Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры, 2021, Т. 98, №1, с. 38-46 https://doi.org/10.17116/kurort20219801138

Problems of balneology, physiotherapy, and exercise therapy= Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoi fizicheskoi kultury 2021, Vol. 98. no. 1, pp. 38-46 https://doi.org/10.17116/kurort20219801138

Оценка влияния минеральных вод различного физико-химического состава на состояние углеводного обмена при экспериментальном метаболическом синдроме

© А.В. АБРАМЦОВА, Н.В. ЕФИМЕНКО, В.Ф. РЕПС, Г.Н. ТЕР-АКОПОВ

ФГБУ «Северо-Кавказский федеральный научно-клинический центр» ФМБА России, Ессентуки, Россия

Резюме

Цель исследования. Провести сравнительный анализ влияния внутреннего приема минеральных вод (МВ) различного физико-химического состава, в том числе обогащенных селеном, на основные патогенетические звенья метаболического синдрома (МС) в эксперименте.

Материал и методы. Эксперимент проводили на 68 самцах белых крыс в возрасте 3 мес, которых распределили в 5 групп. Контрольные группы: КГ1 — 10 животных без воздействия; КГ2 — 14 животных с МС, получали только питьевую воду. Опытные группы: ОГ1 — 14 крыс с МС, получали МВ1 хлоридно-сульфатного натриевого состава (Ивановская область); ОГ2 — 15 животных, получали МВ2 хлоридно-гидрокарбонатно-натриевого состава (Ессентуки №4); ОГ3 — 15 животных, получали МВ2, обогащенную селеном. МС моделировали путем двукратного введения стрептозотоцина, внутрибрюшинно, по 30 мкг/кг, после 60 сут нахождения животных на гиперкалорийной диете.

Результаты. По данным орального глюкозотолерантного теста (ГТТ) у животных с МС были определены два варианта гликемической реакции, по которым в каждой группе были выделены две подгруппы (ПГ). В 1-й ПГ КГ2 и ОГ1—3 выявили умеренное повышение глюкозы на 60-й минуте ГТТ, которое превышало в 1,2 раза уровень глюкозы на 60-й минуте в КГ1. Во 2-й ПГ отмечалось повышение глюкозы на 60-й минуте в 2,5—5,0 раза, к 120-й минуте ГТГ уровень глюкозы был выше, чем в КГ1. У животных КГ2 не происходило снижения глюкозы к 120-й минуте, в отличие от ОГ1—3. Определялась повышенная в 2 раза активность α-амилазы крови у животных КГ2 по сравнению с КГ1, а в группах ОГ1 и ОГ2 уровень ее активности приближался к уровню КГ1.

Заключение. У животных с МС определено снижение чувствительности β-клеток к стимулирующему действию глюкозы и вовлечении в патологический процесс экзокринной части поджелудочной железы. Под влиянием лечебного курсового поения МВ различного физико-химического состава у животных с МС в эксперименте в разной степени восстанавливалась чувствительность тканей к стимулирующему гипергликемическому сигналу и снижалась повышенная активность α-амилазы крови.

Ключевые слова: *диетоиндуцированный, химиоиндуцированный метаболический синдром, минеральные воды, эксперимент.*

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Абрамцова А.В. — https://orcid.org/0000-0001-7435-6286; eLibrary SPIN: 9608-8004; Author ID: 734492
Ефименко Н.В. — https://orcid.org/0000-0001-7005-8927; eLibrary SPIN: 8041-7520; Author ID: 161117
Репс В.Ф. — https://orcid.org/0000-0003-4878-6797; eLibrary SPIN: 4556-1046; Author ID: 420500
Тер-Акопов Г.Н. — https://orcid.org/0000-0002-7432-8987; eLibrary SPIN: 1547-8763; Author ID: 931240
Автор, ответственный за переписку: Абрамцова А.В. — e-mail: abramtsovaav@ngs.ru, pniik.noo@skfmba.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Абрамцова А.В., Ефименко Н.В., Репс В.Ф., Тер-Акопов Г.Н. Оценка влияния минеральных вод различного физико-химического состава на состояние углеводного обмена при экспериментальном метаболическом синдроме. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 2021;98(1):38–46. https://doi.org/10.17116/kurort20219801138

Evaluation of the influence of different physical and chemical composition mineral waters on the state of carbohydrate metabolism in experimental metabolic syndrome

© A.V. ABRAMTSOVA, N.V. EFIMENKO, V.F. REPS, G.N. TER-AKOPOV

North Caucasian Federal Scientific and Clinical Center, Essentuki, Russia

Abstract

Purpose of the study. To carry out a comparative analysis of the intake effect of mineral waters (MW) of various physicochemical compositions, including those ones enriched in selenium, on the pathogenesis of metabolic syndrome (MS) in the experiment.

Materials and methods. The experiment was carried out on 68 male white rats aged 3 months, which were divided into 5 groups. Control groups: CG1 — 10 animals without exposure; CG2 — 14 animals with MS, received only drinking water. Experimental groups: EG1 — 14 rats with MS, received MW1 of chloride-sulfate sodium composition (Ivanovo region); EG2 — 15 animals,

received MW2 of chloride-hydrocarbonate-sodium composition (Essentuki No. 4); EG3 — 15 animals, received MW2 enriched with selenium. MS was modeled by double injection of streptozotocin, intraperitoneally, 30 μg/kg, after 60 days of finding the animals on a hypercaloric diet.

Results. According to the oral glucose tolerance test (GTT) in animals with MS, two variants of the glycemic response were identified, according to which two subgroups (SG) were identified in each group. In the 1st SG CG2 and EG1-3, a moderate increase in glucose at the 60th minute of GTT was revealed, which was 1.2 times higher than the glucose level at the 60th minute in CG1. In SG 2, an increase in glucose was noted at the 60th minute by 2.5—5.0 times, by the 120th minute of GTG the glucose level was higher than in CG1. In animals CG2, there was no decrease in glucose by the 120th minute, in contrast to EG1-3. The activity of blood α-amylase increased by 2 times was determined in animals CG2 compared to CG1, and in groups EG1 and EG2 the level of its activity approached the level of CG1.

Conclusion. In animals with MS, a decrease in the sensitivity of β-cells to the stimulating effect of glucose and the involvement of the exocrine pancreas in the pathological process was determined. Under the influence of therapeutic course drinking MW of different physicochemical composition in animals with MS in the experiment, the sensitivity of tissues to the stimulating hyperglycemic signal was restored to varying degrees and the increased activity of blood α-amylase decreased.

Keywords: *diet-induced, chemically-induced metabolic syndrome, mineral waters, experiment.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:
Abramtsova A.V. — https://orcid.org/0000-0001-7435-6286; eLibrary SPIN: 9608-8004; Author ID: 734492
Efimenko N.V. — https://orcid.org/0000-0001-7005-8927; eLibrary SPIN: 8041-7520; Author ID: 161117
Reps V.F. — https://orcid.org/0000-0003-4878-6797; eLibrary SPIN: 4556-1046; Author ID: 420500
Ter-Akopov G.N. — https://orcid.org/0000-0002-7432-8987; eLibrary SPIN: 1547-8763; Author ID: 931240
Corresponding author: Abramtsova A.V. — e-mail: abramtsovaav@ngs.ru, pniik.noo@skfmba.ru

TO CITE THIS ARTICLE:
Abramtsova AV, Efimenko NV, Reps VF, Ter-Akopov GN. Evaluation of the influence of different physical and chemical composition mineral waters on the state of carbohydrate metabolism in experimental metabolic syndrome. *Problems of balneology, physiotherapy, and exercise therapy.* 2021;98(1):38–46. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/kurort20219801138

Введение

В терапевтической стратегии метаболического синдрома (МС) немедикаментозное лечение является основой для восстановления патологически нарушенных регуляторных сигнальных взаимодействий, закрепленных в виде инсулинорезистентности и лептинорезистентности [1]. Их коррекция возможна при изменении пищевого поведения, увеличении двигательной активности с приростом мышечной массы, отказе от вредных привычек. При недостаточной эффективности указанных мероприятий проводят лекарственную терапию ожирения, дислипидемии, нарушенной толерантности к глюкозе и других патологических состояний, определяющих риск развития коморбидных патологий, а именно сахарного диабета 2-го типа (СД2) и сердечно-сосудистых заболеваний [2]. СД2 определяется в 4 раза чаще у пациентов с МС, и его развитие, как известно, связано с прогрессированием инсулинорезистентности и формированием относительного дефицита инсулина.

Первая патогенетическая стадия компенсации СД2 относится к преддиабетическому состоянию и характеризуется повышенным уровнем гликемии натощак (НТГ) и компенсаторным увеличением массовой доли β-клеток поджелудочной железы (ПЖ). Дальнейший рост НТГ сопровождается снижением 1-й фазы стимулированной секреции инсулина, но сохранением 2-й фазы. Установлено, что 1-я фаза может быть восстановлена неглюкозными стимуляторами, к которым относят «инкретиновый эффект», обусловленный гастроинтестинальными гормонами, преимущественно глюкагоноподобным пептидом 1 (ГПП1) и желудочным ингибирующим пептидом [3]. Использование лекарственного аналога ГПП1 ранее считалось перспективным, однако были получены данные о его причастности к развитию гипертрофии ПЖ, хроническому панкреатиту и активации канцерогенеза в железе. В последнее время появляются доказательства наличия связи между МС и заболеванием раком различной локализации под влиянием гипергликемии и липотоксичности, а также других нарушений, связанных с изменениями метаболома в клетках печени, желудочно-кишечного тракта, гонад, эндометрия, щитовидной железы [4].

Таким образом, расширение спектра немедикаментозной коррекции основных нарушений углеводного и липидного обмена становится важным в лечении пациентов с МС. В этой связи необходимо отметить значительный опыт ученых Пятигорского НИИ курортологии ФФГБУ СКФНКЦ ФМБА России по применению минеральных вод ессентукского типа в санаторно-курортном лечении МС и СД2 [5, 6]. Влияние этих вод в основном связано с восстановлением ранней секреции инсулина за счет активации энтеропанкреатической оси и последующим влиянием на предрецепторный путь коррекции нарушенной инсулиновой регуляции гомеостаза глюкозы. Кроме того, были проведены экспериментальные исследования, обосновывающие превентивное дей-

ствие минеральных вод, преимущественно ессентукского типа, в первичной и вторичной профилактике язвенно-эрозивных заболеваний желудочно-кишечного тракта за счет стимуляции гормонов гастероэнтеропанкреатической системы [7].

Однако, если рассматривать дальнейший патогенез СД2, а именно переход 2-й стадии в 3-ю, то уменьшение базальной секреции инсулина происходит за счет снижения пластичности инсулярных островков ПЖ и ингибирования перехода проинсулина в инсулин. Поэтому в экспериментальных исследованиях по оценке эффективности различных средств в отношении инсулинорезистентности необходимо использовать модели животных, на которых возможно воспроизводить совокупность расстройств метаболизма, приближая их к началу формирования коморбидной МС-патологии, в частности, СД2 [8]. Так, например, у крыс возможно инициировать НТГ путем длительного применения гиперкалорийной диеты (ГД) в комбинации с субдиабетогенными дозами стрептозотоцина [9 — 14]. Важно отметить, что стрептозотоцин приводит к массивной гибели β-клеток и гипергликемии. Последующее восстановление пула β-клеток сопровождается восстановлением уровня глюкозы натощак, но сохранением сниженной чувствительности к глюкозе и преобладанием секреции проинсулина [15].

Кроме того, в такой модели МС определяется митохондриальная дисфункция, связанная с повреждением клеток окислительным стрессом и истощением антиоксидантной системы и сопровождающаяся высоким потреблением глутатиона и накоплением НАД+, что также имеет большое значение в патогенезе развития СД2. В этой связи целесообразно использовать минеральные воды, потенциально влияющие на восстановление редокс-потенциала клеток, подверженных окислительному стрессу. В качестве расширения спектра применения природных минеральных вод можно использовать серосодержащие сульфатные воды как альтернативный источник восполнения сульфатных ионов.. А также необходимо усиление биопотенциала природной минеральной воды Ессентуки №4 в отношении ее антиоксидантной активности путем обогащения биологически активными элементами, например, селеном.

Цель исследования — провести сравнительный анализ влияния внутреннего приема минеральных вод различного физико-химического состава, в том числе обогащенных селеном, на основные патогенетические звенья метаболического синдрома в эксперименте.

Материал и методы

Исследование выполняли на 68 половозрелых белых беспородных крысах-самцах массой 280—320 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария ПНИИК ФФГБУ СКФНКЦ ФМБА России в Пятигорске (далее — ПНИИК), регламентируемых СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)»; ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными». Все животные находились по 6—8 особей в клетках и имели свободный доступ к питьевой воде, лабораторному корму. Работа с животными проводилась по принципам гуманного обращения с животными в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в эксперименте и других научных целях (ETS №123, Strasbourg, 1986) с изменениями от 22.06.98.

Исследования были проведены в условиях отдела изучения механизмов действия физических факторов ПНИИК.

Моделирование МС осуществляли на протяжении 3 мес путем сочетанного применения ГД и диабетогенного стрептозотоцина (СТЦ). Начиная с 2,5-месячного возраста животные получали ГД (свиное сало по 10 г для каждого животного и 5% раствор фруктозы в свободном доступе) в течение 2 мес с последующим двукратным введением СТЦ, внутрибрюшинно, по 30 мкг/кг массы тела животного, с интервалом 14 сут и дальнейшим 10-дневным периодом формирования патологических изменений под действием ГД и СТЦ.

Неустойчивость к токсическому действию СТЦ привела к гибели 30% животных, у остальных состояние стабилизировалось. На 11-е сутки после повторного введения СТЦ животным начинали проводить 21-дневное курсовое поение исследуемых минеральных вод.

Завершение эксперимента осуществлялось на 22-е сутки, через 1 сут после окончания курса поения.

Лечебное курсовое поение было проведено среднеминерализованными минеральными водами различного физико-химического состава:

— минеральная вода (МВ1), минерализация 6,7 г/дм^3 хлоридно-сульфатного натриевого состава, щелочной реакции с содержанием кремниевой кислоты H_2SiO_3 0,0136 г/дм^3 и селена в следовых концентрациях 0,003 мкг/л (скважина №1/2000, находящаяся на территории ФГБУЗ Медицинский центр «Решма» ФМБА России, Кинешемский район, Ивановская область);
— минеральная вода Ессентуки №4 (МВ2), минерализация 8,7 г/дм^3, углекислая, хлоридно-гидрокарбонатного натриевого состава в нативном виде и обогащенная селеном (МВ2Se).

Для обогащения МВ2 применяли селен в виде субстанции «Селекор» (диметилдипиразолилселенид) в дозировке Se 3 мкг/кг.

Курс поения животных в опытных группах составлял 21 сут. Воду вводили внутрижелудочно в дозе 1,5 мл на 100 г массы животного.

В соответствии с условиями эксперимента животные были распределены на 5 групп. В 1-й контрольной группе интактные животные (КГ1; 10 крыс) и во 2-й контрольной группе животные с моделью МС (КГ2; 14 крыс) получали только питьевую воду. Животные 1-й опытной группы (ОГ1; 14 крыс) получали МВ1, 2-й (ОГ2; 15 крыс) — МВ2, 3-й (ОГ3; 15 крыс) — МВ2Se.

Животных выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом. Проводили забор крови для получения сыворотки.

В результате моделирования МС сочетанным применением ГД и диабетогенного вещества СТЦ были воспроизведены нарушения углеводного обмена, определяемые по данным орального глюкозотолерантного теста (ГТТ), и повреждение экзокринной части ПЖ, установленное по повышению активности α-амилазы крови. Учитывая повреждающее действие СТЦ на β-клетки путем активации в них окислительного стресса с нарушением секреции инсулина, а также снижением чувствительности тканей к гликемическому стимулу, животным были проведены лечебные курсы внутреннего приема минеральных вод различного физико-химического состава для немедикаментозной коррекции описанных нарушений. В результате лечебных курсов минеральными водами в нативном виде у экспериментальных животных в разной степени восстанавливалась нарушенная толерантность к глюкозе и снижалась повышенная активность α-амилазы, при этом обогащенная селеном минеральная вода повышала базальный уровень инсулина.

Для оценки нарушений углеводного обмена у животных выполняли оральный ГТТ: определяли содержание глюкозы в периферической крови натощак и после внутрижелудочного введения 1 мл раствора глюкозы (2 г/кг массы тела животного) через 30, 60, 90, 120 мин с использованием глюкометра и тест-полосок («Сателлит экспресс»).

У всех животных осуществляли забор крови для получения сыворотки и проведения иммуноферментного анализа и биохимических исследований на полуавтоматическом биохимическом анализаторе ChemWell (США). В сыворотке крови определяли содержание кортизола, инсулина, С-пептида, глюкозы, уровень активности аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ), щелочной фосфатазы, α-амилазы с использованием наборов реактивов фирмы «Ольвекс» и «Компании Алкор Био» (Россия). Антиоксидантный статус сыворотки крови определяли фотометрическим методом с использованием набора реактивов Immundiagnostik ImAnOx (TAS/TAC).

Протокол исследования был одобрен на заседании Комиссии по биоэтике ФГБУ СКФНКЦ ФМБА России в г. Ессентуки (протокол от 27.06.19 №1).

В ходе проведения экспериментального исследования нежелательных явлений не наблюдалось.

Для оценки результатов исследования использовали пакет программ Statistica 6.0. (США). Полученные данные оценивали с применением критерия Ньюмана—Кейсла для множественных межгрупповых сравнений и многофакторного дисперсионного анализа. Для анализа статистически значимых связей между количественными показателями использовали критерий ранговой корреляции Спирмена. Показатели представлены в виде медианы (Me) и квартилей [Q_{25}; Q_{75}]. Различия считали достоверными при минимальном уровне значимости $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Для формирования стойких нарушений углеводного обмена, характерных для МС, у беспородных белых крыс был использован СТЦ в субдиабетической дозировке на фоне ГД.

Динамику нарушений углеводного гомеостаза, характеризующего экспериментальный МС, оценивали по уровню глюкозы натощак и показателям ГТТ **(табл. 1)**.

Через 2 мес кормления животных ГД уровень глюкозы в крови натощак в группе КГ2 не изменился, а после углеводной нагрузки на 90-й и 120-й минутах ГТТ был выше на 30%, чем в КГ1, что можно расценить как начало формирования нарушения толерантности к глюкозе. После двукратного введения СТЦ, а именно через 1 сут, исходный уровень глюкозы натощак повысился на 50—80% (КГ2, 1-е сутки СТЦ) по сравнению с КГ1. Однако после внутрижелудочного введения глюкозы ее уровень в крови через 30, 60, 90 мин в КГ2 достоверно не отличался от значений КГ1, а к 120-й минуте ГТТ был достоверно выше, чем в КГ1. У 30% животных наступала гибель на 2-е и 3-и сутки после введения СТЦ, что свидетельствует об их низкой резистентности к диабетогенному фактору — СТЦ. У выживших животных через 10 сут после двукратного введения СТЦ (КГ2, 10-е сутки СТЦ) уровень глюкозы натощак снижался, однако к 60-й и 120-й минутам ГТТ был выше контрольных значений, что является результатом развития глюкозотолерантности и подтверждает формирование экспериментальной модели МС.

Лечебный курс поения минеральными водами начинался с 11-го дня после двукратного введения СТЦ и проводился 21 сут. За 2 сут до выведения животных из эксперимента в КГ2 и опытных группах проводили ГТТ, в результате которого определена высокая дисперсия показателей уровня глюкозы через 60 и 120 мин после внутрижелудочного введения глюкозы, что позволяет внутри каждой группы выделить две подгруппы по реакции на проведение орального ГТТ **(табл. 2, рис. 1)**.

Исходный уровень глюкозы в периферическом кровотоке натощак у животных всех групп не отличался от контрольных значений (КГ1) и соответ-

Таблица 1. **Показатели гликемии натощак и орального глюкозотолерантного теста у здоровых животных при обычном рационе, после 2 мес высококалорийной диеты, а также на 1-е и 10-е сутки после внутрибрюшного введения стрептозотоцина на фоне гиперкалорийной диеты**

Table 1. **Indicators of fasting glycaemia and oral glucose tolerance test in healthy animals with a normal diet, after 2 months of a high-calorie diet, as well as on the 1st and 10th days after intra-abdominal injection of streptozotocin at hyper-caloric diet**

Показатель/Indicator	КГ1/CG1	КГ2/CG2	КГ2 1-е сутки СТЦ CG2 1day STZ	КГ2 10-е сутки СТЦ CG2 10day STZ
Исходный уровень Глюкозы/Baseline glucose	3,4 [3,3; 3,4]	4,9 [3,1; 5]	5,7 [5,4; 6,1]*	3,9 [3,6; 4,7]#
Через 30 мин.In 30 minutes	8,5 [7,3; 9,8]	9,4 [9; 10,1]	9,6 [8,3; 11]	
Через 60 мин/In 60 minutes	7,5 [6; 8,9]	9,3 [8,7; 9,9]	9,8 [8,7; 10,9]	11,2 [9; 11,7]*
Через 90 минут/In 90 minutes	5,8 [4,9; 6,8]	8,5 [7; 9]*	8,2 [6,5; 10]	
Через 120 мин/In 120 minutes	5 [4,9; 5,2]	8,7[8,4; 10]**	7,6 [5,5; 7,6]*	7,9 [5,5; 8,2]*

Примечание. ГД — гиперкалорийная диета; СТЦ — стрептозотоцин; КГ1 — 1-я контрольная группа, КГ2 — 2-я контрольная группа через 2 мес ГД; КГ2 1-е сутки СТЦ — через 2 мес ГД и 1 сут после двукратного введения СТЦ, КГ2 1-е сутки СТЦ — через 2 мес ГД и 10 сут после двукратного введения СТЦ. * — вероятность различий между контрольной и опытными группами с использованием критерия Ньюмана—Кейлса (p<0,05); ** — вероятность различий между контрольной и опытными группами с использованием критерия Ньюмана—Кейлса (p<0,01); # — вероятность различий между опытными группами с использованием критерия Ньюмана— Кейлса (p<0,05).

Note. HD — hyper-caloric diet; STZ — streptozotocin; CG1 — control group 1, CG2 — control group 2 in 2 months on HD; CG2 at first day on STZ — in 2 months on HD and 1 day after double injections of STZ, CG2 at 1 day on STZ — in 2 months on HD and 10 days after double injections of STZ. * — the probability of differences between the control and experimental groups using the Newman-Keuls test (p<0,05); ** — the probability of differences between the control and experimental groups using the Newman—Keuls test (p<0,01); # — the probability of differences between the control and experimental groups using the Newman—Keuls test (p<0,05).

Таблица 2. **Показатели гликемии натощак и при проведении орального глюкозотолерантного теста у здоровых животных при обычном рационе и с дието- и стрептозотоцин-индуцированном метаболическом синдромом после курсового поения минеральными водами**

Table 2. **Indicators of fasting glycemia and during the oral glucose tolerance test in healthy animals with a normal diet and with diet and streptozotocin-induced metabolic syndrome after a course of with mineral waters usage**

Показатель/Indicator	КГ1/CG1	КГ2/CG2	ОГ1/EG1	ОГ2/EG2	ОГ3/EG3
Исходный уровень глюкозы/Baseline glucose	3,9 [3,7; 4]	4,1 [3,9; 4,2]	4,1 [3,8; 4,2]	3,7 [3,4; 4]	4,5 [4,3; 4,9]#
Через 60 мин/In 60 minutes	8 [7,5; 9]	10,2[10,1; 20,7]*	11[9,4; 16,5]*	10,1[9,8; 12,8]*	10,8 [9,1; 20,4]*
Через 120 мин/In 120 minutes	6 [5,5; 6]	7,2 [6,7; 18,6]*	6,5[6,4; 8,6]*	7,8[6,4; 8,1]*	7,5 [6,3; 10,7]*

Примечание. * — вероятность различий между контрольной и опытными группами с использованием критерия Ньюмана—Кейлса (p<0,05); # — вероятность различий между 2-й и 3-й опытными группами с использованием критерия Ньюмана—Кейлса (p<0,05).

Note. * — the probability of differences between the control and experimental groups using the Newman—Keuls test (p <0,05).

** — the probability of differences between the control and experimental groups using the Newman—Keuls test (p<0,01); # — the probability of differences between the 2nd and 3rd experimental groups using the Newman—Keuls test (p<0,05).

ствовал эугликемии. В группах, где у животных моделировали дието- и стрептозотоцин-индуцированный МС, были выделены две подгруппы по уровню гликемии на 60-й минуте: 1-я — уровень гликемии выше контрольных значений (КГ1) не более, чем в 1,2 раза, 2-я — гликемия выше уровня контроля (КГ1) в 3—4 раза.

Соотношение животных 1-й и 2-й подгрупп в каждой группе животных с МС было одинаковым и составляло 3:2. Так, в группах животных КГ2, ОГ1 и ОГ3 2-й подгруппы на 60-й минуте уровень гликемии находился в пределах значений от 16 до 26 ммоль/л, а в ОГ2 — от 10 до 15 ммоль/л. К 120-й минуте уровень глюкозы в 1-й подгруппе животных с МС (КГ2 и ОГ1, ОГ3) снижался, однако не достигал уровня КГ1. У животных 2-й подгруппы КГ2 с выраженной гипергликемической реакцией, зарегистрированной на 60-й минуте, уровень гликемии к 120-й минуте ГТТ практически не менялся. В ОГ1—ОГ3 у животных 2-й подгруппы уровень гликемии снизился в 2—2,3 раза к 120-й минуте по сравнению с его максимальными значениями на 60-й минуте ГТТ. Дисперсионный двухфакторный анализ в оценке гликемической реакции показал достоверные различия между группами и подгруппами на 60-й минуте ($F(3,16)=4,31$, $p=0,02$) и на 120-й минуте ($F(3,16)=29,43$, $p=0,00000$) **(рис. 2)**.

Анализ уровня глюкозы по подгруппам позволил определить не только индивидуальную чувствительность к факторам формирования МС, но и оценить влияние курсового приема минеральных вод на регуляцию гликемии. Так, во всех группах животных с МС уровень глюкозы в крови во 2-й подгруппе увеличивался по сравнению с исходным на 60-й минуте в несколько раз и только в КГ2 не снижался к 120-й минуте, оставаясь высоким в течение 2 ч. В опытных группах 2-й подгруппы уровень глюкозы значительно снизился, однако был выше, чем в 1-й подгруппе на 120-й минуте теста, при этом между группами определялись различия в динамике восстановления глюкозы. В опытных группах ОГ1 и ОГ3 2-й подгруппы гликемия превышала исходные значения в 4,5—6,0 раза и в последующем к 120-й минуте снижалась в 2—3 раза от ее максимального уров-

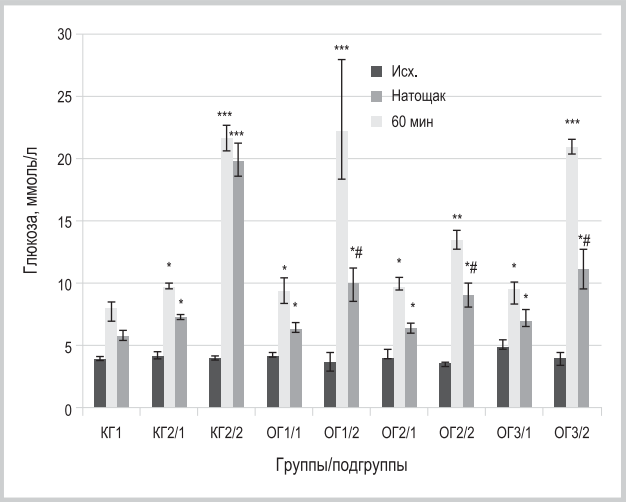

Рис. 1. **Содержание глюкозы в крови у животных в группах и подгруппах при проведении орального глюкозотолерантного теста.**
КГ1 — 1-я контрольная группа; КГ2/1 — 1-я и КГ2/2 — 2-я подгруппа 2-й контрольной группы; ОГ1/1 — 1-я и ОГ1/2 — 2-я подгруппа 1-й опытной группы; ОГ2/1 — 1-я и ОГ2/2 — 2-я подгруппа 2-й опытной группы; ОГ3/1 — 1-я и ОГ3/2 — 2-я подгруппа 3-й опытной группы.
* — вероятность различий содержания глюкозы на 60-й и 120-й минутах теста соответственно между контрольной (КГ1) и группами животных с метаболическим синдромом с использованием критерия Ньюмана—Кейлса (p<0,01); *** — вероятность различий содержания глюкозы на 60-й и 120-й минутах теста соответственно между контрольной (КГ1) и группами животных с метаболическим синдромом с использованием критерия Ньюмана—Кейлса (p<0,001); # — вероятность различий содержания глюкозы на 120-й минуте теста во вторых подгруппах между животными 2-й контрольной группы и опытными группами с использованием критерия Ньюмана—Кейлса (p<0,0001).

Fig. 1. **Blood glucose level in animals in groups and subgroups during the oral glucose tolerance test.**
CG1 — control group 1; CG2/1 — 1 and CG2/2 — subgroup 2 of control group 2; EG1/1 — 1 and EG1/2 — subgroup 2of experimental group 1; EG2/1 — 1 and EG2/2 — subgroup 2 of experimental group 2; EG3/1 — 1 and EG3/2 — subgroup 2 of experimental group 3.
* — the probability of differences in glucose level at the 60th and 120th minutes of the test, respectively, between the control (CG1) and groups of animals with metabolic syndrome using the Newman—Keuls test (p<0,01); *** — the probability of differences in glucose level at the 60th and 120th minutes of the test, respectively, between the control (CG1) and groups of animals with metabolic syndrome using the Newman—Keuls test (p<0,001); # — the probability of differences in glucose level at the 120th minute of the test in the second subgroups between animals of the 2nd control group and experimental groups using the Newman—Keuls test (p<0,0001).

ня. В ОГ2 2-й подгруппы уровень гликемии увеличивался на 60-й минуте в 2,5—3,0 раза и снижался к 120-й минуте незначительно, не более чем в 1,2—1,3 раза от максимального. Следовательно, по данным динамики гликемии ГТТ можно выделить два фенотипа чувствительности тканей к гипергликемическому стимулу, описанных в 1-й и 2-й подгруппах. Важно отметить, что в КГ2 у 2-й подгруппы повышенный уровень гликемии на 60-й минуте теста не менялся в течение 2 ч. В свою очередь поение минеральными водами в разной степени повлияло на динамику гликемии после 60-й минуты теста у животных во 2-й подгруппе опытных групп, снижая ее повышенный уровень, что свидетельствует о наличии механизмов влияния минеральных вод на чувствительность β-клеток к глюкозе и периферических тканей к инсулину.

Динамика гликемии в 1-й подгруппе во всех группах животных с МС не различалась между собой, но уровень глюкозы был выше, чем в контроле, на 60-й и 120-й минутах ГТТ. При оценке реакции на введение глюкозы животным 1-й подгруппы можно предполагать, что, как и во 2-й подгруппе, у крыс была снижена чувствительность β-клеток к стимулирующему действию глюкозы, но в значительно меньшей степени. Было установлено нарушение толерантности к глюкозе, которое, по-видимому, связано со снижением чувствительности периферических тканей к меняющемуся уровню инсулина.

Изначально гибель β-клеток ПЖ под влиянием СТЦ на фоне ГД приводит к повышенному выбросу инсулина с последующим снижением его секреции на оне массивной гибели клеток. Одновременно происходит активация репаративной системы ПЖ и восстановление пула β-клеток, которые преимущественно продуцируют проинсулин. Неконтролируемые механизмы репарации β-клеток создают основу глюкозотолерантности и инсулинорезистентности. Кроме того, СТЦ способен проникать в клетки печени и эпителий канальцев почек, в которых есть переносчики GLUT2, и повреждать их [3, 13]. В связи с этим были оценены интегративные показатели устойчивости мембран к окислительному стрессу по уровню активности в сыворотке крови ферментов печени и антиоксидантной активности крови натощак. У животных определяли инкреторную активность β-клеток по уровню инсулина и с-пептида, а состояние экзокринной части ПЖ оценивали по уровню активности α-амилазы в крови натощак **(табл. 3)**.

Содержание инсулина и с-пептида в сыворотке крови у животных не различалось между контрольными и опытными группами, однако наблюдалась высокая дисперсия показателя базальной секреции инсулина в опытных группах. В отличие от содержания глюкозы в периферической крови, где у животных была определена эугликемия натощак (за 2 сут до выведения их из эксперимента), в смешанной крови, полученной при декапитации животных, уровень глюкозы был достоверно выше в группах с моделью МС (КГ2, ОГ1 и ОГ2), чем в КГ1. Уменьшение активности щелочной фосфатазы в КГ2 может являться результатом снижения интенсивности обменных процессов, поскольку в клетках печени под влиянием СТЦ формируется митохондриальная дисфункция. В настоящем исследовании активность трансаминаз (АЛТ и АСТ) в сыворотке крови у животных с МС не повышалась, и только у животных после курса поения минеральной водой Ессентуки №4, обогащенной селеном (ОГ3), уровень активности АЛТ в сыворотке опускался ниже контрольных значений. Состояние общего антиоксидантного статуса, определяемого по его активности в сыворотке крови, не различалось между группами, что свидетельствует о компенсированном нарушении углеводного метаболизма у животных с моделью МС.

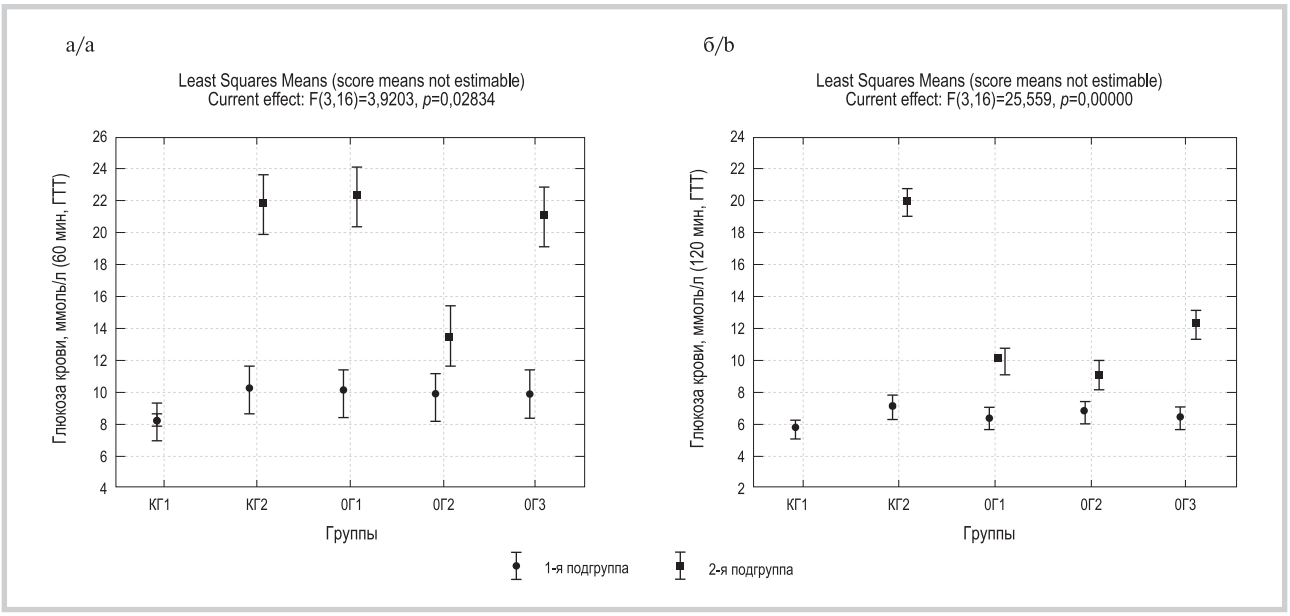

Рис. 2. **Аппроксимация различий между группами по содержанию глюкозы через 60 и 120 мин после ее внутрижелудочного введения в подгруппах с разной толерантностью к глюкозе.**

Fig. 2. **Approximation of differences between groups in glucose level 60 and 120 min after its intra-gastric administration in subgroups with different glucose tolerance.**

Таблица 3. **Биохимические и гормональные показатели в крови животных после курсового поения минеральными водами**

Table 3. **Biochemical and hormonal parameters in the blood of animals after a course of mineral waters usage**

Показатель/Indicator	КГ1/CG1	КГ2/CG2	ОГ1/EG1	ОГ2/EG2	ОГ3/EG3
α-амилаза, Ед/л/α-amylase, U/l	295 [273; 323]	640 [505; 719]**	384 [336; 446]*#	416 [325; 524] *	426 [334; 478]*#
Инсулин, мЕд/л/Insulin, μmol/l	3,2 [3,2; 5,0]	3,8 [3,5; 4,3]	1,85 [0,15; 6,2]	1,6 [0,5; 3,8]	7,05 [0,9; 15,7]
С-пептид, пмоль/л/C-peptide, pmol/l	32,5 [18,3; 44,0]	37,4 [14,6; 42,4]	16,6 [8,69; 27,2]	20,4 [1,1; 31,8]	30,7 [20,5; 48,3]
Кортизол, нмоль/л/Cortisol, nmol/l	84 [63; 92]	97 [86; 136]	112 [89; 136]	75 [65; 91]	71,9 [63; 79]#
Глюкоза, ммоль/л/Glucose, mmol/l	4,5 [4,4; 5,2]	7,1 [6,2; 8,4]*	6,6 [6,0; 7,0]*	6,2 [5,5; 6,6]*	6,1 [5; 6,7]
ЩФ, Ед/л / AP, U/l	262 [248; 290]	200 [169; 217]*	327 [215; 587]	206 [173; 277]	256 [238; 285]
АЛТ, Ед/л / ALT, U/l	39,7 [38,5; 41,3]	36,4 [32,6; 53,2]	39,7 [30; 46,6]	33,9 [30,7; 64,0]	31,7* [28,9; 36,3]
АСТ, Ед/л / AST, U/l	122,5 [118; 128]	123 [118; 143]	117 [98; 142]	132 [117; 277]	128 [115; 135]
Антиоксидантный статус крови, мМ Total antioxidant status,μM	0,74 [0,64; 0,79]	0,65 [0,62; 0,85]	0,69 [0,58; 0,79]	0,73 [0,68; 0,87]	0,62 [0,56; 0,85]

Примечание. * — вероятность различий между КГ1 и опытными группами с использованием критерия Ньюмана—Кейлса ($p<0,05$); ** — вероятность различий между КГ1 и опытными группами с использованием критерия Ньюмана—Кейлса ($p<0,01$); # — вероятность различий между КГ2 и опытными группами с использованием критерия Ньюмана—Кейлса ($p<0,05$).

Note. * — probability of differences between CG1 and experimental groups using the Newman—Keuls test ($p<0,05$); ** — probability of differences between CG1 and experimental groups using the Newman—Keuls test ($p<0,01$); # — probability of differences between CG2 and experimental groups using the Newman—Keuls test ($p<0,05$).

Как уже было отмечено, в основе повреждающего действия СТЦ лежит проникновение его в β-клетки эндокринной части ПЖ с последующей их деструкцией. В месте деструкции развиваются реактивная лейкоцитарная инфильтрация, полнокровие и стаз с распространением на прилежащую экзокринную часть, что определяется по данным морфологических исследований [8, 11]. В настоящей работе определяли состояние экзокринной части ПЖ по уровню активности α-амилазы в сыворотке крови. Активность α-амилазы была выше в 2,0—2,3 раза в КГ2, чем в КГ1, что подтверждает вовлечение в патологический процесс экзокринной части ПЖ. В группах после курсового поения животных минеральными водами было зарегистрировано достоверное снижение активности α-амилазы, по сравнению с КГ2, при этом ее уровень был выше, чем КГ1.

При анализе зависимости между уровнем инсулина и состоянием экзокринной части ПЖ был применен факторный дисперсионный анализ, где фактором являлся уровень активности α-амилазы в сыворотке крови (1-й уровень меньше 400 Ед/л, 2-й уровень более 400 Ед/л) во всех исследуемых группах **(рис. 3)**.

Дисперсионный факторный анализ позволил установить, что только у животных, получавших курс минеральной воды Ессентуки №4, обогащенной се-

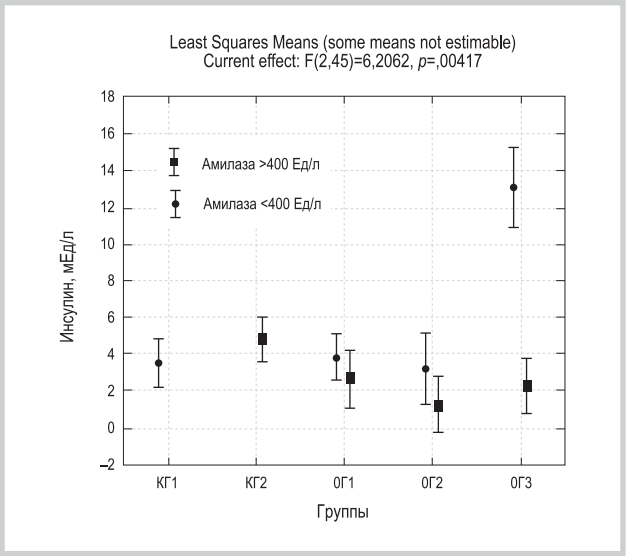

Рис. 3. **Аппроксимация различий между группами по содержанию инсулина в крови животных в зависимости от активности α-амилазы в сыворотке крови.**

Fig. 3. **Approximation of differences between groups in the insulin level in the blood of animals depending on the activity of serum α-amylase.**

леном (ОГ3), при активности α-амилазы в сыворотке крови меньше 400 Ед/л базальный уровень инсулина был выше, чем в других группах. Полученные данные свидетельствует не только о меньшем вовлечении в патологический процесс экзокринной части ПЖ, но и о влиянии обогащенной селеном минеральной воды Ессентуки №4 на секреторную активность β-клеток.

Заключение

Изучение влияния природных минеральных вод: хлоридно-сульфатного натриевого состава с щелочной реакцией (скважина 1/2000, Ивановская область) и углекислой хлоридно-гидрокарбонатного натриевого состава (Ессентуки №4) в нативном виде, а также Ессентуки №4, обогащенной селеном, на углеводный гомеостаз у животных проведено на модели диабета и стрептозотоцин-индуцированного МС. В результате моделирования были воспроизведены некоторые нарушения углеводного обмена, которые в разной степени корригировались курсовым внутренним приемом исследуемых минеральных вод.

Во-первых, при проведении орального ГТТ у животных с МС были определены два варианта гликемической реакции, по которым в каждой группе были выделены 2 подгруппы. 1-я подгруппа характеризовалась умеренным повышением уровня глюкозы на 60-й минуте и последующим снижением к 120-й минуте теста. Во 2-й подгруппе отмечалось выраженное повышение уровня глюкозы на 60-й минуте, а дальнейшие изменения уровня глюкозы к 120-й минуте теста различались между КГ2 и ОГ1—3. У животных с МС без лечебного курсового поения (КГ2) не происходило снижения глюкозы к 120-й минуте в отличие от животных опытных групп, получавших минеральные воды, где глюкоза снижалась в 1,5—2,0 раза к 120-й минуте по сравнению с ее максимальным подъемом на 60-й минуте. Полученные данные свидетельствует о сниженной чувствительности β-клеток к стимулирующему действию глюкозы и возможному влиянию исследуемых минеральных вод на нарушенную толерантность к глюкозе.

Во-вторых, установлена повышенная активность α-амилазы крови у животных с МС без лечебных курсов минеральных вод в 2 раза по сравнению с интактными животными, что свидетельствует о вовлечении в патологический процесс экзокринной части ПЖ. В свою очередь снижение повышенной активности α-амилазы крови установлено во всех группах, получавших минеральную воду. Кроме того, в группе животных с МС, принимавших курс Ессентуки №4, обогащенной селеном, при уровне активности α-амилазы, приближенной к уровню интактных животных, выявлен повышенный в 2 раза уровень инсулина в крови, по сравнению с контрольными значениями.

Таким образом, под влиянием внутреннего приема исследуемых минеральных вод повышается чувствительность тканей к стимулирующему гипергликемическому сигналу, определяемому по оральному ГТТ, однако имеются различия в динамике гликемии и других показателей регуляции углеводного обмена.

Работа проведена на базе ПНИИК филиала ФГБУ СКФНКЦ ФМБА России в г. Пятигорске за счет средств ФГБУ СКФНКЦ ФМБА России.

Участие авторов: концепция и дизайн исследования — Г.Н. Тер-Акопов, Н.В. Ефименко; сбор и обработка материала — А.В. Абрамцова, В.Ф. Репс; написание текста — А.В. Абрамцова, В.Ф. Репс; редактирование — Н.В. Ефименко.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Дедов И.И., Ткачук В.А., Гусев Н.Б. Ширинский В.П., Воротников А.В., Кочегура Т.Н., Майоров А.Ю., Шестакова М.В. Сахарный диабет 2-го типа и метаболический синдром: молекулярные механизмы, ключевые сигнальные пути и определение биомишений для новых лекарственных средств. *Сахарный диабет*. 2018;5:364-375.
Dedov II, Tkachuk VA, Gusev NB, Shirinskij VP, Vorotnikov AV, Kochegura TN, Majorov AYu, Shestakova MV. Sakharnyj diabet 2 tipa i metabolicheskij sindrom: molekulyarnye mekhanizmy, klyuchevye signal'nye puti i opredelenie biomishenij dlya novykh lekarstvennykh sredstv. *Sakharnyj diabet*. 2018;5:364-375. (In Russ.).
2. Оганов Р.Г., Денисов И.Н., Симаненков В.И., Бакулин И.Г., Захарова Н.В., Болдуева С.А., Барбараш О.Л., Гарганеева Н.П., Дощицин В.Л., Драпкина О.М., Дудинская Е.Н., Котовская Ю.В., Лила А.М., Мамедов М.Н.О., Марданов Б.У., Миллер О.Н., Петрова М.М., Позднякова Ю.М., Рунихина Н.К., Сайганов С.А., Тарасов А.В., Ткачева О.Н., Уринский А.М., Шальнова С.А. Коморбидная патология в клинической практике. Клинические рекомендации. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2017;16(6):7-68.
Oganov RG, Denisov IN, Simanenkov VI, Bakulin IG, Zakharova NV, Boldueva SA, Barbarash OL, Garganeeva NP, Doshhitsin VL, Drapkina OM, Dudinskaya EN, Kotovskaya YuV, Lila AM, Mamedov MNO, Mardanov BU, Miller ON, Petrova MM, Pozdnyakov YuM, Runikhina NK, Sajganov SA, Tarasov AV, Tkacheva ON, Urinskij AM, Shal'nova SA. Komorbidnaya patologiya v klinicheskoj praktike. Klinicheskie rekomendatsii. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*. 2017;16(6):7-68. (In Russ.).
https://doi.org/10.15829/1728-8800
3. Аметов А.С. Регуляция секреции инсулина в норме и при сахарном диабете 2-го типа: роль инкретинов. *Русский медицинский журнал*. 2010;14(26):1867-1871.
Ametov AS. Regulyatsiya sekretsii insulina v norme i pri sakharnom diabete 2 tipa: rol' inkretinov. *Russkij meditsinskij zhurnal*. 2010;14(26):1867-1871. (In Russ.).
4. Tudzarova S, Osman MA. The double trouble of metabolic diseases: the diabetes — cancer link. *Mol Biol Cell*. 2015;26(18):3129-3139.
https://doi.org/10.1091/mbc.E14
5. Ботвинева Л.А., Амиянц В.Ю., Шведунова Л.Н., Васин В.А., Меркулова Г.А., Гайдамака И.И., Доменюк Д.А. Питьевые минеральные воды в восстановительном лечении больных метаболическим синдромом с нарушением гликемии натощак и неалкогольной жировой болезнью печени. *Физиотерапия, бальнеология и реабилитация*. 2017;12(4):384-386.
Botvineva LA, Amiyants VYu, Shvedunova LN, Vasin VA, Merkulova GA, Gajdamaka II, Domenyuk DA. Pit'evye mineral'nye vody v vosstanovitel'nom lechenii bol'nykh metabolicheskim sindromom s narusheniem glikemii natoshhak i nealkogol'noj zhirovoj bolezn'yu pecheni. *Fizioterapiya bal'neologiya i reabilitatsiya*. 2017;12(4):384-386. (In Russ.).
https://doi.org/10.14300/mnnc.2017.12107
6. Ефименко Н.В., Кайсинова А.С., Федорова Т.Е., Ботвинева Л.А. Эффективность курортной терапии с применением питьевых минеральных вод ессентукского типа при лечении неалкогольной жировой болезни печени у больных сахарным диабетом 2-го типа. *Вопросы курортологии физиотерапии и ЛФК*. 2015;3:14-17.
Efimenko NV, Kajsinova AS, Fedorova TE, Botvineva LA. Effektivnost' kurortnoj terapii s primeneniem pit'evykh mineral'nykh vod essentukskogo tipa pri lechenii nealkogol'noj zhirovoj bolezni pecheni u bol'nykh sakharnym diabetom 2-go tipa. *Voprosy kurortologii fizioterapii i LFK*. 2015;3:14-17. (In Russ.).
7. Полушина Н.Д., Фролков В.К., Ботвинева Л.А. *Превентивная курортология (теоретические и прикладные аспекты перспективы)*. Пятигорск. 1997.
Polushina ND, Frolkov VK, Botvineva LA. *Preventivnaya kurortologiya (teoreticheskie i prikladnye aspekty perspektivy)*. Pyatigorsk. 1997. (In Russ.).
8. Гвазава И.Г., Роговая О.С., Борисов М.А., Воротеляк Е.А., Васильев А.В. Патогенез сахарного диабета 1-го типа и экспериментальные модели на лабораторных грызунах. *Acta Naturae*. 2018;10(1):25-35.
Gvazava IG, Rogovaya OS, Borisov MA, Vorotelyak EA, Vasil'ev AV. Patogenez sakharnogo diabeta 1 tipa i ehksperimental'nye modeli na laboratornykh gryzunakh. *Acta Naturae*. 2018;10(1):25-35. (In Russ.).
9. Кравчук Е.Н., Галагудза М.М. Экспериментальные модели метаболического синдрома. *Артериальная гипертензия*. 2014;29(3):377-383.
Kravchuk EN, Galagudza MM. Eksperimental'nye modeli metabolicheskogo sindroma. *Arterial'naya gipertenziya*. (In Russ.).
10. Мазо В.К., Сидорова Ю.С., Зорин С.Н., Кочеткова А.А. Стрептозотоциновые модели сахарного диабета. *Вопросы питания*. 2016;85(4):14-20.
Mazo VK, Sidorova YuS, Zorin SN, Kochetkova AA. Streptozototsinovye modeli sakharnogo diabeta. *Voprosy pitaniya*. 2016;85(4):14-20. (In Russ.).
11. Смирнов А.В., Снигур Г.Л., Яковлев А.Т., Медников Д.С., Куркин Д.В., Волотова Е.В., Кириченко Л.Н. Количественная характеристика патоморфологических изменений в эндокринной части поджелудочной железы крыс при моделировании экспериментального стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета. *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2015;4:21-24.
Smirnov AV, Snigur GL, Yakovlev AT, Mednikov DS, Kurkin DV, Volotova EV, Kirichenko LN. Kolichestvennaya harakteristika patomorfologicheskih izmenenij v endokrinnoj chasti podzheludochnoj zhelezy krys pri modelirovanii eksperimental'nogo streptozotocin-inducirovannogo saharnogo diabeta. *Volgogradskij nauchno-medicinskij zhurnal*. 2015;4:21-24. (In Russ.).
12. Спасов А.А., Воронкова М.П., Снигур Г.Л., Чепляева Н.И., Чепурнова М.В. Экспериментальная модель сахарного диабета 2 -го типа. *Биомедицина*. 2011;3:12-18.
Spasov AA, Voronkova MP, Snigur GL, Cheplyaeva NI, Chepurnova MV. Eksperimental'naya model' saharnogo diabeta 2. *Biomedicina*. 2011;3:12-18. (In Russ.).
13. Panchal SK, Brown L. Rodent Models for Metabolic Syndrome Research. Journal of Biomed Biotechnol. 2011.
https://doi.org/10.1155/2011/351982
14. Skovso S. Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin. Journal of Diabetes Investigation. 2014;5(4):349-358.
https://doi.org/10.1111/jdi.12235
15. Лещенко Д.В., Костюк Н.В., Егорова Е.Н., Белякова М.Б., Миняев М.В., Петрова М.Б. Моделирование метаболического синдрома у животных действием химических агентов и диеты. *Вестник ТвГУ. Серия «Химия»*. 2015;2:141-152.
Leshhenko DV, Kostyuk NV, Egorova EN, Belyakova MB, Minyaev MV, Petrova MB. Modelirovanie metabolicheskogo sindromau zhivotnykh dejstviem khimicheskikh agentov i diet. *Vestnik TvGU. Seriya «KHimiya»*. 2015;2:141-152. (In Russ.).

Получена 14.05.2020
Received 14.05.2020
Принята в печать 24.07.2020
Accepted 24.07.2020