

DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-11-13-19

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ГЕПАТОПРОТЕКТОРОВ ПРИ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

Ю. Г. Притулина<sup>1</sup>, С. Е. Прокопенко<sup>1</sup>, И. А. Тулинова<sup>2</sup>,  
Д. М. Ризаханов<sup>3</sup>, О. А. Ризаханова<sup>4</sup>

Изучены структуры и содержание липидов в гепатоцитах мышей линии C57Bl/6 при моделировании неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) гиперкалорийным кормом с последующим применением ремаксола (25 мг/кг 1 раз в сутки через день на протяжении 20 дней), фосфогливом (лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения 0,1 мг/кг 1 раз в сутки через день на протяжении 20 дней), а также их комбинацией. Оценку эффективности проводили в ходе исследования гистологической структуры срезов печени мышей линии C57Bl/6 при помощи шкалы оценки активности НАЖБП (NAFLD activity score — NAS). Установлены признаки положительного влияния фосфоглива и ремаксола (величина NAS  $3,7 \pm 1,1$  и  $3,3 \pm 0,9$  балла, по сравнению с исходными  $6,7 \pm 0,7$  баллами,  $p < 0,05$ ). Выраженность стеатоза в группе фосфоглива составляла  $29 \pm 7\%$ , а ремаксола —  $26 \pm 8\%$  в сравнении с исходными  $82 \pm 15\%$  ( $p < 0,05$ ). Хотя величина индекса NAS и процент стеатоза в этих группах не имели статистически значимого отличия между собой, показатели распространённости баллонной дистрофии различались и составляли  $35 \pm 9\%$  (по сравнению с исходными  $75 \pm 10$ ) в группе фосфоглива и  $12,5 \pm 6\%$  в группе ремаксола, что свидетельствует о большей эффективности последнего ( $p < 0,05$ ). Наилучший эффект был достигнут при использовании комбинации обоих препаратов: индекс NAS —  $2,5 \pm 0,7$ , баллонная дистрофия затрагивала  $11,1 \pm 4\%$  гепатоцитов, что отличалось от значений до применения изученных препаратов и других схем терапии ( $p < 0,05$ ). Оценка эффективности исследуемых препаратов у 30 человек с высоким индексом стеатоза (FLI) показала, что индекс стеатоза достоверно снижался после использования всех трёх исследуемых схем терапии, достигая  $77,3 \pm 7,7$  в сравнении с  $96,9 \pm 2,35$  ( $p < 0,05$ ) при применении фосфоглива (внутривенно 20 мг/мл + 50 мг/мл 2 раза в сутки в течение 10 дней),  $67,4 \pm 7,4$  в сравнении с  $96,5 \pm 2,6$  ( $p < 0,05$ ) при использовании ремаксола (400 мг внутривенно 1 раз в сутки в течение 10 дней) и  $62,7 \pm 7,7$  в сравнении с  $96,4 \pm 2,2$  ( $p < 0,05$ ) при комбинированном назначении обоих препаратов. Было выявлено статистически значимое преимущество более, чем на 10 % по этому показателю при использовании схем терапии, содержащих ремаксол по сравнению с монотерапией фосфогливом ( $p < 0,05$ ). Различий в снижении индекса стеатоза между группами больных, получивших ремаксол и комбинированную терапию, выявлено не было.

**Ключевые слова:** неалкогольная жировая болезнь печени; стеатоз; ремаксол; фосфоглив; структура гепатоцитов; дистрофия; индекс стеатоза; мыши; клиническое исследование.

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) включает в себя стеатоз, неалкогольный стеатогепатит и цирроз печени (ЦП). Важным критерием, позволяющим отличить НАЖБП от алкогольной болезни печени (АБП), служит отсутствие употребления пациентами алкоголя в гепатотоксичных дозах, т.е. более 40 г чистого этанола в сутки для мужчин и более 20 г для женщин. У большинства пациентов НАЖБП ассоции-

рована с метаболическим синдромом. Несмотря на длительный период изучения особенностей патогенеза НАЖБП, ее своевременная диагностика, профилактика и лечение остается одной из актуальных и до конца нерешённых проблем. Распространенность НАЖБП варьирует в разных странах: в среднем она наблюдается у 20 – 33 % взрослого населения. В Российской Федерации частота выявления НАЖБП в 2007 г. составила 27 %, а в 2014 г. — 37,1 % (прирост более 10%). Сведения о распространенности НАЖБП в Российской Федерации основаны на результатах популяционных исследований DIREG 1, DIREG L 01903 и DIREG 2. В исследование DIREG L 01903 были включены 30754 человека, средний возраст участников исследования  $47,8 \pm 16,4$  года.

НАЖБП включает три стадии — стеатоз, т.е. накопление липидов в гепатоцитах, стеатогепатит, при котором в печени запускается воспалительный процесс, и

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Воронежский государственный медицинский университет им. Н. Н. Бурденко Минздрава РФ, Россия, 394006, Воронеж, ул. Бахметьева, д. 10.

<sup>2</sup> БУЗ ВО Воронежский областной клинический центр профилактики и борьбы со СПИД, Россия, 394065, Воронеж, пр-т Патриотов, 296.

<sup>3</sup> ООО «АВА-ПЕТЕР», Россия, 191014, Санкт-Петербург, Литейный пр., 55А.

<sup>4</sup> ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова Минздрава РФ, Россия, 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47, пав. 2/4.

цирроз. Согласно полученным данным, распространенность НАЖБП среди лиц, обратившихся за амбулаторной терапевтической помощью, составила 27 %, при этом лишь у 2,9 % пациентов выявлена цирротическая стадия заболевания, у 80,3 % диагностирован стеатоз, у 16,8 % — стеатогепатит. Чаще всего НАЖБП выявляли в следующих возрастных группах: 50 – 59 лет (31,1 %), 40 – 49 лет (23,6 %), 60 – 69 лет (18,1 %). НАЖБП на цирротической стадии может привести к развитию гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) [1]. Это заболевание занимает 3 место среди причин ГЦК, уступая лишь алкогольному поражению печени и хроническому гепатиту С. На данный момент в соответствии с клиническими рекомендациями по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени [3], в терапии НАЖБП используются такие препараты, как витамин Е, лекарственные средства, повышающие чувствительность тканей к инсулину (метформин, тиазолидинионы), препараты урсодезоксихолевой кислоты, эссенциальные фосфолипиды.

Создание эффективной схемы лечения НАЖБП является крайне важной проблемой в связи с широкой распространённостью этой до конца не изученной патологии и грозными осложнениями, к которым она может привести.

Цель нашего исследования — моделирование НАЖБП на животных для оценки эффективности исследуемых гепатопротекторов. На втором этапе исследования мы проверили эффективность исследуемых препаратов у пациентов с НАЖБП.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Первый этап исследование был проведен на 48 самцах мышей линии C57Bl/6, содержащихся на базе Научно-исследовательского института экспериментальной биологии и медицины ВГМУ им. Н. Н. Бурденко. Масса тела животных на момент включения в исследование составляла 35 – 44 г.

Было сформировано 6 групп по 8 животных в каждой. Для моделирования НАЖБП использовали разработанный нами ранее способ с применением гиперкалорийного корма, обогащённого фруктозой (патент № 2728418). В 1 группу (контроль нормы) вошли мыши, в течение 75 сут содержащиеся на стандартном пищевом рационе. Во 2 группу (контроль корма) — мыши, получавшие гиперкалорийный корм, обогащённый фруктозой, такой же период времени. Мыши остальных 4 групп получали один из вариантов фармакологической поддержки на протяжении 20 дней: с применением ремаксола (25 мл/кг 1 раз в сутки через день на протяжении 20 дней), фосфоглива (леофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения 0,1 мг/кг 1 раз в сутки через день на протяжении 20 дней) и комбинации этих препаратов. Исследуемые вещества вводили в виде 10 внутривенных инъекций через день. Вывод животных из эксперимента

осуществляли в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986) (протокол комиссии по этике ВГМУ № 2 от 30.10.2018) через 20 сут применения препаратов.

Для гистологического исследования фрагменты ткани наружной левой доли печени мышей фиксировали в 10 % нейтральном формалине (рН 7,4). Структуру долек и клеток печени исследовали после заливки в парафин, на срезах, окрашенных гематоксилином и эозином [2]. Липиды выявляли окраской REDOIL “O” с докраской гематоксилином Майера на криостатных срезах. Полученные гистологические препараты исследовали микроскопом ZEISS Axio Imager. A2, оснащённым камерой Camera AxioCam 506 color, после чего их обрабатывали с помощью программы ZEN 2.3 (Carl Zeiss, Германия). Визуально оценивали структуру долек печени, подсчитывали относительное количество гепатоцитов, содержащих липидные включения.

Для определения степени активности стеатогепатита мы использовали принятую с 2005 г. шкалу NAS (табл. 1) [3].

Шкала оценки активности НАЖБП (NAFLD activity score — NAS), которая позволяет оценить степень морфологических изменений в баллах (от 0 до 8): выраженность стеатоза печени, внутريدолькового (лобулярного) воспаления, баллонной дистрофии гепатоцитов и стадию фиброза.

Результаты оценки по шкале NAS-CRN интерпретируют следующим образом: NAS 0 – 2 — диагноз НАЖБП маловероятен; NAS 3 – 4 — “серая зона”, возможно наличие НАЖБП; NAS ≥ 5 — диагноз НАЖБП вероятен.

На втором этапе исследования мы провели оценку эффективности исследуемых препаратов в терапии пациентов с НАЖБП, используя в качестве критерия индекс стеатоза печени (FLI — fatty liver index), который был разработан G. Bedogni, et al. [5].

FLI рассчитывается по формуле:

$$\begin{aligned} \text{FLI} = & ((e^{0,953} \cdot \log_e(\text{триглицериды}) + 0,139 \cdot (\text{ИМТ}) + \\ & + 0,718 \cdot \log_e(\text{ГГТП}) + 0,053 \cdot (\text{окружность талии}) - \\ & - 15,745)) / ((1 + e^{0,953} \times \log_e(\text{триглицериды}) + \\ & + 0,139 \cdot (\text{ИМТ}) + 0,718 \cdot \log_e(\text{ГГТП}) + 0,053 \cdot \\ & \cdot (\text{окружность талии}) - 15,745)) \cdot 100, \end{aligned}$$

где ИМТ — индекс массы тела, ГГТП — концентрация гамма-глутамилтранспептидазы. Результат выше 60 условных единиц (у.е.) указывает на высокую вероятность наличия НАЖБП. По данным ряда авторов, индекс стеатоза является точным инструментом оценки риска развития НАЖБП [4].

В исследование вошло 30 человек (13 мужчин и 17 женщин) с УЗИ-признаками жирового гепатоза, не злоупотребляющие алкоголем по данным анамнеза. Критериями включения больных в исследование: 1)

индекс стеатоза более 60 у.е., 2) возраст от 30 до 55 лет, 3) отсутствие злоупотребления алкоголем по данным анамнеза.

В исследование не включали больных с ВИЧ-инфекцией, туберкулезом, онкологическими заболеваниями, аутоиммунными заболеваниями, с декомпенсацией хронических легочных и сердечно-сосудистых заболеваний, почечной недостаточностью, беременных и женщин в период лактации, больных, имеющих противопоказания для введения исследуемых препаратов.

В зависимости от применяемого препарата пациенты были разделены на 3 группы по 10 человек в каждой. Пациенты 1 группы получали фосфоглив (глицирризиновая кислота + фосфолипиды, внутривенно по 10 мл — 20 мг/мл + 50 мг/мл ежедневно 2 раза в сутки 10 дней). 2 группа получала ремаксол (инозин + меглюмин + метионин + никотинамид + янтарная кислота), внутривенно в дозе 400 мл 1 раз в сутки 10 дней. 3 группа получала комбинированную терапию обоими препаратами. Помимо этого, пациенты всех групп в соответствии с клиническими рекомендациями были переведены на диету с ограничением высококалорийной пищи и продуктов, богатых фруктозой. Пациенты с сахарным диабетом продолжали плановый приём гипогликемических лекарственных средств. До и после терапии проводили оценку общеклинических, биохимических показателей крови, осуществляли расчет индекса стеатоза (FLI).

Для статистического анализа количественных признаков применяли непараметрический критерий Манна — Уитни. Средние значения были представлены медианой, поскольку распределение исследуемых величин не являлось нормальным, а экстремальные значения переменной оказывали на медиану меньшее значение, чем на среднее арифметическое. Средние значения были представлены вместе со стандартным отклонением. Для исследования статистической значимости различий результатов использовали программы SPSS Statistics 25, Microsoft Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Было выяснено, что у мышей, содержащихся на высокоуглеводном корме, содержание малонового диальдегида в гомогенате печени было повышено, отмечалась выраженная гиперхолестеринемия, небольшая гипергликемия, гиперферментемия, незначительная гипербилирубинемия, увеличение показателя щелочной фосфатазы. Содержание общего белка оставалось в рамках референтных значений (табл. 3).

При изучении гистологической картины печени мышшей выявлено, что при формировании НАЖБП в течение 75 сут обнаруживались резко выраженные признаки гидропической и жировой дистрофии: увеличение гепатоцитов в объёме, с участками просветления цитоплазмы (вакуоли). Значительная часть гепатоцитов (75 %) имела признаки поражения: изменение формы клеток с выраженной вакуолизацией цитоплазмы (вплоть до баллонной дистрофии), участки зернистой слабо эозинофильной цитоплазмы (вокруг ядер и вдоль клеточных мембран). Во всех зонах долек выявлялись грубые нарушения архитектоники и баллонной структуры печёночных долек (признаки не только гидропической и жировой дистрофии, но и гиалиновые включения, свидетельствующие о нарушениях и белкового обмена). Обнаружены необильные скопления клеток воспалительного инфильтрата (1 – 2 в поле зрения) (табл. 2).

При помощи окраски на липиды Red Oil, была выявлена массивная жировая дистрофия гепатоцитов, которая имела вид мелкокапельной и среднекапельной вакуолизации. Наибольшая аккумуляция липидов отмечена в гепатоцитах периферических зон. При мелкокапельной вакуолизации цитоплазма гепатоцитов была пенистой, пылевидные вакуоли располагались равномерно по цитоплазме, не смещая ядра. При среднекапельной вакуолизации в цитоплазме имелись округлые капельные включения, накапливающие краситель. Жировые включения в образцах печени мышшей после 75 сут эксперимента затрагивали около 82 % гепатоци-

Таблица 1. Шкала оценки активности НАЖБП (NAFLD activity score – NAS)

Характеристика	Балл	Выраженность	Описание
Стеатоз	0	< 5 %	Учитывается плотность долек, вовлечённых в жировую дистрофию
	1	5 – 33 %	
	2	33 – 66 %	
	3	> 66%	
Внутридольковая воспалительная инфильтрация (при увеличении 200)	0	Отсутствуют	Наличие ацидофильных телец и инфильтрацию портальных трактов не учитывают
	1	< 2 фокусов	
	2	2 – 4 фокусов	
	3	> 4 фокусов	
Баллонная дистрофия гепатоцитов	0	Отсутствует	При выраженной баллонной дистрофии также часто обнаруживают тельца Мэллори, которые отдельно не оценивают
	1	Поражение отдельных клеток	
	2	Поражение большого числа клеток – выраженная дистрофия	

тов, и были представлены мелкокапельными (48 %) и среднекапельными (34 %) жировыми включениями (табл. 2). Распределение липидов в разных долях было однородным, имелась тенденция к более густой жировой инфильтрации в периферических областях.

Таким образом, по шкале NAS срезы печени мышей из группы, находящейся на экспериментальном корме, получили среднюю величину в 6,7 балла, что соответствовало высокой активности НАЖБП.

Из вышесказанного становится ясно, что воздействие на животных рационом, обогащённым фруктозой, в течение 75 сут приводит к формированию стеатогепатита, характеризующегося явлениями мембранодеструкции, признаками жировой, гидропической, а на поздних стадиях — и гиалиновой дистрофии, нарушением гистологической архитектоники морфофункциональных единиц печени.

У животных на фоне нормализации корма через 20 дней наблюдались улучшение гистологической картины — признаки гидропической дистрофии были выражены несколько меньше, доходя до баллонной дистрофии в 53 % случаев. Однако улучшение баллонной структуры печеночных долек не наступило. Так же с прежней частотой продолжали выявляться скопления клеток воспалительного инфильтрата.

В группе мышей с нормализацией корма выявлены жировые включения, которые присутствовали в меньшем количестве, чем в группе контроля, затрагивая 67 % гепатоцитов, и были представлены как мелкокапельными так и среднекапельными включениями. По шкале NAS срезы печени от мышей из группы с нормализацией корма получили среднюю величину 5,4 балла, что всё ещё соответствовало высокой активности стеатогепатита, однако с некоторым улучшением гистологической картины по сравнению с мышами без фармакологической поддержки (табл. 2).

Эффект от нормализации питания присутствует и в биохимических показателях крови, но маркёры цито-

лиза только начинали снижаться к 20 дню лечения. Уровни холестерина и глюкозы заметно снизились, что свидетельствует о влиянии на них не только и не столько поражения печени, сколько эффекта от высокоуглеводного корма (табл. 3).

У животных на фоне применения фосфоглива наблюдали значительное улучшение гистологической картины — признаки гидропической дистрофии были выражены значительно меньше, доходя до баллонной лишь в 35 % случаях, выявлялось небольшое улучшение баллонной структуры печеночных долек. Были выявлены единичные скопления клеток воспалительного инфильтрата не в каждом поле зрения (табл. 2).

В группе мышей, получавших фосфоглив, выявлены жировые включения, которые присутствовали в меньшем количестве  $p \leq 0,05$ , чем в группе контроля, затрагивая только 29 % гепатоцитов, и были представлены преимущественно мелкокапельными и единичными среднекапельными включениями (табл. 2).

Таким образом, по шкале NAS срезы печени мышей, получавших фосфоглив, соответствовали величине в 3,7 балла, что соответствовало средней степени активности НАЖБП и свидетельствует об улучшении гистологической картины после применения фосфоглива.

Фосфоглив снижал содержание малонового диальдегида в гомогенате печени и уровня гиперферментемии при нормализации уровня холестерина, глюкозы и билирубина (табл. 3).

У животных после курса ремаксола наблюдали значительное улучшение гистологической картины печени — признаки гидропической дистрофии были выражены значительно меньше, доходя до баллонной лишь в отдельных случаях ( $12,5 \pm 6$  %). Были выявлены единичные скопления клеток воспалительного инфильтрата и не в каждом поле зрения (табл. 2).

В группе ремаксола обнаружены жировые включения, которые присутствовали лишь в  $26 \pm 8$  % гепатоцитов, и были представлены преимущественно мелко-

Таблица 2. Гистологические показатели печени экспериментальных мышей ( $M \pm m$ )

	Контроль нормы	Контроль экспериментального корма без фармакологической поддержки	Нормализация корма	Фосфоглив	Ремаксол	ремаксол + фосфоглив
Распространённость клеток со стеатозом, %	3 ± 2	82 ± 15	67 ± 7*	29 ± 7*	26 ± 8*	19 ± 9*,**,*
Количество локусов внутридольковой воспалительной инфильтрации (при увеличении 200)	0	1 – 2	1 – 2	0 – 1	0 – 1	0
Баллонная дистрофия, %	0	75 ± 10	53 ± 9*	35 ± 9*	12,5 ± 6*,**	11,1 ± 4*,**
Индекс шкалы NAS, баллы	1,4	6,7 ± 0,7	5,4 ± 0,7*	3,7 ± 1,1*	3,3 ± 0,9*	2,5 ± 0,7*,**,*
Нарушение цитоархитектоники	Нет	Выражено	Выражено	Умеренное	Умеренное	Умеренное

\*  $p < 0,05$  — статистически значимые отличия между сравниваемыми показателями данной группы и группы без фармакологической поддержки;

\*\*  $p < 0,05$  — статистически значимые отличия между сравниваемыми показателями у мышей после применения фосфоглива с одной стороны и группами животных, получавших ремаксол, с другой;

\*\*\*  $p < 0,05$  — статистически значимые отличия между сравниваемыми показателями у мышей после применения ремаксола и комбинации ремаксол + фосфоглив.

капельными и единичными среднекапельными включениями (табл. 2).

Таким образом, по шкале NAS срезы печени мышшей, получавших ремаксол, соответствовали средней величине в 3,3 балла, что свидетельствует об улучшении гистологической картины после применения ремаксола, по сравнению с интактными мышшами.

На фоне применения ремаксола уровень малонового диальдегида в гомогенате печени снизился до референтных значений; были отмечены снижение содержания холестерина крови; уменьшение гиперферментемии; уровень глюкозы и билирубина приблизился к нормальным значениям (табл. 3).

У животных, получавших комбинацию ремаксол + фосфоглив наблюдали значительное улучшение гистологической картины — признаки гидропической дистрофии были выражены значительно меньше, доходя до баллонной лишь в отдельных случаях. Были выявлены единичные скопления клеток воспалительного инфильтрата не в каждом поле зрения (табл. 2).

В печени крыс на фоне комбинации этих препаратов выявлены жировые включения, которые присутствовали лишь в 19 % гепатоцитов, и были представлены преимущественно мелкокапельными и единичными среднекапельными включениями (табл. 2). Таким образом, по шкале NAS срезы печени мышшей данной группы, находящейся на экспериментальном корме, получили среднюю величину NAS — 2,5 балла, что максимально приближается к нормальным показателям и является наилучшим результатом из всех полученных.

Таким образом, при гистологическом исследовании печени мышшей установлены признаки положительного влияния фосфоглива (величина NAS 3,7 балла, по сравнению с исходными 6,7 баллами,  $p < 0,05$ ), и ремаксола (величина NAS 3,3 балла, по сравнению с исходными 6,7 баллами,  $p < 0,05$ ). Значительный эффект был достигнут и в снижении выраженности стеатоза. В группе фосфоглива этот показатель составлял

$29 \pm 7 \%$ , а ремаксола —  $26 \pm 8 \%$ , что статистически значимо отличалось от исходных  $82 \pm 15 \%$  ( $p < 0,05$ ). Хотя величина индекса NAS и процент стеатоза в этих группах не имели статистически-значимого отличия между собой, показатели распространённости баллонной дистрофии различались и составляли  $35 \pm 9 \%$  (по сравнению с исходными  $75 \pm 10$ ) в группе фосфоглива и  $12,5 \pm 6 \%$  — в группе ремаксола, что свидетельствует о большей эффективности последнего ( $p < 0,05$ ). Максимальный эффект был достигнут при применении комбинации обоих исследуемых препаратов: индекс NAS —  $2,5 \pm 0,7$ , баллонная дистрофия —  $11,1 \pm 4$ , что статистически значимо различалось как со значениями до начала использования препаратов, так и с показателями других схем фармакологической поддержки ( $p < 0,05$ ).

Уровень малонового диальдегида в гомогенате печени, уровень билирубина и глюкозы крови мышшей на фоне применения обоих препаратов был в пределах референтных значений; снизился уровень гиперферментемии и холестерина. Таким образом, можно полагать, что и показатели уровня малонового диальдегида в гомогенате печени подтвердили преимущество схем фармакологической поддержки, содержащих ремаксол (табл. 3).

На втором этапе исследования большинство пациентов имело показатели индекса массы тела (ИМТ), соответствующие ожирению 1 – 2 степени. Показатели ИМТ и окружности талии у пациентов исследуемых групп статистически не различались (табл. 4). Что касается биохимических показателей крови, то у пациентов всех групп до начала лечения уровень билирубина в абсолютном большинстве случаев оставался в пределах нормы. У значительной части больных во всех группах до начала терапии (76,7 % пациентов) маркёры цитолитического синдрома находились в районе верхней границы нормы или чуть выше, не достигая, однако, уровня более двух норм (табл. 4). Во всех

Таблица 3. Биохимические показатели крови экспериментальных мышшей

	Норма	Высокоуглеводный корм	Нормализация корма	Фосфоглив	Ремаксол	ремаксол + фосфоглив
Малоновый диальдегид в гомогенате печени	$1,8 \pm 0,3$	$3,5 \pm 0,4$	$3,4 \pm 0,4$	$2,4 \pm 0,3^*$	$2,0 \pm 0,5^*$	$1,9 \pm 0,4^*$
Холестерин крови, ммоль/л	$3 \pm 1,7$	$6,1 \pm 0,5$	$4,1 \pm 0,4^*$	$4,0 \pm 0,4^*$	$3,9 \pm 0,7^*$	$3,9 \pm 0,6^*$
Глюкоза крови, ммоль/л	$5,9 \pm 3$	$7,5 \pm 1,9$	$6,1 \pm 0,3$	$5,8 \pm 0,4$	$5,9 \pm 2,8$	$6,0 \pm 2,5$
АсАт крови, ЕД/л	$94 \pm 5$	$165,0 \pm 6,7$	$159,0 \pm 5,2$	$121,0 \pm 3,9^*$	$110,0 \pm 4,1^{*,**}$	$105,0 \pm 4,6^{*,**}$
АлАт крови, ЕД/л	$51 \pm 7$	$104,2 \pm 5,8$	$96 \pm 4,8$	$79 \pm 6,2^*$	$66 \pm 5,4^{*,**}$	$60 \pm 4,3^{*,**}$
Билирубин крови, мг/дл	$3,4 \pm 0,7$	$3,9 \pm 0,9$	$3,9 \pm 0,8$	$3,3 \pm 0,8$	$3,5 \pm 0,7$	$3,2 \pm 0,7$
ЩФ крови, ЕД/л	$98 \pm 7$	$120,6 \pm 6,8$	$118 \pm 5,4$	$113 \pm 5,1$	$108 \pm 5,6^*$	$102 \pm 6,5^*$

\*  $p < 0,05$  — статистически значимые отличия между сравниваемыми показателями данной группы и группы без фармакологической поддержки;  
 \*\*  $p < 0,05$  — статистически значимые отличия между сравниваемыми показателями у мышшей после применения фосфоглива с одной стороны и группами животных, получавших ремаксол, с другой;

\*\*\*  $p < 0,05$  — статистически значимые отличия между сравниваемыми показателями у мышшей после применения ремаксола и комбинации ремаксол + фосфоглив. (Где в табл. 3 \*\*\*?????)

группах до начала терапии такие маркёры холестаза, как щелочная фосфатаза (ЩФ) и гамма-глутамил-трансфераза (ГГТП), превышали нормальные показатели в большинстве случаев (87,9 % пациентов), то же самое касается и триглицеридов крови (повышены в 90,9 % случаев). Различия этих показателей в исследуемых группах не являлись статистически значимыми. Что касается индекса стеатоза, то у всех больных до начала терапии он составлял от 93,9 до 99,2 у.е.

Во всех группах мы наблюдали нормализацию показателей цитолитического синдрома, причём статистически значимых различий в эффективности по этому параметру выявлено не было. Во всех группах отмечается положительная динамика показателей синдрома холестаза. Терапия ремаксолом привела к более выраженному (12,1 %) эффекту по этому показателю ( $p < 0,05$ ), а комбинированная терапия в сравнении с фосфогливом оказывала больший эффект (24,9 %,  $p < 0,05$ ).

Что касается снижения показателя ГГТП, то здесь не было выявлено статистических различий между разными группами, была отмечена положительная динамика у всех 3 групп пациентов.

Обращало на себя внимание и снижение уровня триглицеридов в крови. Все схемы терапии показали статистически значимую эффективность по этому параметру по сравнению с исходными значениями. Монотерапия ремаксолом была на 10 % более эффективной по этому параметру в сравнении с фосфогливом. Комбинация препаратов по этому параметру оказалась на 16 % эффективнее монотерапии фосфогливом. Статистически значимого отличия между лечением ремаксолом и комбинацией препаратов по этому показателю выявлено не было.

Индекс стеатоза после применения исследуемых схем лечения, статистически достоверно снижался на

30,2 % после терапии ремаксолом, на 20,2 % после фосфоглива и 34,9 % после комбинации ремаксол + фосфоглив, поскольку он зависел от таких показателей, как ГГТП и триглицериды крови. Таким образом, применение схем лечения, содержащих ремаксол, по этому показателю сопровождалось эффектом, более чем на 10 % выше, чем при монотерапии фосфогливом ( $p < 0,05$ ). Достоверных различий в снижении индекса стеатоза между группами, получавшими ремаксол и комбинированную терапию получено не было. Несмотря на положительную динамику, индекс стеатоза всё же оставался повышенным в большинстве случаев, что свидетельствует о необходимости рассматривать метаболический синдром, компонентом которого является НАЖБП как хроническое заболевание. Лечение таких больных обязательно должно включать: обучение пациентов; подбор адекватной диеты; поощрение физических нагрузок; изменение образа жизни; психологическую и социальную поддержку пациента.

## ВЫВОДЫ

1. Установлены признаки положительного влияния на гистологическую структуру печени фосфоглива (NAS =  $3,7 \pm 1,1$ ) и ремаксола (NAS =  $3,3 \pm 0,9$  балла) по сравнению с исходными  $6,7 \pm 0,7$  баллами,  $p < 0,05$ ; распространённость стеатоза гепатоцитов в группе фосфоглива составил  $29 \pm 7\%$ , а ремаксола —  $26 \pm 8\%$ , по сравнению с исходным значением —  $82 \pm 15\%$  ( $p < 0,05$ ); распространённость баллонной дистрофии составляла  $35 \pm 9\%$  в группе фосфоглива и  $12,5 \pm 6\%$  в группе ремаксола (по сравнению с исходными  $75 \pm 10$ ) ( $p < 0,05$ ) в печени мышей с НАЖБП. При помощи комбинации обоих исследуемых препаратов был достигнут более значительный эффект: индекс NAS —  $2,5 \pm 0,7$ , распространённость стеатоза —

Таблица 4. Показатели биохимического и клинического обследования больных с высоким индексом стеатоза до и после лечения ( $M \pm m$ )

	1 группа (фосфоглив)		2 группа (ремаксол)		3 группа (ремаксол + фосфоглив)	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
АсАт, ЕД/л	$54,5 \pm 7,6$	$39,1 \pm 9,8^*$	$53,9 \pm 8,3$	$38,8 \pm 8,9^*$	$54,2 \pm 7,8$	$38,5 \pm 8,4^*$
АлАт, ЕД/л	$43,5 \pm 9,7$	$21,8 \pm 8,5^*$	$44,7 \pm 9,1$	$22,1 \pm 8,7^*$	$43,5 \pm 9,4$	$19,4 \pm 8,9^*$
Билирубин, мкмоль/л	$14,1 \pm 7,4$	$12,1 \pm 5,9$	$13,9 \pm 8,3$	$12,0 \pm 6,1$	$14,4 \pm 8,3$	$11,1 \pm 5,7$
ЩФ, ЕД/л	$185,6 \pm 15,7$	$158,7 \pm 17,1^*$	$184,5 \pm 16,2$	$135,4 \pm 14,9^{*,**}$	$185,3 \pm 16,2$	$111 \pm 9,1^{*,**,*}$
Триглицериды, мг/дл	$270 \pm 15,1$	$190 \pm 15,2^*$	$269 \pm 16,2$	$165,2 \pm 15,7^{*,**}$	$271 \pm 14,2$	$151,1 \pm 14,2^{*,**}$
ГГТП, Ед/л	$125,9 \pm 9,8$	$25 \pm 9,1^*$	$126,2 \pm 8,7$	$24 \pm 9,3^*$	$124 \pm 10,1$	$24 \pm 9,3^*$
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	$32,3 \pm 2,1$	$32,1 \pm 2,2$	$32,1 \pm 1,9$	$31,9 \pm 2,0$	$32,5 \pm 2,4$	$31,9 \pm 2,4$
Окружность талии, см	$109,1 \pm 10,2$	$109 \pm 10,3$	$110,9 \pm 11,1$	$109,6 \pm 11,2$	$109,4 \pm 9,3$	$108,9 \pm 9,0$
Индекс стеатоза, у.е.	$96,9 \pm 2,35$	$77,3 \pm 7,7^*$	$96,5 \pm 2,6$	$67,4 \pm 7,4^{*,**}$	$96,4 \pm 2,2$	$62,7 \pm 7,7^{*,**}$

\*  $p < 0,05$  — статистически значимые отличия между сравниваемыми показателями у больных до и после терапии;

\*\*  $p < 0,05$  — статистически значимые отличия между сравниваемыми показателями у больных после терапии фосфогливом и после применения схем терапии, содержащих ремаксол;

\*\*\*  $p < 0,05$  — статистически значимые отличия между сравниваемыми показателями у больных после терапии ремаксолом и комбинацией ремаксол + фосфоглив.

19,1 ± 9, что статистически значимо различалось как со значениями до начала применения этой комбинации, так и с подобными показателями при других схемах фармакологической поддержки ( $p < 0,05$ ).

2. У пациентов с высоким индексом стеатоза (FLI) этот же показатель достоверно снижался при использовании всех 3 исследуемых схем терапии, достигая 77,3 ± 7,7 в сравнении с 96,9 ± 2,35 ( $p < 0,05$ ) при применении фосфоглива, 67,4 ± 7,4 в сравнении с 96,5 ± 2,6 ( $p < 0,05$ ) при использовании ремаксола и 62,7 ± 7,7 в сравнении с 96,4 ± 2,2 ( $p < 0,05$ ) при комбинированном назначении обоих препаратов. Было выявлено статистически значимое преимущество по этому показателю у схем терапии, содержащих ремаксол, по сравнению с монотерапией фосфогливом ( $p < 0,05$ ). Различий в снижении индекса стеатоза меж-

ду группой, получавшей ремаксол и комбинированную терапию получено не было.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. С. Аметов, М. А. Прудникова, *Эндокринология: Новости. Мнения. Обучение*, № 3, 37 – 38 (2016).
2. Д. А. Атякшин, И. Б. Бухвалов, Т. В. Павлова и др., *Гистохимия: учебно-методическое пособие*, (2018).
3. В. Т. Ивашкин, М. В. Маевская, Ч. С. Павлов и др., *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.*, **26**(2), 24 – 42 (2016).
4. A. Ahmed, R. J. Wong, S. A. Harrison, *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, **13**(12), 2062 – 2070 (2015); doi: 10.1016 / j.cgh.2015.07.029
5. G. Bedogni, S. Bellentani, L. Miglioli, et al., *BMC Gastroenterol.*, **2**(6), 33 (2006); doi: 10.1186 / 1471-230X-6-33
6. C. A. Silaghi, H. Silaghi, H. A. Colosi, et al., *Clujul Med.*, **89**(1), 82 – 88 (2016); doi: 10.15386 / cjmed-54

Поступила 1105.21

## EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF HEPATOPROTECTORS IN THE TREATMENT OF NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

Yu. G. Pritulina<sup>1</sup>, S. E. Prokopenko<sup>1</sup>, I. A. Tulinova<sup>2</sup>, D. M. Rikhanov<sup>3</sup>, and O. A. Rizakhanova<sup>4</sup>

<sup>1</sup> N. N. Burdenko Voronezh State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, ul. Bakhmet'eva 10, Voronezh, 394006 Russia

<sup>2</sup> Voronezh Regional Clinical Center for the Prevention and Control of AIDS, prosp. Patriotov 29b, Voronezh, 394065 Russia

<sup>3</sup> AVA-PETER LLC, Liteiny prosp. 55A, St. Petersburg, 191014 Russia;

<sup>4</sup> I. I. Mechnikov North-Western State Medical University, Piskarevsky prosp. 47, St. Petersburg, 195067 Russia

The article studied the structures and content of lipids in hepatocytes of C57Bl/6 mice with model non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) induced by a hypercaloric diet and subsequently treated with remaxol (single 25 mL/kg dose every other day for 20 days), phosphogliv (lyophilisate for preparing solutions for intravenous administration, single 0.1 mg/kg dose every other for same period), and their combination. The drug effectiveness was evaluated by studying the histological structure of liver sections of C57Bl/6 mice using the NAFLD activity score (NAS). There were signs of a positive effect of both phosphogliv (NAS value of 3.7 ± 1.1 points compared to the initial 6.7 ± 0.7 points,  $p < 0.05$ ) and remaxol (NAS value of 3.3 ± 0.9 points compared to the initial 6.7 ± 0.7 points,  $p < 0.05$ ). Significant success was also achieved in reducing the severity of steatosis in the groups of phosphogliv (29 + 7%) and remaxol (26 + 8%), which were statistically significantly different from the initial values (82 + 15% ( $p < 0.05$ )). Although values the NAS index and the percentage of steatosis in these groups did not have a statistically significant difference between them, the prevalence of balloon dystrophy was different and amounted to 35 + 9% in the phosphogliv group and 12.5 + 6 % in the remaxol group compared to the initial value of 75 + 10, which is indicative of a greater effectiveness of the latter drug ( $p < 0.05$ ). The best therapeutic effect was achieved with a combination of both drugs, showing the NAS index of 2.5 ± 0.7 and balloon dystrophy index of 11.1 ± 4, which differed significantly from the values before treatment and other therapy regimens ( $p < 0.05$ ). At the second stage of the study, the effectiveness of drugs studied was evaluated in a group of 30 patients with high steatosis index (FLI). The steatosis index significantly decreased after using all three studied therapy regimens, reaching 77.3 ± 7.7 vs. 96.9 ± 2.35 ( $p < 0.05$ ) when using phosphogliv (solution for intravenous administration of 20 + 50 mg/mL twice a day for 10 days dose path multiplicity duration), 67.4 ± 7.4 vs. 96.5 ± 2.6 ( $p < 0.05$ ) when using remaxol (400 mL intravenously once a day for 10 days dose path multiplicity duration), and 62.7 ± 7.7 vs. 96.4 ± 2.2 ( $p < 0.05$ ) when combining both drugs. A statistically significant advantage in this indicator was found in therapy regimens containing remaxol as compared to monotherapy with phosphogliv ( $p < 0.05$ ). There were no differences in decrease in the steatosis index between the group receiving remaxol and combination therapy.

**Keywords:** non-alcoholic fatty liver disease; steatosis; remaxol; phosphogliv; hepatocyte structure; dystrophy; steatosis index; mice; clinical study.