

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Каримов Д.О., Кутлина Т.Г., Мухаммадиева Г.Ф., Валова Я.В., Репина Э.Ф., Хуснутдинова Н.Ю.

ИЗМЕНЕНИЕ ПРОФИЛЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АДАПТИВНОГО ОТВЕТА ПРИ ТОКСИЧЕСКИХ ГЕПАТИТАХ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Федеральное бюджетное учреждение науки «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа

Введение. В России большую актуальность приобрела проблема токсических гепатитов. Этиология токсических гепатитов (промышленные токсиканты, лекарственные средства, этанол) и, как следствие, патогенез могут иметь значительные различия на молекулярно-генетическом уровне. Цель исследования заключалась в анализе экспрессии генов, задействованных в ответе на токсическое повреждение печени различной этиологии.

Материал и методы. Моделирование острого токсического гепатита производилось на самцах белых беспородных крыс массой 180–200 г, разделённых на 4 группы (контрольная группа, тетрахлорметан, парацетамол, этанол). Через 24 и 72 ч после введения токсиканта крыс наркотизировали и исследовали уровни мРНК генов *Chek1*, *Gclc*, *Gstm1*, *Gstp1*, *Gstt1*, *Nfe2l2*, *Nqo1*, *Ripk1* в гомогенате печени.

Результаты. В результате проведённого анализа экспрессии изучаемых генов было обнаружено, что профиль экспрессии отличался в зависимости от этиологии токсического гепатита. При отравлении тетрахлорметаном наблюдалось повышение экспрессии генов *Nqo1* ($p = 0,001$), *Gstm1* ($p = 0,037$) и снижение экспрессии генов *Nfe2l2* ($p = 0,004$), *Ripk1* ($p = 0,004$). При поражении печени парацетамолом и его метаболитами, напротив, экспрессия гена *Gstm1* ($p = 0,001$) снижалась, а экспрессия генов *Nfe2l2* ($p = 0,009$), *Gclc* ($p = 0,001$), *Chek1* ($p = 0,011$) – повышалась. При алкогольной интоксикации статистически значимых изменений в профиле экспрессии изучаемых генов не наблюдалось.

Заключение. Полученные результаты могут указывать на участие различных молекулярно-генетических механизмов в процессе ответа на токсическое повреждение печени в зависимости от этиологии.

Ключевые слова: острый токсический гепатит; парацетамол; тетрахлорметан; этанол; экспрессия генов.

Для цитирования: Каримов Д.О., Кутлина Т.Г., Мухаммадиева Г.Ф., Валова Я.В., Репина Э.Ф., Хуснутдинова Н.Ю. Изменение профиля экспрессии генов адаптивного ответа при токсических гепатитах различной этиологии. *Гигиена и санитария*. 2019; 98(9): 1021-1025. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-9-1021-1025>

Для корреспонденции: Каримов Денис Олегович, кандидат мед. наук, зав. отделом токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: karimovdo@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов: Концепция и дизайн исследования – Каримов Д.О.; сбор и обработка материала – Кутлина Т.Г., Мухаммадиева Г.Ф., Валова Я.В., Хуснутдинова Н.Ю.; статистическая обработка – Каримов Д.О.; написание текста – Каримов Д.О.; редактирование – Репина Э.Ф.; утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Поступила 01.07.2019

Принята к печати 23.07.19

Опубликована: октябрь 2019

Karimov D.O., Kutlina T.G., Mukhammadiyeva G.F., Valova Y.V., Repina E.F., Khusnutdinova N.Yu.

CHANGE OF THE PROFILE OF EXPRESSION OF ADAPTIVE RESPONSE GENES IN TOXIC HEPATITIS OF DIFFERENT ETIOLOGY

Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation

Introduction. In Russia, the problem of toxic hepatitis is of great importance and relevance. The etiology of toxic hepatitis (industrial toxicants, drugs, ethanol) and, as a consequence, pathogenesis may have significant differences at the molecular genetic level.

The aim of the study was to analyze the expression of genes involved in the response to toxic liver damage of various etiologies.

Material and methods. Toxic hepatitis was modulated in male albino mongrel rats weighing 180-200 grams assigned to four groups (control group, carbon tetrachloride, paracetamol, ethanol). After 24 and 72 hours of paracetamol administration, rats were anesthetized and the mRNA levels of the *Chek1*, *Gclc*, *Gstm1*, *Gstp1*, *Gstt1*, *Nfe2l2*, *Nqo1*, *Ripk1* genes in the liver homogenate were examined.

Results. As a result of the analysis of the genes expression studied, the expression profile was found to be differed depending on the etiology of toxic hepatitis. With carbon tetrachloride poisoning, an increase in the expression of the *Nqo1* genes ($p = 0.001$), *Gstm1* ($p = 0.037$) and a decrease in the expression of the *Nfe2l2* genes ($p = 0.004$), *Ripk1* ($p = 0.004$) was observed. With the liver damage by paracetamol and its metabolites, opposite to the expression of the *Gstm1* gene ($p = 0.001$) decreased, and the expression of the *Nfe2l2* ($p = 0.009$), *Gclc* ($p = 0.001$), *Chek1* ($p = 0.011$) genes increased. During alcohol intoxication, there were no statistically significant changes in the expression profiles of the genes studied.

Conclusion. *the results obtained may indicate the involvement of various molecular genetic mechanisms in the process of response to toxic liver damage, depending on the etiology.*

Key words: *acute toxic hepatitis; paracetamol; carbon tetrachloride; ethanol; gene expression.*

For citation: Karimov D.O., Kutlina T.G., Mukhammadiyeva G.F., Valova Y.V., Repina E.F., Khusnutdinova N.Yu. Change of the profile of expression of adaptive response genes in toxic hepatitis of different etiology. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2019; 98(9): 1021-1025. (In Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-9-1021-1025>

For correspondence: Denis O. Karimov, MD, Ph.D., head of the department of toxicology and genetics with an experimental clinic of laboratory animals professor, head of Department of General Hygiene of Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation. E-mail: karimovdo@gmail.com

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

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Contribution: Research concept and design – Karimov D.O.; Collection and processing of material – Kutlina T.G., Muhammadieva G.F., Valova Y.V., Khusnutdinova N.Yu.; Statistical processing – Karimov D.O.; Writing a text – Karimov D.O.; Editing – Repina E.F.; Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all co-authors.

Received: July 01, 2019

Accepted: July 23, 2019

Published: October, 2019

Введение

Токсический гепатит (ТГ) – это нарушение функции печени, возникающее при повреждении гепатоцитов токсичными веществами: злоупотребление лекарствами или алкоголем, профессиональное воздействие и т. д. [1, 2]. Этиология острого повреждения печени изучена достаточно хорошо [3], но механизмы молекулярно-генетического ответа в зависимости от механизма развития ТГ требуют дальнейшего изучения.

Ацетаминофен (ААФ), который также известен как парацетамол, является ненаркотическим анальгетиком-антипиретиком. Передозировка ААФ может вызывать ТГ и потенциально фатальный некроз печени. ААФ метаболизируется сульфатированием и глюкуронидацией в печени, при этом менее 5–10% метаболизируется системой цитохрома P450 (CYP450) в печени. Глутатионовая окислительно-восстановительная система также играет важную роль для инактивации образующегося метаболита путём его конъюгации с глутатионом. Быстрое превращение ААФ в реактивный метаболит N-ацетил-p-бензохинонимин изоформами цитохрома P450 приводит к образованию свободных радикалов и ковалентному связыванию с клеточными нуклеофилами, что приводит к гибели клеток [4, 5]. Окислительный стресс в митохондриях также приводит к активации ферментов сигнального каскада, что инициирует активацию митохондриальной проницаемости и дестабилизирует мембранный потенциал, что приводит к митохондриальному набуханию и разрыву мембран [6, 7]. После разрыва мембраны происходит массивное высвобождение апоптоз-индуцирующего фактора, активаторов эндонуклеазы G и каспаз в цитоплазму и сопутствующей транслокации в ядро для инициации фрагментации ядерной ДНК [8, 9].

Другой распространённой причиной развития ТГ является воздействие промышленных веществ, обладающих гепатотоксичностью. Воздействие тетрахлорметана (ТХМ) является классической химической моделью для изучения повреждения печени. Повреждение гепатоцитов опосредовано тем, что изоформы цитохрома P450, взаимодействуя с ТХМ, генерируют свободные радикалы хлорметила (-CCl₃), которые запускают перекисное окисление мембранных липидов или повреждают субклеточные структуры [10–12].

Этиология алкогольного гепатита сложна и многофакторна. Основные факторы включают стеатоз, окислительный стресс, изменённую проницаемость кишечника, образование токсических метаболитов и цитокинов, которые приводят к возникновению воспалительного каскада.

Этанол метаболизируется в ацетальдегид через цитозольный фермент алкогольдегидрогеназу. Ацетальдегид превращается в ацетат и восстановленный никотинамидадениндинуклеотид посредством митохондриальной и цитозольной альдегиддегидрогеназы [13]. Ацетальдегид является прямым гепатотоксичным и известным канцерогеном [14]. Его аддукты являются мощными активаторами воспалительных цитокинов и продукции активных форм кислорода [15–17].

Nrf2 – это группа ядерных транскрипционных факторов, отвечающих за определение и сигнализацию окислительного стресса. Одним из основных представителей является его форма L2 – Nf2l2. В ответ на окислительный стресс они контролируют экспрессию и скоординированную индукцию генов антиоксидантов и ферментов детоксикации. Этот механизм имеет решающее значение для защиты и выживания клеток [18–20].

Первоначально активируется экспрессия генов, задействованных в нейтрализации химических веществ и активных форм кислорода: НАД(Ф)-Н: хинооксидоредуктаза 1 (Nqo1), глутатионцистеинлигаза (Gclc), ферменты суперсемейства глутатион-S-трансфераз (Gstt1, Gstm1, Gstp1).

Существует широкий спектр факторов, связанных с клеточным ответом на окислительный стресс. Следует отметить, что накопление большого количества активных форм кислорода и повреждение ДНК приводят к активации апоптотических механизмов гибели клеток. Каспазы представляют собой семейство цистеиновых протеаз, которые активируют апоптотические пути. Они служат либо «инициаторами», либо «эффекторами» в зависимости от их молекулярных функций. Каспаза 7 (*Casp7*) относится к эффекторным каспазам, которые гидролизуют целевые белки и инициируют апоптоз [21].

В соматических клетках нижестоящая трансдучерная киназа или Checkpoint киназа (*Chk1*) передаёт сигнал о повреждении ДНК, опосредованную активными формами кислорода. *Chk1* играет важную роль в контрольных точках клеточного цикла S и G2 и в случае нарушения митоза запускает механизмы апоптоза [22–24].

Взаимодействующая с рецептором протеинкиназа 1 (Ripk1) регулирует гибель и воспаление клеток с помощью киназозависимых и независимых механизмов. Ripk1 облегчает активацию путей MAPK и NF-κB и ингибирует каспазо-8-зависимый апоптоз. С другой стороны, в качестве киназы Ripk1 индуцирует апоптоз и некроптоз после своей ферментативной активации [25, 26].

Высокая распространённость ТГ, различная этиология и как следствие необходимость персонализированной терапии данного заболевания диктуют потребность в разработке молекулярно-генетических предикторов, способных определить механизм повреждения гепатоцитов.

Цель исследования – изучение профиля экспрессии генов антиоксидантной системы при экспериментальном токсическом поражении печени, вызванном ацетаминофеном, тетрахлорметаном и этанолом.

Материал и методы

Исследование проводили на самцах белых беспородных крыс массой 170–190 г. Животные были разделены на 4 группы по 14 особей в каждой. Условия содержания и кормления были одинаковы для всех групп животных. Крысам 1-й (контрольной) группы подкожно вводили 1 мл оливкового масла, крысам 2-й группы – 50% масляный раствор ТХМ в дозе 2 г/кг, крысам 3-й группы – внутривенно ААФ в крахмаль-

ной слизи в дозе 1 г/кг массы животного, крысам 4-й группы внутрижелудочно вводили этанол в дозе 5 г/кг массы животного. Печень декапированных крыс подвергали исследованию спустя 24 и 72 ч (по 7 животных в каждом временном промежутке) после затравки. При уходе за животными, питании и проведении экспериментов руководствовались базисными нормативными документами. Перед декапитацией животных лишали корма на 12 ч, затравку и забор материала проводили в утренние часы. Кусочки печени сразу после декапитации и вскрытия животных замораживали жидким азотом и заливали Extract RNA (ЗАО «Евроген»). Для определения функционального состояния печени было применено определенное количество методик: экстракция тотальной РНК тризольным методом, обратная транскрипция и ПЦР-амплификация в режиме реального времени на приборе Rotor Gene (QIAGEN). Изучение экспрессии генов *Chek1*, *Gclc*, *Gstm1*, *Gstp1*, *Gstt1*, *Nfe2l2*, *Nqo1*, *Ripk1* в печени крыс в норме и при ТГ проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием олигонуклеотидных специфичных праймеров фирмы ЗАО «Евроген», содержащего интеркалирующий краситель SYBR Green. В качестве гена домашнего хозяйства был использован ген *GAPDH*. Статистические данные, полученные в опытах, обрабатывали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Проверку распределения на нормальность осуществляли с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Анализ профиля экспрессии генов антиоксидантной и детоксикационной системы показал, что при отравлении исследуемых животных ААФ через 24 ч наблюдалось повышение экспрессии гена *Nqo1* до 2,04 ($p = 0,001$) и гена *Gstm1* до 1,04 ($p = 0,037$). В то же время наблюдалось снижение экспрессии генов *Nfe2l2* и *Ripk1* до уровня $-1,1$ и $-0,88$ соответственно ($p = 0,004$; $p = 0,004$). Изменение уровня экспрессии генов *Casp7*, *Chek1*, *Gclc*, *Gstp1*, *Gstt1* не достигло уровня статистической значимости (рисунок, а).

При анализе экспрессии изучаемых генов через 72 ч после затравки ААФ было показано, что уровень экспрессии гена *Gstm1* оставался практически на прежнем уровне (0,78; $p = 0,037$), тогда как экспрессия гена *Nqo1* вернулась к исходному уровню ($-0,37$; $p = 0,766$). Уровень представленности транскриптов гена *Nfe2l2* оставался сниженным и составлял $-1,06$ ($p = 0,008$), экспрессия гена *Ripk1* вернулась к исходному уровню и составляла 0,29 ($p = 0,304$). Наблюдалось снижение экспрессии гена *Gclc* практически в 2 раза ($-2,09$; $p = 0,009$) по сравнению с исходным уровнем его экспрессии (рисунок, б).

Исследование экспрессии изучаемых генов при интоксикации ТХМ показало противоположную картину. Так, после 24 ч введения исследуемого вещества экспрессия гена *Nfe2l2* повысилась до уровня 0,96 ($p = 0,09$), экспрессия гена *Chek1* достигла уровня 1,3 ($p = 0,011$), а экспрессия гена *Gclc* достигла наиболее высокого уровня и составила 2,26 ($p = 0,001$). Напротив, по сравнению с затравкой парацетамолом экспрессия гена *Gstm1* была снижена до уровня $-1,48$ ($p = 0,001$) (рисунок, в).

По истечении 72 ч после отравления ТХМ наблюдалось изменение экспрессии изучаемых генов. Уровень представленности транскриптов гена *Gstm1* изменил свою направленность и стал положительным (1,68; $p = 0,001$). Наблюдалось значительное снижение экспрессии гена *Nqo1* ($-3,11$; $p = 0,009$) (рисунок, г).

Анализ профиля экспрессии исследуемых генов при отравлении этанолом имел значительные различия по сравнению с «картиной» отравления парацетамолом и ТХМ. Так, при анализе уровня представленности транскриптов по истечении 24 ч статистически значимых различий не наблюдалось (рисунок, д).

Наблюдалась тенденция снижения экспрессии гена *Chek1* ($p = 0,073$), но спустя 72 ч после воздействия этанола снижение его экспрессии составило $-2,13$ и различия достигли уровня статистической значимости ($p = 0,002$). Снижение также наблюдалось в экспрессии генов *Gstp1* ($-1,38$) и *Ripk1* ($-1,36$) ($p = 0,002$; $p = 0,02$ соответственно) (рисунок, е).

Обсуждение

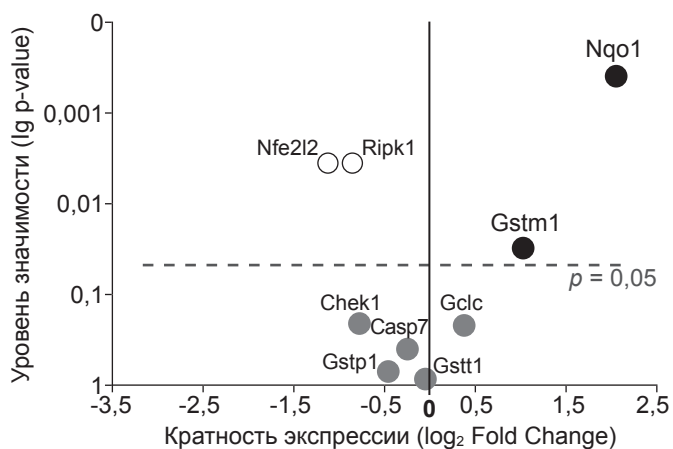
Окислительный стресс отражает дисбаланс между активными формами кислорода и способностью биологической системы устранять реактивные соединения или восстанавливать возникающие повреждения. Продукт гена *Nfe2l2* является ключевым звеном системы детоксикации и первой линией защиты от повреждения клеток вследствие неконтролируемого окислительного стресса. Гетеродимеры этого гена связываются с промоторами генов антиоксидантного ответа, которые кодируют защитные ферменты, участвующие в детоксикации ксенобиотиков, антиоксидантном ответе и поддержании протеома и активируют их экспрессию [27, 28].

Мы считаем, что полученные результаты можно объяснить следующим образом: значительное повышение экспрессии гена *Nfe2l2* при интоксикации ТХМ, возможно, говорит о повышенном содержании активных форм кислорода в паренхиме печени, так как они являются одним из активаторов этого транскрипционного фактора. Отсутствие повышения его экспрессии через 72 ч, вполне вероятно, говорит о снижении концентрации активных форм кислорода в данный временной промежуток. Подобный профиль экспрессии не наблюдается при отравлении ААФ, поскольку его токсическое действие опосредовано истощением в организме запасов глутатиона и накоплением промежуточных токсичных метаболитов парацетамола. ААФ с цитохромом P450 подвергается гидроокислению, что приводит к образованию N-ацетил-бензохинонина.

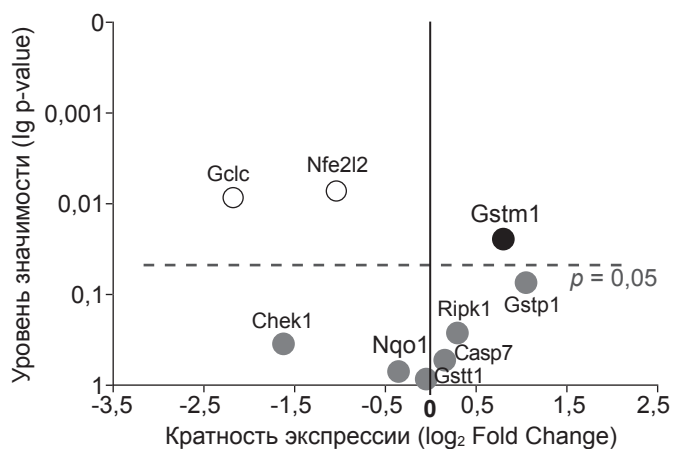
Восстановленный глутатион менее подвержен окислению в отличие от Cys, что делает его наиболее подходящим для поддержания внутриклеточного редокс-потенциала, которое определяется его участием в регуляции клеточного редокс-зависимого сигналинга и активности транскрипционных факторов, а также тем фактом, что он является внутриклеточным антиоксидантом, играя роль «ловушки» свободных радикалов, косубстрата в реакциях детоксикации пероксидов, катализируемых глутатионпероксидазой и глутатионтрансферазой, и выступает в качестве агента, восстанавливающего окисленный глутаредоксин (Grg), необходимый для восстановления дисульфидов [29]. Повышение экспрессии гена *Gstm1* как при 24 ч, так и при 72 ч после интоксикации может подтверждать данный вывод. Интересным представляется то, что наблюдалось увеличение экспрессии глутатионтрансфераз только класса μ , что, по-видимому, может объясняться активным участием именно данного класса при интоксикации парацетамолом. Уровень представленности транскриптов гена *Gstm1* был также значительно повышен по прошествии 72 ч после отравления ТХМ. Интересно отметить, что повышение его экспрессии не наблюдалось при 24 ч, но была активна экспрессия основного регулятора активности синтеза ферментов системы глутатиона гена *Gclc*. По-видимому, интоксикация ТХМ не вызывает столь «стремительной» активации системы глутатиона, как при отравлении ААФ, и экспрессионная активность данных генов наблюдается позже.

Наблюдалось повышение экспрессии гена *Nqo1* в первые 24 ч после интоксикации ААФ. Данный ген кодирует цитоплазматическую форму фермента НАД(Ф) Н-дегидрогеназы, которая образует гомодимеры и восстанавливает хиноны до гидрохинонов, что может говорить об участии хинонов в процессах нейтрализации токсичных метаболитов парацетамола. Снижение экспрессии данного гена после 72 ч отравления ТХМ, возможно, объясняется тем, что данный механизм перестаёт работать по истечении данного времени.

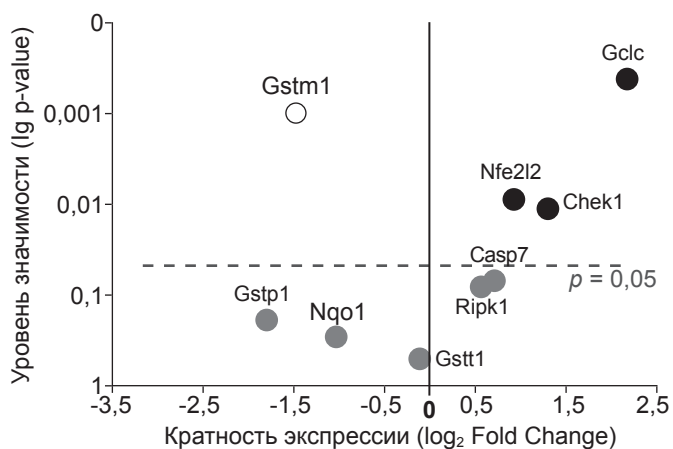
Повышение уровня представленности транскриптов *Chek1* наблюдалось только при отравлении ТХМ. Данное обстоятельство может объясняться основной функцией данного вида киназ, которая заключается в инициации контрольных точек клеточного цикла, остановке клеточного цикла и запуска апоптоза клеток для предотвращения деления клеток после повреждения ДНК. Патогенез отравления ТХМ основан на образовании активных форм кислорода, вследствие этого наибольшее повреждение ДНК и соответственно активация данного гена наблюдаются при данном виде интоксикации.



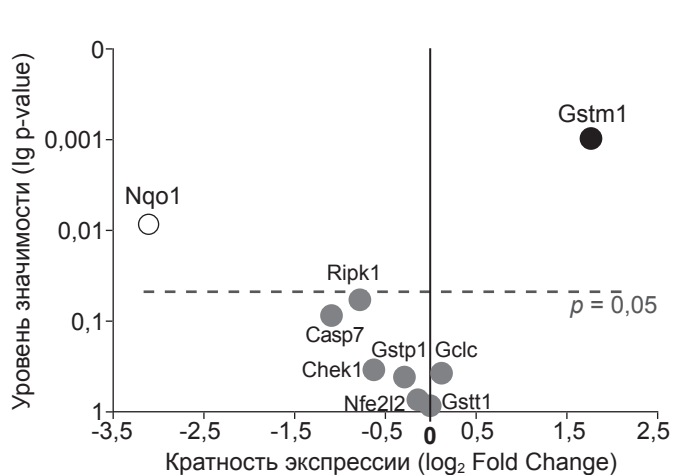
a



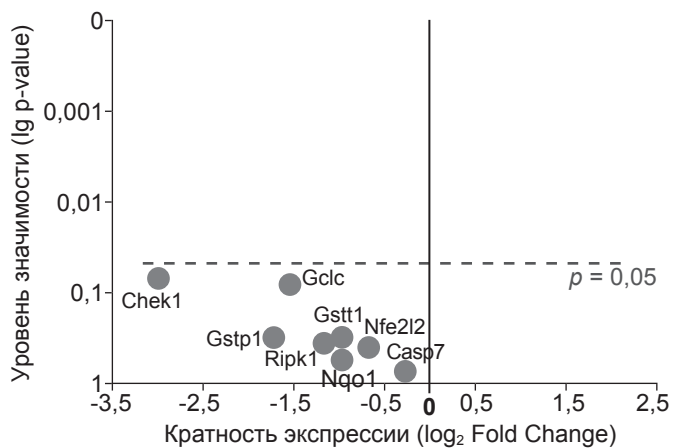
б



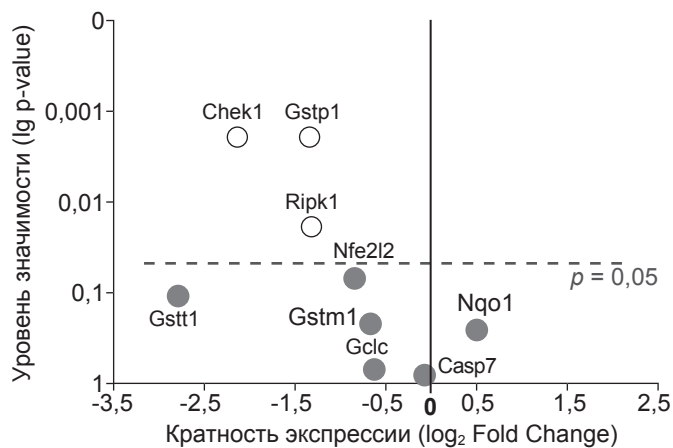
в



г



д



е

Профиль экспрессии генов антиоксидантной системы в печени крыс:

a – через 24 ч после интоксикации ААФ; *б* – через 72 ч после интоксикации ААФ; *в* – через 24 ч после интоксикации ТХМ; *г* – через 72 часа после интоксикации ТХМ; *д* – через 24 часа после интоксикации этанолом; *е* – через 72 ч после интоксикации этанолом.

Анализ профиля экспрессии при интоксикации этанолом не показал статистически значимого повышения уровня экспрессии генов детоксикации. Данное обстоятельство может объясняться особенностями повреждения гепатоцитов этанолом, которые заключаются в нарушении синтеза белков и повреждении цитоскелета, что способствует формированию баллонной дистрофии гепатоцитов ацетальдегидом – основным метаболитом этанола.

Заключение

Механизмы повреждения гепатоцитов значительно варьируют в зависимости от токсичного агента, вследствие чего происходит активация различных защитных механизмов детоксикации и антиоксидантной защиты организма. В результате работы было показано, что экспрессия ключевых генов детоксикации (*Nfe2l2*, *Gstm1*, *Chek1*, *Nqo1*) имеет зависимость от механизма повреждения гепатоцитов, что в дальнейшем может послужить в качестве диагностических маркеров, способных показать механизм повреждения, и назначить наиболее подходящую при данном виде отравления терапию.

Литература

(пп. 1–28 см. References)

29. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов. *Успехи биологической химии*. 2014; (54): 299–348.

References

1. Khoury T., Rmeileh A.A., Yosha L., Benson A.A., Daher S., Mizrahi M. Drug Induced Liver Injury: Review with a Focus on Genetic Factors, Tissue Diagnosis, and Treatment Options. *J Clin Transl Hepatol*. 2015; 3 (2): 99–108.
2. Oh I.S., Park S.H. Immune-mediated Liver Injury in Hepatitis B Virus Infection. *Immune Netw*. 2015; 15 (4): 191–8.
3. Ren F., Zhang L., Zhang X., Shi H., Wen T., Bai L. et al. Inhibition of glycogen synthase kinase 3 β promotes autophagy to protect mice from acute liver failure mediated by peroxisome proliferator-activated receptor α . *Cell Death Dis*. 2016; 7: e2151.
4. Nelson S.D. Molecular mechanisms of the hepatotoxicity caused by acetaminophen. *Semin Liver Dis*. 1990; 10: 267–78. DOI: 10.1055/s-2008-1040482.
5. Bessems J.G., Vermeulen N.P. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: Molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Crit Rev Toxicol*. 2001; 31: 55–138. DOI: 10.1080/20014091111677.
6. Kon K., Kim J.S., Jaeschke H., Lemasters J.J. Mitochondrial permeability transition in acetaminophen-induced necrosis and apoptosis of cultured mouse hepatocytes. *Hepatology*. 2004; 40: 1170–9. DOI: 10.1002/hep.20437.
7. Cover C., Mansouri A., Knight T.R., Bajt M.L., Lemasters J.J., Pessayre D. et al. Peroxynitrite-induced mitochondrial and endonuclease-mediated nuclear DNA damage in acetaminophen hepatotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005; 315: 879–87. DOI: 10.1124/jpet.105.088898.
8. Jaeschke H., McGill M.R., Ramachandran A. Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: Lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity. *Drug Metab Rev*. 2012; 44: 88–106. DOI: 10.3109/03602532.2011.602688.
9. Kim H.Y., Kim J.K., Choi J.H., Jung J.Y., Oh W.Y., Kim D.C. et al. Hepatoprotective effect of pinorexinol on carbon tetrachloride-induced hepatic damage in mice. *J Pharmacol Sci*. 2010; 112: 105–12.
10. Allman M., Gaskin L., Rivera C.A. CCl₄-induced hepatic injury in mice fed a Western diet is associated with blunted healing. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010; 25: 635–43.
11. Ma X., Xu L., Wang S., Chen H., Xu J., Li X. et al. Loss of steroid receptor co-activator-3 attenuates carbon tetrachloride-induced murine hepatic injury and fibrosis. *Lab Invest*. 2009; 89: 903–14.
12. Bajt M.L., Cover C., Lemasters J.J., Jaeschke H. Nuclear translocation of endonuclease G and apoptosis-inducing factor during acetaminophen-induced liver cell injury. *Toxicol Sci*. 2006; 94: 217–25. DOI: 10.1093/toxsci/kf077.
13. Berg J.M., Tymoczko J.L. In: Freeman W. *Biochemistry*. New York; 2002. Section 30.5, Ethanol Alters Energy Metabolism in the Liver.
14. Friel P.N., Baer J.S., Logan B.K. Variability of ethanol absorption and breath concentrations during a large-scale alcohol administration study. *Alcohol Clin Exp Res*. 1995; 19: 1055–60.
15. Viitala K., Makkonen K., Israel Y., Lehtimäki T., Jaakkola O., Koivula T. et al. Autoimmune responses against oxidant stress and acetaldehyde-derived epitopes in human alcohol consumers. *Alcohol Clin Exp Res*. 2000; 24: 1103–9.
16. Tuma D.J., Casey C.A. Dangerous byproducts of alcohol breakdown—focus on adducts. *Alcohol Res Health*. 2003; 27: 285–90.
17. Chayanupatkul M., Liangpunsakul S. Alcoholic hepatitis: a comprehensive review of pathogenesis and treatment. *World J Gastroenterol*. 2014; 20: 6279–86.
18. Itoh K., Igarashi K., Hayashi N., Nishizawa M., Yamamoto M. Cloning and characterization of a novel erythroid cell-derived CNC family transcription factor heterodimerizing with the small Maf family proteins. *Mol Cell Biol*. 1995; 15: 4184–93.
19. Moi P., Chan K., Asunis I., Cao A., Kan Y.W. Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994; 91: 9926–30.
20. Hayes J.D., Dinkova-Kostova A.T. The Nrf2 regulatory network provides an interface between redox and intermediary metabolism. *Trends Biochem Sci*. 2014; 39: 199–218.
21. Tait S.W., Green D.R. Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2010; 11 (9): 621–32. DOI: 10.1038/nrm2952.
22. Liu Q., Guntuku S., Cui X.S., Matsuoka S., Cortez D., Tamai K. et al. Chk1 is an essential kinase that is regulated by Atr and required for the G(2)/M DNA damage checkpoint. *Genes Dev*. 2000; 14: 1448–59.
23. Chen L., Chao S.B., Wang Z.B., Qi S.T., Zhu X.L., Yang S.W. et al. Checkpoint kinase 1 is essential for meiotic cell cycle regulation in mouse oocytes. *Cell Cycle*. 2012; 11 (10): 1948–55.
24. Rinaldi V.D., Bolcun-Filas E., Kogo H., Kurahashi H., Schimenti J.C. The DNA damage checkpoint eliminates mouse oocytes with chromosome synapsis failure. *Mol Cell*. 2017; 67 (6): 1026–36.e2.
25. Berger S.B. et al. Cutting Edge: RIP1 kinase activity is dispensable for normal development but is a key regulator of inflammation in SHARPIN-deficient mice. *J Immunol*. 2014; 192: 5476–80. DOI: 10.4049/jimmunol.1400499.
26. Polykratis A. et al. Cutting edge: RIPK1 Kinase inactive mice are viable and protected from TNF-induced necroptosis *in vivo*. *J Immunol*. 2014; 193: 1539–43. DOI: 10.4049/jimmunol.1400590.
27. Kensler T.W., Wakabayashi N., Biswal S. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2007; 47: 89–116. Epub 2006/09/14. 10.1146/annurev.pharmtox.46.120604.141046.
28. Itoh K., Chiba T., Takahashi S., Ishii T., Igarashi K., Katoh Y. et al. An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997; 236 (2): 313–22. Epub 1997/07/18.
29. Kalinina E.V., Chernov N.N., Novichkova M.D. The role of glutathione, glutathione transferase and glutaredoxin in the regulation of redox-dependent processes. *Uspekhi biologichkoy khimii*. 2014; 54: 299–348. (in Russian)