

УДК 577.215.3

ВЛИЯНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРОВ НА ТРАНСКРИПЦИОННУЮ АКТИВНОСТЬ ГЕНА *Gclc* ПРИ ОСТРОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ, ВЫЗВАННОМ РАЗЛИЧНЫМИ ТОКСИКАНТАМИ

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

ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Уфа, Россия

Целью данной работы являлось изучение активности гена *Gclc* при экспериментальном токсическом гепатите с последующим введением препаратов коррекции. Моделирование острого токсического гепатита проводили на белых аутбредных крысах мужского пола, разделенных на группы в зависимости от вводимого токсиканта и препарата коррекции. В качестве токсикантов были использованы тетрахлорметан (ТХМ) и этанол. Корректирующее воздействие проводили лекарственными препаратами оксиметилурацил (ОМУ), «Гептор» и «Мексидол». Эксперимент длился в течение 24 часов. Для определения активности гена *Gclc* использовали образцы РНК, выделенные из печени крыс. При введении животным этанола без сопутствующего лечения мы наблюдали незначительное снижение активности гена *Gclc* ($-1,19 \pm 0,47$ против $0,00 \pm 0,43$; $p=0,161$), однако последующая обработка ОМУ оказывала статистически значимый положительный эффект в отношении рассматриваемого показателя ($0,76 \pm 0,25$ против $-1,19 \pm 0,47$; $p=0,005$). Таким образом, на основе изучения активности гена *Gclc* у крыс можно сделать вывод о том, что коррекция ОМУ в условиях острого токсического гепатита, индуцированного этанолом, может иметь существенный гепатопротекторный эффект.

Ключевые слова: токсический гепатит, глутамат-цистеинлигаза, гептор, мексидол, оксиметилурацил, тетрахлорметан, этанол

Для цитирования: Зиатдинова М.М., Валова Я.В., Мухаммадиева Г.Ф., Каримов Д.О., Якупова Т.Г., Хуснутдинова Н.Ю., Репина Э.Ф. Влияние гепатопротекторов на транскрипционную активность гена *gclc* при остром токсическом гепатите, вызванном различными токсикантами. Медицина труда и экология человека. 2021;4:158-170

Для корреспонденции: Зиятдинова Мунира Мунировна, м.н.с. отдела токсикологии и генетики, e-mail: munira.munirovna@yandex.ru.

Финансирование: бюджетная тема в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

DOI: <http://dx.doi.org/10.24412/2411-3794-2021-10410>

EFFECT OF HEPATOPROTECTORS ON TRANSCRIPTIONAL ACTIVITY OF THE GCLC GENE IN ACUTE TOXIC HEPATITIS CAUSED BY VARIOUS TOXICANTS

Ziatdinova M.M., Valova Ya.V., Mukhammadieva G.F., Karimov D.O., Yakupova T.G., Khusnutdinova N.Yu., Repina E.F.

Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, Russia

The aim of this work was to study the activity of the Gclc gene in experimental toxic hepatitis followed by the introduction of correction drugs. Acute toxic hepatitis was simulated on male white outbred rats, divided into groups depending on the injected toxicant and correction drug. Carbon tetrachloride (TCM) and ethanol were used as toxicants. Corrective action was carried out with drugs oxymethyluracil (OMU), "Heptor" and "Mexidol". The experiment lasted for 24 hours. To determine the activity of the Gclc gene, RNA samples isolated from rat liver were used. With the introduction of ethanol to animals without concomitant treatment, we observed a slight decrease in the activity of the Gclc gene ($-1,19 \pm 0,47$ versus $0,00 \pm 0,43$; $p = 0,161$), however, subsequent treatment with OMU had a statistically significant positive effect in relation to the considered indicator ($0,76 \pm 0,25$ versus $-1,19 \pm 0,47$; $p = 0,005$). Thus, based on the study of the activity of the Gclc gene in rats, it can be concluded that the correction of BMD under conditions of acute toxic hepatitis induced by ethanol can have a significant hepatoprotective effect.

Key words: toxic hepatitis, glutamate-cysteine ligase, heptor, mexidol, oxymethyluracil, carbon tetrachloride, ethanol.

Citation: Ziatdinova M.M., Valova Ya.V., Mukhammadieva G.F., Karimov D.O., Yakupova T.G., Khusnutdinova N.Yu., Repina E.F. Effect of hepatoprotectors on transcriptional activity of the gclc gene in acute toxic hepatitis caused by various toxicants. *Occupational health and human ecology*. 2021;4:158-170

Correspondence: Munira M. Ziatdinova, Junior Researcher at the Department of Toxicology and Genetics, e-mail: munira.munirovna@yandex.ru.

Conflict of interest: the authors have no conflict of interest to declare.

Financing: budget topic within the sectoral program of Rospotrebnadzor

DOI: <http://dx.doi.org/10.24412/2411-3794-2021-10410>

В настоящее время остается высокой потребность в гепатопротективных средствах, нормализующих метаболизм печени в условиях различных патологических состояний. Токсические поражения печени встречаются более чем в 50% случаев заболеваний печени [1].

Печень – это жизненно важный орган, отвечающий за поддержание большинства физиологических функций организма человека. Она принимает непосредственное участие в процессах метаболизма и детоксикации ксенобиотиков. Печень, как правило, противодействует окислительному стрессу, индуцируя антиоксидантный механизм, который нейтрализует активные радикалы кислорода и азота. Данный орган снабжен эндогенной системой антиоксидантных ферментов, таких как глутатион-S-трансфераза (GST), каталаза и супероксиддисмутаза (СОД). Эти антиоксидантные системы индуцируются гепатоцитами для противодействия окислительному стрессу. Однако когда окислительный стресс превосходит нейтрализующую способность организма, печень наиболее уязвима к воздействию свободных радикалов, которые приводят к окислению макромолекул, таких как липиды, белки и ДНК. Опосредованное окислительным стрессом повреждение печени приводит к гепатиту, фиброзу печени, циррозу и в конечном итоге гепатоцеллюлярной карциноме [2,3].

Тетрахлорметан (ТХМ, CCl_4) широко используется в *in vivo* моделях травм печени, кроме того, повреждение, вызванное ТХМ, сопоставимо с тем, что наблюдается при вирусном гепатите [4]. Основное преимущество исследований с ТХМ заключается в удобстве использования животных моделей с признаками достижения фиброза и цирроза печени, а также в изучении механизмов, связанных с индукцией гепатотоксических состояний (жировая дистрофия, фиброз, гепатоцеллюлярная карцинома) [5].

Чрезмерное употребление алкоголя является глобальной проблемой здравоохранения с огромными социальными, экономическими и клиническими последствиями. Употребление алкоголя в больших количествах

в течение длительного времени повреждает почти все органы в организме. Наиболее раннее и выраженное повреждение тканей при интоксикации алкоголем происходит в печени, поскольку она является основным местом метаболизма этанола [6].

Глутамат-цистеинлигаза (GCL) является ферментом, ограничивающим скорость биосинтеза глутатиона (GSH), важного регулятора внутриклеточного метаболизма. У высших эукариот этот фермент представляет собой гетеродимер, состоящий из тяжелой каталитической (GCLC, 73 кДа) и легкой регуляторной субъединиц (GCLM, 31 кДа), кодируемых каждая своим геном. Каталитическая субъединица обладает всей каталитической активностью, в то время как субъединица-модификатор функционирует для повышения каталитической эффективности GCLC. Стоит отметить, что полиморфизмы генов *Gclc* и *Gclm* человека связаны с рядом патологий, включающих хронический бериллиоз, сахарный диабет I типа, муковисцидоз, инфаркт миокарда, гемолитическую анемию и шизофрению [7,8].

Цель исследования заключалась в изучении изменения кратности экспрессии гена *Gclc* спустя 24 часа при остром токсическом гепатите, вызванном различными токсикантами, на фоне введения препаратов коррекции.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования выполнены на белых аутбредных крысах массой тела 200-220 г мужского пола. Методом случайной выборки крысы были разделены на группы и содержались в клетках по 7 особей при температуре воздуха $21 \pm 1^\circ\text{C}$. В качестве токсикантов использовали: 50% раствор ТХМ, который вводился однократно подкожно в дозе 2 г/кг массы тела животных, носителем и контрольным веществом (отрицательный контроль) являлось рафинированное оливковое масло; 40% раствор этанола, введение которого производилось перорально в дозе 4 г/кг массы тела животных, носителем и контрольным веществом являлась дистиллированная вода. Корректирующее воздействие проводили спустя час после введения токсикантов оксиметилурацилом (ОМУ, 5-гидрокси-6-метилурацил, синтезированный в Институте органической химии УФИЦ РАН), адеметионином («Гептор», производитель ОАО «Верофарм», Россия) и сукцинатом этилметилгидроксипиридина («Мексидол», производитель «Фармасофт», Россия).

При уходе за животными, питании и проведении экспериментов руководствовались базисными нормативными документами с соблюдением международных принципов Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным, рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей. Кусочки печени сразу после декапитации и вскрытия животных замораживали жидким азотом и заливали реагентом ExtractRNA (ЗАО «Евроген»). Для определения функционального состояния печени проводили анализ экспрессии гена *Gclc* в печени крыс с использованием следующих методов: экстракция тотальной РНК тризолом, обратная транскрипция и ПЦР-амплификация в режиме реального времени (с использованием олигонуклеотидных специфичных праймеров фирмы «Евроген» на приборе RotorGene (QIAGEN)). Нормирование уровня экспрессии проводили по гену *Gapdh*. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента и однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. При анализе экспрессии гена *Gclc* в ответ на введение ТХМ, в эксперименте, длившемся 24 часа, мы наблюдали статистически значимые различия между группами ($F=21,384$; $p=0,001$) (рис. 1). Минимальная активность гена *Gclc* наблюдалась в группе животных, получавших «Мексидол» ($-3,47 \pm 0,20$), максимум – в группе получавших «Гептор» ($-2,54 \pm 0,20$), но данное значение не превышало уровня положительного контроля ($-2,52 \pm 0,18$). Среднее значение уровня транскриптов гена *Gclc* в группе коррекции ОМУ было $-2,95 \pm 0,22$. Стоит отметить, что экспрессия гена *Gclc* во всех группах коррекции, а также в группе положительного контроля была статистически значимо ниже, чем в интактной группе ($0,00 \pm 0,39$) ($p=0,001$). Множественные сравнения остальных групп уровня статистической значимости не достигли.

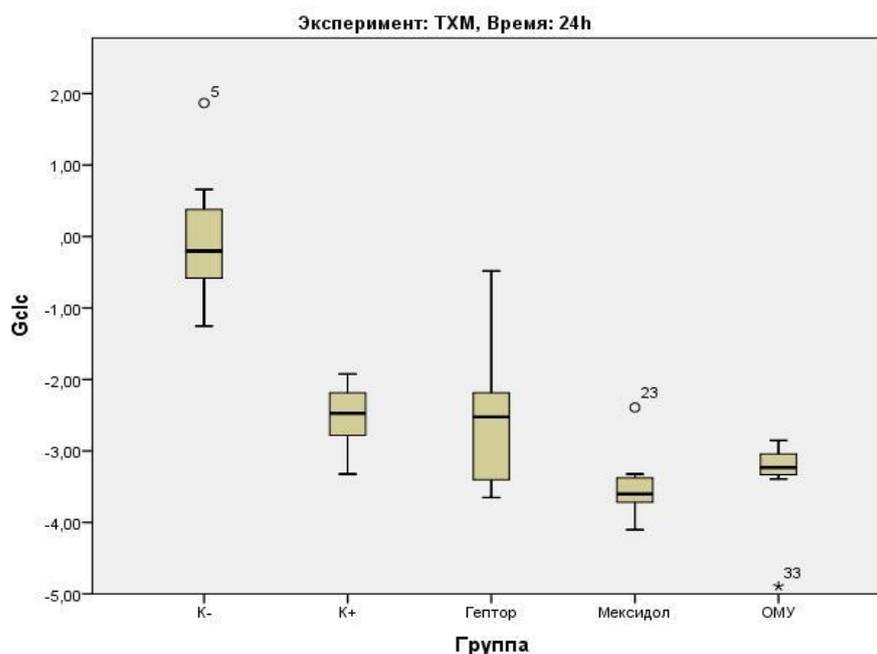


Рис. 1. Уровень экспрессии гена *Gclc* при интоксикации ТХМ на фоне разных видов коррекции спустя 24 часа

Статистически значимые различия между группами были также выявлены при анализе экспрессии гена *Gclc* в ответ на затравку этанолом в 24-часовом эксперименте ($F=4,25$; $p=0,008$) (рис. 2). Сравнение уровня экспрессии гена *Gclc* между отрицательным контролем ($0,00 \pm 0,47$) и остальными группами не показало статистически значимых различий. Введение этанола без сопутствующего лечения привело к статистически незначимому понижению уровня транскриптов ($-1,19 \pm 0,47$; $p=0,161$). После коррекции препаратами максимальное значение активности транскриптов гена *Gclc* наблюдалось в группе животных, получавших ОМУ ($0,76 \pm 0,25$), что статистически значимо превышало показатели экспрессии гена *Gclc* в группе положительного контроля ($p=0,005$). Минимальное значение экспрессии гена *Gclc* среди групп коррекции было показано в группе, получавшей лечение «Мексидолом» ($-0,72 \pm 0,46$), среднее значение экспрессии гена *Gclc* в группе, получавшей «Гептор», составило $-0,48 \pm 0,10$, но сравнение их между собой и с показателями других групп не выявило статистически значимых различий.

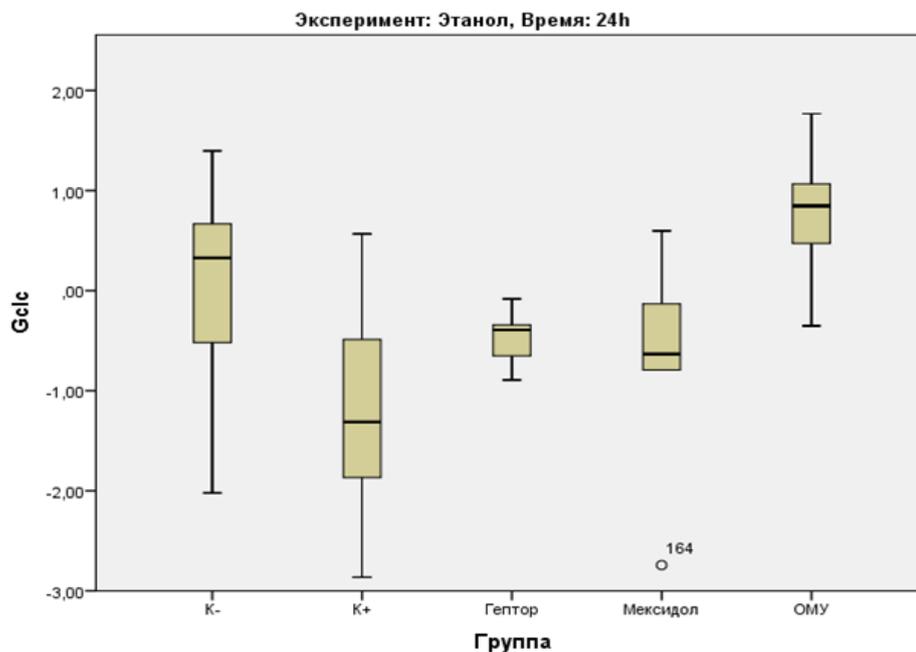


Рис. 2. Уровень экспрессии гена *Gclc* при интоксикации этанолом на фоне разных видов коррекции спустя 24 часа

Обсуждение. Для определения влияния «Гептора», «Мексидола» и ОМУ на окислительный стресс у крыс, вызванный ТХМ и этанолом, мы определяли активность гена антиоксидантной системы *Gclc* в печеночной ткани.

Ранее было проведено множество исследований, подтверждающих наличие взаимосвязи между функционированием фермента GCL и эффектами от воздействия различных факторов. Так, было обнаружено, что GCL играет важную роль в регуляции парацетамол-индуцированного повреждения печени и ферментативной активности печени [9]. Lisa A. McConnachie с соавт. (2007) показали, что трансгенные мыши с повышенной активностью GCL более устойчивы к поражению печени парацетамолом [8]. Также в литературе имеется много данных, свидетельствующих об отрицательном воздействии на работу GCL других гепатотоксикантов. К их числу в первую очередь относятся ТХМ и этанол. Было показано, что данные вещества снижают уровень транскрипции гена *Gclc* и активность антиоксидантных ферментов в тканях печени [10, 11, 12, 13].

Как правило, ТХМ трансформируется в токсичный трихлорметильный радикал с помощью фермента, экспрессируемого в перивенулярных

гепатоцитах. Этот радикал может связываться с различными клеточными молекулами, нарушая важнейшие процессы клетки, такие как метаболизм липидов, что в последующем может привести к формированию стеатоза. Считается, что образование аддукта в результате реакции трехметильного радикала с ДНК является инициатором развития рака печени. При взаимодействии с кислородом этот радикал превращается в высокореактивный трихлорметилпероксидный радикал, который запускает цепную реакцию перекисного окисления липидов и повреждает полиненасыщенные жирные кислоты, в частности те, что связаны с фосфолипидами [5]. Эти эффекты могут приводить к изменению проницаемости клеточных мембран, митохондрий и эндоплазматического ретикулула, вызывая сбой в нормальном функционировании клеток. Таким образом, свободные радикалы, включая активные формы кислорода (АФК), связанные с окислительным стрессом, могут играть ключевую роль в повреждении печени, вызванном ТХМ. ТХМ-индуцированный окислительный стресс считается одним из основных механизмов, посредством которых происходит повреждение гепатоцеллюлярной системы [14,15].

При анализе экспрессии гена *Gclc* в ответ на введение ТХМ мы наблюдали, что спустя 24 часа с момента начала эксперимента при всех видах коррекции уровень транскриптов гена *Gclc* был понижен и не превышал значений положительного контроля. Стоит отметить, что влияние препаратов коррекции оказалось статистически незначимым, в связи с чем нельзя утверждать, что лечение данными препаратами усугубляет патологию печени, вызванную однократным введением ТХМ.

Алкоголь является широко используемым гепатотоксином при экспериментальной гепатопатии. Патогенез алкоголь-индуцированного заболевания печени достаточно хорошо изучен, и одним из важных механизмов повреждения клеточных структур при данной патологии считается усиление продукции свободных радикалов [16, 17, 18].

Клеточные нарушения, возникающие в результате чрезмерного потребления алкоголя, приводят к повышенному образованию биомаркеров окислительного стресса, таких как малоновый диальдегид (МДА), увеличивают экспрессию CD95 (трансмембранный белок лимфоидной системы, опосредующий апоптоз), способствуют снижению уровня восстановленного глутатиона (GSH) и активности антиоксидантных ферментов [19, 20].

Несмотря на то что введение животным этанола в нашем эксперименте статистически незначимо снижало экспрессию гена *Gclc* ($p=0,161$), сопутствующая коррекция ОМУ показала отчетливый положительный эффект в отношении изучаемого показателя ($p=0,005$), что может свидетельствовать о защитном действии, а также потенциале применения при остром токсическом повреждении печени этанолом.

Заключение. Таким образом, данные, полученные на основе изучения активности гена *Gclc* у крыс, позволяют предположить, что введение ОМУ в условиях острого токсического гепатита, индуцированного этанолом, может иметь существенный гепатопротекторный эффект. Однако исследования в этом направлении требуют продолжения для анализа эффективности изученных препаратов при длительном применении и для определения наиболее оптимальных доз.

Список литературы:

1. Огурцов Ю.А., Назарова Л.Е. Влияние новых производных коричной кислоты на антитоксическую и экскреторную функцию печени с экспериментальным токсическим гепатитом. Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. 2006; 23: 76-77.
2. McGill MR, Jaeschke H. Metabolism and disposition of acetaminophen: recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis. *Pharm Res.* 2013; 30(9):2174–2187. doi: 10.1007/s11095-013-1007-6.
3. Hadayat Ullah, Ashrafullah Khan, Muhammad Waleed Baig, Naseem Ullah, Naveed Ahmed, Muhammad Khalid Tipu et al. Poncirin attenuates CCL4-induced liver injury through inhibition of oxidative stress and inflammatory cytokines in mice. *BMC Complement Med Ther.* 2020; 20: 115. doi: 10.1186/s12906-020-02906-7.
4. Starkel P., Leclercq I.A. Animal models for the study of hepatic fibrosis. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2011; 25:319–333.
5. Veronika Sarnatskaya, Victor Mikhailenko, Igor Prokopenko, Bogdan I. Gerashchenko, Oksana Shevchuk, Larysa Yushko et al. The effect of two formulations of carbon enterosorbents on oxidative stress indexes and molecular conformation of serum albumin in experimental animals exposed to CCl₄. *Heliyon.* 2020; 6(1): e03126. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e03126/.

6. Natalia A. Osna, Terrence M. Donohue and Kusum K. Kharbanda. Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and Current Management. *Alcohol Res.* 2017; 38(2): 147-161.
7. Yang Y, Dieter MZ, Chen Y, Shertzer HG, Nebert DW, Dalton TP / Initial characterization of the glutamate-cysteine ligase modifier subunit Gclm(-/-) knockout mouse. Novel model system for a severely compromised oxidative stress response // *J Biol Chem.* 2002;277(51):49446-52. DOI: 10.1074/jbc.M209372200.
8. Lisa A. McConnachie, Isaac Mohar, Francesca N. Hudson, Carol B. Ware, Warren C. Ladiges, Carolina Fernandez et al. Glutamate Cysteine Ligase Modifier Subunit Deficiency and Gender as Determinants of Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Mice. *Toxicological Sciences.* 2007;99:628-636. doi.org/10.1093/toxsci/kfm165.
9. Sheng Y, Liang Q, Deng Z, Ji L, Wang Z. Drug. Acetaminophen induced gender-dependent liver injury and the involvement of GCL and GPx. *Discov Ther.* 2013; 7(2):78-83.
10. Ji LL, Sheng YC, Zheng ZY, Shi L, Wang ZT. The involvement of p62-Keap1-Nrf2 antioxidative signaling pathway and JNK in the protection of natural flavonoid quercetin against hepatotoxicity. *Free Radic Biol Med.* 2015; 85:12-23. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.03.035.
11. Chen HW, Huang CS, Li CC, Lin AH, Huang YJ, Wang TS et al. Bioavailability of andrographolide and protection against carbon tetrachloride-induced oxidative damage in rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2014; 280(1):1-9. doi: 10.1016/j.taap.2014.07.024.
12. Seo Yeon Lee and Kwang Suk Ko. Effects of S-Adenosylmethionine and Its Combinations With Taurine and/or Betaine on Glutathione Homeostasis in Ethanol-induced Acute Hepatotoxicity. *J Cancer Prev.* 2016; 21(3): 164–172. doi: 10.15430/JCP.2016.21.3.164.
13. Dianne Botta et al. Modulating GSH synthesis using glutamate cysteine ligase transgenic and gene-targeted mice. *Drug Metab Rev.* 2008;40(3):465-77. doi: 10.1080/03602530802186587.
14. Zi-Wei Zhao, Jen-Chih Chang, Li-Wei Lin, Fan-Hsuan Tsai, Hung-Chi Chang and Chi-Rei Wu. Comparison of the Hepatoprotective Effects of Four Endemic Cirsium Species Extracts from Taiwan on CCl₄-Induced Acute Liver Damage in C57BL/6 Mice. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(5): 1329. doi: 10.3390/ijms19051329/.

15. Jie Fan, Qingshan Chen, Liwen Wei, Xiaoming Zhou, Rong Wang, and Hai Zhang. Asiatic acid ameliorates CCl₄-induced liver fibrosis in rats: involvement of Nrf2/ARE, NF- κ B/I κ B α , and JAK1/STAT3 signaling pathways. *Drug Des Devel Ther.* 2018; 12: 3595–3605. doi: 10.2147/DDDT.S179876.
16. Seo Yeon Lee and Kwang Suk Ko. Effects of S-Adenosylmethionine and Its Combinations with Taurine and/or Betaine on Glutathione Homeostasis in Ethanol-induced Acute Hepatotoxicity. *J Cancer Prev.* 2016; 21(3): 164–172. doi: 10.15430/JCP.2016.21.3.164.
17. Aleksandra Kołota, Dominika Głąbska, Michał Oczkowski, and Joanna Gromadzka-Ostrowska. Influence of Alcohol Consumption on Body Mass Gain and Liver Antioxidant Defense in Adolescent Growing Male Rats. *Int J Environ Res Public Health.* 2019; 16(13): 2320. doi: 10.3390/ijerph16132320.
18. Ambade A, Mandrekar P. Oxidative stress and inflammation: Essential partners in alcoholic liver disease. *International Journal of Hepatology.* 2012;2012:85317
19. Omolola R. Oyenihi, Blessing A. Afolabi, Ayodeji B. Oyenihi, Olusegun J. Ogunmokun and Oluwafemi O. Oguntibejuc. Hepato- and neuro-protective effects of watermelon juice on acute ethanol-induced oxidative stress in rats. *Toxicol Rep.* 2016; 3: 288–294. doi: 10.1016/j.toxrep.2016.01.003.
20. Shaogui Wang, Hong-Min Ni, Kenneth Dorko, Sean C. Kumer, Timothy M. Schmitt, Atta Nawabi et al. Increased hepatic receptor interacting protein kinase 3 expression due to impaired proteasomal functions contributes to alcohol-induced

References:

1. Ogurtsov Yu.A., Nazarova L.E. The effect of new derivatives of cinnamic acid on the antitoxic and excretory function of the liver with experimental toxic hepatitis. *Proceedings of higher educational institutions. North Caucasian region. Series: Natural Sciences.* 2006;23: 76-77.
2. McGill MR, Jaeschke H. Metabolism and disposition of acetaminophen: recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis. *Pharm Res.* 2013; 30(9):2174–2187. doi: 10.1007/s11095-013-1007-6.
3. Hadayat Ullah, Ashrafullah Khan, Muhammad Waleed Baig, Naseem Ullah, Naveed Ahmed, Muhammad Khalid Tipu et al. Poncirin attenuates CCL₄-induced liver injury through inhibition of oxidative stress and inflammatory

- cytokines in mice. *BMC Complement Med Ther.* 2020; 20: 115. doi: 10.1186/s12906-020-02906-7.
4. Starkel P., Leclercq I.A. Animal models for the study of hepatic fibrosis. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2011; 25:319–333.
 5. Veronika Sarnatskaya, Victor Mikhailenko, Igor Prokopenko, Bogdan I. Gerashchenko, Oksana Shevchuk, Larysa Yushko et al. The effect of two formulations of carbon enterosorbents on oxidative stress indexes and molecular conformation of serum albumin in experimental animals exposed to CCl₄. *Heliyon.* 2020; 6(1): e03126. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e03126/.
 6. Natalia A. Osna, Terrence M. Donohue and Kusum K. Kharbanda. Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and Current Management. *Alcohol Res.* 2017; 38(2): 147-161.
 7. Yang Y, Dieter MZ, Chen Y, Shertzer HG, Nebert DW, Dalton TP / Initial characterization of the glutamate-cysteine ligase modifier subunit Gclm(-/-) knockout mouse. Novel model system for a severely compromised oxidative stress response. *J Biol Chem.* 2002; 277(51):49446-52. DOI: 10.1074/jbc.M209372200.
 8. Lisa A. McConnachie, Isaac Mohar, Francesca N. Hudson, Carol B. Ware, Warren C. Ladiges, Carolina Fernandez et al. Glutamate Cysteine Ligase Modifier Subunit Deficiency and Gender as Determinants of Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Mice. *Toxicological Sciences.* 2007; 99:628-636. doi.org/10.1093/toxsci/kfm165.
 9. Sheng Y, Liang Q, Deng Z, Ji L, Wang Z. Drug. Acetaminophen induced gender-dependent liver injury and the involvement of GCL and GPx. *Discov Ther.* 2013; 7(2):78-83.
 10. Ji LL, Sheng YC, Zheng ZY, Shi L, Wang ZT. The involvement of p62-Keap1-Nrf2 antioxidative signaling pathway and JNK in the protection of natural flavonoid quercetin against hepatotoxicity. *Free Radic Biol Med.* 2015; 85:12-23. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.03.035.
 11. Chen HW, Huang CS, Li CC, Lin AH, Huang YJ, Wang TS et al. Bioavailability of andrographolide and protection against carbon tetrachloride-induced oxidative damage in rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2014; 280(1):1-9. doi: 10.1016/j.taap.2014.07.024.
 12. Seo Yeon Lee and Kwang Suk Ko. Effects of S-Adenosylmethionine and Its Combinations With Taurine and/or Betaine on Glutathione Homeostasis in

- Ethanol-induced Acute Hepatotoxicity. *J Cancer Prev.* 2016; 21(3): 164–172. doi: 10.15430/JCP.2016.21.3.164.
13. Dianne Botta et al. Modulating GSH synthesis using glutamate cysteine ligase transgenic and gene-targeted mice. *Drug Metab Rev.* 2008;40(3):465-77. doi: 10.1080/03602530802186587.
 14. Zi-Wei Zhao, Jen-Chih Chang, Li-Wei Lin, Fan-Hsuan Tsai, Hung-Chi Chang and Chi-Rei Wu. Comparison of the Hepatoprotective Effects of Four Endemic Cirsium Species Extracts from Taiwan on CCl₄-Induced Acute Liver Damage in C57BL/6 Mice. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(5): 1329. doi: 10.3390/ijms19051329/.
 15. Jie Fan, Qingshan Chen, Liwen Wei, Xiaoming Zhou, Rong Wang, and Hai Zhang. Asiatic acid ameliorates CCl₄-induced liver fibrosis in rats: involvement of Nrf2/ARE, NF- κ B/I κ B α , and JAK1/STAT3 signaling pathways. *Drug Des Devel Ther.* 2018; 12: 3595–3605. doi: 10.2147/DDDT.S179876.
 16. Seo Yeon Lee and Kwang Suk Ko. Effects of S-Adenosylmethionine and Its Combinations with Taurine and/or Betaine on Glutathione Homeostasis in Ethanol-induced Acute Hepatotoxicity. *J Cancer Prev.* 2016; 21(3): 164–172. doi: 10.15430/JCP.2016.21.3.164.
 17. Aleksandra Kołota, Dominika Głąbska, Michał Oczkowski, and Joanna Gromadzka-Ostrowska. Influence of Alcohol Consumption on Body Mass Gain and Liver Antioxidant Defense in Adolescent Growing Male Rats. *Int J Environ Res Public Health.* 2019; 16(13): 2320. doi: 10.3390/ijerph16132320.
 18. Ambade A, Mandrekar P. Oxidative stress and inflammation: Essential partners in alcoholic liver disease. *International Journal of Hepatology.* 2012;2012:85317
 19. Omolola R. Oyenihi, Blessing A. Afolabi, Ayodeji B. Oyenihi, Olusegun J. Ogunmokun and Oluwafemi O. Oguntibejuc. Hepato- and neuro-protective effects of watermelon juice on acute ethanol-induced oxidative stress in rats. *Toxicol Rep.* 2016; 3: 288–294. doi: 10.1016/j.toxrep.2016.01.003.
 20. Shaogui Wang, Hong-Min Ni, Kenneth Dorko, Sean C. Kumer, Timothy M. Schmitt, Atta Nawabi et al. Increased hepatic receptor interacting protein kinase 3 expression due to impaired proteasomal functions contributes to alcohol-induced.

Поступила/Received: 03.09.2021

Принята в печать/Accepted: 01.12.2021