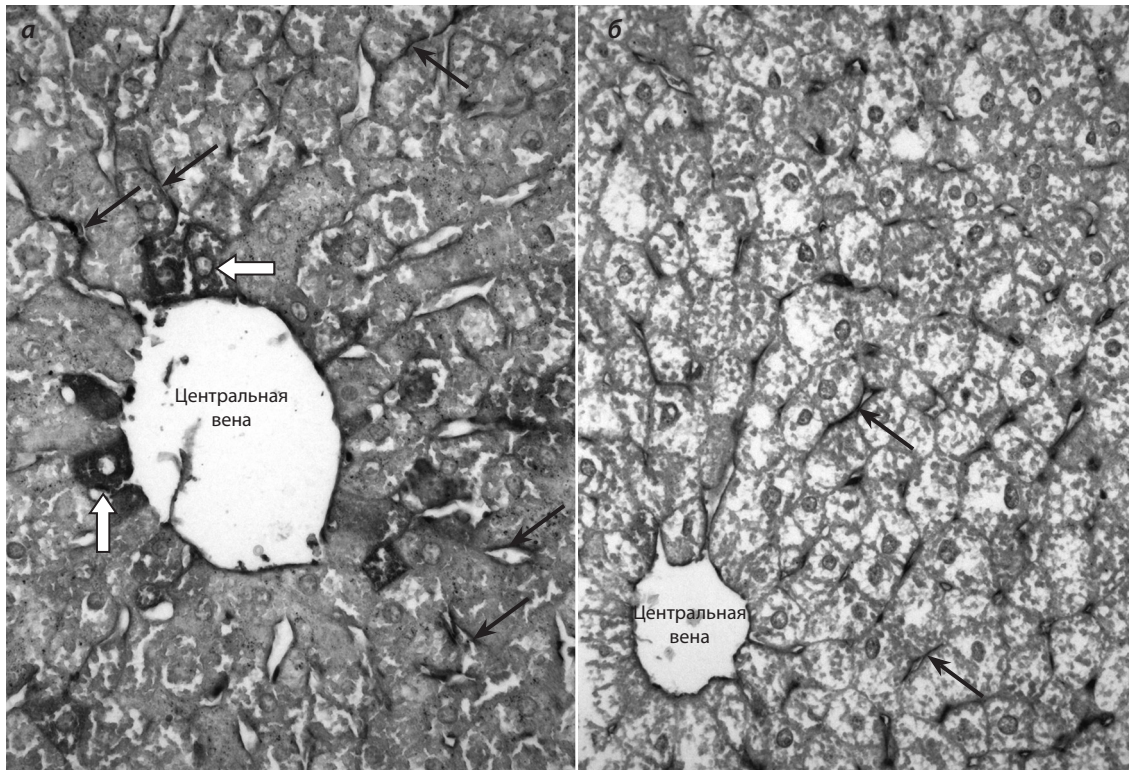


Рис. 3. Печень мышей *db/db* в возрасте 18 нед: *a* – выраженное иммуногистохимическое окрашивание на проапоптотический белок Bad с докраской гематоксилином Майера; *б* – слабое иммуногистохимическое окрашивание на антиапоптотический белок Bcl-2 с докраской гематоксилином Майера.

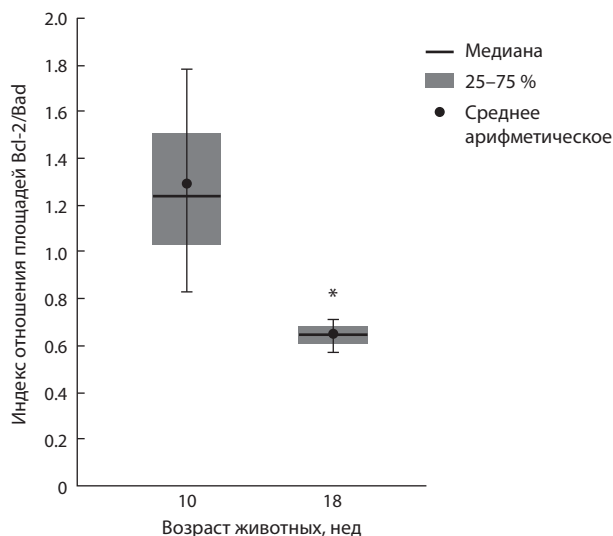


Рис. 4. Индекс отношения площадей окрашивания Bcl-2/Bad.
* Различия достоверны между группами «10 нед» и «18 нед» ($p < 0.05$).

В печени мышей самцов мышей *db/db* в возрасте 18 нед отмечены признаки развития неалкогольной жировой болезни, более выраженные, чем у животных 10-недельного возраста. В паренхиматозных клетках всех зон печеночных долек определялась диффузная аккумуляция липидов средне- и крупнокапельного характера, развивающаяся на фоне нарушений микроциркуляции, внутри-

органного транспорта желчи, значительной дилатации кровеносных и лимфатических сосудов в системе триад и центральных вен.

Исследование экспрессии молекулярно-клеточных регуляторов апоптоза белков семейства BCL-2 в печени самцов мышей *db/db* в возрасте 18 нед показало выраженное иммуногистохимическое окрашивание на проапоптотический белок Bad эндотелиальных клеток кровеносных синусоидных капилляров. Сильный Bad-положительный сигнал определялся в гепатоцитах, расположенных преимущественно в перипортальных зонах и вокруг центральных вен (рис. 3, *a*), а также в дуктальном эпителии желчных протоков триад. При этом в клетках гематолимфатического барьера печени и единичных гепатоцитах исследуемых животных в возрасте 18 нед наблюдалось слабое иммуногистохимическое окрашивание на антиапоптотический белок Bcl-2 (см. рис. 3, *б*).

Морфометрический анализ печени животных в возрасте 18 нед показал увеличение площади экспрессии проапоптотического белка Bad, по сравнению с 10-недельными мышами. При этом площадь окрашивания на антиапоптотический белок Bcl-2 не изменилась, по сравнению с животными в возрасте 10 нед (см. рис. 2).

Оценка отношения площадей экспрессии Bcl-2/Bad выявила значительное снижение этого индекса у 18-недельных мышей *db/db* по сравнению с 10-недельными животными (рис. 4), происходящее за счет возрастания главным образом площади экспрессии Bad у самцов в возрасте 18 нед. Полученные данные свидетельствуют об

отсутствии антиапоптотической защиты клеток органа, что создает условия для активации митохондриальной «ветви» апоптоза в клетках печени мышей *db/db* в возрасте 18 нед.

Обсуждение

Известно, что на развитие программированной клеточной гибели оказывают влияние посттрансляционные модификации белков семейства BCL-2. Один из путей регуляции активности апоптоз-индуцирующих белков – процесс фосфорилирование/дефосфорилирование, это влияет на их способность образовывать гетеродимеры с другими членами белков семейства BCL-2. В свете современных данных, индукция экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 вызывает закрытие каналов в митохондриальной мембране и предотвращает выход протеазы AIF (фактор, индуцирующий апоптоз) и цитохрома C, защищая тем самым клетку от апоптоза. При этом Bcl-2 блокирует реакции перекисного окисления липидов в мембранах клеток, обеспечивая защиту клеток от повреждения свободными радикалами и препятствуя, таким образом, развитию апоптоза (Chevalier et al., 2000; Пальцев, 2002; Мушкамбаров, Кузнецов, 2007; Dewanjee et al., 2015). Ранее нами было установлено, что к 10-недельному возрасту мыши *db/db* уже характеризовались ожирением, имели тяжелую гипергликемию с уровнем глюкозы в плазме 506 мг/дл (28.1 ммоль/л) и больше. Однако существенных различий в уровнях глюкозы, триглицеридов, общего холестерина, АЛТ и ГГТ у мышей *db/db* в возрасте 10 и 18 нед не найдено (Michurina et al., 2016). Как обнаружено в этом исследовании, в печени самцов в возрасте 10 нед площадь экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 превышает значение площади иммуногистохимического окрашивания на проапоптотический белок Bad. Полученные результаты свидетельствуют о наличии антиапоптотической защиты клеток печени на данном сроке развития НАЖБП.

Показано, что при СД2 в печени самцов мышей *db/db* в возрасте 18 нед выявляются ультраструктурные нарушения энергетического и белоксинтетического аппаратов клеток, углеводного и жирового обмена, что приводит к развитию белковой и жировой дистрофии гепатоцитов (Michurina et al., 2016).

Нарушения кровообращения и лимфотока в печени этих животных обуславливают нарушения морфологической организации гемато-лимфатического барьера печени, приводят к понижению экспрессии рецептора LYVE-1 на мембранах эндотелиальных клеток синусоидов. Такие морфологические перестройки способствуют развитию тканевой гипоксии, оксидативного стресса и повреждению митохондрий – индукторов клеточной гибели (Eckert et al., 2003; Michurina et al., 2016). В этих условиях с помощью белков семейства Bcl-2 запускается митохондриальная «ветвь» апоптоза клеток. При нарушении наружной мембраны митохондрий из межмембранного объема также выделяется термоллабильный фактор, катализирующий реакции с O₂ и приводящий к развитию окислительного стресса. При этом образуются активные формы кислорода, разрушающие митохондрии и являющиеся мощными индукторами апоптоза (Колесников и др., 1999; Dewanjee et al., 2015).

Развитие микровезикулярного стеатоза также считается следствием тяжелого нарушения функции митохондрий (Begriche et al., 2011). Предполагают, что те же митохондриальные нарушения могут быть частой причиной развития мелкопузырчатого стеатоза и апоптоза у мышей с ожирением (Trak-Smauga et al., 2011).

В нашем исследовании выявлены наибольшие изменения в эндотелиальных клетках кровеносных синусоидных капилляров печени. Мы только начинаем понимать всю сложность функций эндотелиальных клеток. В настоящее время доказано, что эти клетки контролируют регенерацию печени как «пространственно-временной реостат». Динамически регулируя экспрессию ангиопоэтина-2, они координируют собственную регенерацию и пролиферацию гепатоцитов, поддерживают восстановление соединительной ткани, контролируют созревание и состояние покоя кровеносных сосудов (Hu et al., 2014). Эндотелий выступает в качестве исходной линии защиты от вторжения патогенных микроорганизмов, а также регулирует тонус сосудов и проницаемость. Поскольку поврежденные эндотелиоциты могут отделяться от их базальной мембраны и свободно циркулировать в крови, дискуссионной была возможность обнаружения эндотелиального апоптоза в естественных условиях. Степень развития сосудистых травм непосредственно коррелирует с травмой органов у больных в критическом состоянии (Hutchins et al., 2013). Выявленное нами в печени самцов мышей *db/db* в возрасте 18 нед выраженное иммуногистохимическое окрашивание на проапоптотический белок Bad эндотелиальных клеток кровеносных синусоидных капилляров при низком уровне экспрессии в них антиапоптотического белка Bcl-2 свидетельствует о развитии митохондриальной «ветви» апоптоза в клетках гематолимфатического барьера печени при НАЖБП (Shimizu et al., 2011; Hutchins et al., 2013).

Поскольку запуск апоптоза происходит через инактивирование Bcl-2 при его связывании с белком Bad, установленное нами увеличение площади окрашивания проапоптотического белка Bad говорит об отсутствии антиапоптотической защиты и развитии апоптоза по митохондриальному пути в клетках печени. Это подтверждается также понижением соотношения площадей экспрессии Bcl-2/Bad в печени у самцов мышей *db/db* на 18-й неделе жизни.

Заключение

Проведены иммуногистохимический анализ и морфометрическая оценка экспрессии молекулярно-клеточных регуляторов апоптоза белков членов семейства BCL-2: антиапоптотического белка Bcl-2 и проапоптотического протеина Bad в клетках печени самцов мышей *db/db* на разных сроках развития ожирения и сахарного диабета 2-го типа. В печени самцов в возрасте 10 нед выявлено превышение значения площади окрашивания на белок Bcl-2 над белком Bad. Индекс соотношения площадей экспрессии Bcl-2/Bad у 10-недельных животных оказался в два раза выше по сравнению с 18-недельными особями, что говорит о наличии условий для блокирования процессов апоптоза в печени более молодых мышей. На 18-й неделе жизни у мышей обнаружено почти трех-

кратное увеличение площади экспрессии белка Bad на фоне неизменившейся экспрессии белка Bcl-2. Снижение значения отношения Bcl-2/Bad у 18-недельных животных отмечалось за счет роста площади экспрессии Bad. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии антиапоптотической защиты клеток и создании условий для активации митохондриальной «ветви» апоптоза в печени самцов мышей *db/db* с выраженными признаками ожирения и СД2.

Список литературы / References

- Колесников С.И., Семенюк А.В., Грачев С.В. Импринтинг действия токсикантов в эмбриогенезе. М., 1999.
[Kolesnikov S.I., Semenyuk A.V., Grachev S.V. Toxicant Action Imprinting in Embryogenesis. Moscow, 1999. (in Russian)]
- Мичурина С.В., Ищенко И.Ю., Архипов С.А., Климонтов В.В., Рачковская Л.Н., Коненков В.И., Завьялов Е.Л. Влияние комплекса мелатонина, оксида алюминия и полиметилсилоксана на экспрессию LYVE-1 в печени мышей с моделью ожирения и сахарного диабета 2-го типа. *Бюл. эксперим. биол. и медицины*. 2016;162(8):238-242.
[Michurina S.V., Ishchenko I.Yu., Arkhipov S.A., Klimontov V.V., Rachkovskaya L.N., Konenkov V.I., Zavjalov E.L. Effects of melatonin, aluminum oxide, and polymethylsiloxane complex on the expression of LYVE-1 in the liver of mice with obesity and type 2 diabetes mellitus. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2016;162(2):269-272. DOI 10.1007/s10517-016-3592-y.]
- Мущкамбаров Н.Н., Кузнецов С.Л. Молекулярная биология. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2007.
[Mushkambarov N.N., Kuznetsov S.L. Molecular Biology. Moscow, 2007. (in Russian)]
- Пальцев М.А. Молекулярная медицина и прогресс фундаментальных наук. *Вестн. РАН*. 2002;72(1):13-21.
[Paltsev M.A. Molecular medicine and progress in basic sciences. *Vestnik Rossiyskoy Akademii Nauk = Herald of the Russian Academy of Sciences*. 2002;72(1):13-21. (in Russian)]
- Begrice K., Massart J., Robin M.A., Borgne-Sanchez A., Fromenty B. Drug-induced toxicity on mitochondria and lipid metabolism: mechanistic diversity and deleterious consequences for the liver. *J. Hepatol*. 2011;54(4):773-794. DOI 10.1016/j.jhep.2010.11.006.
- Chevalier R.L., Smith C.D., Wolstenholme J., Krajewski S., Reed J.C. Chronic ureteral obstruction in the rat suppresses renal tubular Bcl-2 and stimulates apoptosis. *Exp. Nephrol*. 2000;8(2):115-122. DOI 10.1159/000020657.

- Dewanjee S., Dua T.K., Khanra R., Das S., Barma S., Joardar S., Bhattacharjee N., Zia-Ul-Haq M., Jaafar H.Z. Water spinach, *Ipomoea aquatica* (Convolvulaceae), ameliorates lead toxicity by inhibiting oxidative stress and apoptosis. *PLoS One*. 2015;10(10):e0139831. DOI 10.1371/journal.pone.0139831.
- Eckert A., Keil U., Kressmann S., Schindowski K., Leutner S., Leutz S., Müller W.E. Effects of EGb 761 *Ginkgo biloba* extract on mitochondrial function and oxidative stress. *Pharmacopsychiatry*. 2003;36(Suppl. 1):S15-S23. DOI 10.1055/c-2003-40449.
- Flurkey K., Curren J.M., Harrison D.E. Mouse models in aging research. In: Fox J.G., Barthold S.W., Davisson M.T., Newcomer C.E., Quimby F.W., Smith A.L. (Eds.). *The Mouse in Biomedical Research*. 2nd Edition. New York: Elsevier, 2006;3:637-672.
- Hu J., Srivastava K., Wieland M., Runge A., Mogler C., Besemfelder E., Terhardt D., Vogel M.J., Cao L., Korn C., Bartels S., Thomas M., Augustin H.G. Endothelial cell-derived angiotensin-2 controls liver regeneration as a spatiotemporal rheostat. *Science*. 2014;343(6169):416-419. DOI 10.1126/science.1244880.
- Hutchins N.A., Chung C.S., Borgerding J.N., Ayala C.A., Ayala A. Kupffer cells protect liver sinusoidal endothelial cells from Fas-dependent apoptosis in sepsis by down-regulating gp130. *Am. J. Pathol*. 2013;182(3):742-754. DOI 10.1016/j.ajpath.2012.11.023.
- Michurina S.V., Ishchenko I.J., Klimontov V.V., Arkhipov S.A., Myakina N.E., Cherepanova M.A., Zavjalov E.L., Koncevaya G.V., Konenkov V.I. Linagliptin alleviated fatty liver disease in diabetic *db/db* mice. *World J. Diabetes*. 2016;7(19):534-546. DOI 10.4239/wjd.v7.i19.534.
- Schuppan D., Schattenberg J.M. Non-alcoholic steatohepatitis: pathogenesis and novel therapeutic approaches. *J. Gastroenterol. Hepatol*. 2013;28(Suppl. 1):68-76. DOI 10.1111/jgh.12212.
- Shimizu M., Yasuda Y., Sakai H., Kubota M., Terakura D., Baba A., Ohno T., Kochi T., Tsurumi H., Tanaka T., Moriawaki H. Pitavastatin suppresses diethylnitrosamine-induced liver preneoplasms in male C57BL/KsJ-*db/db* obese mice. *BMC Cancer*. 2011;11:281. DOI 10.1186/1471-2407-11-281.
- Sun D., Li S., Wu H., Zhang M., Zhang X., Wei L., Qin X., Gao E. Oncostatin M (OSM) protects against cardiac ischaemia/reperfusion injury in diabetic mice by regulating apoptosis, mitochondrial biogenesis and insulin sensitivity. *J. Cell. Mol. Med*. 2015;19(6):1296-1307. DOI 10.1111/jcmm.12501.
- Trak-Smayra V., Paradis V., Massart J., Nasser S., Jebara V., Fromenty B. Pathology of the liver in obese and diabetic ob/ob and db/db mice fed a standard or high-calorie diet. *Int. J. Exp. Pathol*. 2011;92(6):413-421. DOI 10.1111/j.1365-2613.2011.00793.x.

ORCID ID

E.L. Zavjalov orcid.org/0000-0002-9412-3874

Благодарности. Разведение животных поддержано бюджетным проектом № 0324-2019-0041, исследования выполнены с использованием оборудования ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ФИЦ ИЦиГ СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (уникальный идентификатор проекта RFMEFI62117X0015).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 24.09.2019. После доработки 23.10.2019. Принята к публикации 23.10.2019. Опубликована онлайн 24.03.2020.