

Изучение зависимости «доза – ответ» при моделировании острого токсического гепатита *in vivo* как основа для поиска новых коррекционных стратегий

Ю.В. Рябова¹, Д.О. Каримов^{1,2}, Э.Ф. Репина¹, Т.Г. Якупова¹, Н.Ю. Хуснутдинова¹, Д.А. Смолянкин¹

¹ Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека
450106, г. Уфа, ул. Степана Кувыкина, 94

² Национальный НИИ общественного здоровья им. Н.А. Семашко
105064, г. Москва, ул. Воронцово поле, 12/1

Резюме

Воздействие химических веществ остается приоритетным фактором риска для здоровья работающего населения в химической, нефтехимической и химико-фармацевтической промышленности. Печень, основной орган детоксикации, служит мишенью для многих химических агентов, что обуславливает необходимость углубленного изучения патогенетических механизмов ее поражения. Понимание временной динамики изменений различных маркеров позволит точнее определять стадию заболевания, прогнозировать его дальнейшее течение и сформировать тактику медикаментозной коррекции. Цель исследования – изучить динамику изменений биохимических и молекулярно-генетических маркеров повреждения при моделировании острого токсического гепатита на разном уровне токсического воздействия. **Материал и методы.** Острый токсический гепатит моделировали *in vivo* у аутбредных самцов крыс возрастом 12–14 недель и массой 200–220 г с помощью тетрахлорметана. По завершении 24- и 72-часового воздействия оценивали изменение активности основных «печеночных» ферментов и экспрессии генов, связанных с антиоксидантной защитой, системой глутатиона, регуляцией апоптоза и клеточной гибели. **Результаты и их обсуждение.** В первые 24 ч воздействия тетрахлорметана наблюдалось статистически значимое повышение активности АлАТ и АсАТ, а также, в меньшей степени, лактатдегидрогеназы и щелочной фосфатазы. Через 72 ч изменения биохимических маркеров стали более выраженными. Экспрессия анализируемых генов изменялась неоднозначно. В дозо-ответной зависимости имелись различия между 24- и 72-часовыми периодами, с более крутым наклоном кривых в первые 24 ч для ряда биомаркеров. **Заключение.** Полученные в настоящем исследовании данные могут стать потенциальной основой для разработки тактики медикаментозной коррекции токсических повреждений печени.

Ключевые слова: зависимость «доза–ответ», моделирование *in vivo*, гепатит, токсичность, экспрессия генов, биохимические маркеры.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2021–2025 гг. п. 6.1.8, № гос. регистрации 121062100058-8.

Автор для переписки. Рябова Ю.В., e-mail: ryabovaiuvl@gmail.com

Для цитирования. Рябова Ю.В., Каримов Д.О., Репина Э.Ф., Якупова Т.Г., Хуснутдинова Н.Ю., Смолянкин Д.А. Изучение зависимости «доза – ответ» при моделировании острого токсического гепатита *in vivo* как основа для поиска новых коррекционных стратегий. *Сиб. науч. мед. ж.* 2025;45(2):113–123. doi: 10.18699/SSMJ20250212

Dose–response relationship in the modeling acute toxic hepatitis *in vivo* as a basis for identifying new correction strategies

Yu.V. Ryabova¹, D.O. Karimov^{1,2}, E.F. Repina¹, T.G. Yakupova¹, N.Yu. Khusnutdinova¹, D.A. Smolyankin¹

¹ Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology
450106, Ufa, Stepana Kuvykina st., 94

² National Research Institute of Public Health named after N.A. Semashko
105064, Moscow, Vorontsovo Pole st., 12/1

Abstract

The exposure to chemical substances remains a priority risk factor for the health of the working population in the chemical, petrochemical, and pharmaceutical industries. The liver, as the primary organ of detoxification, is a primary target for many chemical agents, highlighting the necessity for in-depth studies of the pathogenetic mechanisms underlying its toxic damage. Understanding the temporal dynamics of changes in molecular-genetic and biochemical markers will enable more accurate determination of disease stages, prediction of disease progression, and formulation of pharmacological correction strategies. The aim of this study is to investigate the dynamics of changes in biochemical and molecular-genetic markers of damage when modeling acute toxic hepatitis at varying levels of toxic exposure. **Material and methods.** This work is based on data obtained from an experimental *in vivo* study, during which acute toxic hepatitis was modeled in outbred male rats aged 12–14 weeks and weighing 200–220 g using carbon tetrachloride, a widely used hepatotoxic agent in research settings. After 24 and 72 h of exposure, we assessed changes in the activity of key “liver” enzymes and in the expression of genes associated with antioxidant defense, the glutathione system, apoptosis regulation, and cell death. **Results and discussion.** In the first 24 h of carbon tetrachloride exposure, there was a statistically significant increase in alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activity, as well as a lesser extent increase in lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase activity. After 72 h, changes in biochemical markers became more pronounced. The expression of studied genes changed ambiguously. In the dose-response relationship, differences were observed between the 24- and 72-hour periods, with steeper slopes for several biomarkers during the first 24 h. **Conclusions.** The data obtained in this study may contribute to and serve as a potential basis for developing strategies for pharmacological correction of toxic liver damage.

Key words: dose–response relationship, *in vivo* modeling, hepatitis, toxicity, gene expression, biochemical markers.

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

Financing. The work was carried out within the framework of Rospotrebnadzor industry research program for 2021–2025. Item 6.1.8, state registration number 121062100058-8.

Correspondence author. Ryabova Yu.V., e-mail: ryabovaiuvl@gmail.com

Citation. Ryabova Yu.V., Karimov D.O., Repina E.F., Yakupova T.G., Khusnutdinova N.Yu., Smolyankin D.A. Dose–response relationship in the modeling acute toxic hepatitis *in vivo* as a basis for identifying new correction strategies. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2025;45(2):113–123. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20250212

Введение

В ходе профессиональной деятельности человек может подвергаться воздействию разнообразного спектра химических веществ, среди которых имеется значительное количество соединений, способных вызывать гепатотоксические эффекты. Согласно Государственному докладу Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 году», вклад химических производственных факторов в структуру профессиональной патологии остается стабильно высоким, составив в 2023 г. 17,28 %, а в структуре основных нозологических форм профессиональной патологии вследствие воздействия химических веществ на долю интоксикаций приходится 11,78 %.

В условиях современных предприятий, благодаря технической модернизации производственных мощностей и внедрению законодательных норм, направленных на снижение негативного влияния химических факторов на окружающую среду и здоровье работников, все более актуальными становятся острые воздействия, возникающие в результате чрезвычайных ситуаций или несчастных случаев. Так, согласно вышеупомянутому источнику, число случаев острого профессионального заболевания (отравления) в Российской Федерации в 2023 г. по сравнению с 2014 г. выросло в 5,6 раза, а число смертельных исходов острой профессиональной патологии – в 5 раз.

Характер токсического действия часто варьирует в зависимости от дозы токсиканта. Но ввиду индивидуальной восприимчивости не все

лица, подвергшиеся воздействию одной и той же дозы, будут реагировать одинаково. Зависимость «доза–ответ», графическая связь между различными дозами токсиканта и вызываемыми ими реакциями, может дать представление о воздействии на биологическую систему и предсказать дальнейшее развитие патологического процесса. Такие данные могут стать потенциальной основой для разработки стратегии коррекции токсических повреждений печени.

Таким образом, цель исследования – изучить динамику изменений биохимических и молекулярно-генетических маркеров повреждения при моделировании острого токсического гепатита на разном уровне токсического воздействия.

Для достижения цели исследования нами выбраны следующие биохимические маркеры повреждения печени: активность АлАТ, АсАТ, лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и щелочной фосфатазы (ЩФ). АлАТ, находящаяся в цитозоле, и митохондриальная АсАТ, важная для аэробного гликолиза, обычно обнаруживаются в сыворотке в низких концентрациях, однако любой процесс, который приводит к потере целостности мембран гепатоцитов или некрозу, сопровождается их выбросом в кровь [1–6]. Клинически значимым может быть не только повышение, но и снижение активности этих ферментов: АсАТ – при тяжелых некротических повреждениях печени [7], АлАТ – на ранней стадии повреждения гепатоцитов [8]. ЛДГ представляет собой внутриклеточный фермент, функционирование которого зависит от наличия кислорода. Повышение сывороточного содержания (активности) ЛДГ характерно для воспалительных процессов и не является специфичным [9–11]. Вместе с тем определение активности ЛДГ и его изоферментов имеет большое значение в клинической практике. Например, увеличение активности ЛДГ-1 и ЛДГ-2, в высокой концентрации находящихся в сердечной мышце и эритроцитах, а также в сердечной мышце и корковом веществе почек соответственно, может свидетельствовать о наличии инфаркта миокарда, тогда как повышение активности ЛДГ-5 может указывать на патологии печени [12, 13]. Рост уровня ЛДГ-3 может быть признаком патологии легочной ткани, ЛДГ-4 преобладает в скелетной мускулатуре [12, 13]. Увеличение продукции ЛДГ связывают со сниженной оксигенацией [14]. ЩФ – металлофермент, связанный с плазматической мембраной и участвующий в метаболизме фосфатов и кальция [15], повышение его уровня в сыворотке крови может расцениваться как признак холестаза [16].

Изменение регуляции клеточной защиты от окислительного стресса оценивали с помощью анализа экспрессии генов *Nfe2l2*, ядерного фак-

тора эритроидного происхождения 2, который активирует экспрессию множества генов, кодирующих антиоксидантные ферменты и белки детоксикации [17], и *Hmox1*, который кодирует фермент гемоксигеназу-1 и считается одним из наиболее чувствительных и надежных индикаторов клеточного окислительного стресса [18]. *Gclc* выбран в качестве гена, кодирующего каталитическую субъединицу γ -глутамилцистеинсинтетазы, ключевого фермента в синтезе глутатиона [19], гены *Gstt1* и *Gstp1*, кодирующие соответственно глутатион-S-трансферазу Θ и π , – исходя из предположений о значительной роли этих энзимов в функционировании антиоксидантной системы организма [20]. Активация генов семейства ингибиторов циклин-зависимых киназ, таких как *Cdkn1a*, способна оказывать воздействие на регуляцию клеточного цикла, обеспечивая контроль над процессами клеточного деления в ответ на повреждение ДНК. Их продукты инициируют остановку клеточного цикла в фазах G1 или G2, что позволяет клеткам восстанавливать поврежденные участки ДНК перед возобновлением деления [21]. *Chk1* кодирует серин/треонин-специфическую протеинкиназу, которая принимает участие в остановке клеточного цикла в ответ на повреждение ДНК при переходе из фазы G2 в M, а также в механизмах репарации ДНК, активируя различные факторы репарации [22]. Продукты генов семейства *Ripk* представляют собой серин/треониновые киназы, которые принимают участие в передаче сигналов, связанных с клеточной смертью (путем некроптоза или апоптоза), воспалительными и иммунными реакциями [23]. Ген *Casp7* кодирует серин/треонин-специфическую протеазу, которая активируется в ответ на различные сигналы, включая активацию других каспаз, и является одним из «ключевых исполнителей» в механизме клеточной смерти. Она участвует в расщеплении клеточных субстратов, что вызывает характерные морфологические изменения, связанные с апоптозом, включая конденсацию ядерного материала и формирование апоптотических телец [24].

Цель исследования – изучить динамику изменений биохимических и молекулярно-генетических маркеров повреждения при моделировании острого токсического гепатита на разном уровне токсического воздействия.

Материал и методы

Экспериментальное моделирование острого токсического гепатита выполнено на модели *in vivo* и одобрено биоэтическим комитетом учреждения (протокол № 06-09 от 05.09.2024). Содерж-

жание, питание, уход за животными в условиях специально оборудованного вивария, выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями законодательства Российской Федерации в отношении обращения с лабораторными животными, Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS No 123), директивы Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 о защите животных, использующихся для научных целей. Работу планировали с учетом набора рекомендаций, разработанных для улучшения качества исследований, связанных с использованием животных (ARRIVE guidelines).

Аутбредные самцы крыс возрастом 12–14 недель и массой 200–220 г были разделены случайным образом на семь групп по 12 особей в каждой. В качестве токсиканта использовали 50%-й раствор тетрахлорметана (ТХМ), который вводили однократно подкожно в дозах 0,125; 0,25, 0,5, 1, 2 и 4 г/кг массы тела (м. т.). Дозы выбраны на основе данных литературы, но вместе с тем имелись весомые аргументы в пользу использования значительно меньших, чем классический токсический уровень ТХМ [25–27]. Во-первых, в современных условиях концентрации загрязнителей среды обитания, с учетом устойчивого снижения уровня химической нагрузки, редко достигают высоких токсичных значений, и выбор низкой дозы сделает результаты эксперимента более приемлемыми для экстраполяции. Во-вторых, выявление молекулярно-генетических механизмов предполагает использование субтоксических доз, что позволяет изучать ранние маркеры повреждений до того как произойдут необратимые изменения в тканях, в то время как высокие дозы ТХМ вызывают массовую гибель клеток и быстрое развитие органной недостаточности, что затрудняет анализ. В-третьих, использование низкой дозы оправдано с этической точки зрения, поскольку позволяет минимизировать страдания экспериментальных животных. Рафинированное оливковое масло служило носителем и контрольным веществом (отрицательный контроль), его вводили подкожно однократно в фиксированном эквивалентном объеме. По завершении 24- и 72-часового воздействия оценивали функциональное состояние животных.

Биохимические показатели, отражающие метаболизм и функциональное состояние печени (активность АЛАТ, АсАТ, ЩФ и ЛДГ), определяли на лабораторном фотометре Stat Fax 3300 (Awareness Technology, США) в сыворотке крови.

Для оценки изменений на молекулярном уровне выбраны гены, связанные с антиоксидантным

ответом и метаболизмом глутатиона, гены-регуляторы фаз клеточного цикла и гены, связанные с программируемой клеточной гибелью, уровень экспрессии которых оценивали в ткани печени, – *Nfe2l2*, *Hmox1*, *Gclc*, *Gstt1*, *Gstp1*, *Cdkn1a*, *Chek1*, *Ripk1*, *Casp7*. Характеристики исследованных генов и последовательностей подобранных для ПЦР прямых (F) и обратных (R) олигонуклеотидных праймеров представлены в таблице.

Для изучения экспрессии генов в тканях печени крыс контрольной и опытных групп кусочки печени сразу после декапитации и вскрытия животных замораживали жидким азотом и заливали ExtractRNA (Евроген, Россия). Применяли экстракцию тотальной РНК тризолом, обратную транскрипцию и ПЦР-амплификацию в режиме реального времени на приборе RotorGene (QIAGEN, Германия). Праймеры для ПЦР разработаны с помощью программы PrimerQuest (IDT, США) и синтезированы фирмой «Евроген» (Россия). Синтез кДНК проводили с матрицы выделенной тотальной РНК с использованием набора реактивов MMLV RT kit и праймеров олиго(dT)15 («Евроген»). С полученными кДНК выполняли ПЦР на амплификаторе RotorGene Q (QIAGEN, Германия) в присутствии SYBR Green. Каждую реакцию ПЦР в режиме реального времени с использованием олигонуклеотидных специфичных праймеров, содержащую 2 мкл кДНК, проводили в объеме 25 мкл в следующих условиях: предварительный прогрев при 95 °С в течение 3 мин, после чего следовало 45 основных циклов: 15 с при 95 °С, 25 с при 59 °С и 15 с при 72 °С. Экспрессию генов нормировали по уровню *Gapdh*. Рассчитывали показатель $\Delta\Delta CT$, который представлял собой разность между средним значением ΔCT группы сравнения и группы контроля, результирующее значение получали посредством экспоненциального преобразования этой разности.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием пакета программ SciPy на Python 3.10. Для оценки нормальности распределения данных применялся критерий Краскела – Уоллиса. В зависимости от полученных результатов дальнейший выбор метода анализа определялся следующим образом: при подтверждении нормальности распределения данных использовались параметрические критерии (t-критерий Стьюдента для попарных сравнений и однофакторный дисперсионный анализ для сравнения нескольких групп), в случае отклонения от нормального распределения – непараметрические критерии (Манна – Уитни для двух независимых выборок и Краскела – Уоллиса для множественных сравнений). Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

Характеристика исследованных генов и последовательностей праймеров

Characteristics of the studied genes and primer sequences

Ген	Идентификатор гена согласно NCBI	Последовательность мРНК согласно GenBank	Олигонуклеотидные праймеры
<i>Nfe2l2</i>	83619	NM_031789.3	F: 5'-CCC-GAG-TTA-CAG-TGT-CTT-AAT-3' R: 5'-TGG-TAA-TTG-CTG-TCC-ATC-TC-3'
<i>Hmox1</i>	24451	NM_012580.2	F: 5'-ATT-TCA-GAA-GGG-CCA-GGT-GA-3' R: 5'-GGA-AGT-AGA-CAG-GGG-CGA-AGA-3'
<i>Gclc</i>	25283	NM_012815.2	F: 5'-CCT-CCT-CCT-CCA-AAC-TCA-GAT-A-3' R: 5'-TGG-TCA-GCA-GTA-CCA-CAA-ATA-C-3'
<i>Gstt1</i>	25260	NM_053293.2	F: 5'-CCC-TGT-CGC-GCT-ATT-TAT-ATC-T-3' R: 5'-CTT-CAT-GGC-TGG-TAC-CTT-CTT-3'
<i>Gstp1</i>	24426	NM_012577.2	F: 5'-GAG-ACC-TCA-CCC-TTT-ACC-AAT-C-3' R: 5'-CTC-CTT-CTG-GTC-TTT-CCC-ATA-AA-3'
<i>Cdkn1a</i>	114851	NM_080782.6	F: 5'-CTG-TCT-CCG-CTC-AGA-TTG-TAA-A-3' R: 5'-AGC-TTT-GGG-ATA-GGG-TGT-AAA-G-3'
<i>Chek1</i>	140583	NM_080400.2	F: 5'-CTC-CTC-TGG-CTT-TGC-TTC-ATA-3' R: 5'-CTC-TTC-GCT-CCT-CTG-TTA-AGT-G-3'
<i>Ripk1</i>	306886	NM_001107350.1	F: 5'-CAA-CAG-AGA-GGA-GGA-AAG-GAA-G-3' R: 5'-ACT-GGT-TGT-GCT-GGG-ATA-AG-3'
<i>Casp7</i>	64026	NM_022260.4	F: 5'-TGT-AGA-GCA-GAG-GAA-CGG-ATA-G-3' R: 5'-GCC-GGA-GGA-CAT-GGT-TAT-TT-3'

Кривая зависимости «доза–ответ» визуализировалась с помощью прикладного пакета программ для визуализации научных данных GraphPad Prism, версия 8.0.1 (244).

Результаты

Показано, что после 24 ч воздействия активность АсАТ статистически значимо повышается по сравнению с контролем при использовании доз ТХМ, равных 0,25 ($p = 0,015$), 1 ($p = 0,001$), 2 ($p = 0,047$) и 4 ($p = 0,001$) г/кг м. т., АлАТ – при использовании доз 1 ($p = 0,009$), 2 ($p = 0,008$) и 4 ($p = 0,001$) г/кг м. т. (рис. 1). Значимых изменений активности ЛДГ в исследуемом диапазоне доз не зафиксировано. Активность ЩФ, несмотря на устойчивую тенденцию к росту по сравнению с контролем при воздействии ТХМ в дозах 1, 2 и 4 г/кг м. т., продемонстрировала статистическую значимость только при использовании дозы 1 г/кг м. т. ($p = 0,001$). В течение 72 ч воздействия активность АсАТ также статистически значимо повышается по сравнению с контролем при применении доз 0,25 ($p = 0,001$), 0,5 ($p = 0,001$) и 1 ($p = 0,001$) г/кг м. т. При оценке активности АлАТ на фоне интоксикации практически во всех исследованных дозах фермент показал большую активность по сравнению с контрольной группой: 0,25 ($p = 0,001$), 0,5 ($p = 0,005$), 1 ($p = 0,001$), 2 ($p = 0,003$) и 4 ($p = 0,001$) г/кг м. т. Активность

ЛДГ статистически значимо изменилась по сравнению с контролем только при использовании дозы 4 г/кг м. т. ($p = 0,021$), активность ЩФ увеличивалась при использовании доз ТХМ 0,25 ($p = 0,036$), 0,5 ($p = 0,002$) и 2 ($p = 0,049$) г/кг м. т.

При сравнительной оценке активности АсАТ в зависимости от временных интервалов внутри одной группы выявлены значимые различия при использовании доз ТХМ, равных 0,25 ($p = 0,001$), 0,5 ($p = 0,001$) и 4 ($p = 0,028$) г/кг м. т. Активность АлАТ внутри одной группы также различалась в разных временных интервалах при использовании доз ТХМ 0,125 ($p = 0,001$), 0,25 ($p = 0,001$), 0,5 ($p = 0,001$) и 1 ($p = 0,001$) г/кг м. т. Достоверных различий активности ЛДГ не зафиксировано, активность ЩФ различалась в группах при использовании доз ТХМ, равных 0,25 ($p = 0,002$) и 0,5 ($p = 0,001$) г/кг м. т. Большинство дозо-ответных зависимостей, кроме активности АлАТ, которая является сигмовидной кривой, различны для 24- и 72-часового наблюдения [28, 29]; в ходе последнего отмечена выраженная крутизна наклона кривой «доза–ответ» для ЩФ, в то время как для остальных показателей наклон был более пологим. Исключение составили случаи, в которых не выявлено дозозависимых изменений, что отразилось на графике в виде горизонтальной прямой линии.

В течение 24 ч воздействия наблюдалось значительное повышение экспрессии гена *Nfe2l2* по

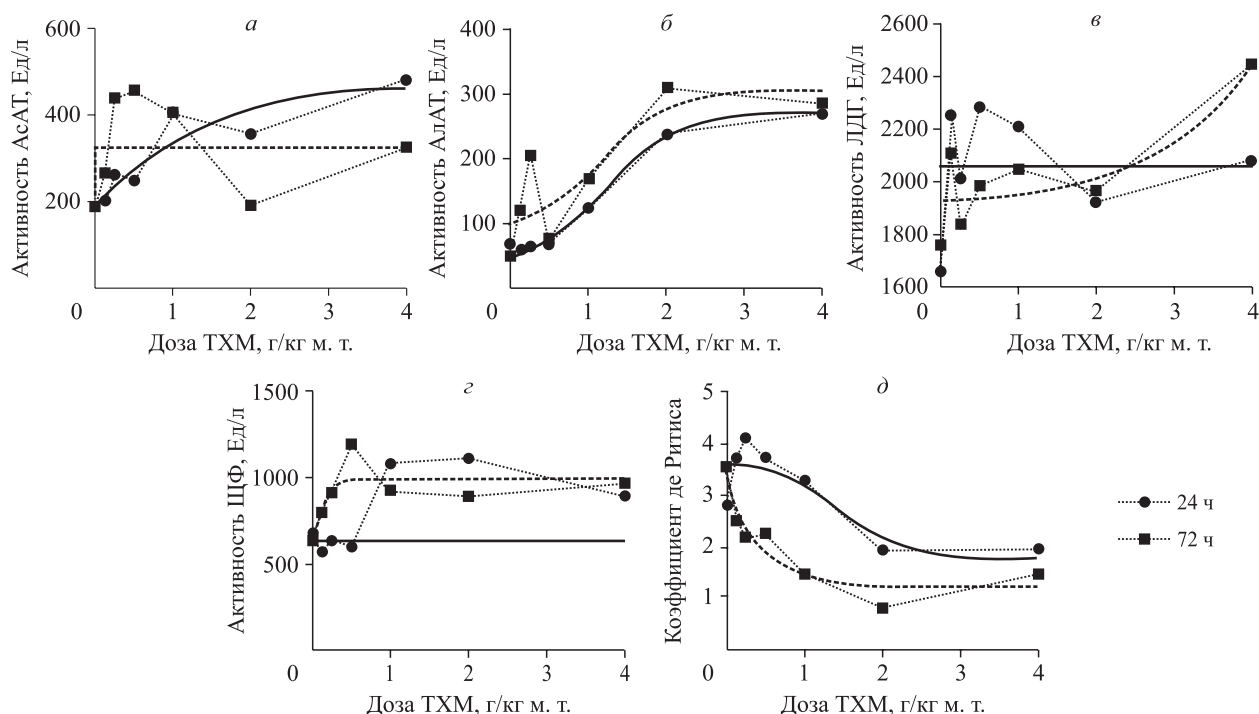


Рис. 1. Дозо-ответная зависимость влияния ТХМ на активность АсАТ (а), АлАТ (б), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) (в), щелочной фосфатазы (ЩФ) (г) и коэффициент де Ритиса (соотношение активности АсАТ и АлАТ) (д); сплошная линия обозначает изменения, зафиксированные через 24 ч после воздействия ТХМ, пунктирная – через 72 ч

Fig. 1. Dose-response relationship of the CCl_4 effect on the activity of serum enzymes at different time points: aspartate aminotransferase (AsAT) (a), alanine aminotransferase (AlAT) (б), lactate dehydrogenase (в), alkaline phosphatase (г), and the De Ritis ratio (AsAT/AlAT ratio) (д). The solid line represents alterations measured at 24 hours following CCl_4 exposure, and the dashed line indicates measurements at 72 hours post-exposure

сравнению с контролем при использовании ТХМ в дозах, равных 0,125 ($p = 0,018$), 0,5 ($p = 0,029$) и 1 ($p = 0,014$) г/кг м. т., а также гена *Hmox1* при использовании ТХМ в дозах 0,25 ($p = 0,014$), 0,5 ($p = 0,004$), 2 ($p = 0,001$) и 4 ($p = 0,001$) г/кг м. т. Изменялась экспрессия генов, связанных с системой глутатиона. Так, в группах, подвергшихся воздействию ТХМ в дозах, равных 0,25, 0,5 и 2 г/кг м. т., содержание мРНК *Gstt1* значительно отличается от контрольных значений ($p = 0,016$, $p = 0,001$ и $p = 0,002$ соответственно), для *Gstt1* различия отмечены при дозах ТХМ 0,25 ($p = 0,005$), 0,5 ($p = 0,001$), 2 ($p = 0,001$) и 4 ($p = 0,001$) г/кг м. т. Изменений экспрессии гена *Gclc* не обнаружено. Содержание мРНК гена *Cdkn2a* превышало значения контроля во всех группах, подвергшихся воздействию ТХМ: 0,125 ($p = 0,001$), 0,25 ($p = 0,001$), 0,5 ($p = 0,001$), 1 ($p = 0,001$), 2 ($p = 0,008$) и 4 ($p = 0,004$) г/кг м. т.; экспрессия гена *Chek1* не изменялась. Экспрессия гена *Ripk1* отличалась от контрольных значений в группах, подвергнутых воздействию ТХМ в дозах, равных 0,5 ($p = 0,005$), 2 ($p = 0,001$) и 4 ($p = 0,019$) г/кг м. т., гена

Casp7 – при всех дозах ТХМ: 0,125 ($p = 0,001$), 0,25 ($p = 0,001$), 0,5 ($p = 0,010$), 1 ($p = 0,001$), 2 ($p = 0,035$) и 4 ($p = 0,001$) г/кг м. т.

При 72-часовом воздействии ТХМ экспрессия генов *Nfe2l2*, *Hmox1*, *Gstt1* не отличалась от контрольных значений. Содержание мРНК гена *Gstt1* относительно контроля изменялось в группах, получавших ТХМ в дозах, равных 0,125 ($p = 0,001$), 0,5 ($p = 0,001$) и 1 ($p = 0,001$) г/кг м. т., гена *Gclc* – при всех дозах ТХМ: 0,125 ($p = 0,001$), 0,25 ($p = 0,002$), 0,5 ($p = 0,003$), 1 ($p = 0,017$), 2 ($p = 0,001$) и 4 ($p = 0,001$) г/кг м. т., гена *Cdkn2a* – при дозах 0,25 ($p = 0,010$), 2 ($p = 0,001$) и 4 ($p = 0,005$) г/кг м. т., гена *Chek1* – при дозах 0,5 ($p = 0,002$), 1 ($p = 0,001$), 2 ($p = 0,002$) и 4 ($p = 0,001$) г/кг м. т., гена *Ripk1* – при дозах 0,125 ($p = 0,001$) и 0,25 ($p = 0,001$) г/кг м. т., гена *Casp7* – при дозах 0,125 ($p = 0,001$), 0,25 ($p = 0,001$), 1 ($p = 0,006$) и 4 ($p = 0,022$) г/кг м. т.

При сравнительной оценке в зависимости от временных интервалов внутри одной группы различий в содержании мРНК генов *Chek1* и *Casp7* не выявлено. Экспрессия гена *Nfe2l2* при 72-часо-

вом воздействии ТХМ была более выраженной, чем при 24-часовом, при дозах токсиканта 0,25 ($p = 0,032$), 1 ($p = 0,035$) и 2 ($p = 0,046$) г/кг м. т., в то время как экспрессия генов *Hmox1*, *Gclc*, *Gstt1*, *Gstp1* и *Cdkn2a* – менее выраженной при дозах ТХМ, равных соответственно 0,25 ($p = 0,009$), 1 ($p = 0,020$), 2 ($p = 0,002$) и 4 ($p = 0,001$) г/кг м. т., 0,125 ($p = 0,013$), 0,25 ($p = 0,004$), 0,5 ($p = 0,010$), 1 ($p = 0,038$), 2 ($p = 0,001$) и 4 ($p = 0,001$) г/кг м. т., 0,25 ($p = 0,014$), 0,5 ($p = 0,014$), 2 ($p = 0,008$) и 4 ($p = 0,005$) г/кг м. т., 2 ($p = 0,007$), 0,25 ($p = 0,031$) и 0,5 ($p = 0,035$) г/кг м. т. Экспрессия гена *Ripk1* различалась в группах, получавших ТХМ в до-

зах, равных 0,125 ($p = 0,001$), 0,25 ($p = 0,001$), 2 ($p = 0,001$) г/кг м. т.

Как видно из рис. 2, большинство дозо-ответных зависимостей различны для 24- и 72-часового периода, при этом зачастую после 72-часового воздействия ТХМ дозозависимых изменений не наблюдалось, что отразилось на графике в виде горизонтальной прямой (гены *Nfe2l2*, *Gstp1*, *Cdkn2a*, *Ripk1*, *Casp7*). Выраженная крутизна наклона кривой «доза – ответ» после 24-часового воздействия наблюдалась для уровня экспрессии генов *Nfe2l2*, *Gstt1*, *Cdkn2a*, *Casp7*, после 72-часового – гена *Chek1*.

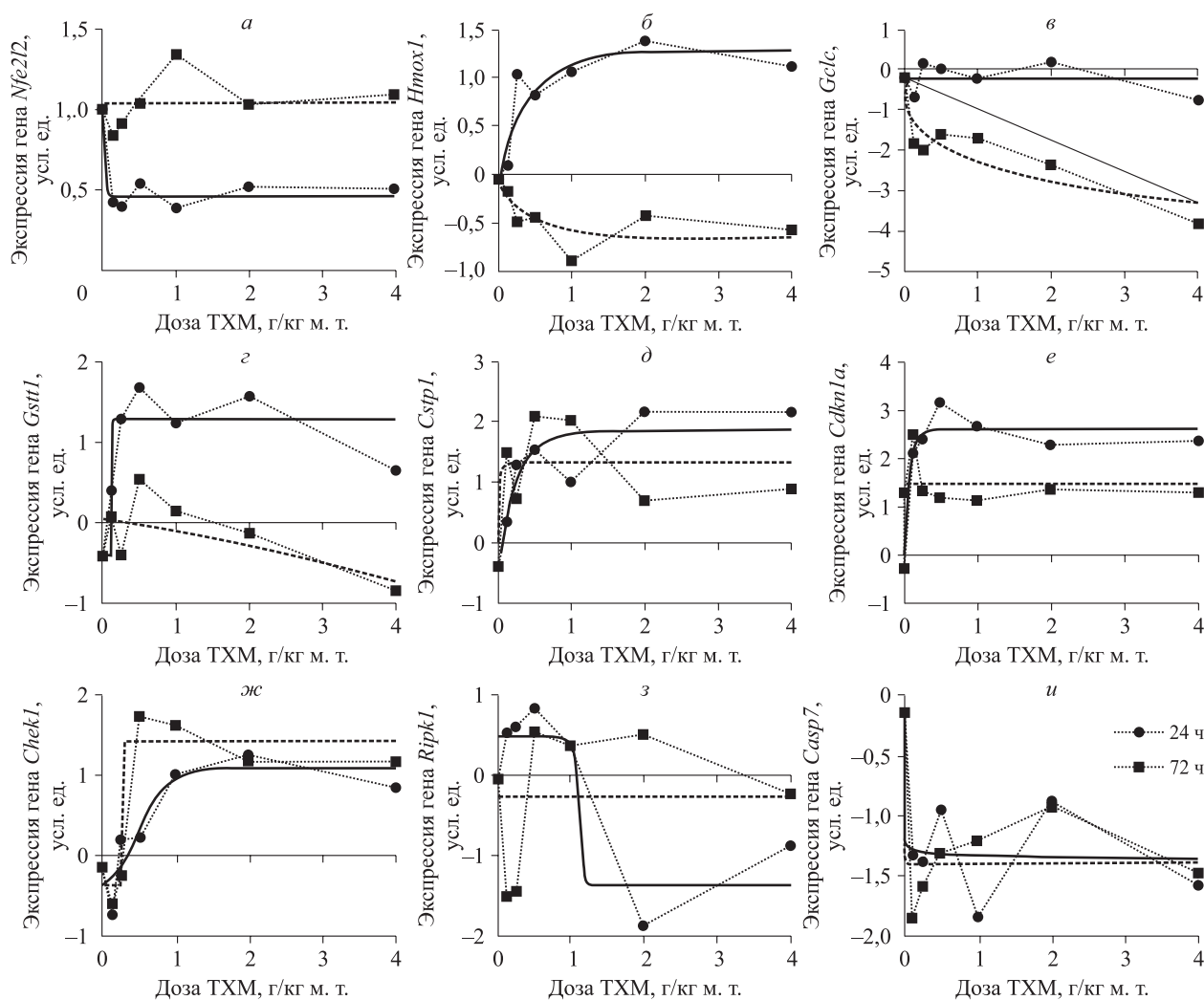


Рис. 2. Дозо-ответная зависимость влияния ТХМ на экспрессию генов: *Nfe2l2* (а), *Hmox1* (б), *Gclc* (в), *Gstt1* (г), *Gstp1* (д), *Cdkn1a* (е), *Chek1* (ж), *Ripk1* (з), *Casp7* (и); сплошная линия обозначает изменения, зафиксированные через 24 ч после воздействия ТХМ, пунктирная – через 72 ч

Fig. 2. Dose-response relationship of CCl_4 effect on gene expression: *Nfe2l2* (a), *Hmox1* (б), *Gclc* (в), *Gstt1* (г), *Gstp1* (д), *Cdkn1a* (е), *Chek1* (ж), *Ripk1* (з), *Casp7* (и); the solid line represents alterations measured at 24 hours following CCl_4 exposure, and the dashed line indicates measurements at 72 hours post-exposure

Обсуждение

Изучение время- и дозозависимых изменений позволяет выявить ключевые моменты в механизме повреждения гепатоцитов, что способствует более глубокому пониманию патогенеза острого гепатита. Взаимодействие между активными формами кислорода (АФК), транскрипционными факторами и механизмами апоптоза формирует сложную сеть регуляции клеточного ответа на окислительный стресс. Патологический процесс начинается с преобразования ТХМ до его активных метаболитов, взаимодействующих с молекулами кислорода с образованием АФК [30], которые, в свою очередь, вызывают окислительное повреждение клеточных структур [31]. В результате развивающегося окислительного стресса в клетке индуцируется ген *Nfe2l2*, продукт которого, транскрипционный фактор Nrf2, обычно связанный с белком Keap1, активирует гены, кодирующие антиоксидантные ферменты и ферменты детоксикации [17]. С одной стороны, усиливается экспрессия гена *Hmox1*, кодирующего гемоксигеназу 1, которая способствует нейтрализации АФК [18]. С другой стороны, активируется глутаматцистеинлигаза – фермент, катализирующий образование γ -глутамилцистеина, что приводит к увеличению синтеза глутатиона [32], который, в свою очередь, играет ключевую роль в регуляции антиоксидантной защиты организма, в том числе через модуляцию активности глутатион-S-трансфераз, таких как GSTT и GSTP [33]. Повышение экспрессии генов антиоксидантной системы может способствовать восстановлению клеток. Однако в случаях, когда она не справляется с нагрузкой, происходит утечка внутриклеточных ферментов АлАТ, АсАТ и мембранного фермента ЩФ в кровотоки [1–8, 15, 16]. Увеличение продукции ЛДГ связывают со сниженной оксигенацией [14], которое, вероятно, происходит ввиду нарушения свободными радикалами целостности клеточных и митохондриальных мембран. В случае значительного повреждения клетки активируются гены, регулирующие остановку клеточного цикла и апоптоз: так, в ответ на повреждение ДНК увеличивается экспрессия *Cdkn2a* и *Chek1* [21, 22]. Апоптоз инициируется через различные сигнальные пути, включая активацию *Ripk1* [23]. Также активируются каспазы, такие как *Casp7*, которые участвуют в реализации апоптоза путем расщепления специфических субстратов внутри клетки [24]. Это приводит к структурным изменениям в клетке и ее последующей гибели.

В дозах ТХМ до 0,125 г/кг м. т., исходя из полученных зависимостей «доза – ответ» биохимических маркеров, количества токсиканта, как при 24-часовом, так и при 72-часовом воз-

действии, недостаточно для активации биологических процессов, которые можно зафиксировать на организменном уровне: статистически значимых изменений нет либо они минимальны. Вместе с тем уже при воздействии ТХМ в дозе, равной 0,125 г/кг м. т., резко изменяется экспрессия гена *Nfe2l2*, ответственного за дальнейший запуск синтеза антиоксидантных ферментов и ферментов детоксикации – зависимость имеет вид плоской кривой и указывает на стабильность эффекта при увеличении дозы до 0,125 г/кг м. т. В дальнейшем (при 72-часовом наблюдении) зависимость «доза – ответ» для этого параметра имеет вид прямой линии, при том не зафиксировано статистически значимых отличий от контрольной группы (см. рис. 2). Наше наблюдение согласуется с представлениями о патогенетическом механизме развития токсического гепатита [34], согласно которым активация ферментов антиоксидантной защиты нужна только в первые сутки интоксикации, а в дальнейшем активируются уже другие клеточные системы.

Интересно, что при воздействии ТХМ во всех изученных дозах в течение обоих временных интервалов наблюдается значительное снижение экспрессии гена *Casp7* (см. рис. 2). Возможно, повышение экспрессии данного гена произошло на более ранних сроках, и через 24 ч мы наблюдали уже ее уменьшение за счет отрицательной обратной связи и ауторегуляции. Каспазы известны не только как «ключевые исполнители» клеточной смерти [24], но и как важные компоненты нормального течения регенеративных процессов в первые 24 ч после повреждения клетки [35]. Предположительно, запускаются компенсаторные механизмы клеточной защиты, направленные на активацию апоптоза до 24 ч. Это суждение дополняет обнаруженная дозовая зависимость экспрессии гена *Ripk1*: низкие дозы ТХМ приводят к ее увеличению, высокие – к уменьшению. Вероятно, в данном случае апоптоз может рассматриваться как адаптивная реакция, которая при чрезмерном стрессовом стимуле – с увеличением дозы токсиканта – может перейти в некроз. Кроме того, возможно, при высоких дозах ТХМ экспрессия некоторых генов может снижаться из-за метаболической депрессии в клетках. Это подтверждается повышением активности маркерных ферментов цитолиза гепатоцитов в сыворотке крови (см. рис. 1). Так, при изучении воздействия доз ТХМ в диапазоне от 0,5 до 2 г/кг м. т. при 24-часовом наблюдении дозо-ответные зависимости свидетельствуют о постепенном увеличении активности АсАТ и АлАТ, но не ЛДГ (см. рис. 1). На молекулярно-генетическом уровне закономерно осуществляется остановка клеточного цикла ввиду сильных повреждений гепатоцитов

(исходя из изменений экспрессии генов *Cdkn1a*, *Chek1*), продолжает происходить апоптоз (изменена экспрессия гена *Casp7*, *Ripk1*). Несмотря на указанные изменения, сохраняется активация систем антиоксидантной защиты (судя по изменению экспрессии генов *Gstt1*, *Gstp1*).

При 72-часовом воздействии в указанном диапазоне доз активность основных ферментов цитолиза также возрастает. Дозо-ответные зависимости напоминают кривые насыщения и характеризуются постепенным увеличением эффекта при повышении дозы. Прослеживается тенденция к изменению активности ЛДГ (см. рис. 1). Отсутствие зависимости «доза–ответ» для большинства молекулярно-генетических параметров проиллюстрировано прямой линией. Вместе с тем при 72-часовом воздействии изменчива в зависимости от дозы ТХМ экспрессия генов антиоксидантной защиты, системы глутатиона. Примечательно, что экспрессия гена *Chek1* в дозе 0,125 г/кг м. т. повышалась при низких дозах ТХМ и уменьшалась относительно контрольных значений с увеличением дозы. Вероятно, малые дозы вызывают не столь значительное повреждение клеток, которые начинают восстанавливаться быстрее, соответственно, мы наблюдаем регенерацию печени посредством активного клеточного деления – по этой причине экспрессия гена *Chek1*, останавливающего клеточный цикл, снижается. В то же время при высоких дозах ТХМ она возрастает, что говорит об усиленной остановке клеточного цикла.

Отметим, что кривая дозо-ответной зависимости активности ЩФ не изменяется при 24-часовом воздействии, а при 72-часовом наблюдении имеет вид плоской кривой и выходит на плато начиная с дозы ТХМ, равной 0,25 г/кг м. т. Вероятно, такого количества токсического вещества достаточно для повреждения клеточных мембран.

В диапазоне от 2 до 4 г/кг м. т. практически все дозо-ответные зависимости проиллюстрированы прямой линией, указывая на отсутствие эффекта при увеличении дозы свыше 2 г/кг м. т. Среди биохимических маркеров исключение составляет активность ЛДГ по 72-часовому наблюдению, демонстрирующая устойчивый рост: вероятно, это связано с нарушением клеточного дыхания ввиду повреждения митохондрий продуктами окислительного стресса либо непосредственно АФК [31, 36]. Среди изученных генетических маркеров отмечено снижение экспрессии генов *Gclc* и *Gstt1* с увеличением дозы. Вероятно, антиоксидантная система пытается бороться с последствиями окислительного стресса, однако при высоких дозах токсиканта ее эффективность снижается, что может указывать на истощение защитных механизмов организма.

На основании представленных выше литературных данных и знаний о временных и дозозависимых характеристиках токсического воздействия ТХМ мы можем, с одной стороны, сделать прогноз относительно изменений, происходящих в организме в определенный момент времени, с другой – предложить более точные и персонализированные подходы к выработке стратегии терапии. Коррекция острых токсических гепатитов, вероятно, должна быть многокомпонентной и зависеть от стадии патологического процесса.

Для минимизации системного воздействия токсиканта на начальных этапах желательнее применять средства для ускоренного выведения токсина либо его нейтрализации (антидоты). Компоненты антиоксидантной защиты предпочтительно задействовать как можно раньше, так как даже минимальные дозы ТХМ в первые 24 ч вызывают окислительный стресс, что косвенно подтверждается изменением экспрессии гена *Nfe2l2*. Изменения экспрессии гена *Hmox1* через 24 и 72 ч при дозах до 2 г/кг м. т., а также генов *Gclc* и *Gstt1* через 72 ч от начала воздействия во всем диапазоне изученных доз свидетельствуют о необходимости введения антиоксидантов в течение всего времени воздействия и при любом уровне токсической нагрузки. Мембранопротекторы рекомендуется использовать в первые 24 ч воздействия токсиканта для защиты клеточных мембран от повреждений, индуцированных активными АФК, и сохранения целостности клеток (исходя из увеличения активности АсАТ и АлАТ в сыворотке крови). На фоне остановки клеточного цикла и активации апоптоза (изменения экспрессии генов *Cdkn1a*, *Chek1*, *Casp7*, *Ripk1*) мембранопротекторы могут способствовать улучшению выживаемости клеток.

Через 72 ч от начала воздействия продолжается увеличение активности ферментов цитолиза в сыворотке крови, преимущественно ЩФ и ЛДГ, что может указывать на повреждение митохондриальной мембраны. В этом периоде рекомендуется применение митохондриальных мембранопротекторов. Также могут быть введены стимуляторы клеточной регенерации для активации восстановления клеток.

Заключение

Понимание временной зависимости изменений биохимических и молекулярно-генетических маркеров является важным аспектом для более точного определения стадии токсического процесса и прогноза его дальнейшего развития. Полученные в настоящем исследовании данные могут оказать содействие и стать потенциальной

основой для разработки тактики медикаментозной коррекции токсических повреждений печени.

В результате проведенного исследования показано, что через 24 ч после введения ТХМ в дозах от 0,125 до 0,5 г/кг м. т. происходит активация защитных механизмов, однако начиная с дозы 1,0 г/кг м. т. начинают преобладать механизмы клеточной гибели, такие как остановка клеточного цикла и апоптоз. Через 72 ч после введения ТХМ в дозах от 0,5 до 4,0 г/кг м. т. продолжает оставаться активной система глутатиона, но вместе с тем нарастают негативные изменения: увеличивается активность цитолитических ферментов и изменяется экспрессия генов, связанных с остановкой клеточного цикла и апоптозом. Примечательно, что при дозе ТХМ, равной 0,125 г/кг м. т., экспрессия гена *Chek1* ниже контрольных значений. Исходя из полученных данных, можно заключить, что антиоксиданты предпочтительно применять как можно раньше, так как даже минимальные дозы токсиканта в первые 24 ч вызывают окислительный стресс. Мембранопротекторы могут быть особенно эффективны в первые 24 ч воздействия. Через 72 ч продолжается увеличение активности ферментов цитолиза, что указывает на повреждение митохондриальной мембраны, и в этот период желателен применение митохондриальных мембранопротекторов.

Список литературы / References

1. Bonventre J.V., Yang L. Injury biomarkers in toxicology. In: *Comprehensive toxicology*. 2nd ed. Elsevier; 2010. P. 679–704.
2. Glinghammar B., Rafter I., Lindström A.K., Hedberg J.J., Andersson H.B., Lindblom P., Berg A.L., Cotgreave I. Detection of the mitochondrial and catalytically active alanine aminotransferase in human tissues and plasma. *Int. J. Mol. Med.* 2009;23(5):621–631. doi: 10.3892/ijmm_00000173
3. Green R.M., Flamm S. AGA technical review on the evaluation of liver chemistry tests. *Gastroenterology*. 2002;123(4):1367–1384. doi: 10.1053/gast.2002.36061
4. de Vos A., de Troyer R., Stove C. Chapter 57 – Biomarkers of alcohol misuse. *Neuroscience of Alcohol*. 2019;12:557–565. doi: 10.1016/b978-0-12-813125-1.00057-x
5. Sookoian S., Pirola C.J. Liver enzymes, metabolomics and genome-wide association studies: from systems biology to the personalized medicine. *World J. Gastroenterol.* 2015;21(3):711–725. doi: 10.3748/wjg.v21.i3.711
6. Liu Y., Luo C., Li T., Zhang W., Zong Z., Liu X., Deng H. Reduced nicotinamide mononucleotide (NMN) potentially enhances NAD⁺ and suppresses glycolysis, the TCA cycle, and cell growth. *J. Proteome Res.* 2021;20(5):2596–2606. doi: 10.1021/acs.jproteome.0c01037
7. Botros M., Sikaris K.A. The de Ritis ratio: the test of time. *Clin. Biochem. Rev.* 2013;34(3):117–130.
8. Moriles K.E., Zubair M., Azer S.A. Alanine aminotransferase (ALT) test. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2024.
9. Miao P., Sheng S., Sun X., Liu J., Huang G. Lactate dehydrogenase A in cancer: a promising target for diagnosis and therapy. *IUBMB Life*. 2013;65(11):904–910. doi: 10.1002/iub.1216
10. Sherid M.V., Barac I., McKenna W.J., Elliott P.M., Dickie S., Chojnowska L., Casey S., Maron B.J. Multicenter study of the efficacy and safety of disopyramide in obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005;45(8):1251–1258. doi: 10.1016/j.jacc.2005.01.012
11. Kounalakis N., Goydos J.S. Tumor cell and circulating markers in melanoma: diagnosis, prognosis, and management. *Curr. Oncol. Rep.* 2005;7(5):377–382. doi: 10.1007/s11912-005-0065-2
12. Puranik N., Parihar A., Raikwar J., Khandia R. Lactate dehydrogenase a potential diagnostic biomarker for cancer: a review of literature. *BJSTR*. 2021;38(3):30426–30432. doi: 10.26717/BJSTR.2021.38.006164
13. Khan A.A., Allemailem K.S., Alhumaydhi F.A., Gowder S.J.T., Rahmani A.H. The biochemical and clinical perspectives of lactate dehydrogenase: An enzyme of active metabolism. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets*. 2020;20(6):855–868. doi: 10.2174/1871530320666191230141110
14. Kotoh K., Kato M., Kohjima M., Tanaka M., Miyazaki M., Nakamura K., Enjoji M., Nakamura M., Takayanagi R. Lactate dehydrogenase production in hepatocytes is increased at an early stage of acute liver failure. *Exp. Ther. Med.* 2011;2(2):195–199. doi: 10.3892/etm.2011.197
15. Sharma U., Pal D., Prasad R. Alkaline phosphatase: an overview. *Indian J. Clin. Biochem.* 2014;29(3):269–278. doi: 10.1007/s12291-013-0408-y
16. Siller A.F., Whyte M.P. Alkaline phosphatase: Discovery and naming of our favorite enzyme. *J. Bone Miner. Res.* 2018;33(2):362–364. doi: 10.1002/jbmr.3225
17. Ngo V., Duennwald M.L. Nrf2 and oxidative stress: A general overview of mechanisms and implications in human disease. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(12):2345. doi: 10.3390/antiox11122345
18. Poss K.D., Tonegawa S. Reduced stress defense in heme oxygenase 1-deficient cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997;94(20):10925–10930. doi: 10.1073/pnas.94.20.10925
19. Mohar I., Botta D., White C.C., McConachie L.A., Kavanagh T.J. Glutamate cysteine ligase (GCL) transgenic and gene-targeted mice for controlling glutathione synthesis. *Curr. Protoc. Toxicol.* 2009;6(16):16. doi: 10.1002/0471140856.tx0616s39

20. Nebert D.W., Vasiliou V. Analysis of the glutathione S-transferase (GST) gene family. *Hum. Genomics*. 2004;1(6):460. doi: 10.1186/1479-7364-1-6-460
21. Soto J.L., Cabrera C.M., Serrano S., López-Nevot M.A. Mutation analysis of genes that control the G1/S cell cycle in melanoma: TP53, CDKN1A, CDKN2A, and CDKN2B. *BMC Cancer*. 2005;5:36. doi: 10.1186/1471-2407-5-36
22. Chung I., Leonhardt H., Rippe K. De novo assembly of a PML nuclear subcompartment occurs through multiple pathways and induces telomere elongation. *J. Cell. Sci.* 2011;124(Pt 21):3603–3618. doi: 10.1242/jcs.084681
23. Cuny G.D., Degterev A. RIPK protein kinase family: Atypical lives of typical kinases. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2021;109:96–105. doi: 10.1016/j.semcdb.2020.06.014
24. McIlwain D.R., Berger T., Mak T.W. Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2013;5(4):a008656. doi: 10.1101/cshperspect.a008656
25. Kim H.J., Odend'hal S., Bruckner J.V. Effect of oral dosing vehicles on the acute hepatotoxicity of carbon tetrachloride in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1990;102(1):34–49. doi: 10.1016/0041-008x(90)90081-5
26. Zhang Y.X., Li C., Liang X.R., Jin J.Q., Zhang Y., Xu F., Guan J., Ma Y.Y., Ma X.N., Liu R.K., Fu J.H. Role of 5-HT degradation in acute liver injury induced by carbon tetrachloride. *Eur. J. Pharmacol.* 2021;908:174355. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174355
27. Atawia R.T., Esmat A., Elsherbiny D.A., El-Demerdash E. Telmisartan ameliorates carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats. *Environ Toxicol.* 2017;32(2):359–370. doi: 10.1002/tox.22240
28. van Wijk R., Tans S.J., ten Wolde P.R., Mashaghi A. Non-monotonic dynamics and crosstalk in signaling pathways and their implications for pharmacology. *Sci. Rep.* 2015;5:11376. doi: 10.1038/srep11376
29. Ramaiah L., Hinrichs M.J., Skuba E.V., Iverson W.O., Ennulat D. Interpreting and integrating clinical and anatomic pathology results. *Toxicol. Pathol.* 2017;45(1):223–237. doi: 10.1177/0192623316677068
30. Unsal V., Cicek M., Sabancilar İ. Toxicity of carbon tetrachloride, free radicals and role of antioxidants. *Rev. Environ. Health.* 2020;36(2):279–295. doi: 10.1515/reveh-2020-0048
31. Yu Y., Cui Y., Niedernhofer L.J., Wang Y. Occurrence, biological consequences, and human health relevance of oxidative stress-induced DNA damage. *Chem. Res. Toxicol.* 2016;29(12):2008–2039. doi: 10.1021/acs.chemrestox.6b00265
32. Sikalidis A.K., Mazar K.M., Lee J.I., Roman H.B., Hirschberger L.L., Stipanuk M.H. Upregulation of capacity for glutathione synthesis in response to amino acid deprivation: regulation of glutamate-cysteine ligase subunits. *Amino Acids*. 2014;46(5):1285–1296. doi: 10.1007/s00726-014-1687-1
33. Mazari A.M.A., Zhang L., Ye Z.W., Zhang J., Tew K.D., Townsend D.M. The Multifaceted Role of Glutathione S-Transferases in Health and Disease. *Biomolecules*. 2023;13(4):688. doi: 10.3390/biom13040688
34. Malaguarnera G., Cataudella E., Giordano M., Nunnari G., Chisari G., Malaguarnera M. Toxic hepatitis in occupational exposure to solvents. *World J. Gastroenterol.* 2012;18(22):2756–2766. doi: 10.3748/wjg.v18.i22.2756
35. Bergmann A., Steller H. Apoptosis, stem cells, and tissue regeneration. *Sci. Signal.* 2010;3(145):re8. doi: 10.1126/scisignal.3145re8
36. Zorov D.B., Juhaszova M., Sollott S.J. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiol. Rev.* 2014;94(3):909–950. doi: 10.1152/physrev.00026.2013

Сведения об авторах:

Рябова Юлия Владимировна, к.м.н., ORCID: 0000-0003-2677-0479, e-mail: ryabovayuvl@yandex.ru
Каримов Денис Олегович, к.м.н., ORCID: 0000-0003-0039-6757, e-mail: karimovdo@gmail.com
Репина Эльвира Фаридовна, к.м.н., ORCID: 0000-0001-8798-0846, e-mail: e.f.repina@bk.ru
Якупова Татьяна Георгиевна, ORCID: 0000-0002-1236-8246, e-mail: tanya.kutlina.92@mail.ru
Хуснутдинова Надежда Юрьевна, ORCID: 0000-0001-5596-8180, e-mail: h-n-yu@yandex.ru
Смолянкин Денис Анатольевич, ORCID: 0000-0002-7957-2399, e-mail: smolyankin.denis@yandex.ru

Information about the authors:

Yulia V. Ryabova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-2677-0479, e-mail: ryabovayuvl@yandex.ru
Denis O. Karimov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-0039-6757, e-mail: karimovdo@gmail.com
Elvira F. Repina, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-8798-0846, e-mail: e.f.repina@bk.ru
Tatyana G. Yakupova, ORCID: 0000-0002-1236-8246, e-mail: tanya.kutlina.92@mail.ru
Nadezhda Yu. Khusnutdinova, ORCID: 0000-0001-5596-8180, e-mail: h-n-yu@yandex.ru
Denis A. Smolyankin, ORCID: 0000-0002-7957-2399, e-mail: smolyankin.denis@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.10.2024

После доработки 27.11.2024

После повторной доработки 14.02.2025

Принята к публикации 16.02.2025

Received 18.10.2024

Revision received 27.11.2024

Second revision received 14.02.2025

Accepted 16.02.2025