

Бетаин: эффекты воздействия на фиброз печени и уровень гомоцистеина у пациентов, страдающих неалкогольным стеатогепатитом – перспективное, когортное исследование

Sandeep Mukherjee*,^{1,2}, Tamara Bernard¹, Kusum Kharbanda^{1,2}, Anthony J. Barak^{1,2}, Michael F. Sorrell^{1,2}, Dean J. Tuma^{1,2}

¹ Division of Gastroenterology and Hepatology, University of Nebraska Medical Center, Omaha, Nebraska, USA

² Omaha Veterans Affairs Medical Center, Liver Study Unit, Omaha, Nebraska, USA

ВВЕДЕНИЕ

Неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) считается одной из основополагающих причин развития терминальной стадии заболеваний печени и, согласно прогнозам, может стать одним из ведущих показаний к трансплантации печени в США в будущем [1]. Два общих фактора риска развития НАСГ – ожирение и инсулинорезистентность, являются важными маркерами метаболического синдрома, при успешном лечении которого возможно улучшение функции и гистологических показателей печени [2, 3]. Метаболический синдром также может возникать на фоне гипергомоцистеинемии, которая, в свою очередь, является фактором риска для развития сердечно-сосудистых заболеваний [4, 5].

Хотя в последние годы было проведено несколько исследований по медикаментозной терапии НАСГ, результаты которых являются довольно обнадеживающими, в настоящее время не существует единого утвержденного метода терапии для данного заболевания, за исключением раннего выявления и уменьшения факторов риска [6, 7].

В данной статье представлены данные, полученные в ходе исследования эффектов бетаина, природного метаболита холина, в перспективной когорте пациентов, страдающих НАСГ. Основная цель данного исследования состояла в оценке воздействия бетаина на фиброз печени, вторичной же целью являлась оценка его эффектов в отношении функции печени и уровня гомоцистеина.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДОЛОГИЯ

Популяция исследования

В период с июля 2003 года по июнь 2006 года был выполнен скрининг пациентов, страдающих НАСГ, с целью определения возможности для них получения лечения бетаином (Danisco USA Inc, Ardsley, NY, USA). Критерии отбора включали: повышенные уровни аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) не менее, чем в 1.5 раза выше верхней границы нормы; отсутствие признаков злоупотребления алкоголем в анамнезе; нормальные уровни глюкозы в крови натощак; результаты ультразвукового обследования, компьютерной томографии или магнитно-резонансной томографии, демонстрирующие стеатоз печени; соответствие критериям Бранта при НАСГ и соответствующие результаты биопсии печени в течение двенадцати месяцев после начала исследования [8]. Критериями исключения выступали: возраст пациентов младше 19 лет или старше 75 лет; заболевания печени другой этиологии, например, алкогольная болезнь печени, хронический вирусный гепатит, аутоиммунные заболевания печени, первичный билиарный цирроз, первичный склерозирующий холангит, гемохроматоз, болезнь Вильсона, гемохроматоз или гепатоцеллюлярная карцинома; диагноз сахарного диабета в течение трех месяцев после начала исследования с высокой вероятностью инициирования пероральной антидиабетической или инсулиновой терапии в период исследования; декомпенсированная болезнь печени, сопровождающаяся варикозным кровотечением,

энцефалопатией или асцитом; пациенты, которым требуется трансплантация печени; беременные или кормящие женщины, а также лица, не способные предоставить информированное согласие.

Все пациенты предоставили письменное информированное согласие перед тем, как начать участие в исследовании. Это исследование одобрено Экспертным Советом Организаций при Медицинском Центре Университета штата Небраска.

Протокол лечения пациентов

Наблюдение пациентов было перспективным. Пациенты получали безводный бетаин в дозе 10 грамм два раза в сутки, растворенный в апельсиновом соке, в течение одного года. Исходными параметрами были масса тела пациента в килограммах и уровни гомоцистеина в плазме. Данные параметры были измерены в начале исследования и повторно проведены в конце исследования. Пробы функции печени, а именно анализ уровней АСТ, АЛТ, щелочной фосфатазы и билирубина, выполнялись каждые три месяца во время визитов пациентов в клинику и по завершении исследования.

Биопсия печени

Биопсии печени выполнялись в течение двенадцати месяцев после включения пациента в исследование, а также по завершении лечения. Биопсии окрашивали гематоксилином и эозином и трихромом по Массону, специалисты оценивали результаты в соответствии с критериями Бранта.

Статистический анализ

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения Stata версии 8 (College Station, TX, USA). Сравнение значений, полученных до и после лечения, выполнялось с использованием двустороннего критерия Стьюдента. Значение P, составляющее менее 0.05, считали статистически значимым. Результаты были получены с использованием статистического анализа всех рандомизированных пациентов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Биохимический ответ

Из 23 пациентов, которые завершили лечение, значения АЛТ улучшились или нормализовались у 95.7% пациентов (нормализация n = 20, улучшение n = 2, ухудшение n = 1 пациент, который набрал вес во время лечения). Значения АСТ также улучшились или нормализовались у 95.7% пациентов (нормализация n = 21, улучшение n = 1, ухудшение n = 1 пациент, который набрал вес во время лечения). Значения щелочной фосфатазы улучшились или нормализовались у 91.3% пациентов (нормализация n = 19, улучшение n = 2, ухудшение n = 1 пациент, который набрал вес во время лечения). Значения билирубина были в пределах нормы как перед, так и после лечения у всех пациентов. Последовательные значения уровня гомоцистеина были получены у 16 пациентов, при этом у 9 из этих пациентов были отмечены улучшенные значения (57.3%). Результаты статистического анализа всех рандомизированных пациентов продемонстрировали улучшение или нормализацию значений АЛТ и АСТ у 62.9% пациентов, щелочной фосфатазы – у 60% и гомоцистеина – у 45.7% пациентов.

Гистологический ответ

Доля жировых отложений снизилась у 87% пациентов (устранение жировых отложений n = 5, улучшение n = 15) и не изменилась у 3 пациентов. Степень воспаления снизилась или осталась такой же у 91.3% пациентов (снижение n = 15, отсутствие изменений n = 6 и ухудшение n = 2 пациента, которые набрали вес во время лечения), степень фиброза снизилась или осталась такой же у 95.7% пациентов (снижение n = 11, отсутствие изменений n = 11 и ухудшение n = 1). Из 11 пациентов, у которых степень фиброза снизилась по результатам биопсии, выполненной после курса лечения, у 4 (36.4%) пациентов было отмечено улучшение симптомов фиброза не менее, чем на две стадии. Результаты статистического анализа всех рандомизированных пациентов продемонстрировали разрешение или улучшение стеатоза у 57.1% пациентов, улучшение или стабилизацию воспалительного процесса – у 60%, а улучшение или стабилизацию фиброза – у 62.9% пациентов.

Статистический анализ

Статистически значимые изменения касались таких показателей, как АЛТ, АСТ, щелочная фосфатаза, доля жировых отложений, степень воспаления и стадия фиброза у пациентов, получавших бетаин, по сравнению с показателями, полученными перед началом лечения (Таблица 1).

Таблица 1. Исходные параметры и параметры, полученные по завершении лечения, у 35 пациентов, страдающих неалкогольным стеатогепатитом и получавших бетаин

	ИСХОДНЫЕ ПАРАМЕТРЫ	ПАРАМЕТРЫ, ПОЛУЧЕННЫЕ ПО ЗАВЕРШЕНИИ ЛЕЧЕНИЯ	Значение <i>p</i>
Вес (килограмм)	97.2+/-3.15	97.4+/-3.63	НЗ
АЛТ (ед/л)	109+/-14.4	45+/-10.8	<i>p</i> < 0.05
АСТ (ед/л)	98.1+/-21.2	36.9+/-5.9	<i>p</i> < 0.05
Щелочная фосфатаза (ед/л)	122+/-13.7	101+/-14.6	<i>p</i> < 0.05
Билирубин (мг/дл)	0.6+/-0.1	0.49+/-0.05	<i>p</i> < 0.05
Гомоцистеин (мкмоль/л)	7.72+/-0.37	7.42+/-0.42	НЗ
Стеатоз	2.28+/-0.12	1.12+/-0.15	<i>p</i> < 0.05
Воспаление	1.31+/-0.12	0.71+/-0.11	<i>p</i> < 0.05
Фиброз	2.09+/-0.24	1.29+/-0.24	<i>p</i> < 0.05

АЛТ: Аланинаминотрансфераза; АСТ: Аспаратаминотрансфераза; НЗ – незначимый. Данные представляют собой средние значения +/- стандартное отклонение.

ОБСУЖДЕНИЕ

Бетаин представляет собой производное холина, механизм действия которого при стеатозе печени до конца не известен. Данные проведенных исследований показали, что он выступает в качестве важного донора метильной группы для превращения гомоцистеина в метионин и, возможно, является единственным источником метильных групп для этого ключевого метаболического пути в условиях дефицита кобаламина или фолиевой кислоты [11]. Также бетаин способен заменить S-аденозилметионин для прямого метилирования фосфатидилэтаноламина и формирования фосфатидилхолина, неотъемлемого компонента липопротеинов очень низкой плотности. Это единственный метод, с помощью которого может быть утилизирован жир из гепатоцитов. Таким образом, бетаин выступает в качестве липотропа, что является очень важной функцией. Остается неясным, почему у пациентов, страдающих НАСГ, может наблюдаться состояние дефицита бетаина. Возможной причиной этому может быть огромный приток свободных жирных кислот, которые подавляют субстанцию для синтеза фосфатидилхолина, что приводит к жировой инфильтрации [12]. Другие эффекты бетаина включают воздействие на оксидативный стресс, реакции транссульфурации и активацию АМФ-активируемой протеинкиназы (АМФК) [13, 14].

Результаты представленного исследования показывают, что у пациентов, которые перенесли лечение, применение бетаина привело к заметному улучшению симптомов стеатоза печени, степени воспаления, стадии фиброза и биохимических показателей печени, особенно АСТ и АЛТ.

Еще один интересный вывод заключается в улучшении уровня гомоцистеина у 57% пациентов. Поскольку гипергомоцистеинемия является суррогатным маркером метаболического синдрома и фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, это открытие может быть клинически значимым, так как по результатам последних исследований было установлено, что наиболее распространенной причиной смертности в этой популяции пациентов являются сердечно-сосудистые заболевания [15].

Так же результаты недавних исследований на животных, страдающих стеатозом, предполагают, что роль бетаина при НАСГ может быть более значимой, чем предполагалось ранее. Ванг (Wang) и другие исследователи сообщили, что применение бетаина в качестве добавки мышам, страдающим ожирением, вызвало улучшение гистологических показателей печени вследствие улучшения сигналов инсулиновых рецепторов в адипоцитах и коррекции нарушенного синтеза адипокина [20].

Результаты более позднего исследования Kathirvel et al. продемонстрировали, что бетаин выступал в качестве профилактического и терапевтического средства у мышей (неалкогольная жировая печень) за счет улучшения фосфорилирования субстрата инсулинового рецептора-1, и как следствие, улучшения нисходящих сигнальных путей для глюконеогенеза и синтеза гликогена [21].

Кроме легких побочных эффектов со стороны желудочно-кишечного тракта, какие-либо серьезные побочные эффекты, вызванные бетаином, не наблюдались, поэтому он считается безопасным средством для лечения различных заболеваний, а также оказывает положительное воздействие на качество жизни пациентов, страдающих НАСГ [26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показывают, что бетаин может играть важную роль в лечении пациентов, страдающих НАСГ. Это подтверждается полученными последовательными результатами биопсии, свидетельствующими об улучшении состояния фиброза печени. Также при применении бетаина было зарегистрировано снижение уровня гомоцистеина, и, возможно, как следствие, сокращение случаев возникновения побочных эффектов со стороны сердечно-сосудистой системы, хотя данный вывод должен быть подтвержден результатами долгосрочных исследований. На основании представленных результатов можно сделать вывод о том, что бетаин играет важную роль в лечении НАСГ.

ВЫРАЖЕНИЕ ПРИЗНАТЕЛЬНОСТИ

Данное исследование было профинансировано Центром по клиническим исследованиям при Медицинском Центре Университета штата Небраска, Омаха, Небраска, США.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Younossi ZM, Stepanova M, Afendy M, et al. Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver diseases in the United States from 1988-2008. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011 Mar 24 [Epub ahead of print].
- [2] Feldstein AE. Novel insights into the pathophysiology of nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liv Dis* 2010; 30: 391-401.
- [3] Cheung O, Sanyal AJ. Recent advances in nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2010; 26: 202-8.
- [4] Bellia C, Bivona G, Scazzone C, Ciaccio M. Association between homocystenemia and metabolic syndrome in patients with cardiovascular disease. *Ther Clin Risk Manag* 2007; 3: 999-1001.
- [5] Devers MC, Campbell S, Shaw J, Zimmet P, Simmons D. Should liver function tests be included in definitions of the metabolic syndrome. Evidence from the association between liver function tests, components of the metabolic syndrome and prevalent cardiovascular disease. *Diabet Med* 2008; 25: 523-9.
- [6] Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. A meta-analysis of randomized trials for the treatment of nonalcoholic liver disease. *Hepatology* 2010; 52: 79-104
- [7] Lam B, Younossi ZG. Treatment options for nonalcoholic fatty liver disease. *Ther Adv Gastroenterol* 2010; 3: 121-37.
- [8] Brunt EM, Tiniakos DG. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5286-96.
- [9] Suzuki A, Lymp J, Sauver JS, Anjulo P, Lindor K. Values and limitations of serum aminotransferases in clinical trials of nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int* 2006; 26: 1209-16.
- [10] Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G. A position paper on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 Special conference. *J Hepatol* 2010; 53: 372-84.
- [11] Craig SA. Betaine in human nutrition. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 539-49.

- [12] Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic and clinical implications. *Hepatology* 2010; 51: 679-89.
- [13] Kwon do Y, Jung YS, Kim SJ, Park HK, Park JH, Kim YC. Impaired sulfur-amino acid metabolism and oxidative stress in nonalcoholic fatty liver are alleviated by betaine supplementation in rats. *J Nutr* 2009; 139: 63-8.
- [14] Song Z, Deaciuc I, Zhou Z, et al. Involvement of AMP-activated protein kinase in beneficial effects of betaine on high-sucrose diet-induced hepatic steatosis. *Am J PhysiolGastrointest Liver Physiol* 2007; 293: G894-902.
- [15] Moore JB. Nonalcoholic fatty liver disease: the hepatic consequences of obesity and the metabolic syndrome. *ProcNutrSoc* 2010; 69: 211-20.
- [16] Abdelmalek MF, Sanderson SO, Angulo P, et al. Betaine for nonalcoholic fatty liver disease: results of a randomized placebo-controlled trial. *Hepatology* 2009; 50: 1818-26.
- [17] Schwab U, Torronen A, Meririnne E, et al. Orally administered betaine has an acute and dose-dependent effect on serum betaine and plasma homocysteine concentrations in healthy humans. *J Nutr* 2006; 136: 34-8.
- [18] Lever M, Slow S. The clinical significance of betaine, an osmolyte with a key role in methyl group metabolism. *ClinBiochem* 2010; 43: 732-44.
- [19] Caldwell S, Argo C. The natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis* 2010; 28: 162-8.
- [20] Wang Z, Yao T, Pini M, Zhou Z, Fantuzzi G, Song Z. Betaine improved adipose tissue function in mice fed a high-fat diet: a mechanism for hepatoprotective effect of betaine in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J PhysiolGastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G634-42.
- [21] Kathirvel E, Morgan K, Nandgiri G, et al. Betaine improves nonalcoholic fatty liver and associated insulin resistance: a potential mechanism for hepatoprotection by betaine. *Am J PhysiolGastrointest Liver Physiol* 2010; 299: G1068-77.
- [22] Merriman RB, Ferrell LD, Patti MG, et al. Correlation of paired liver biopsies in morbidly obese patients with suspected nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2006; 44: 874-80.
- [23] Das K, Das K, Mukherjee PS, et al. Non obese population in a developing country has a high prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and significant liver disease. *Hepatology* 2010; 5: 1593-602.
- [24] Vuppalanchi R, Chalasani. Nonalcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis: selected practical issues in their evaluation and management. *Hepatology* 2009; 49: 306-17.
- [25] Bugianesi E, Gentilecore E, Manini R, et al. A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1082-90.
- [26] David K, Kowdley KV, Unalp A, Kanwal F, Brunt EM, Schwimmer JB. NASH CRN Research Group. Quality of life in adults with nonalcoholic fatty liver disease: baseline data from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. *Hepatology* 2009; 49: 1904-12.