

DOI: 10.7868/S2658655X26060030
УДК 612.391

Экспериментальная статья

Структурно-функциональная характеристика печени мыши при интервальном голодании

С.А. Дмитриева^{1,*}, Д.М. Гиниятуллина^{1,2}, Д.С. Вологин^{1,3},
А.А. Пономарева¹

¹Казанский институт биохимии и биофизики

«Казанский научный центр РАН»,

Казань, Российская Федерация

²Казанский (Приволжский) федеральный университет,

Казань, Российская Федерация

³Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства

«Казанский научный центр РАН»,

Казань, Российская Федерация

*E-mail: s_dmitrieva@list.ru

Аннотация. Изучалось влияние интервального голодания (8/16 ч) на ультраструктуру органелл в гепатоцитах, редокс-метаболизм и аутофагические процессы в печени мышей CD1. Анализировали также активность ферментов, позволяющих оценить нарушения функционального состояния печени, и ряд интегральных параметров физического состояния животных. Показано, что применение интервального голодания (8/16 ч) в течение трех недель приводило к активации аутофагии в печени, при этом не оказывало негативного влияния на ее функционирование, редокс-статус и общее физическое состояние животных. На уровне ультраструктуры выявлены благоприятные морфологические изменения в гепатоцитах: снижение содержания гликогена и включений липидной природы, нормализация ультраструктуры митохондрий. Таким образом, перевод мышей с режима питания на данный режим интервального голодания (8/16 ч) в условиях отсутствия повреждения/патологии в печени способствует активации аутофагических процессов и улучшению ее структурно-функциональных показателей.

Ключевые слова: печень, интервальное голодание, гепатоциты, липидные капли, гликоген, митохондрии, редокс-статус, аутофагия

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда и Академии наук Республики Татарстан по проекту № 24-25-20086.

Соблюдение этических стандартов. Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях

с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям этической комиссии ФИЦ Казанского научного центра РАН (протокол № 23/7 от 12.05.2023 г.).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

Вклад авторов в публикацию. ДСА, ПАА – идея работы и планирование эксперимента; ДСА, ПАА, ГДМ, ВДС – проведение экспериментов, статистическая обработка полученных данных, обсуждение результатов исследования; ДСА, ПАА – редактирование манускрипта.

Ссылка для цитирования: Дмитриева С.А., Гиниятуллина Д.М., Вологин Д.С., Пономарева А.А. Структурно-функциональная характеристика печени мыши при интервальном голодании. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова / Russian Journal of Physiology*. Т. 112. № 6. С. 1416–1440. <https://doi.org/10.7868/S2658655X26060030>

DOI: 10.7868/S2658655X26060030

Experimental Article

Structural and Functional Characterization of the Mouse Liver during Intermittent Fasting

S.A. Dmitrieva^{1,*}, D.M. Giniyatullina^{1,2}, D.S. Vologin^{1,3},
A.A. Ponomareva¹

¹*Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics,
FRC Kazan Scientific Center, RAS,
Kazan, Russian Federation*

²*Kazan (Volga Region) Federal University,
Kazan, Russian Federation*

³*Tatar Scientific Research Institute of Agriculture,
FRC Kazan Scientific Center, RAS,
Kazan, Russian Federation*

**E-mail: s_dmitrieva@list.ru*

Abstract. Here, we investigated the effect of intermittent fasting (IF 8/16) on the ultrastructure of hepatocytes, redox metabolism, and autophagic processes in the liver of laboratory CD1 mice. The activity of enzymes indicative of liver dysfunction and a number of integral indices of the animals' physical condition were also analyzed. It was shown that 3-week IF (8/16) led to the activation of autophagy in the liver, while exerting no negative impact on its functioning, redox status, or the overall physical condition of the animals. Ultrastructural analysis revealed positive alterations in hepatocytes: a decrease in glycogen content and lipid inclusions, normalization of mitochondrial ultrastructure. Thus, switching to IF (8/16) in the absence of liver injury/pathology promotes the activation of autophagic processes and improves hepatic structural and functional indices.

Keywords: liver, intermittent fasting, hepatocytes, lipid droplets, glycogen, mitochondria, redox status, autophagy

Funding. This work was supported by the Russian Science Foundation and the Academy of Sciences of the Republic of Tatarstan under project No. 24-25-20086.

Ethics declarations. All applicable international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed. All procedures performed in studies involving animals were in accordance with the ethical standards approved by the legal acts of the Russian Federation, the principles of the Basel Declaration, and the recommendations of the Ethics Committee of the Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences (Protocol No. 23/7 dated May 12, 2023).

Conflict of interests. The authors declare no obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Author contributions. DSA, PAA – conceptualization and experimental design; DSA, PAA, GDM, VDS – conducting experiments, statistical analysis of the obtained data, discussion of the research results; DSA, PAA – manuscript editing.

For Citation: Dmitrieva S.A., Giniyatullina D.M., Vologin D.S., Ponomareva A.A. Structural and functional characterization of the mouse liver during intermittent fasting. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova / Russian Journal of Physiology*. 2026;112(6):1416–1440. (In Russ.) <https://doi.org/10.7868/S2658655X26060030>

ВВЕДЕНИЕ

Аутофагия – это клеточный катаболический процесс, при котором с помощью аутофагосом и аутофаголизосом изолируются и перерабатываются собственные клеточные компоненты, преимущественно отслужившие, излишние или поврежденные. Данный процесс также активируется для поддержания здоровья клеток и энергетического гомеостаза в периоды стресса, а также при дефиците питательных веществ, в частности при голодании [1]. В отличие от длительного голодания интервальное голодание (ИГ), подразумевающее периодические ограничения в приеме пищи [2], в настоящее время рассматривается как эффективная немедикаментозная стратегия для контроля массы тела и сохранения здоровья [3]. Считается, что аутофагия активируется при голодании в различных органах и тканях и является одним из ключевых механизмов, обеспечивающих его протекторное действие. В многочисленных исследованиях на животных и человеке показано снижение уровня жира, особенно висцерального, повышение чувствительности к инсулину и улучшение толерантности к глюкозе при ИГ [4]. У лабораторных крыс и мышей ИГ оказывает выраженное благотворное влияние на различные показатели здоровья, снижая патологические процессы в экспериментальных моделях при диабете [5], сердечно-сосудистых [6] и онкологических заболеваниях [7], неврологических патологиях, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, инсульт [8] и др. Наиболее популярные схемы ИГ включают 16-часовое голодание в течение суток или полное 24-часовое голодание один–два раза в неделю [9]. Считается, что положительные эффекты ИГ наблюдаются только при соблюдении ограничений в питании. В частности, показано, что после 16 недель ИГ (24/24) при

возвращении крыс к диете *ad libitum* в течение 2–4 недель вновь увеличивались масса тела, частота сердечных сокращений и артериальное давление [10]. Улучшение общего состояния здоровья и увеличение продолжительности жизни при ИГ [11] может быть обусловлено изменением поведения животных и влиянием на энергетический метаболизм. Время приема пищи может оказывать большое влияние на циркадные ритмы и суточные изменения ряда гормонов, таких как инсулин, лептин, кортикостерон и адипонектин [12], а также сдвигать циркадные аспекты поведения.

В печени, для которой характерен высокий конститутивный уровень аутофагии, ИГ активирует данный процесс с помощью различных молекулярных механизмов [13], что способствует протективному действию при различных патогенетических процессах [14, 15]. Длительная или избыточная активация аутофагии может не только оказывать защитное действие, но и сопровождаться аутофагической гибелью клеток. Анализ ультраструктуры гепатоцитов в большинстве исследований, демонстрирующих благоприятные эффекты ИГ на активацию аутофагии в печени, приводится только в единичных работах [16, 17]. Временные интервалы голодания при анализе аутофагических процессов в печени в экспериментах на лабораторных животных часто изучаются по аналогии с временными промежутками голодания у человека. У человека анализ уровня активации аутофагии при разных режимах голодания, в том числе ИГ, ограничен по методологическим и этическим соображениям и представлен единичными работами [18]. Фундаментальное различие между человеком и лабораторными грызунами заключается в скорости метаболических реакций: мыши обладают в 7 раз более высоким метаболизмом, что приводит к ускоренному истощению гликогеновых запасов, активации глюконеогенеза, быстрой нормализации уровня глюкозы и повышению уровня кетонов в плазме крови [19–22]. В частности, у человека уровень кетоновых тел в крови увеличивается до 0,2–0,5 мМ в течение 8–12 ч после начала голодания и достигает значений 1–2 мМ к 48 ч, а у мыши этот метаболический сдвиг происходит быстрее, повышение наблюдается уже в течение 4–8 ч после начала голодания и достигает миллимолярных значений к 24 ч. В 2010 г. консорциумом Mouse Metabolic Phenotype Center было предложено сократить стандартное время голодания для снижения метаболического стресса и установить 6-часовое голодание в качестве стандарта для тестирования гомеостаза глюкозы у мышей [23].

Ранее мы показали, что ИГ в течение 2–3 недель, при котором мыши BALB/c 8 часов в светлое время суток были лишены доступа к пище, приводило к позитивным изменениям ультраструктуры гепатоцитов, в частности, снижалось содержание липидных капель (ЛК) и области накопления гликогена, митохондрии приобретали округлую форму и характеризовались средней плотностью матрикса [24]. В предыдущем исследовании не было выявлено, активируется ли аутофагия в печени при данном режиме изменения питания. В связи с этим целью настоящей работы было комплексное исследование физического состояния животных, редокс-метаболизма и аутофагических процессов в печени, а также ультраструктурных изменений в гепатоцитах при переводе мышей с режима *ad libitum* на вышеописанный режим питания.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные

Исследования проводили на трехмесячных самцах мышей линии CD1. До начала эксперимента животные содержались в стандартных условиях вивария при контролируемой температуре (22–24 °С) с 12-часовым циклом день–ночь (свет включался в 08:00), при постоянном доступе к воде и еде в условиях *ad libitum*. Мыши получали стандартный корм для лабораторных крыс и мышей «Дельта Фидс», Д6К 120 С-19 (АО «БиоПро», Новосибирская обл., Россия). В начале эксперимента мыши были разделены на две группы, каждая из которых содержалась в клетках размером 37 × 48 × 20 см; с первой – контрольной группой ($n = 12$) не проводилось никаких манипуляций, вторая группа ($n = 12$) находилась на ИГ по схеме 8/16: в светлое время суток в течение 8 ч мыши были ограничены в доступе к еде, а в остальное время (16 ч) питались *ad libitum*. Потребление корма и количество выпитой жидкости оценивали один раз в сутки, изменение массы животных – один раз в неделю.

Для изучения функции нейромышечной системы использовали тест «Сила тяги» [25]. Для теста использовали металлическую решетку, прикрепленную к динамометру. Животное постепенно оттягивали назад за хвост, при этом мышь инстинктивно хваталась за перекладину до тех пор, пока сила тяги не превышала силу хвата. После того как животное отпусало перекладину, дисплей динамометра отображал пиковое усилие тяги, достигнутое передними конечностями. Для анализа отбиралось наибольшее значение из трех попыток. Полученные данные переводили в грамм-силы. Силу мышц конечностей оценивали в тесте «Сила хвата» [25], используя глубокую емкость, решетку и секундомер. Мышей помещали на проволочную сетку и осторожно встряхивали, для того чтобы животное схватилось за сетку. Сетку переворачивали вверх дном над клеткой и удерживали на высоте 30 см над емкостью, после чего засекали время, которое мышь могла продержаться в перевернутом положении, держась верхними и нижними конечностями за прутья сетки. Оценивалось проведенное на сетке время. Между попытками был перерыв в 10–15 мин. Для анализа отбиралось наибольшее значение из трех попыток. Тревожность животных оценивали по реакции грызунов на приближение ладони экспериментатора [26]. Тестирование осуществляли путем постепенного приближения руки к голове животного так, чтобы рука находилась в поле зрения исследуемого животного. Оценку осуществляли в баллах, где: 0 баллов – отсутствие реакции, 1 балл – животное шурит глаза, 2 балла – животное убегает и шурится, 3 балла – вокализация животного, 4–5 баллов – агрессия со стороны животного. Координацию оценивали с помощью теста «Балансирование на балке» [27]. Балку устанавливали над глубокой емкостью, засекали 2 мин на секундомере и наблюдали за животным. По навыкам балансирования выставляли баллы: 0 баллов – устойчивая поза животного, 1 балл – зажимание края балки, 2 балла – обнимание балки и падение одной конечности с балки, 3 балла – обнимание балки и падение двух конечностей с балки или вращение на балке более 30 с, 4 балла – попытка удержаться на балке, но падение после более 20 с, 5 баллов – попытка удержаться на балке, но падение после более 10 с, 6 баллов – падение без попытки удержаться на балке или зависание на балке. Для анализа отбиралось наибольшее значение из трех попыток.

Через 3 недели эксперимента животные ($n = 6$) из каждой группы были декапированы после 8-часового голодания, кровь была собрана с помощью сердечной

пункции, а печень немедленно извлечена на холоде. Для просвечивающей электронной микроскопии образцы печени (2–3 мм³) из верхней левой доли были зафиксированы в 2,5%-ном глutarовом альдегиде. Сыворотка крови была получена в день эксперимента, аликвотирована и мгновенно заморожена в жидком азоте. Образцы сыворотки и тканей хранились при –80 °С до биохимического исследования. Кровь, образцы ткани для электронной микроскопии и биохимических исследований анализировали у одного и того же животного.

Биохимический анализ крови

Концентрация глюкозы была определена с помощью глюкометра Accu-Chek и фирменных тест-полосок. Концентрацию триглицеридов (ТГ) и общего холестерина (ХС), а также активность аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и гамма-глутамилтрансферазы (гамма-ГТ) в сыворотке крови определяли согласно инструкциям производителя с помощью коммерчески доступных наборов (Ольвекс-Диагностикум, РФ) на спектрофотометре Lambda-25 (PerkinElmer, США).

Оценка маркеров окислительного стресса, активности антиоксидантных ферментов и содержание ТГ в печени

Пробоподготовка тканей печени и оценка уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) по изменению содержания малонового диальдегида (МДА), окислительной модификации белков (ОМБ), а также активность антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГП) глутатионредуктазы (ГР) в тканях печени были проведены, как описано ранее [28]. Содержание ТГ в печени оценивали с помощью Triglyceride Quantification Assay Kit (Abscam, США). Все спектрофотометрические исследования были проведены на спектрофотометре Lambda-25 (Perkin Elmer, США).

Оценка уровня маркерных аутофагических белков в гомогенате тканей печени

Для иммуноферментного анализа (ИФА) и количественной оценки содержания маркерных белков аутофагии LC3-II и SQSTM1/p62 использовали коммерчески доступные наборы Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Microtubule Associated Protein 1 Light Chain 3 Beta (MAP1LC3b) (Cloud-Clone Corp., КНР) и Mouse Sqstm1 (Sequestosome-1) ELISA Kit - FineTest ELISA Kit (FineTest, КНР). Гомогенизация тканей была проведена в PBS (рН 7,2) с добавлением ингибиторов протеаз (1 : 10). Для определения липидированной формы MAP1LC3b часть гомогената была подвергнута субклеточному фракционированию, как описано [29], для получения фракции, обогащенной аутофагосомами. Другая часть гомогената была отцентрифугирована в течение 5 мин при 10 000 g, супернатант был использован для анализа содержания SQSTM1/p62. Все процедуры ИФА выполняли согласно инструкциям производителя, промывку иммунологических планшетов осуществляли с помощью автоматического промывателя HydroFlex (Tecan, Австрия), считывание оптической плотности и расчет окончательных результатов анализа проводили при 450 нм с помощью микропланшетного ридера CLARIOstar (BMG Labtech, Германия) и встроенного программного обеспечения.

Электронная микроскопия

Образцы печени фиксировали согласно методике, подробно описанной [28]. Ультратонкие срезы (50–70 нм) получали на ультрамикротоме LKB III (LKB, Швеция), после чего их последовательно окрашивали 2%-ным водным раствором уранилацетата и 0,4%-ным раствором цитрата свинца по стандартной методике. Образцы исследовали с помощью электронного микроскопа Hitachi HT7800 (Hitachi, Япония) при рабочем напряжении 80 кВ. Анализировали клетки, расположенные в перипортальной зоне ацинуса, для которой характерен высокий уровень базальной аутофагии и редокс-метаболизма [30]. Для статистического анализа изменения ЛК рассчитывали отношение суммы их площадей относительно площади одного гепатоцита. Результаты выражали в процентах, за 100% принимали площадь индивидуального гепатоцита. Для каждой экспериментальной группы было проанализировано не менее 30 гепатоцитов на срезах. Исследования проведены с использованием оборудования Распределительного коллективного спектро-аналитического Центра изучения строения, состава и свойств веществ и материалов Казанского научного центра РАН.

Статистический анализ

Статистическая обработка результатов проводилась на основании трех независимых серий экспериментов. Данные электронной микроскопии представлены наиболее характерными изображениями клеток и органелл. Данные биохимического, морфометрического исследований и физического состояния животных представлены как среднее арифметическое \pm стандартное отклонение одного эксперимента для выборок с нормальным распределением данных ($M \pm SD$) и как медиана с интерквартильными интервалами для выборок при ненормальном распределении данных (Me [25–75%]; min–max). Для оценки нормальности распределения данных использовали критерий Шапиро–Уилка, для статистической обработки результатов – однофакторный дисперсионный анализ ANOVA и критерий Манна–Уитни. Данные анализировали в программе OriginPro 2024. Статистически значимые результаты отмечены звездочкой для $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка интегральных физических и физиологических показателей

Перевод животных с диеты *ad libitum* на ИГ (8/16) не приводил к значимым изменениям среднесуточного потребления жидкости и пищи, соответственно, и калорийности рациона (табл. 1). Масса тела животных и масса печени также достоверно не изменялись между двумя экспериментальными группами, при этом содержание ТГ в печени по сравнению с контрольной группой было снижено (табл. 1). При оценке общих интегральных физиологических показателей мы наблюдали небольшое достоверное изменение ряда исследуемых параметров: увеличивалась сила хвата (рис. 1б), снижалась тревожность (рис. 1в) и улучшалась координация движений (рис. 1г). Наблюдали также небольшое увеличение силы тяги (рис. 1а), однако данное изменение было статистически недостоверно.

Таблица 1. Влияние интервального голодания (ИГ) на потребление корма и воды, массу тела животных, массу печени и содержание триглицеридов в тканях печени

Table 1. The effect of intermittent fasting on feed and water consumption, animal weight, liver weight, and liver tissue triglyceride content

Параметры	Экспериментальная группа	
	Контроль	ИГ (8/16)
Потребление корма, г/мышь/сут ¹	5,6 ± 0,9	5,2 ± 0,4
Потребление воды, мл/мышь/сут ¹	5,7 ± 1,1	5,8 ± 0,9
m мыши, г ¹	30,1 ± 0,9	29,6 ± 0,4
m печени, г ²	1,2 ± 0,2	1,1 ± 0,2
ТГ, мг/г ²	5,82 ± 0,26	5,09 ± 0,19*

* – достоверно при $p < 0,05$, ¹ $n = 12$, ² $n = 6$.

* – significant at $p < 0.05$, ¹ $n = 12$, ² $n = 6$.

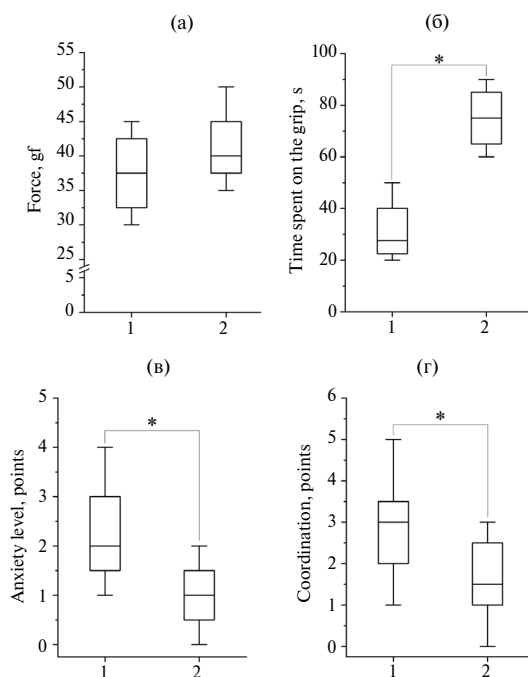


Рис. 1. Влияние интервального голодания на ряд интегральных показателей физического состояния животных: (а) – силу тяги; (б) – силу хвата; (в) – тревожность; (г) – координацию. 1 – контроль, 2 – ИГ (8/16). * – достоверно при $p < 0,05$, $n = 12$

Fig. 1. The effect of intermittent fasting on a number of integrated indices of animal physical condition: pulling force (а); grip strength (б); anxiety (в); and coordination (г): 1 – control; 2 – IP (8/16). * – significant at $p < 0.05$, $n = 12$

Биохимический анализ крови

Активность ферментов, позволяющих оценить нарушения функционального состояния печени, а именно АЛТ, АСТ, ЛДГ, ЩФ и гамма-ТГ (рис. 2а–д) достоверно не изменялась, что свидетельствует об отсутствии развития значительных патологических процессов в печени при изменении режима питания. Наблюдали небольшое снижение содержание в крови глюкозы, однако это снижение было статистически недостоверно (рис. 2е). Изменение режима питания приводило к достоверному снижению в сыворотке крови ТГ (рис. 2ж) и общего холестерина (рис. 2з), что свидетельствует о положительном влиянии ИГ (8/16) на липидный метаболизм мышцы.

Редокс-состояние тканей печени

При изменении режима питания редокс-метаболизм печени изменялся незначительно: снижался только уровень спонтанной ОМБ (табл. 2). Уровень

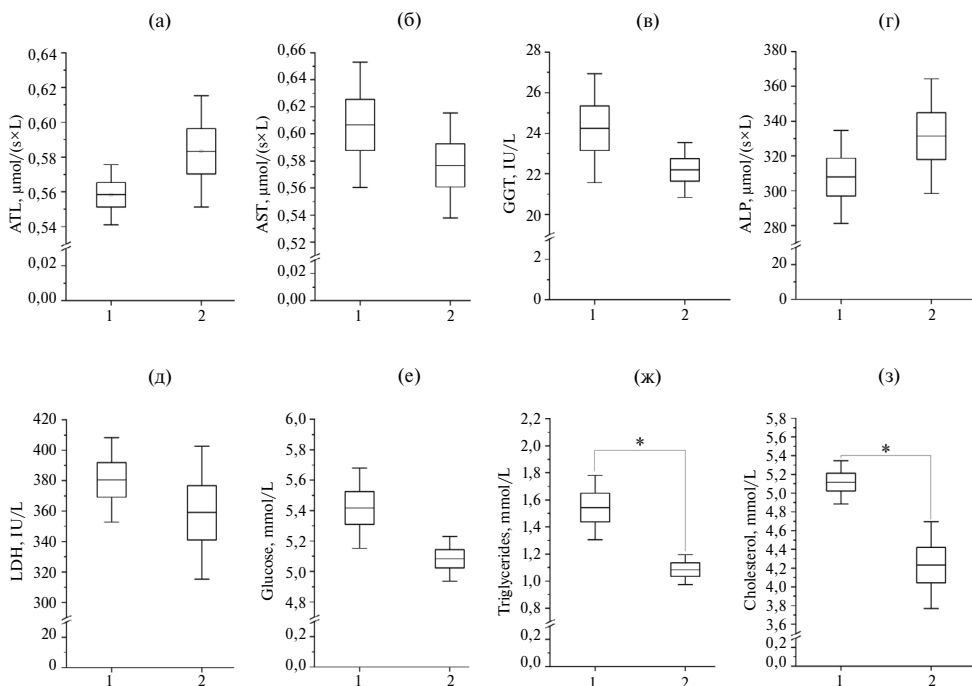


Рис. 2. Биохимические показатели изменения активности печеночных ферментов: (а) – аланинаминотрансферазы (АЛТ), (б) – аспаратаминотрансферазы (АСТ), (в) – гамма-глутамил-трансферазы (гамма-ТГ), (г) – щелочной фосфатазы (ЩФ), (д) – лактатдегидрогеназы (ЛДГ), (е) – концентрации глюкозы, (ж) – триглицеридов, (з) – общего холестерина в сыворотке крови при изменении режима питания. 1 – контроль, 2 – ИГ (8/16). * – достоверно при $p < 0,05$, $n = 12$

Fig. 2. Biochemical indicators of changes in hepatic enzyme activity: (a) – alanine aminotransferase (ALT), (б) – aspartate aminotransferase (AST), (в) – gamma-glutamyl transferase (gamma-GT), (г) – alkaline phosphatase (ALP), (д) – lactate dehydrogenase (LDH), (е) – glucose concentration, (ж) – triglycerides, (з) – total cholesterol in blood serum under change feeding conditions. 1 – control, 2 – IF (8/16). * – significant at $p < 0.05$, $n = 12$

индуцируемой ОМБ, ПОЛ и активность исследованных антиоксидантных ферментов (СОД, КАТ, ГП, ГР) значимо не изменялись. Эти данные, несомненно, свидетельствуют об отсутствии развития окислительного стресса при ИГ (8/16) и стабильном редокс-метаболизме в печени животных, как в контрольной, так и в опытной группах.

Таблица 2. Влияние режима питания на уровень спонтанной и индуцированной окислительной модификации белков (ОМБ), содержание малонового диальдегида (МДА), активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионредуктазы (ГР)

Table 2. Effect of diet on the level of spontaneous and induced oxidative modification of proteins (OMP), malondialdehyde (MDA) content, activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione reductase (GR)

Параметры	Экспериментальная группа	
	Контроль	ИГ (8/16)
ОМБ спонтанная, нг/мг белка	0,98 ± 0,04	0,78 ± 0,06*
ОМБ индуцированная, нг/мг белка	2,16 ± 0,14	2,29 ± 0,17
Содержание МДА, мкг/г ткани	2,4 ± 0,5	2,1 ± 0,7
Активность СОД, усл.ед./мин/мг белка	17,3 ± 1,2	19,4 ± 1,6
Активность КАТ, усл.ед./мин/мг белка	16,5 ± 1,7	13,7 ± 2,0
Активность ГП, усл.ед./мин/мг белка	22,3 ± 0,04	27,1 ± 0,04
Активность ГР, усл.ед./мин/мг белка	12,3 ± 0,04	14,6 ± 0,04

* – достоверно при $p < 0,05$, $n = 6$.

* – significant at $p < 0,05$, $n = 6$.

Оценка уровня маркерных аутофагических белков в гомогенате ткани печени

При изменении режима питания достоверно изменялось содержание маркерных аутофагических белков (табл. 3): наблюдали значительно снижение p62 (практически в 1,5 раза, по сравнению с контрольным вариантом) и небольшое достоверное увеличение в содержании липидированной формы LC3.

Таблица 3. Содержания белков LC3-II и p62 в ткани печени при изменении режима питания
Table 3. Contents of LC3-II and p62 proteins in liver tissues with changes in diet

Параметры	Экспериментальная группа	
	Контроль	ИГ (8/16)
Содержание MAP1LC3b, нг/мл	1,37 ± 0,17	1,71 ± 0,19*
Содержание SQSTM1/p62, нг/мл	54,9 ± 1,6	35,8 ± 1,3*

* – достоверно при $p < 0,05$, $n = 6$.

* – significant at $p < 0,05$, $n = 6$.

Анализ ультраструктуры органелл

Гепатоциты печени двух экспериментальных групп содержали небольшое количество ЛК (рис. 3, 4). Клетки контрольного варианта характеризовались наличием ЛК, расположенных в цитоплазме (рис. 3а, б). При ИГ (8/16) наблюдали также более мелкие ЛК, расположенные по периферии клетки. Часто рядом с такими зонами наблюдали скопление лизосом, аутофагосом и аутофаголизосом (рис. 4а, в), что может свидетельствовать об активной метаболизации ЛК в процессах аутофагии. Площадь, занимаемая ЛК, снижалась при ИГ (8/16) по сравнению с вариантом питания *ad libitum* ($3,97 \pm 0,36\%$) и составляла всего $2,32 \pm 0,46\%$ от площади клетки. Количество зон аутофагической активности достоверно между вариантами не различалось. Клетки контрольного варианта содержали большое количество гликогена (рис. 3б), который располагался в цитоплазме клеток в виде обширных неоднородных зон. В связи с этим канальца шероховатого эндоплазматического ретикулума (ЭР) в контрольном варианте были расположены неравномерно по объему цитоплазмы, а локализованы дискретно в виде стопок между зонами богатыми гликогеном. При этом расширения просвета канальцев и других морфологических изменений в ультраструктуре ЭР не наблюдали (рис. 3б). Клетки животных, находящихся на диете *ad libitum*, содержали две гетерогенные популяции митохондрий. Первая (примерно 1/3 от всех митохондрий) была представлена органеллами округлой формы со средней плотностью матрикса и многочисленными слабовыраженными кристами, вторая (примерно 2/3) – включала в себя органеллы увеличенного объема, с зоной просветленного матрикса и частичной редукцией крист (рис. 3б, в). Описанные структурные перестройки свидетельствуют о функциональных изменениях данных органелл. При этом гибели клеток или разрушения структуры органелл не наблюдали. Наиболее характерными изменениями при применении ИГ (8/16) были отсутствие обширных зон отложения гликогена, нормализация ультраструктуры митохондрий и ЭР (рис. 4). В отличие от клеток варианта *ad libitum* митохондрии имели удлиненную форму, среднюю плотность матрикса, многочисленные слабовыраженные кристы и были окружены разветвленной сетью канальцев шероховатого ЭР (рис. 4б, в). Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о позитивном действии ИГ (8/16) на ультраструктуру гепатоцитов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Дисфункция, или нарушение, регуляции аутофагии играет важную роль в патогенезе различных заболеваний печени инфекционной и неинфекционной природы [1]. Различные исследования при изучении ИГ как немедикаментозного диетического вмешательства показали его эффективность на активацию аутофагии [16], снижение патогенетических процессов не только в печени, но и в других органах и тканях [31], повышение общей стрессоустойчивости организма [32]. В ходе нашего исследования было установлено, что ИГ (8/16), которое, в отличие от более длительных протоколов (10/14, 12/12, 16/8, 24/24), является для организма мышей более физиологическим, приводит к активации аутофагических процессов в печени, что подтверждается достоверными изменениями маркерных аутофагических белков (табл. 3). Считается, что для печени характерен высокий конститутивный уровень аутофагии, который зависит от приема пищи [33].

Ткани печени после приема пищи характеризуются снижением аутофагического потока [34], и, напротив, ограничение в приеме пищи (по времени или

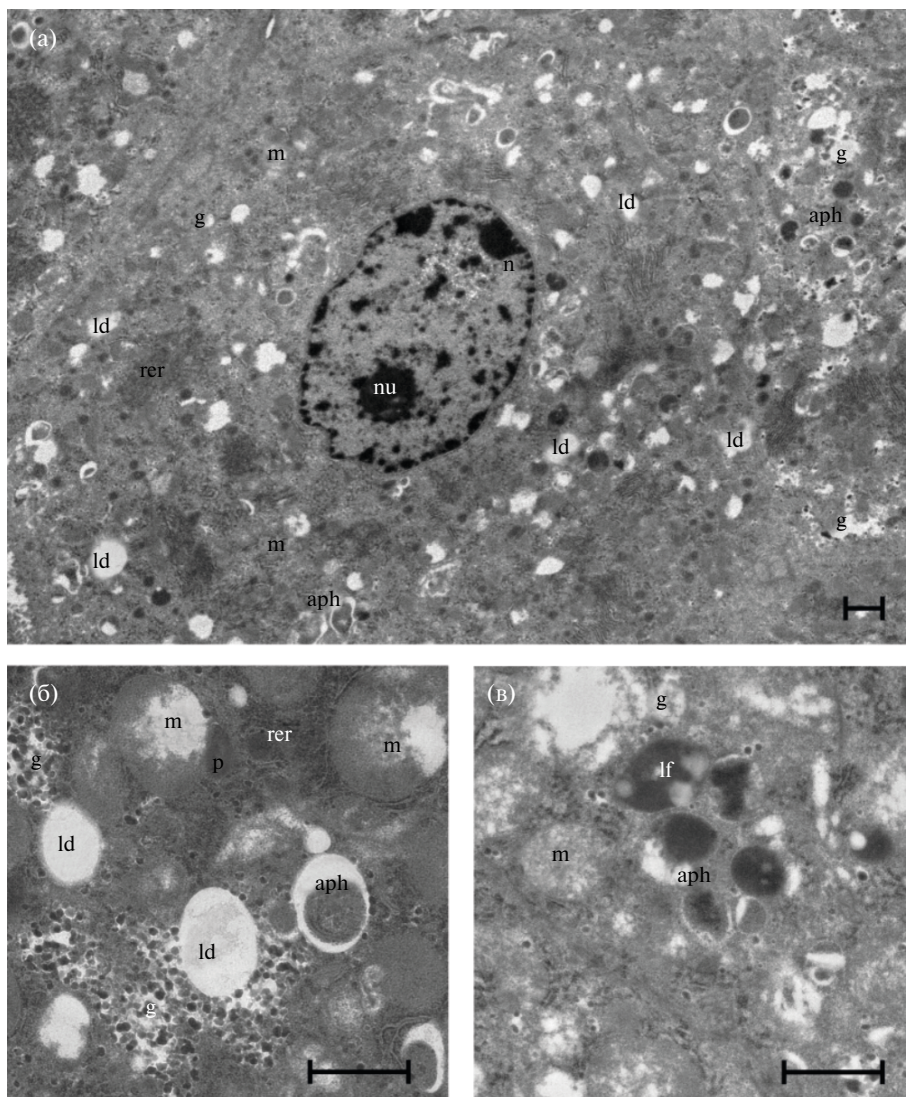


Рис. 3. Ультраструктурные особенности клеток печени в группе животных, получавших питание *ad libitum*. (а) – общий вид гепатоцитов; (б), (в) – характерные изменения оргanelл: (б) – обширные области гранул гликогена окружают липидные капли, митохондрии с просветленным матриксом и зоной свободной от крист; (в) – липофусцинподобные тельца и область аутофагических вакуолей на разных этапах формирования. aph – аутофагосома; g – гликоген; ld – липидная капля; lf – липофусцинподобные тельца; m – митохондрия; n – ядро; nu – ядрышко; p – пероксисома; rer – шероховатый эндоплазматический ретикулум. Масштабный отрезок 1 мкм

Fig. 3. Ultrastructural features of liver cells in the group of animals fed *ad libitum*. (a) – general view of hepatocytes; (б), (в) – characteristic changes in organelles: (б) – extensive fields of glycogen granules surround lipid droplets, mitochondria with an electron-lucent matrix and a zone free of cristae; (в) – lipofuscin-like bodies and an area of autophagic vacuoles at different stages of formation. aph – autophagosome; g – glycogen; ld – lipid droplet; lf – lipofuscin-like bodies; m – mitochondrion; n – nucleus; nu – nucleolus; p – peroxisome; rer – rough endoplasmic reticulum. Scale bar: 1 μ m

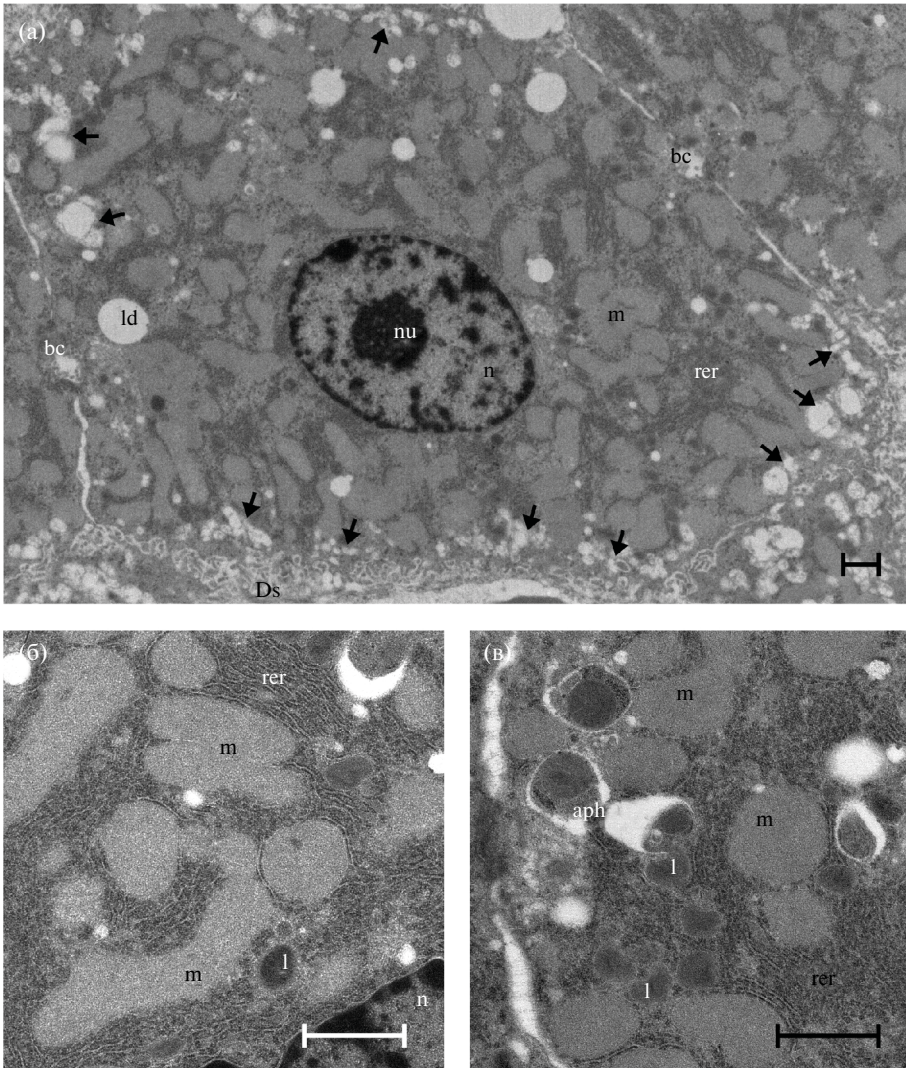


Рис. 4. Ультраструктурные особенности клеток печени животных в условиях интервального голодания (8/16). (а) – общий вид гепатоцитов, стрелками указано расположение липидов по периферии клетки; (б), (в) – характерные изменения органелл: (б) – ортодоксальные митохондрии с однородным матриксом и многочисленными слабовыраженными кристами окружены густой сетью шероховатого эндоплазматического ретикулума; (в) – область, содержащая лизосомы и аутофагические вакуоли на разных этапах формирования; bc – желчный капилляр; Ds – пространство Диссе; l – лизосома; остальные обозначения те же, что на рис. 3. Масштабный отрезок 1 мкм

Fig. 4. Ultrastructural features of liver cells in animals under intermittent fasting (8/16). (a) – general view of hepatocytes, arrows indicate peripheral localization of lipid droplets; (б), (в) – characteristic changes in organelles: (б) – orthodox mitochondria with a homogeneous matrix and numerous poorly developed cristae are surrounded by a dense network of rough endoplasmic reticulum; (в) – an area containing lysosomes and autophagic vacuoles at different stages of formation. bc – bile capillary; Ds – space of Disse; l – lysosome; other designations are the same as in Fig. 3. Scale bar: 1 μm

калорийности) значительно активизирует аутофагический поток [35], что необходимо для нормального функционирования органа и своевременного удаления отслуживших и/или поврежденных маркромолекул и структур. Остается открытым вопрос, оказывает ли исследуемый режим питания влияние на аутофагические процессы в других органах и тканях, подобно тому, как это происходит при ИГ (16/8) [36]. Нами выявлен ряд позитивных изменений в физиологическом состоянии животных. Считается, что при кратковременном ИГ увеличение мышечной силы и улучшение физической выносливости обусловлены активацией анаболических процессов в мышцах, ведущих к увеличению мышечной массы, а также метаболической пластичностью, приводящей к повышению эффективности энергетического обеспечения мышц при нагрузках [37], и активацией аутофагии путем повышенной экспрессии LC3B, сниженным уровнем p62 и сниженным соотношением p-mTOR/mTOR, что сопровождается повышенной экспрессией миогенных (MYH, MyoD) и адипогенных (LPL, PPAR γ) маркеров дифференцировки [38]. Нейропротекторные и нейропластичные эффекты, улучшение когнитивных функций и координации при ИГ могут быть связаны с положительными изменениями в нервной системе, в частности за счет измененной сигнализации mTORC и активации аутофагии [39], а также за счет увеличения уровня нейтрофического фактора головного мозга BDNF, способствующего росту новых нейронов и синапсов, что укрепляет нейрональные сети, отвечающие за когнитивные функции и эмоциональную лабильность [40]. Мы полагаем, что при ИГ (8/16) улучшение интегральных физиологических характеристик у лабораторных животных может быть обусловлено в первую очередь нормализацией циркадных ритмов за счет синхронизации циклов голодание—кормление и сон—бодрствование у группы животных, вынужденных в условиях вивария жить в одной клетке. Это приводило к вынужденному «тихому часу» практически всей экспериментальной группы в светлое время суток, в отличие от контрольной группы, где у части животных в это время сохранялось и потребление пищи, и двигательная активность. К сожалению, нам не удалось сравнить нашу экспериментальную модель с более длительными периодами ограничения в пище (12–14 ч в сутки). Совместное содержание нескольких животных в одной клетке ($n = 6–12$) привело к ряду негативных поведенческих и физиологических эффектов, что послужило основанием для досрочного прекращения исследования более длительных периодов ИГ. Уже после первой недели эксперимента наблюдалось статистически заметное снижение периодов дневного сна у животных, сопряженное с повышением внутригрупповой агрессии. Последнее проявлялось в учащении драк между самцами, что приводило к обширным травмам кожных покровов. Параллельно был зафиксирован рост уровня глюкозы в крови натошак до 7,8–9,2 ммоль/л, что может быть объяснено сочетанием влияния хронического социального стресса и длительных периодов ограничения питания (12–14 ч), а также рядом других причин [41]. Полученные данные указывают на то, что протоколы ИГ с продолжительными интервалами голодания являются высокострессовым вмешательством, которое может потенцировать аномальное поведение в условиях группового содержания. Для минимизации артефактов и обеспечения благополучия животных в подобных исследованиях необходимо индивидуальное или парное содержание особей в экспериментальных клетках [42]. Кроме того, выраженность стрессового ответа может зависеть от генетических особенностей линии животных и специфики условий вивария, которые, несмотря на стандартизацию, могут существенно варьировать между лабораториями и влиять на поведенческий фенотип. Таким образом, вопрос об уровне активации аутофагии в печени при ИГ (8/16)

по сравнению с ИГ (12/12) остается открытым. По полученным нами данным, выбранный интервал выглядит весьма перспективным и может способствовать защите при патогенетических процессах, при этом не оказывает негативного влияния на физиологическое и психоэмоциональное состояние животных.

Перевод животных с диеты *ad libitum* на ИГ (8/16) приводил к небольшой активации липидного метаболизма, о чем свидетельствует снижение в сыворотке крови ТГ и общего холестерина (рис. 2ж, з), а также снижение содержания ТГ в тканях печени (табл. 1) и ЛК в гепатоцитах (рис. 4а). При этом масса тела животных и масса печени достоверно не различались между двумя экспериментальными группами, что обусловлено одинаковой калорийностью рациона питания в обеих группах, т. е. среднесуточное потребление корма не изменялось (табл. 1). Интересно, что клетки печени контрольного варианта содержали также липофусцинподобные тельца (рис. 3в), неоднородно окрашенные осмиофильные включения (что предполагает их липидную природу), которые отсутствовали при ИГ (8/16). Липофусцинподобные тельца (гранулы, глобулы) часто располагались рядом с митохондриями с пониженной функциональной активностью и зонами образования аутофагических структур или в аутофагосомах (рис. 3в), т. е. утилизировались с помощью аутофагии, что не позволило нам отнести их к липофусцину, который считают не утилизируемым компонентом клетки. Накопление липофусцина связано с развитием сильного окислительного стресса, обнаруживается при развитии различных патологий, атрофии органов и считается одним из характерных признаков старения тканей. Для печени показан изначально более высокий уровень содержания липофусцина по отношению к другим органам (почкам, сердцу, мозгу) даже у молодых животных (3–4 месяца) [43], а значительный вклад в его образование вносят процессы, связанные с утилизацией митохондрий. Гранулы постмитохондриального липофусцина не разрушаются, и в их состав помимо денатурированных белков входят окисленные липиды и другие вещества [44]. Мы полагаем, что накопление ЛК и липофусцинподобных включений, повышенный уровень ТГ в контрольной группе являются следствием более медленного катаболизма липидов в печени в условиях *ad libitum*. Нарушения в функционировании печени часто возникают не только при несбалансированном высококалорийном питании [45, 46], но и при малоподвижном образе жизни [47, 48], а также могут быть следствием различных стрессовых факторов, обусловленных нарушениями циркадных ритмов и психосоциальных связей при скученном содержании лабораторных животных в условиях вивария [49, 50]. Калорийность рациона животных не различалась по составу основных компонентов, в частности по жирам, поэтому мы полагаем, что липидный метаболизм в условиях *ad libitum* обусловлен снижением их своевременной утилизации, что отражается в образовании липофусцинподобных включений, более крупных ЛК и более высоком уровне ТГ. Активация липидного метаболизма в печени при переводе с диеты *ad libitum* на ИГ (8/16) может быть обусловлена индукцией или усилением аутофагии. Данные по анализу содержания маркерного белка аутофагосом LC3-II выявили небольшое увеличение в его содержании при ИГ (табл. 3) и снижение содержания р62 почти в 2 раза по сравнению с клетками контрольного варианта, что, несомненно, свидетельствует об активации процесса аутофагии в печени при ИГ. При индукции аутофагии LC3-I превращается в LC3-II, вызывает увеличение LC3-II и одновременное снижение р62 [51]. Зоны аутофагической активности достоверно между вариантами не различались и содержали аутофагосомы на разных этапах формирования, что свидетельствует об отсутствии ингибирования аутофагии в обоих исследуемых вариантах (рис. 3в, рис. 4в).

Мы полагаем, что усиленное накопление липидов в условиях *ad libitum* в печени обусловлено не снижением аутофагических процессов, а изменением энергетической и метаболической активности клетки, так как данный экспериментальный вариант характеризуется повышенным содержанием энергетических субстратов (помимо липидов происходило значительное накопление гликогена) и изменением функциональной активности митохондрий (небольшое набухание и просветление матрикса, редукция крист). Подобные изменения отсутствовали при ИГ (8/16). Учитывая сложный энергетический метаболизм печени [52] и его зависимость от состояния сытости – голодания [53, 54], очевидно, что содержание животных в течение 3 недель на ИГ (8/16) оказывает существенное влияние на метаболическое состояние митохондрий, которое в первую очередь связано с изменениями в доступности субстрата. В условиях *ad libitum* клетки имеют высокие запасы глюкозы в виде гликогена, вследствие чего снижается окисление жирных кислот, что и обуславливает разный липидный метаболизм в наших экспериментах. Основываясь на полученных результатах, мы полагаем, что нормализация липидного метаболизма при ИГ может быть обусловлена не только активацией аутофагических процессов, но и изменением функциональной активности митохондрий и усилением окисления жирных кислот.

Интересно, что в наших экспериментах активность ферментов антиоксидантной защиты и уровень ПОЛ достоверно не изменялись, что свидетельствует о сохранении стабильного редокс-метаболизма в тканях печени (табл. 2), несмотря на разную морфологию митохондрий в гепатоцитах (рис. 3б, 4б) и небольшие различия в уровне ОМБ (табл. 1). Известно, что редокс-метаболизм в разных клеточных компартментах и органеллах контролируется различными молекулярными механизмами [55], которые обусловлены динамическими каскадами ферментативных реакций, часто специфичных для органелл (пероксисомальные КАТ, цитоплазматические и митохондриальные СОД и т. д.), в ходе которых на клеточном уровне наблюдается неравномерный уровень генерации/детоксикация АФК в нормальных физиологических условиях. Мы полагаем, что достоверное снижение ОМБ при ИГ (8/16) обусловлено активацией аутофагических процессов, направленных на удаление из метаболизма клетки окисленных и поврежденных макромолекул и структур, а также изменениями функциональной активности митохондрий и снижением в них генерации АФК. В поддержание стабильного редокс-метаболизма при изменении режима питания может быть вовлечен также ЭР, который сохраняет свою структурно-функциональную целостность и значительно не изменяется (рис. 3) даже при накоплении в цитоплазме гликогена при диете *ad libitum*.

Полученные в настоящей работе данные свидетельствуют о том, что изменение режима кормления с диеты *ad libitum* на ИГ (8/16) усиливает аутофагические процессы в печени. Активация аутофагии не сопровождалась цитотоксичным действием, не оказывала негативного влияния на ультраструктуру органелл, физиолого-биохимические параметры печени и физическое состояние животных. Вопрос о том, может ли активация аутофагии при ИГ (8/16) способствовать поддержанию и предотвращению структурно-функциональных изменений в гепатоцитах при моделировании различных патологий печени у лабораторных животных, требует дальнейшего детального изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Qian H., Chao X., Williams J. et al. Autophagy in liver diseases: A review. *Mol. Aspects Med.* 2021. Vol. 82. 100973. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2021.100973>
2. Duregon E., Pomatto-Watson L.C.D.D., Bernier M. et al. Intermittent fasting: from calories to time restriction. *Geroscience.* 2021. Vol. 43. No. 3. Pp. 1083–1092. <https://doi.org/10.1007/s11357-021-00335-z>
3. Varady K.A., Cienfuegos S., Ezpeleta M. et al. Clinical application of intermittent fasting for weight loss: progress and future directions. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2022. Vol. 18. No. 5. Pp. 309–321. <https://doi.org/10.1038/s41574-022-00638-x>
4. Gotthardt J.D., Verpeut J.L., Yeomans B.L. et al. Intermittent fasting promotes fat loss with lean mass retention, increased hypothalamic norepinephrine content, and increased neuropeptide Y gene expression in diet-induced obese male mice. *Endocrinology.* 2016. Vol. 157. Pp. 679–691. <https://doi.org/10.1210/en.2015-1622>
5. Santos H.O. Intermittent fasting in the management of diabetes: a review of glycemic control and safety. *Nutr. Rev.* 2024. Vol. 82. No. 10. Pp. 1437–1443. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuad132>
6. Malinowski B., Zalewska K., Węsierska A. et al. Intermittent fasting in cardiovascular disorders – an overview. *Nutrients.* 2019. Vol. 11. No. 3. 673. <https://doi.org/10.3390/nu11030673>
7. Clifton K.K., Ma C.X., Fontana L. et al. Intermittent fasting in the prevention and treatment of cancer. *CA Cancer J. Clin.* 2021. Vol. 71. No. 6. Pp. 527–546. <https://doi.org/10.3322/caac.21694>
8. Kumar R.S., Jeevitha M., Sundhram R.S. Exploring the neuroprotective effects of intermittent fasting: a comprehensive review on its impact on neurological diseases. *J. Drug Deliv. Ther.* 2024. Vol. 14. No. 3. Pp. 174–178. <https://doi.org/10.22270/jddt.v14i3.6486>
9. Herz D., Karl S., Weiß J. et al. Effects of different types of intermittent fasting interventions on metabolic health in healthy individuals (EDIF): a randomised trial with a controlled run-in phase. *Nutrients.* 2024. Vol. 16. No. 8. 1114. <https://doi.org/10.3390/nu16081114>
10. Mager D.E., Wan R., Brown M. et al. Caloric restriction and intermittent fasting alter spectral measures of heart rate and blood pressure variability in rats. *FASEB J.* 2006. Vol. 20. No. 6. Pp. 631–637. <https://doi.org/10.1096/fj.05-5263com>
11. Di Francesco A., Deighan A.G., Litichevskiy L. et al. Dietary restriction impacts health and lifespan of genetically diverse mice. *Nature.* 2024. Vol. 634. No. 8034. Pp. 684–692. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-08026-3>
12. Ramsey K.M., Bass J. Circadian clocks in fuel harvesting and energy homeostasis. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 2011. Vol. 76. Pp. 63–72. <https://doi.org/10.1101/sqb.2011.76.010546>
13. Ma Y.N., Jiang X., Tang W. et al. Influence of intermittent fasting on autophagy in the liver. *Biosci. Trends.* 2023. Vol. 17. No. 5. Pp. 335–355. <https://doi.org/10.5582/bst.2023.01207>
14. Raza S., Rajak S., Singh R. et al. Cell-type-specific role of autophagy in the liver and its implications in non-alcoholic fatty liver disease. *World J. Hepatol.* 2023. Vol. 15. No. 12. Pp. 1272–1283. <https://doi.org/10.4254/wjh.v15.i12.1272>
15. Chaudhary R., Liu B., Bensalem J. et al. Intermittent fasting activates markers of autophagy in mouse liver, but not muscle from mouse or humans. *Nutrition.* 2022. Vol. 101. 111662. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2022.111662>

16. Kim K.E., Shin H.J., Ju Y. et al. Intermittent fasting attenuates metabolic-dysfunction-associated steatohepatitis by enhancing the hepatic autophagy-lysosome pathway. *Nutrients*. 2023. Vol. 15. No. 21. 4574. <https://doi.org/10.3390/nu15214574>
17. Hosny S.A., Moustafa M.H.A., Mehina F.M. et al. Therapeutic effect of autophagy induced by rapamycin versus intermittent fasting in animal model of fatty liver. *Folia Histochem. Cytobiol.* 2023. Vol. 61. No. 4. Pp. 205–216. <https://doi.org/10.5603/fhc.95905>
18. Ozlu Karahan T., Yilmaz Akyuz E., Yilmaz Karadag D. et al. Effects of intermittent fasting on liver steatosis and fibrosis, serum FGF-21 and autophagy markers in metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: a randomized controlled trial. *Life*. 2025. Vol. 15. No. 5. 696. <https://doi.org/10.3390/life15050696>
19. Demetrius L. Of mice and men. *EMBO Rep.* 2005. Vol. 6. Suppl 1. Pp. S39–S44. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400422>
20. Carper D., Coué M., Laurens C. et al. Reappraisal of the optimal fasting time for insulin tolerance tests in mice. *Mol. Metab.* 2020. Vol. 42. 101058. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.101058>
21. Fuller K.N.Z., Thyfault J.P. Barriers in translating preclinical rodent exercise metabolism findings to human health. *J. Appl. Physiol.* 2021. Vol. 130. No. 1. Pp. 182–192. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00683.2020>
22. Longo V.D., Di Tano M., Mattson M.P. et al. Intermittent and periodic fasting, longevity and disease. *Nat. Aging.* 2021. Vol. 1. No. 1. Pp. 47–59. <https://doi.org/10.1038/s43587-020-00013-3>
23. Fu J., Liu S., Li M. et al. Optimal fasting duration for mice as assessed by metabolic status. *Sci. Rep.* 2024. Vol. 14. No. 1. 21509. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-72695-3>
24. Дмитриева С.А., Краснова А.Н., Вологин Д.С. и др. Особенности редокс-метаболизма и ультраструктуры печени мыши при изменении режима кормления. В сб: А.В. Бережнов, В.П. Зинченко (ред.) *Рецепторы и внутриклеточная сигнализация*: сб. статей Международн. конф. Серпухов, 2023. Т. 2. С. 469–474.
25. Del Grosso A., Parlanti G., Angella L. et al. Chronic lithium administration in a mouse model for Krabbe disease. *JIMD Rep.* 2021. Vol. 63. No. 1. Pp. 50–65. <https://doi.org/10.1002/jmd2.12258>
26. Родина В.И., Крупина Н.А., Крыжановский Г.Н. Многопараметрический метод комплексной оценки тревожно-фобических состояний у крыс. *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. 1993. Т. 43. № 5. С. 106–107.
27. Ito S., Kakuta Y., Yoshida K. et al. A simple scoring of beam walking performance after spinal cord injury in mice. *PloS One*. 2022. Vol. 17. No. 8. e0272233. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0272233>
28. Дмитриева С.А., Пономарева А.А. Редокс-состояние и накопление аутофагосом в печени мыши при действии хлорида лития. *Цитология*. 2025. Т. 67. № 1. С. 30–41. <https://doi.org/10.31857/S0041377125010031>
29. Oh S.H., Choi Y.B., Kim J.H. et al. Quantification of autophagy flux using LC3 ELISA. *Anal. Biochem.* 2017. Vol. 530. Pp. 57–67. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.05.003>
30. Ferri D., Moro L., Mastrodonato M. et al. Ultrastructural zonal heterogeneity of hepatocytes and mitochondria within the hepatic acinus during liver regeneration after partial hepatectomy. *Biol. Cell*. 2005. Vol. 97. No. 4. Pp. 277–288. <https://doi.org/10.1042/BC20040154>

31. Wolska W., Gutowska I., Wszolek A. et al. The role of intermittent fasting in the activation of autophagy processes in the context of cancer diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2025. Vol. 26. No. 10. 4742. <https://doi.org/10.3390/ijms26104742>
32. Mishra A., Sobha D., Patel D. et al. Intermittent fasting in health and disease. *Arch. Physiol. Biochem.* 2024. Vol. 130. No. 6. Pp. 755–767. <https://doi.org/10.1080/13813455.2023.2268301>
33. Morishita H., Komatsu M. Role of autophagy in liver diseases. *Curr. Opin. Physiol.* 2022. Vol. 30. 100594. <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2022.100594>
34. Lahiri V., Hawkins W.D., Klionsky D.J. Watch what you (self-)eat: autophagic mechanisms that modulate metabolism. *Cell Metab.* 2019. Vol. 29. No. 4. Pp. 803–826. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.03.003>
35. Wang Y., Xu Y. Impact of different durations of fasting on intestinal autophagy and serum metabolome in broiler chicken. *Animals.* 2021. Vol. 11. No. 8. 2183. <https://doi.org/10.3390/ani11082183>
36. Bagherniya M., Butler A.E., Barreto G.E. et al. The effect of fasting or calorie restriction on autophagy induction: a review of the literature. *Ageing Res. Rev.* 2018. Vol. 47. Pp. 183–197. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2018.08.004>
37. Williamson E., Moore D.R. A muscle-centric perspective on intermittent fasting: a suboptimal dietary strategy for supporting muscle protein remodeling and muscle mass? *Front. Nutr.* 2021. Vol. 8. 640621. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.640621>
38. Xinyan C., Yajie W., Shangfan H. et al. mTOR-autophagy axis regulation by intermittent fasting promotes skeletal muscle growth and differentiation. *Nutr. Metab.* 2025. Vol. 22. No. 1. 109. <https://doi.org/10.1186/s12986-025-01001-3>
39. Babygirija R., Han J.H., Sonsalla M.M. et al. Fasting is required for many of the benefits of calorie restriction in the 3xTg mouse model of Alzheimer's disease. *Nat. Commun.* 2025. Vol. 16. No. 1. 7147. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-62416-3>
40. Seidler K., Barrow M. Intermittent fasting and cognitive performance – Targeting BDNF as potential strategy to optimise brain health. *Front. Neuroendocrinol.* 2022. Vol. 65. 100971. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2021.100971>
41. Jensen T.L., Kiersgaard M.K., Sørensen D.B. et al. Fasting of mice: a review. *Lab. Anim.* 2013. Vol. 47. No. 4. Pp. 225–240. <https://doi.org/10.1177/0023677213501659>
42. Sun J., DeBosch B.J. Protocol to evaluate fasting metabolism and its relationship to the core circadian clock in mice. *STAR Protoc.* 2025. Vol. 6. No. 1. 103660. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2025.103660>
43. Chaplygina A.V., Vekshin N.L. Mitochondrial lipofuscin and thermomitochondrial lipofuscin in homogenates of rat organs. *Biophysics.* 2019. Vol. 64. No. 1. Pp. 83–88. <https://doi.org/10.1134/S0006350919010044>
44. Warburton S., Southwick K., Hardman R.M. et al. Examining the proteins of functional retinal lipofuscin using proteomic analysis as a guide for understanding its origin. *Mol. Vis.* 2005. Vol. 11. Pp. 1122–1134.
45. Bawden S., Stephenson M., Falcone Y. et al. Increased liver fat and glycogen stores after consumption of high versus low glycaemic index food: A randomized crossover study. *Diabetes Obes. Metab.* 2017. Vol. 19. No. 1. Pp. 70–77. <https://doi.org/10.1111/dom.12784>
46. Fu Y., Hu P., Hu Y. et al. Hepatocyte-specific RAP1B deficiency ameliorates high-fat diet-induced obesity and liver inflammation in mice. *Diabetes Obes. Metab.* 2025. Vol. 27. No. 6. Pp. 3036–3049. <https://doi.org/10.1111/dom.16309>

47. von Loeffelholz C., Roth J., Coldewey S.M. et al. The role of physical activity in nonalcoholic and metabolic dysfunction-associated fatty liver disease. *Biomedicines*. 2021. Vol. 9. No. 12. 1853. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9121853>
48. Horiuchi T., Kaneko K., Hosaka S. et al. Redox-dependent liver gluconeogenesis impacts different intensity exercise in mice. *Nat. Metab.* 2025. Vol. 7. No. 10. Pp. 1991–2003. <https://doi.org/10.1038/s42255-025-01373-z>
49. Лосева Е.В. Психосоциальный стресс перенаселенности (скученности): негативные последствия для организма человека и грызунов. *Интегративная физиология*. 2021. Т. 2. № 1. С. 33–40. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-1-33-40>
50. Miller D.M., McCauley K.F., Dunham-Snary K.J. Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease (MASLD): mechanisms, clinical implications and therapeutic advances. *Endocrinol. Diabetes Metab.* 2025. Vol. 8. No. 6. e70132. <https://doi.org/10.1002/edm2.70132>
51. Yoshii S.R., Mizushima N. Monitoring and measuring autophagy. *Int. J. Mol. Sci.* 2017. Vol. 18. No. 9. 1865. <https://doi.org/10.3390/ijms18091865>
52. Rui L. Energy metabolism in the liver. *Compr. Physiol.* 2014. Vol. 4. No. 1. Pp. 177–197. <https://doi.org/10.1002/cphy.c130024>
53. Bideyan L., Nagari R., Tontonoz P. Hepatic transcriptional responses to fasting and feeding. *Genes Dev.* 2021. Vol. 35. No. 9–10. Pp. 635–657. <https://doi.org/10.1101/gad.348340.121>
54. Semenovich D.S., Zorova L.D., Abramicheva P.A. et al. Impact of intermittent fasting and dietary restriction on redox state, energetic metabolism, and liver injury in common bile duct ligation model. *Antioxidants*. 2024. Vol. 13. No. 7. 835. <https://doi.org/10.3390/antiox13070835>
55. Go Y.M., Jones D.P. Redox compartmentalization in eukaryotic cells. *Biochim. Biophys. Acta*. 2008. Vol. 1780. No. 11. Pp. 1273–1290. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2008.01.011>

REFERENCES

1. Qian H., Chao X., Williams J. et al. Autophagy in liver diseases: a review. *Mol. Aspects Med.* 2021;**82**:100973. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2021.100973>
2. Duregon E., Pomatto-Watson L.C.D.D., Bernier M. et al. Intermittent fasting: from calories to time restriction. *Geroscience*. 2021;**43**(3):1083–1092. <https://doi.org/10.1007/s11357-021-00335-z>
3. Varady K.A., Cienfuegos S., Ezpeleta M. et al. Clinical application of intermittent fasting for weight loss: progress and future directions. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2022;**18**(5):309–321. <https://doi.org/10.1038/s41574-022-00638-x>
4. Gotthardt J.D., Verpeut J.L., Yeomans B.L. et al. Intermittent fasting promotes fat loss with lean mass retention, increased hypothalamic norepinephrine content, and increased neuropeptide Y gene expression in diet-induced obese male mice. *Endocrinology*. 2016;**157**:679–691. <https://doi.org/10.1210/en.2015-1622>
5. Santos H.O. Intermittent fasting in the management of diabetes: a review of glycaemic control and safety. *Nutr. Rev.* 2024;**82**(10):1437–1443. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuad132>

6. Malinowski B., Zalewska K., Weśierska A. et al. Intermittent fasting in cardiovascular disorders – an overview. *Nutrients*. 2019;**11**(3):673. <https://doi.org/10.3390/nu11030673>
7. Clifton K.K., Ma C.X., Fontana L. et al. Intermittent fasting in the prevention and treatment of cancer. *CA Cancer J. Clin.* 2021;**71**(6):527–546. <https://doi.org/10.3322/caac.21694>
8. Kumar R.S., Jeevitha M., Sundhram R.S. Exploring the neuroprotective effects of intermittent fasting: a comprehensive review on its impact on neurological diseases. *J. Drug Deliv. Ther.* 2024;**14**(3):174–178. <https://doi.org/10.22270/jddt.v14i3.6486>
9. Herz D., Karl S., Weiß J. et al. Effects of different types of intermittent fasting interventions on metabolic health in healthy individuals (EDIF): a randomised trial with a controlled run-in phase. *Nutrients*. 2024;**16**(8):1114. <https://doi.org/10.3390/nu16081114>
10. Mager D.E., Wan R., Brown M. et al. Caloric restriction and intermittent fasting alter spectral measures of heart rate and blood pressure variability in rats. *FASEB J.* 2006;**20**(6):631–637. <https://doi.org/10.1096/fj.05-5263com>
11. Di Francesco A., Deighan A.G., Litichevskiy L. et al. Dietary restriction impacts health and lifespan of genetically diverse mice. *Nature*. 2024;**634**(8034):684–692. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-08026-3>
12. Ramsey K.M., Bass J. Circadian clocks in fuel harvesting and energy homeostasis. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 2011;**76**:63–72. <https://doi.org/10.1101/sqb.2011.76.010546>
13. Ma Y.N., Jiang X., Tang W. et al. Influence of intermittent fasting on autophagy in the liver. *Biosci. Trends*. 2023;**17**(5):335–355. <https://doi.org/10.5582/bst.2023.01207>
14. Raza S., Rajak S., Singh R. et al. Cell-type-specific role of autophagy in the liver and its implications in non-alcoholic fatty liver disease. *World J. Hepatol.* 2023;**15**(12):1272–1283. <https://doi.org/10.4254/wjh.v15.i12.1272>
15. Chaudhary R., Liu B., Bensalem J. et al. Intermittent fasting activates markers of autophagy in mouse liver, but not muscle from mouse or humans. *Nutrition*. 2022;**101**:111662. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2022.111662>
16. Kim K.E., Shin H.J., Ju Y. et al. Intermittent fasting attenuates metabolic-dysfunction-associated steatohepatitis by enhancing the hepatic autophagy-lysosome pathway. *Nutrients*. 2023;**15**(21):4574. <https://doi.org/10.3390/nu15214574>
17. Hosny S.A., Moustafa M.H.A., Mehina F.M. et al. Therapeutic effect of autophagy induced by rapamycin versus intermittent fasting in animal model of fatty liver. *Folia Histochem. Cytobiol.* 2023;**61**(4):205–216. <https://doi.org/10.5603/fhc.95905>
18. Ozlu Karahan T., Yilmaz Akyuz E., Yilmaz Karadag D. et al. Effects of intermittent fasting on liver steatosis and fibrosis, serum FGF-21 and autophagy markers in metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: a randomized controlled trial. *Life*. 2025;**15**(5):696. <https://doi.org/10.3390/life15050696>
19. Demetrius L. Of mice and men. *EMBO Rep.* 2005;**6**(1):S39–S44. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400422>
20. Carper D., Coué M., Laurens C. et al. Reappraisal of the optimal fasting time for insulin tolerance tests in mice. *Mol. Metab.* 2020;**42**:101058. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.101058>
21. Fuller K.N.Z., Thyfault J.P. Barriers in translating preclinical rodent exercise metabolism findings to human health. *J. Appl. Physiol.* 2021;**130**(1):182–192. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00683.2020>

22. Longo V.D., Di Tano M., Mattson M.P. et al. Intermittent and periodic fasting, longevity and disease. *Nat. Aging*. 2021;**1**(1):47–59.
<https://doi.org/10.1038/s43587-020-00013-3>
23. Fu J., Liu S., Li M. et al. Optimal fasting duration for mice as assessed by metabolic status. *Sci. Rep.* 2024;**14**(1):21509. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-72695-3>
24. Dmitriyeva S.A., Krasnova A.N., Vologin D.S. et al. Osobennosti redoks-metabolizma i ul'trastruktury pecheni myshi pri izmenenii rezhima kormleniya [Features of the redox metabolism and ultrastructure of mouse liver under changes in feeding regimen]. In: A.V. Berezhnov, V.P. Zinchenko (eds.) *Retseptory i vnutrikletochnaya signalizatsiya: sb. statey Mezhdunarodn. konf. [Receptors and Intracellular Signaling: Proc. Int. Conf.]*. Serpukhov; 2023, vol. 2, pp. 469–474. (In Russ.)
25. Del Grosso A., Parlanti G., Angella L. et al. Chronic lithium administration in a mouse model for Krabbe disease. *JIMD Rep.* 2021;**63**(1):50–65.
<https://doi.org/10.1002/jmd2.12258>
26. Rodina V.I., Krupina N.A., Kryzhanovsky G.N. Mnogoparametricheskii metod kompleksnoy otsenki trevozhno-fobicheskikh sostoyaniy u krys [Multiparametric method for complex assessment of anxiety-phobic states in rats]. *Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. I.P. Pavlova*. 1993;**43**(5):106–107. (In Russ.)
27. Ito S., Kakuta Y., Yoshida K. et al. A simple scoring of beam walking performance after spinal cord injury in mice. *PloS One*. 2022;**17**(8):e0272233.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0272233>
28. Dmitrieva S.A., Ponomareva A.A. Redoks-sostoyaniye i nakopleniye autofagosom v pecheni myshi pri deystvii khlorida litiya. [Redox state and accumulation of autophagosomes in mouse liver under the influence of lithium chloride]. *Tsitologiya = Cell and Tissue Biology*. 2025;**67**(1):30–41. (In Russ.)
<https://doi.org/10.31857/S0041377125010031>
29. Oh S.H., Choi Y.B., Kim J.H. et al. Quantification of autophagy flux using LC3 ELISA. *Anal. Biochem.* 2017;**530**:57–67. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.05.003>
30. Ferri D., Moro L., Mastrodonato M. et al. Ultrastructural zonal heterogeneity of hepatocytes and mitochondria within the hepatic acinus during liver regeneration after partial hepatectomy. *Biol. Cell*. 2005;**97**(4):277–288.
<https://doi.org/10.1042/BC20040154>
31. Wolska W., Gutowska I., Wszolek A. et al. The role of intermittent fasting in the activation of autophagy processes in the context of cancer diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2025;**26**(10):4742. <https://doi.org/10.3390/ijms26104742>
32. Mishra A., Sobha D., Patel D. et al. Intermittent fasting in health and disease. *Arch. Physiol. Biochem.* 2024;**130**(6):755–767.
<https://doi.org/10.1080/13813455.2023.2268301>
33. Morishita H., Komatsu M. Role of autophagy in liver diseases. *Curr. Opin. Physiol.* 2022;**30**:100594. <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2022.100594>
34. Lahiri V., Hawkins W.D., Klionsky D.J. Watch what you (self-)eat: autophagic mechanisms that modulate metabolism. *Cell Metab.* 2019;**29**(4):803–826.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.03.003>

35. Wang Y., Xu Y. Impact of different durations of fasting on intestinal autophagy and serum metabolome in broiler chicken. *Animals*. 2021;**11**(8):2183. <https://doi.org/10.3390/ani11082183>
36. Bagherniya M., Butler A.E., Barreto G.E. et al. The effect of fasting or calorie restriction on autophagy induction: a review of the literature. *Ageing Res. Rev.* 2018;**47**:183–197. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2018.08.004>
37. Williamson E., Moore D.R. A muscle-centric perspective on intermittent fasting: a suboptimal dietary strategy for supporting muscle protein remodeling and muscle mass? *Front. Nutr.* 2021;**8**:640621. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.640621>
38. Xinyan C., Yajie W., Shangfan H. et al. mTOR-autophagy axis regulation by intermittent fasting promotes skeletal muscle growth and differentiation. *Nutr. Metab.* 2025;**22**(1):109. <https://doi.org/10.1186/s12986-025-01001-3>
39. Babygirija R., Han J.H., Sonsalla M.M. et al. Fasting is required for many of the benefits of calorie restriction in the 3xTg mouse model of Alzheimer's disease. *Nat. Commun.* 2025;**16**(1):7147. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-62416-3>
40. Seidler K., Barrow M. Intermittent fasting and cognitive performance – Targeting BDNF as potential strategy to optimise brain health. *Front. Neuroendocrinol.* 2022;**65**:100971. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2021.100971>
41. Jensen T.L., Kiersgaard M.K., Sørensen D.B. et al. Fasting of mice: a review. *Lab. Anim.* 2013;**47**(4):225–240. <https://doi.org/10.1177/0023677213501659>
42. Sun J., DeBosch B.J. Protocol to evaluate fasting metabolism and its relationship to the core circadian clock in mice. *STAR Protoc.* 2025;**6**(1):103660. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2025.103660>
43. Chaplygina A.V., Vekshin N.L. Mitochondrial lipofuscin and thermomitochondrial lipofuscin in homogenates of rat organs. *Biophysics.* 2019;**64**(1):83–88. <https://doi.org/10.1134/S0006350919010044>
44. Warburton S., Southwick K., Hardman R.M. et al. Examining the proteins of functional retinal lipofuscin using proteomic analysis as a guide for understanding its origin. *Mol. Vis.* 2005;**11**:1122–1134.
45. Bawden S., Stephenson M., Falcone Y. et al. Increased liver fat and glycogen stores after consumption of high versus low glycaemic index food: a randomized crossover study. *Diabetes Obes. Metab.* 2017;**19**(1):70–77. <https://doi.org/10.1111/dom.12784>
46. Fu Y., Hu P., Hu Y. et al. Hepatocyte-specific RAP1B deficiency ameliorates high-fat diet-induced obesity and liver inflammation in mice. *Diabetes Obes. Metab.* 2025;**27**(6):3036–3049. <https://doi.org/10.1111/dom.16309>
47. von Loeffelholz C., Roth J., Coldewey S.M. et al. The role of physical activity in nonalcoholic and metabolic dysfunction-associated fatty liver disease. *Biomedicines.* 2021;**9**(12):1853. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9121853>
48. Horiuchi T., Kaneko K., Hosaka S. et al. Redox-dependent liver gluconeogenesis impacts different intensity exercise in mice. *Nat. Metab.* 2025;**7**(10):1991–2003. <https://doi.org/10.1038/s42255-025-01373-z>
49. Loseva E.V. Psikhosotsial'nyy stress perenaseleynosti (skuchennosti): negativnyye posledstviya dlya organizma cheloveka i gryzunov [Psychosocial stress of overpopulation (crowding): Negative consequences for the human body and rodents]. *Integrativnaya fiziologiya = Integrative Physiology.* 2021;**2**(1):33–40. (In Russ.) <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-1-33-40>

50. Miller D.M., McCauley K.F., Dunham-Snary K.J. Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease (MASLD): mechanisms, clinical implications and therapeutic advances. *Endocrinol. Diabetes Metab.* 2025;**8**(6):e70132. <https://doi.org/10.1002/edm2.70132>
51. Yoshii S.R., Mizushima N. Monitoring and measuring autophagy. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;**18**(9):1865. <https://doi.org/10.3390/ijms18091865>
52. Rui L. Energy metabolism in the liver. *Compr. Physiol.* 2014;**4**(1):177–197. <https://doi.org/10.1002/cphy.c130024>
53. Bideyan L., Nagari R., Tontonoz P. Hepatic transcriptional responses to fasting and feeding. *Genes Dev.* 2021;**35**(9–10):635–657. <https://doi.org/10.1101/gad.348340.121>
54. Semenovich D.S., Zorova L.D., Abramicheva P.A. et al. Impact of intermittent fasting and dietary restriction on redox state, energetic metabolism, and liver injury in common bile duct ligation model. *Antioxidants.* 2024;**13**(7):835. <https://doi.org/10.3390/antiox13070835>
55. Go Y.M., Jones D.P. Redox compartmentalization in eukaryotic cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 2008;**1780**(11):1273–1290. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2008.01.011>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Дмитриева Светлана Анатольевна – канд. биол. наук; науч. сотр., Казанский институт биохимии и биофизики «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Российская Федерация
E-mail: s_dmitrieva@list.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1894-8081>

Гиниятуллина Диана Маратовна – студент, Казанский институт биохимии и биофизики «Казанский научный центр Российской академии наук», Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Российская Федерация
E-mail: dianamaratovna61@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0008-2811-9499>

Вологин Дмитрий Семенович – мл. науч. сотр., Казанский институт биохимии и биофизики «Казанский научный центр Российской академии наук», Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Российская Федерация
E-mail: dimsovsky@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0009-7473-7893>

Пономарева Анастасия Анатольевна – канд. биол. наук; ст. науч. сотр., Казанский институт биохимии и биофизики «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Российская Федерация
E-mail: na.ponomareva@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2038-0445>

Поступила в редакцию 24.11.2025
После доработки 12.03.2026
Принята к публикации 13.03.2026

ABOUT THE AUTHORS

Dmitrieva, Svetlana A. – Cand. Sc. (Biology); Research Officer, Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Federal Research Center “Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences”, Kazan, Russian Federation

E-mail: s_dmitrieva@list.ru

<https://orcid.org/0000-0002-1894-8081>

Giniyatullina, Diana M. – Student, Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Federal Research Center “Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences”, Kazan (Volga Region) Federal University Student, Kazan, Russian Federation

E-mail: dianamaratovna61@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0008-2811-9499>

Vologin, Dmitry S. – Research Assistant, Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Federal Research Center “Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences”, Tatar Research Institute of Agriculture, Federal Research Center “Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Science”, Kazan, Russian Federation

E-mail: dimsovsky@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0009-7473-7893>

Ponomareva, Anastasia A. – Cand. Sc. (Biology); Senior Research Officer, Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Federal Research Center “Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences”, Kazan, Russian Federation

E-mail: na.ponomareva@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0003-2038-0445>

Received November 24, 2025

Revised March 12, 2026

Accepted March 13, 2026