



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 577.151.6:616.4

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12240

Активность глутатионредуктазы при нарушении функции печени и регуляция интермедиатами цикла Кребса каталитического действия фермента, выделенного с помощью хроматографических методов

**Александр Алексеевич Агарков¹✉, Сергей Сергеевич Попов²,
Татьяна Николаевна Попова¹**

¹Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, agalalek@mail.ru✉

²Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

Аннотация. Целью настоящей работы явилось определение активности глутатионредуктазы (ГР, КФ 1.6.4.2) в сыворотке крови больных с алкогольным гепатитом (АГ) и в сыворотке крови и печени крыс с экспериментальным токсическим гепатитом (ЭТГ), а также разработка схемы очистки фермента из печени экспериментальных животных с применением хроматографических методов. В эксперименте использовали сыворотку крови практически здоровых лиц с нормальными показателями общего и биохимического анализов крови (контрольная группа пациентов), людей, которым был поставлен диагноз алкогольный гепатит (АГ), а также сыворотку и печень крыс контрольной группы и животных с ЭТГ. Патологическое состояние у экспериментальных животных моделировали путем перорального введения четыреххлористого углерода – органоспецифического токсина, обладающего гепатотропным эффектом, в виде 33% раствора в вазелиновом масле из расчета 64 мкл токсина на 100 г веса животного. Забой животных производили на 4 сутки после введения токсического агента. Контрольным животным вводили соответствующую аликвоту вазелинового масла. Активность ГР определяли спектрофотометрически на СФ-56 при 340 нм. Общее количество белка определяли по методу Лоури. Для исследования регуляторных свойств фермента была проведена его очистка из печени крыс контрольной группы и животных с индуцированным токсическим гепатитом с помощью методов разделения белков сульфатом аммония, а также гель-фильтрации через сефадекс G-25 и ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе. В результате были получены ферментные препараты ГР, очищенные в 54.5 и 49.1 раза из печени крыс контрольной группы и животных с ЭТГ. Установлено, что в процессе ионообменной хроматографии на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой фермент из печени исследуемых групп животных десорбировался в виде одного пика при концентрации КСl 100 мМ. С использованием полученных ферментных препаратов выявлены различия в регуляции активности ГР под действием интермедиатов цикла Кребса, что, очевидно, связано с конформационными модификациями молекулы фермента в условиях оксидативного стресса, развивающегося при патологии.

Ключевые слова: глутатионредуктаза, токсический гепатит, алкогольный гепатит, окислительный стресс, изоцитрат, малат, 2-оксоглутарат.

Для цитирования: Агарков А.А., Попов С.С., Попова Т.Н. Активность глутатионредуктазы при нарушении функции печени и регуляция интермедиатами цикла Кребса каталитического действия фермента, выделенного с помощью хроматографических методов // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2024. Т. 24, № 3. С. 386-394. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12240>

Original article

The activity of glutathione reductase under impaired liver function and regulation by the Krebs cycle intermediates of the catalytic action of the enzyme isolated by chromatographic methods

Alexander A. Agarkov¹✉, Sergey S. Popov², Tatyana N. Popova¹

¹Voronezh State University, Voronezh, Russia, agalalek@mail.ru✉

²Voronezh State Medical University named after N. N. Burdenko, Voronezh, Russia

© Агарков А. А., Попов С. С., Попова Т. Н., 2024



Abstract. The aim of the study was to determine the activity of glutathione reductase (GR, EC 1.6.4.2) in the blood serum of patients with alcoholic hepatitis (AH) and in the blood serum and livers of rats with experimental toxic hepatitis (ETH), as well as to develop a scheme for the purification of the enzyme from the liver of experimental animals using chromatographic methods. In the experiment, we used the blood serum of apparently healthy individuals with normal indices of general and biochemical blood tests (control group of patients), people diagnosed with alcoholic hepatitis (AH), as well as the serum and livers of rats in the control group and rats with ETG. The pathological state in experimental animals was modelled by oral administration of carbon tetrachloride, an organ-specific toxin with hepatotropic effect, as a 33% solution in paraffin oil at the rate of 64 μ l of toxin per 100 g of animal weight. The animals were slaughtered on the 4th day after administration of the toxic agent. The control animals were injected with the corresponding aliquot of paraffin oil. The activity of GR was determined spectrophotometrically using a spectrophotometer SF-46 at a wavelength of 340 nm. The total amount of protein was determined by the Lowry method. To study the regulatory properties of the enzyme, it was purified from the livers of the control rats and those with induced toxic hepatitis using the protein separation by ammonium sulphate, as well as gel filtration through Sephadex G-25 and ion-exchange chromatography on DEAE-cellulose. As a result, we obtained 54.5 and 49.1 times purified GR enzyme preparations from the livers of the control rats and animals with ETG. We determined that in the process of ion-exchange chromatography using a column with DEAE-cellulose, the enzyme from the livers of the studied groups of animals was desorbed as a single peak at a KCl concentration of 100 mM. Using the obtained enzyme preparations, we detected differences in the regulation of GR activity under the action of Krebs cycle intermediates. They are obviously associated with conformational modifications of the enzyme molecules under oxidative stress developing during pathology.

Keywords: glutathione reductase, toxic hepatitis, alcoholic hepatitis, oxidative stress, isocitrate, malate, 2-oxoglutarate

For citation: Agarkov A.A., Popov S.S., Popova T.N. The activity of glutathione reductase under impaired liver function and regulation by the Krebs cycle intermediates of the catalytic action of the enzyme isolated by chromatographic methods. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(3): 386-394. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12240>

Введение

Известно, что основным органом, участвующим в биотрансформации различных ксенобиотиков является печень [1, 2]. Воздействие на организм токсинов, особенно в высоких концентрациях, может привести к ее метаболической дисфункции, как острого, так и хронического характера [3]. Так, установлено, что часто используемый промышленный растворитель CCl_4 может приводить к повреждению печени и, в этой связи, широко применяется для создания экспериментального токсического поражения данного органа [4, 5]. Токсическое действие этанола на гепатоциты и, как следствие, поражение их продуктами его метаболизма лежит в основе алкогольного гепатита (АГ) [6].

Известно, что важным звеном в механизме развития заболеваний печени различной этиологии является оксидативный стресс [7], а его признаки объективно отражают тяжесть поражения тканей и состояние защитных систем организма [8]. Вызванные окислительным стрессом

нарушения в гепатоцитах происходят под действием активных форм кислорода (АФК), генерируемых в реакциях митохондриального и микросомального окисления, а также в реакциях окисления токсических веществ [9, 10].

Глутатион является основным внутриклеточным антиоксидантом. В неблагоприятных условиях система глутатиона направлена на сохранение гомеостаза организма путем работы его ферментных систем, ориентированных на сохранение сбалансированного взаимоотношения между его отдельными фракциями – окисленная форма глутатиона (GSSG) быстро переходит в восстановленную (GSH) и осуществляет свою антиоксидантную функцию. Реакцию восстановления GSSG катализирует глутатионредуктаза (ГР) [11, 12].

Целью настоящей работы явилось определение активности ГР из печени и сыворотки крови крыс с экспериментальным токсическим гепатитом и в сыворотке крови людей с алкогольным гепатитом, а также исследование некоторых

регуляторных свойств фермента, выделенного из гепатоцитов крыс с патологией с применением хроматографических методов.

Экспериментальная часть

В исследование было включено 139 человек. Из них 65 практически здоровых лиц с нормальными показателями общего и биохимического анализов крови составили контрольную группу, 74 пациентам был поставлен диагноз алкогольный гепатит (АГ) минимальной и умеренной степени активности, развивающийся вследствие хронического употребления алкоголя. Диагноз у пациентов был поставлен на основании клинических признаков заболевания, биохимического исследования крови, данных ультразвукового исследования печени. Средняя продолжительность заболевания составляла 6.2 ± 0.4 месяца. В ходе клинического исследования использовали сыворотку крови больных, находящихся на лечении в стационаре. Кровь для исследования забиралась в пробирки типа «вакутейнер» в утреннее время, натощак, из локтевой вены. Исследования проводились в соответствии с требованиями биомедицинской этики согласно Женевской конвенции о правах человека (1997 г.) и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000 г.) на основании разрешения локального этического комитета, в связи с чем, у всех пациентов было получено письменное добровольное информированное согласие на участие в клиническом исследовании.

Также, в качестве объекта исследования использовались белые лабораторные крысы-самцы массой 150-200 г. Животные содержались на стандартном режиме вивария. Все манипуляции, проводимые во время эксперимента, соответствовали требованиям международных правил гуманного отношения к животным, отраженных в санитарных правилах по от-

бору и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) (УК РФ ст. 245).

Эксперимент был проведен на животных, разделенных на две группы: 1-я группа – крысы, содержащиеся на стандартном режиме вивария; 2-я группа – крысы с экспериментальным токсическим гепатитом (ЭТГ).

Экспериментальный токсический гепатит у крыс моделировали путем перорального введения четыреххлористого углерода – органоспецифического токсина, обладающего гепатотропным эффектом, в виде 33% раствора в вазелиновом масле из расчета 64 мкл токсина на 100 г веса животного [13, 14]. Забой животных производили на 4 сутки после введения токсического агента. Контрольным животным вводили соответствующую аликвоту вазелинового масла.

Печень крысы извлекали под наркозом после многократного перфузирования ледяным физиологическим раствором и использовали для дальнейших исследований.

Активность фермента определяли спектрофотометрически на СФ-56 при 340 нм. О скорости реакции судили по падению оптической плотности в результате окисления НАДФН. Измерение активности проводили в 50 мМ калий-фосфатном буфере (pH=7.4), содержащем 1 мМ ЭДТА, 0.80 мМ глутатион окисленный, 0.16 мМ НАДФН. За единицу активности (Е) принимали количество фермента, катализирующее образование 1 мкмоль продукта реакции за 1 мин при 25°C. Реакцию начинали внесением ферментного препарата. Содержание белка определяли по методу Лоури и соавт.

Очистка ГР из печени животных исследуемых групп включала несколько стадий:

1. Гомогенат печени получали с помощью растирания ткани в фарфоровой ступке в 4-х кратном объеме охлажденной среды выделения, приготовленной на основе 0.1 мМ трис-НСI-буфера (pH=7.6),



содержащего 1 мМ ЭДТА, 1% β-меркаптоэтанол. Затем гомогенат фильтровали и центрифугировали при 7000 g в течение 12 мин. Полученную белковую субстанцию использовали для фракционирования белков сульфатом аммония.

Определение границ высаливания ГР из белкового раствора проводили путём ступенчатого повышения градиента концентрации $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в гомогенате печени. Для этого кристаллический сульфат аммония добавляли к гомогенату в количестве, соответствующем нижней границе насыщения (40%). Смесь центрифугировали при 13000 g в течение 10 мин. Осадок отбрасывали, а к надосадочной жидкости добавляли $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в количестве, соответствующем верхнему пределу насыщения (70%). После центрифугирования при 15000 g в течение 15 мин получали осадок, содержащий ГР. Полученный осадок ресуспендировали в 4 см³ среды выделения.

2. Обессоливание на сефадексе G-25. Освобождение белковой смеси от низкомолекулярных примесей осуществляли с помощью гель-фильтрации через колонку с сефадексом G-25 (1.5×20 см) [15]. В качестве элюирующей среды использовали 0.01 М трис-НСI-буфер (рН=7.6), содержащий 0.1 ммоль/дм³ ЭДТА, 1%β-меркаптоэтанол. Скорость элюции составляла 20-25 см³/час, её регулирование осуществлялось путем изменения гидростатического давления. Каждую фракцию объемом 2-3 см³ анализировали на присутствие ферментативной активности. Эффективность обессоливания раствора фермента проверяли качественной реакцией с реактивом Несслера, образующим с ионами аммония характерный красно-бурый осадок [16]. Обессоленные фракции, обладающие максимальной ферментативной активностью, объединяли и использовали для дальнейшей очистки.

3. Ионообменная хроматография на ДЭАЭ-целлюлозе. Обессоленный раствор фермента наносили на колонку с

ДЭАЭ-целлюлозой (1.2×13 см), уравновешенную элюирующей средой, применяемой в ходе очистки на предыдущей стадии. Для очистки ГР использовали ступенчатый градиент концентраций КСI в элюирующем буфере. Элюирующая среда содержала вышеназванные ингредиенты. В ходе ионообменной хроматографии фермент десорбировался с колонки в ступенчатом градиенте КСI 50-100 ммоль/дм³. Скорость элюции – 30-40 см³/ч. Каждую фракцию объемом 1.5-2.0 см³ анализировали на присутствие ферментативной активности ГР. Все этапы выделения и очистки фермента осуществляли при температуре 0-4°C.

Опыты проводили в 3-4 кратной биологической повторности, аналитические определения для каждой пробы – в двух повторностях. Данные обрабатывали с использованием стандартных статистических методов [17].

Обсуждение результатов

В ходе проведенных исследований установлено, что у пациентов с АГ происходило снижение активности ГР, выраженной в Е/см³ сыворотки крови в Е/мг белка в 1.2 и 1.4 раза относительно контрольной группы (рис. 1). Известно, что ацетальдегид, в условиях хронической алкогольной интоксикации, накапливаясь внутри клеток печени, приводит к усилению пероксидного окисления липидов, продукты которого вызывают нарушение образования НАДФН [18]. Вероятно, в условиях сниженного содержания указанного восстановительного компонента, необходимого для оптимального протекания ГР-реакции, скорость последней снижается.

В ходе работы было установлено, что активность ГР в сыворотке крови крыс с ЭТГ, выраженная в Е/см³, и представленная в Е/мг белка, возрастала в 1.4 и 1.9 раза (рис. 1). Подобная тенденция была характерна и в отношении активности ГР

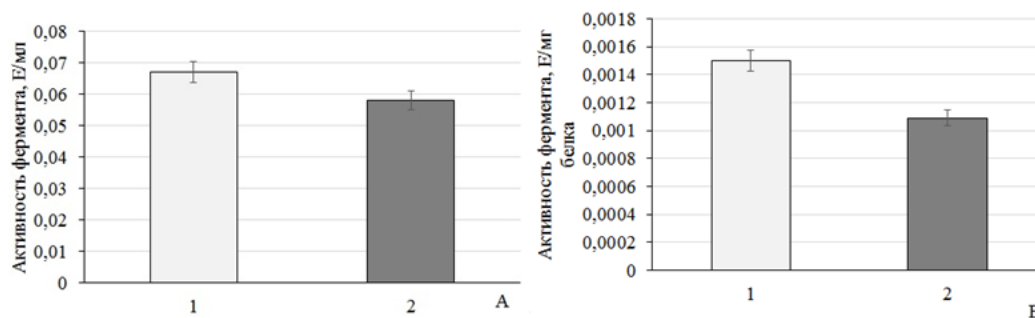


Рис. 1. Активность глутатионредуктазы, выраженная в Е/мл сыворотки крови (А), и представленная в виде Е/мг белка (Б), у людей контрольной группы (1), больных алкогольным гепатитом (2).

Fig. 1. Glutathione reductase activity, expressed in U/ml of serum (A), and presented as U/mg of protein (B), in people in the control group (1), patients with alcoholic hepatitis (2).

в печени лабораторных животных, где активность фермента, выраженная в Е/г сырой массы ткани и Е/мг белка увеличивалась в 1.9 и 1.5 раза относительно контроля (рис. 1). Очевидно, наблюдаемые изменения являлись адаптационной реакцией организма, направленной на восстановление глутатиона, используемого в реакциях детоксикации АФК, чрезмерно генерируемых при патологии.

Как известно, ответ на развитие стрессового воздействия, включая нарушения оксидативного статуса, имеют стадии компенсации и дезадаптации [19]. По всей видимости, на фоне длительно протекающего хронического поражения печени у пациентов с алкогольным гепатитом происходила декомпенсация компонентов антиоксидантной системы, что отражалось в падении активности ГР. Что касается экспериментального моделирования токсического гепатита, то, очевидно, что в течение короткого периода индуцирования патологического состояния имела место компенсаторная ответная реакция, сопровождающаяся усилением синтеза глутатиона в ходе ГР-реакции.

Для исследования регуляторных свойств ГР в норме и при патологии была осуществлена очистка фермента из печени крыс контрольной группы и животных с патологией. С помощью используемых методов очистки, были получены ферментные препараты ГР с удельной ак-

тивностью 0.60 и 1.12 Е/мг белка из печени крыс контрольной группы и животных с ЭТГ соответственно (табл. 1).

В ходе работы было установлено, что в процессе ионообменной хроматографии на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой фермент из печени исследуемых групп животных десорбировался в виде одного пика при концентрации КСl 100 мМ (рис. 2). После нанесения ферментного препарата на колонку наслаивали 20 мл среды элюции (0.1 мМ трис-НСl-буфер (рН 7.6), содержащий 1 мМ ЭДТА, 1% β-меркаптоэтанол), а затем 20 см³ 50 мМ раствора КСl для десорбции сопутствующих белков. Таким способом удалось повысить степень очистки ГР из печени крыс контрольной группы в 30.1 раза и животных с ЭТГ – 22.3 раза.

Считается, что образование восстановительных эквивалентов для функционирования глутатионовой антиоксидантной системы в условиях интенсификации СО наряду с ферментами пентозофосфатного пути могут осуществлять НАДФ-зависимые изоцитратдегидрогеназа и малатдегидрогеназа [20]. В этой связи с целью выявления возможных путей координации функционирования ГР и НАДФН-генерирующих ферментов было проведено исследование влияния субстратов и продуктов данных реакций на активность ГР в норме и в условиях патологии.

Таблица 1. Очистка глутатионредуктазы из печени крыс контрольной группы и животных с экспериментальным токсическим гепатитом

Table 1. Purification of glutathione reductase from the livers of the control rats and animals with experimental toxic hepatitis

Стадия очистки	Условия эксперимента	Количество белка, мг	Общая активность, Е/г сырой массы	Удельная активность, Е/мг белка	Выход, %	Степень очистки
Гомогенат	норма	2.67±0.11	243.00±9.66	0.011±0.0004	100	1
	ЭТГ	6.40±0.29	276.00±11.98	0.023±0.0084	100	1
Фракционирование сульфатом аммония	норма	2.44±0.09	198.00±9.85	0.13±0.0006	91	1.2
	ЭТГ	6.10±0.27	203.00±10.18	0.037±0.0018	95	1.6
Обессоливание на сефадексе G-25	норма	2.29±0.08	115.00±5.77	0.020±0.0006	86	1.8
	ЭТГ	5.44±0.28	109.00±5.48	0.050±0.0028	85	2.2
Хроматография на ДЭАЭ-целлюлозе	норма	1.21±0.04	1.98±0.08	0.600±0.0271	45	54.5
	ЭТГ	1.85±0.11	1.65±0.06	1.120±0.0514	29	49.1

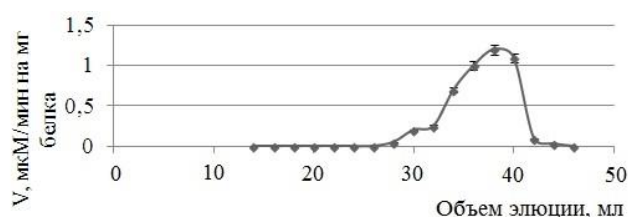


Рис. 2. Элюция глутатионредуктазы из печени крыс исследуемых групп животных в ходе хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе

Fig. 2. Elution of glutathione reductase from the livers of the studied groups of rats during the chromatography using DEAE-cellulose

Исследование влияния изоцитрата на активность ГР показало, что максимальный активирующий эффект имеет место при 0.30 мМ концентрации данного метаболита как для фермента из печени крыс контрольной группы, так и животных, подвергнутых токсическому гепатиту (рис. 3А). При дальнейшем повышении концентрации изоцитрата имеет место снижение активирующего эффекта для ГР из печени обеих групп животных. Ингибирование фермента наблюдается при концентрации изоцитрата свыше 0.80 и 0.55 мМ в условиях нормы и при патологии соответственно. Степень ингибирования выше для фермента из печени крыс контрольной группы.

По-видимому, стимуляция активности ГР субстратом ИДГ-реакции могла бы способствовать повышению активности фермента в патологическом состоянии. В этой связи интересно отметить, что удельная активность НАДФ-ИДГ возрастает при токсическом гепатите в 1.4 раза [21].

При исследовании влияния малата (рис. 3Б) и 2-оксоглутарата (рис. 3В) на активность ГР из печени крыс в норме и при токсическом гепатите было установлено, что при концентрации интермедиа-тов до 0.1 мМ происходит снижение ГР-активности. Но при дальнейшем повышении концентрации метаболитов скорость протекания ферментативной реакции возрастает, и при 0.3 мМ концентрации

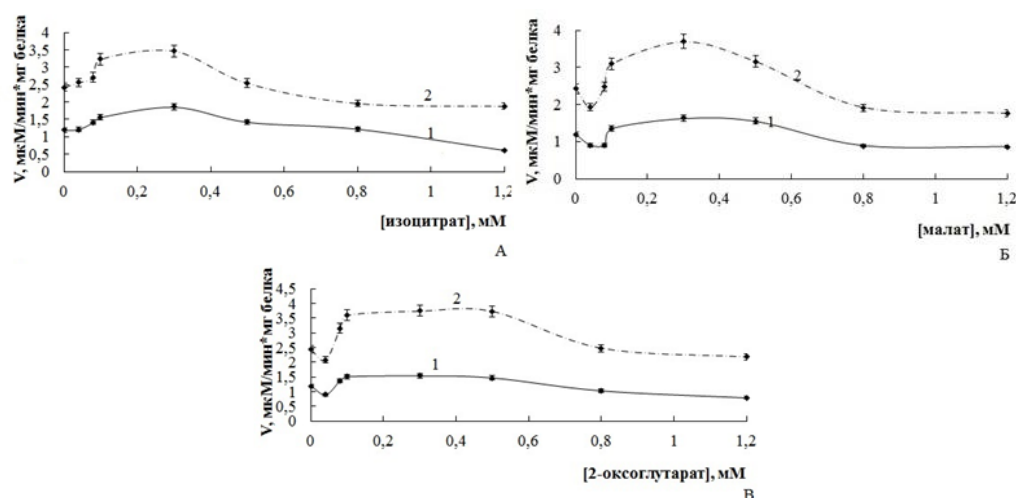


Рис. 3 Влияние изоцитрата (А), малата (Б) и 2-оксоглутарата (В) на активность глутатионредуктазы в норме (1) и при экспериментальном токсическом гепатите (2)

Fig. 3 Effect of isocitrate (A), malate (B), and 2-oxoglutarate (C) on the activity of glutathione reductase in the control group (1) and in experimental toxic hepatitis (2)

наблюдается максимальный активирующий эффект. При концентрации метаболитов свыше 0.5 мМ активность фермента вновь снижается.

Известно, что ответ на разные стимулы может развиваться как на уровне целого организма, так и в различных его системах. Молекулярные механизмы на клеточном уровне могут затрагивать формирование адаптивного ответа в том числе и через модификацию белков и их функций [22].

Характер клеточного ответа при этом будет зависеть от продолжительности и интенсивности воздействия неблагоприятных факторов. При умеренном воздействии формируется неспецифический ответ, повышающий адаптацию организма к новым условиям. При воздействии высокой интенсивности, например, при глубокой гипоксии наступает состояние дезадаптации, в том числе и за счет прямого повреждающего действия АФК на белковые молекулы [23].

Известно, что одним из важнейших следствий инициации редокс-сигналикации и АФК-опосредованной передачи сигнала является активация ядерных транскрипционных факторов, активируе-

мых реактивными молекулами кислорода. Среди известных к настоящему времени белков, которые синтезируются в ответ на редоксигнал от адаптирующего фактора, наибольшее значение имеет, прежде всего, ряд неспецифических молекул, в том числе ферменты антиоксидантной защиты [24]. В этой связи не исключена возможность изменения активности исследуемого фермента вследствие ускорения скорости синтеза фермента *de novo* при развитии патологического состояния печени у крыс, которое сопряжено с развитием оксидативного стресса.

Также существуют данные об участии АФК в регуляции редокс-статуса клетки и окислительных модификаций белков. Регуляция редокс-сигналикации может осуществляться как через общий уровень глутатиона (GSH) в клетке, так и через соотношение GSH/GSSG [25]. Вероятно, взаимодействие реактивных метаболитов кислорода с молекулой ГР могло приводить к конформационным перестройкам последней, имеющим значение для функционирования глутатионовой системы в условиях оксидативного стресса.

Заключение

Таким образом, обнаружены изменения активности ГР в сыворотке крови



больных с АГ, а также в печени и сыворотке крови крыс с ЭТГ по сравнению с нормой. С использованием ионообменной хроматографии, были получены препараты ГР из печени контрольных крыс и животных с патологией. со степенью очистки 54.5 и 49.1 соответственно. С использованием полученных препаратов исследуемого фермента, были обнаружены особенности в регуляции активности ГР под действием интермедиатов цикла Кребса в норме и в условиях окислительного стресса, возникающего на фоне ЭТГ. Вероятно, это могло быть свя-

зано с конформационными модификациями молекулы фермента, что, по-видимому, имеет значение для функционирования глутатионовой системы в условиях окислительного стресса, развивающегося при патологии.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

Список литературы/References

1. Rusyn I., Arzuaga X., Cattley R.C., Corton J.Ch., Ferguson S.S., Godoy P., Guyton K.Z., Kaplowitz N., Khetani S.R., Roberts R., Roth R.A., Smith M.T., Key Characteristics of Human Hepatotoxicants as a Basis for Identification and Characterization of the Causes of Liver Toxicity, *Hepatology*, 2021; 74(6): 3486-3496. <https://doi.org/10.1002/hep.31999>
2. You M., Arteel G. E., Effect of ethanol on lipid metabolism, *Hepatology*, 2019; 70: 237-248. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.10.037>
3. Sun H., Chen L., Zhou W., Hu L. Liang Li 1, Tu Q., Chang Y., Liu Q., Sun X., Wu M., Wang H., The protective role of hydrogen-rich saline in experimental liver injury in mice, *Journal of Hepatology*, 2011; 54 (3): 471-480. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.08.011>.
4. Agarkov A.A. Diss. kand. biol. nauk. Voronezh, 2009, 222 p. (In Russ.)
5. Iskusnykh I.Y., Kryl'skii E.D., Brazhnikova D.A., Popova T.N., Shikhaliev K.S., Shulgin K.K., Matasova L.V., Popov S.S., Zhaglin D.A., Zakharova A.A., Popova N.R., Fattakhov N., Novel Antioxidant, Deethylated Ethoxyquin, Protects against Carbon Tetrachloride Induced Hepatotoxicity in Rats by Inhibiting NLRP3 Inflammasome Activation and Apoptosis, *Antioxidants*, 2021; 10(1): 122. <https://doi.org/10.3390/antiox10010122>
6. Chen M., Zhong W., Xu W., Alcohol and the mechanisms of liver disease, *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2023; 38: 1233-1240. <https://doi.org/10.1111/jgh>
7. Jakupova T.G., Karimov D.O., Bakirov A.B. Izmenenie jekspressii genov oksidativnogo stressa pri toksicheskikh gepatitah raznoj jetiologii i ih korrekciya, *Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija*, 2023; 216(8): 120-126. <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-216-8-120-126> (In Russ.)
8. Babior B.M., Phagocytes and oxidative stress, *Am. J. Med.*, 2000; 109 (1): 33-44.
9. Dudnik L.B., Viksna L.M., Majore A.Ja., Peroksidnoe okislenie lipidov i ego svjaz' s izmeneniem sostava i antiokislitel'nyh svojstv lipidov pri komatogennyh formah ostrogo virusnogo gepatita V, *Voprosy medicinskoj himii*, 2000; 6: 597-609. (In Russ.)
10. Kryl'skii E.D., Sinitsyna D.A., Popova T.N., Shikhaliev K.S., Medvedeva S.M., Matasova L.V., Mittova V.O., The new antioxidant 1-benzoyl-6-hydroxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline has a protective effect against carbon tetrachloride-induced hepatic injury in rats, *The Journal of Biomedical Research*, 2022; 36(6): 423-434. <https://doi.org/10.7555/JBR.36.20220098>
11. Blinova T.V., Strahova L.A., Troshin V.V., Kolesov S.A., Umnjagina I.A., Ivanova Ju.V., Glutation kak prognosticheskij faktor riska narushenija zdorov'ja rabotajushhih lic, *Analiz riska zdorov'ju*, 2023; 2: 140-148. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2023.2.13> (In Russ.)
12. Kryl'skii, E.D.; Kravtsova, S.E.; Popova, T.N.; Matasova, L.V.; Shikhaliev, K.S.; Medvedeva, S.M., 6-Hydroxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline Demonstrates Anti-Inflammatory Properties and Reduces Oxidative Stress in Acetaminophen-Induced Liver Injury in Rats, *Curr. Issues Mol. Biol.*, 2023; 45: 8321-8336. <https://doi.org/10.3390/cimb45100525>



13. Fedorova N.Ju. Avtoref. dis kand. biol. nauk. Voronezh, 1999, 24 p. (In Russ.)
14. Popova T.N., Shul'gin K.K., Shihaliev H.S., Kryl'skij E.D., Matasova L.V., Medvedeva S.M., Popov S.S., Verevkin A.N. Zajavka na patent. № 2017136371. 2019. (In Russ.)
15. Selemenev V.F., Rudakov O.B., Slavinskaja G.V., Drozdova N.V. Pigmenty pishhevyykh proizvodstv (melanoidy). Moskva, DeLi print., 2008, 246 p. (In Russ.)
16. Kramarenko V.F. Toksikologicheskaja himija. Moskva, Kniga po Trebovaniju, 2013, 445 p. (In Russ.)
17. Glants S. Mediko-biologicheskaja statistika. Moskva, Praktika, 1998, 459 p. (In Russ.)
18. Lazebnik L. B., Golovanova E. V., Tarasova L. V., Krivosheev A. B., Sas E. I., Eremina E. Ju., Truhan D. I., Hlynova O. V., Cyganova Ju. V., Alkogol'naja bolezn' pecheni (ABP) u vzroslykh, *Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija*, 2020; 174(2): 4-28. (In Russ.)
19. Voronina T.A., Rol' oksidativnogo stressa i antioksidantov pri dezadaptacii razlichnogo geneza, *Farmacija i farmakologija*, 2015; 3(5): 8-17. <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2015-3-5s> (In Russ.)
20. Agarkov A.A., Popova T.N., Semehina A.V., Kataliticheskie svoystva glutathionreduktazy iz pecheni krysy v norme i pri toksicheskom gepatite, *Biomeditsinskaja himija*, 2009; 55(2): 169-176. (In Russ.)
21. Pashkov A.N., Popov S.S., Semehina A.V., Rahmanova T.I. Sostojanie sistemy glutathiona i aktivnost' nekotorykh NADPH-generirujushchih fermentov v pecheni krysy pri dejstvii melatonina v norme i pri toksicheskom gepatite, *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*, 2005;139(5): 520-524. (In Russ.)
22. Jur'eva Je.A., Novikova N.N., Dlin V.V., Vozdvizhenskaja E.S., Molekuljarnyj stress i hronicheskie narushenija obmena veshhestv, *Rossijskij vestnik perinatologii i pediatrii*, 2020; 65(5): 12-22. (In Russ.)
23. Novikov V.E., Levchenkova O.S., Pozhilova E.V., Rol' aktivnykh form kisloroda v fiziologii i patologii kletki i ih farmakologicheskaja reguljacija, *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoj terapii*, 2014; 12: 13-21. (In Russ.)
24. Luk'janova L.D., Sovremennye problemy adaptacii k gipoksii. Signal'nye mehanizmy i ih rol' v sistemnoj reguljácii, *Pat. fiziol. i jeksperim. Terapija*, 2011; 1: 3-19. (In Russ.)
25. Sazontova T.G., Arhipenko Ju.V., Rol' svobodnoradikal'nykh processov i redoks-signalizacii v adaptacii organizma k izmeneniju urovnja kisloroda, *Ros. fiziol. zhurn. im. I.I. Sechenova*, 2005; 91(6): 636-655. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

А.А. Агарков – доцент кафедры медицинской биохимии, молекулярной и клеточной биологии, к.б.н., Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

С.С. Попов – Заведующий кафедрой организации фармацевтического дела, клинической фармации и фармакогнозии, д.м.н., Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

Т.Н. Попова – декан медико-биологического факультета, д.б.н., Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

A.A. Alexander – docent, department of medical biochemistry, molecular and cell biology, Ph.D (biology), Voronezh State University, Voronezh, Russia, orcid.org/0000-0001-5774-7971, e-mail: agalalek@mail.ru

S.S. Popov – grand Ph.D (medicine, MD), Head of the Department of Organization of Pharmaceutical Business, Clinical Pharmacy and Pharmacognosy, N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, orcid.org/0000-0002-4438-9201, e-mail: popovendo@mail.ru

T.N. Popova – Dean of the Faculty of Biomedical Sciences, grand Ph.D (biology), Voronezh State University, Voronezh, Russia, orcid.org/0000-0002-9660-3054, e-mail: popova@bio.vsu.ru

Статья поступила в редакцию 05.03.2024; одобрена после рецензирования 10.04.2024; принята к публикации 17.04.2024.

The article was submitted 05.03.2024; approved after reviewing 10.04.2024; accepted for publication 17.04.2024.