

Апробация модели жировой дистрофии печени, индуцированной оротовой кислотой

В. Е. Ковансков✉, Д. Ю. Ивкин, Е. Д. Семивеличенко, Г. А. Плиско, Е. А. Копачёва, К. О. Сидоров

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России), 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, лит. А

✉ Контактное лицо: Ковансков Владислав Евгеньевич. E-mail: vladislav.kovanskov@spcpu.ru

ORCID: В. Е. Ковансков – <https://orcid.org/0000-0001-5783-8339>; Д. Ю. Ивкин – <https://orcid.org/0000-0001-9273-6864>; Е. Д. Семивеличенко – <https://orcid.org/0000-0002-8464-7711>; Г. А. Плиско – <https://orcid.org/0000-0003-0869-3430>; Е. А. Копачёва – <https://orcid.org/0000-0003-2241-0724>; К. О. Сидоров – <https://orcid.org/0000-0002-7573-1719>.

Статья поступила: 09.06.2022

Статья принята в печать: 23.09.2022

Статья опубликована: 25.11.2022

Резюме

Введение. Для терапии неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) активно используют препараты-гепатопротекторы. Существующие модели неалкогольной жировой болезни печени, применяемые для изучения эффективности лекарственных препаратов, характеризуются большой длительностью воспроизведения и высокой смертностью тест-систем, в связи с чем актуальной задачей является апробация скрининговой модели данной патологии. В ряде исследований показана гепатотоксическая активность оротовой кислоты (ОК), видоспецифичная для крыс, приводящая к развитию НАЖБП.

Цель. Апробация модели НАЖБП, индуцированной оротовой кислотой на 2 видах грызунов (мыши и крысы), изучение обратимости патологии под действием референтного препарата (урсодезоксихолевая кислота – УДХК).

Материалы и методы. Исследование проведено на аутбредных крысах самцах массой 260–265 г ($n = 21$) и инбредных мышам самцам линии C57BL/6 массой 16–18 г ($n = 30$). Методом рандомизации крысы были разделены на 3 группы (по 7 крыс в каждой): 1-я группа – интактные животные; 2-я – модель НАЖБП; 3-я – модель НАЖБП + УДХК; мыши были разделены на 2 группы (по 10 и 20 мышей соответственно): 1-я группа – интактные животные; 2-я – модель НАЖБП. НАЖБП моделировали высокоуглеводной диетой с оротовой кислотой (75 % стандартный корм, 24 % фруктозы и 1 % оротата калия). УДХК вводили после первой контрольной точки 1 раз в день через зонд в пересчете 150 мг/кг. Проведено биохимическое и гистологическое исследование.

Результаты и обсуждение. Выявлено, что высокоуглеводная диета с добавлением 1 % оротата калия в течение 4 недель вызывает средневыраженную баллонную дистрофию, слабовыраженный гепатит и увеличение содержания аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы в крови у крыс и менее значимые изменения у мышей. Также отмечена низкая смертность животных. Применение УДХК на заявленной модели вызывает уменьшение выраженности дистрофии печени и снижение уровня печеночных ферментов в крови.

Заключение. На основании проведенных экспериментов оптимальной тест-системой на воспроизведенной модели оказались крысы, а высокожировая диета с добавлением оротовой кислоты позволяет осуществлять скрининговые исследования препаратов с гепатотропной активностью.

Ключевые слова: НАЖБП, урсодезоксихолевая кислота, аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, баллонная дистрофия, гепатит

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

Вклад авторов. В. Е. Ковансков и Е. А. Копачёва осуществляли уход за лабораторными животными и непосредственное проведение экспериментов. Д. Ю. Ивкин, Е. Д. Семивеличенко, Г. А. Плиско и К. О. Сидоров принимали участие в постановке эксперимента и написании статьи. В. Е. Ковансков и Д. Ю. Ивкин осуществляли первичную и финальную обработку полученных данных и описание полученных результатов. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Финансирование. Результаты работы получены с использованием ресурсов ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

Для цитирования: Ковансков В. Е., Ивкин Д. Ю., Семивеличенко Е. Д., Плиско Г. А., Копачёва Е. А., Сидоров К. О. Апробация модели жировой дистрофии печени, индуцированной оротовой кислотой. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4):240–245. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4-240-245>

Approbation of a Model of Fat Liver Disease Induced by Orotic Acid

Vladislav V. Kovanskov✉, Dmitriy Yu. Ivkin, Evgeny D. Semivelichenko, Grigory A. Plisko, Ekaterina A. Kopacheva, Kirill O. Sidorov

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ Corresponding author: Vladislav V. Kovanskov. E-mail: vladislav.kovanskov@spcpu.ru

ORCID: Vladislav V. Kovanskov – <https://orcid.org/0000-0001-5783-8339>; Dmitriy Yu. Ivkin – <https://orcid.org/0000-0001-9273-6864>; Evgeny D. Semivelichenko – <https://orcid.org/0000-0002-8464-7711>; Grigory A. Plisko – <https://orcid.org/0000-0003-0869-3430>; Ekaterina A. Kopacheva – <https://orcid.org/0000-0003-2241-0724>; Kirill O. Sidorov – <https://orcid.org/0000-0002-7573-1719>.

Received: 09.06.2022

Revised: 23.09.2022

Published: 25.11.2022

© Ковансков В. Е., Ивкин Д. Ю., Семивеличенко Е. Д., Плиско Г. А., Копачёва Е. А., Сидоров К. О., 2022

© Kovanskov V. V., Ivkin D. Yu., Semivelichenko E. D., Plisko G. A., Kopacheva E. A., Sidorov K. O., 2022

Abstract

Introduction. For the treatment of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), hepatoprotective drugs are actively used. The existing models of non-alcoholic fatty liver disease used to study the effectiveness of medicinal products are characterized by a long duration of recovery and high mortality of test systems, in connection with which, the actual task is to test the screening model of this pathology. A number of studies have shown the hepatotoxic activity of orotic acid (OK), species-specific for rats, leading to the development of NAFLD.

Aim. Approbation of the NAFLD model induced by orotic acid on 2 rodent species (mice and rats), research of the reversibility of pathology under the action of a reference drug (ursodeoxycholic acid – UDCA).

Materials and methods. The research was conducted on outbred male rats weighing 260–265 g ($n = 21$) and inbred male mice of the C57BL/6 line weighing 16–18 g ($n = 30$). By randomization, the rats were divided into 3 groups (7 rats each): group 1 – intact animals; group 2 – NAFLD model; group 3 – NAFLD + UDCA model, mice were divided into 2 groups (10 and 20 mice, respectively): group 1 – intact animals; group 2 – NAFLD model. NAFLD was modeled by a high-carbohydrate diet with orotic acid (75 % standard feed, 24 % fructose and 1 % potassium orotate). UDCA was administered after the first control point 1 time a day through a probe in terms of 150 mg/kg. Biochemical and histological examination was carried out.

Results and discussion. It was revealed that a high-carbohydrate diet with the addition of 1 % potassium orotate for 4 weeks causes moderate balloon dystrophy, mild hepatitis and an increase in the content of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase in the blood of rats and less significant changes in mice. Low animal mortality was also noted. The use of UDCA on the claimed model causes a decrease in the severity of liver dystrophy and a decrease in the level of liver enzymes in the blood.

Conclusion. Based on the conducted experiments, rats turned out to be the optimal test system on the reproduced model, and a high-fat diet with the addition of orotic acid allows screening studies of drugs with hepatotropic activity.

Keywords: NAFLD, ursodeoxycholic acid, alanine aminotransferase, aspartate-aminotransferase, balloon dystrophy, hepatitis

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Vladislav E. Kovanskov and Ekaterina A. Kopacheva took care of laboratory animals and conducted experiments directly. Dmitriy Yu. Ivkin, Evgeny D. Semivelichenko and Grigory A. Plisko took part in setting up the experiment and writing the article. Vladislav E. Kovanskov and Dmitriy Yu. Ivkin carried out the primary and final processing of the data obtained and the description of the results obtained. All the authors participated in the discussion of the results.

Funding. The results of the work were obtained using the resources of the Center for Collective Use "Analytical Center of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Saint-Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Russia" within the framework of agreement No. 075-15-2021-685 dated July 26, 2021 with the financial support of the Ministry of Education and Science of Russia.

For citation: Kovanskov V. V., Ivkin D. Yu., Semivelichenko E. D., Plisko G. A., Kopacheva E. A., Sidorov K. O. Approbation of a model of fat liver disease induced by orotic acid. *Drug development & registration*. 2022;11(4):240–245. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4-240-245>

ВВЕДЕНИЕ

НАЖБП в настоящее время является одной из самых актуальных для исследования патологий печени, распространенность которой в мире варьирует от 6,3 до 33 %, в среднем 24 % [1]. НАЖБП объединяет в себе различные морфофизиологические изменения в печени, связанные с избыточным накоплением жиров в гепатоцитах, тесно связанных с ожирением и метаболическим синдромом [2, 3].

В большинстве случаев жировая дистрофия печени характеризуется непрогрессирующим течением с благоприятным прогнозом, но нередко случаи прогрессирования развития патологии, переходящей в цирроз, поэтому изучение НАЖБП является актуальным направлением и требует развития доступных и качественных моделей, воспроизводимых в короткие сроки [4].

Существующие методики воспроизведения НАЖБП связаны с высоким риском смерти животных и большой продолжительностью моделирования [5, 6], по-

этому целью работы стала апробация краткосрочной доклинической (скрининговой) модели НАЖБП [7, 8].

Для терапии неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) активно используют препараты-гепатопротекторы [9]. В ряде исследований показано гепатотоксическое действие оротовой кислоты, способной индуцировать НАЖБП у грызунов [10–13]. В качестве препарата-гепатопротектора использовалась УДХК, широко применяемая в практике при лечении различных заболеваний печени [14].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на аутбредных крысах самцах массой 260–265 г ($n = 21$) и инбредных мышах самцах линии C57BL/6 массой 16–18 г ($n = 30$). Методом рандомизации крысы были разделены на 3 группы (по 7 крыс в каждой): 1-я группа – интактные животные; 2-я – модель НАЖБП; 3-я – модель НАЖБП + УДХК; мыши были разделены на 2 группы (10 и 20 мышей

соответственно): 1-я группа – интактные животные; 2-я – модель НАЖБП. Исследуемый препарат вводили после первой контрольной точки 1 раз в день через зонд в дозе 150 мг/кг. Расчет дозировок препарата для введения животным проводили при помощи коэффициентов пересчета доз для крысы и человека в зависимости от массы тела по E. J. Freireich (1966) [15].

Животные содержались в стандартных условиях в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (ви-вариумов), методическими указаниями по содержанию и использованию лабораторных животных (Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy press. – Washington, DC, 1996) и Директивой 2010/63/EU европейского парламента и совета европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях (Rats-01-NASH-21 и Mice-02-NASH-21).

НАЖБП моделировали, сочетая высокоуглеводную диету и введение оротовой кислоты (в форме оротата калия) в течение 4 недель. В состав диеты входили 75 % лабораторного корма, 24 % фруктозы и 1 % оротата калия. Интактные животные получали стандартный комбикорм.

В ходе эксперимента оценивали летальность, а также массу тела животных (1 раз в 2 недели). В точке, соответствующей 4 неделям эксперимента (1 контрольная точка), выводили вторую группу крыс и вторую группу мышей, брали кровь с последующим биохимическим анализом [определяли активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатамино-трансферазы (АСТ)] и забирали печень для гистологического исследования. Третью группу крыс переводили на стандартный корм и ежедневное введение урсодезоксихолевой кислоты 150 мг/кг через зонд. Во 2-й контрольной точке (8 недель эксперимента) были выведены все оставшиеся животные. Эвтаназию животных проводили в соответствии с внутренним стандартизированным операционным протоколом путем усыпления углекислым газом в CO₂-боксе модели THF3481-V01 (BIOSCAPE (EHRET), Германия) с последующим сливанием крови через гильотинирование. Проводили биохимическое исследование забранной крови. Уровень АЛТ и АСТ определяли по общепринятым методикам с помощью стандартных наборов реактивов на автоматическом биохимическом анализаторе ERBA XL-100 (Erba group, Чехия).

Полученные органы помещались в 10%-й забуференный формалин и фиксировались в течение 24 ч. Далее производилась вырезка образцов и помещение их в гистологические кассеты. Образцы тканей подвергались стандартной гистологической проводке в гистопроцессоре Thermo Scientific Excelsior AS (Thermo Shandon Limited, Англия), после чего происходила заливка в парафин и микротомия с использо-

ванием ротационного микротом. Срезы толщиной 3–3,5 мкм помещались на предметные стекла, окрашивались гематоксилином и эозином. Аналитический этап работы проводился с использованием проходящего света и микроскопа Axio Scope A1 (Carl Zeiss, Германия). Оценивали следующие признаки: выраженность баллонной, жировой и вакуольной дистрофии, степень активности гепатита (0 – отсутствие признака; 1 – слабо выраженный; 2 – умеренно выраженный; 3 – выраженный признак).

Статистическую проверку на нормальность распределения количественных признаков при малом числе наблюдений проводили с использованием W-критерия Шапиро – Уилка. С учетом распределения количественных данных, которое удовлетворяло критериям нормальности в качестве статистической обработки результатов исследования выполняли расчет средних значений и стандартных ошибок среднего ($M \pm m$). Для оценки статистических различий применяли однофакторный дисперсионный анализ (One-Way ANOVA), а статистическую значимость изменений показателей в динамике у животных одной и той же группы оценивали применяя критерий Вилкоксона для связанных выборок. Анализ выживаемости выполнялся методом Каплана – Мейера. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы GraphPad Prism 8.0.2. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Показатель общей смертности животных к окончанию 4-й недели эксперимента в контрольных группах крыс и мышей значимо не различался, составив соответственно 14,3 и 15 % (рисунок 1). При этом состояние мышей, не смотря на отсутствие высокой летальности, было крайне плохим, что заставило прекратить эксперимент с данной группой животных. В то же время в группе референтного препарата показатель летальности, равный 28,6 %, отмечался к концу 8 недели, а оставшиеся животные ($n = 5$) были выведены из эксперимента во 2-й контрольной точке.

Масса тела экспериментальных животных статистически значимо не изменялась на протяжении эксперимента как внутри групп, так и между группами животных, находившихся на диете НАЖБП, НАЖБП + УДХК и интактными животными.

Как видно на рисунке 2, активность индикаторных ферментов цитолиза (АЛТ и АСТ) к первой контрольной точке эксперимента повышалась во вторых группах крыс и мышей по сравнению с группами интакта. Содержание АЛТ и АСТ в крови животных 3 группы крыс, получавших референтный препарат, ко второй экспериментальной точке снизилось в среднем на $48,4 \pm 0,8$ % ($p < 0,05$).

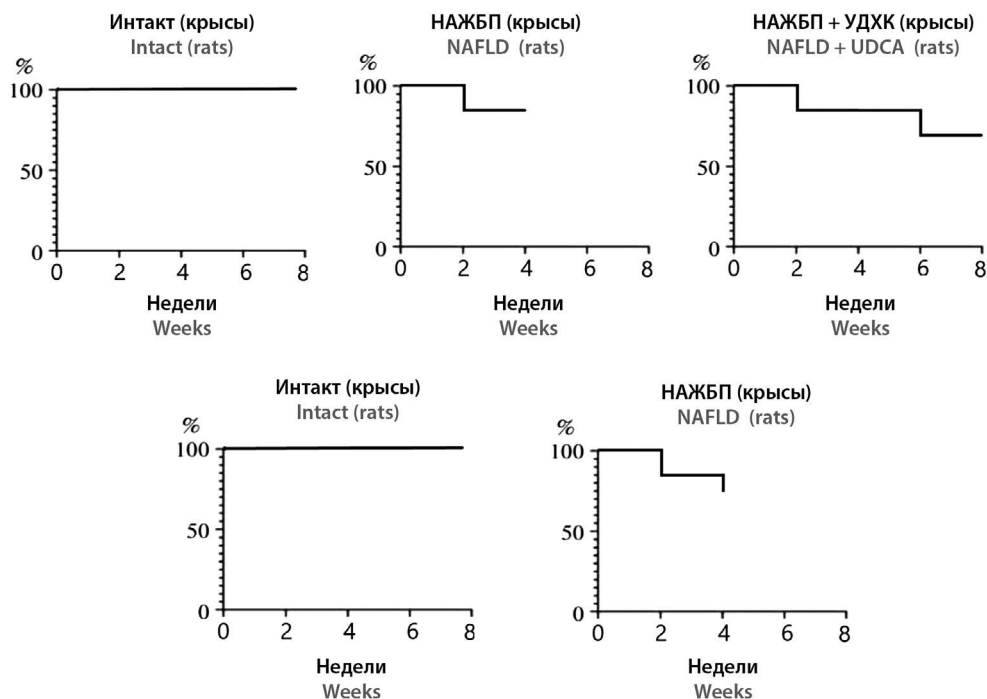


Рисунок 1. Выживаемость животных в исследуемых группах

Figure 1. Survival of animals in the study groups

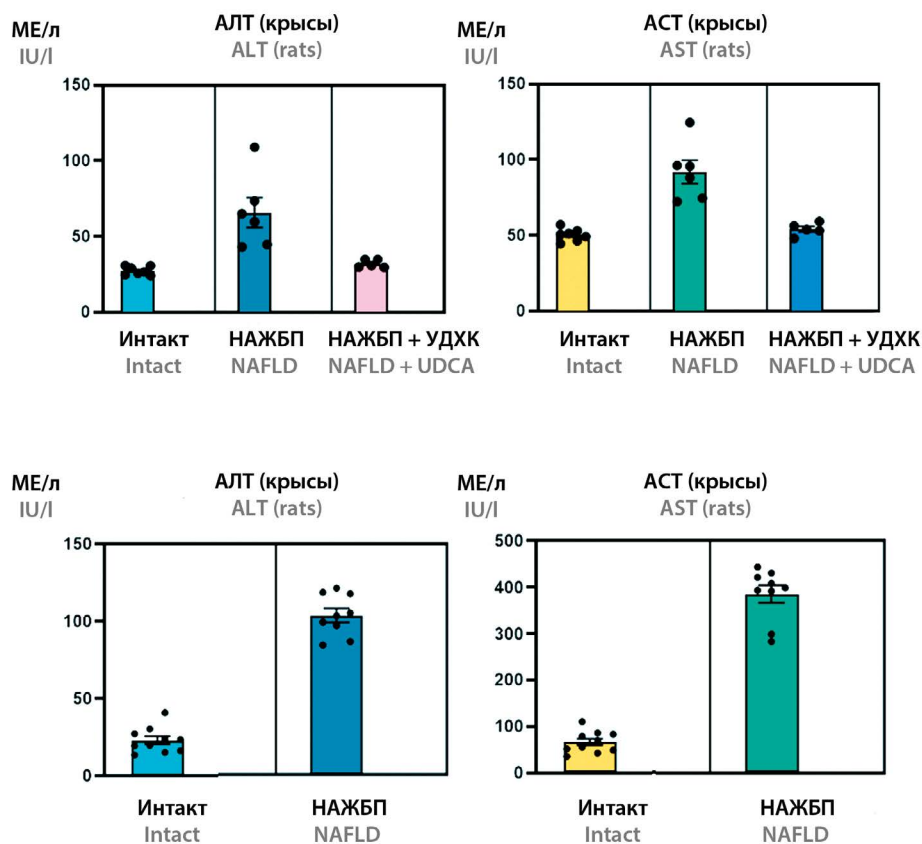


Рисунок 2. Активность маркерных ферментов печени у животных исследуемых групп

Figure 2. Activity of liver marker enzymes in animals of the studied groups

При оценке данных гистологического исследования печени методом балльной системы (1 – слабо выраженное проявление; 2 – умеренно выраженное, 3 – выраженное) после первой контрольной точки в контрольной группе мышей выявлено незначительное проявление баллонной дистрофии и гепатита. В то же время в контрольной группе крыс выявлено наличие умеренно выраженной баллонной дистрофии и слабовыраженного диффузного гепатита. После второй контрольной точки в группе крыс, принимающих референтный препарат, проявление баллонной дистрофии в печени не регистрировалось, гепатит гранулематозный и слабовыраженный (рисунок 3).

Полученные нами данные позволяют сделать вывод о влиянии диеты с повышенным содержанием углеводов в сочетании с оротовой кислотой на состояние печени крыс и мышей. Модель НАЖБП у крыс оказалась более выраженной, диета у крыс вызывает стойкое увеличение уровня АЛТ и АСТ в крови, свидетельствуя о повреждении клеток печени и снижении их работоспособности, что подтверждается данными гистологического исследования и кор-

релирует с выводами, полученными J. Eun-Jeong и соавт., показавшими причину межвидовых различий действия оротовой кислоты на крыс и мышей в ингибировании фосфорилирования аденозинмонофосфат-активированной протеинкиназы оротовой кислотой в гепатоцитах крыс и отсутствие этого в гепатоцитах мышей [16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам изложенного сделаны следующие выводы:

1. Диета с повышенным содержанием углеводов и 1 % оротовой кислоты за короткий срок вызывает патологические изменения в печени, схожие с НАЖБП.
2. Урсодезоксихолевая кислота успешно купирует проявления НАЖБП, индуцированной комбинацией оротовой кислоты и диеты, что позволяет рекомендовать ее в качестве референтного препарата и доказывает обратимость патологических изменений.

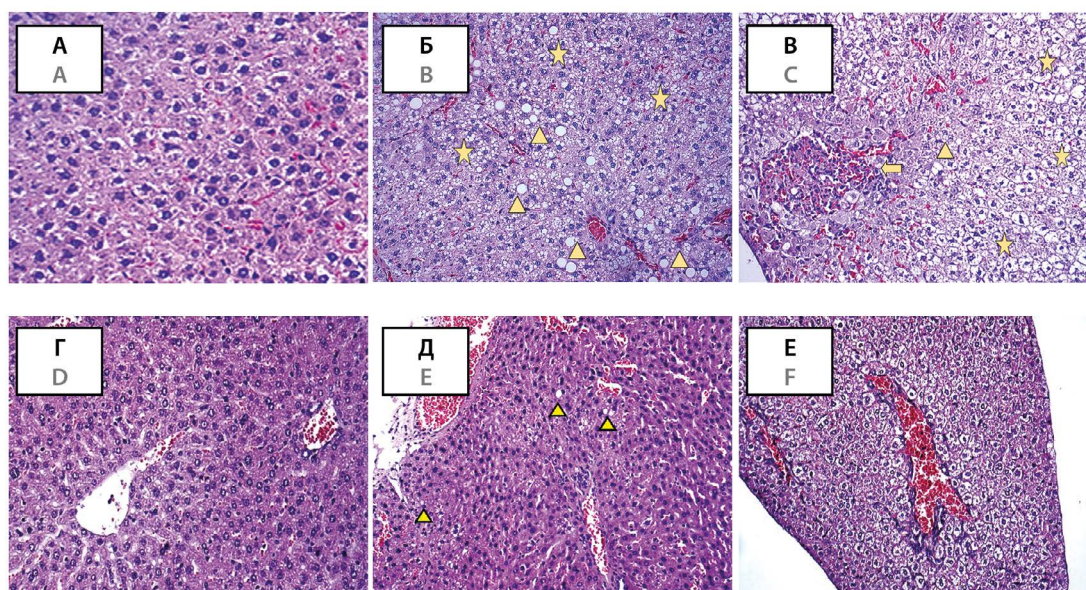


Рисунок 3. Морфологические изменения печени крыс и мышей в контрольных точках:

А – 1 контрольная точка (контрольная группа крыс), умеренно выраженная баллонная дистрофия гепатоцитов, слабо выраженная крупно-среднекапельная жировая дистрофия, диффузный слабо выраженный гепатит; Б – 1 контрольная точка (контрольная группа крыс), выраженная баллонная дистрофия гепатоцитов (звездочки), слабо выраженная крупно-среднекапельная жировая дистрофия, слабо выраженный гранулематозный гепатит; В – 2 контрольная точка (группа крыс референтного препарата), слабо выраженный гранулематозный гепатит; Г – 2 контрольная точка (группа крыс референтного препарата), умеренно выраженная баллонная дистрофия, слабо выраженная крупно-среднекапельная жировая дистрофия; Д – 1 контрольная точка (контрольная группа мышей) минимально выраженная средне-мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов; Е – 1 контрольная точка (контрольная группа мышей) слабо выраженная баллонная дистрофия гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином, ув.х200

Figure 3. Morphological changes in the liver of rats and mice at control points:

А – 1 control point (control group of rats), moderately pronounced balloon dystrophy of hepatocytes, weakly expressed large-medium-drop fatty dystrophy, diffuse weakly expressed hepatitis; Б – 1 control point (control group of rats), pronounced balloon dystrophy hepatocytes (asterisks), weakly expressed large-medium-cap fatty dystrophy, weakly expressed granulomatous hepatitis; В – 2 control point (group of rats of the reference drug), mildly expressed granulomatous hepatitis; Д – 2 control point (group of rats of the reference drug), moderately expressed balloon dystrophy, mildly expressed large-medium-cap fatty dystrophy; Е – 1 control point (control group of mice) minimally expressed medium-fine-drop fatty dystrophy of hepatocytes; F – 1 control point (control group of mice) mild balloon dystrophy of hepatocytes. Stained with hematoxylin and eosin, uv.x200

- Полученные данные позволяют рекомендовать указанную методику для дальнейшего использования в качестве быстровоспроизводимой модели НАЖБП.

ЛИТЕРАТУРА

- Younossi Z., Anstee Q. M., Marietti M., Hardy T., Henry L., Eslam M. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2018;15:11–20. DOI: 10.1038/nrgastro.2017.109.
- Буверов А. О., Богомолов П. О., Маевская М. В. Патогенетическое лечение неалкогольного стеатогепатита: обоснование, эффективность, безопасность. *Терапевтический архив*. 2007;79(8):1–4.
- Chang M., Zhang T., Han X., Tang Q., Yanagita T., Xu J., Xue C., Wang Y. Comparative Analysis of EPA/DHA-PL Forage and Liposomes in Orotic Acid-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Rats and Their Related Mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2018;66(6):1408–1418. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b05173.
- Liu Y., Shi D., Tian Y., Liu Y., Zhan Q., Xu J., Wang J., Xue C. Eicosapentaenoic Acid-Enriched Phosphatidylcholine Attenuated Hepatic Steatosis Through Regulation of Cholesterol Metabolism in Rats with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Lipids*. 2017;52(2):119–127. DOI: 10.1007/s11745-016-4222-1.
- Bunyat A., Spasenkova O., Karev V., Karavaeva A. V., Ivkin D., Kulikov A., Okovityi S., Kirillova N. Modification of a model of non-alcoholic fatty liver disease in rats with a combination of a hypercaloric diet and hypodynamia. *Pharmaceutical Medicine*. 2021;10:155–165. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-155-165.
- Суханов Д. С., Ивкин Д. Ю., Плиско Г. А., Караваева А. В., Краснова М. В., Поверяева М. А., Карев В. Е., Бунят А. В., Степанова И. Л., Оковитый С. В. Влияние производного 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина на течение неалкогольной жировой болезни в печени. *Молекулярная медицина*. 2020;18(1):23–25.
- Zhengri L., Song H. L., Hee J. J., Hee E. K. Pharmacokinetic changes of clozapine and nortoclozapine in a rat model of non-alcoholic fatty liver disease induced by orotic acid. *Xenobiotica*. 2021;51(3):324–334. DOI: 10.1080/00498254.2020.1851070.
- Han X., Liu C., Xue Y., Wang J., Xue C., Yanagita T., Gao X., Wang Y. Long-term fatty liver-induced insulin resistance in orotic acid-induced nonalcoholic fatty liver rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 2017;80(4):735–743. DOI: 10.1080/09168451.2015.1123608.
- Rinella M., Cryer D. R., Artico A., Fisher T., Schneider J., Naldsky K. Nonalcoholic steatohepatitis medical patient journey from the perspective of hepatologists, gastroenterologists and patients: a cross-sectional survey. *BMC Gastroenterology*. 2022;22(1):335. DOI: 10.1186/s12876-022-02410-x.
- Jiang Z., Kimura Y., Shirouchi B., Yuan X., Sato M. Dietary egg white protein hydrolysate improves orotic acid-induced fatty liver in rats by promoting hepatic phospholipid synthesis and microsomal triglyceride transfer protein expression. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2021;98:108820. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2021.108820.
- Hu Y., Xu J., Chen Q., Zhang Y., Wang T. Regulation effects of total flavonoids in Morus alba L. On hepatic cholesterol disorders in orotic acid induced NAFLD rats. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2020;20(117):257. DOI: 10.1186/s12906-020-03052-w.
- Subali D., Kwon M. H., Bang W. S., Kang H. E. The pharmacokinetics of mycophenolic acid in rats with orotic acid induced nonalcoholic fatty liver disease. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2020;98(3):169–176. DOI: 10.1139/cjpp-2019-0383.
- Bang W. S., Hwang Y. R., Li Z., Lee I., Kang H. E. Effects of orotic acid-induced non-alcoholic fatty liver on the pharmacokinetics of metoprolol and its metabolites in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2020;22:98–111. DOI: 10.18433/jpps30268.
- Губергриц Б., Лукашевич Г. М., Фоменко П. Г. Гепатопротекторы: от теории к практике. М.: 4ТЕ Арт; 2012. 52 с.
- Freireich E. J., Gehan E. A., Rail D. P., Schmidt L. H., Skipper H. E. Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man. *Cancer Chemother Rep*. 1966;50(4):219–244.
- Jung E. J., Kwon S. W., Jung B. H., Oh S. H., Lee B. H. Role of the AMPK/SREBP-1 pathway in the development of orotic acid-induced fatty liver. *Jlr Res*. 2011;52(9):1617–1625. DOI: 10.1194/jlr.M015263.

REFERENCES

- Younossi Z., Anstee Q. M., Marietti M., Hardy T., Henry L., Eslam M. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2018;15:11–20. DOI: 10.1038/nrgastro.2017.109.
- Bueverov A. O., Bogomolov P. O., Maevskaya M. V. Pathogenetic treatment of non-alcoholic steatohepatitis: rationale, efficacy, safety. *Therapeutic archive*. 2007;79(8):1–4. (In Russ.)
- Chang M., Zhang T., Han X., Tang Q., Yanagita T., Xu J., Xue C., Wang Y. Comparative Analysis of EPA/DHA-PL Forage and Liposomes in Orotic Acid-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Rats and Their Related Mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2018;66(6):1408–1418. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b05173.
- Liu Y., Shi D., Tian Y., Liu Y., Zhan Q., Xu J., Wang J., Xue C. Eicosapentaenoic Acid-Enriched Phosphatidylcholine Attenuated Hepatic Steatosis Through Regulation of Cholesterol Metabolism in Rats with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Lipids*. 2017;52(2):119–127. DOI: 10.1007/s11745-016-4222-1.
- Bunyat A., Spasenkova O., Karev V., Karavaeva A. V., Ivkin D., Kulikov A., Okovityi S., Kirillova N. Modification of a model of non-alcoholic fatty liver disease in rats with a combination of a hypercaloric diet and hypodynamia. *Pharmaceutical Medicine*. 2021;10:155–165. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4(1)-155-165.
- Sukhanov D. S., Ivkin D. Yu., Plisko G. A., Karavaeva A. V., Krasnova M. V., Poverayeva M. A., Karev V. E., Bunyat A. V., Stepanova I. L., Okovityi S. V. Influence of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine derivative on the course of non-alcoholic fatty liver disease. *Molecular Medicine*. 2020;18(1):23–25. (In Russ.)
- Zhengri L., Song H. L., Hee J. J., Hee E. K. Pharmacokinetic changes of clozapine and nortoclozapine in a rat model of non-alcoholic fatty liver disease induced by orotic acid. *Xenobiotica*. 2021;51(3):324–334. DOI: 10.1080/00498254.2020.1851070.
- Han X., Liu C., Xue Y., Wang J., Xue C., Yanagita T., Gao X., Wang Y. Long-term fatty liver-induced insulin resistance in orotic acid-induced nonalcoholic fatty liver rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 2017;80(4):735–743. DOI: 10.1080/09168451.2015.1123608.
- Rinella M., Cryer D. R., Artico A., Fisher T., Schneider J., Naldsky K. Nonalcoholic steatohepatitis medical patient journey from the perspective of hepatologists, gastroenterologists and patients: a cross-sectional survey. *BMC Gastroenterology*. 2022;22(1):335. DOI: 10.1186/s12876-022-02410-x.
- Jiang Z., Kimura Y., Shirouchi B., Yuan X., Sato M. Dietary egg white protein hydrolysate improves orotic acid-induced fatty liver in rats by promoting hepatic phospholipid synthesis and microsomal triglyceride transfer protein expression. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2021;98:108820. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2021.108820.
- Hu Y., Xu J., Chen Q., Zhang Y., Wang T. Regulation effects of total flavonoids in Morus alba L. On hepatic cholesterol disorders in orotic acid induced NAFLD rats. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2020;20(117):257. DOI: 10.1186/s12906-020-03052-w.
- Subali D., Kwon M. H., Bang W. S., Kang H. E. The pharmacokinetics of mycophenolic acid in rats with orotic acid induced nonalcoholic fatty liver disease. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2020;98(3):169–176. DOI: 10.1139/cjpp-2019-0383.
- Bang W. S., Hwang Y. R., Li Z., Lee I., Kang H. E. Effects of orotic acid-induced non-alcoholic fatty liver on the pharmacokinetics of metoprolol and its metabolites in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2020;22:98–111. DOI: 10.18433/jpps30268.
- Gubergrits B., Lukashevich G. M., Fomenko P. G. Hepatoprotectors: from theory to practice. Moscow: 4TE Art; 2012. 52 p. (In Russ.)
- Freireich E. J., Gehan E. A., Rail D. P., Schmidt L. H., Skipper H. E. Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man. *Cancer Chemother Rep*. 1966;50(4):219–244.
- Jung E. J., Kwon S. W., Jung B. H., Oh S. H., Lee B. H. Role of the AMPK/SREBP-1 pathway in the development of orotic acid-induced fatty liver. *Jlr Res*. 2011;52(9):1617–1625. DOI: 10.1194/jlr.M015263.