

## КОМБИНАЦИОННАЯ ТЕРАПИЯ КАК ОПТИМАЛЬНЫЙ ПОДХОД ДЛЯ КОРРЕКЦИИ АЛКОГОЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ

Е. Б. Белоновская (ms.belonovskaya@yandex.ru),

О. Я. Лукивская (hepatology@bioch.basnet.by), Е. Е. Нарута (naruta@list.ru),

С. Н. Кирко (skirko2002@yahoo.com),

И. А. Кузьмицкая (renochka2008@rambler.ru), В. У. Буко (buko@bioch.basnet.by)

Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси», Гродно, Беларусь

*Введение.* Алкогольное поражение печени – существенная социальная и медицинская проблема. В настоящее время пристальное внимание уделяется комбинационной терапии.

*Цель исследования* – изучение эффективности применения УДХК в комбинации с перспективными гепатопротекторами (бетаин, безафибрат, метформин, куркумин) для коррекции экспериментального алкогольного стеатогепатита (АСГ) у крыс.

*Материал и методы.* Эксперимент проводился на крысах с АСГ, индуцированным этанолсодержащей диетой Либера-ДеКарли, получавших урсодезоксихолевую кислоту (УДХК 30 мг/кг массы тела) внутривентрикулярно в комбинации со следующими препаратами: куркумин (100 мг/кг); бетаин (100 мг/кг); метформин (50 мг/кг); безафибрат (5 мг/кг). Использовали гистологические, биохимические методы с последующим морфометрическим и статистическим анализом.

*Результаты.* Сочетанное введение препаратов способствовало достоверному снижению активности индикаторных ферментов цитолиза, содержания триглицеридов сыворотки крови и печени, сывороточного ФНО- $\alpha$ , увеличению восстановленного глутатиона. При этом по своей эффективности комбинации препаратов не уступали действию используемой УДХК в дозе 40 мг/кг, в качестве монотерапии, а в некоторых случаях превосходили ее. Комплексное применение УДХК с бетаином демонстрировало выраженный гиполлипидемический и противовоспалительный эффекты. Сочетание УДХК с куркумином и безафибратом проявляло высокую антиоксидантную активность.

*Заключение.* Все исследуемые комбинации в условиях экспериментального алкогольного стеатогепатита обладали гепатопротекторным действием, улучшая гистологическую картину печени, оказывая положительное влияние на биохимические показатели и показатели антиоксидантной защиты.

**Ключевые слова:** печень, стеатогепатит, урсодезоксихолевая кислота, куркумин, бетаин, метформин, безафибрат, комбинированная терапия.

## COMBINATION THERAPY AS AN OPTIMAL APPROACH FOR CORRECTION OF ALCOHOL LIVER DAMAGE

Е. В. Belonovskaya, O. Ya. Lukivskaya, E. E. Naruta, S. N. Kirko, I. A. Kuzmitskaya, V. U. Buko

Republican Scientific Research Unitary Enterprise «Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus», Grodno, Belarus

*Background.* Alcoholic liver damage is currently a significant social and medical problem. At this stage special attention is paid to combination therapy.

*Objective.* To study the effects of UDCA in combination with curcumin, betaine, metformin and bezafibrate for the correction of experimental alcoholic steatohepatitis (ASH) in rats.

*Materials and methods.* The experiment was carried out on rats with ASH induced by ethanol-containing diet of Lieber-DeCarli which were administered intragastrically ursodeoxycholic acid (UDCA 30 mg/kg) in combination with the following preparations: curcumin (100 mg/kg), betaine (100 mg/kg), metformin (50 mg/kg) and bezafibrate (5 mg/kg). Histological and biochemical methods were used, followed by morphometric and statistical analysis.

*Results.* The combined administration of the preparations contributed to the reduction of serum marker enzyme activities, serum and liver triglycerides contents, the level of proinflammatory cytokine (TNF- $\alpha$ ) as well as to the increase of reduced glutathione, wherein the combinations were not inferior to the action of UDCA at a dose of 40 mg/kg, used as monotherapy, and in some cases surpassed it. The administration of UDCA with betaine showed a pronounced hypolipidemic and antiinflammatory effects. Combination of UDCA with curcumin and bezafibrate had a high antioxidant activity.

*Conclusion.* All of the studied combinations under the conditions of experimental alcoholic steatohepatitis showed hepatoprotective effect by improving the histological picture of the liver and having a positive effect on biochemical parameters and indicators of antioxidant protection.

**Keywords:** liver, steatohepatitis, ursodeoxycholic acid, curcumin, betaine, metformin, bezafibrate, combination therapy.

### Введение

Алкогольное поражение печени, способное прогрессировать от стеатоза до цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы, в настоящее время является существенной социальной и медицинской проблемой. Согласно исследованиям, проведенным с 1990 по 2014 гг. в странах Восточно-Европейского региона, включающего также Беларусь, смертность, ассоциированная со злоупотреблением алкоголем, выросла на 22% [1]. Алкогольный стеатогепатит (АСГ) – наиболее серьезная форма алкогольной болезни печени, приводящей в 10-35% (по разным источникам) случаев к формированию цирроза печени. С целью торможения развития патологических изменений в структурно-функциональном состоянии печени, повышения регенераторной активности, предупреждения развития фиброза/цирроза печеночной ткани применение медикаментозной терапии считается абсолютно необходимым. Количество препаратов, предлагаемых в настоящее время в качестве средств патогенетической терапии АСГ, довольно значительно. Особое место среди них занимает урсодезоксихолевая кислота (УДХК) – классический гепатопротектор, давно применяемый для лечения заболеваний печени, сопровождающихся холестазами [2-4]. Многообразие эффектов УДХК позволяет использовать ее для коррекции стеатогепатитов разной этиологии [5]. Клинические исследования показали позитивное влияние препарата на функцию печени у пациентов с хроническим алкогольным поражением печени и алкогольным циррозом [6]. Наряду с этим данные рандомизированного контролируемого клинического исследования показали, что введение УДХК не влияло на выживаемость пациентов с тяжёлым алкогольным циррозом [7]. Существенная проблема – отсутствие возможности использовать высокие дозы УДХК (25-30 мг/кг) из-за развития побочных эффектов, а также ввиду возможной резистентности к терапии УДХК. В связи с этим в настоящее время пристальное внимание уделяется комбинационной терапии с использованием нескольких агентов, позволяющих достичь оптимального гепатопротективного эффекта. В числе перспективных гепатопротекторов особый интерес вызывают бетаин, безафибрат, метформин, куркумин. Бетаин – донор метильных групп, обладающий антиоксидантными свойствами, применяется для лечения гомоцистинурии [8]. Имеются данные о способности бетаина снижать аккумуляцию липидов в печени, интенсивность воспаления и уровень окислительного стресса [9, 10]. Безафибрат препятствует накоплению триглицеридов в печени, влияет на инсулинорезистентность, улучшает гистологическую картину печени при неалкогольном стеатогепатите (НАСГ) [11]. Метформин,

широко используемый в фармакотерапии сахарного диабета 2 типа, предотвращает накопление липидов в гепатоцитах, нормализует показатели липидного обмена [12]. Куркумин, являясь растительным полифенолом, обладает выраженными антиоксидантными, противовоспалительными, иммуномодуляторными, антипролиферативными свойствами, проявляет гепатопротективную активность при НАСГ, действуя на сигнальные пути и регулируя экспрессию генов, предупреждая развитие митохондриальной дисфункции, угнетая окислительный стресс и наработку провоспалительных цитокинов и хемокинов [13].

**Цель исследования** – изучение эффективности применения УДХК в комбинации с перспективными гепатопротекторами (бетаин, безафибрат, метформин, куркумин) для коррекции экспериментального АСГ у крыс.

### Материал и методы

Эксперименты проведены на крысах-самках линии Вистар с массой тела к началу опыта 200-220 граммов. Для индукции АСГ использовали жидкую этанолсодержащую диету Либера-ДеКарли (ЭСД). Контрольные животные получали жидкую безалкогольную диету, в которой этанол был изокалорийно замещен мальтодекстрином. Методом случайной выборки животные были разделены на следующие группы: 1-я – контрольная группа, животные получали безалкогольную жидкую диету; 2-я – животные, получавшие ЭСД в течение 12 недель опыта; 3-я – УДХК (40 мг/кг); 4-я – УДХК (30 мг/кг); в последующих группах УДХК применялась в дозе 30 мг/кг в комбинации со следующими препаратами: 5-я – куркумин 100 мг/кг; 6-я – бетаин 100 мг/кг; 7-я – метформин 50 мг/кг; 8-я – безафибрат 5 мг/кг. Препараты вводили ежедневно в/ж последние 4 недели опыта в виде раствора в 0,8% водном растворе гидроксиметилпропилцеллюлозы. Материалом для исследования была кровь (с целью получения сыворотки) и ткань печени. Забор материала производили в утреннее время с 9 до 10 часов утра.

Для проведения морфологического исследования с помощью световой микроскопии фрагменты печени крыс фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина с последующей заливкой в готовую парафиновую среду («Био-Витрум», Россия). Срезы для обзорных исследований грубых морфологических нарушений окрашивали гематоксилином и эозином. Другую часть образцов подвергали глубокому замораживанию в жидком азоте. Криостатные срезы окрашивали суданом черным В – для анализа липидных включений в печени с последующим определением их относительной площади. Исследование микропрепаратов, морфометрию и микрофотографирование проводили с помощью

светового микроскопа Olympus CX-41, оснащенного цифровой фотокамерой Olympus C5660 (Япония). Морфометрический анализ проводили согласно общепринятым рекомендациям [14] с использованием программы ImageJ 1.46 (NIH, США). Активность аланин- (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ),  $\gamma$ -глутамилтранспептидазы ( $\gamma$ -ГТП) в сыворотке крови, содержание триглицеридов (ТГ) в сыворотке крови и печени определяли с помощью наборов фирмы «Lachema» (Чехия). Определение содержания сывороточных фактора некроза опухоли (ФНО- $\alpha$ ) и лептина проводили, используя тест-систему "Quantikine" производства R&D systems (США). Для оценки антиоксидантного статуса клеток печени и интенсивности процессов перекисного окисления липидов в гепатоцитах вычисляли уровень накопления субстратов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС) [15] и уровень восстановленного глутатиона (ГSH) [16]. Концентрацию белка в гомогенатах печени определяли общепринятым методом Лоури.

Экспериментальные данные представлены в виде среднего арифметического (M)  $\pm$  стандартная ошибка среднего арифметического (SEM) и проанализированы с расчетом t-критерия Стьюдента. Уровень доверительной вероятности  $p \leq 0,05$  рассматривали как статистически значимый.

Эксперименты выполнены в соответствии с этическими нормами обращения с животными, а также с требованиями Директивы Европейского этического комитета 86/609/ЕЕС от 24.11.1986 г. и правилами «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и других научных целях» от 18.03.1986 г. и ТКП 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», утвержденного постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь (№ 56 от 28.03.2008 г.).

### Результаты и обсуждение

При гистологическом исследовании печени животных, находившихся длительное время на ЭСД, обнаружены патологические изменения, характерные для стеатогепатита: в большинстве случаев наблюдались признаки микровезикулярного стеатоза печени, гепатоциты с крупными жировыми включениями располагались перипортально. Наличие лимфогистиоцитарной инфильтрации от умеренно выраженной до значительной в области портальных трактов, а также присутствие множественных мелких очагов инфильтрации в паренхиме печени свидетельствовало о значительной степени воспалительной реакции (рис. 1 Б). Гистохимическая окраска срезов печени, проводимая с целью оценки степени аккумуляции липидов в печени, выявила

достоверное увеличение относительной площади суданофильного окрашивания более чем в 2 раза по сравнению с показателем у животных в контрольной группе. Введение исследуемых комбинаций приводило к улучшению гистологической картины печени вследствие снижения интенсивности стеатоза и воспаления (рис. 1 Д, Е, Ж, З). Сочетание УДХК с бетаином и метформином в большей степени снижало относительную площадь суданофильного окрашивания в сравнении с другими используемыми комбинациями.

При оценке биохимических показателей у животных, потреблявших ЭСД, выявлены значительные нарушения метаболических процессов в печени. Наблюдалось повышение активностей сывороточных маркерных ферментов цитолиза АлАТ – в 1,7 раза и АсАТ – в 1,3 раза по отношению к контролю, а также повышение ЩФ и  $\gamma$ -ГТП в 1,9 раза и 2,1 раза, соответственно, по сравнению с контрольными цифрами (табл.1). Изучение показателей липидного обмена выявило резкое повышение содержания ТГ в печени и сыворотке крови (в 2,6 и 1,6 раза, соответственно) (табл. 2). В условиях АСГ резко возрастала концентрация основного сывороточного провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$  и лептина, уровни которых были значительно выше контрольных значений в 3,3 и 1,3 раза, соответственно (табл. 3). Анализ показателей процессов свободнорадикального окисления показал интенсификацию процессов перекисного окисления липидов и снижение степени антиоксидантной защиты, о чем свидетельствовало увеличение наработки конечных продуктов ПОЛ, определяемых в виде ТБКРС, и снижения уровня ГSH (табл. 4).

Установлено, что использование УДХК в дозе 40 мг/кг оказывало более выраженное гепатопротективное действие по сравнению с дозой 30 мг/кг. Данная доза препарата в большей степени снижала уровень жировой дистрофии гепатоцитов и воспаления. При этом отмечалось достоверное снижение активностей маркерных ферментов сыворотки крови (АлАТ, АсАТ, ЩФ), относительной площади суданофилии и содержания ТГ в печени, а также сывороточной концентрации ФНО- $\alpha$  и лептина. Влияние УДХК в обеих дозах на ТГ сыворотки крови, показатели ПОЛ было практически одинаковым. Ранее нами был показан дозозависимый гепатопротективный эффект УДХК у крыс, содержащихся на диете, дефицитной по метионину и холину, с использованием УДХК в дозах от 10 до 80 мг/кг массы тела животного [17]. В результате экспериментов установлено, что доза 40 мг/кг обладала оптимальной липидснижающей и противовоспалительной активностью. УДХК в меньшей дозе (30 мг/кг) была использована в настоящем эксперименте для сочетанного применения с другими перспективными гепатопротекторами с



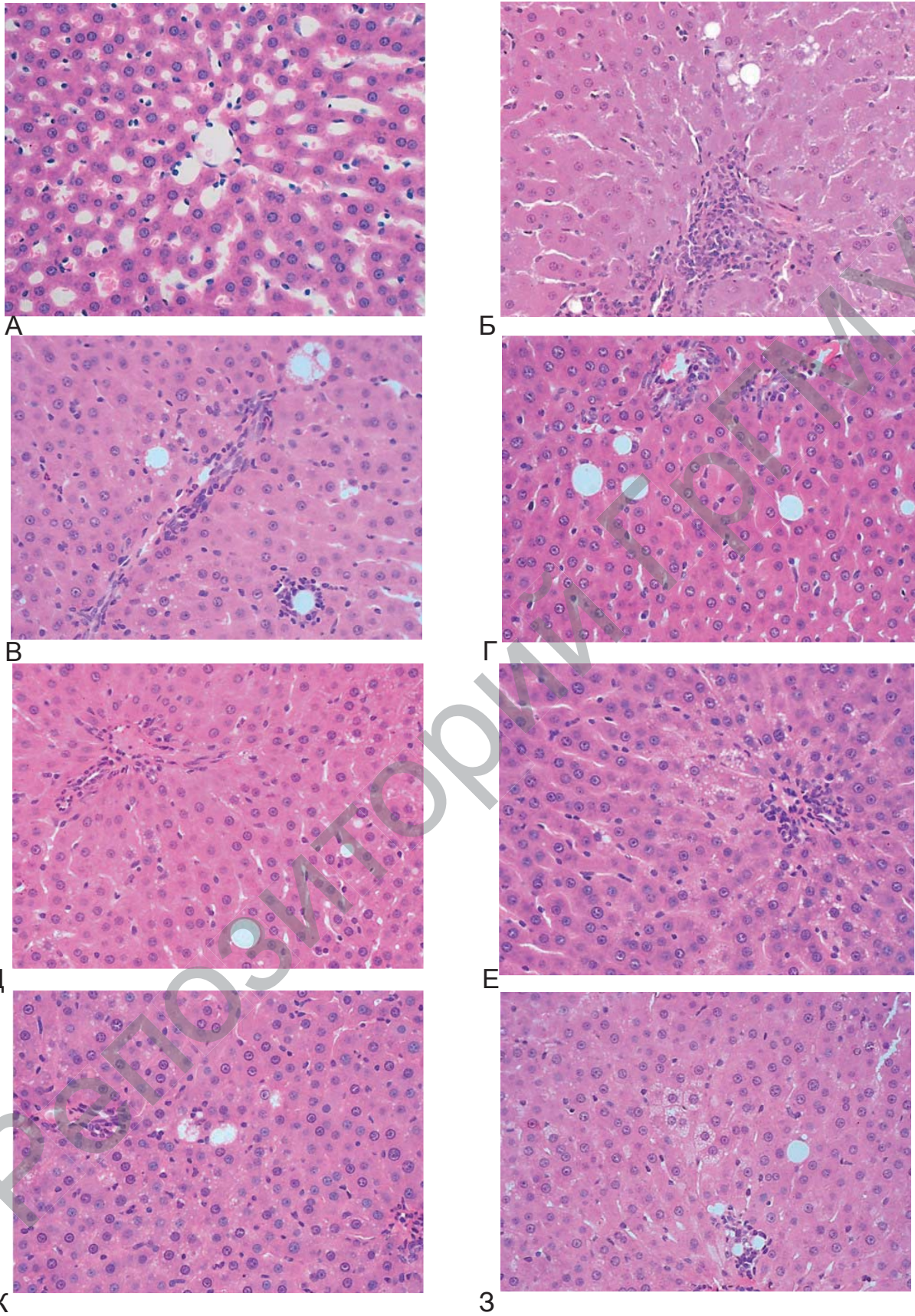


Рисунок 1. – Гистологическая картина печени: А – контрольная группа: нормальная структура печени; Б – группа животных с АСГ: микровезикулярный стеатоз печени с наличием групп гепатоцитов с крупными липидными включениями, лимфогистиоцитарная инфильтрация портальных трактов; В и Г – введение УДХК в дозе 30 и 40 мг/кг на фоне ЭСД; Д – УДХК+куркумин; Е – УДХК+бетаин; Ж – УДХК+метформин; З – УДХК+безафибрат. Окр.: гематоксилином и эозином. ×200

целью подчеркнуть эффективность фармакологических эффектов используемых комбинаций.

В ходе проведенного эксперимента выявлено, что сочетанное введение препаратов с УДХК, как и моноформа УДХК в обеих дозах, вызывали умеренное улучшение гистологической картины печени, уменьшая как воспалительные изменения, представленные слабовыраженной внутридольковой лимфогистиоцитарной инфильтрацией паренхимы печени, так и явления стеатоза печени. Как видно из таблицы 1, все исследуемые комбинации препаратов, как и монотерапия УДХК, способствовали улучшению функционального состояния клеток печени вследствие достоверного снижения активностей маркерных цитолитических ферментов сыворотки крови (АлАТ, АсАТ, ЩФ). При этом введение УДХК в обеих дозах, в отличие от комбинаций препаратов, не оказывало существенного влияния на ферментативную активность  $\gamma$ -ГТП. Все комбинации препаратов, как и монотерапия УДХК, в одинаковой степени снижали уровень ТГ сыворотки крови. Достоверное снижение ТГ печени отмечалось лишь при сочетанном введении препаратов и при использовании УДХК в дозе 40 мг/кг. Анализ показателей цитокинов показал нормализацию содержания ФНО- $\alpha$  у всех животных, получавших препараты, при этом следует отметить, что комбинации УДХК с бетаином и метформинном, наряду с УДХК в дозе 40 мг/кг, обладали более выраженным противовоспалительным действием.

Уровень лептина снижался при использовании комбинированного введения УДХК с бетаином и безафибратом и был ниже контрольных значений. Все препараты уменьшали концентрацию ТБКРС в печени и повышали уровень ГSH, причем наблюдалось достоверное преимущество комбинаций УДХК с куркумином и безафибратом, не уступавших по силе действия УДХК как монопрепарату в указанных выше дозах.

Проводя анализ полученных данных, можно говорить об эффективности применения комбинационной фармакотерапии у животных в условиях экспериментального АСГ. Все исследуемые комбинации обладали гепатопротекторным действием, доказательством чего стало улучшение гистологической картины печени, положительное влияние на биохимические показатели и показатели антиоксидантной защиты. Сочетанное введение препаратов способствовало достоверному снижению активности индикаторных ферментов цитолиза, содержания ТГ сыворотки крови печени, сывороточного ФНО- $\alpha$ , увеличению ГSH, при этом по своей эффективности комбинации не уступали действию УДХК в дозе 40 мг/кг, используемой в качестве монотерапии, а в некоторых случаях превосходили ее.

Таким образом, препараты, относящиеся к разным группам, характеризовались разной степенью активности. Среди выбранных сочетаний препаратов введение УДХК с бетаином

Таблица 1. – Активность маркерных ферментов в сыворотке крови у животных контрольной и опытных групп (M $\pm$ SD)

Группы	АлАТ (Е/л)	АсАТ (Е/л)	ЩФ (Е/л)	$\gamma$ -ГТП (Е/л)
Контроль	0,36 $\pm$ 0,014	0,67 $\pm$ 0,018	3,19 $\pm$ 0,093	4,38 $\pm$ 0,175
АСГ	0,62 $\pm$ 0,027 <sup>a</sup> (172.2%)	0,90 $\pm$ 0,015 <sup>a</sup> (134.3%)	5,91 $\pm$ 0,224 <sup>a</sup> (185.3%)	9,25 $\pm$ 0,303 <sup>a</sup> (211.2%)
УДХК-30	0,55 $\pm$ 0,020 <sup>ab</sup> (-11.3%)	0,77 $\pm$ 0,026 <sup>ab</sup> (-14.4%)	4,48 $\pm$ 0,159 <sup>ab</sup> (-24.2%)	8,48 $\pm$ 0,201 <sup>a</sup> (-8.3%)
УДХК-40	0,47 $\pm$ 0,017 <sup>ab</sup> (-24.2%)	0,72 $\pm$ 0,015 <sup>ab</sup> (-20.0%)	4,10 $\pm$ 0,201 <sup>ab</sup> (-30.6%)	7,62 $\pm$ 0,281 <sup>a</sup> (-17.6%)
УДХК+куркумин	0,48 $\pm$ 0,015 <sup>ab</sup> (-22.6%)	0,72 $\pm$ 0,023 <sup>ab</sup> (-20.0%)	4,04 $\pm$ 0,229 <sup>ab</sup> (-31.6%)	7,47 $\pm$ 0,254 <sup>ab</sup> (-19.2%)
УДХК+бетаин	0,43 $\pm$ 0,021 <sup>ab</sup> (-30.6%)	0,70 $\pm$ 0,021 <sup>b</sup> (-22.2%)	4,00 $\pm$ 0,229 <sup>ab</sup> (-32.3%)	7,18 $\pm$ 0,211 <sup>ab</sup> (-22.4%)
УДХК+метформин	0,40 $\pm$ 0,008 <sup>ab</sup> (-35.5%)	0,75 $\pm$ 0,027 <sup>ab</sup> (-16.7%)	3,82 $\pm$ 0,223 <sup>ab</sup> (-35.4%)	6,95 $\pm$ 0,311 <sup>ab</sup> (24.9%)
УДХК+безафибрат	0,42 $\pm$ 0,011 <sup>ab</sup> (-32.3%)	0,75 $\pm$ 0,017 <sup>ab</sup> (-16.7%)	4,24 $\pm$ 0,247 <sup>ab</sup> (-28.3%)	7,18 $\pm$ 0,262 <sup>ab</sup> (-22.4%)

Примечание: здесь и далее: а –  $P < 0,05$  по сравнению с контрольной группой; б –  $P < 0,05$  по сравнению с группой АСГ

демонстрировало наиболее выраженный гиполипидемический эффект. В порядке убывания липидснижающего действия препараты, входящие в состав комбинаций с УДХК, можно расположить следующим образом: Бетаин > Метформин > Безафибрат > Куркумин. Комбинация УДХК с бетаином имела также выраженные противовоспалительные свойства, сопоставимые с высокой дозой УДХК. В отличие от данной комбинации совместное введение УДХК и куркумина, а также УДХК и безафибрата способствовало восстановлению антиоксидантной



Таблица 2. – Содержание триглицеридов в сыворотке крови и печени, относительная площадь суданофильных областей (%) у животных контрольной и опытных групп (M±SD)

Группы	ТГ сыворотки крови, ммоль/л	ТГ печени, мг/г ткани	относительная площадь суданофильных областей (%)
Контроль	1,38±0,028	1417±38.82	3,17±0,48
АСГ	2,16±0,058 <sup>a</sup> (156.5%)	3197±77.40 <sup>a</sup> (225.6%)	7,39±1,03 <sup>a</sup> (233.1%)
УДХК-30	1,83±0,066 <sup>ab</sup> (-15.3%)	3011±69.90 <sup>a</sup> (-5.8%)	7,41±1,52 <sup>a</sup> (-0.3%)
УДХК-40	1,82±0,028 <sup>ab</sup> (-15.7%)	2749±76.73 <sup>ab</sup> (-14.0%)	3,44±0,77 (-53%)
УДХК+куркумин	1,85±0,029 <sup>ab</sup> (-14.4%)	2738±46.18 <sup>ab</sup> (-14.4%)	5,12±0,91 (-30.7%)
УДХК+бетаин	1,74±0,047 <sup>ab</sup> (-19.4%)	2632±35.89 <sup>ab</sup> (-17.7%)	3,98±0,75 (-46.1%)
УДХК+метформин	1,79±0,035 <sup>ab</sup> (-17.1%)	2644±31.85 <sup>ab</sup> (-17.3%)	3,28±0,49 (-55.6%)
УДХК+безафибрат	1,82±0,036 <sup>ab</sup> (-15.7%)	2656±42.65 <sup>ab</sup> (-16.9%)	4,98±0,82 (-32.6%)

Таблица 3. – Содержание ФНО-α и лептина в сыворотке крови животных контрольной и опытных групп (M±SD)

Группы	ФНО-α, пг/мл	Лептин, нг/мл
Контроль	4,10±0,54	3.41±0.22
АСГ	13,40±2,47 <sup>a</sup> (326.8%)	4.40±0.33 <sup>a</sup> (129.0%)
УДХК-30	4,08±1,44 <sup>b</sup> (-69.6%)	3.21±0.36 <sup>b</sup> (-27%)
УДХК-40	2,89±0,66 <sup>b</sup> (-78.4%)	2.29±0.29 <sup>ab</sup> (-48%)
УДХК+куркумин	4,00±0,81 <sup>b</sup> (-70.1%)	3.96±0.22 (-10.0%)
УДХК+бетаин	2,55±0,32 <sup>b</sup> (-81.0)	1.78±1.81 <sup>ab</sup> (-60.0%)
УДХК+метформин	3,82±0,89 <sup>b</sup> (-71.5%)	3.86±0.27 (-12.3%)
УДХК+безафибрат	4,11±0,79 <sup>b</sup> (-69.3%)	2.65±0.27 <sup>b</sup> (-39.8%)

Таблица 4. – Показатели, характеризующие свободнорадикальные процессы в печени животных контрольной и опытных групп (M±SD)

Группы	ГСН (мкмоль/мг белка)	ТБКРС (мкмоль/мг белка)
Контроль	11.1±0.34	23.1±1.07
АСГ	8.3±0.73 <sup>a</sup>	32.0±3.07 <sup>a</sup>
УДХК-30	14.2±0.9 <sup>ab</sup>	20.7±3.89 <sup>b</sup>
УДХК-40	13.9±0.38 <sup>ab</sup>	20.8±3.20 <sup>b</sup>
УДХК+Куркумин	13.5±0.79 <sup>ab</sup>	20.1±4.39 <sup>b</sup>
УДХК+Бетаин	10.6±0.42 <sup>b</sup>	29.5±1.12 <sup>a</sup>
УДХК+Метформин	13.3±0.43 <sup>ab</sup>	27.9±1.36
УДХК+Безафибрат	13.6±0.31 <sup>ab</sup>	21.6±1.04 <sup>b</sup>

способности в условиях экспериментального АСГ у крыс.

Гепатопротективное действие комбинационной терапии, несомненно, обусловлено совместным влиянием препаратов, входящих в состав комбинации. УДХК проявляет цитопротективное действие, обеспечивая стабилизацию клеточных мембран и повышая устойчивость к повреждающему действию этанола. [18].

Как известно, ключевые компоненты развития АСГ – нарушение липидного обмена, окислительный стресс, митохондриальная дисфункция, индуцированное цитокинами воспаление. Этанол влияет на транскрипционные факторы, регулирующие обмен жиров,

повышая активацию липидогенных генов и подавляя гены, контролирующие окисление жирных кислот, прежде всего PPAR-α [19]. Безафибрат, являясь агонистом рецептора PPAR-α, снижает накопление ТГ в печени путем угнетения стерол-связывающего регуляторного белка (SREBP), который стимулирует синтез жирных кислот. Длительное потребление этанола приводит к нарушению обмена метионина, вследствие чего резко снижается уровень восстановленного глутатиона. Недавние исследования на животных показали, что добавление бетаина увеличивало уровень адеметионина в клетках и снижало развитие этанол-индуцированного стеатоза печени [20]. Куркумин обладает антиоксидантной и противовоспалительной активностью, защищая клетки от оксидативной атаки, блокирует активацию основного регулятора NF-κB, контролирующего воспаление. Установлена способность куркумина замедлять прогрессирование фиброза печени вследствие ингибирования синтеза внеклеточного матрикса в условиях экспериментального стеатогепатита [21]. Гепатопротективная активность метформина может быть обусловлена способностью усиливать окисление жирных кислот, а также его антиоксидантными свойствами [22].

### Выводы

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о достаточно высоком терапевтическом потенциале иссле-

двух комбинаций при алкогольном поражении печени, превосходящем по своей эффективности монотерапию УДХК, что может быть много-

обещающей альтернативой для применения их в лечении АСГ.

## References

- World Health Organization. Global status report on Alcohol and health, 2014. [Internet]. Geneva: WHO; 2014. 378 p. Available from: [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112736/9789240692763\\_eng.pdf;jsessionid=C21EF1E214DCDC47216722CCDE09E767?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112736/9789240692763_eng.pdf;jsessionid=C21EF1E214DCDC47216722CCDE09E767?sequence=1).
- Hirschfield GM, Invernizzi P. Progress in the genetics of primary biliary cirrhosis. *Seminars in Liver Disease*. 2011;31(2):147-156. doi: 10.1055/s-0031-1276644.
- Ishibashi H, Komori A, Shimoda S, Ambrosini YM, Gershwin ME, Nakamura M. Risk factors and prediction of long-term outcome in primary biliary cirrhosis. *Journal Internal Medicine*. 2011;50(1):1-10.
- Harnois DM, Angulo P, Jorgensen RA, Larusso NF, Lindor KD. High dose ursodeoxycholic Acid as a therapy for patients with primary sclerosing cholangitis. *American Journal of Gastroenterology*. 2001;96(5):1558-1562. doi: 10.1111/j.1572-0241.2001.03777.x.
- Xiang Z, Chen YP, Ma KF, Ye YF, Zheng L, Yang YD, Li YM, Jin X. The role of ursodeoxycholic acid in non-alcoholic steatohepatitis: a systematic review. *BMC Gastroenterology*. 2013;13(1):140. doi: 10.1186/1471-230X-13-140.
- Bettini R, Gorini M. Use of ursodeoxycholic acid combined with silymarinin the treatment of chronic ethyl-toxichepatopathy. *Journal of Clinical Therapy*. 2002;153(5):305-307.
- Pelletier G, Roulot D, Davion T, Masliah C, Causse X, Oberti F, Raabe JJ, Van Lemmens C, Labadie H, Serfaty L. A randomized controlled trial of ursodeoxycholic acid in patients with alcohol-induced cirrhosis and jaundice. *Hepatology*. 2003;37(4):887-892. doi: 10.1053/jhep.2003.50118.
- Smolin LA, Benevenga NJ, Berlow S. Use of betaine for the treatment of homocystinuria. *Journal of Pediatrics*. 1981;99(3):467-472. doi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022347681803526>.
- Kwon DY, Jung YS, Kim SJ, Park HK, Park JH, Kim YC. Impaired sulfur-amino acid metabolism and oxidative stress in nonalcoholic fatty liver are alleviated by betaine supplementation in rats. *Journal of Nutrition*. 2009;139(1):64-68. doi: 10.3945/jn.108.094771.
- Kawakami S, Han K, Nakamura Y, Shimada K, Kitano T, Aritsuka T, Nagura T, Ohba K, Nakamura K, Fukushima M. Effects of dietary supplementation with betaine on a nonalcoholic steatohepatitis (NASH) mouse model. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 2012;58(5):371-375. doi: 10.3177/jnsv.58371.
- Barbosa-de-Silva S, Souza-Mello V, Magliano D, Marnho T, Aguila M, Mandarim-de Lacerda A. Singular effects of PPAR agonists on nonalcoholic fatty liver disease of diet-induced obese mice. *Journal of Life Science*. 2015;127:73-81. doi: 10.1016/j.lfs.2015.02.
- Liu F, Wang C, Zhang L, Xu Y, Jang L, Gu Y, Cao X, Zhao X, Ye J, Li Q. Metformin prevents hepatic steatosis by regulating the expression of adipose differentiation-treated protein. *International Journal of Molecular Medicine*. 2013;33(1):51-58. doi: 10.3892/ijmm.2013.1560.
- Inzaugarat ME, De Matteo E, Baz P, Lucero D, Garsia CC, Ballegra EG, Daruich J, Sorda JA, Wald MR, Chernavsky AC. New evidence for the therapeutic potential of curcumin to treat nonalcoholic fatty liver disease in humans. *PLoS ONE*. 2017;12(3):e0172900. doi: 10.1371/journal.pone.0172900.
- Avtandilov GG. Vvedenie v kolichestvennuju patologicheskuju morfologiju. Moscow: Medicine; 1980. 216 p. (Russian).
- Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*. 1978;52:302-310. doi: 10.1016/S0076-6879(78)52032-6.
- Akerboom TP, Sies H. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfide in biological samples. *Methods in Enzymology*. 1981;77:373-382. doi: 10.1016/S0076-6879(81)77050-2.
- Buko VU, Kuzmitskaya IA, Naruta EE, Lukivskaya OY, Kirko SN, Tauschel HD. Ursodeoxycholic acid dose dependently improves liver injury in rats fed a methionine and cholin-deficient diet. *Journal of Hepatology Research*. 2011;41(7):647-659. doi: 10.1111/j.1872-034X.2011.00820.x.
- Buko VU, Lukivskaja OJa, Hoha AM; Institute for Pharmacology and Biochemistry of the National Academy of Sciences of Belarus. *Metabolicheskie posledstvija alkoholnoj intoksikacii*. Minsk: Belaruskaja navuka; 2005. 207 p. (Russian)
- Gao B, Bataller R. Alcoholic liver disease: pathogenesis and new therapeutic targets. *Journal of Gastroenterology*. 2011;141(5):1572-1585. doi: 10.1053/j.gastro.2011.09.002.
- Jung YS, Kim SJ, Kwon DY, Ahn CW, Kim YS, Choi DW, Kim YC. Alleviation of alcoholic liver injury by betaine involves an enhancement of antioxidant defense via regulation of sulfur amino acid metabolism. *Food and Chemical Toxicology*. 2013;62:292-298. doi: 10.1016/j.fct.2013.08.049.
- Vizzutti F, Provenzano A, Galastri S, Milani S, Delogu W, Novo E, Caligiuri A, Zamara E, Arena U, Laffi G, Parola M, Pinzani M, Marra F. Curcumin limits the fibrogenic evolution of experimental steatohepatitis. *Laboratory Investigation*. 2010;90(1):104-115. doi: 10.1038/labinvest.2009.112.
- Borole KD, Padalkar PH, Swami R. Assessment of antioxidant activity of metformin in ethanol induced liver damage in Sprague Dawley rats. *International Journal of Basic and Clinical Pharmacology*. 2016;5(2):324-328. doi: 10.18203/2319-2003.ijbcp20160739.

Поступила: 18.10.2018

Принята к печати: 06.11.2018