

УДК 615.9:631.523

DOI 10.29039/2413-1725-2025-11-3-202-214

**ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ПОТЕНЦИАЛА КОМПЛЕКСНОГО
СОЕДИНЕНИЯ 5-ГИДРОКСИ-6-МЕТИЛУРАЦИЛА
С N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНОМ ПО ДИНАМИКЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ
NFE2L2 И SOD1 В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ
ТИОАЦЕТАМИДА**

*Репина Э. Ф.¹, Мухаммадиева Г. Ф.¹, Ахмадеев А. Р.¹, Смолянкин Д. А.¹,
Каримов Д. О.^{1,2}, Гизатуллина А. А.¹, Рябова Ю. В.¹, Якупова Т. Г.¹*

¹ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека»,
Уфа, Россия

²ФГБНУ «Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья имени
Н. А. Семашко», Москва, Россия
E-mail: e.f.repina@bk.ru

Тиоацетамид представляет собой химическое соединение, чьи выраженные гепатотоксические свойства являются общепризнанными. Однако патогенетические механизмы индуцируемого им повреждения печени отличаются значительной сложностью и на сегодняшний день остаются не до конца расшифрованными. В связи с этим приобретает особую актуальность дальнейшее углубленное исследование многоаспектного токсического воздействия данного соединения, а также разработка и поиск эффективных подходов к нивелированию его негативных эффектов. Поскольку тиоацетамид активирует перекисное окисление липидов, целью исследований являлась оценка гепатопротекторного потенциала комплексного соединения 5-гидрокси-6-метилурацила с N-ацетилцистеином по динамике экспрессии генов *Nfe2L2* и *Sod1* в печени крыс при длительном воздействии тиоацетамида. Анализ транскрипционной активности генов *Sod1* и *Nfe2L2* свидетельствует о повреждающем действии тиоацетамида на антиоксидантную систему организма. Отсутствие статистически значимых различий в экспрессии изучаемых генов между группами не позволяет оценить гепатопротекторный потенциал комплексного соединения 5-гидрокси-6-метилурацила с N-ацетилцистеином при токсическом воздействии тиоацетамида.

Ключевые слова: тиоацетамид, крысы, длительное воздействие, печень, экспрессия генов, коррекция.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время остается достаточно высокой химическая нагрузка на человека, как и риск возникновения неблагоприятных последствий для здоровья от воздействия химических веществ [1, 2].

Тиоацетамид (амид тиоуксусной кислоты, далее – ТАА) – сероорганическое соединение с формулой C_2H_5NS , которое активно применяется в различных сферах человеческой деятельности [3]. Особенности токсического действия ТАА широко используются в экспериментальных исследованиях [4]. Согласно существующим

научным представлениям, фиброзные изменения печени, индуцируемые тиацетамидом (ТАА) у лабораторных животных, демонстрируют значительное сходство с фиброзом печени человека [5, 6]. Данное обстоятельство делает экспериментальную модель на основе ТАА релевантным инструментом для детального анализа молекулярных и клеточных механизмов, обуславливающих развитие фиброгенеза [7]. Патогенетическая основа токсичности ТАА ассоциирована с его высокореактивными метаболитами, такими как тиацетамид-сульфоксид и тиацетамид-S,S-диоксид, образование которых происходит в процессе биотрансформации соединения при участии микросомальных систем гепатоцитов [8–10]. Происходит нарушение функционирования прооксидантно-антиоксидантной системы в организме: повышается уровень диеновых и триеновых конъюгатов в плазме крови [11]. В эксперименте на крысах-самцах линии Wistar, которые получали в качестве питья раствор, содержащий 0,5 г/л ТАА, отмечено повышение активности глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы [12], клеточных антиоксидантных ферментов, играющих важную роль в защите организма от окислительного стресса, обеспечивая защиту клеток от свободных радикалов. Ряд исследователей считает, что ТАА ингибирует ферменты β -окисления жирных кислот, вызывает разрушение метионина и повышает активность белков, участвующих в перекисном окислении липидов (ПОЛ) [9].

Ключевым регулятором клеточного окислительно-восстановительного гомеостаза выступает транскрипционный фактор Nfe2L2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2), контролирующий экспрессию более 200 генов, ассоциированных с антиоксидантной защитой (глутатион-S-трансферазы, НАДФН-хиноноксидоредуктазы, гем-оксигеназы-1) и детоксикацией ксенобиотиков [17, 18]. Его активация в условиях окислительного стресса приводит к транслокации в ядро, связыванию с антиоксидантным ответным элементом (ARE) и индукции цитопротекторных механизмов. Важнейшим элементом этой системы является супероксиддисмутаза-1 (СОД1), кодируемая геном Sod1, которая катализирует дисмутацию супероксид-анионов в пероксид водорода и молекулярный кислород, составляя первую линию защиты против АФК [19]. Изменения экспрессии генов Nfe2L2 и Sod1 в качестве чувствительных биомаркеров нарушения редокс-статуса на доклинической стадии токсического поражения печени [20].

В связи с вышеизложенным, разработка стратегий фармакологической коррекции ТАА-индуцированного повреждения печени представляет значительный научный и практический интерес. Целью настоящего исследования явилась комплексная оценка гепатопротекторной эффективности нового комплексного соединения 5-гидрокси-6-метилурацила с N-ацетилцистеином (МГ-10) посредством анализа динамики экспрессии генов Nfe2L2 и Sod1 в ткани печени крыс в модели хронической ТАА-интоксикации, что позволит выявить молекулярные механизмы его защитного действия и потенциальные терапевтические преимущества.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании (100 дней) использовали 56 крыс-самцов линии Wistar с исходной массой тела 170–190 г, полученных из питомника «Рапполово» (Россия).

Животные содержались в виварии в стандартных условиях при контролируемой температуре ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), влажности (50–60 %) и 12-часовом цикле свет/темнота, с свободным доступом к воде и стандартному лабораторному корму. Все процедуры проводились в период с 9:00 до 12:00 для минимизации циркадных влияний. После недельной адаптации животные были рандомизированы на четыре группы (14 особей в каждой с использованием метода стратифицированной случайisation по массе тела): группа I представляла собой отрицательный контроль и получала интрагастрально эквивалентный объём физиологического раствора; группа II служила положительным контролем (внутрибрюшинное введение тиаоацетамида в разовой дозе 50 мг/кг массы тела дважды в неделю [21]); группа III получала ТАА в аналогичном режиме с предшествующей за 1 час интрагастральной нагрузкой адеметионином («Самеликс», ООО Фирма «Фермент», Россия) в разовой дозе 25 мг/кг, соответствующей рекомендациям производителя; группа IV получала ТАА в сочетании с интрагастральным введением препарата МГ-10 – комплексного соединения 5-гидрокси-6-метилурацила с ацетилцистеином – в разовой дозе 500 мг/кг за 1 час до введения токсиканта. Указанная дозировка МГ-10 была определена как оптимальная на основании предшествующих исследований его антигипоксической активности в моделях ишемии-реперфузии и токсического гепатита [22]. Адеметионин был выбран в качестве референсного препарата ввиду его подтверждённых гепатопротекторных и антифибротических свойств, опосредованных способностью стимулировать синтез глутатиона и фосфолипидов мембран гепатоцитов [23]. В качестве растворителя и контрольного носителя использовался стерильный физиологический раствор (0,9 % NaCl).

Для анализа динамики исследуемых показателей были установлены две временные точки: 50 и 100 суток эксперимента, соответствующие фазам развития фиброза и компенсированного цирроза по данным гистологических исследований. На каждом этапе проводили эвтаназию 7 животных из каждой группы путём ингаляции диоксида углерода со скоростью потока 3 л/мин в течение 3 минут в специальной камере с последующей декапитацией. Все манипуляции и вывод животных из эксперимента осуществляли в строгом соответствии с принципами Хельсинкской декларации и директивами EU 2010/63/EU по гуманному обращению с лабораторными животными. Протокол эксперимента был одобрен локальным этическим комитетом (протокол № 45 от 12.01.2023).

Оценка уровня экспрессии генов *Nfe2L2* (Nuclear factor, erythroid 2-like 2; идентификатор NCBI: 4780) и *Sod1* (Superoxide dismutase 1; идентификатор NCBI: 6641) проводилась методом количественной ПЦР в реальном времени (qRT-PCR). Образцы ткани печени immediately после забора замораживали в жидком азоте и гомогенизировали в реагенте Extract RNA («Евроген», Россия) с последующей экстракцией тотальной РНК по методу Хомиг-Гризеля. Концентрацию и чистоту РНК определяли спектрофотометрически на приборе NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, США) с критериями качества $A260/A280 \geq 1,8$ и $A260/A230 \geq 2,0$. Синтез кДНК выполняли с использованием 1 мкг тотальной РНК, обработанной ДНКазой I, с набором MMLV RT kit и олиго(dT)₁₅-праймеров («Евроген», Россия) в соответствии с протоколом производителя. Амплификацию проводили на

амплификаторе Rotor-Gene Q («Qiagen», Германия) в трёх повторностях с использованием специфичных праймеров (длина ампликона 100–200 п.н., эффективность амплификации 95–105 %) и интеркалирующего красителя SYBR Green. Протокол ПЦР включал начальную денатурацию при 95 °С в течение 5 мин, 40 циклов (95 °С – 15 с, 60 °С – 20 с, 72 °С – 20 с) и последующий анализ кривых плавления. Уровень экспрессии нормализовали по референсному гену GAPDH (идентификатор NCBI: 2597) с использованием метода $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ [24].

Статистическая обработка данных выполнялась в пакете SPSS Statistics 21.0 (IBM, USA) и R 4.2.2. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллиефорса. Однородность дисперсий оценивали тестом Левена. Для сравнения групп при нормальном распределении применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) для повторных измерений с последующим пост-хок анализом по Тьюки для попарных сравнений. Для данных с нарушением параметрических предпосылок использовали критерий Крускала–Уоллиса с поправкой Бонферрони. Данные представлены в виде среднего арифметического (M) и стандартной ошибки среднего (SEM). Для верификации надёжности результатов использовали бутстрап-анализ (Монте-Карло, 1000 повторений) с построением 95 % доверительных интервалов. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для всех методов расчета мощность теста $(1-\beta)$ превышала 0,8 при effect size $d = 0,8$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ уровня экспрессии гена *Sod1* в ткани печени крыс на 50-е сутки эксперимента выявил минимальные значения в группе отрицательного контроля (К–), где средняя кратность составила 1.12 ± 0.39 (рис. 1). В группе положительного контроля (К+), получавшей ТАА, наблюдалось увеличение показателя (1.90 ± 0.57), что может отражать компенсаторную активацию антиоксидантной системы в ответ на индуцированный окислительный стресс. Однако различия с группой К– не достигли уровня статистической значимости ($p > 0.05$), что свидетельствует о вариабельности индивидуального ответа на токсическое воздействие в данный временной промежуток.

На фоне применения гепатопротекторов зарегистрирована выраженная тенденция к модуляции транскрипционной активности гена *Sod1*: в группе, получавшей адеметионин («Самеликс»), значение составило 1.51 ± 0.18 , а в группе с применением комплекса МГ-10 – 1.47 ± 0.34 . Умеренное снижение экспрессии по сравнению с группой К+ (на 20.5 % и 22.6 % соответственно) может указывать на частичное восстановление редокс-баланса и уменьшение интенсивности окислительного стресса благодаря антиоксидантным свойствам исследуемых соединений. Несмотря на отсутствие статистически значимых межгрупповых различий на данном этапе исследования ($F(3,24) = 1.87$; $p = 0.162$), отмечается последовательная положительная динамика под влиянием обоих корректирующих препаратов, что согласуется с данными других экспериментальных работ, демонстрирующих способность гепатопротекторов нормализовать активность ферментов антиоксидантной защиты на ранних стадиях токсического поражения

печени [24]. Полученные результаты позволяют предположить, что оба препарата проявляют умеренную антиоксидантную активность уже через 50 суток после начала введения, однако для достижения статистически значимого эффекта требуется более продолжительный период воздействия.

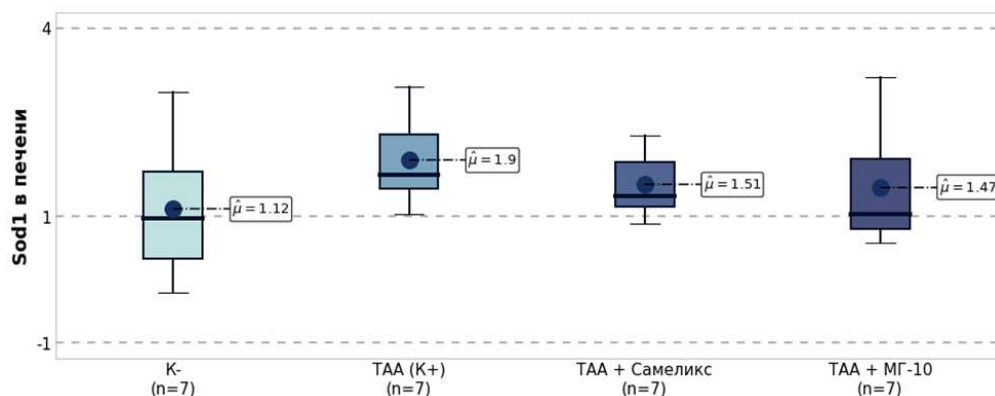


Рис. 1. Уровень экспрессии гена *Sod1* в ткани печени крыс через 50 дней эксперимента.

К завершению экспериментальной фазы (100 суток) профиль экспрессии гена *Sod1* в печени крыс претерпел значительные количественные и качественные изменения, демонстрируя принципиально иную регуляторную динамику по сравнению с промежуточным этапом в 50 суток (рис. 2). Наименьший уровень экспрессии был зафиксирован в группе положительного контроля (K+), получавшей исключительно ТАА, где значение составило 2.88 ± 0.21 ($p < 0.05$ относительно группы K-), что свидетельствует о прогрессирующем истощении компенсаторных возможностей антиоксидантной системы на фоне хронической интоксикации.

В группе животных, получавших ТАА в комбинации с адеметионином («Самеликс»), средняя кратность экспрессии гена *Sod1* достигла 3.03 ± 0.16 , что статистически не отличалось от показателя в группе интактных животных (K-; 3.05 ± 0.36 ; $p > 0.05$), но достоверно превышало значения в группе K+ ($p < 0.05$). Это указывает на способность адеметионина поддерживать базовый уровень антиоксидантной защиты, но недостаточную эффективность для полной компенсации токсического воздействия.

Наибольшая транскрипционная активность гена *Sod1* была отмечена в группе, получавшей экспериментальный препарат МГ-10 на фоне интоксикации ТАА. В данной группе значение показателя достигло максимальной величины 3.33 ± 0.21 , что статистически значимо превышало не только группу K+ ($p < 0.01$), но и группу K- ($p < 0.05$) и группу с адеметионином ($p < 0.05$). Полученные данные свидетельствуют о выраженном стимулирующем влиянии комплексного соединения на эндогенную антиоксидантную систему, что проявляется в усиленной транскрипции гена *Sod1* на 15.6 % относительно группы K- и на 10.0 %

относительно группы с адеметионином. Такая активация может быть связана с синергическим действием компонентов МГ-10, обеспечивающих не только прямое антиоксидантное действие, но и потенцирование экспрессии ключевых элементов антиоксидантной защиты через *Nrf2*-опосредованные механизмы. Указанные различия между группами также статистически значимо не различались.

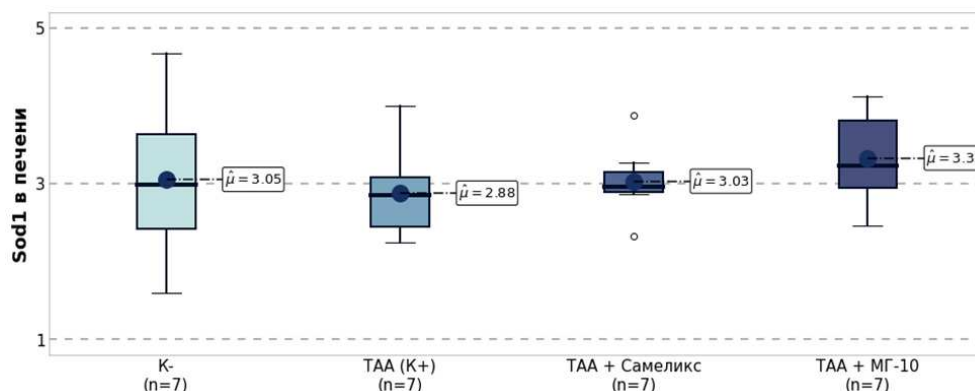


Рис. 2. Уровень экспрессии гена *Sod1* в ткани печени крыс через 100 дней эксперимента.

Ген *Sod1* кодирует супероксиддисмутазу 1 – ключевой фермент антиоксидантной защиты, играющий важную роль в нейтрализации активных форм кислорода (АФК). Повышенная экспрессия этого гена обычно свидетельствует об активации защитных механизмов в ответ на окислительный стресс, тогда как ее снижение может указывать на угнетение антиоксидантной системы. Вероятно, к концу эксперимента под воздействием ТАА происходит большее повреждение клеток и истощение возможностей антиоксидантной системы организма. Следует также отметить некоторое положительное влияние корректирующих препаратов. Препарат «Самеликс» частично компенсировал негативное влияние ТАА, возвращая экспрессию гена *Sod1* к исходному уровню. Однако отсутствие статистически значимых различий с группой K+ указывает на то, что его протекторный эффект был умеренным. Поскольку максимальная экспрессия гена *Sod1* ($3,33 \pm 0,21$) зафиксирована в группе, где применялся препарат МГ-10, можно предположить, что данный препарат вероятно обладает более выраженным стимулирующим действием на антиоксидантную защиту по сравнению с «Самеликсом».

Изучение экспрессии гена *Nfe2l2* в печени крыс показало, что через 50 дней эксперимента под воздействием ТАА она выросла ($-4,65 \pm 0,38$) по сравнению с группой отрицательного контроля ($-5,25 \pm 0,54$). Несколько ниже, чем в группе положительного контроля, экспрессия гена была в печени крыс 3 группы, получавшей ТАА и Самеликс ($-4,82 \pm 0,20$). Наибольшая экспрессия гена *Nfe2l2* была зарегистрирована в группе, получавшей комбинацию ТАА и препарата МГ-10,

достигнув значения -4.26 ± 0.38 (рис. 3). Однако проведённый статистический анализ не выявил достоверных различий между экспериментальными группами по данному показателю.

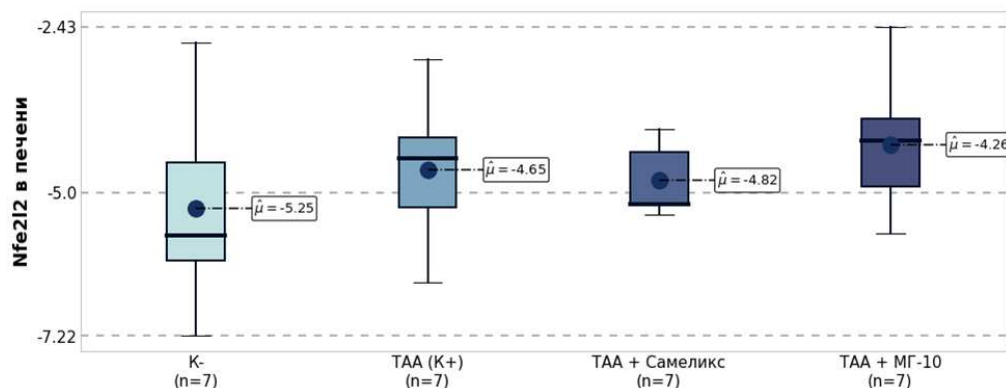


Рис. 3. Уровень экспрессии гена *Nfe2l2* в ткани печени крыс через 50 дней эксперимента.

Ген *Nfe2l2* кодирует транскрипционный фактор *Nrf2*, выступающий ключевым регулятором антиоксидантного ответа и обеспечивающий цитопroteкцию от окислительного стресса. Наблюдаемое повышение его экспрессии на данном этапе эксперимента позволяет предположить активацию компенсаторных механизмов клеточной защиты в ответ на хроническое токсическое воздействие тиацетамида. (Повышенная экспрессия гена *Nfe2l2*, наблюдаемая в группе, получавшей ТАА в сочетании с МГ-10, имеет важное функциональное значение, поскольку данный ген кодирует транскрипционный фактор *Nrf2* — основной регулятор антиоксидантного ответа. Активация этого сигнального пути расценивается как адаптивный механизм, направленный на компенсацию индуцированного тиацетамидом окислительного стресса и усиление детоксикационных процессов в гепатоцитах.) Следует отметить, что препарат «Самеликс» частично модулирует *Nrf2*-опосредованный ответ, возможно, снижая уровень окислительного стресса и, как следствие, потребность в активации этого пути.

Наибольшая экспрессия гена *Nfe2l2* на этом сроке эксперимента наблюдалась в группе, получавшей ТАА вместе с МГ-10 (-4.26 ± 0.38). Возможно, препарат МГ-10 усиливает активацию *Nrf2* в ответ на повреждение. Однако отсутствие статистической значимости между группами не позволяет однозначно интерпретировать полученные результаты, для их подтверждения необходимо продолжение исследований с увеличенной выборкой животных или дополнительными биохимическими и молекулярными показателями.

Изучение изменений средней экспрессии гена *Nfe2l2* в печени крыс через 100 дней также продемонстрировало отсутствие статистически значимых различий

между группами, сохранив закономерность различий, которая наблюдалась через 50 дней (рис. 4).

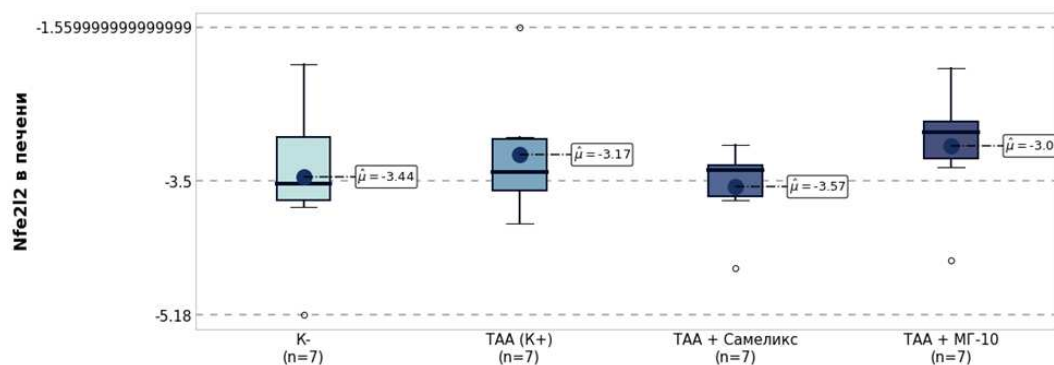


Рис. 4. Уровень экспрессии гена *Nfe2l2* в ткани печени крыс через 100 дней эксперимента.

Воздействие тиацетамида (ТАА) привело к повышению экспрессии гена *Nfe2l2* в группе положительного контроля (K+), где значение составило -3.17 ± 0.28 , по сравнению с группой отрицательного контроля (K-; -3.44 ± 0.35). В группе животных, получавших ТАА в комбинации с адеметионином («Самеликс»), уровень экспрессии находился на уровне -3.57 ± 0.18 , что было сопоставимо с показателем интактных животных. Наибольшая экспрессия гена *Nfe2l2* была зафиксирована в группе, получавшей ТАА совместно с препаратом МГ-10, достигнув значения -3.06 ± 0.26 .

Несмотря на отсутствие статистически значимых межгрупповых различий, сохранение общей тенденции на обеих временных точках эксперимента (50 и 100 суток) может свидетельствовать о модулирующем влиянии исследуемых гепатопротекторов на транскрипционную активность гена *Nfe2l2*. Известно, что токсическое действие ТАА опосредовано индукцией окислительного стресса и повреждением печени, что закономерно активирует *Nrf2*-сигнальный путь. Транскрипционный фактор *Nrf2*, кодируемый геном *Nfe2l2*, является ключевым регулятором антиоксидантного ответа, поэтому его повышенная экспрессия в условиях хронической интоксикации представляет собой компенсаторный механизм клеточной защиты. Тот факт, что экспрессия гена *Nfe2l2* в группе крыс, получавших ТАА вместе с препаратом Самеликс, (-3.57 ± 0.18) оказалась близкой к уровню отрицательного контроля, может свидетельствовать о том, что данный препарат способен модулировать *Nrf2*-опосредованный ответ, возможно, за счет снижения окислительного стресса и, как следствие, уменьшения потребности в активации антиоксидантных механизмов. Наибольшая экспрессия гена *Nfe2l2* через 100 дней наблюдалась в группе, получавшей ТАА в сочетании с МГ-10 (-3.06 ± 0.26), что соответствует тенденции, отмеченной на 50-й день эксперимента. Это позволяет предположить, что МГ-10 либо усиливает активацию *Nrf2*-пути в ответ на повреждение, либо сам обладает прооксидантными свойствами, создавая

дополнительный стимул для включения антиоксидантной защиты. Интересно, что разница между этой группой и группой только с ТАА (-3,17) минимальна, что может говорить о том, что препарат МГ-10 не столько потенцирует эффект ТАА, сколько поддерживает стабильно высокий уровень активации гена *Nfe2l2*. Известно, что ТАА активирует процессы перекисного окисления липидов [11] и следовало ожидать, что препарат МГ-10, обладающий антиоксидантными и антигипоксическими свойствами [22], может оказать гепатопротекторное действие при воздействии ТАА. Однако отсутствие статистически значимых различий в экспрессии генов антиоксидантной защиты между группами не позволяет по этому показателю оценить гепатопротекторный потенциал препарата. Для уточнения механизмов возможного гепатопротекторного действия комплексного соединения 5-гидрокси-6-метилурацила с N-ацетилцистеином целесообразно провести анализ изменений в данном эксперименте других генетических показателей, а также изменений в печени на тканевом уровне.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ транскрипционной активности генов *Sod1* и *Nfe2l2* свидетельствует о повреждающем действии тиоацетамида на антиоксидантную систему организма. Отсутствие статистически значимых различий в экспрессии изучаемых генов между группами не позволяет оценить гепатопротекторный потенциал комплексного соединения 5-гидрокси-6-метилурацила с N-ацетилцистеином при токсическом воздействии тиоацетамида.

Список литературы

1. Allen J. H. The wicked problem of chemicals policy: opportunities for innovation / Allen J. H. // J. Environ. Stud. Sci. – 2013. – No 3. – P. 101–108. doi: 10.1007/s13412-013-0117-0).
2. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – 2021.
3. National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 2723949, Thioacetamide. [электронный ресурс] URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Thioacetamide> (дата обращения: 10.04.2025)
4. Constantinou M. A. Application of metabonomics on an 212 experimental model of fibrosis and cirrhosis induced by thioacetamide in rats / M. A. Constantinou, S. E. Theocharis, E. Mikros // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2007. – No 218. – P. 11–19.
5. Li X. I. Reproducible production of thio-acetamide-induced macronodular cirrhosis in the rat with no mortality / X. I. Li, S. Benjamin, B. Alexander // J. Hepatol. – 2002. – Vol. 36, No 4. – P. 488–493. doi:10.1016/s0168-8278(02)00011-9
6. Wallace M. C. Standard operating procedures in experimental liver research: thio-acetamide model in mice and rats / M. C. Wallace, K. Hamesch, M. Lunova [et al.] // Lab. Anim. – 2015. – Vol. 49, No 1. – P. 21–29. doi:10.1177/0023677215573040
7. Лебедева Е. И. Корреляционные взаимосвязи между уровнем микроРНК и мРНК, вовлекаемых в патологический ангиогенез в условиях экспериментального цирроза печени / Е. И. Лебедева, А. Т. Щастный, А. С. Бабенко [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. – 2024. – Т. 21, № 2. – С. 87–96. DOI:10.51523/2708-6011.2024-21-2-11.
8. Hajovsky H. Metabolism and toxicity of thioacetamide and thioacetamide S-oxide in rat hepatocytes / H. Hajovsky, G. Hu, Y. Koen [et al.] / Chem. Res. Toxicol. – 2012. – Vol. 25. – P. 1955–1963.

9. Muriel P. Experimental models of liver damage mediated by oxidative stress. In: Muriel P, editor. *Liver Pathophysiology. Therapies and Antioxidants* / P. Muriel, E. Ramos-Tovar, G. Montes-Páez [et al.] // 1 st. ed. Mexico: Academic press. – 2017. – P. 529–546.
10. Bhakuni G. S. Animal models of hepatotoxicity / G. S. Bhakuni, O. Bedi, J. Bariwal [et al.] // *Inflamm. Res.* – 2016. – Vol. 65, No 1. – P. 13–24. doi: 10.1007/s00011-015-0883-0.
11. Новгородская Я. И. Способ моделирования экспериментального тиацетамидного поражения печени у крыс / Я. И. Новгородская, О. Б. Островская, Р. И. Кравчук [и др.] // *Гепатология и гастроэнтерология.* – 2020. – Т. 4, № 1. – С. 90–95. doi:10.25298/2616-5546-2020-4-1-90-95.
12. Abul H. Level of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and uric acid in thioacetamide-induced cirrhotic rats / H. Abul, T. C. Mathew, H. M. Dashti [et al.] // *J. Vet. Med. Ser. C: Anat., Histol., Embryol.* – 2002. – Vol. 31, № 2. – P. 66–71. doi: 10.1046/j.1439- 0264.2002.00359.x.
13. Новгородская Я. И. Гомоцистеин и другие серосодержащие соединения в тканях крыс при тиацетамидном поражении печени / Новгородская Я. И. // *Вестник Смоленской государственной медицинской академии.* – 2021. – Т. 20, № 2. – С. 12–17. doi:10.37903/vsgma.2021.2.2.
14. Кондратович И. А. Содержание ретинола и α -токоферола при экспериментальном фиброзе печени у крыс / И. А. Кондратович, Я. И. Новгородская, В. П. Андреев [и др.] // *Гепатология и гастроэнтерология.* – 2020. – Т. 4, № 2. – С. 196–200. doi:10.25298/2616-5546-2020-4-2- 196-200.
15. Yanguas S. C. Experimental Models of Liver Fibrosis / S. C. Yanguas, B. Cogliati, J. Willebrords [et al.] // *Arch. Toxicol.* – 2016. – Vol. 90, No 5. – P. 1025–1048. DOI: 10.1007/s00204-015-1543-4.
16. Ravichandra A. Mouse Models of Liver Fibrosis / Ravichandra A., Schwabe R. F. // *Methods Mol. Biol.* – 2021. – No. 2299. – P. 339–356. DOI: 10.1007/978-1-0716-1382-5_23.
17. Kensler T. W. Cell survival responses to environ-mental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway / T. W. Kensler, N. Wakabayashi, S. Biswal // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2007. – No. 47. – P. 89–116.
18. Mitsuishi Y. The Keap1–Nrf2 system in cancers: stress response and anabolic metabolism / Y. Mitsuishi, H. Motohashi, M. Yamamoto // *Frontiers in oncology.* – 2012. – No. 2. – P. 200.
19. Okado-Matsumoto A. Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu, Zn-SOD in mitochondria / A. Okado-Matsumoto, I. Fridovich // *J Biol Chem.* – 2001. – Vol. 276, No 42. – P. 38388–38393.
20. Репина Э. Ф. Изменение транскрипционной активности генов антиоксидантной защиты в печени крыс в ответ на острое воздействие высоких доз акриламида / Э. Ф. Репина, Ю. В. Рябова, Т. Г. Якупова [и др.] // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* – 2024. – № 9. – С. 21–25.
21. Munoz Torres E. Experimental thioacetamide-induced cirrhosis of the liver / E. Munoz Torres, J. I. Paz Bouza, A. López Bravo [et al.] // *Histol. Histopathol.* – 1991. – Vol. 6, No 1. – P. 95–100.
22. Репина Э. Ф. Оценка антигипоксических свойств комплексного соединения оксиметилурацила с ацетилцистеином на модели гистотоксической гипоксии / Э. Ф. Репина, А. Б. Бакиров, А. Р. Гимадиева [и др.] // *Гигиена и санитария.* – 2022. – Vol. 101, No 9. – P. 1098–1102. doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-9-1098-1102.
23. Яковенко Э. П. Патогенетические подходы к лечению хронических заболеваний печени с внутрипеченочным холестазом / Э. П. Яковенко, А. В. Яковенко, А. Н. Иванов [и др.] // *Фарматека.* – 2009. – Т. 8, № 182. – С. 26–32.
24. Каримов Д. О. Динамика экспрессии гена супероксиддисмутазы-1 при разных видах лекарственной коррекции токсических нарушений в печени / Д. О. Каримов, Г. Ф. Мухаммадиева, А. Б. Бакиров [и др.] // *Гигиена и санитария.* – 2022. – Т. 101, № 1. – С. 83–86. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-1-83-86>

**ASSESSMENT OF THE HEPATOPROTECTIVE POTENTIAL OF THE
COMPLEX COMPOUND OF 5-HYDROXY-6-METHYLURACIL WITH
N-ACETYLCYSTEINE BY THE DYNAMICS OF EXPRESSION OF THE *NFE2L2*
AND *SOD1* GENES IN THE LIVER OF RAT DURING LONG-TERM EXPOSURE
TO THIOACETAMIDE**

*Repina E. F.¹, Mukhammadiyeva G. F.¹, Akhmadeev A. R.¹, Smolyankin D. A.¹,
Karimov D. O.^{1,2}, Gizatullina A. A.¹, Ryabova Yu. V.¹, Yakupova T. G.¹*

¹*Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, Russia*

²*N. A. Semashko National Research Institute of Public Health, Moscow, Russia*

E-mail: e.f.repina@bk.ru

Thioacetamide is a chemical compound with well-established hepatotoxic properties. It is widely used in experimental studies because the fibrotic changes it induces in the liver of laboratory animals demonstrate significant similarities to human liver fibrosis. The pathogenic basis for thioacetamide's toxicity is associated with its highly reactive metabolites, which disrupt the body's prooxidant-antioxidant system. Lipid peroxidation leads to hepatocyte destruction, which is accompanied by increased plasma catalase activity, decreased levels of key antioxidants, and inhibition of glutathione synthesis. However, the pathogenetic mechanisms of liver damage it induces are highly complex and remain incompletely understood. Therefore, further in-depth study of the multifaceted toxic effects of this compound, as well as the development and search for effective approaches to mitigating its negative effects, are particularly urgent. Since thioacetamide activates lipid peroxidation, the aim of the study was to evaluate the hepatoprotective potential of the complex compound of 5-hydroxy-6-methyluracil with N-acetylcysteine by changing the transcriptional activity of the *Nfe2L2* and *Sod1* genes in the liver of rats under conditions of chronic action of the toxicant and against the background of prophylactic correction. The studies were conducted on 56 outbred conventional male rats for 100 days. Animals were divided into four groups: I – negative control; II – positive control (intraperitoneal administration of thioacetamide at a single dose of 50 mg / kg body weight twice a week); III - thioacetamide + ademetonine at a single dose of 25 mg / kg; IV – thioacetamide + complex compound of 5-hydroxy-6-methyluracil with acetylcysteine at a single dose of 500 mg / kg 1 hour before the administration of the toxicant. After 50 and 100 days, the expression levels of the studied genes were assessed. The highest transcriptional activity of the *Sod1* gene was observed in the group receiving the 5-hydroxy-6-methyluracil-acetylcysteine complex against the background of TAA intoxication, which may indicate its pronounced stimulating effect on the body's antioxidant system. The obtained results also indicate a modulating effect of the studied hepatoprotectors on the transcriptional activity of the *Nfe2L2* gene. *Nfe2L2* gene expression in the group of rats receiving TAA together with ademetonine was close to the level of the negative control. The highest *Nfe2L2* gene expression after 100 days was observed in the group receiving TAA in combination with the 5-hydroxy-6-methyluracil-

acetylcysteine complex. The lack of statistically significant differences in antioxidant gene expression between the groups precludes the drug's hepatoprotective potential from being assessed using this parameter. To clarify the mechanisms underlying the possible hepatoprotective effect of the 5-hydroxy-6-methyluracil/N-acetylcysteine complex, it would be appropriate to analyze changes in other genetic parameters in this experiment, as well as changes in the liver at the tissue level.

Keywords: thioacetamide, rats, long-term exposure, liver, gene expression, correction.

References

1. Allen J. H. The wicked problem of chemicals policy: opportunities for innovation, *J. Environ. Stud. Sci.* **3**, 101 (2013). doi: 10.1007/s13412-013-0117-0).
2. On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2020: State report. M.: Federal'naya sluzhba po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitel' i blagopoluchiya cheloveka. 2021 (in Russ.)
3. *National Center for Biotechnology Information* (2024). PubChem Compound Summary for CID 2723949, Thioacetamide. [electronic resource] URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Thioacetamide> (date of request: 10.04.2025)
4. Constantinou M. A., Theocharis S. E., Mikros E. Application of metabonomics on an 212 experimental model of fibrosis and cirrhosis induced by thioacetamide in rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **218**, 11 (2007).
5. Li X.I., Benjamin S., Alexander B. Reproducible production of thio-acetamide-induced macronodular cirrhosis in the rat with no mortality, *J. Hepatol.* **36** (4), 488 (2002) doi:10.1016/s0168-8278(02)00011-9
6. 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.* **49** (1), 21 (2015) doi:10.1177/0023677215573040
7. Lebedeva E. I., Shchastny A. T., Babenko A. S., Zinovkin D. A., Nadyrov E. A. [Correlation relationships between the level of microRNA and mRNA involved in pathological angiogenesis in experimental liver cirrhosis], *Problemy zdorov'ya i ekologii.* **21** (2), 87 2024 DOI:10.51523/2708-6011.2024-21-2-11. (in Russ.)
8. Hajovsky H., Hu G., Koen Y., Sarma D., Cui W., Moore D. S., Staudinger J. L., Hanzlik R. P. Metabolism and toxicity of thioacetamide and thioacetamide S-oxide in rat hepatocytes, *Chem. Res. Toxicol.* **25**, 1955 (2012).
9. Muriel P., Ramos-Tovar E., Montes-Páez G., Buendía-Montaño L. D. *Experimental models of liver damage mediated by oxidative stress. Liver Pathophysiology, Therapies and Antioxidants.* (1 st. ed. Mexico: Academic press, 2017)
10. Bhakuni G. S., Bedi O., Bariwal J., Deshmukh R., Kumar P. Animal models of hepatotoxicity, *Inflamm. Res.* **65** (1), 13 (2016) doi: 10.1007/s00011-015-0883-0.
11. Novogrodskaya Ya. I., Ostrovskaya O. B., Kravchuk R. I., Doroshenko E. M., Gulyai I. E., Aleshchik A. Yu., Shalesnaya S. Ya., Kurbat M. N. [Method for modeling experimental thioacetamide liver damage in rats], *Gepatologiya i gastroenterologiya.* **4** (1), 90 (2020). doi:10.25298/2616-5546-2020-4-1-90-95. (in Russ.)
12. Abul H., Mathew T. C., Dashti H. M., Al-Bader A. Level of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and uric acid in thioacetamide-induced cirrhotic rats, *J. Vet. Med. Ser. C: Anat., Histol., Embryol.* **31** (2), 66 (2002) doi: 10.1046/j.1439- 0264.2002.00359.x.
13. Novogrodskaya Ya. I. [Homocysteine and other sulfur-containing compounds in rat tissues with thioacetamide liver damage], *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii.* **20** (2), 12 (2021) doi:10.37903/vsgma.2021.2.2. (in Russ.)
14. Kondratovich I. A., Novogrodskaya Ya. I., Andreev V. P., Kravchuk R. I., Ostrovskaya O. B., Gulyai I. E., Shalesnaya S. Ya., Kurbat M. N., Tsykunov V. M. [Content of retinol and α -tocopherol in

- experimental liver fibrosis in rats], *Gepatologiya i gastroenterologiya*. **4** (2), 196 (2020) doi:10.25298/2616-5546-2020-4-2- 196-200. (in Russ.)
15. Yanguas S. C., Cogliati B., Willebrords J., Maes M., Colle I., van den Bossche B., Oliveira C. P., Andraus W., Alves V., Leclercq I., Vinken M. Experimental Models of Liver Fibrosis, *Arch. Toxicol.* **90** (5), 1025 (2016) DOI: 10.1007/s00204-015-1543-4.
 16. Ravichandra A., Schwabe R. F. Mouse Models of Liver Fibrosis, *Methods Mol. Biol.* **2299**, 339 (2021) DOI: 10.1007/978-1-0716-1382-5_23.
 17. Kensler T. W., Wakabayashi N., Biswal S. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **47**, 89 (2007)
 18. Mitsuishi Y., Motohashi H., Yamamoto M. The Keap1-Nrf2 system in cancers: stress response and anabolic metabolism, *Frontiers in oncology*. **2**, 200 (2012)
 19. Okado-Matsumoto A., Fridovich I. Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu, Zn-SOD in mitochondria, *J Biol Chem.* **276** (42), 38388 (2001)
 20. Repina E. F., Ryabova Yu. V., Yakubova T. G., Khusnutdinova N. Yu., Khmel A. O., Akhmadeev A. R. [Changes in the transcriptional activity of antioxidant defense genes in the liver of rats in response to acute exposure to high doses of acrylamide], *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij*. **9**, 21 (2024) (in Russ.)
 21. Munoz Torres E., Paz Bouza J. I., López Bravo A., Abad Hernández M. M., Carrascal Marino E. Experimental thioacetamide-induced cirrhosis of the liver, *Histol. Histopathol.* **6** (1), 95 (1991)
 22. Repina E. F., Bakirov A. B., Gimadieva A. R., Karimov D. O., Kudoyarov E. R., Timasheva G. V., Khusnutdinova N. Yu., Baygildin S. S., Smolyankin D. A., Muhammadieva G. F. [Evaluation of antihypoxic properties of a complex compound of oxymethyluracil with acetylcysteine on a model of histotoxic hypoxia], *Gigiena i sanitariya*. **101** (9), 1098 (2022) <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-9-1098-1102>. (in Russ.)
 23. Yakovenko E. P., Yakovenko A. V., Ivanov A. N., Agafonova N. A., Pryanishnikova A. S., Kagramanova A. V. [Pathogenetic approaches to the treatment of chronic liver diseases with intrahepatic cholestasis], *Farmateka*. **8** (182), 26 (2009) (in Russ.)
 24. Karimov D. O., Muhammadieva G. F., Bakirov A. B., Ziatdinova M. M., Valova Y. V., Kudoyarov E. R., Khusnutdinova N. Yu., Yakupova T. G. [Dynamics of superoxide dismutase-1 gene expression during different types of drug correction of toxic disorders in the liver], *Gigiena i sanitariya*. **101** (1), 83 (2022) <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-1-83-86> (in Russ.)