

UDK 616.36-002.17-08-092.9

COMPLEX PATHOGENETIC TREATMENT OF LIVER CIRRHOSIS

O. F. Dzygal, R. S. Vastyanov

Odessa National Medical University, Odessa

Summary

Treatment of patients with liver cirrhosis (LC) and its complications is one of the most difficult problems of surgery, in particular, surgical hepatology and biliary surgery. According to WHO data, the frequency of LC is steadily increasing. According to these data the authors conclude that there is a lack of understanding of pathogenetic mechanisms liver parenchymatic cells cirrhotic lesion.

Chronic experimental trials were carried out to reproduce the model of LC in rats by four-carbon monoxide peroral administration. In the rat blood 1, 6, 12 hours, 1, 3, 5 and 7 days after the experimental LC formation, proteolysis standard activity was determined through lysosomal enzymes activity measurement.

It was found that LC manifestation is accompanied by activation in blood serum of rats of acid, trypsin-like proteases and lysosomal enzymes, indicating the generalization of the process. Catepsin D activation indicates the presence of inflammatory-destructive changes in the liver which reflects systemic inflammation in case of LC. The data obtained suggest that rats blood proteolysis activation is probably one of the components of pathogenesis of the disease,

Both alpha-lipoic acid and tivortine positive effects are the experimental background of their clinical testing reasonability in patients with LC, both individually and in combination with hepatoprotective compounds.

Key words: experimental cirrhosis of the liver, pathogenetic mechanisms, proteolysis, alpha lipoic acid, tivortin, complex treatment.

КОМПЛЕКСНЕ ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ЛІКУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦИРОЗУ ПЕЧІНКИ

О. Ф. Дзигал, Р. С. Вастьянов

Одеський національний медичний університет, м. Одеса

Резюме

Лікування хворих на цироз печінки (ЦП) та його ускладнення є однією з найскладніших проблем хірургії, хірургічної гепатології та біліарної хірургії. За даними ВОЗ, частота ЦП неухильно збільшується. З урахуванням цього авторами висловлено припущення стосовно неостаточних уявлень про патогенетичні механізми циротичного ураження паренхіми печінки.

Було проведені хронічні експериментальні дослідження з відтворенням моделі ЦП у щурів внутрішньошлунковим введенням чотирьох хлористого вуглецю. В крові щурів через 1, 6, 12 год, 1, 3, 5 і 7 діб після формування експериментального ЦП стандартними методами визначали активність процесів протеолізу через вимірювання активності лізосомальних ензимів.

Виявлено, що перебіг ЦП супроводжується активацією у сироватці крові щурів кислих, трипсиноподібних протеаз та лізосомальних ферментів, що свідчить про генералізацію процесу. Активація катепсину D свідчить про наявність запально-деструктивних змін в печінці, що відображає системне запалення при ЦП. Отримані результати дозволяють припустити, що активація системи протеолізу в крові щурів, ймовірно, є однією з ланок патогенезу захворювання,

Показані позитивні ефекти альфа-ліпоєвої кислоти та тивортину вважаємо експериментальним обґрунтуванням доцільності клінічного тестування ефектів вказаних фармакологічних препаратів при ЦП як окремо, так і в комплексі з гепатопротекторними сполуками.

Ключові слова: експериментальний цирроз печінки, патогенетичні механізми, протеоліз, альфа-ліпоева кислота, тивортин, комплексне лікування.

КОМПЛЕКСНОЕ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ

А. Ф. Дзыгал, Р. С. Вастьянов

Одесский национальный медицинский университет, г. Одесса

Резюме

Лечение больных циррозом печени (ЦП) и его осложнениями – одна из самых сложных проблем хирургии, хирургической гепатологии и билиарной хирургии. По данным ВОЗ, частота ЦП неуклонно увеличивается. С учетом этого авторы предположили недостаточные представления о патогенетических механизмах цирротического поражения паренхимы печени.

Было проведены хронические экспериментальные исследования с воспроизведением модели ЦП у крыс после перорального введения четыреххлористого углерода. В крови крыс через 1, 6, 12 ч, 1, 3, 5 и 7 суток после формирования экспериментального ЦП стандартными методами определяли активность процессов протеолиза измерением активности лизосомальных ферментов.

Показано, что течение ЦП сопровождается активацией в сыворотке крови крыс кислых, трипсиноподобных протеаз и лизосомальных ферментов, что свидетельствует о генерализации процесса. Активация катепсина D свидетельствует о наличии воспалительно-деструктивных изменений в печени, что отражает системное воспаление при ЦП. Полученные результаты позволяют предположить, что активация системы протеолиза в крови крыс, вероятно, является одним из звеньев патогенеза заболевания,

Показанные положительные эффекты альфа-липоевой кислоты и тивортина считаем экспериментальным обоснованием целесообразности клинического тестирования эффектов указанных фармакологических препаратов при ЦП как отдельно, так и в комплексе с гепатопротекторными веществами.

Ключевые слова: экспериментальный цирроз печени, патогенетические механизмы, протеолиз, альфа-липоевая кислота, тивортин, комплексное лечение.

Вступ. Лікування хворих на цироз печінки (ЦП) та його ускладнення є однією з найскладніших проблем хірургії, зокрема, хірургічної гепатології та біліарної хірургії. За даними ВОЗ, частота цирозу печінки неухильно збільшується [1-3]. За результатами патологоанатомічних досліджень, вона становить від 1 до 11% [4-6].

Зважаючи на збільшення захворюваності на дифузні захворювання печінки, вірусний гепатит з вираженим ушкодженням паренхіми печінки, ЦП та інші споріднені патологічні стани, а також невтішні результати консервативного та/або хірургічного лікування таких хворих, ймовірним є висновок щодо недосконалості лікування, зумовленої неповним уявленням про патогенетичні механізми захворювань. Вважаємо провідним моментом в цьому аспекті патобіохімічні зміни в організмі пацієнтів, що спричиняють тривалий та тяжкий перебіг захворювання, а також тяжкі ускладнення в ранньому та відстроченому післяопераційному періоді. Суттєвою є також летальність хворих.

Тобто, виходячи зі вказаного вище, негайною є необхідність дослідження тонких механізмів формування ушкодження паренхіми печінки, розуміння яких дасть змогу точніше уявляти, на який саме механізм у кожного конкретного хворого лікар має вплинути під час планування тактики його комплексного лікування.

Під час розгляду основних концепцій щодо вибору схем лікування ЦП та попередження його ускладнень ми виходили з принципів патогенетичної обґрунтованості перспективних лікувально–профілактичних схем. Зважаючи на патофізіологічні механізми запальної реакції клітини, будь–який травматичний вплив на неї спричиняє ланцюгові біохімічні, морфологічні та інші реакції, що протягом певного часу зумовлюють формування запального процесу з певною стадійністю його проявів, зокрема, альтеративного або ексудативного чи проліферативного компонентів [7]. З огляду на загальні патофізіологічні механізми типового патологічного процесу запалення, однією з ланок патогенезу запально–деструктивного ураження паренхіми печінки є активація лізосомальних ферментів внаслідок порушення функціонування лізосомальних мембран, внаслідок чого потужні й активні ферменти «вивільняються» з лізосом [8].

Важливий вплив при комплексному лікуванні запального ураження органів черевної порожнини справляють препарати з доведеними протизапальними властивостями внаслідок реалізації ними антиоксидантних, мембраностабілізуючих, енергозберігаючих та інших ефектів. Такими препаратами, що мають в тому числі й

протизапальні властивості, є тивортин та альфа-ліпоєва кислота (АЛК), їм притаманні також гепатопротекторні ефекти [9, 10].

Мета роботи – визначення патогенетичної ролі процесу протеолізу при модельованому ЦП. Додатковою метою роботи було дослідження ефективності комплексного лікування ЦП з використанням тивортину та АЛК.

Матеріал і методи

Експериментальні дослідження були проведені в умовах хронічного досвіду на 80 щурах-самцях масою від 250 до 320 г відповідно до вимог, викладених у вітчизняних і міжнародних рекомендаціях, нормах і вимогах по використанню лабораторних тварин в експериментальних дослідженнях, а також з урахуванням вимог Комісії з питань біоетики Одеського національного медичного університету.

Модель ЦП відтворювали у щурів при токсичному ураженні печінки гепатотропною отрутою - чотирьоххлористим вуглецем, який надає прямий цитолітичний вплив на печінкову паренхіму [11]. Розчин CCl_4 готували з чистого (99,99% чистоти) препарату шляхом додавання рафінованої соняшникової олії (кінцева концентрація розчину становила 50%) і вводили перорально за допомогою пластикового зонда через 2 рази на тиждень протягом 10 тижнів. Тваринам контрольної групи (n=9) в аналогічних умовах перорально вводили 0,5 мл 0,9% фізіологічного розчину NaCl. Експериментальний ЦП верифікували шляхом діагностичної лапаротомії з біопсією з наступним гістологічним дослідженням біоптатів у тварин дослідної та контрольної груп.

Протягом експерименту з 80 щурів від гострої печінкової недостатності загинуло 21 (загибель становила 26,3%). 59 щурів, які вижили, піддавали евтаназії передозуванням етаміналу натрію (100 мг/кг, в/очер) через 12 год, а також через 1, 6, 12 год, 1, 3, 5 і 7 діб після формування експериментального ЦП. У тварин забирали кров, в якій за стандартними методами визначали активність катепсину D, катепсину L, катепсину B, трипсиноподібних протеїназ (трипсину), металопротеїнази, карбоксипептидази A, карбоксипептидази B [12].

Отримані дані обраховували статистично. В якості мінімального критерію статистичної вірогідності приймали $p < 0.05$.

Результати і обговорення

В динаміці перебігу ЦП у крові щурів через 1 год після відтворення патологічного стану активність кислих протеаз – катепсинів типу D, L і B – перевищувала вихідну відповідно на 67, 75 та 41% ($p < 0,01$, табл. 1). В подальшому

активність досліджуваних ферментів ще збільшувалася, досягаючи максимальної через 12 год після відтворення ЦП ($p < 0,001$). Динаміка змін активності нейтральних протеаз (трипсину) також була статистично значущою, починаючи з першої години перебігу ЦП, коли вона перевищувала вихідну на 44% ($p < 0,01$), до 7-ї доби перебігу патологічного процесу, коли активність трипсину перевищувала контрольні показники на 56% ($p < 0,01$). У щурів при ЦП без лікування динаміка підвищення активності металопротеїназ була менш виражена, через 6 год вона була в 1,5 разу більша, ніж у контролі ($p < 0,05$), а також карбоксипептидаз А і В, активність яких через 6 год від початку патологічного стану була вищою за вихідну на 40% ($p < 0,05$) і 73% ($p < 0,001$), максимальна – через 24 год перебігу ЦП.

В іншому блоці дослідження проаналізовано лікувальну активність АЛК, введення якої сприяло вираженому зменшенню активності протеолітичних та лізосомальних ферментів (табл. 2). Через 6 год ЦП під впливом АЛК активність кислих протеаз типів D, L і В була відповідно на 34, 47 і 48% меншою порівняно з такою у щурів при ЦП без лікування ($p < 0,01$).

Подібну активність кислих протеаз відзначали впродовж 5 діб перебігу патологічного стану. Приблизно так само АЛК впливала на активність трипсиноподібних протеаз, що зменшувалася через 6 год (на 51% порівняно з вихідною, через 5 діб – була на 36% меншою, ніж без введення АЛК ($p < 0,01$)).

Меншою мірою АЛК справляла вплив на активність металопротеїназ впродовж 12 год – 5 діб (у середньому на 19–41%, $p < 0,05$), карбоксипептидаз А і В протягом 12 год – 5 діб (у середньому на 23–41%, $p < 0,05$).

Тивортин також спричиняв нормалізуючий вплив при експериментальному ЦП. Дані про ефективність тивортину щодо нормалізації активності протеолітичних та лізосомальних ферментів при ЦП наведені у табл. 3. Відзначений майже однаковий, проте, менш виражений порівняно з АЛК вплив тивортину на активність системи протеолізу в крові щурів при ЦП.

Отже, перебіг ЦП супроводжується активацією у сироватці крові щурів кислих, трипсиноподібних протеаз та лізосомальних ферментів, що свідчить про генералізацію процесу. Активація катепсину D свідчить про наявність запально-деструктивних змін в печінці, що відображає системне запалення при ЦП.

Активність ферментів протеолізу в крові щурів при експериментальному ЦП

Фермент	Активність у строки терміни після відтворення ЦП (M ± m)							
	вихідна	1 год	6 год	12 год	24 год	3 доби	5 діб	7 діб
Катепсин D, мкмоль/мг	0,009±0,001	0,015± 0,001**	0,041± 0,03***	0,048± 0,005***	0,042± 0,004***	0,033± 0,003***	0,016± 0,001***	0,012± 0,01**
Катепсин L, мкмоль/мг	0,48±0,04	0,84± 0,08***	2,20± 0,19***	2,75± 0,24***	2,00± 0,17***	1,44± 0,12***	0,80±0,07**	0,62±0,05*
Катепсин B, мкмоль/мг	0,062±0,005	0,088± 0,008*	0,276± 0,023***	0,286± 0,026***	0,198± 0,016***	0,144± 0,013***	0,112± 0,009***	0,086± 0,007*
Трипсиноподібні протеїнази, мкмоль/мг	0,350±0,027	0,500± 0,044**	1,100± 0,09***	1,600± 0,135***	1,900± 0,174***	1,200± 0,114***	0,900± 0,085***	0,550± 0,035**
Металопротеїнази мкмоль/мг	0,06±0,01	0,06±0,01	0,09±0,01*	0,12±0,01**	0,18± 0,01***	0,16± 0,01***	0,10±0,01**	0,07±0,01
Карбоксипептидаза А, мкмоль/мг	70,5±6,6	82,7±7,7	118±9 ***	200±17 ***	176±14 ***	134±11 ***	108±9 **	74±6
Карбоксипептидаза В, мкмоль/мг	770±67	920±82	1520±144 ***	1770±163 ***	1671±154 ***	1430±132 ***	1200±114 **	960±82

Примітка. * – p < 0,05, ** – p < 0,01, *** – p < 0,001 – вірогідні розбіжності показників порівняно з вихідними (за критерієм АНОВА, що супроводжувався пост-хок тестом Ньюман-Кулз). Теж саме у табл. 2 і 3

Вплив альфа-ліпоєвої кислоти на активність ферментів протеолізу в крові щурів при експериментальному ЦП

Фермент	Активність у строки після відтворення ЦП (M±m)						
	1 год	6 год	12 год	24 год	3 доби	5 діб	7 діб
Катепсин D, мкмоль/мг	0,012±0,001	0,031±0,002**	0,033±0,003**	0,022±0,002**	0,017±0,001**	0,010±0,001**	0,010±0,001
Катепсин L, мкмоль/мг	0,56±0,04	1,06±0,09**	1,00±0,09**	0,88±0,08**	0,70±0,07**	0,56±0,05**	0,52±0,04
Катепсин B, мкмоль/мг	0,068±0,005	0,106±0,009**	0,110±0,009**	0,108±0,008**	0,094±0,007**	0,080±0,007**	0,072±0,006
Трипсиноподібні протеїнази, мкмоль/мг	0,370±0,033	0,550±0,045**	0,750±0,065**	0,800±0,072**	0,700±0,065**	0,550±0,045**	0,400±0,035
Металопротеїнази, мкмоль/мг	0,06±0,01	0,07±0,01	0,10±0,01**	0,12±0,01**	0,10±0,01*	0,07±0,01*	0,06±0,01
Карбоксипептидаза А, мкмоль/мг	73±6	98±8**	120±10**	109±10**	94±8**	87±7**	72±7
Карбоксипептидаза В, мкмоль/мг	810±7	1000±98*	1100±102**	1170±105**	1030±99*	920±89*	830±76

Вплив тивортину на активність ферментів протеолізу в крові щурів при експериментальному ЦП

Фермент	Активність у строки після відтворення ЦП (M±m)						
	1 год	6 год	12 год	24 год	3 доби	5 діб	7 діб
Катепсин D, мкмоль/мг	0,014±0,001	0,037±0,002**	0,036±0,003**	0,028±0,003**	0,022±0,002**	0,012±0,001**	0,010±0,001
Катепсин L, мкмоль/мг	0,62±0,05	1,17±0,09**	1,16±0,09**	0,96±0,08**	0,77±0,07**	0,59±0,05*	0,52±0,04
Катепсин B, мкмоль/мг	0,071±0,006	0,115±0,009**	0,118±0,009**	0,116±0,009**	0,109±0,009**	0,088±0,008**	0,073±0,006
Трипсиноподібні протеїнази, мкмоль/мг	0,370±0,035	0,590±0,045**	0,820±0,075**	0,970±0,088**	0,810±0,077**	0,670±0,059*	0,440±0,040
Металопротеїнази, мкмоль/мг	0,06±0,01	0,09±0,01	0,13±0,01	0,18±0,01	0,15±0,01	0,09±0,01	0,06±0,011
Карбоксипептидаза А, мкмоль/мг	75±6	102±9**	126±11**	114±10**	102±9**	91±8**	76±6
Карбоксипептидаза В, мкмоль/мг	820±77	1080±98*	1200±113**	1210±116**	1180±101**	1000±98*	900±83

Отримані результати дозволяють припустити, що активація системи протеолізу в крові щурів, ймовірно, є однією з ланок патогенезу захворювання, внаслідок чого відбувається інтенсифікація процесів ПОЛ, внаслідок запуску так званого «хибного кола» ще більше підвищується активність лізосомальних ферментів, що мають притаманний потужний деструктивний потенціал. Внаслідок цього відбувається аутокаталітична активація калікреїн–кінінової системи, що зумовлює вазодилатацію, подальшу ішемію як паренхіми печінки, так і інших органів черевної порожнини [7, 12]. З фундаментальної точки зору, це пояснює виникнення відповідних ускладнень в організмі при ЦП.

Ми вважаємо корисними в перспективі подальшої клінічної імплементації результатів наших досліджень, які свідчать про нормалізуючий вплив АЛК та тивортину на активність системи протеолітичних ферментів при експериментальному ЦП.

Їх гепатопротекторна (з точки зору пригнічення активності системи протеолізу) активність була практично однаковою за вираженістю з незначним переважанням такої АЛК та проявлялася, починаючи з 6-ї години після відтворення ЦП. Інтересними є гепатопротекторні ефекти тивортину, діючою речовиною якого є амінокислота L–аргінін, що є основним учасником циклу орнітину, внаслідок якого токсичний аміак зв'язується та перетворюється на нетоксичну сечовину. Крім цього, L–аргінін є субстратом для NO–синтази – ключового ферменту синтезу оксиду азоту в ендотеліоцитах [13].

Механізм дії тивортину пов'язаний з збільшенням концентрації в організмі оксиду азоту. Він активує гуанілатциклазу й підвищує рівень циклічного гуанідинмонофосфату в ендотелію судин, зменшує активацію й адгезію лейкоцитів і тромбоцитів до ендотелію, пригнічує синтез протеїнів адгезії VCAM–1 (vascular cell adhesion molecule–1) і MCP–1 (monocyte chemoattractant protein–1), справляючи загальний протизапальний вплив. Гепатопротекторні властивості препарат має завдяки антиоксидантній, антигіпоксичній та мембраностабілізуючій активності, внаслідок чого справляє позитивний вплив на процеси енергозабезпечення в гепатоцитах. Отже, препарат має бути перспективним в плані подальшого вивчення його гепатопротекторних ефектів за умови моделювання захворювань.

Отримані дані є експериментальним обґрунтуванням доцільності клінічного дослідження гепатопротекторних ефектів АЛК та тивортину за їх окремого або комбінованого застосування у хворих на ЦП. Результати нашого дослідження дозволяють в подальшому розширити межі експериментальних досліджень з визначенням перспектив клінічного або профілактичного застосування тестованих фармакологічних засобів при експериментальному ЦП, а потім - за відповідних клінічних умов.

Висновки:

1. Перебіг ЦП супроводжується активацією у сироватці крові щурів кислих, трипсиноподібних протеаз та лізосомальних ферментів, що свідчить про генералізацію процесу.
2. Активація катепсину D свідчить про наявність запально–деструктивних змін в печінці, що відображає системне запалення при ЦП.
3. Активація системи протеолізу в крові щурів, ймовірно, є однією з ланок патогенезу ЦП.
4. Позитивні ефекти альфа-ліпоєвої кислоти та тивортину вважаємо експериментальним обґрунтуванням доцільності клінічного тестування ефектів вказаних фармакологічних препаратів при ЦП як окремо, так і в комплексі з гепатопротекторними сполуками

Перелік літератури:

1. Ерамишанцев АК. Прошлое и настоящее хирургии портальной гипертензии: взгляд на проблему. Клинические перспективы гастроэнтерологии. 2001;5:20–6.
2. Мансуров ХХ. Портальная гипертензия: патофизиология, клиника, диагностика и тактика ведения больных. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 1997;3:63–72.
3. Северцев АН. Портальная гипертензия. Клинический вестник. 1997;3:35–9.
4. de Franchis R. Expanding consensus in portal hypertension: Report of the Baveno VI Consensus Workshop: Stratifying risk and individualizing care for portal hypertension J Hepatol. 2015;63:743–52.
5. García–Pagán JC, Gracia–Sancho J, Bosch J. Functional aspects on the pathophysiology of portal hypertension in cirrhosis. J Hepatol. 2012;57: 458–61
6. Wei W, Pu YS, Wang XK, et al. Wall shear stress in portal vein of cirrhotic patients with portal hypertension. World J Gastroenterol. 2017;23(18): 3279–32.
7. Corrigan M. Aspects of the Pathophysiology of Primary Biliary Cirrhosis / M. Corrigan, G.M. Hirschfield // Dig. Dis. – 2015. – Vol. 33, Suppl. 2. – S. 102-108.
8. ASMase regulates autophagy and lysosomal membrane permeabilization and its inhibition prevents early stage non-alcoholic steatohepatitis / Fucho R., Martínez L., Baulies A. et al. // J. Hepatol. – 2014. – Vol. 61, N 5. – P. 1126-1134.
9. Alpha-lipoic acid preconditioning reduces ischemia-reperfusion injury of the rat liver via the PI3-kinase/Akt pathway / Müller C., Dünschede F., Koch E. et al. // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2003. – Vol. 285, N 4. – P. 769-778.

10. Bao X.Q. Involvement of HSP70 in the protection of bicyclol on apoptosis of HepG2 cells intoxicated by d-galactosamine / Bao X.Q., Liu G.T. // *J. Asian Nat. Prod. Res.* – 2010. – Vol. 12, N 4. – P. 313-323.
11. Galperin EI Liver cirrhosis and ascites induction in the experiment. *Exp. Surg.* 1960; (1): 46-4.
12. Веремеенко КН Протеолитические ферменты и их ингибиторы в клинической практике / КН Веремеенко. – Киев : Здоровья, 1971. - 215 с.
13. Role of nitric oxide in kidney and liver (as distance organ) function in bilateral renal ischemia-reperfusion: Effect of L-Arginine and NG-nitro-L-Arginine methyl ester / Ghasemi M, Nematbakhsh M, Daneshmand F et al. // *Adv. Biomed. Res.* 2015. 4: 233. doi: 10.4103/2277-9175.167954

References

1. Yeramishantsev AK, Manuk'yan GV "Today" and "tomorrow" of portal hypertension surgery: a view at the problem. *Clin. Problems Gastroenterol.* 2001;5:20–6 [In Russian].
2. Mansurov HH. Portal hypertension: pathophysiology, clinic, diagnosis and management of patients. *Rus. J. Gastroenterol. Hepatol. Coloproctol.* 1997;3:63–72 [In Russian].
3. Severtcev N Portal hypertension. *Clin. Herald.* 1997;3:35–9 [In Russian].
4. de Franchis R. Expanding consensus in portal hypertension: Report of the Baveno VI Consensus Workshop: Stratifying risk and individualizing care for portal hypertension. *J Hepatol.* 2015;63:743–52.
5. García-Pagán JC, Gracia-Sancho J, Bosch J. Functional aspects on the pathophysiology of portal hypertension in cirrhosis. *J Hepatol.* 2012;57: 458–61
6. Wei W, Pu YS, Wang XK, et al. Wall shear stress in portal vein of cirrhotic patients with portal hypertension. *World J Gastroenterol.* 2017;23(18): 3279–32.
7. Corrigan M. Aspects of the Pathophysiology of Primary Biliary Cirrhosis / M. Corrigan, G.M. Hirschfield // *Dig. Dis.* – 2015. – Vol. 33, Suppl. 2. – S. 102-108.
8. ASMase regulates autophagy and lysosomal membrane permeabilization and its inhibition prevents early stage non-alcoholic steatohepatitis / Fucho R., Martínez L., Baulies A. et al. // *J. Hepatol.* – 2014. – Vol. 61, N 5. – P. 1126-1134.
9. Alpha-lipoic acid preconditioning reduces ischemia-reperfusion injury of the rat liver via the PI3-kinase/Akt pathway / Müller C., Dünschede F., Koch E. et al. // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2003. – Vol. 285, N 4. – P. 769-778.

10. Bao X.Q. Involvement of HSP70 in the protection of bicyclol on apoptosis of HepG2 cells intoxicated by d-galactosamine / Bao X.Q., Liu G.T. // J. Asian Nat. Prod. Res. – 2010. – Vol. 12, N 4. – P. 313-323.
11. Galperin EI Liver cirrhosis and ascites induction in the experiment. Exp. Surg. 1960; (1): 46-4 [In Russian].
12. Veremeenko KN Proteolytic enzymes and their inhibitors in clinical practice / KN Veremeenko. –Kiev : Zdorov'ya, 1971. - 215 p. [In Russian].
13. Role of nitric oxide in kidney and liver (as distance organ) function in bilateral renal ischemia-reperfusion: Effect of L-Arginine and NG-nitro-L-Arginine methyl ester / Ghasemi M., Nematbakhsh M., Daneshmand F. et al. // Adv. Biomed. Res. 2015. 4: 233. doi: 10.4103/2277-9175.167954