УДК 575.2:615.917:616-092.9

ИЗМЕНЕНИЯ КРАТНОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *NFE2L2, HMOX1* И N*QO1* В ТКАНИ ПОЧЕК КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ТИОАЦЕТАМИДА

[1]Рябова Ю.В., [1]Якупова Т.Г., [1]Репина Э.Ф., [1]Смолянкин Д.А., [1, 2]Каримов Д.О., [1]Ахмадеев А.Р., [1]Хуснутдинова Н.Ю.

[1]ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», Уфа, e-mail: fbun@uniimtech.ru;
[2]ФГБНУ «Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья имени Н.А. Семашко», Москва, e-mail: info@nriph.ru

Цель исследования – оценить изменения экспрессии генов антиоксидантной защиты (*Nfe2l2, Hmox1, Nqo1*) в почечной ткани крыс при длительном воздействии тиоацетамида. Экспериментальное моделирование хронического воздействия проводилось на 28 аутбредных крысах-самцах, разделенных на контрольную и опытную группы. Животным опытной группы в течение 100 дней вводили тиоацетамид в дозе 50 мг/кг массы тела. В качестве контрольной группы использовали животных, получавших физиологический раствор. Изменение транскрипционной активности генов оценивали через 50 и 100 дней от начала воздействия методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Ген *Gapdh* использовали в качестве внутреннего контроля. Статистическую обработку данных проводили с использованием бутстрап-анализа. По результатам исследования хроническое воздействие тиоацетамида не привело к достоверным изменениям экспрессии генов *Nfe2l2* и *Nqo1* в почечной ткани на сроках 50 и 100 дней. Однако было выявлено статистически значимое повышение экспрессии гена *Hmox1* на 100-й день воздействия (p = 0,036). Полученные данные свидетельствуют о переходе от компенсаторных антиоксидантных реакций к развитию поздних адаптационных изменений в почках, ассоциированных с активацией гемоксигеназы-1.

Ключевые слова: экспрессия генов, *Nfe2l2, Hmox1, Nqo1*, эксперимент, почки, тиоацетамид

CHANGES IN THE EXPRESSION LEVELS OF NFE2L2, HMOX1, AND NQO1 GENES IN RAT KIDNEY TISSUE FOLLOWING LONG-TERM EXPOSURE TO THIOACETAMIDE

[1]Ryabova Yu.V., [1]Yakupova T.G., [1]Repina E.F., [1]Smolyankin D.A., [1, 2]Karimov D.O., [1]Akhmadeev A.R., [1]Khusnutdinova N.Yu.

[1]Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, e-mail: fbun@uniimtech.ru;
[2]N.A. Semashko National Research Institute of Public Health, Moscow, e-mail: info@nriph.ru

This study aimed to evaluate changes in the expression of antioxidant defense genes (*Nfe2l2, Hmox1,* and *Nqo1*) in the kidney tissue of rats following prolonged exposure to thioacetamide (TAA). Chronic exposure modeling was conducted on 28 outbred male rats randomly divided into a control group and an experimental group. Animals in the experimental group received thioacetamide at a dose of 50 mg/kg body weight daily for 100 days. The control group received an equivalent volume of physiological saline. Transcriptional activity of the target genes was assessed at 50 and 100 days after the start of exposure using real-time polymerase chain reaction (PCR). Gapdh was used as an internal control gene. Statistical analysis was performed using the bootstrap method. Chronic exposure to thioacetamide did not lead to significant changes in the expression levels of *Nfe2l2* and *Nqo1* genes in kidney tissue at either 50 or 100 days. However, a statistically significant increase in *Hmox1* expression was observed on day 100 of exposure (p = 0.036). These findings suggest a shift from compensatory antioxidant responses to late-stage adaptive changes in the kidneys, associated with the activation of heme oxygenase-1.

Keywords: gene expression, *Nfe2l2, Hmox1, Nqo1*, experimental study, kidneys, thioacetamide

Введение

Тиоацетамид (ТАА) широко используется для моделирования печеночного повреждения, опосредованного окислительным стрессом [1–3]. Считается, что фиброзные изменения в печени лабораторных животных под воздействием ТАА во многом схожи с таковыми у людей, что позволяет детально изучать молекулярно-клеточные механизмы, лежащие в основе фиброзного процесса [3], а также апробировать подходы к лечению этого патологического состояния [4]. Токсичность ТАА тесно связана с его биотрансформацией в реактивные метаболиты: токсикант подвергается двухэтапному окислению в печени, сперва образуя сульфоксид, первичный метаболит, образующийся при монооксигеназном окислении. Дальнейшим этапом является образование высокореактивного сульфдиоксида. Оба

этих метаболита способны взаимодействовать с макромолекулами напрямую и опосредованно. Прямое взаимодействие включает возможность ковалентно связываться с нуклеофильными центрами ДНК, белками и фосфолипидами мембран, индуцируя перекисное окисление липидов. Опосредованное действие связано с генерацией активных форм кислорода, разобщением окислительного фосфорилирования и дальнейшей митохондриальной дисфункцией, истощением антиоксидантной системы [3, 5].

Известно, что тиоацетамид вызывает как острые, так и хронические поражения печени в экспериментальной модели на животных [1–3]. Кроме того, он способен индуцировать серьезные нарушения со стороны других органов и систем: вызывает печеночную энцефалопатию, метаболический ацидоз, повышение уровня трансаминаз, нарушение свертываемости крови [3, 5]. В отличие от детально изученных гепатотоксических эффектов [1–3], нефротоксическое действие ТАА остается недостаточно исследованным. Согласно имеющимся данным, острое воздействие ТАА в дозах от 25 до 100 мг/кг массы тела приводит к значительному повышению активности цитолитических ферментов, свидетельствующему о гепатоцеллюлярном повреждении, а также вызывает увеличение экскреции с мочой биомаркера почечного повреждения KIM-1, «*kidney injury molecule-1*» [6]. При этом биохимические изменения не сопровождаются выраженными гистоморфологическими нарушениями в почечной ткани [6]. В другом исследовании показано, что при длительном воздействии ТАА вызывает нефротоксичность, проявляющуюся повреждением клубочков, застоем, повышением уровней азота мочевины и креатинина, а также дисрегуляцией провоспалительных цитокинов и маркеров окислительного стресса [1]. Однако молекулярные механизмы развития этих нарушений, особенно при субхроническом и хроническом воздействии, требуют дальнейшего изучения.

Цель исследования – в условиях эксперимента провести оценку изменений экспрессионной активности генов антиоксидантной защиты (*Nfe2l2, Hmox1, Nqo1*) в почечной ткани крыс при длительном воздействии тиоацетамида.

Материалы и методы исследования

Планирование работы осуществлялось с учетом набора рекомендаций, разработанных для улучшения качества исследований, связанных с использованием животных, – ARRIVE guidelines (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments*). Экспериментальное исследование было одобрено биоэтическим комитетом учреждения, протокол № 01-02 от 08.02.2024 и осуществлялось в соответствии с требованиями законодательства Российской Федерации в отношении лабораторных животных в условиях специально оборудованного вивария. Животные находились в стандартных условиях вивария при 12-часовом световом режиме и температуре 21–26 °C, на стандартном пищевом рационе, при неограниченном доступе к воде и пище. Акклиматизация продолжалась 5 дней. Хронический эксперимент был выполнен на 28 аутбредных конвенциональных крысах-самцах в течение 100 дней, с промежуточным контролем изменения параметров через 50 дней от начала воздействия. Начальный вес животных составлял 170–190 г, возраст – 12–14 недель.

Экспериментальные животные случайным образом были распределены на 2 группы по 14 животных в каждой. Животным первой группы на протяжении периода воздействия вводили ТАА в разовой дозе 50 мг/кг массы тела («Опыт»). Вторая группа являлась контрольной («Контроль») и получала эквивалентный токсиканту объем растворителя (физиологического раствора) в аналогичном режиме.

Выбор дозы был обусловлен на основании литературных данных по экспериментальному моделированию фиброза печени у крыс [1–3]. Вместе с тем имелись весомые аргументы в пользу использования доз значительно меньших, чем классические токсические уровни токсиканта. Во-первых, в современных условиях концентрации загрязнителей среды обитания, с учетом устойчивого снижения уровня химической нагрузки, редко достигают высоких токсичных уровней. Выбор низкой дозы сделает результаты эксперимента более применимыми для экстраполяции. Во-вторых, выявление молекулярно-генетических механизмов предполагает использование низких доз, что позволяет изучить ранние маркеры повреждений до того, как произойдут необратимые изменения в тканях. Высокие же дозы вызывают массовую гибель клеток и быстрое развитие органной недостаточности, что затрудняет анализ.

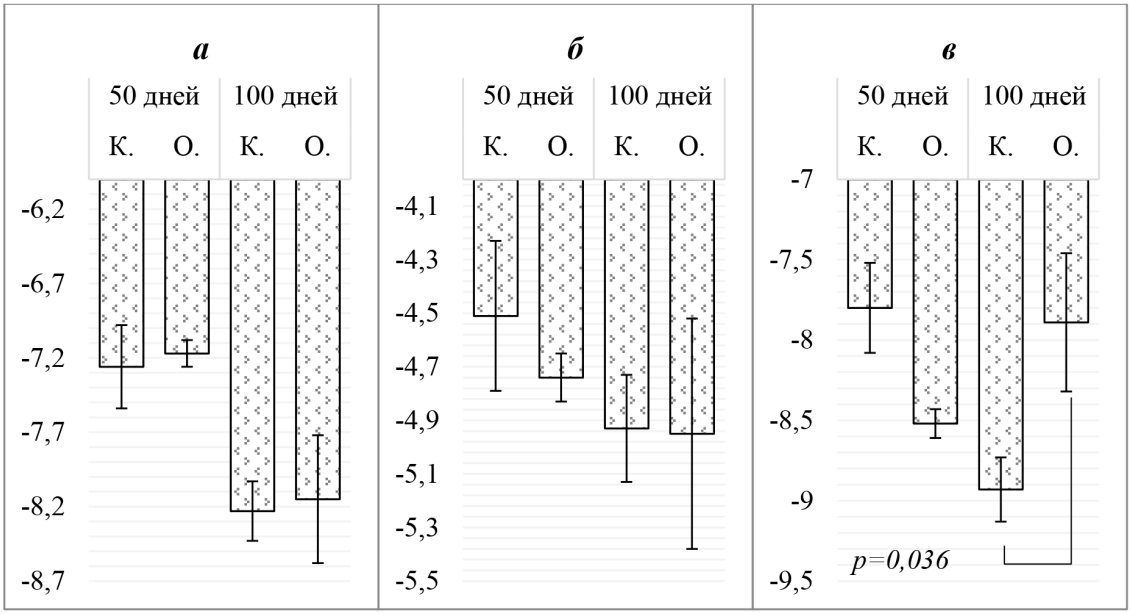
По завершению воздействия выведение животных из эксперимента осуществляли эвтаназией углекислым газом с последующей декапитацией. Транскрипционную активность генов оценивали в почках животных, немедленно извлеченных после эвтаназии. Изменение регуляции клеточной защиты от окислительного стресса оцени-

вали с помощью анализа экспрессии гена *NFE2 like bZIP transcription factor 2*. Он был выбран, поскольку важнейшим участником антиоксидантной защиты во всех клетках является фактор транскрипции Nrf2, кодируемый геном *Nfe2l2*, ядерный фактора эритроидного происхождения 2 (идентификатор гена согласно NCBI: 83619). Он активирует экспрессию множества генов, кодирующих антиоксидантные ферменты и белки детоксикации [7, 8]. Нормальная активность этого гена имеет решающее значение для поддержания окислительно-восстановительного, метаболического и белкового гомеостаза, а также для регуляции воспалительных процессов [8]. Nfe2 экспрессируется во многих органах, причем большая часть его в почках и мышцах, менее – в легких, сердце, печени и головном мозге. Известно, что при нормальных условиях, в отсутствие стресса, Nfe2 поддерживается в цитоплазме кластером белков, которые быстро его деградируют. При влиянии окислительного стресса Nrf2 не разрушается, а вместо этого переходит в ядро, где связывается с промотором ДНК и инициирует транскрипцию антиоксидантных генов и их белков [9]. В исследовании анализировали также изменения экспрессии гена *Heme oxygenase 1* (*Hmox1*), который кодирует фермент гемоксигеназу-1 (идентификатор гена согласно NCBI: 24451). Гемоксигеназа-1 катализирует распад гема до биологически активных молекул: монооксида углерода, двухвалентного железа и биливердина-IXα, который затем восстанавливается до билирубина-IXα биливердинредуктазой [10]. Экспрессия *Hmox1* находится под строгим транскрипционным контролем через Nrf2/Bach1-зависимые пути и активируется в ответ на окислительный стресс и избыток свободного гема, как потенциального катализатора перекисного окисления липидов. *Hmox1* рассматривается как чувствительный биомаркер окислительного стресса, его уровень коррелирует с тяжестью соматической патологии [10]. Изучали уровень экспрессии гена *NAD(P)H quinone dehydrogenase 1* (*Nqo1*), NAD(P)H-дегидрогеназы хинон 1, кодирующего NAD(P)H-хиноноксидоредуктазу 1 (идентификатор гена согласно NCBI: 24314). NAD(P)H-хинон оксидоредуктаза 1 является антиоксидантным ферментом, критическим компонентом антиоксидантной защиты, который катализирует двухэлектронное восстановление биомолекул, за счет чего обеспечивает детоксикацию ксенобиотиков и регуляцию окислительно-восстановительного баланса в клетке [11, 12]. Антиоксидантные свойства NQO1 особенно важны при истощении других детоксикационных систем [11, 12]. РНК выделяли из тканевых образцов органа с использованием набора ExtractRNA («Евроген», Россия) в строгом соответствии с инструкциями производителя. Синтез кДНК осуществляли с применением набора реактивов MMLV RT kit и праймеров олиго(dT)15 («Евроген», Россия). Для исследования транскрипции генов использовали метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, при котором применяли специфичные олигонуклеотидные праймеры и интеркалирующий краситель SYBR Green. Ген *Gapdh* служил внутренним контролем. Для оценки относительной экспрессии генов использовался общепринятый метод, предложенный K.J. Livak и T.D. Schmittgen [13]. Для определения разницы между группами рассчитывался показатель ΔΔCT, который представлял собой разность между средним значением ΔCT группы сравнения и группы контроля. Результирующее значение, полученное посредством экспоненциального преобразования этой разности, интерпретировалось как «*fold change*», что позволяло оценить, насколько изменена экспрессия целевого гена в исследуемой группе относительно контроля.

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения SPSS Statistics 21.0 (IBM, USA). В качестве критерия нормальности распределения признаков в изучаемых группах использовали критерий Колмогорова – Смирнова. При нормальном распределении данных для оценки значимости различий между группами использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) и апостериорные критерии Тьюки и Тамхейна. Данные представлены как среднее арифметическое и стандартная ошибка. Статистический анализ данных проводился с использованием метода бутстрап (Bootstrap), что обеспечивало надежность и воспроизводимость результатов через многократную генерацию выборок методом Монте-Карло. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования представлены на рисунке. Не выявлено статистически значимых изменений в кратности экспрессии гена *Nqo1* в ткани почек крыс как на 50-й день воздействия (-7,26 ± 0,28 в группе «Контроль» против -7,17 ± 0,09 в группе «Опыт», $p = 0,783$), так и на 100-й день воздействия (-8,23 ± 0,20 против -8,15 ± 0,43, $p = 1,000$).



Изменение кратности экспрессии генов антиоксидантной защиты в почках крыс при субхроническом и хроническом воздействии тиоацетамида: Nqo1 (а), Nfe2l2 (б), Hmox1 (в). По оси ординат указана относительная кратность экспрессии исследуемого гена, по оси абсцисс – группы животных

Не обнаружено статистически значимых различий в уровне экспрессии гена *Nfe2l2* между группами в ткани почек крыс как на 50-й день воздействия (-4,51 ± 0,14 против -4,74 ± 0,21, p = 1,000), так и на 100-й день (-4,93 ± 0,17 против -4,95 ± 0,15, p = 0,937). Кратность экспрессии гена *Hmox1* не изменилась на 50-й день воздействия (-7,80 ± 0,31 против -8,52 ± 0,25, p = 0,4452), однако продемонстрировала различия относительно контроля с 100 дням воздействия (-7,89 ± 0,20 против -8,93 ± 0,32, p = 0,036).

Хроническое воздействие ТАА в исследуемых условиях не привело к достоверным изменениям экспрессии генов *Nqo1* и *Nfe2l2*, однако вызвало избирательное увеличение уровня экспрессии *Hmox1* на 100-й день. Эти результаты требуют интерпретации с учетом известных механизмов действия ТАА и физиологии антиоксидантной системы. Исходя из известных по данным научной литературы механизмов действия тиоацетамида и регуляции изученных генов антиоксидантной защиты, можно сделать следующие выводы.

Ген *Nfe2l2*, кодирующий транскрипционный фактор Nrf2, играет ключевую роль в регуляции клеточной антиоксидантной защиты и детоксикации. Повышение его экспрессии характерно для острого или умеренного окислительного стресса [7, 8]. Такой эффект был показан как на примере токсических воздействий при интоксикации этанолом, лекарственными средствами и тетрахлорметаном [14], так и при различных физиологических и патологических состояниях, таких как физическая нагрузка [9] и опухолевый процесс [15]. Однако в условиях хронической интоксикации возможно истощение клеточных антиоксидантных резервов, прежде всего пула глутатиона, необходимого для адекватного функционирования сигнального пути Nrf2–Keap1 [16]. Это может приводить к угнетению экспрессии *Nfe2l2* на поздних сроках. Высказанное авторами предположение подтверждается результатами экспериментального исследования, в котором авторы при воздействии ТАА в дозе 200 мг/кг массы тела обнаружили как повышение уровня глутатиона к третьему месяцу воздействия, так и ряд изменений, в совокупности указывающий на нарушение функционирования γ-глутамильного цикла [2]. γ-глутамильный цикл представляет собой ключевую биохимическую систему, обеспечивающую метаболизм глутатиона – главного клеточного антиоксиданта. В отличие от первоначальных представлений, современные данные показывают, что этот цикл не участвует в транспорте аминокислот, а представляет собой сложную регулируемую систему, обеспечивающую не только антиоксидантную защиту, но и участвующую в ключевых метаболи-

ческих процессах детоксикации. Его нарушение приводит к каскаду патологических изменений на клеточном и организменном уровнях [17]. Дополнительным фактором, потенциально влияющим на экспрессию *Nfe2l2*, может быть дисбаланс аминокислотного обмена. Известно, что изменение аминокислотного профиля может модулировать активность Nrf2 [18], а ТАА способен нарушать аминокислотный обмен в тканях почек [3]. Также возможно, что метаболиты ТАА, особенно тиоацетамидсульфоксид, могут индуцировать повреждение клеточных структур напрямую, минуя классические пути окислительного стресса, что снижает участие Nrf2-зависимых механизмов [19].

Отсутствие изменений в экспрессии гена *Nqo1* также может быть обусловлено особенностями метаболизма ТАА. Несмотря на то, что *Nqo1* участвует в детоксикации ряда ксенобиотиков, включая ароматические и хинон-содержащие соединения [11, 12], его участие в метаболизме ТАА ограничено. Основной путь биоактивации ТАА реализуется через CYP2E1-зависимое окисление до реактивных метаболитов (ТАА-S=O и ТАА-SO_2), а не через субстраты, традиционно индуцирующие *Nqo1*. Это может объяснять отсутствие изменения транскрипции *Nqo1* при субхроническом воздействии ТАА в используемой дозе.

Наиболее существенные изменения выявлены для гена *Hmox1*, кодирующего гемоксигеназу-1 – фермент, чувствительно реагирующий на широкий спектр повреждающих факторов, включая окислительный стресс, воспаление и гипоксию [10]. Увеличение экспрессии *Hmox1* на 100-й день воздействия ТАА, при отсутствии активации *Nfe2l2*, может свидетельствовать о переходе от ранней антиоксидантной адаптации к поздней стадии стресс-ответа, в том числе фиброгенезу. Повышенная экспрессия *Hmox1* ранее описана как один из маркеров фибротических процессов [20], что позволяет предположить, что в проведенном эксперименте на позднем сроке могли начаться процессы ремоделирования интерстициальной ткани почек. Настоящее предположение требует дополнительных исследований – например, гистоморфологических исследований с применением специфических гистохимических окрасок для визуализации коллагеновых волокон, иммуногистохимического метода для оценки наличия маркеров маркеры фиброгенеза и пролиферативной активности, либо морфометрического анализа с количественной оценкой площади фиброза при наличии выраженных изменений тканей.

Заключение

После 100 дней воздействия ТАА в разовой дозе 50 мг/кг массы тела наблюдается изолированная активация гена *Hmox1* при отсутствии изменений со стороны экспрессии генов *Nfe2l2* и *Nqo1,* что может отражать сдвиг в сигнальных путях клеточного ответа от Nrf2-зависимого антиоксидантного механизма к более поздним адаптационно-воспалительным реакциям. Это согласуется с гипотезой о том, что в условиях длительного воздействия ТАА происходит истощение первичных защитных механизмов и переход к активации неспецифических стресс-ассоциированных генов; согласуется и с данными о способности гена *Hmox1* отражать течение фибротических процессов. Вместе с тем для окончательного подтверждения этого предположения необходимы дополнительные гистоморфологические исследования, направленные на оценку состояния тканей почек и наличие фибротических изменений в структурах органа.

Список литературы

1. Новогродская Я.И., Островская О.Б., Кравчук Р.И., Дорошенко Е.М., Гуляй И.Э., Алещик А.Ю., Шалесная С.Я., Курбат М.Н. Способ моделирования экспериментального тиоацетамидного поражения печени у крыс // Гепатология и гастроэнтерология. 2020. Т. 4. № 1. С. 90–95. DOI: 10.25298/2616-5546-2020-4-1-90-95.

2. Новогродская Я.И. Метаболические изменения в почках крыс после длительного введения тиоацетамида // Актуальные проблемы биохимии: сборник материалов научно-практической конференции с международным участием. Гродно, 2021. С. 194–197.

3. Wallace M.C., Hamesch K., Lunova M., Kim Y., Weiskirchen R., Strnad P., Friedman S.L. Standard operating procedures in experimental liver research: thioacetamide model in mice and rats // Lab. Anim. 2015. Vol. 49, Is. 1. P. 21. DOI: 10.1177/0023677215573040.

4. Pingili R.B., Challa S.R., Pawar A.K., Toleti V., Kodali T., Koppula S. A systematic review on hepatoprotective activity of quercetin against various drugs and toxic agents: Evidence from preclinical studies // Phytother Res. 2020. Vol. 34, Is. 1. P. 5–32. DOI: 10.1002/ptr.6503.

5. Yogalakshmi B., Viswanathan P., Anuradha C.V. Investigation of antioxidant, anti-inflammatory and DNA-protective properties of eugenol in thioacetamide-induced liver injury in rats // Toxicology. 2010. Vol. 268, Is. 3. P. 12. DOI: 10.1016/j.tox.2009.12.018.

6. Schyman P., Printz R.L., Estes S.K., Boyd K.L., Shiota M., Wallqvist A. Identification of the toxicity pathways associated with thioacetamide-induced injuries in rat liver and kidney // Front Pharmacol. 2018. No. 9. P. 1272. DOI: 10.3389/fphar.2018.01272.

7. Ngo V., Duennwald M.L. Nrf2 and Oxidative Stress: A General Overview of Mechanisms and Implications in Human Disease // Antioxidants (Basel). 2020. Vol. 11, Is. 12. P. 2345. DOI: 10.3390/antiox11122345.

8. Cuadrado A., Rojo A.I., Wells G., Hayes J.D., Cousin S.P., Rumsey W.L., Attucks O.C., Franklin S., Levonen A.L., Kensler T.W., Dinkova-Kostova A.T. Therapeutic targeting of the NRF2 and KEAP1 partnership in chronic diseases // Nat Rev Drug Discov. 2019. Vol. 18, Is. 4. P. 295–317. DOI: 10.1038/s41573-018-0008-x.

9. Каркищенко В.Н., Петрова Н.В., Станкова Н.В., Слободенюк В.В., Алимкина О.В., Кулакова М.И., Васильева И.А. Исследование и оценка молекулярно-генетических признаков экспрессии гена NFE2L2 при адаптации к физическим нагрузкам у мини-пигов // Биомедицина. 2020. Т. 16. № 1. С. 42–55.

10. Ryter S.W. Heme Oxygenase-1: an anti-inflammatory effector in cardiovascular, lung, and related metabolic disorders // Antioxidants (Basel). 2022. Vol. 11, Is. 3. P. 555. DOI: 10.3390/antiox11030555.

11. Rashid M.H., Babu D., Siraki A.G. Interactions of the antioxidant enzymes NAD(P)H: Quinone oxidoreductase 1 (NQO1) and NRH: Quinone oxidoreductase 2 (NQO2) with pharmacological agents, endogenous biochemicals and environmental contaminants // Chem Biol Interact. 2021. No 345. P. 109574. DOI: 10.1016/j.cbi.2021.109574.

12. Preethi S., Arthiga K., Patil A.B., Spandana A., Jain V. Review on NAD(P)H dehydrogenase quinone 1 (NQO1) pathway // Mol Biol Rep. 2022. Vol. 49, Is. 9. P. 8907–8924. DOI: 10.1007/s11033-022-07369-2.

13. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2−ΔΔCT Method // Methods. 2001. Vol. 25, Is. 4. P. 402–408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.

14. Якупова Т.Г., Каримов Д.О., Бакиров А.Б. Изменение экспрессии генов оксидативного стресса при токсических гепатитах разной этиологии и их коррекция // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2023. Т. 8. № 216. С. 120–126. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-216-8-120-126.

15. Сергеева О.Н., Палкина Н.В., Аксененко М.Б., Комина А.В., Сергеева Е.Ю., Рукша Т.Г. Особенности экспрессии Ki-67 и NFE2L2 в органах мишенях метастазирования меланомы в преметастатическую фазу // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2018. Т. 21. № 2. С. 68–71.

16. Wei D.D., Wang J.S., Duan J.A., Kong L.Y. Metabolomic Assessment of Acute Cholestatic Injuries Induced by Thioacetamide and by Bile Duct Ligation, and the Protective Effects of Huang-Lian-Jie-Du-Decoction // Front Pharmacol. 2018. No. 9. P. 458. DOI: 10.3389/fphar.2018.00458.

17. Bachhawat A.K., Yadav S. The glutathione cycle: glutathione metabolism beyond the γ-glutamyl cycle // IUBMB Life. 2018. Vol. 70, Is. 7. P. 585–592. DOI: 10.1002/iub.1756.

18. Egbujor M.C., Olaniyan O.T., Emeruwa C.N. An insight into role of amino acids as antioxidants via NRF2 activation //Amino Acids. 2024. Vol. 56, Is. 23. P. 84. DOI: 10.1007/s00726-024-03384-8.

19. Chilakapati J., Korrapati M.C., Hill R.A., Warbritton A., Latendresse J.R., Mehendale H.M. Toxicokinetics and toxicity of thioacetamide sulfoxide: a metabolite of thioacetamide // Toxicology. 2007. Vol. 230, Is. 2–3. P. 105–116. DOI: 10.1016/j.tox.2006.11.050.

20. Xuan Y., Peng K., Zhu R. Hmox1 is Identified as a Ferroptosis Hub Gene and Associated with the M1 Type Microglia/Macrophage Polarization in Spinal Cord Injury: Bioinformatics and Experimental Validation // Mol Neurobiol. 2023. No. 60. P. 7151–7165. DOI: 10.1007/s12035-023-03543-0.