

Для корреспонденции

Трушина Элеонора Николаевна – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией иммунологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Адрес: 109240, Российская Федерация, г. Москва,

Устьинский проезд, д. 2/14

Телефон: (495) 698-53-45

E-mail: trushina@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0035-3629>

Трушина Э.Н.¹, Ригер Н.А.¹, Мустафина О.К.¹, Тимонин А.Н.¹, Аксенов И.В.¹, Гусева Г.В.¹, Тутельян В.А.^{1, 2}

Влияние карнозина и α -липоевой кислоты на апоптоз гепатоцитов и цитокиновый профиль при индуцированной жировой дистрофии печени у крыс линии Вистар

Effect of carnosine and α -lipoic acid on hepatocyte apoptosis and the cytokine profile in induced fatty liver disease in Wistar rats

Trushina E.N.¹, Riger N.A.¹, Mustafina O.K.¹, Timonin A.N.¹, Aksenov I.V.¹, Guseva G.V.¹, Tutelyan V.A.^{1, 2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, 109240, г. Москва, Российская Федерация

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Российская Федерация

¹ Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 109240, Moscow, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 119991, Moscow, Russian Federation

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) в настоящее время представляет собой распространенное заболевание печени, выявляемое примерно у 1/3 населения мира. В связи с этим особую актуальность приобретает вопрос изучения патогенетических факторов развития данного заболевания с целью выбора адекватной лекарственной терапии и применения биологически активных веществ, обладающих антиоксидантными и регулируемыми баланс про- и противовоспалительных цитокинов свойствами.

Финансирование. Поисково-аналитическая работа по подготовке рукописи проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках Программы фундаментальных научных исследований (тема НИР № 0529-2019-0058).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Для цитирования: Трушина Э.Н., Ригер Н.А., Мустафина О.К., Тимонин А.Н., Аксенов И.В., Гусева Г.В., Тутельян В.А. Влияние карнозина и α -липоевой кислоты на апоптоз гепатоцитов и цитокиновый профиль при индуцированной жировой дистрофии печени у крыс линии Вистар // Вопросы питания. 2020. Т. 89, № 5. С. 6–16. DOI: 10.24411/0042-8833-2020-10061

Статья поступила в редакцию 25.05.2020. **Принята в печать** 20.09.2020.

Funding. The research was carried out at the expense of subsidies for the fulfillment of a state task within the framework of the Program of fundamental scientific research (research topic No. 0529-2019-0058).

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

For citation: Trushina E.N., Riger N.A., Mustafina O.K., Timonin A.N., Aksenov I.V., Guseva G.V., Tutelyan V.A. Effect of carnosine and α -lipoic acid on hepatocyte apoptosis and the cytokine profile in induced fatty liver disease in Wistar rats. Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]. 2020; 89 (5): 6–16. DOI: 10.24411/0042-8833-2020-10061 (in Russian)

Received 25.05.2020. **Accepted** 20.09.2020.

Цель исследования – оценка влияния минорных биологически активных веществ: карнозина и α -липовой кислоты – на апоптоз гепатоцитов и цитокиновый профиль на экспериментальной модели начального этапа развития НАЖБП.

Материал и методы. Исследования проводили на крысах-самцах линии Вистар со средней исходной массой тела 150 ± 10 г. Животные были разделены на 5 групп по 8 крыс в каждой. В течение 8 нед крысы 1-й (контрольной) группы получали полноценный модифицированный рацион АIN93М, в котором соевое масло было заменено на подсолнечное масло и лярд (1:1). Животные опытных групп потребляли высококалорийный холинодефицитный рацион (ВКХДР), в котором содержание жира составляло 45%, фруктозы – 20% от энергетической ценности рациона. Крысы 2-й группы получали ВКХДР без добавок, 3-й группы – с добавлением карнозина в дозе 75 мг на 1 кг массы тела, 4-й группы – с добавлением α -липовой кислоты в дозе 75 мг на 1 кг массы тела, 5-й группы – с добавлением карнозина и α -липовой кислоты в суммарной дозе 150 мг на 1 кг массы тела. Апоптоз гепатоцитов крыс исследовали методом проточной цитометрии. Окрашивали гепатоциты аннексином V и витальным красителем 7-аминоактиномицином с последующей детекцией на проточном цитофлуориметре. Содержание цитокинов и хемокинов [интерлейкины (IL) -1 α , -10, -17A; колониестимулирующий фактор макрофагов (M-CSF), макрофагальный белок воспаления 1 α (MIP-1 α) и 3 α (MIP-3 α), хемокин, выделяемый Т-клетками при активации (RANTES)] в цитоплазматической фракции ткани печени определяли методом мультиплексного иммуноанализа.

Результаты и обсуждение. На модели начального этапа развития НАЖБП у самцов крыс линии Вистар обнаружена активация процессов апоптоза гепатоцитов по сравнению с животными, получавшими контрольный сбалансированный рацион. Обогащение ВКХДР карнозином и α -липовой кислотой оказало протективный эффект на гепатоциты со снижением интенсивности апоптоза до уровня у крыс контрольной группы. Под влиянием ВКХДР в цитоплазматической фракции ткани печени обнаружено повышение содержания M-CSF и MIP-1 α и снижение уровней MIP-3 α и RANTES, стимулирующих миграцию и дифференцировку различных иммунорегуляторных популяций в паренхиме на раннем этапе формирования жирового гепатоза. При этом снижение уровня провоспалительных цитокинов IL-17A и IL-1 α и увеличение продуцируемого преимущественно Treg-популяциями IL-10 свидетельствует об отсутствии выраженных воспалительных изменений в печени самцов крыс линии Вистар на начальных этапах развития жировой дистрофии.

Заключение. Обогащение ВКХДР как карнозином, так и α -липовой кислотой у крыс линии Вистар оказало протективный эффект на гепатоциты со снижением интенсивности апоптоза до уровня у крыс контрольной группы. Рост соотношения IL-10/IL-17A свидетельствует об активации противовоспалительных механизмов за счет функционального преобладания Treg-клеток над лимфоцитами Th1/Th17.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, жировой гепатоз, карнозин, α -липовая кислота, цитокины, хемокины

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is now a common liver disease affecting about a third of the world's population. In this regard, the issue of studying the pathogenetic factors of the development of this disease in order to select adequate drug therapy and biologically active substances with antioxidant properties regulating the balance of pro- and anti-inflammatory cytokines is of particular relevance.

The aim of the study was to assess the effect of minor biologically active substances – carnosine and α -lipoic acid on hepatocyte apoptosis and the cytokine profile in the experimental model of the initial stage of NAFLD.

Material and methods. The studies were performed on male Wistar rats with initial body weight of 150 ± 10 g. Animals were divided into 5 groups of 8 rats each. Within 8 weeks, rats of the 1st group (control) received a complete modified diet AIN93M, in which soybean oil was replaced with sunflower oil and lard (1:1). Rats of the experimental groups consumed high-calorie choline-deficient diet (HCCDD), in which fat content was 45%, fructose content – 20% of the energy value of the diet. Rats of the 2nd group were fed HCCDD without any supplements, the 3rd group – with the addition of carnosine (75 mg/kg body weight), the 4th group – with the addition of α -lipoic acid (75 mg/kg body weight), the 5th group – with the addition of carnosine and α -lipoic acid in a total dose of 150 mg/kg body weight. The study of rat hepatocyte apoptosis was performed by flow cytometry. Hepatocytes were stained with annexin V and vital dye 7-aminoactinomycin, followed by detection on a flow cytometer. The content of cytokines and chemokines (IL-1 α , IL-10, IL-17A, M-CSF, MIP-1 α , MIP-3 α , RANTES) in the cytoplasmic fraction of liver tissue was determined by multiplex immunoassay.

Results and discussion. On the model of the initial stage of development of NAFLD in male Wistar rats the enrichment of HCCDD with carnosine and α -lipoic acid had demonstrated a protective effect on hepatocytes with a decrease in apoptosis intensity to the level in control rats. Under the influence of HCCDD, an increase in the content of M-CSF and MIP-1 α and a decrease in the levels of MIP-3 α and RANTES, stimulating the migration and differentiation of various immunoregulatory populations to the parenchyma at an early stage of the formation of fatty hepatosis, in the cytoplasmic fraction of liver tissue were detected. Moreover, a decrease in the level of proinflammatory cytokines IL-17A and IL-1 α and an increase in IL-10 produced mainly by Treg-populations indicate the absence of pronounced inflammatory changes in the liver of male Wistar rats at the initial stages of development of fatty dystrophy.

Conclusion. Enrichment of HCCDD with both carnosine and α -lipoic acid in Wistar rats had a protective effect on hepatocytes with a decrease in apoptosis to a level in control rats. The increase in the IL-10/IL-17A ratio indicates the activation of anti-inflammatory mechanisms due to the functional predominance of Treg-cells over Th1/Th17 lymphocytes.

Keywords: nonalcoholic fatty liver disease, fatty hepatosis, carnosine, α -lipoic acid, cytokines, chemokines

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) в настоящее время представляет собой распространенное заболевание печени, выявляемое примерно у 1/3 населения мира [1, 2]. Патогенез НАЖБП представлен сложными механизмами, включающими запуск

процессов воспаления и гибели гепатоцитов (некроз, апоптоз), инсулинорезистентности, активации клеток Купфера, фиброгенеза, в ходе которых формируется неалкогольный стеатогепатит, затем трансформирующийся в фиброз и цирроз печени. В основе развития

НАЖБП лежит периферическая инсулинорезистентность, способствующая накоплению жиров в печени и повышению уязвимости ее клеток ко многим факторам, таким как окислительный стресс, с последующим перекисным окислением липидов [3]. Высококалорийное питание у генетически предрасположенных лиц вызывает выраженную постпрандиальную гиперлипидемию, а также активацию липолиза и, как следствие, избыточное образование свободных жирных кислот [4]. Избыток свободных жирных кислот приводит к ингибированию Na^+/K^+ -аденозинтрифосфатов (АТФазы), угнетению гликолиза, разобщению окислительного фосфорилирования, активации PPAR- α (рецепторов, активируемых пероксисомным пролифератором- α) пути утилизации избытка свободных жирных кислот. При снижении защитных свойств мембраны гепатоцитов происходит прямое или опосредованное окислительным стрессом повреждение митохондрий, апоптоз и некроз гепатоцитов. Апоптоз может быть опосредован либо внешним (рецепторным) путем, либо внутренним (митохондриальным) путем, основанным на повреждении клеточных органелл. Оба пути реализуются через единый механизм, индуцируемый расщеплением каспазы-3. В клетках печени апоптоз индуцируется связыванием поверхностных рецепторов смерти, в том числе Fas (CD95), рецепторов фактора некроза опухоли 1 (TNF-R1) и рецепторов родственного фактору некроза опухоли апоптоз-индуцирующего лиганда (TRAIL-R1 и -R2) [5, 6]. В исследовании на мышах линии C57BL/6J, которые потребляли рацион с высоким содержанием фруктозы (35% по калорийности) в течение 3 нед, обнаружена активация процесса апоптоза гепатоцитов, подтвержденная повышением соотношения белков Bax/Bcl2 и активности поли(АДФ-рибозо)полимеразы (PARP-1), соответственно, в 2 и 1,5 раза по сравнению с данными показателями в контрольной группе мышей, находившихся на стандартном полноценном рационе [7]. В настоящее время показатели апоптоза рассматриваются в качестве перспективных биомаркеров прогрессирования НАЖБП [8–10].

При прогрессировании НАЖБП основными медиаторами воспалительного процесса являются цитокины. Некоторым из них, например интерлейкину-6 (IL-6) и фактору некроза опухоли альфа (TNF- α), отводится ключевая роль в этом процессе [11–13]. Провоспалительные цитокины способны стимулировать воспаление, а также регулировать апоптоз и некроз клеток печени, индуцировать фиброз. Члены семейства TNF-белков, в том числе TNF- α , CD95L, TRAIL (TNF SF10), – наиболее известные индукторы апоптоза гепатоцитов. TNF- α является ключевым фактором в прогрессировании НАЖБП, в частности неалкогольного стеатогепатита (НАСГ). Известно, что TNF- α способен инициировать апоптоз и некроз гепатоцитов, но при отсутствии жировой дистрофии этого не происходит, так как TNF- α -целевые гены обычно экспрессируются на минимальном уровне [14]. Изучению цитокинового профиля в сыворотке крови при жировой дистрофии печени и прогрессировании НАЖБП с формированием фиброза и цирроза посвя-

щено большое количество исследований. Однако спектр и механизмы регуляции изменений цитокинов и хемокинов в печени на начальных этапах развития жирового гепатоза остаются неизученными.

В связи с этим **целью** исследования была оценка влияния минорных биологически активных веществ: карнозина и α -липоевой кислоты – на апоптоз гепатоцитов и цитокиновый профиль на экспериментальной модели начального этапа развития НАЖБП на крысах.

Материал и методы

Исследования проводили на крысах-самцах линии Вистар со средней исходной массой тела 150 ± 10 г. Животные были разделены на 5 групп по 8 крыс в каждой. В течение 8 нед крысы 1-й (контрольной) группы получали полноценный модифицированный рацион AIN93M, в котором соевое масло заменено на подсолнечное масло и лярд (1:1) (энергетическая ценность рациона – 3,9 ккал/г сухого корма). Содержание жира в рационе составляло 9% от его энергетической ценности. Крысы 2-й группы потребляли высококалорийный холинодефицитный рацион (ВКХДР), содержание жира в котором составляло 45%, фруктозы – 20% от энергетической ценности рациона (энергетическая ценность рациона – 4,9 ккал на 1 г сухого корма). Крысы 3-й группы получали ВКХДР с добавлением карнозина (L-Carnosine, степень чистоты – не менее 99%; Qingdao Samin Chemical Co., LTD, КНР) в дозе 75 мг на 1 кг массы тела. Крысы 4-й группы получали ВКХДР с добавлением α -липоевой кислоты (DL- α -Lipoic acid, степень чистоты – не менее 99%; Chem-Impex International, Inc., США) в дозе 75 мг на 1 кг массы тела. Крысы 5-й группы получали ВКХДР с добавлением комплекса карнозин – липоевая кислота (соотношение карнозин/липоевая кислота – 52/48; патент RU 2 647 435 C2; ФГБНУ «Научный центр неврологии», РФ) в суммарной дозе 150 мг на 1 кг массы тела. Среднесуточное потребление сухого корма животными, получавшими полноценный рацион (1-я группа), составило 19 г; потребление ВКХДР крысами 2–5-й групп составило в среднем 16 г сухого корма на крысу в сутки.

Крысы находились в пластиковых клетках с подстилкой из опилок при температуре от 20 до 24 °С, влажности воздуха 45–65%, искусственном освещении с равной продолжительностью светлого и темного периодов. Животные получали воду *ad libitum*, рацион – из расчета 20 г сухого корма на крысу в сутки. Наблюдение за поедаемостью корма, общим состоянием животных: внешним видом, поведением, двигательной активностью, качеством шерстного покрова проводили ежедневно; массу тела крыс измеряли еженедельно. По окончании эксперимента предварительно анестезированных эфиром животных умерщвляли путем декапитации. Условия содержания и работы с животными соответствовали действующим российским требованиям (ГОСТ 33044-2014 Принципы надлежащей лабораторной практики).

Исследование апоптоза гепатоцитов крыс проводили методом проточной цитометрии. Суспензию гепатоцитов получали с помощью автоматической системы для механической гомогенизации ткани BD Medimachine (Becton Dickinson and Company, США). Однократно отмывали клетки забуференным фосфатами 0,15 М раствором хлорида натрия, pH 7,2–7,4 (PBS) и готовили пробу с концентрацией клеток $1 \times 10^6/\text{см}^3$. Гепатоциты окрашивали конъюгированным с флуорохромом аннексином V (AnV-FITC) и витальным красителем 7-аминоактиномицином (7-AAD) (Beckman Coulter, США) с последующей детекцией на проточном цитофлуориметре FC-500 (Beckman Coulter, США). Иссеченные кусочки печени и клеточную суспензию в процессе работы хранили на льду. Результаты представлены в виде процентного соотношения живых клеток и гепатоцитов, находящихся на разных стадиях апоптоза на 100 000 просчитанных объектов в каждом образце.

Содержание цитокинов и хемокинов [интерлейкины (IL) -1 α , -10, -17A; колониестимулирующий фактор макрофагов (M-CSF), макрофагальный белок воспаления 1 α (MIP-1 α), макрофагальный белок воспаления 3 α (MIP-3 α), хемокин, выделяемый Т-клетками при активации (Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted, RANTES) в цитоплазматической фракции ткани печени, приготовленной по ранее описанной методике] [15] определяли методом мультиплексного иммуноанализа с использованием базового набора Bio-Plex Pro™ Reagent Kit V, дополняемого реагентами Bio-Plex Pro™ (Rat Cytokine IL-1 α Set, Rat Cytokine IL-10 Set, Rat Cytokine IL-17A Set, Rat Cytokine M-CSF Set, Rat Cytokine MIP-1 α Set, Rat Cytokine MIP-3 α Set, Rat Cytokine RANTES Set) (Bio-Rad Laboratories, Inc., США), на анализаторе Luminex 200 (Luminex Corporation, США) по технологии xMAP с использованием программного обеспечения Luminex xPONENT Version 3.1.

Статистический анализ данных выполняли с использованием двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA в пакете программ SPSS 20.0 (IBM, США). Гипотезу о различии функции распределения дан-

ных в сравниваемых группах дополнительно проверяли с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни. Различия принимали за достоверные на уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования апоптоза гепатоцитов экспериментальных животных представлены в таблице.

Как следует из представленных в таблице данных, у животных 2-й группы, которые получали ВКХДР, показатели апоптоза гепатоцитов статистически значимо ($p < 0,05$) отличались от показателей у крыс контрольной группы (по относительному содержанию живых и мертвых клеток, сумме клеток в апоптозе).

Изученные показатели апоптоза гепатоцитов у крыс 3-й группы, которым в рацион ВКХДР добавляли карнозин (β -аланил-L-гистидин) в количестве 75 мг на 1 кг массы тела, не имели статистически значимых отличий от показателей животных контрольной группы, но имели статистически значимо ($p < 0,05$) большее относительное содержание живых клеток и, соответственно, меньшее относительное содержание клеток в апоптозе по сравнению с показателями апоптоза у животных 2-й группы (см. таблицу).

Мембранопротекторные и антиоксидантные свойства карнозина служат основой для использования в терапии широкого спектра заболеваний, патогенетическим фактором развития которых является окислительный стресс. Установлено наличие у карнозина супероксидперехватывающей активности, способности нейтрализовать синглетный кислород и гидроксил-радикал, сохранять активность мембранных ферментов в условиях индукции перекисного окисления [16]. Особенность карнозина заключается в сочетании прямых антиоксидантных эффектов, направленных на нейтрализацию активных форм кислорода, с одной стороны, и модулирующего действия на активность вовлеченных в развитие окислительного стресса ферментов – с другой [17]. Кроме того, в исследованиях *in vitro* установлено положительное влияние карнозина

Апоптоз гепатоцитов экспериментальных животных, % ($M \pm m$)

Apoptosis of hepatocytes in experimental animals, % ($M \pm m$)

Группа животных <i>Group of animals</i>	Живые клетки <i>Living cells</i>	«Ранний» апоптоз <i>«Early» apoptosis</i>	«Поздний» апоптоз <i>«Late» apoptosis</i>	Сумма клеток в апоптозе <i>Total number of cells in apoptosis</i>	Мертвые клетки <i>Dead cells</i>
1-я	94,33 $\pm$ 0,52	4,99 $\pm$ 0,46	0,45 $\pm$ 0,09	5,33 $\pm$ 0,48	0,21 $\pm$ 0,06
2-я	92,36 $\pm$ 0,76*	6,35 $\pm$ 0,54	0,60 $\pm$ 0,11	6,95 $\pm$ 0,64*	0,69 $\pm$ 0,14*
3-я	94,54 $\pm$ 0,29**	4,73 $\pm$ 0,22**	0,39 $\pm$ 0,09	5,11 $\pm$ 0,27**	0,34 $\pm$ 0,10**
4-я	93,19 $\pm$ 1,18	5,96 $\pm$ 0,90	0,75 $\pm$ 0,57	6,75 $\pm$ 1,43	0,09 $\pm$ 0,05***, ***
5-я	95,3 $\pm$ 0,40**	4,21 $\pm$ 0,35**	0,31 $\pm$ 0,04**	4,53 $\pm$ 0,37**	0,15 $\pm$ 0,03**

Примечание. Статистически значимое отличие ($p < 0,05$) от показателя: * – контрольной группы; ** – 2-й группы; *** – 3-й группы. Обозначения: живые клетки – AnV-FITC-/7-AAD-; «ранний» апоптоз – AnV-FITC+/7-AAD-; «поздний» апоптоз – AnV-FITC+/7-AAD+; мертвые клетки – AnV-FITC-/7-AAD+.

Note. Statistically significant difference ($p < 0.05$) compared with: * – control group; ** – 2nd group; *** – 3rd group. Designations: Living cells – AnV-FITC-/7-AAD-; «Early» apoptosis – AnV-FITC+/7-AAD-; «Late» apoptosis – AnV-FITC+/7-AAD+; Dead cells – AnV-FITC-/7-AAD+.

на выживаемость и пролиферацию клеток 1608hTERT (клон иммортализованных фибробластов кожи человека) [18].

Показатели апоптоза гепатоцитов у крыс 4-й группы, которым в рацион ВКХДР добавляли α -липоевую кислоту (75 мг на 1 кг массы тела), не имели статистически значимых различий с показателями животных контрольной группы (см. таблицу). По сравнению с показателями апоптоза у крыс 2-й группы обнаружено уменьшение процента мертвых клеток ($p < 0,05$). Известно, что α -липоевая кислота является коэнзимом митохондриального мультиферментного комплекса, катализирующего окислительное декарбоксилирование α -кетокислот. Она выполняет роль липофильного антиоксиданта, при введении в организм восстанавливается до дигидролипоевой кислоты, которая и обеспечивает нейтрализацию супероксидов [19, 20]. На модели ревматоидного артрита у крыс [21] выявлено увеличение активности каспаз в мышцах экспериментальных животных. Так, активность каспазы-3 и каспазы-8 возрастала соответственно в 3,1 и 2,6 раза по сравнению с показателями контрольных животных. Внутривентральное введение α -липоевой кислоты в дозе 35 мг на 1 кг массы тела сопровождалось уменьшением активности этих ферментов соответственно в 1,4 и 1,3 раза по сравнению с животными контрольной группы. Снижение уровня апоптотических процессов в присутствии α -липоевой кислоты авторы объясняют уменьшением интенсивности свободнорадикального окисления. Данный эффект рассматривается авторами не только как самостоятельный антиоксидантный потенциал α -липоевой кислоты за счет наличия двух тиоловых групп в молекуле, но и как положительное воздействие на функционирование других антиоксидантных систем в организме.

Совместное введение в рацион крыс 5-й группы, которые получали ВКХДР, карнозина и α -липоевой кислоты оказало ингибирующий эффект на развитие апоптоза гепатоцитов (см. таблицу). Все изученные показатели апоптоза не отличались от таковых у крыс контрольной группы и имели статистически значимые отличия по всем изученным параметрам апоптоза от показателей крыс 2-й опытной группы (см. таблицу).

Полученные результаты свидетельствуют о протективном эффекте биологически активных веществ: карнозина и α -липоевой кислоты – при их раздельном и совместном добавлении в рацион крыс на апоптоз гепатоцитов при морфологически подтвержденном жировом гепатозе (данные не приводятся).

При анализе цитокинового профиля в цитоплазматической фракции ткани печени у животных 2-й группы, получавших ВКХДР, выявлено статистически значимое повышение содержания IL-10, M-CSF и MIP-1 α ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (рис. 1, 2). Уровни цитокинов IL-1 α , IL-17A и хемокинов MIP-3 α , RANTES статистически значимо снизились ($p < 0,05$) по сравнению с этими показателями у крыс контрольной группы (см. рис. 1, 2).

При добавлении в рационы карнозина уровни IL-10 и MIP-1 α сохранялись повышенными ($p < 0,05$), а содержание IL-17A, IL-1 α и RANTES в цитоплазматической фракции ткани печени оставалось сниженным (см. рис. 1, 2) по сравнению с контролем ($p < 0,05$), при этом содержание IL-17A ($p < 0,1$) и IL-1 α ($p < 0,05$) было ниже по сравнению с показателем 2-й группы животных. Содержание в печени MIP-3 α возвращалось к контрольным значениям. Добавка в рационы α -липоевой кислоты способствовала снижению содержания IL-10 ($p < 0,1$) и увеличению RANTES ($p < 0,1$) до уровней в контрольной группе. При этом уровень MIP-1 α увеличился ($p < 0,05$), а содержание IL-17A, IL-1 α , M-CSF и MIP-3 α уменьшилось (см. рис. 1, 2; $p < 0,05$) по сравнению с животными, потреблявшими контрольный рацион. При сравнении данных с показателями животных 2-й группы обнаружено статистически значимое ($p < 0,05$) снижение содержания IL-17A, IL-1 α и M-CSF и тенденция к повышению уровня MIP-1 α ($p < 0,1$).

Совместное обогащение рациона крыс карнозином и α -липоевой кислотой привело к снижению ($p < 0,05$) уровней IL-10, IL-1 α , MIP-3 α и RANTES по сравнению с контрольной группой (см. рис. 1, 2). Продукция и содержание MIP-1 α оставались выше по сравнению с контролем ($p < 0,05$), а уровни IL-17A и M-CSF не отличались от показателей 1-й группы (см. рис. 1, 2). При сравнении с показателями крыс 2-й группы статистически значимые отличия ($p < 0,05$) отмечены только в снижении содержания IL-10 и MIP-3 α .

Отношение уровня IL-10, продуцируемого преимущественно Трег-лимфоцитами, к IL-17A, основная часть которого является показателем секреторной активности Th17 [22], возрастало по сравнению с контролем как на фоне потребления ВКХДР, так и при введении в рацион α -липоевой кислоты и карнозина (рис. 3; $p < 0,05$). При сочетании в рационе α -липоевой кислоты и карнозина статистически значимого увеличения IL-10/IL-17A по сравнению с контролем не выявлено.

Несбалансированное питание и избыточное накопление жировых отложений приводят к тканевой гипоксии в результате дисрегуляции в молекулярных механизмах гомеостаза жирных кислот, митохондриальной дисфункции и развитию окислительного стресса. Прогрессирующее ожирение и вызванное гипоксией хроническое воспаление сопровождаются регуляторными нарушениями в инсулинозависимом сигнальном пути и становятся основными причинами тканевой резистентности к инсулину [23]. Указанные изменения в зависимости от степени выраженности нарушений обмена веществ тесно связаны с механизмами цитокиновой регуляции метаболизма при формирующемся ожирении, вызывая цитокиновую дисрегуляцию. Жировая дистрофия неадипозных тканей приводит к увеличению клеточной миграции из кровяного русла в очаги адипогенеза, активации элементов тканевой стромы и лимфоидных органов к продукции факторов, регулирующих вялотекущее воспаление [24, 25]. За счет этого наблюдается рост одних и снижение содержания дру-

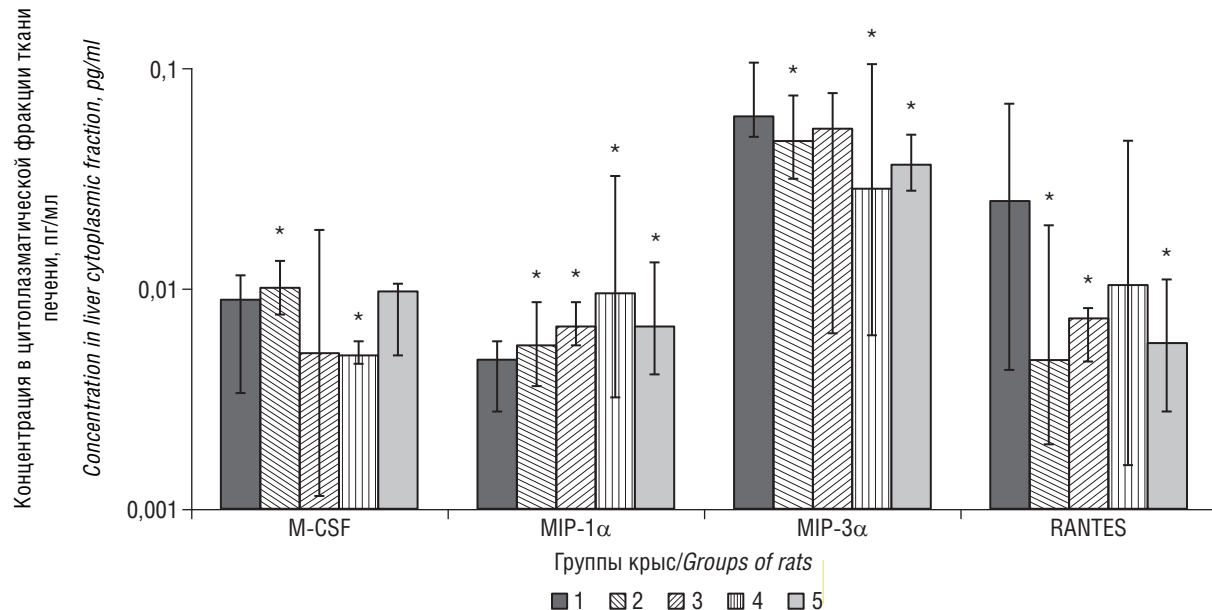


Рис. 1. Содержание в ткани печени колониестимулирующего фактора макрофагов (M-CSF), макрофагального белка воспаления 1α (MIP-1α) и 3α (MIP-3α), хемокина, выделяемого Т-клетками при активации (RANTES) [Me (min–max)]

* – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) в сравнении с показателем контрольной группы.

Fig. 1. The content in liver tissue: macrophage colony stimulating factor (M-CSF), macrophage inflammatory protein-1α (MIP-1α), macrophage inflammatory protein-3α (MIP-3α), regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted (RANTES) [Me (min–max)]

* – $p < 0.05$ – compared with control group.

гих цитокинов в цитоплазматической фракции ткани печени под влиянием ВКХДР, карнозина и α-липоевой кислоты (см. рис. 1–3).

Печень, состоящая на 20% из непаренхиматозных клеток, кроме обеспечения метаболического гомеостаза, участвует в регуляции иммунитета и иммунной толерантности. В избыточном накоплении жировых включений и формировании гепатоза с апоптотическими изменениями паренхимы, особенно при потреблении животными ВКХДР (см. таблицу), ведущая роль принадлежит синусоидальным эндотелиальным клеткам (HSC). Кроме того, в этих процессах участвуют дендритные клетки, макрофаги и мигрирующие из сосудистого русла гранулоциты, моноциты и лимфоидные популяции [26, 27]. С этим согласуется обнаруженное среди хемокинов в печени статистически значимое возрастание содержания M-CSF при потреблении крысами ВКХДР и уровня MIP-1α при всех опытных рационах по сравнению с контролем (см. рис. 1). Напротив, содержание хемоаттрактантов для лимфоидных популяций MIP-3α и RANTES может не увеличиваться, а снижаться на начальных этапах жирового гепатоза (см. рис. 1) [28].

Активация и способность синусоидальных скоплений HSC к росту и накоплению липидов не зависит ни от исследуемой модели, ни от характера альтерирующего воздействия (пищевое, токсическое и т.п.). Установлено, что этот феномен гипертрофии тесно связан с продукцией коллагена и степенью выраженности фиброза в печени [29, 30].

При развитии жирового гепатоза в HSC активируется экспрессия большого числа генов (в частности, *Ki-67*, *CXCL14*, семейство ингибиторов апоптоза – IAP, холестерин 25-гидроксилаза и многих др.), регулирующих процессы пролиферации и играющих защитную роль в выживаемости непаренхиматозных клеток печени при развитии фиброзных изменений [26].

Активация, или супрессия, генов хемокинов CCL3 (MIP-1α), CCL4 (MIP-3α), CLL5 (RANTES), изменение содержания которых обнаружено в нашем исследовании (см. рис. 1, 2), а также активация семейства лигандов CXCL14 выступают при жировой дистрофии важными сигналами для мобилизации иммунных клеток в очаги воспаления и формирующейся фиброзно-дистрофической трансформации паренхимы печени [28]. Кроме того, позитивная индукция сигнальных путей: холестерин 25-гидроксилаза (CH25H), транскрипционные факторы (sterol regulatory element-binding protein) SREBP-1 и SREBP-2 – способствует приобретению HSC схожего с адипоцитами фенотипа и избыточному накоплению липидов [29, 30].

Среди интерлейкинов в печени крыс 2-й группы выявлено значимое ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой снижение уровня провоспалительных цитокинов IL-17A и IL-1α и прогрессивный рост продуцируемого преимущественно Treg-популяциями IL-10 (см. рис. 2). Это можно расценить как косвенные признаки отсутствия явных воспалительных изменений в печени на начальном этапе жировой дистрофии. На ранних этапах жировой трансформации печеночные дендритные клетки (DCs), распознавая присутствующие в очагах воспаления

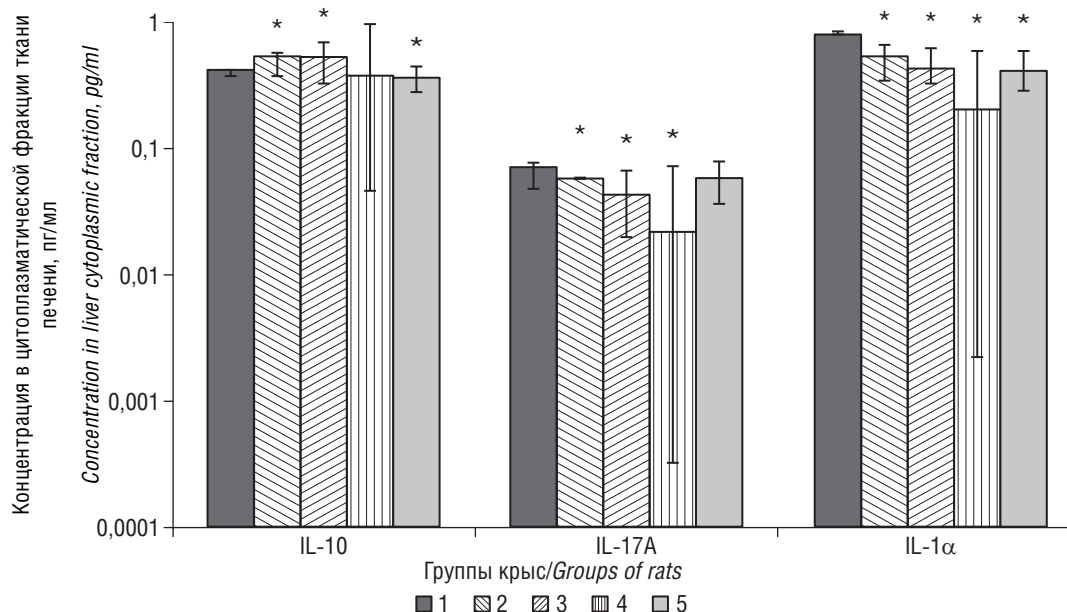


Рис. 2. Содержание в ткани печени интерлейкинов IL-10, IL-17A и IL-1α [Me (min–max)]

* – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) в сравнении с показателем контрольной группы.

Fig. 2. Content of interleukins in liver tissue: IL-10, IL-17A и IL-1α [Me (min–max)]

* – $p < 0.05$ – compared with control group.

антигены (процесс, как и активация непаренхиматозных клеток, неспецифичен), активируют цитокиновые сети позитивной дифференцировки и миграции Treg за счет нарастания продукции и увеличения общего и тканевого (преимущественно в селезенке) содержания IL-10. При дистрофических изменениях в печени (независимо от этиологического фактора) неизбежно происходят морфофункциональные изменения в селезенке [25, 31, 32]. В результате нарастает содержание в печени IL-10 и соотношение IL-10/IL-17A за счет активации Treg-популяций на фоне как ВКХДР, так и добавления антиоксидантов. Дисрегуляция и блокада этих механизмов при прогрессировании инсулинорезистентности и ожирении приводят к формированию очагов фиброза, повышению выброса провоспалительных факторов, метаболическим нарушениям и печеночной дисфункции [27].

Снижение содержания цитокинов IL-17A и IL-1α в печени крыс 3-й и 4-й групп по сравнению с крысами 2-й группы и контрольной, увеличение соотношения IL-10/IL-17A свидетельствует о том, что используемые в рационах биологически активные вещества: карнозин и α-липовая кислота – способны уменьшать воспалительные изменения при наблюдаемой жировой дистрофии печени на фоне ВКХДР. Однако механизмы положительного влияния этих добавок различаются и не до конца изучены. В частности, α-липовая кислота – природный эндогенный антиоксидант, действует как агонист PPAR-γ, уменьшая проявления окислительного стресса. Предполагается, что α-липовая кислота может оказывать метаболический и иммуномодулирующий эффект при воспалительных процессах различного генеза.

Было показано, что α-липовая кислота значительно снижает процентное содержание Th1 и Th17. Напротив, наблюдается стимуляция дифференцировки и созревания Treg-популяций в селезенке и системная индукция PPAR-γ сигнальных путей с ингибированием воспалительных реакций [33]. При этом на рис. 1 показано, что добавление в рацион α-липовой кислоты вызывает тенденцию к росту хемоаттрактанта для лимфоцитов RANTES по сравнению с крысами, потреблявшими ВКХДР. На моделях с депрессией генов PPAR-γ/α или блокадой PPAR в печени, напротив, наблюдаются избыточное накопление липидов с развитием жирового гепатоза и воспалительная трансформация паренхимы [34].

Карнозин, как и α-липовая кислота, является природным антиоксидантом и обладает способностью улучшать метаболические процессы на моделях диабета у животных. Механизмы этого влияния до сих пор не полностью расшифрованы. Было показано, что карнозин снижает уровень циркулирующего связывающего инсулиноподобного фактора роста 1 (IGFBP1) и экспрессию этого белка в печени за счет прямой супрессии индуцируемого гипоксией фактора-1α (HIF-1α) – центрального медиатора, индуцирующего продукцию IGFBP1 на фоне гипоксии. С другой стороны, карнозин повышает уровень циркулирующего инсулина, и за счет снижения содержания глюкозы возрастает его концентрация в плазме [35]. Уровень IGFBP1 увеличивается системно и в печени при воспалительных процессах, окислительном стрессе и ожирении. Этот белок вовлечен в регуляцию процессов апоптоза в печени. Инсулин, уровень которого возрастает при добавлении карнозина,

прямо супрессирует промоутеры IGFBP1 – протеинкиназу B (Akt) и транскрипционный фактор FoxO1 (Forkhead box O1). Медиаторы воспаления: TNF- α , IL-1 α , IL-1 β и IL-6 – способны индуцировать экспрессию мРНК и продукцию IGFBP1 *in vitro*. Семейство IL-1 – основные индукторы биосинтеза IGFBP1 при воспалении [36]. Снижение содержания IL-1 α ($p < 0,05$ в сравнении с контролем и со 2-й группой) и IL-17A ($p < 0,05$ с контролем, $p < 0,1$ со 2-й группой) за счет потребления животными карнозина можно расценить как инсулинонезависимый путь редукции уровня IGFBP1 в механизмах супрессии воспаления, уменьшения количества клеток в апоптозе и улучшения метаболических процессов при жировом гепатозе. Однако стоит отметить, что при сочетанном применении карнозина и α -липоевой кислоты в дозе 150 мг на 1 кг массы тела не удалось достичь суммирования противовоспалительных эффектов, наблюдаемых при раздельном использовании данных биологически активных веществ.

Под влиянием ВКХДР у крыс 2-й группы в цитоплазматической фракции ткани печени обнаружено повышение содержания M-CSF и MIP-1 α и снижение уровней MIP-3 α и RANTES, стимулирующих миграцию и дифференцировку различных иммунорегуляторных популяций в паренхиму на раннем этапе формирования жирового гепатоза. При этом снижение уровня провоспалительных цитокинов IL-17A и IL-1 α и увеличение содержания IL-10 свидетельствуют об отсутствии выраженных воспалительных изменений в печени самцов крыс линии Вистар на начальных этапах развития жировой дистрофии.

Заключение

Обогащение ВКХДР как карнозином, так и α -липоевой кислотой у крыс линии Вистар оказало протективный эффект на гепатоциты со снижением интенсивности

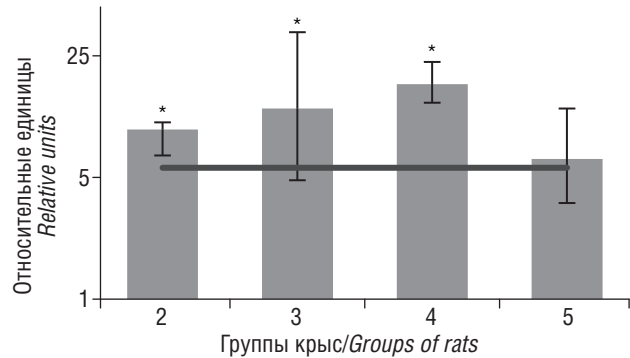


Рис. 3. Изменение соотношения IL-10/IL-17A

Прямая линия – IL-10/IL-17A в контрольной группе; * – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) в сравнении с показателем контрольной группы.

Fig. 3. Changes in the IL-10 / IL-17A ratio

Straight line – IL-10/IL-17A in the control group; * – $p < 0.05$ – compared with control group.

апоптоза до уровня у крыс контрольной группы. Рост соотношения IL-10/IL-17A свидетельствует об активации противовоспалительных механизмов за счет функционального преобладания Treg-клеток над лимфоцитами Th1/Th17.

Апоптоз гепатоцитов при алиментарно-индуцированной дистрофии печени является определяющим фактором развития прогрессирующих форм неалкогольного жирового гепатоза. В связи с этим особую актуальность приобретает вопрос выбора адекватной лекарственной терапии и применения биологически активных веществ, обладающих антиоксидантными и регулирующими баланс про- и противовоспалительных цитокинов свойствами.

Сведения об авторах

Трушина Элеонора Николаевна (Eleonora N. Trushina) – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией иммунологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Российская Федерация)

E-mail: trushina@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0035-3629>

Ригер Николай Александрович (Nikolay A. Riger) – доктор медицинских наук, профессор, главный специалист лаборатории иммунологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Российская Федерация)

E-mail: riger@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0001-7149-2485>

Мустафина Оксана Константиновна (Oksana K. Mustafina) – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Российская Федерация)

E-mail: mustafina@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0001-7231-9377>

Тимонин Андрей Николаевич (Andrey N. Timonin) – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории иммунологии ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Российская Федерация)

E-mail: andrey8407@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-6087-6918>

Аксенов Илья Владимирович (Ilya V. Aksekov) – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории энзимологии питания ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Российская Федерация)

E-mail: aksekov@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0003-4567-9347>

Гусева Галина Владимировна (Galina V. Guseva) – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории энзимологии питания ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (Москва, Российская Федерация)

E-mail: mailbox@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0002-4643-9698>

Тутельян Виктор Александрович (Viktor A. Tutelyan) – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», заведующий кафедрой гигиены питания и токсикологии Института профессионального образования ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, Российская Федерация)

E-mail: tutelyan@ion.ru

<https://orcid.org/0000-0002-4164-8992>

Литература

- Ивашкин В.Т., Драпкина О.М., Маев И.В. и др. Распространенность неалкогольной жировой болезни печени у пациентов амбулаторно-поликлинической практики в Российской Федерации: результаты исследования DIREG 2 // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2015. № 6. С. 31–41.
- Fierbinteanu-Braticevici C., Moldoveanu A., Petrisor A., Diaconu S. Nonalcoholic fatty liver disease: one entity, multiple impacts on liver health // Cell Biol. Toxicol. 2017. Vol. 33. P. 5–14. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10565-016-9361-x>
- Duvnjak M., Lerotic I., Barcic N. et al. Pathogenesis and management issues for nonalcoholic fatty liver disease // World Gastroenterol. 2007. Vol. 13. P. 4539–4550.
- Кособян Е.П., Смирнова О.М. Современные концепции патогенеза неалкогольной жировой болезни печени // Сахарный диабет. 2010. № 1. С. 55–64.
- Ribeiro P.S., Cortez-Pinto H., Solá S. et al. Hepatocyte apoptosis, expression of death receptors, and activation of NF-kappaB in the liver of nonalcoholic and alcoholic steatohepatitis patients // Am. J. Gastroenterol. 2004. Vol. 99, N 9. P. 1708–1717. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2004.40009.x>
- Guicciardi M.E., Gores G.J. Apoptosis as a mechanism for liver disease progression // Semin. Liver Dis. 2010. Vol. 30, N 4. P. 402–410. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0030-1267540>
- Choi Y., Abdelmegeed M.A. et al. Diet high in fructose promotes liver steatosis and hepatocyte apoptosis in C57BL/6J female mice: Role of disturbed lipid homeostasis and increased oxidative stress // Food Chem. Toxicol. 2017. Vol. 103. P. 111–121. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.02.039>
- Курбатова И.В., Топчиева Л.В., Дуданова О.П., Шиповская А.А. Биохимические и молекулярно-генетические показатели воспаления и апоптоза при циррозе печени как исходе прогрессирования неалкогольного стеатогепатита // Терапевтический архив. 2019. Т. 91, № 4. С. 21–27. DOI: <https://doi.org/10.26442/00403660.2019.04.000057>
- Neuman M.G., Cohen L.B., Nanau R.M. Biomarkers in nonalcoholic fatty liver disease // Can. J. Gastroenterol. Hepatol. 2014. Vol. 28, N 11. P. 607–618. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/757929>
- Дуданова О.П., Шиповская А.А., Курбатова И.В. Маркеры печеночно-клеточного повреждения и воспаления при ранней форме неалкогольной жировой болезни печени // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2017. № 3. С. 16–20.
- Braunersreuther V., Viviani G.L., Mach F., Montecucco F. Role of cytokines and chemokines in non-alcoholic fatty liver disease // World J. Gastroenterol. 2012. Vol. 18. P. 727–735.
- Топчиева Л.В., Курбатова И.В., Дуданова О.П., Соколовская А.А., Шиповская А.А. Полиморфизм генов провоспалительных цитокинов (TNF, IL6) и их рецепторов (TNFRSF1A, TNFRSF1B, IL6R) и неалкогольная жировая болезнь печени // Труды Карельского научного центра РАН. 2017. № 5. С. 3–22. DOI: <https://doi.org/10.17076/eb568>
- Neurath M.F., Finotto S. IL-6 signaling in autoimmunity, chronic inflammation-associated cancer // Cytokine Growth Factor Rev. 2011. Vol. 22. P. 83–89. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2011.02.003>
- Tilg H., Diehl A.M. Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis // N. Engl. J. Med. 2000. Vol. 343. P. 1467–1476.
- Lake B.G. Preparation and characterization of microsomal fractions for studies on xenobiotic metabolism // Biochemical Toxicology – a Practical Approach / eds K. Snell, B. Mullock. Oxford: IRL Press, 1987. Ch. 8. P. 183–215.
- Болдырев А.А. Карнозин и защита тканей от окислительного стресса. Москва: Диалог-МГУ, 1999. 362 с.
- Болдырев А.А., Стволинский С.Л., Федорова Т.Н. Карнозин: эндогенный физиологический корректор активности антиоксидантной системы организма // Успехи физиологических наук. 2007. Т. 38, № 3. С. 57–71.
- Вишнякова Х.С., Бабижаев М.А., Алипер А.М. и др. Стимуляция пролиферации карнозином: клеточный и транскриптомный подход // Молекулярная биология. 2014. Т. 48, № 5. С. 824–833.
- Rochette L., Ghibu S., Muresan A., Vergely C. Alpha lipoic acid: molecular mechanisms and therapeutic potential in diabetes // Can. J. Physiol. Pharmacol. 2015. Vol. 93. P. 1021–1027. DOI: <https://doi.org/10.1139/cjpp-2014-0353>
- Строков И.А., Фокина А.С. Альфа-липоевая кислота — основное фармакологическое лечение диабетической полинейропатии в стационаре и поликлинике // Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова. 2017. № 3. С. 50–55.
- Крыльский Е.Д., Попова Т.Н., Кирилова Е.М., Сафонова О.А. Воздействие липоевой кислоты на активность каспаз, показатели иммунного и антиоксидантного статуса при ревматоидном артрите у крыс // Биоорганическая химия. 2016. Т. 42, № 4. С. 431–439.
- Lee G.R. The balance of Th17 versus treg cells in autoimmunity // Int. J. Mol. Sci. 2018. Vol. 19, N 3. Article ID E730. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19030730>
- Yi Z., Bishop G.A. Regulatory role of CD40 in obesity-induced insulin resistance // Adipocyte. 2014. Vol. 4, N 1. P. 65–69. DOI: <https://doi.org/10.4161/adip.32214>
- Lee B.C., Lee J. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance // Biochim. Biophys. Acta. 2014. Vol. 1842, N 3. P. 446–462. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.05.017>
- Gotoh K., Inoue M., Masaki T. et al. A novel anti-inflammatory role for spleen-derived interleukin-10 in obesity-induced inflammation in white adipose tissue and liver // Diabetes. 2012. Vol. 61, N 8. P. 1994–2003. DOI: <https://doi.org/10.2337/db11-1688>
- Trefts E., Gannon M., Wasserman D.H. The liver // Curr. Biol. 2017. Vol. 27, N 21. P. R1147–R1151. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.09.019>
- Ma M., Duan R., Zhong H. et al. The crosstalk between fat homeostasis and liver regional immunity in NAFLD // J. Immunol. Res. 2019. Vol. 2019. Article ID 3954890. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/3954890>
- Dembic Z. The Cytokines of the Immune System. Cambridge: Academic Press, 2015. 320 p.

29. Hoffmann C., Djerir N., Danckaert A. et al. Hepatic stellate cell hypertrophy is associated with metabolic liver fibrosis // *Sci. Rep.* 2020. Vol. 10, N 1. P. 3850. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60615-0>
30. De Minicis S., Seki E., Uchinami H. et al. Gene expression profiles during hepatic stellate cell activation in culture and in vivo // *Gastroenterology*. 2007. Vol. 132, N 5. P. 1937–1946.
31. Kashani A., Salehi B., Anghesom D. et al. Spleen size in cirrhosis of different etiologies // *J. Ultrasound Med.* 2015. Vol. 34, N 2. P. 233–238. DOI: <https://doi.org/10.7863/ultra.34.2.233>
32. Li L., Duan M., Chen W. et al. The spleen in liver cirrhosis: revisiting an old enemy with novel targets // *J. Transl. Med.* 2017. Vol. 15, N 1. P. 111–120.
33. Wang K.C., Tsai C.P., Lee C.L. et al. α -Lipoic acid enhances endogenous peroxisome-proliferator-activated receptor- γ to ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis in mice // *Clin. Sci. (Lond.)*. 2013. Vol. 125, N 7. P. 329–340. DOI: <https://doi.org/10.1042/CS20120560>
34. Stec D.E., Gordon D.M., Hipp J.A. et al. Loss of hepatic PPAR α promotes inflammation and serum hyperlipidemia in diet-induced obesity // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2019. Vol. 317, N 5. P. R733–R745. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajp-regu.00153.2019>
35. Forsberg E.A., Botusan I.R., Wang J. et al. Carnosine decreases IGFBP1 production in db/db mice through suppression of HIF-1 // *J. Endocrinol.* 2015. Vol. 225, N 3. P. 159–167. DOI: <https://doi.org/10.1530/JOE-14-0571>
36. Shi L., Banerjee D., Dobierzewska A. et al. Direct regulation of IGF-binding protein 1 promoter by interleukin-1 β via an insulin- and FoxO-1-independent mechanism // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2016. Vol. 310, N 8. P. E612–E623. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00289.2015>

References

1. Ivashkin V.T., Drapkina O.M., Maev I.V., et al. The prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in patients with outpatient practice in the Russian Federation: the results of the DIREG 2 study. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii* [Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology]. 2015; (6): 31–41. (in Russian)
2. Fierbinteanu-Braticovici C., Moldoveanu A., Petrisor A., Diaconu S. Nonalcoholic fatty liver disease: one entity, multiple impacts on liver health. *Cell Biol Toxicol.* 2017; 33: 5–14. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10565-016-9361-x>
3. Duvnjak M., Lerotic I., Barcic N., et al. Pathogenesis and management issues for nonalcoholic fatty liver disease. *World Gastroenterol.* 2007; 13: 4539–50.
4. Kosobyan E.P., Smirnova O.M. Modern concepts of the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *Sakharnyi diabet* [Diabetes Mellitus]. 2010; (1): 55–64. (in Russian)
5. Ribeiro P.S., Cortez-Pinto H., Solá S., et al. Hepatocyte apoptosis, expression of death receptors, and activation of NF- κ B in the liver of nonalcoholic and alcoholic steatohepatitis patients. *Am J Gastroenterol.* 2004; 99 (9): 1708–17. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2004.40009.x>
6. Guicciardi M.E., Gores G.J. Apoptosis as a mechanism for liver disease progression. *Semin Liver Dis.* 2010; 30 (4): 402–10. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0030-1267540>
7. Choi Y., Abdelmegeed M.A., et al. Diet high in fructose promotes liver steatosis and hepatocyte apoptosis in C57BL/6J female mice: Role of disturbed lipid homeostasis and increased oxidative stress. *Food Chem Toxicol.* 2017; 103: 111–21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.02.039>
8. Kurbatova I.V., Topchieva L.V., Dudanova O.P., Shipovskaya A.A. Biochemical and molecular genetic indicators of inflammation and apoptosis in liver cirrhosis as an outcome of the progression of non-alcoholic steatohepatitis. *Terapevticheskiy arkhiv* [Therapeutic Archive]. 2019; 91 (4): 21–7. DOI: <https://doi.org/10.26442/00403660.2019.04.000057> (in Russian)
9. Neuman M.G., Cohen L.B., Nanau R.M. Biomarkers in nonalcoholic fatty liver disease. *Can J Gastroenterol Hepatol.* 2014; 28 (11): 607–18. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/757929>
10. Dudanova O.P., Shipovskaya A.A., Kurbatova I.V. Markers of hepatic cell damage and inflammation in the early form of non-alcoholic fatty liver disease. *Gastroenterologiya Sankt-Peterburga* [Gastroenterology of Saint Petersburg]. 2017; (3): 16–20. (in Russian)
11. Brauersreuther V., Viviani G.L., Mach F., Montecucco F. Role of cytokines and chemokines in non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2012; 18: 727–35.
12. Topchieva L.V., Kurbatova I.V., Dudanova O.P., Sokolovskaya A.A., Shipovskaya A.A. Gene polymorphism of pro-inflammatory cytokines (TNF, IL6) and their receptors (TNFRSF1A, TNFRSF1B, IL6R) and non-alcoholic fatty liver disease. *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN* [Transactions of the Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences]. 2017; (5): 3–22. DOI: <https://doi.org/10.17076/eb568> (in Russian)
13. Neurath M.F., Finotto S. IL-6 signaling in autoimmunity, chronic inflammation-associated cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2011; 22: 83–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2011.02.003>
14. Tilg H., Diehl A.M. Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med.* 2000; 343: 1467–76.
15. Lake B.G. Preparation and characterization of microsomal fractions for studies on xenobiotic metabolism. In: K. Snell, B. Mullock (eds). *Biochemical Toxicology – a Practical Approach*. Oxford: IRL Press, 1987; 8: 183–215.
16. Boldyrev A.A. Carnosine and the protection of tissues from oxidative stress. Moscow: Dialog-MGU, 1999: 362 p. (in Russian)
17. Boldyrev A.A., Stvolinskiy S.L., Fedorova T.N. Carnosine: an endogenous physiological corrector of the activity of the antioxidant system of the body. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk* [Advances of the Physiological Sciences]. 2007; 38 (3): 57–71. (in Russian)
18. Vishnyakova Kh.S., Babizhaev M.A., Aliper A.M., et al. Stimulation of proliferation by carnosine: a cellular and transcriptomic approach. *Molekulyarnaya biologiya* [Molecular Biology]. 2014; 48 (5): 824–33. (in Russian)
19. Rochette L., Ghibu S., Muresan A., Vergely C. Alpha lipoic acid: molecular mechanisms and therapeutic potential in diabetes. *Can J Physiol Pharmacol.* 2015; 93: 1021–7. DOI: <https://doi.org/10.1139/cjpp-2014-0353>
20. Strokov I.A., Fokina A.S. Alpha-lipoic acid is the main pharmacological treatment of diabetic polyneuropathy in a hospital and clinic. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova* [Korsakov's Journal of Neurology and Psychiatry]. 2017; (3): 50–5. (in Russian)
21. Kryl'skiy E.D., Popova T.N., Kirilova E.M., Safonova O.A. The effect of lipoic acid on caspase activity, indicators of the immune and antioxidant status in rat rheumatoid arthritis. *Bioorganicheskaya khimiya* [Bioorganic Chemistry]. 2016; 42 (4): 431–9. (in Russian)
22. Lee G.R. The balance of Th17 versus treg cells in autoimmunity. *Int J Mol Sci.* 2018; 19 (3): E730. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19030730>
23. Yi Z., Bishop G.A. Regulatory role of CD40 in obesity-induced insulin resistance. *Adipocyte.* 2014; 4 (1): 65–9. DOI: <https://doi.org/10.4161/adip.32214>
24. Lee B.C., Lee J. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. *Biochim Biophys Acta.* 2014; 1842 (3): 446–62. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2013.05.017>
25. Gotoh K., Inoue M., Masaki T., et al. A novel anti-inflammatory role for spleen-derived interleukin-10 in obesity-induced inflammation in white adipose tissue and liver. *Diabetes.* 2012; 61 (8): 1994–2003. DOI: <https://doi.org/10.2337/db11-1688>

26. Trefts E., Gannon M., Wasserman D.H. The liver. *Curr Biol.* 2017; 27 (21): R1147–51. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.09.019>
27. Ma M., Duan R., Zhong H., et al. The crosstalk between fat homeostasis and liver regional immunity in NAFLD. *J Immunol Res.* 2019; 2019: 3954890. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/3954890>
28. Dembic Z. *The Cytokines of the Immune System.* Cambridge: Academic Press, 2015. 320 p.
29. Hoffmann C., Djerir N., Danckaert A., et al. Hepatic stellate cell hypertrophy is associated with metabolic liver fibrosis. *Sci Rep.* 2020; 10 (1): 3850. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60615-0>
30. De Minicis S., Seki E., Uchinami H., et al. Gene expression profiles during hepatic stellate cell activation in culture and in vivo. *Gastroenterology.* 2007; 132 (5): 1937–46.
31. Kashani A., Salehi B., Anghesom D., et al. Spleen size in cirrhosis of different etiologies. *J Ultrasound Med.* 2015; 34 (2): 233–8. DOI: <https://doi.org/10.7863/ultra.34.2.233>
32. Li L., Duan M., Chen W., et al. The spleen in liver cirrhosis: revisiting an old enemy with novel targets. *J Transl Med.* 2017; 15 (1): 111–20.
33. Wang K.C., Tsai C.P., Lee C.L., et al. α -Lipoic acid enhances endogenous peroxisome-proliferator-activated receptor- γ to ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis in mice. *Clin Sci (Lond).* 2013; 125 (7): 329–40. DOI: <https://doi.org/10.1042/CS20120560>
34. Stec D.E., Gordon D.M., Hipp J.A., et al. Loss of hepatic PPAR α promotes inflammation and serum hyperlipidemia in diet-induced obesity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2019; 317 (5): R733–45. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00153.2019>
35. Forsberg E.A., Botusan I.R., Wang J., et al. Carnosine decreases IGFBP1 production in db/db mice through suppression of HIF-1. *J Endocrinol.* 2015; 225 (3): 159–67. DOI: <https://doi.org/10.1530/JOE-14-0571>
36. Shi L., Banerjee D., Dobierzewska A., et al. Direct regulation of IGF-binding protein 1 promoter by interleukin-1 β via an insulin- and FoxO-1-independent mechanism. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2016; 310 (8): E612–23. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00289.2015>