

На правах рукописи



Маршинская Ольга Владимировна

**ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОКАЛОРИЙНОЙ ДИЕТЫ НА МИНЕРАЛЬНЫЙ
ОБМЕН И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОРГАНИЗМА
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

1.5.5. – Физиология человека и животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Майкоп – 2024

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Оренбургский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Научный руководитель: **Нотова Светлана Викторовна,**
доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты: **Карганов Михаил Юрьевич,**
доктор биологических наук, профессор, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», заведующий лабораторией физико-химической и экологической патофизиологии (г. Москва)
Малявская Светлана Ивановна,
доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет», кафедра педиатрии, заведующий кафедрой (г. Архангельск)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится 23 октября 2024 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета 24.2.267.02 при ФГБОУ ВО «Адыгейский государственный университет» по адресу: 385000, Республика Адыгея, г. Майкоп, ул. Пионерская, 260, конференц-зал научной библиотеки АГУ.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке им. Д.А. Ашхамафа ФГБОУ ВО «Адыгейский государственный университет» по адресу: 385000, Республика Адыгея, г. Майкоп, ул. Пионерская, 260, и на сайте университета adygnet.ru/nauka/aspirantura-doktorantura-dissertatsionnye-sovety/dissertation/6143/

Автореферат разослан «__» _____ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат биологических наук, доцент



Кузьмин
Андрей Александрович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Для обеспечения функционирования всех физиологических процессов организму требуется оптимальное количество энергии, основных нутриентов и микронутриентов, в частности, химических элементов (Тутельян В.А., 2021). Несмотря на небольшое содержание в организме макро- и микроэлементы относятся к незаменимым компонентам пищи благодаря разнообразным биологическим функциям. Они регулируют обменные процессы, рост и развитие, защищают от вредных факторов окружающей среды, участвуют в тканевых, клеточных и субклеточных функциях, являются активаторами многих физиолого-биохимических процессов в организме (Корчина Т.Я. и др., 2016, Малявская С.И. и др., 2019; Tako E., 2019; Baj J. et al., 2020; Sandoval-Acuna C. et al., 2021; Yamada S. et al., 2021). Элементный гомеостаз является частью общей гомеостатической системы организма, нарушение которой отражается на способности к адаптации и сопровождается расстройствами обмена веществ (Скальный А.В. и др., 2014; Радыш И.В. и др., 2017).

Основной путь поступления химических элементов в организм – алиментарный, поэтому полноценное и сбалансированное питание является главным фактором адекватной обеспеченности организма макро- и микроэлементами (Carone K., Sentongo T., 2019; Драпкина О.М. и др., 2021). Однако питание современного человека характеризуется беспрецедентно избыточным уровнем потребления высококалорийной пищи (Speakman J.R., 2013; Батурин А.К. и др., 2020). Длительная высококалорийная диета (ВКД) нарушает адекватность реагирования функциональных систем, приводит к изменению компенсаторно-приспособительных реакций (Тутельян В.А. и др., 2010; Muoio D.M., 2014; Lopez-Otin C. et al., 2016).

ВКД приводит к увеличению индекса массы тела и является основным фактором развития абдоминального ожирения (Викторова И.А. и др., 2021). В свою очередь изменение морфометрических показателей лежит в основе большинства патологий углеводного и липидного обменов, являясь маркерами дисфункции жировой ткани (Samson S.L., Garber A.J., 2014; Engin A., 2017). Данное положение подтверждается совпадением распространённости высококалорийного питания, избыточного веса и ожирения с распространённостью метаболического синдрома, и инсулиннезависимого сахарного диабета (Saklayen M.G., 2018).

ВКД нарушает механизмы поддержания элементного гомеостаза, что проявляется повышением содержания токсичных химических элементов на фоне снижения уровня важнейших эссенциальных элементов. В частности, отмечается изменение содержания кальция, магния, калия, кобальта, хрома, меди, железа, йода, цинка, селена, марганца, т.е. элементов, играющих важную роль в поддержании метаболизма углеводов и липидов (Sonnweber T. et al., 2012; Rodriguez M. et al., 2018; Wang X. et al., 2018; Karganov M.Y. et al., 2020; Li T. et al., 2022). Так, например, любые изменения в концентрации кальция могут препятствовать нормальному высвобождению инсулина (Song Z., 2019), дефицит йода связывают с субклиническими изменениями гомеостаза инсулина и нарушением энергетического обмена в организме (Solovyev N. et al., 2019), снижение концентрации селена приводит к активации процессов перекисного окисления липидов (Shimada B.K. et al., 2021). В свою очередь токсичные химические элементы отрицательно влияют на физиопатологию жировой ткани (Tinkov A.A. et al., 2017). Например, предполагается, что

увеличение концентрации токсичных химических элементов в организме приводит к снижению количества инсулиновых рецепторов (Saba S., 2020).

Многие микроэлементы участвуют в биохимических процессах в качестве кофакторов (коферментов) или их составных частей, тем самым регулируя ряд физиологических процессов, в частности, они участвуют в обеспечении динамического равновесия между окислительным стрессом и антиоксидантной системой (АОС) защиты (Wolonciej M. et al., 2016; Kielczykowska M. et al., 2018). Доказано, что как дефицит, так и избыток химических элементов может влиять на окислительно-восстановительный баланс (Evans P., Halliwell B., 2001). Окислительный стресс, в свою очередь, оказывает негативное влияние на липидный и гликемический профиль, являясь фактором развития ожирения и сахарного диабета 2 типа (СД2) (Newsholme P. et al., 2016; Jakubiak G.K. et al., 2021). При изучении механизмов развития нарушений липидного обмена в последнее время акцентируется внимание на роли фермента стеарил-коэнзим-а-десатуразы (SCD), являющегося ключевым в биосинтезе мононенасыщенных жирных кислот в большинстве тканей человека и грызунов, особенно в печени и жировой ткани (Shen J. et al., 2020). По данным ряда авторов, SCD представляет собой терапевтическую мишень для контроля ожирения и прогрессирования сопутствующих метаболических заболеваний (ALJohani A.M. et al., 2017). Установлено, что SCD является железосодержащим ферментом, есть косвенные доказательства роли селена в функционировании данного фермента (Bai Y. et al., 2015; Miyata M. et al., 2020; Shen J. et al., 2020).

Однако, несмотря на многочисленные исследования влияния ВКД на состояние организма и баланс отдельных химических элементов, недостаточно изучены параметры элементного гомеостаза в целом, включающие валовое содержание элементов, металл-лигандные формы эссенциальных микроэлементов, их взаимосвязь с показателями антиоксидантной защиты, липидного и углеводного обменов.

Степень разработанности темы. Эпидемиологические исследования, проводимые в рамках мониторинга питания населения России, свидетельствуют о том, что к основным нарушениям питания населения относится превышение калорийности рациона над уровнем энергозатрат, что приводит к избыточной массе тела и ожирению детского и взрослого населения (Коденцова В.М. и др., 2017). По данным ряда авторов, связанные с ВКД метаболические и морфофункциональные нарушения могут быть опосредованы изменением уровней химических элементов в организме (Plyechova E. Yu. et al., 2019; Kizalaite A. et al., 2019; Rathinasamy J.I.R.A. et al., 2020). Фундаментальными и клиническими исследованиями доказано, что ВКД приводит к нарушению транспорта, распределения, экскреции и накопления ряда химических элементов, что является фактором развития окислительного стресса, воспаления, нарушений углеводного и липидного обменов (Gonzalez-Dominguez A. et al., 2020; Moleti M. et al., 2021; Harahap I.A. et al., 2022; de Sousa Melo S.R. et al., 2022; Steinbrenner H. et al., 2022). Данные метаболические нарушения, наряду с повышенным артериальным давлением, являются основными причинами ряда хронических неинфекционных заболеваний, включая СД2 и ожирение (Драпкина О.М. и др., 2022; Каде А.Х. и др., 2022; Мартюшев-Поклад А.В. и др., 2022; Chao H.W. et al., 2019).

До недавнего времени элементный гомеостаз оценивали по общему содержанию химических элементов в различных биосубстратах, однако исследования последних лет показали, что изменения уровня микроэлементов даже в диапазоне нормальных значений сопровождается их перераспределением по различным белковым фракциям (Maass F. et al.,

2020). В настоящее время большое внимание уделяется определению металл-лигандных форм микроэлементов. По мнению ряда авторов, изменение соотношений форм химических элементов в биологических системах, является пусковым механизмом регуляции или дизрегуляции многих физиологических функций живых организмов (Schmidt L. et al., 2018; Arena G., Rizzarelli E., 2019; Solovyev N. et al., 2019; Ajsuvakova O.P. et al., 2020; Maass F. et al., 2020). Таким образом, метаболические нарушения могут быть сопряжены не только с дефицитом или избытком определенного химического элемента, но и с особенностями его перераспределения между различными белковыми фракциями в крови (Humann-Ziehanck E. et al., 2016; Marcinkowska M., Baralkiewicz D., 2016; Mandrioli J. et al., 2017). Современное состояние исследований по проблеме продемонстрировало высокий потенциал определения форм химических элементов для изучения развития ряда заболеваний и полное отсутствие данных о металл-лигандных формах химических элементов при ВКД.

Важную роль в развитии хронических неинфекционных заболеваний играет генетическая предрасположенность (Lowy I., 2019). Проводится множество исследований по определению генетических предикторов ожирения, СД2 и сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) (Goodarzi M.O., 2018; Vujkovic M. et al., 2020). Однако вопрос о непосредственной роли генетических факторов в развитии патологий углеводного и липидного обменов остается дискуссионным, так как нельзя оставлять без внимания воздействие факторов внешней среды, таких как режим питания и физическая активность (Boehme A.K. et al., 2017). Особый интерес в понимании причин развития и прогрессирования алиментарно-зависимых состояний при ВКД представляют экспериментальные исследования с использованием специальных линий лабораторных животных (крысы SHR, ZDF, Zucker Fatty Rat и т.д.), которые демонстрируют генетическую предрасположенность к определённым метаболическим заболеваниям (Wang B. et al., 2014). С использованием данных линий животных были изучены многие аспекты влияния ВКД на организм (Giesbertz P. et al., 2015; Elmarakby A.A., Sullivan J.C., 2021; Otani K. et al., 2022).

Анализ литературных источников показывает, что, несмотря на многочисленные исследования, которые выявили важные закономерности и механизмы адаптации организма, поддерживающие метаболический гомеостаз в условиях неправильного питания, недостаточно изучен вопрос о функциональном сопряжении минерального обмена с морфофункциональными характеристиками и ферментативными системами организма. Изучение ранних нарушений обмена веществ при ВКД может дать возможность их своевременного выявления, что позволит ограничить генерализацию патологических изменений в организме, оптимизировать адаптивные и компенсаторные механизмы и предупредить или замедлить развитие дальнейшей патологии. Учитывая вышесказанное, исследование минерального обмена с учётом форм химических элементов является актуальным и позволит, наряду с получением новых фундаментальных знаний, решать практические вопросы, связанные с оценкой состояния организма при ВКД.

Цель исследования: выявить влияние высококалорийной диеты на показатели минерального обмена и морфофункциональное состояние лабораторных крыс с наличием и отсутствием генетической предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям.

Для реализации поставленной цели были определены следующие **задачи:**

1. Изучить на экспериментальной модели (крысы линий Wistar и SHR) воздействие высококалорийной диеты на морфофункциональные и поведенческие показатели, параметры

гемограммы, биохимический анализ крови и адаптационные реакции организма (по методике Л.Х. Гаркави с соавторами).

2. Выявить влияние высококалорийной диеты на уровень стеарил-коэнзим-А-дегидрогеназы, активность ферментов антиоксидантной системы и гистологическое строение печени.

3. Провести анализ валового содержания химических элементов в сыворотке крови и печени лабораторных животных при высококалорийной диете, определить особенности накопления и обмена микроэлементов с учетом изучения форм химических элементов в сыворотке крови.

4. Установить взаимосвязь между показателями минерального обмена, биохимическими параметрами и антиоксидантным статусом при высококалорийной диете.

5. Сравнить эффекты высококалорийной диеты на организм животных с наличием (крысы линии SHR) и отсутствием (крысы линии Wistar) генетической предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям.

Научная новизна. Исследование вносит вклад в изучение закономерностей формирования элементного гомеостаза на фоне ВКД в организме животных с наличием и отсутствием генетической предрасположенности к ССЗ. В работе впервые:

- определены маркеры ранних нарушений углеводного и липидного обменов в сыворотке крови (железо, хром, йод, цинк, свинец, кадмий), для крыс с генетической предрасположенностью к ССЗ выявлены дополнительные маркеры (кальций, магний и селен);

- установлено, что ВКД приводит к перераспределению жизненно важных химических элементов в биосубстратах (сыворотка крови и печень): на фоне снижения в сыворотке крови йода, хрома, железа и цинка, зафиксировано накопление этих элементов в печени;

- выявлено, что ВКД приводит к изменению механизма формирования металл-лигандных форм цинка и меди, что проявляется снижением церулоплазминовой фракции меди и увеличением альбуминовой фракции цинка в сыворотке крови;

- установлено, что ВКД, независимо от генетической предрасположенности лабораторных животных к ССЗ, приводит к повышению уровня печеночной SCD, что косвенно свидетельствует о нарушении проницаемости мембран клеток.

Теоретическая значимость работы.

Исследование вносит вклад в развитие представлений о механизмах поддержания элементного гомеостаза при высококалорийной диете. Обнаруженные интегративные процессы между показателями углеводно-липидного обмена с одной стороны, и обеспеченностью химическими элементами с другой стороны, свидетельствуют о тесной взаимосвязи между данными видами обменов. Сравнение показателей элементного гомеостаза у животных с наличием и отсутствием генетической предрасположенности к ССЗ показывает их идентичность, однако выраженность изменений элементного статуса при ВКД более значительна при генетической предрасположенности к ССЗ. Полученные данные демонстрируют значимость изучения химических форм элементов в крови. Результаты проведенного комплексного исследования доказывают, что изменение соотношений химических форм микроэлементов в сыворотке крови может являться пусковым механизмом дисрегуляции физиологических функций живых организмов, тем самым расширяя

представление о значении минеральных веществ для нормальной жизнедеятельности организма.

Практическая значимость работы.

Полученные данные расширяют научную базу для решения практических вопросов, связанных с оценкой и коррекцией состояния организма при ВКД, в том числе с учётом генетической склонности организма к развитию ССЗ и необходимы для развития превентивной медицины и прогнозирования нарушений минерального обмена при различной нутриентной обеспеченности рационов.

Анализ химических форм меди показал наличие нарушений метаболизма данного элемента при ВКД на этапе, предшествующем изменениям общей концентрации в сыворотке крови и печени. Установленные взаимосвязи свидетельствуют о высоком потенциале оценки форм химических элементов, возможности прогнозировать и проводить коррекцию обмена химических элементов значительно раньше изменения их сывороточной концентрации и развития клинических проявлений дисэлементозов. Выявленные химические элементы маркеры ранних нарушений углеводного и липидного обменов могут использоваться для донозологической диагностики дисэлементозов, вызванных ВКД.

Разработанная *in vivo* экспериментальная модель ВКД на основе ступенчатого увеличения калорийности питания с введением в рацион избыточного количества жиров и фруктозы показала эффективность ее дальнейшего использования в исследованиях по изучению ранних нарушений углеводного и липидного обменов на лабораторных животных.

Результаты исследований могут быть использованы в лекционных и практических занятиях при изучении физиологии человека и животных, физиологии питания и биохимии микроэлементов.

Теоретико-методологическая основа исследования. Теоретическую основу диссертации составили следующие научные представления:

– о понятии организма, как целостной функциональной системы (Анохин П.К., 1975; Орбели Л.А., 1982);

– о физиологии питания, обмене веществ и энергии (Тутельян В.А., 2010; Агаджанян Н.А., Смирнов В.М., 2012; Жминченко В.М. и др., 2015; Торшин В.И. и др., 2016; Шалыгин Л.Д., 2017);

– о механизмах развития нарушений углеводного и липидного обмена и роли антиоксидантной системы в этих процессах (Дубинина Е.Е., 2006; Smith R.L. et al., 2018; Neha K., et al., 2019; Alkadi H., 2020; Каде А.Х. и др., 2022; Мартюшев-Поклад А.В. и др., 2022);

– о роли стеарил-коэнзим-а-десатуразы в организме (Sampath H., Ntambi J.M., 2014; Koeberle A. et al., 2016; Piccinin E. et al., 2019);

– о химических элементах и их участии в адаптационном процессе (Тутельян В.А. и др., 2002; Агаджанян Н.А., Нотова С.В., 2009; Нотова С.В. и др., 2011; Корчина Т.Я., Корчин В.И., 2014; Радыш И.В., Скальный А.В., 2015);

– о формах нахождения химических элементов в биологических системах (Michalke V., 2016; Marcinkowska M., Varalkiewicz D., 2016; Ajsuvakova O.P. et al., 2020).

Методологическая основа работы представлена комплексным, системным и лонгитюдинальным подходами к изучению состояния организма в условиях ВКД с использованием поведенческих, биохимических, гематологических, иммуноферментных, колориметрических, гистологических, масс-спектрометрических и хроматографических

методов исследования. Для реализации поставленных целей и задач был проведен анализ современных литературных данных отечественных и зарубежных авторов. Разработан дизайн исследования, включавший изучение состояния организма в условиях ВКД у лабораторных животных с отсутствием генетической предрасположенности к ССЗ – крысы линии Wistar и с наличием генетической предрасположенности к ССЗ – крысы линии SHR.

Организация и методы исследования. Исследование выполнено на базе экспериментально-биологической клиники (вивария) ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН». Общая схема эксперимента представлена на рисунке 1. Работа выполнена в рамках гранта на проведение крупных научных проектов по приоритетным направлениям научно-технического развития № 075-15-2024-550.

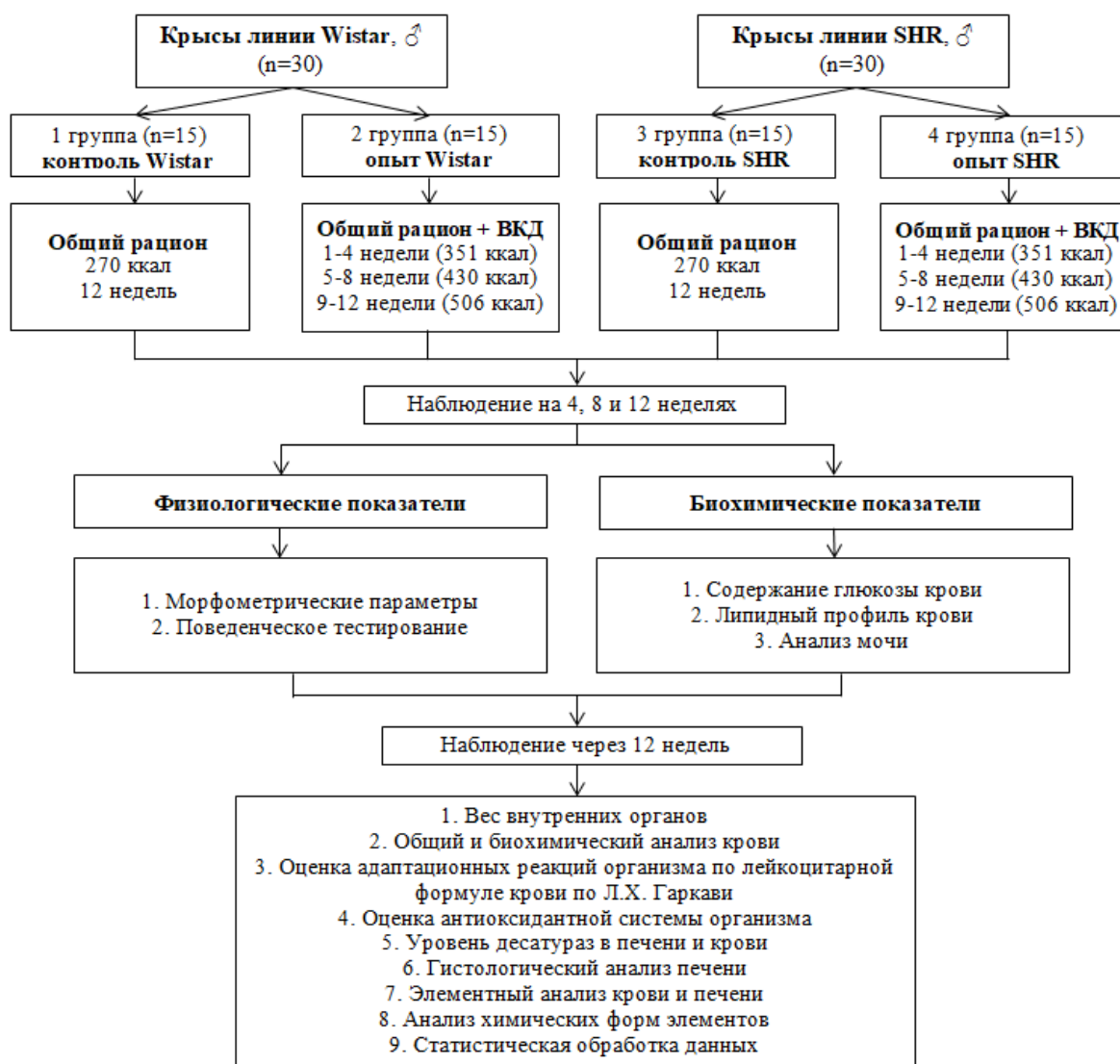


Рисунок 1 – Общая схема эксперимента

Эксперименты на животных осуществляли в соответствии с протоколами Женевской конвенции и по разрешению локального этического комитета. Лабораторные животные были полученные из НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН. В исследовании были использованы следующие линии лабораторных животных: крысы самцы линии Wistar (n=30) и крысы самцы линии SHR (n=30). Животные обеих линий были разделены на

контрольных (основной рацион) и экспериментальных (ВКД). Все лабораторные животные на начало эксперимента были одного возраста (12 недель), что соответствовало зрелому возрастному периоду человека (Andreollo N.A. et al., 2012; Sengupta P., 2013; Котеров А.Н. и др., 2018). Каждые 4 недели проводилось скрининговое обследование животных для оценки состояния углеводного и липидного обменов, включающее изучение морфометрических параметров, поведенческих реакций, биохимических показателей крови и мочи. Через 12 недель животные выводились из эксперимента для забора биоматериала. Основной рацион составлял сбалансированный корм. Для моделирования нарушений углеводного и липидного обменов была разработана ВКД, основанная на добавлении к общему сбалансированному рациону углеводов (10 % раствор фруктозы) и жиров различного происхождения (свиное сало, кокосовое и подсолнечное масло). В ходе эксперимента калорийность диеты ступенчато увеличивалась на 30 % (1-4 недели), 60 % (5-8 недели) и 90 % (9-12 недели) от калорийности общего рациона (таблица 1).

Таблица 1 – Состав общего рациона и высококалорийной диеты (на 100 г)

Продолжительность	Калорийность, ккал	Белки, %	Жиры, %	Углеводы, %
Общий рацион				
1-12 недели	270	20	10	70
ВКД				
1-4 недели	351	16,7	20,7	62,6
5-8 недели	430	13,4	31,5	55,1
9-12 недели	506	10	41,7	48,3

Для решения поставленных задач применялись следующие методы:

1. *Методы исследования внешних признаков и степени активности.* Изменение внешних признаков и степени активности животных оценивались по балльной системе по методике, предложенной К.В. Шельгиным с соавторами (2002).

2. *Морфометрические методы.* Регистрировались следующие параметры: динамика массы тела, длина тела, индекс массы тела, окружность грудной клетки и живота, соотношение окружности грудной клетки к окружности живота, масса и массовый коэффициент внутренних органов.

3. *Методы исследования поведенческих реакций.* Поведенческие особенности лабораторных животных исследовались с помощью стандартизированной методики – «открытое поле». Видеофайлы сохранялись и анализировались с помощью программы «ToxTrac» по принципу покадровой оценки изменения изображения.

4. *Биохимические и гематологические методы.* Контрольные определения уровня глюкозы крови, общего холестерина, липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) и триглицеридов (ТГ) определяли с помощью биохимического экспресс-анализатора CardioChek (Polymer Technology System, США), рассчитывался коэффициент атерогенности (КА). Пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ) проводился путем внутрижелудочного введения 40 % раствора глюкозы в дозе 2 г/кг и оценки уровня глюкозы через 30, 60, 90 и 120 минут (Velasco M. et al., 2012; Rahman M.M. et al., 2017). Забор крови для анализа проводился из сосудов кончика хвоста с использованием автоматической ланцеты для забора крови. Анализ мочи производился с помощью полуавтоматического анализатора Combilyzer 13 (Human, Германия) с использованием тест полосок Combina 13. Забор мочи осуществлялся с

помощью метаболической камеры для крыс. Гематологические исследования крови животных выполнялись на ветеринарном автоматическом гематологическом анализаторе DF50 Vet (Dymind, Китай). Исследовались следующие гематологические параметры: количество эритроцитов, общее содержание гемоглобина, количество лейкоцитов (с развернутой лейкоцитарной формулой), количество тромбоцитов. Тип неспецифической адаптационной реакции организма определялся по количеству лимфоцитов и отношению лимфоцитов к сегментоядерным нейтрофилам (методика Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакиной, М.А. Уколовой, 1979). Кровь для исследований забиралась из сердца и отбиралась в вакуумные пробирки для гематологических исследований VACUETTE с антикоагулянтом (EDTA).

5. *Колориметрический и иммуноферментный методы.* Уровень SCD и состояние антиоксидантной системы оценивали в сыворотке крови и гомогенате печени лабораторных животных. Кровь для исследований забиралась из сердца и отбиралась в пробирки VACUETTE с активатором свертывания крови и гелем для отделения эритроцитарной массы. Для приготовления гомогената ткани части печени тщательно промывали холодным 0,9 % раствором NaCl и затем гомогенизировали. Гомогенат центрифугировали (2500 об/мин, 10 мин) для сбора надосадочной жидкости. Этапы анализа соответствовали инструкциям к наборам.

6. *Гистологические методы.* Для гистологического анализа после извлечения образцы ткани печени немедленно помещали в 10 % забуференный формалин. Для дальнейшего анализа ткань печени фиксировали в течение суток в растворе молекулярного фиксатора (производитель BioVitrum). Затем вырезали фрагменты ткани печени и подвергали автоматической гистологической проводке в аппарате Tissue Teck Xpress (Sakura, Япония). После этого изготавливались парафиновые блоки, с которых делали серийные срезы на ротационном микротоме Accu-Cut SRM200 (Sakura, Япония). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином с использованием стандартных методик. Полученные микропрепараты изучали под микроскопом Eclipse 50i (Nikon, Япония).

7. *Метод масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой.* Анализ общего содержания химических элементов в образцах сыворотки крови и печени лабораторных животных проводился с помощью метода масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой на приборе NexION 300D (PerkinElmer, США).

8. *Speciation analysis.* Определение содержания индивидуальных соединений цинка и меди с высоко- и низкомолекулярными биологическими лигандами проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрией с индуктивно-связанной плазмой на комбинации хроматографа PerkinElmer S200 (США) и масс-спектрометра NexION 300D (PerkinElmer, США).

9. *Методы статистической обработки данных.* Обработку полученных данных проводили при помощи методов вариационной статистики с применением статистического пакета STATISTICA 10 (StatSoft Inc., США). Гипотеза о принадлежности данных нормальному распределению была отклонена во всех случаях с вероятностью 95 %, что обосновало применение непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Взаимосвязи между параметрами оценивали при помощи метода ранговых корреляций Спирмена. Во всех процедурах статистического анализа рассчитывали достигнутый уровень значимости (p), при этом критическим уровнем значимости принимали $p \leq 0,05$.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Разработанная экспериментальная модель на основе ступенчатого увеличения калорийности питания с введением в рацион избыточного количества жиров и фруктозы приводит к развитию нарушений морфофункциональных и поведенческих показателей, ранних нарушений углеводного и липидного обменов, напряжению адаптационных реакций.

2. Ферментативные системы организма чувствительны к изменениям в питании; ВКД приводит к увеличению уровня печеночной SCD, снижению активности ферментов АОС и развитию мелкокапельной жировой дистрофии печени.

3. ВКД приводит к перераспределению химических элементов между биосубстратами, характеризующееся снижением важнейших эссенциальных элементов в сыворотке крови и их накоплением в печени.

4. Анализ химических форм микроэлементов в сыворотке крови наиболее полно отражает изменения минерального обмена.

5. Показатели углеводного и липидного обменов, ферменты антиоксидантной системы сыворотки крови взаимосвязаны с показателями минерального обмена.

6. Для животных с генетической предрасположенности к ССЗ характерна большая степень изменений морфофункциональных показателей и элементного гомеостаза.

Внедрение результатов исследования.

Результаты исследования используются в учебном процессе в ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет» на кафедре биохимии и микробиологии химико-биологического факультета и в работе лаборатории нутрициологии Института биоэлементологии (акт внедрения № 143 от 19.12.2023); при разработке и чтении дисциплин «Биохимия животных», «Биологическая роль химических элементов» ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН» (акт внедрения № 01-01-27/461 от 29.08.2023).

Степень достоверности результатов.

Высокий уровень достоверности экспериментальных исследований обеспечивался проведением анализов в аккредитованных лабораториях, посредством использования современных научных методов (поведенческое тестирование; биохимический, гематологический, иммуноферментный и колориметрическим анализ; гистологическое исследование, масс-спектрометрия и хроматография); использованием линейных лабораторных животных, методикой формирования групп сравнения, размером выборки и использованием адекватных поставленным задачам методов статистической обработки данных в компьютерных программах Excel 2010 и STATISTICA 10 (применение непараметрического U-критерия Манна-Уитни).

Апробация материалов диссертации. Основные материалы диссертации изложены на конгрессе FEBS Open Bio (Прага, 2018); Всероссийской конференции с международным участием, посвящённой 95-летию Института физиологии им. И.П. Павлова РАН «Интегративная физиология» (Санкт-Петербург, 2020); V Международной научно-практической конференция «Биоэлементы» (Оренбург, 2021); III Объединённом научном форуме физиологов, биохимиков и молекулярных биологов (Сочи, 2021), XIX симпозиуме «Эколого-физиологические проблемы адаптации» (Казань, 2022), IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Агаджаньяновские чтения» (Москва, 2023), XXIV съезд РФО им. И.П. Павлова (Санкт-Петербург, 2023).

Соответствие содержания диссертации паспорту специальности. Направление диссертационного исследования соответствует паспорту специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных (биологические науки) по следующим пунктам: п. 1 – закономерности и механизмы поддержания постоянства внутренней среды организма; п. 2 – молекулярная и интегративная организация физиологических функций; п. 10 – закономерности и механизмы адаптации организма к факторам внешней среды (географическим, экологическим, социальным / зоосоциальным). Исследование профиля ключевых геномных и эпигенетических механизмов, определяющих устойчивость организма человека к комбинированному воздействию холода, гипоксии и других неблагоприятных факторов окружающей среды; п. 14 – физиологические основы здоровья, здорового образа жизни и долгожительства.

Публикации: по результатам исследования опубликовано 15 работ, 3 из которых опубликованы в рецензируемых журналах из перечня ВАК РФ и 3 в МБД Scopus и WoS. Три публикации относятся к категории K1 и две к категории K2.

Личный вклад автора. Личный вклад в структуру работы соискателя состоит в анализе литературных данных, разработке дизайна исследования и проведении экспериментальной части работы; заборе биологического материала, анализе, обобщении полученных результатов и их интерпретации; подготовке публикаций, презентации данных на российских и международных конференциях. Автором сформулированы основные положения, выводы и подготовлена диссертационная работа. В целом, личный вклад автора в выполнение исследования составил 90 %.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 165 листах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания организации и методов исследования, собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, научно-практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 24 рисунками и 18 таблицами. Список литературы содержит 439 источников, из них 102 на русском языке и 337 – на иностранных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Сравнение интегральных показателей состояния лабораторных животных в течение эксперимента не выявило различий по внешним признакам. Окрас животных к концу исследования был яркий, покров – чистый. На протяжении всего эксперимента в среднем каждое животное в сутки потребляло 30 г корма и 40-50 мл воды, что соответствует физиологической норме для крыс. Результаты исследований показали, что при ступенчатом увеличении калорийности рациона увеличивались все изучаемые морфометрические показатели лабораторных животных опытных групп относительно контрольных (рис. 2).

Из данных, представленных на рисунке видно, что на момент начала эксперимента значимых различий в массе животных не наблюдалось. В контрольных группах прибавка веса каждые 4 недели эксперимента в среднем составляла 24 г, тогда как в опытной группе Wistar – 60 г, а в опытной группе SHR – 70 г. К концу эксперимента превышение массы тела животных опытных групп по сравнению с контролем составляло от 44 % до 60 %, что указывает на развитие избыточного веса. У опытных групп крыс линии Wistar окружность живота превышала контроль на 17,1%; у крыс линии SHR на 21%.

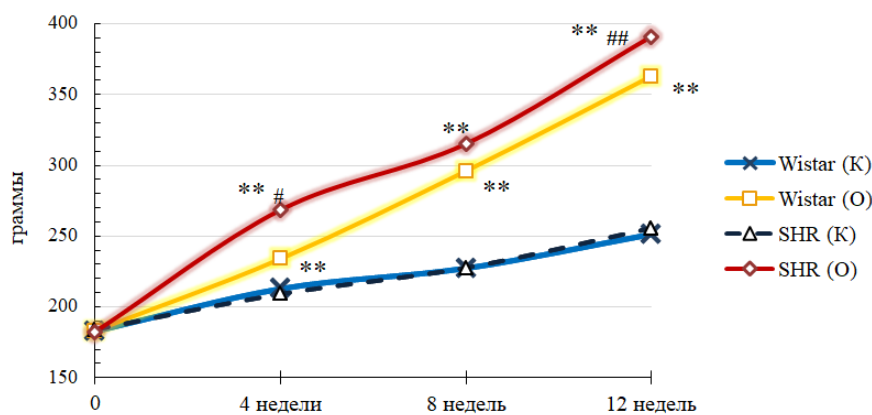


Рисунок 2 – Влияние ВКД на динамику массы тела крыс, Ме

Примечание: *, ** – достоверная разница между опытными (O) и контрольными (K) группами при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$; #, ## – достоверная разница между опытными группами SHR (O) и Wistar (O) при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$.

Ступенчатое увеличение калорийности питания в течение 12 недель, сопровождалось изменениями и в массе отдельных органов (рис. 3).

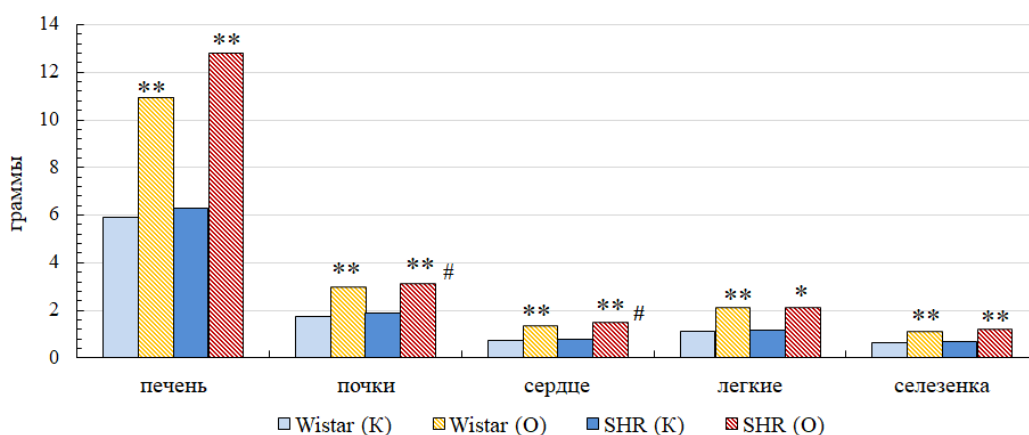


Рисунок 3 – Масса внутренних органов крыс на 12 неделе эксперимента, Ме

Примечание: *, ** – достоверная разница между опытными (O) и контрольными (K) группами при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$; #, ## – достоверная разница между опытными группами SHR (O) и Wistar (O) при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$.

Как видно из представленного рисунка, наблюдалось достоверное увеличение массы печени, почек, сердца, легких и селезенки в опытных группах крыс. Расчет массового коэффициента отдельных органов показал тенденцию к более высоким значениям данного показателя в опытных группах относительно контрольных. Однако достоверные различия фиксировались только по массовому коэффициенту печени: у крыс линии Wistar отмечалось увеличение данного показателя на 29 % ($p \leq 0,05$), а в опытной группе крыс линии SHR на 34,7 % ($p \leq 0,01$).

ВКД оказала значительное влияние на характер поведенческих реакций крыс в условиях теста «открытое поле» (рис. 4).

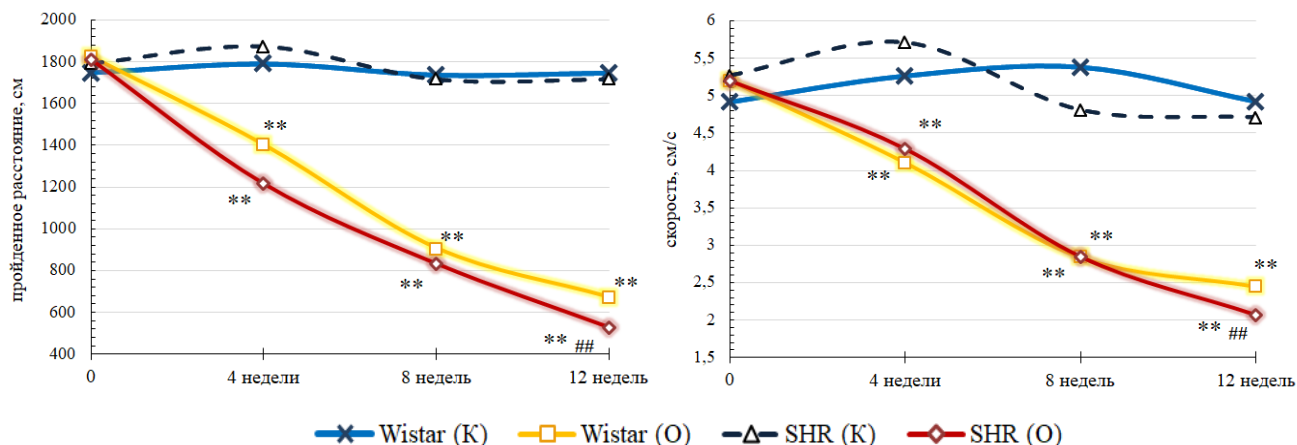


Рисунок 4 – Динамика двигательной активности лабораторных животных в тесте «открытое поле», Ме

Примечание: *, ** – достоверная разница между опытными (O) и контрольными (K) группами при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$; #, ## – достоверная разница между опытными группами SHR (O) и Wistar (O) при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$.

Как видно из представленных графиков, животные опытных групп проходили меньшее расстояние: в группе крыс линии Wistar на 21,7 % (4 недели эксперимента), 47,8 % (8 недель эксперимента) и на 61,7 % (12 недель эксперимента); в группе крыс линии SHR на 35 %, 51,4 % и 69,2 %, соответственно. При этом у опытных крыс линии SHR к 12 неделе эксперимента фиксировалось уменьшение пройденного расстояния и относительно опытной группы Wistar на

21 %. Аналогичная тенденция наблюдалась при изучении скорости передвижения животных. Скорость передвижения, горизонтальная двигательная активность и вертикальная двигательная активность животных опытных групп в данном тесте также снижались в процессе исследования. Отмечалось снижение исследовательской активности у животных опытных групп, показателем которой было достоверное уменьшение количества обследованных отверстий в тесте «открытое поле». В среднем к 12 неделе эксперимента животные контрольных групп обследовали 7-8 отверстий, а животные опытных групп 1-2 отверстия. На фоне снижения двигательной и исследовательской активности отмечалась тенденция к увеличению количества фекальных болюсов у животных опытных групп на протяжении всего эксперимента. Наблюдаемые поведенческие изменения подтверждают уже имеющиеся данные о том, что ВКД и развивающийся на этом фоне избыточный вес приводят к развитию тревожных расстройств и депрессии (Fulton S. et al., 2022).

Таким образом, полученные данные показывают, что ВКД на протяжении 12 недель приводит к избыточной массе тела у лабораторных животных, увеличению массового коэффициента печени и предрасположенности к развитию абдоминального ожирения, тревожности, снижению двигательной и исследовательской активности. Наибольшие изменения морфометрических и поведенческих показателей при ВКД отмечались у крыс линии SHR

Показатели гематологического анализа крови на протяжении эксперимента находились в пределах нормальных значений, однако в опытных группах отмечалось статистически значимое большее количество лейкоцитов: в опытной группе Wistar на 105 %, а в опытной группе SHR на 137 % (табл. 2).

Таблица 2 – Показатели (Me (Q₂₅-Q₇₅)) гематологического анализа крови лабораторных животных на 12 неделе эксперимента

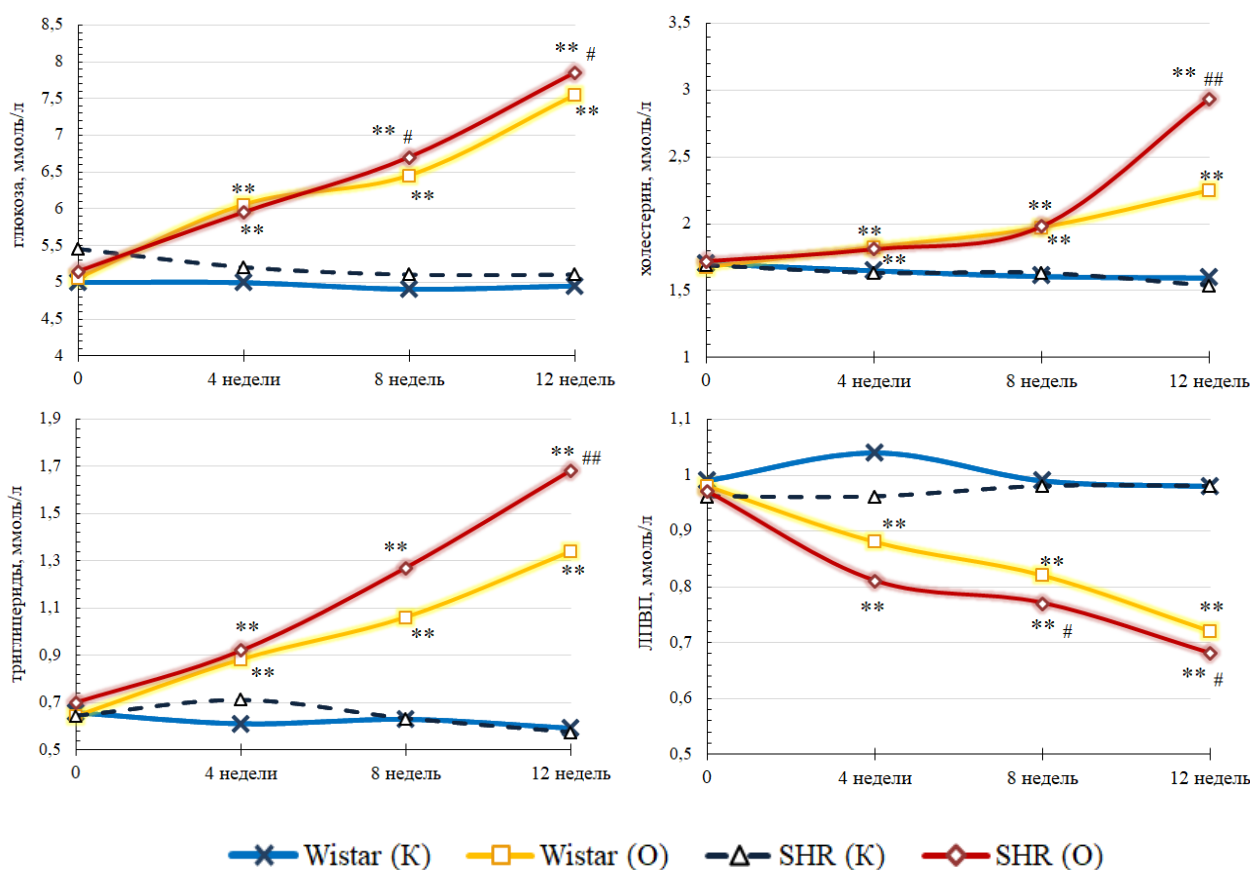
Показатели	1 группа Wistar (К)	2 группа Wistar (О)	3 группа SHR (К)	4 группа SHR (О)
Лейкоциты, 10 ⁹ /L	7,47 (5,87-8,12)	15,31 (13,9-16,5) **	6,17 (5,93-6,87)	14,62 (12,9-16,3)**
Эритроциты, 10 ¹² /L	7,73 (7,32-8,28)	7,3 (7,28-7,52)*	7,97 (7,47-8,13)	7,21 (6,97-7,51)*
Гемоглобин, g/L	131,5 (124,3-135,8)	122,5 (117,3-127)*	136 (126,7-137)	122 (117,3-127,5)*
Тромбоциты, 10 ⁹ /L	538 (469-625,8)	786 (578,2-971,2)**	631 (460,8-793,7)	906,5 (801-886)**
Примечание: *, ** – достоверная разница между опытными (О) и контрольными (К) группами при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$; #, ## – достоверная разница между опытными группами SHR (О) и Wistar (О) при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$.				

При этом важно отметить, что показатели лейкоцитов у животных опытных групп находились на уровне верхней границы нормы. Количество тромбоцитов увеличилось на 46 % в опытной группе Wistar и на 43,6 % в опытной группе SHR. Наблюдаемая тенденция к увеличению лейкоцитов и тромбоцитов может быть обусловлена началом развития воспалительной реакции, которая достаточно часто фиксируется при избыточном весе и ожирении (Raghavan V. et al., 2016).

Оценка реакции адаптации по методу Л. Х. Гаркави с соавторами показала, что у животных контрольных групп в 92 % случаев наблюдалась реакция тренировки. В опытной группе Wistar 16 % животных характеризовались реакцией стресса, 50 % – реакцией переактивации и 34 % – реакцией повышенной активации. В опытной группе SHR 66,5 % животных имели реакцию стресса, а 33,5 % – реакцию переактивации. Таким образом, ВКД является безусловным фактором, влияющим на характер адаптации,

ВКД оказала значительное влияние на результаты биохимического анализа крови (рис. 5). Выявленные изменения носили не спонтанный характер, а имели тенденцию к постепенному изменению, начиная с 4 недели эксперимента. К 12 неделе эксперимента в опытных группах Wistar и SHR относительно контрольных было установлено повышение уровня глюкозы на 52,5 и 54 %, холестерина на 40,6 и 91,5 %, ТГ на 127 и 194 % и снижение ЛПВП на 26,5 и 31 %, соответственно. При сравнении опытных групп различных линий выявлено, что у животных линии SHR фиксировались более высокие уровни глюкозы на 4 %, холестерина на 30,2 %, ТГ на 25 % и снижение уровня ЛПВП на 5,5 %. Наблюдаемые атерогенные сдвиги в липидном профиле привели к увеличению коэффициента атерогенности в опытной группе Wistar на 239 %, в опытной группе SHR на 340 %.

Рисунок 5 – Динамика биохимических показателей крови лабораторных животных при различной калорийности рационов



Примечание: *, ** – достоверная разница между опытными (O) и контрольными (K) группами при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$; #, ## – достоверная разница между опытными группами SHR (O) и Wistar (O) при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$.

Результаты перорального глюкозотолерантного теста к 12 недели эксперимента показали существенные различия между опытными и контрольными группами. Уровень глюкозы после нагрузки в контрольных группах стал снижаться после 30 минуты и к 120 минуте возвращался к практически исходным значениям; в то время как в опытных группах снижение начиналось только после 60 минуты, что может свидетельствовать о сформированном нарушении углеводного обмена (рис. 6). При этом возвращение уровня глюкозы к исходным значениям значительно медленнее происходило в опытной группе SHR. Нарушение толерантности к глюкозе является предиктором СД2 и служит фактором риска развития ССЗ (Jagannathan R. et al., 2020). Полученные данные могут свидетельствовать о развивающейся на фоне избыточного веса инсулинорезистентности, которая, в свою очередь, будет усугублять накопление и задержку жира в организме. Таким образом, используемая в эксперименте ВКД с высоким содержанием жиров и фруктозой вызывала дислипидемию и нарушение толерантности к глюкозе у лабораторных крыс. Результаты, полученные у животных линии SHR, наглядно демонстрируют, что генетические факторы вносят значительный вклад в развитие данных состояний. Однако результаты, полученные в группе крыс линии Wistar, подтверждают, что избыточное поступление калорий является одной из

наиболее значительных причин нарушения углеводного и липидного обменов, что согласуется с данными современных исследователей (Musunuru K., 2010; Stahel P. et al., 2018). Выявленные в ходе исследования нарушения являются одними из первых типичных признаков метаболического синдрома и могут быть связаны с провоспалительными процессами, которые в том числе возникают в жировой ткани (Klop V. et al., 2013).

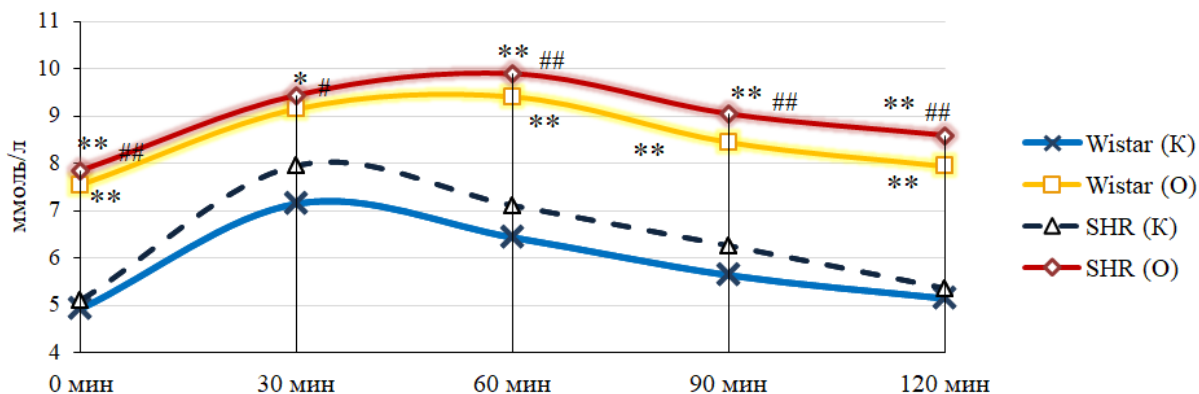


Рисунок 6 – Результаты перорального глюкозотолерантного теста при различной калорийности рационов на 12 неделе эксперимента

Примечание: *, ** – достоверная разница между опытными (O) и контрольными (K) группами при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$; #, ## – достоверная разница между опытными группами SHR (O) и Wistar (O) при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$.

Важным звеном в системе компенсаторно-приспособительных реакций организма являются антиоксидантные механизмы защиты (Болотова Н.В. и др., 2006). Согласно литературным данным, активация окислительного стресса в ряде случаев обуславливается алиментарным дефицитом экзогенных антиоксидантов наряду с избыточным поступлением жиров и углеводов (Cole T.J. et al., 2000). В связи с этим был проведён анализ ферментов АОС защиты организма, который показал тенденцию к снижению активности всех изучаемых ферментов в опытных группах относительно контрольных, как в сыворотке крови, так и в печени (табл. 3). В опытной группе крыс линии Wistar в сыворотке крови наблюдалось достоверное снижение активности глутатионпероксидазы (ГП) на 66 %, каталазы на 50 %; в печени ГП на 35,2 %. В опытной группе крыс линии SHR в сыворотке крови отмечалось достоверное снижение активности ГП на 71 %, супероксиддисмутазы (СОД) на 51,1 %, каталазы на 65 %; в печени ГП на 47 %, СОД на 34,6 %. Наиболее выраженное снижение активности ферментов АОС, как в сыворотке крови, так и в печени наблюдалось у крыс линии SHR. По данным Noeman S.A. с соавторами ВКД приводит к развитию окислительного стресса и истощению активности ферментов АОС, что согласуется с полученными нами данными (Noeman S.A. et al., 2011). Установление взаимосвязи между активностью ферментов АОС крови и показателями углеводного и липидного обменов с помощью корреляционного анализа выявил ряд достоверных сильных связей. Активность ферментов обеих опытных групп демонстрирует достоверные обратные взаимосвязи с глюкозой, холестерином, триглицеридами и достоверные прямые взаимосвязи с ЛПВП, то есть снижение активности данных ферментов отражает нарастание атерогенных сдвигов в сыворотке крови. Полученные результаты указывают на снижение функциональной способности АОС организма на фоне длительной ВКД, что в дальнейшем может привести к

патологическим состояниям. Снижение активности изученных ферментов, вероятно, свидетельствует об истощении возможностей антиоксидантной защиты организма на фоне развития окислительного стресса. В настоящее время данный факт рассматривается как один из важнейших патогенетических механизмов развития ожирения (Prince M.R.U. et al., 2021).

Таблица 3 – Показатели (Ме (Q₂₅-Q₇₅)) активности ферментов антиоксидантной системы лабораторных животных на 12 неделе эксперимента

Показатели	1 группа Wistar (К)	2 группа Wistar (О)	3 группа SHR (К)	4 группа SHR (О)
Сыворотка крови				
ГП, U	832,3 (779,2-874,9)	281,2 (277,4-297,1)**	817,4 (783,6-866,9)	237 (223,9-244)** ##
СОД, Ед/мл	25,3 (24,9-26,1)	20,12 (17,4-21,1)	25,28 (20,4-30,2)	12,35 (10,8-13,8)** #
Каталаза, Ед/мл	2,03 (1,8-2,12)	1,02 (0,98-1,05)**	2,12 (2,01-2,41)	0,74 (0,67-0,78)** ##
Печень				
ГП, U	1 201 (1 131-1 252)	778 (755,2-790,9) **	1 138 (1 086-1 241)	602 (559,8-643)** ##
СОД, Ед/мл	119,1 (111,4-124,2)	107,3 (94-110,6)	119,2 (109-129,1)	77,9 (72,1-87,9)** #
Каталаза, Ед/мл	60,9 (48,6-65,7)	44,7 (42,5-49,1)	55,1 (50,5-62,8)	47,4 (44,6-49,1)
Примечание: *, ** – достоверная разница между опытными (О) и контрольными (К) группами при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$; #, ## – достоверная разница между опытными группами SHR (О) и Wistar (О) при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$.				

Установленное снижение активности ферментов антиоксидантной защиты дало основание к изучению одного из ключевых ферментов липидного обмена – стеарил-коэнзим-а-десатураза (SCD) (табл. 4). Исследование уровня SCD показало тенденцию к повышению уровня данного фермента в опытных группах относительно контрольных, как в сыворотке крови, так и в печени, однако достоверные значения фиксировались только в образцах печени. В опытной группе Wistar отмечалось увеличение содержания данного фермента на 19,3%, в опытной группе SHR на 21,2%.

Таблица 4 – Показатели (Ме (Q₂₅-Q₇₅)) уровня SCD в организме лабораторных животных на 12 неделе эксперимента

Показатели	1 группа Wistar (К)	2 группа Wistar (О)	3 группа SHR (К)	4 группа SHR (О)
SCD (сыворотка), нг/мл	20,8 (19,6-22,3)	23,7 (22-27,4)	21,7 (19,6-27)	25,4 (21,6-28)
SCD (печень), нг/мл	233 (229-242)	278 (275-280)**	235 (213-250)	285 (278-301)**
Примечание: *, ** – достоверная разница между опытными (О) и контрольными (К) группами при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$; #, ## – достоверная разница между опытными группами SHR (О) и Wistar (О) при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$.				

Полученные данные демонстрируют, что уровень данного фермента чувствителен к изменениям в питании. Большинство метаболических нарушений, связанных с нарушениями углеводного и липидного обменов, ассоциируются с соотношением мононенасыщенных жирных кислот к насыщенным жирным кислотам (Grundy S.M. et al., 2005). SCD является основным ферментом, ответственным за биосинтез мононенасыщенных жирных кислот в большинстве тканей человека и грызунов, поэтому вариации содержания SCD способны оказать существенное воздействие на ряд физиологических процессов (Paton C.M., Ntambi L.M., 2009; Tao L. et al., 2021; Tibori K. et al., 2022). Установленные изменения уровня данного фермента при ВКД согласуются с данными других исследователей, которые указывают на важную роль SCD в развитии многочисленных патологических состояний, включая ожирение, СД2 и ССЗ (Ntambi J.M., Miyazaki M., 2004; Poudyal H., Brown L., 2011; Chow L.S. et al., 2013; Kamal S. Et al., 2018).

Таким образом, ВКД с высоким содержанием жиров и фруктозой вызвала изменения липидного профиля, нарушение толерантности к глюкозе, нарушение адекватности приспособительного реагирования функциональных систем, выражающееся в напряжении адаптационных реакций и дизадаптации лабораторных животных, истощение ферментов АОС на фоне увеличения в печени уровня ключевого фермента липидного обмена – SCD.

Установленное увеличение массы печени и ее массового коэффициента дало основание к изучению её гистологического строения (рис. 7). При проведении гистологического исследования печени в опытной группе крыс Wistar выявлены слабо выраженные, очаговые признаки жирового гепатоза, в опытной группе SHR выявлено нарушение балочного гистологического строения печени за счёт диффузного жирового гепатоза. Обнаруженные патоморфологические изменения приводят к функциональным нарушениям структурных единиц портальной дольки и печёночного ацинуса.

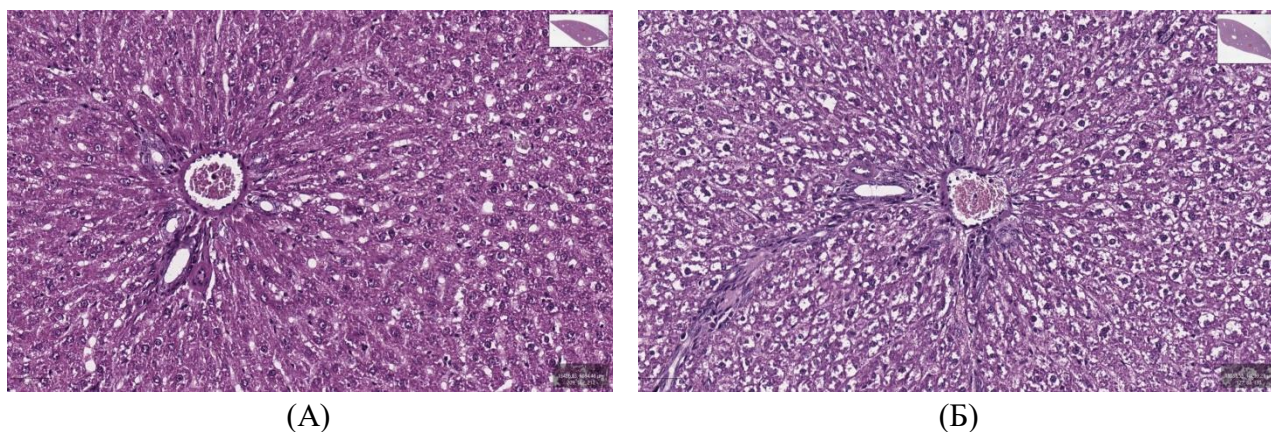


Рисунок 7 – Фрагмент ткани печени крысы опытной группы Wistar (А) и опытной группы SHR

Примечание: фиксация: 10% раствор нейтрального формалина; окраска: гематоксилин Майера и эозин; Ув. об. 20; ок. 10.

Известно, что при жировой дегенерации печени жирные кислоты накапливаются в гепатоцитах, что возможно, обусловлено нарушением окислительных процессов (Prince M.R.U. et al., 2021). Наблюдаемые изменения в опытных группах крыс закономерны на фоне увеличения массы печени, увеличения концентрации печеночной SCD, а также снижении активности АОС ферментов печени. Таким образом, высококалорийная диета приводила к

развитию мелкокапельной жировой дистрофии печени. Наиболее выраженный характер гистологических изменений установлен в опытной группе крыс линии SHR.

При изучении элементного состава сыворотки крови лабораторных животных были получены следующие данные (табл. 5).

Таблица 5 – Показатели (Me (Q₂₅-Q₇₅)) содержания химических элементов в сыворотке крови крыс при различной калорийности рационов, мкг/мл

Элемент	1 группа Wistar (K)	2 группа Wistar (O)	3 группа SHR (K)	4 группа SHR (O)
Макроэлементы				
Ca	110,5 (106,7-112)	103 (102,2-103)**	108 (107,5-108,7)	113 (111,5-114,5)*##
K	381,5 (378,2-386,2)	349 (344,7-353,2)**	418,5 (354-458,2)	391,5 (354,5-424)
Mg	27,9 (27,7-28)	27,4 (24,4-28,8)	27,9 (27,8-28,4)	24,5 (23,47-25,6)*
Na	2 405 (2 384-2 505)	2 065 (1 975-2 149)	2 563 (2 463-2 597)	2 721 (2 627-2 803)
P	147 (143,5-150,5)	143 (142-147)	133 (124-144)	144,5 (139-158,2)
Эссенциальные элементы				
Co	0,00057 (0,00053-0,00061)	0,00068 (0,0005-0,00079)	0,001 (0,00095-0,00110)	0,00085 (0,00079-0,00093)
Cr	0,035 (0,034-0,036)	0,02805 (0,027-0,0288)**	0,031 (0,03-0,036)	0,0208 (0,020-0,0218)**##
Fe	5,93 (5,74-6,08)	4,15 (4,1-4,22)**	5,24 (4,8-5,76)	3,19 (2,95-3,295)**##
Cu	1,52 (1,43-1,75)	1,56 (1,53-1,59)	1,6 (1,5-1,65)	1,58 (1,53-1,65)
I	0,088 (0,086-0,091)	0,072 (0,068-0,074)**	0,0805 (0,08-0,087)	0,047 (0,046-0,049)**##
Se	0,529 (0,526-0,533)	0,49 (0,48-0,50)	0,624 (0,58-0,628)	0,514 (0,509-0,524)*
Mn	0,0054 (0,0053-0,0057)	0,0055 (0,0054-0,0056)	0,0046 (0,0033-0,0053)	0,0066 (0,0062-0,0067)
Zn	1,64 (1,63-1,66)	1,46 (1,41-1,51)*	1,62 (1,55-1,66)	1,45 (1,43-1,49)*
Токсичные элементы				
As	0,00335 (0,00330-0,00348)	0,0037 (0,0033-0,0038)	0,0028 (0,0022-0,0036)	0,0037 (0,0029-0,0047)
Cd	0,0006 (0,0005-0,0008)	0,0008 (0,0005-0,0009)	0,00016 (0,00014-0,00018)	0,00018 (0,0012-0,0045)**
Pb	0,0016 (0,0013-0,0019)	0,002 (0,0017-0,0022)*	0,0012 (0,0011-0,0016)	0,0014 (0,0012-0,0015)
Примечание: *, ** – достоверная разница между опытными (O) и контрольными (K) группами при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$; #, ## – достоверная разница между опытными группами SHR (O) и Wistar (O) при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$.				

В опытной группе крыс линии Wistar отмечалось статистически значимое снижение уровня большинства эссенциальных элементов: Fe на 30, Cr на 20, I на 18, Zn на 11, K на 8,3, Ca на 6,3 и увеличение Pb на 25 %. В опытной группе крыс линии SHR фиксировалась схожая картина элементного статуса. Наблюдалось статистически значимое снижение уровня I на 41,6, Fe на 39,1, Cr на 33, Se на 17,6, Mg на 12,3, Zn на 10,4 и увеличение Ca на 4,6, Cd на 12,4 %. Данные изменения носили более выраженный характер в опытной группе SHR.

Печень является ключевым органом гомеостаза химических элементов (Palladini G. et al., 2020). В связи с этим следующим этапом оценки элементного гомеостаза стало изучение содержания химических элементов в тканях печени (табл. 6). Как видно из представленных данных в опытной группе крыс линии Wistar отмечалось статистически значимое увеличение уровня содержания Zn на 11,7, As на 27,7, I на 30, Ca на 32,4, Cd на 38, Cr на 45,2, Fe на 53,4, Pb на 65 и Co на 74,4 %. В опытной группе крыс линии SHR отмечалось статистически значимое снижение уровня Se на 34,4, Mg на 6,3 и увеличение K на 8,4, Cd на 8,4, Zn на 15,3, I на 17,1, Pb на 22,5, Fe на 34,6, Ca на 99,2, As на 132, Cr на 168 %. В опытной группе SHR относительно опытной группы Wistar наблюдался более высокий уровень K на 7,1, As на 34,7 % и более низкий уровень Se на 11,5 %.

Таблица 6 – Показатели (Ме (Q₂₅-Q₇₅)) содержания химических элементов в печени крыс при различной калорийности рационов, мкг/г

Элемент	1 группа Wistar (К)	2 группа Wistar (О)	3 группа SHR (К)	4 группа SHR (О)
Макроэлементы				
Ca	42,8 (41,6-44)	56,7 (54,1-59,4)**	41,2 (40,4-42,3)	82,1 (64,3-100)**
K	4 331 (4 307-4 356)	4 296 (4 094-4 488)	4 245 (4 228-4 344)	4 602 (4 574-4 621)** ##
Mg	212 (207,5-216)	205 (192-207)	221 (217,2-222)	207 (2010-211)**
Na	818 (747-848)	886 (879-889)	738 (631-777)	793 (691,2-825)
P	4 941 (4 813-5 400)	4 911 (4 425-5 015)	4 860 (4 381-5 275)	4 636 (4 301-4 983)
Эссенциальные элементы				
Co	0,0086 (0,0076-0,0097)	0,015 (0,01-0,02)**	0,0075 (0,0062-0,047)	0,02 (0,01-0,03)
Cr	0,0895 (0,085-0,091)	0,13 (0,12-0,14)**	0,082 (0,066-0,089)	0,22 (0,11-0,43)**
Fe	131 (123-135)	201 (186-218)**	138,5 (129-142)	186,5 (180,7-202,7)**
Cu	3,87 (3,55-4,2)	3,9 (3,8-4,06)	3,85 (3,45-4,53)	3,7 (3,6-3,9)
I	0,092 (0,069 -0,11)	0,12 (0,091-0,13)*	0,076 (0,074-0,077)	0,089 (0,078-0,092)*
Se	0,84 (0,77 -0,9)	0,69 (0,67-0,71)	0,93 (0,87-0,99)	0,61 (0,59-0,62)**
Mn	3,1 (2,5-3,2)	2,45 (2,31-2,55)	3,1 (2,8-3,2)	2,73 (2,71-2,74)
Zn	27,3 (24,1-29,4)	30,5 (27,82-31,54)*	26 (22,4-29,1)	30 (26,4-31,8)*

Продолжение таблицы 6

Элемент	1 группа Wistar (К)	2 группа Wistar (О)	3 группа SHR (К)	4 группа SHR (О)
Токсичные элементы				
As	0,09 (0,08-0,093)	0,115 (0,11-0,12)**	0,065 (0,046-0,084)	0,155 (0,15-0,167)*#
Cd	0,0087 (0,0081-0,009)	0,012 (0,01-0,03)**	0,0083 (0,0082-0,0086)	0,009 (0,008-0,012)*
Pb	0,004 (0,003-0,0044)	0,0066 (0,0062- 0,0067)**	0,0031 (0,0025-0,0041)	0,0068 (0,063-0,066)**
Примечание: *, ** – достоверная разница между опытными (О) и контрольными (К) группами при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$; #, ## – достоверная разница между опытными группами SHR (О) и Wistar (О) при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$.				

Сравнение двух линий лабораторных животных показало, что как в опытной группе крыс линии Wistar, так и в опытной группе крыс SHR отмечалось снижение важнейших эссенциальных элементов – Fe, Cr, I, Zn и увеличение уровня токсичных элементов в сыворотке крови. Предполагают, что токсичные химические элементы отрицательно влияют на физиопатологию жировой ткани через несколько механизмов, тем самым способствуя повышению резистентности к инсулину и увеличивая риск развития сахарного диабета (Tinkov A.A. et al., 2017). В свою очередь в печени отмечалась тенденция к нарастанию практически всех изученных химических элементов. Возможно, такая закономерность, связанная с перераспределением химических элементов, объясняется защитным механизмом организма (Pickett-Blakely O. et al., 2018). Отличительной особенностью опытной группы SHR явилось увеличение уровня Ca и снижение Mg и Se, как в сыворотке крови, так и в печени, возможно, это связано с генетическими особенностями линии, так как известно, что данные химические элементы играют важную роль для нормального функционирования сердечно-сосудистой системы (Shechter, M., 2010; Liu X. et al., 2021).

С целью выявления интегративных процессов в печени между химическими элементами и SCD был проведён корреляционный анализ. Выявлены сильные взаимосвязи химических элементов печени и печеночной SCD: для Ca ($r=-0,85$), Co ($r=-0,66$), Cr ($r=-0,78$), Fe ($r=0,76$), As ($r=-0,88$), Cd ($r=-0,86$), Pb ($r=-0,85$) в опытной группе крыс линии Wistar; для Ca ($r=-0,67$), Mg ($r=0,7$), Fe ($r=0,79$), I ($r=-0,59$), Se ($r=-0,76$), Mn ($r=0,58$), As ($r=-0,76$), Cd ($r=-0,87$), Pb ($r=-0,85$) в опытной группе крыс линии SHR. Вне зависимости от линии лабораторных животных, и, следовательно, от генетической предрасположенности организма к сердечно-сосудистым заболеваниям выявлена взаимосвязь между уровнем Ca, Cr, Fe, Se, As, Cd, Pb и SCD. Установленные взаимосвязи указывают на важную роль химических элементов в функционировании печеночной SCD.

Корреляционный анализ между химическими элементами и показателями углеводного/липидного обменов и ферментами АОС в сыворотке крови выявил следующие закономерности (рис. 8).

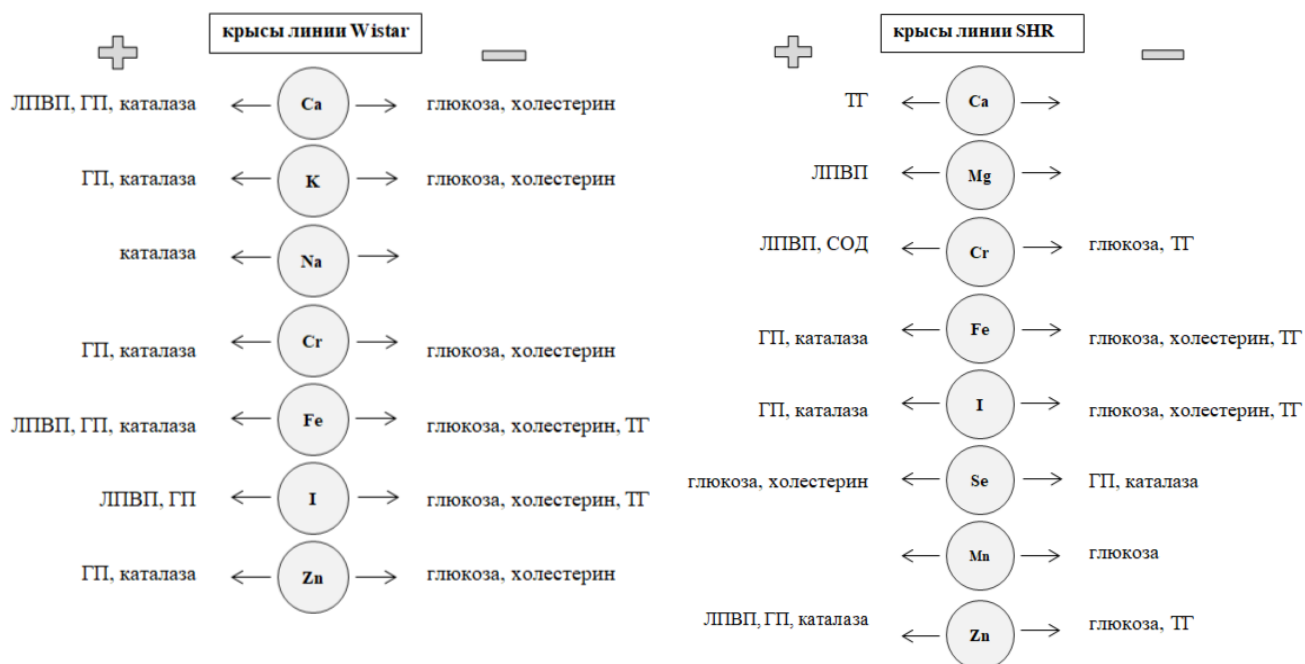


Рисунок 8 – Взаимосвязь содержания химических элементов, показателей углеводного/липидного обмена и ферментов АОС в крови лабораторных животных опытных групп

Примечание: $r \geq 0,7$; $p \leq 0,05$.

Выявленные взаимосвязи подтверждают роль данных химических элементов в работе ферментов АОС и регуляции углеводного и липидного обменов (Panchal S.K. et al., 2011; Shi Y. et al., 2020). Так, например, известно, что цинк является мощным антиоксидантом. Хотя данный химический элемент не взаимодействует непосредственно с активными формами кислорода, он оказывает антиоксидантный эффект благодаря участию в активации металлотионеинов, регуляции уровня супероксиддисмутаза, защите от окисления сульфгидрильных групп и т.д (Baltaci A.K., et al., 2018). Цинк участвует в секреции глюкагона, процессах активации пищеварительных ферментов, в секреции инсулина, в связи с этим нарушение метаболизма цинка в организме ухудшает многие процессы, включая гликемический контроль (Li Z. et al., 2019). Известна роль селена в структуре ГП, а железо в свою очередь является кофактором фермента каталазы (Avery J.C. et al., 2018).

Большое количество современной литературы указывает на то, что недостаточность магния в организме связана с развитием и осложнениями СД2. Немаловажную роль в углеводном обмене играет хром. Ряд авторов связывают дефицит хрома с гипергликемией, увеличением резистентности к инсулину и дислипидемией (Kranz R.G. et al., 2009). При СД2 в сочетании с ожирением этот дефицит можно наблюдать у людей, употребляющих чрезмерное количество быстроусвояемых углеводов (Maret W., 2019). Помимо этого, хром участвует в механизмах формирования чувства насыщения, следовательно – в контроле за потреблением пищи (Реутин С.В., 2009).

Анализ химических форм элементов (speciation analysis) является современным подходом в изучении элементного статуса организма. Данный вид анализа обеспечивает информацию, необходимую для описания эффектов химических форм элементов, которая недоступна при определении валового содержания элементов. Установленное в ходе исследования снижение уровня цинка в сыворотке крови у животных опытных групп является предполагаемым фактором риска развития ожирения и СД2 (Fukunaka A., Fujitani Y., 2018). В связи с этим были изучены химические формы цинка в сыворотке крови.

Было выявлено четыре цинксодержащих фракций: α 2-макроглобулин (Zn- α 2M), альбумин (Zn-A), аминокислотные комплексы (Zn-АМК) и низкомолекулярные формы цинка (Zn-НМ) (рис.9). Процентное соотношение фракций в контрольных группах обеих линий крыс было практически одинаковым и не имело статистически значимых различий. В опытной группе Wistar относительно контрольной группы происходило процентное увеличение Zn-A с 45 до 66 % ($p \leq 0,01$) на фоне снижения Zn-АМК и Zn-НМ. Уровень Zn- α 2M не претерпел значительных изменений. В опытной группе SHR отмечалось увеличение уровня альбуминовой фракции с 47 до 51 % ($p \leq 0,05$), α 2-М с 9,8 до 20,4 % ($p \leq 0,01$) и Zn-НМ на фоне снижения Zn-АМК с 26,9 до 4,4 % ($p \leq 0,01$).

Изучение комплексообразования цинка имеет важное значение, поскольку цинк не может свободно пересекать клеточные мембраны и имеет ряд специальных переносчиков (Cousins R.J. et al., 2006). Исследования, проведенные Smith К.Т. с соавторами, показали, что альбумин отвечает за транспорт Zn^{2+} в печень, что возможно объясняет зафиксированное в данном исследовании изменение соотношения цинка при ВКД. Установленные сдвиги в распределении цинка по различным фракциям могут оказать влияние на потребление данного элемента эндотелиальными клетками, что, в свою очередь, вызовет цепную реакцию, изменяя активность клеточных процессов, оказывая существенное воздействие на ряд биохимических и физиологических показателей (Шейбак В.М., 2015).

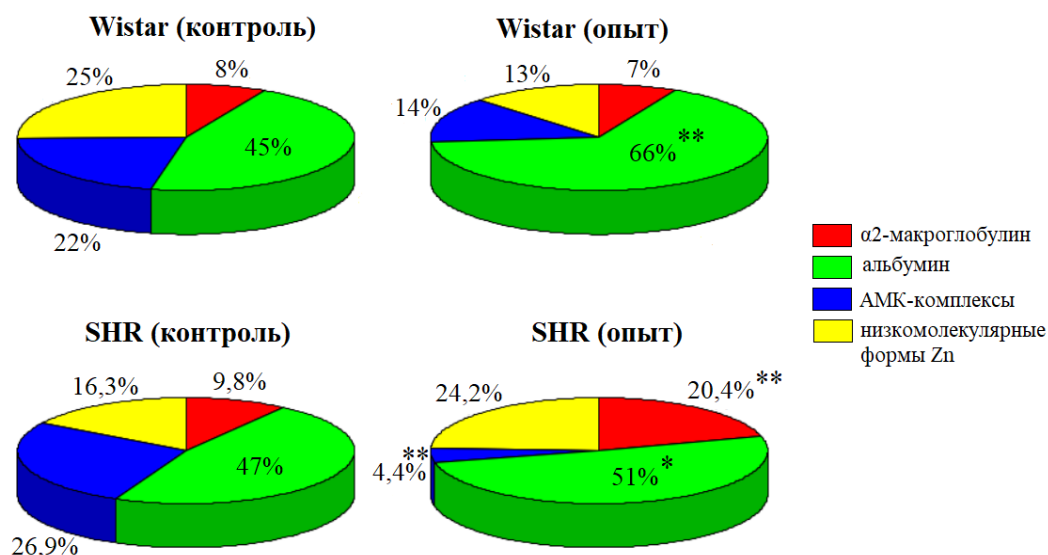


Рисунок 9 – Процентное распределение цинка по фракциям в сыворотке крови на фоне ВКД

Примечание: *, ** – достоверная разница между опытными (О) и контрольными (К) группами при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$; #, ## – достоверная разница между опытными группами (О) и Wistar (О) при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$.

Таким образом, выявленные достоверные изменения распределения цинка по отдельным формам в сыворотке крови свидетельствуют об изменении его метаболизма на фоне ВКД, при этом наибольшие фракционные сдвиги фиксировались у крыс SHR.

Важно отметить тот факт, что изменение видообразования химических элементов в опытных группах происходило не только в случае, когда их концентрация выражено отличалась от значений контрольной группы; данное утверждение продемонстрировано на видообразовании меди. Во многих современных исследованиях отмечают увеличение концентрации уровня меди при СД2 и ожирении (Lowe J. et al., 2017; Lian S. et al., 2021), в нашем исследовании общая концентрация меди в сыворотке крови у животных опытных групп не претерпела значительных изменений ни в сыворотке крови, ни в печени. Однако произошло изменение соотношения медных фракций в сыворотке крови на фоне ВКД (рис. 10).

Было выявлено четыре медьсодержащих фракций: транскупреин (Cu-T), церулоплазмин (Cu-Ц), альбумин (Cu-A) и низкомолекулярные формы Cu (Cu-НМ). В опытной группе Wistar относительно контроля выявлено увеличение уровня Cu-T с 7 до 21 %, Cu-НМ с 6 до 12 % на фоне снижения Cu-Ц с 67 до 50 % и Cu-A с 20 до 17 %. Аналогичная картина наблюдалась и в опытной группе SHR, выявлено увеличение уровня Cu-T с 8 до 24%, Cu-НМ с 5 до 15 % на фоне снижения Cu-Ц с 65 до 43 % и Cu-A с 22 до 18 %. Снижение церулоплазминовой фракции меди может свидетельствовать о повышении пула свободной каталитически активной меди, обладающей выраженными прооксидантными и провоспалительными свойствами (Skalnaya M.G., et al., 2017). Оценка медных фракций в сыворотке крови позволила выявить наличие нарушений метаболизма данного металла при ВКД на этапе, предшествующем достоверным изменениям общей концентрации в сыворотке крови.

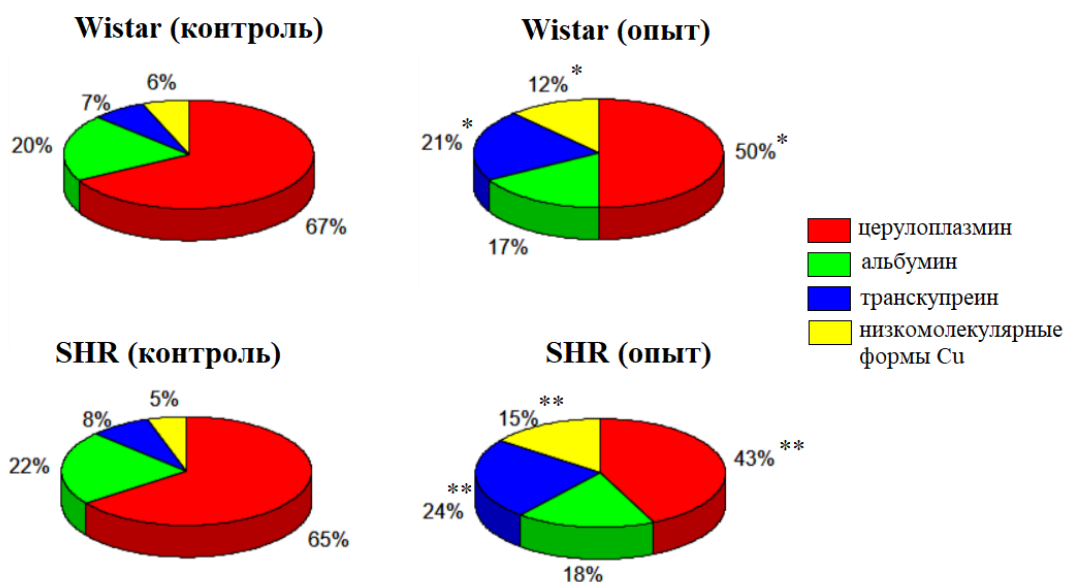


Рисунок 10 – Процентное распределение меди по фракциям в сыворотке крови на фоне ВКД

Примечание: *, ** – достоверная разница между опытными (О) и контрольными (К) группами при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$; #, ## – достоверная разница между опытными группами SHR (О) и Wistar (О) при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$.

Таким образом, проведенное экспериментальное исследование показало, что ВКД способствует нарушению минерального обмена в организме. Установлено изменение общей концентрации химических элементов в биосубстратах и химических форм цинка и меди в сыворотке крови. Полученные данные позволяют предположить, что выявленный дисбаланс химических элементов может служить одним из пускового механизма дизрегуляции физиологических функций живых организмов. Выявленные нарушения метаболизма могут быть прямой причиной развития функциональных изменений, ответственных за возникновение нарушений углеводного и липидного обменов, и ассоциированных с ним заболеваний.

ВЫВОДЫ

1. Ступенчатое увеличение калорийности питания с введением в рацион избыточного количества жиров и фруктозы на протяжении 12 недель приводит к повышению массы тела (на 44 % у крыс линии Wistar и на 60 % у крыс линии SHR), увеличению массового коэффициента печени (на 29 % у крыс линии Wistar и 34,7 % у крыс линии SHR) и массы отдельных органов; провоцирует развитие тревожного состояния у животных, снижение двигательной и исследовательской активности; напряжению адаптационных реакций (в опытной группе Wistar 16 % животных характеризовались реакцией стресса, 50 % – реакцией переактивации и 33,4 % – реакцией повышенной активации; в опытной группе SHR 66,5 % животных имели реакцию стресса, а 33,5 % – реакцию переактивации), развитию нарушений углеводного и липидного обменов (повышение уровня глюкозы, холестерина, триглицеридов и снижение ЛПВП).

2. Ступенчатое увеличение калорийности диеты приводит к истощению ферментов антиоксидантной системы, о чем свидетельствует статистически значимое снижение активности глутатионпероксидазы, каталазы и супероксиддисмутазы, как в сыворотке крови, так и в печени. Достоверное увеличение уровня печёночной стеарил-коэнзим-а-десатуразы в опытной группе Wistar на 19,3 %, в опытной группе SHR на 21,2 % может быть косвенным свидетельством нарушения проницаемости мембран клеток и развитием мелкокапельной жировой дистрофии печени.

3. Высококалорийная диета приводит к нарушению минерального обмена: независимо от генетических особенностей в сыворотке крови статистически значимо снижается уровень железа, хрома, йода, цинка, калия на фоне увеличения пула кальция, хрома, железа, йода, цинка, мышьяка, свинца и кадмия в печени. У крыс линии SHR нарушения элементного статуса также проявляются снижением в сыворотке крови уровня магния ($p \leq 0,05$), селена ($p \leq 0,05$) и повышением кадмия ($p \leq 0,01$), наряду с увеличением пула калия ($p \leq 0,01$) и снижением магния ($p \leq 0,01$), селена ($p \leq 0,05$) в печени.

4. Высококалорийная диета сопровождалась изменениями металло-лигандных фракций цинка и меди в сыворотке крови: в опытной группе Wistar фиксировалось процентное увеличение Zn-альбуминовой фракции с 45 до 66 %; в опытной группе SHR - увеличение уровня Zn-альбуминовой фракции с 47 до 51 %, Zn- α 2-макроглобулина с 9,8 до 20,4 % на фоне снижения аминокислотных комплексов цинка с 26,9 до 4,4 %; установлено достоверное снижения церулоплазминовой фракции меди в обеих опытных группах, с 67 до 50 % у крыс линии Wistar, с 65 до 43 % у крыс линии SHR.

5. Корреляционный анализ продемонстрировал, что показатели углеводного/липидного обменов и ферменты антиоксидантной системы сыворотки крови

при ВКД наиболее сильно взаимосвязаны с содержанием кальция, хрома, железа, йода, цинка, селена и кадмия ($r > 0,7$; $p \leq 0,05$). Уровень печеночной стеарил-коэнзим-а-десатуразы при ВКД взаимосвязан с уровнем кальция, хрома, железа, селена, мышьяка, кадмия и свинца в печени ($r > 0,5$; $p \leq 0,05$) вне зависимости от генетических особенностей животных.

6. Сравнение морфофункциональных показателей и элементного гомеостаза у животных с наличием (крысы линии Wistar) и отсутствием генетической предрасположенности к ССЗ (крысы линии SHR) показывает их идентичность, однако выраженность изменений при ВКД более значительна при генетической предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям: увеличение темпов набора веса на 7,4 %; увеличение уровня холестерина на 30,2 %, триглицеридов на 25 %; в сыворотке крови наблюдалось большее содержание кальция на 9,7 % на фоне меньших значений железа на 23,1 %, хрома на 25,7 %, и йода на 34,7 %, отмечалось достоверное снижение концентрации селена и магния.

Научно-практические рекомендации

1. Полученные в ходе диссертационного исследования данные позволяют рекомендовать включение исследований уровня Fe, Cr, I, Zn и тяжелых металлов в крови для диагностики и профилактики развития нарушений углеводного и липидного обменов у пациентов с избытком массы тела. Для пациентов с артериальной гипертензией и заболеваниями сердца в анамнезе также рекомендуется исследовать уровень Ca, Mg и Se.

2. Выявленные в ходе исследования изменения металло-лигандных фракций цинка и меди свидетельствует о высоком потенциале оценки форм химических элементов в сыворотке крови, что позволит прогнозировать и проводить коррекцию обмена химических элементов значительно раньше изменения их валовой сывороточной концентрации и развития клинических проявлений дисэлементозов.

3. Предложенная и апробированная высококалорийная диета позволяет моделировать нарушения метаболизма, что показывает эффективность ее дальнейшего использования в исследованиях по изучению ранних нарушений углеводного и липидного обмена на лабораторных животных.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Список работ, опубликованных в научных изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Нотова, С.В. Изменение минерального обмена и активности антиоксидантных ферментов при нарушениях углеводного и липидного обменов у крыс линии Wistar / С.В. Нотова, **О.В. Маршинская**, Т.В. Казакова, Н.Н. Тупикова // Технологии живых систем. – 2023. – Т. 20. – № 1. – С. 62-71.

2. Нотова, С.В. Нарушения обмена цинка и меди при сахарном диабете 2-го типа (обзор) / С.В. Нотова, Е.В. Кияева, Т.В. Казакова, **О.В. Маршинская**, Д.В. Поляница // Микроэлементы в медицине. – 2023. – Т. 24. – № 4. – С. 28-33.

3. Чупров, А.Д. Влияние высококалорийной диеты на морфофункциональное состояние печени и уровень стеарил-коэнзим-а-десатуразы в эксперименте / А.Д. Чупров, С.В. Нотова, **О.В. Маршинская**, Т.В. Казакова // Международный научно-исследовательский журнал. – 2023. – Т. 12. – № 138. – С. 1-8.

Список работ, опубликованных в международных изданиях:

4. Нотова, С.В. Металло-лигандные формы железа и цинка в организме / С.В. Нотова, Т.В. Казакова, **О.В. Маршинская**, О.В. Шошина // Казанский медицинский журнал. – 2022. – Т. 103. – № 2. – С. 259-268.
5. Нотова, С.В. Влияние высококалорийной диеты на содержание химических элементов и металло-лигандные формы цинка в сыворотке крови и печени крыс линии Wistar / С.В. Нотова, **О.В. Маршинская**, Т.В. Казакова, Е.В. Шейда // Acta Biomedica Scientifica. – 2023. – Т. 8. – № 1. – С. 29-39.
6. Notova, S. Changes in elemental status and biochemical parameters under the influence of nutrition stress / S. Notova, A. Duskaeva, I. Larjushina, E. Kiyayeva, T. Kazakova, **O. Marshinskaya** // Abstract title. FEBS Open Bio. – 2018. – P. 226.

Список работ, опубликованных в рецензируемых изданиях:

7. Казакова, Т.В. Оценка минерального обмена организма по элементному составу различных биосубстратов / Т.В. Казакова, **О.В. Маршинская**, М.К. Молчанов, С.В. Нотова // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. – 2019. – Т. 4. – С. 1-15.
8. Marshinskaia, O. Indicators of Mineral Metabolism Depending on the Body Mass Index / **O. Marshinskaia**, T. Kazakova, S. Notova, M. Gedulianov // KnE Life Sciences. – 2021. – P. 394-401.
9. Marshinskaia, O. Influence of the Indicators of Carbohydrate Metabolism on the Elemental Status / **O. Marshinskaia**, T. Kazakova, S. Notova, M. Molchanov // KnE Life Sciences. – 2021. – P. 402-409.
10. Маршинская, О.В. Влияние уровня глюкозы на показатели минерального обмена / **О.В. Маршинская**, Т.В. Казакова, М.К. Молчанов, Э.В. Шаяхметова // Интегративная физиология: Всероссийская конференция с международным участием, посвящённая 95-летию Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. – 2020. – P. 143-144.
11. Marshinskaya, O. The content of elements in the blood of laboratory animals with high carbohydrate and fat diet / **O. Marshinskaya**, K. Kazakova, S. Notova // Trace Elements and Electrolytes (Abstracts). – 2021. – P. 147.
12. Маршинская, О.В. Влияние диеты с высоким содержанием углеводов и жиров на уровень элементов в печени крыс линии Wistar / **О.В. Маршинская**, Т.В. Казакова // III Объединенный научный форум физиологов, биохимиков и молекулярных биологов, VII Съезд физиологов СНГ, X Российский симпозиум «белки и пептиды», VII Съезд биохимиков России. Научные труды. – 2021. – С. 141.
13. Маршинская, О.В. Влияние высококалорийной диеты на активность антиоксидантных ферментов и минеральный обмен в эксперименте / **О.В. Маршинская**, С.В. Нотова // Эколого-физиологические проблемы адаптации: материалы XIX симпозиума с международным участием. – 2022. – С. 131-132.
14. Маршинская, О.В. Реакция антиоксидантной системы крыс линии SHR на употребление высококалорийной диеты / **О.В. Маршинская**, Т.В. Казакова, С.В. Нотова // Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – 2023. – С. 263-266.
15. Маршинская, О.В. Влияние высококалорийной диеты на минеральный обмен лабораторных животных / **О.В. Маршинская**, Т.В. Казакова, С.В. Нотова // XXIV съезд РФО им. И.П. Павлова. – 2023. – С. 80-81.

Список обозначений и условных сокращений

АОС – антиоксидантная защита; **ВКД** – высококалорийная диета; **ГП** – глутатионпероксидаза; **ЛПВП** – липопротеиды высокой плотности; **ПГТТ** – пероральный глюкозотолерантный тест; **ССЗ** – сердечно-сосудистые заболевания; **СД2** – сахарный диабет 2 типа; **СОД** – супероксиддисмутаза; **ТГ** – триглицериды; **SCD** – стеарил-коэнзим-адесатураза; **Zn- α 2M** – Zn- α 2-макроглобулин; **Zn-A** – Zn-альбумин; **Zn-AMK** – аминокислотные комплексы цинка; **Zn-НМ** – низкомолекулярные формы цинка; **Cu-T** – Cu-транскупреин; **Cu-Ц** – Cu-церулоплазмин; **Cu-A** – Cu-альбумин; **Cu-НМ** – низкомолекулярные формы меди.