



## РОЛЬ РЕЦЕПТОРОВ ПРОЛИФЕРАЦИИ ПЕРОКСИСОМ PPAR $\alpha$ В ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ БЕТУЛИНА ПРИ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ У КРЫС

<sup>1</sup>А. Г. Шляхтун, <sup>2</sup>Ю. З. Максимчик, <sup>1</sup>В. Ч. Полубок, <sup>1</sup>И. П. Сутько, <sup>1</sup>Е. Ф. Радута, <sup>1</sup>Е. В. Букша, <sup>1</sup>Е. В. Богдевич, <sup>3</sup>Е. А. Мойсеёнок, <sup>1</sup>Ж. В. Мотылевич

<sup>1</sup>Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Гродно, Беларусь

<sup>2</sup>Отраслевая научно-исследовательская лаборатория «ДНК-технологий» учреждения образования «Гродненский государственный аграрный университет», Гродно, Беларусь

<sup>3</sup>Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

**Введение.** Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) – важная медико-биологическая проблема. Одно из перспективных соединений для использования в терапии НАЖБП – тритерпеноид бетулин. Высказана гипотеза о реализации гиполипидемических эффектов бетулина через рецепторы пролиферации пероксисом (PPAR), в частности, PPAR $\alpha$ .

**Цель исследования** – оценить роль PPAR $\alpha$  в гиполипидемическом действии бетулина при НАЖБП у крыс.

**Материал и методы.** Исследование проведено на крысах линии Wistar с использованием современных биохимических и молекулярно-биологических методов.

**Результаты.** Введение бетулина (100 мг/кг/сут, 28 дней) крысам с НАЖБП оказывало выраженное гепатопротекторное и гиполипидемическое действие. Бетулин препятствовал развитию гепатомегалии и нормализовал липидный профиль сыворотки крови и печени крыс с НАЖБП, увеличивая уровни экспрессии PPAR $\alpha$  в печени. Введение антагониста PPAR $\alpha$  (GW6471) животным, получавшим бетулин при НАЖБП, снижало экспрессию PPAR $\alpha$  в ткани печени, индуцированную бетулином, и блокировало его гиполипидемическое действие.

**Заключение.** Гиполипидемическое действие бетулина при НАЖБП обусловлено усилением уровней экспрессии PPAR $\alpha$  в печени.

**Ключевые слова:** бетулин, рецепторы пролиферации пероксисом  $\alpha$ , неалкогольная жировая болезнь печени, метаболизм липидов.

## THE ROLE OF PEROXISOME PROLIFERATION RECEPTORS PPAR $\alpha$ IN THE LIPID-LOWERING EFFECT OF BETULIN IN NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE IN RATS

<sup>1</sup>A. H. Shlyahntun, <sup>2</sup>Yu. Z. Maksimchik, <sup>1</sup>V. Ch. Polubok, <sup>1</sup>I. P. Sutsko, <sup>1</sup>A. F. Raduta, <sup>1</sup>E. V. Buksha, <sup>1</sup>Y. V. Bogdevich, <sup>3</sup>E. A. Moiseenok, <sup>1</sup>Zh. V. Motylevich

<sup>1</sup>The Institute of Biochemistry Biologically Active Compounds, The National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Belarus;

<sup>2</sup>Applied-Research Laboratory of «DNA-technologies» of Educational Institution «Grodno State Agrarian University» Grodno, Belarus;

<sup>3</sup>Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

**Background.** Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a significant biomedical challenge. The triterpenoid betulin is one of promising therapeutic agents for NAFLD treatment. It is hypothesized that betulin exerts its lipid-lowering effects through the activation of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR), specifically PPAR $\alpha$ .

**Objective.** The aim of this study was to assess the role of PPAR $\alpha$  in mediating the lipid-lowering effects of betulin in a rat model of NAFLD.

**Materials and methods.** The study was performed on Wistar rats utilizing contemporary biochemical and molecular biological techniques.

**Results.** Administration of betulin (100 mg/kg/day for 28 days) to rats with NAFLD resulted in significant hepatoprotective and lipid-lowering effects. Betulin prevented the development of hepatomegaly and normalized the lipid profiles in both the blood serum and liver of NAFLD rats by increasing PPAR $\alpha$  expression levels in the liver tissue. The administration of the PPAR $\alpha$  antagonist GW6471 to betulin-treated NAFLD-rats reduced the betulin-induced increase in PPAR $\alpha$  expression and inhibited hypolipidemic effect of betulin.

**Conclusion.** The lipid-lowering effect of betulin in NAFLD is attributed to the increased expression levels of PPAR $\alpha$  in the liver.

**Keywords:** betulin, peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ , non-alcoholic fatty liver disease, lipid metabolism

**Автор, ответственный за переписку:**

Шляхтун Алексей Генрихович, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, e-mail: shlyahntun@ibiochemistry.by, ORCID: 0000-0002-7618-9589

**Для цитирования:** Роль рецепторов пролиферации пероксисом PPAR $\alpha$  в гиполипидемическом действии бетулина при неалкогольной жировой болезни печени у крыс / А. Г. Шляхтун, Ю. З. Максимчик, В. Ч. Полубок, И. П. Сутько, Е. Ф. Радута, Е. В. Букша, Е. В. Богдевич, Е. А. Мойсеёнок, Ж. В. Мотылевич // Гепатология и гастроэнтерология. 2024. Т. 8, № 2. С. 85-89. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2024-8-2-85-89>.

**Corresponding author:**

Shlyahntun Alexej, The Institute of Biochemistry Biologically Active Compounds, The National Academy of Sciences of Belarus, e-mail: shlyahntun@ibiochemistry.by, ORCID: 0000-0002-7618-9589

**For citation:** Shlyahntun AH, Maksimchik YuZ, Polubok VCh, Sutsko IP, Raduta AF, Buksha EV, Bogdevich YV, Moiseenok EA, Motylevich ZhV. The role of peroxisome proliferation receptors PPAR $\alpha$  in the lipid-lowering effect of betulin in nonalcoholic fatty liver disease in rats. *Hepatology and Gastroenterology*. 2024;8(2):85-89. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2024-8-2-85-89>.

**Введение**

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) представляет собой значимую медико-биологическую проблему. Распространенность НАЖБП составляет до 30%, а стеатогепатита – до 3% взрослого населения мира [1]. Протоколы лечения НАЖБП включают консервативные немедикаментозные и фармакологические вмешательства [2]. Следует признать, что имеющиеся на сегодняшний день знания мало что сделали для сдерживания распространения данной патологии.

Из-за низкой эффективности синтетических препаратов и их побочных эффектов на протяжении десятков лет сохраняется интерес к поиску природных соединений с гепатопротекторным и гиполипидемическим действием.

Одно из таких соединений – пентациклический тритерпеноид – бетулин, который нормализует уровни триацилглицеролов (ТГ), липопротеинов и свободных жирных кислот (СЖК) в крови и печени крыс при экспериментальных нарушениях липидного обмена, в том числе при алкогольном стеатогепатите и сахарном диабете 2 типа [3, 4].

Установлен ряд сигнальных молекул и путей, обуславливающих гепатопротекторные эффекты бетулина, в частности, показано, что бетулин влияет на AMPK, MAPK, NF- $\kappa$ B, Nrf2, STAT3, PI3K/Akt/mTOR и другие [5]. Считается, что гиполипидемическое действие бетулина обусловлено его способностью селективно блокировать созревание факторов транскрипции SREBP-2 и снижать активность сигнального пути SREBP-2/SCAP/INSIG1, что приводит к снижению биосинтеза холестерина [6]. Однако, так как SREBP-2 напрямую не влияет на метаболизм ТГ и СЖК, требуется уточнение механизмов гиполипидемического действия бетулина [7].

Учитывая то, что под влиянием бетулина происходит нормализация уровней ТГ и СЖК в тканях, увеличиваются активность и уровни экспрессии скорость-лимитирующего фермента  $\beta$ -окисления жирных кислот, карнитинпальмитилтрансферазы-1, можно предположить, что в гиполипидемических эффектах бетулина задействованы рецепторы пролиферации пероксисом (PPAR), в частности PPAR $\alpha$  [8,9].

PPAR представляют собой семейство лиганд-индуцируемых ядерных гормональных рецепторов. У млекопитающих идентифицированы три изоформы ( $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\beta/\delta$ ) PPAR. В печени и скелетных мышцах PPAR $\alpha$  регулируют экспрессию генов, участвующих в энергетическом метаболизме, в том числе в транспорте, активации,  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\omega$ -окислении СЖК [10].

**Цель исследования** – оценить роль PPAR $\alpha$  в гиполипидемическом действии бетулина при НАЖБП у крыс.

**Материал и методы**

Все использованные в исследовании реактивы имели квалификацию не ниже чем «химически чистый». Бетулин получали путем экстракции [3, 4]. Для приготовления буферных растворов применяли деионизированную воду (DirectQ3, Merk, США).

Моделирование НАЖБП проводили на самцах крыс линии Wistar. Животные содержались в стандартных условиях с регулируемым уровнем освещенности, температуры и влажности.

При работе с животными соблюдались этические нормы, установленные «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях». Дизайн эксперимента одобрен комитетом по биоэтике ГП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси» (протокол № 2 от 12.02.2020).

НАЖБП индуцировали содержанием животных на протяжении 42 суток на высокожировой диете (ВЖД; 45% калорий за счет животных жиров), с дополнительным введением стрептозотцина в дозе 25 мг/кг на 14 и 28-й день от начала эксперимента [11]. Через 42 дня отбирали животных с признаками НАЖБП и далее использовали в эксперименте.

Были сформированы 4 экспериментальные группы по 8 особей в каждой – «Контроль», «ВЖД», «ВЖД + Бетулин» и «ВЖД + Бетулин + GW6471». Крысы в контрольной группе содержались на обычной диете вивария, тогда как остальным скормливали ВЖД до конца эксперимента. Крысам, включенным в группы «ВЖД + Бетулин» и «ВЖД + Бетулин + GW6471» в течение

ние 28 дней внутрижелудочно вводили суспензию бетулина в дозе 100 мг/кг/сут в 2% крахмале. Контрольные животные и группа «ВЖД» получали эквивалентные количества 2% крахмала. Животные в группе «ВЖД + Бетулин + GW6471» в течение 28 дней получали внутривентриально инъекции препарата GW6471 (Selleck, США; кат. № S2798) по 2,5 мг/кг/сут в физиологическом растворе с 5% ДМСО + 40% ПЭГ 300. Животным остальных групп внутривентриально вводили эквивалентные количества физиологического раствора с 5% ДМСО + 40% ПЭГ 300.

По окончании эксперимента крыс эвтаназировали под эфирным наркозом. После декапитации у животных получали сыворотку. Печень выделяли без перфузирования, на льду, взвешивали для расчета печеночного индекса, определяемого как отношение массы печени к массе тела. Для исследований отбирали левую латеральную долю печени. Образцы тканей хранили до исследования при  $-80^{\circ}\text{C}$ .

В сыворотке крови определяли уровни ТГ, общего холестерина (ОХ) и холестерина липопротеидов высокой плотности (ХЛВП), а в липидной фракции печени – содержание ТГ и ОХ при помощи наборов реагентов («НТПК АнализХ», Беларусь). Определение концентрации СЖК проводили по методу Duncombe. Содержание PPAR $\alpha$  в печени оценивали иммуноферментным методом (FineTest, КНР; кат. № ER1283). Количество белка в пробах определяли по Bradford с Coomassie Brilliant Blue G-250 (Sigma-Aldrich, США).

РНК из ткани выделяли с использованием TRIzol, очищали препаратом смеси ДНКаз. Изолированную РНК хранили при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$  до анализа.

Экспрессию мРНК Ppara оценивали методом ПЦР с обратной транскрипцией. Использовали набор iTaq Universal SYBR Green (Bio-Rad, США) и систему CFX96 (Bio-Rad, США), программа амплификации включала этапы обратной транскрипции, последующей денатурации и 40 циклов собственно ПЦР (денатурация при  $95^{\circ}\text{C}$  10 секунд, отжиг и элонгация при  $60^{\circ}\text{C}$  30 секунд), в соответствии с рекомендациями производителя. Дизайн праймеров разработан с помощью Primer-BLAST – к мРНК Ppara (NM\_013196.2)

– F: TAATTTGCTGTGGAGATCGGC и R: GGAGTTTTGGGAAGAGAAAGGT; к мРНК  $\beta$ -актина Actb (NM\_031144.3) – F: ATGGATGACGATATCGCTGC и R: CTTCTGACCCATACCCACCA. Данные ПЦР анализировали с помощью программного обеспечения CFX Manager 3.1 (Bio-RAD, США). Расчет относительной экспрессии мРНК Ppara проводили по методу 2- $\Delta\Delta\text{CT}$  с нормализацией по мРНК Actb.

Данные обрабатывали статистически с использованием пакета Prism v.8.0 (GraphPad, США). Нормальность распределения оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Для выявления значимости различий использовали однофакторный дисперсионный анализ и тест Тьюки в случае нормального распределения и равенства дисперсий, в противном случае – тест Краскела-Уоллиса с тестом Данна для множественных сравнений. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ . Данные в таблицах представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее арифметическое значение,  $m$  – стандартная ошибка среднего значения.

### Результаты и обсуждение

Длительное содержание крыс на ВЖД (70 суток) сопровождалось развитием НАЖБП, проявляющейся гепатомегалией, гепатостеатозом и дислипидемией атерогенного типа. Обнаружено, что в сыворотке крови крыс в группе «ВЖД» концентрации ТГ увеличились в 2,47 раза, уровни ОХ возрастали на 76,2%, концентрации СЖК повышались на 36,7% по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе, при этом содержание ХЛВП было ниже на 33,3%, чем в контроле (табл. 1).

У животных в группе «ВЖД» печеночный индекс увеличился на 54,3%. Значительно повышалось содержание липидов в печени – уровни ТГ и ОХ были выше в 2,5 и 1,4 раза, соответственно, чем в контрольной группе (табл. 2).

Бетулин в условиях эксперимента проявлял выраженное гепатопротекторное и гиполлипидемическое действие, предотвращая развитие гепатомегалии и снижая уровни ТГ, ОХ и СЖК в сыворотке крови и печени у крыс по сравнению с группой «ВЖД» (табл. 1-2), что согласуется с

**Таблица 1.** – Влияние бетулина на липидный профиль сыворотки у крыс с НАЖБП

**Table 1.** – The effect of betulin on the serum lipid profile of rats with NAFLD

Группы	Показатели			
	ОХ, ммоль/л	ХЛВП, ммоль/л	ТГ, ммоль/л	СЖК, ммоль/л
Контроль	4,29±0,65	3,12±0,55	0,72±0,07	0,49±0,03
ВЖД	7,56±1,08 <sup>A</sup>	2,08±0,25 <sup>A</sup>	1,78±0,09 <sup>A</sup>	0,67±0,07 <sup>A</sup>
ВЖД + Бетулин	3,60±0,75 <sup>B</sup>	2,57±0,51	1,08±0,14 <sup>B</sup>	0,59±0,04
ВЖД + Бетулин + GW6471	7,90±1,08 <sup>A</sup>	1,76±0,14 <sup>A</sup>	1,95±0,22 <sup>A</sup>	0,74±0,06 <sup>A</sup>

Примечание – здесь и далее – **A** –  $p < 0,05$  по сравнению с группой «Контроль», **B** –  $p < 0,05$  по сравнению с группой «ВЖД».

**Таблица 2.** – Влияние бетулина на маркеры НАЖБП в печени у крыс

**Table 2.** – The effect of betulin on NAFLD markers in rat liver

Группы	Печеночный индекс, %	Содержание липидов, мг/г печени	
		ТГ	ОХ
Контроль	3,13±0,29	10,91±0,98	3,43±0,24
ВЖД	4,83±0,18 <sup>A</sup>	25,98±1,21 <sup>A</sup>	4,87±0,21 <sup>A</sup>
ВЖД + Бетулин	3,56±0,18 <sup>B</sup>	15,50±1,07 <sup>B</sup>	3,86±0,49
ВЖД + Бетулин + GW6471	4,67±0,20 <sup>A</sup>	23,89±1,11 <sup>A</sup>	4,35±0,19

ранее полученными данными [3-6, 8-9].

Уровни мРНК Ppara и содержание PPARα в ткани печени животных с НАЖБП (группа «ВЖД») были снижены по сравнению с контрольными (табл. 3).

**Таблица 3.** – Влияние бетулина на уровни экспрессии PPARα в печени у крыс с НАЖБП

**Table 3.** – Effect of betulin on expression of PPARα in the liver of rats with NAFLD

Группы	Нормализованный уровень мРНК Ppara	Содержание PPARα, нг/мг белка
Контроль	1,00±0,10	128,01±15,33
ВЖД	0,80±0,09 <sup>A</sup>	70,75±7,20 <sup>A</sup>
ВЖД + Бетулин	2,54±0,45 <sup>AB</sup>	135,50±7,47 <sup>B</sup>
ВЖД + Бетулин + GW6471	0,55±0,08 <sup>A</sup>	61,90±6,94 <sup>A</sup>

Введение бетулина крысам с НАЖБП сопровождалось значительным увеличением экспрессии PPARα – наблюдалось увеличение содержания мРНК Ppara и белка PPARα как по сравнению с группой «ВЖД», так и по сравнению с контрольными животными (табл. 3).

**Благодарность.** Авторы выражают свою искреннюю благодарность М. Tomulewicz и А. Zakrzaska, M.D., PhD. (Высшая медицинская школа, г. Белосток, Польша), S. Szycko, M.D., PhD. (Гданьский медицинский университет, Польша) за бескорыстное предоставление некоторых реагентов и доступа к оборудованию, использованных в настоящей работе.

Для проверки гипотезы о реализации гиполлипидемического действия бетулина через активацию PPARα крысам, которые получали бетулин на фоне НАЖБП, дополнительно вводили соединение GW6471, которое является селективным антагонистом PPARα с IC50=0,24 μM. Как известно, GW6471, связываясь с молекулой PPARα, приводит к нарушению белок-белковых взаимодействий PPARα с ко-активаторами SRC-1 и CRB, увеличивает аффинность к ко-репрессорам N-CoR и SMRT, что в конечном итоге снижает функциональную активность рецептора [12].

Введение антагониста PPARα животным, получавшим бетулин на фоне НАЖБП, снижало экспрессию мРНК Ppara в ткани печени, индуцированную бетулином, и в значительной степени блокировало его гиполлипидемическое действие, что нашло свое отражение в повышенных уровнях липидов в сыворотке крови и в печени крыс.

Полученные данные значительно расширяют понимание механизмов действия бетулина, показывая, что его гиполлипидемические эффекты обусловлены повышением экспрессии PPARα в гепатоцитах. В перспективе результаты исследования могут быть применены для разработки препаратов, направленных на лечение НАЖБП и связанных с ней осложнений.

### Выводы

1. Бетулин усиливает экспрессию PPARα в печени крыс при НАЖБП, что сопровождается уменьшением выраженности гепатомегалии, стеатогепатоза и проявлений дислипидемии.

2. GW6471 в значительной мере блокирует эффекты бетулина на липидный обмен в печени крыс при НАЖБП, что подчеркивает ключевую роль PPARα в механизмах гиполлипидемического действия бетулина.

### References

- Teng ML, Ng CH, Huang DQ, Chan KE, Tan DJ, Lim WH, Yang JD, Tan E, Muthiah MD. Global incidence and prevalence of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Mol Hepatol*. 2023;29(Suppl):32-42. doi: 10.3350/cmh.2022.0365.
- Rinella ME, Neuschwander-Tetri BA, Siddiqui MS, Abdelmalek MF, Caldwell S, Barb D, Kleiner DE, Loomba R. AASLD Practice Guidance on the clinical assessment and management of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2023;77(5):1797-1835. doi: 10.1097/HEP.000000000000323.
- Buko V, Kuzmitskaya I, Kirko S, Belonovskaya E, Naruta E, Lukivskaya O, Shlyahun A, Ilyich T, Zakreska A, Zavodnik I. Betulin attenuated liver damage by prevention of hepatic mitochondrial dysfunction in rats with alcoholic steatohepatitis. *Physiol Int*. 2019;106(4):323-334. doi: 10.1556/2060.106.2019.26.
- Buko V, Zavodnik I, Palecz B, Stepniak A, Kirko S, Shlyahun A, Misiuk W, Belonovskaya E, Lukivskaya O, Naruta E, Kuzmitskaya I, Ilyich T, Erdenebayar B, Rakhmadiyeva S. Betulin/2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion complex: Physicochemical characterization and hepatoprotective activity. *J Mol Liq*. 2020;309:113118. doi: 10.1016/j.molliq.2020.113118.
- Adepoju FO, Duru KC, Li E, Kovaleva EG, Tsurkan MV. Pharmacological potential of betulin as a multitarget compound. *Biomolecules*. 2023;13(7):1105. doi: 10.3390/biom13071105.
- Tang JJ, Li JG, Qi W, Qiu WW, Li PS, Li BL, Song BL. Inhibition of SREBP by a small molecule, betulin, improves hyperlipidemia and insulin resistance and reduces atherosclerotic plaques. *Cell Metab*. 2011;13(1):44-56. doi: 10.1016/j.cmet.2010.12.004.

7. Rakhshandehroo M, Knoch B, Müller M, Kersten S. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha target genes. *PPAR Res.* 2010;2010:612089. doi: 10.1155/2010/612089.
8. Shlyahun AH, Maksimchik YuZ, Raduta EF, Sutsko IP. Vlijanie betulina na aktivnost karnitin-palmitoiltransferazy 1 tipa v mitohondrijah pecheni krysa [Effect of betulin on carnitine-palmitoyltransferase-1 activity in rats liver]. *Vestnik Poleskogo gosudarstvennogo universiteta. Serija prirodovedcheskih nauk* [Bulletin of Polesky state university. Series in Natural Sciences]. 2022;2:57-63. edn: WEFPMXG. (Russian).
9. Shlyahun AH, Maksimchik YuZ, Raduta EF, Polubok VCh, Buksha EV, Bogdevich EV, Sutsko IP, Gurinovich VA, Astrovski AA. Vlijanie triterpenoida betulina na jekspressiju karnitinpalmitoiltransferazy v pecheni krysa pri nealkogolnoj zhirovoj bolezni pecheni s priznakami steatogepatita [Effect of triterpenoid betulin on expression of carnitine palmitoyltransferase in liver of rats with non-alkoholic fatty liver disease with signs of steatohepatitis]. *Vestnik Poleskogo gosudarstvennogo universiteta. Serija prirodovedcheskih nauk* [Bulletin of Polesky State University. Series in Natural Sciences]. 2024;1:46-55. (Russian).
10. Semeneyna IN, Shlyahun AH, Raduta HF. Rol receptorov, aktivirujushchih proliferaciju peroksisom, v kontrole alkogolnoj zavisimosti i lechenii soputstvujushchih zabojevanij pecheni [Role of peroxisome proliferator-activated receptors in the control of alcohol dependence and concomitant liver pathology]. *Izvestija Nacionalnoj akademii nauk Belarusi. Serija medicinskih nauk* [Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series]. 2019;16(2):244-256. doi:10.29235/1814-6023-2019-16-2-244-256. edn: AKDUNT. (Russian).
11. Lo L, McLennan SV, Williams PF, Bonner J, Chowdhury S, McCaughan GW, Gorrell MD, Yue DK, Twigg SM. Diabetes is a progression factor for hepatic fibrosis in a high fat fed mouse obesity model of non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol.* 2011;55(2):435-44. doi: 10.1016/j.jhep.2010.10.039.
12. Xu HE, Stanley TB, Montana VG, Lambert MH, Shearer BG, Cobb JE, McKee DD, Galardi CM, Plunket KD, Nolte RT, Parks DJ, Moore JT, Klier SA, Willson TM, Stimmel JB. Structural basis for antagonist-mediated recruitment of nuclear co-repressors by PPAR alpha. *Nature.* 2002;415(6873):813-7. doi: 10.1038/415813a.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Разработка способов получения и анализа бетулина выполнена при финансовой поддержке Белорусского фонда фундаментальных исследований (грант № Б16М-120, Рег. № 20163318). Разработка экспериментальной модели и некоторых методов исследований выполнены в рамках выполнения задания 2.14 ГПНИ «Физическое материаловедение, новые материалы и технологии» подпрограмма «Наноматериалы и нанотехнологии» (2016-2018 гг., рег. № 20160600) и задания 5.18 ГПНИ «Химические технологии и материалы» подпрограмма «Фармакология и фармация» (2019-2020 гг., рег. № 20190937).

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

#### Сведения об авторах:

Шляхун Алексей Генрихович, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, e-mail: shlyahun@ibiochemistry.by, ORCID: 0000-0002-7618-9589

Максимчик Юрий Зигмундович, Отраслевая научно-исследовательская лаборатория «ДНК-технологий» учреждения образования «Гродненский государственный аграрный университет», ORCID: 0009-0004-6132-230X

Полубок Вячеслав Чеславович, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, ORCID: 0000-0002-9418-7069

Сутько Ирина Петровна, канд. биол. наук, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, ORCID: 0000-0001-9599-6944

Радута Елена Францевна, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, ORCID: 0000-0001-8020-1838

Букша Екатерина Витальевна, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, ORCID: 0009-0001-0236-9691

Богдевич Евгений Валерьянович, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, ORCID: 0009-0003-9825-098X

Мойсеенок Евгений Андреевич, канд. мед. наук, доц., Гродненский государственный медицинский университет, ORCID: 0000-0001-9488-9290

Мотылевич Жанна Витальевна, канд. биол. наук, Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, ORCID: 0009-0004-3311-9320

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Financing.** The methods for the isolation and analysis of betulin were developed with the financial support of the Belarusian Foundation for Fundamental Research (Grant No. B16M-120, Reg. No. 20163318). The experimental model and some research methods were developed as part of task 2.14 of the State Scientific Research Program "Physical Materials Science, New Materials and Technologies" subprogram "Nanomaterials and Nanotechnology" (2016-2018, reg. No. 20160600) and task 5.18 of the State Scientific Research Program "Chemical Technologies and Materials" subprogram "Pharmacology and pharmacy" (2019-2020, reg. No. 20190937).

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the local ethics committee.

#### Information about authors:

Shlyahun Alexej, The Institute of Biochemistry Biologically Active Compounds, The National Academy of Sciences of Belarus, e-mail: shlyahun@ibiochemistry.by, ORCID: 0000-0002-7618-9589

Maksimchik Yuri, Applied-Research Laboratory of «DNA-technologies» of Educational Institution «Grodno State Agrarian University», ORCID: 0009-0004-6132-230X

Polubok Vyacheslav, The Institute of Biochemistry Biologically Active Compounds, The National Academy of Sciences of Belarus, ORCID: 0000-0002-9418-7069

Sutsko Irina, PhD (Biology), The Institute of Biochemistry Biologically Active Compounds, The National Academy of Sciences of Belarus, ORCID: 0000-0001-9599-6944

Raduta Alena, The Institute of Biochemistry Biologically Active Compounds, The National Academy of Sciences of Belarus, ORCID: 0000-0001-8020-1838

Buksha Ekaterina, The Institute of Biochemistry Biologically Active Compounds, The National Academy of Sciences of Belarus, ORCID: 0009-0001-0236-9691

Bogdevich Yauheni, The Institute of Biochemistry Biologically Active Compounds, The National Academy of Sciences of Belarus, ORCID: 0009-0003-9825-098X

Evgenij Moiseenok, PhD (Medicine), Associate Professor, Grodno State Medical University, ORCID: 0000-0001-9488-9290

Zhanna Motylevich, PhD (Biology), The Institute of Biochemistry Biologically Active Compounds, The National Academy of Sciences of Belarus, ORCID: 0009-0004-3311-9320

Поступила: 26.08.2024

Принята к печати: 04.10.2024

Received: 26.08.2024

Accepted: 04.10.2024