



Байгильдин С.С., Репина Э.Ф., Смолянкин Д.А., Кудояров Э.Р.,  
Хуснутдинова Н.Ю., Ахмадеев А.Р., Каримов Д.О., Валова Я.В.

## Экспрессия маркёра апоптоза caspase-3 при токсическом гепатите, вызванном тетрахлорметаном

ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия

### РЕЗЮМЕ

**Введение.** Несмотря на разностороннее изучение в последние годы механизмов токсических поражений печени, эффективных методов лечения до сих пор очень мало. При поражении печени тетрахлорметаном обнаруживается гибель гепатоцитов, в том числе и апоптоз.

**Цель исследования** — изучение гистологических изменений и иммуногистохимическое исследование экспрессии маркёра апоптоза caspase-3 на модели токсического поражения, вызванного тетрахлорметаном, при коррекции гепатопротекторами.

**Материалы и методы.** В эксперименте использовали 45 крыс, разделённых на 9 групп. В качестве токсиканта использовали масляный раствор  $CCl_4$  для каждой группы крыс за исключением отрицательного контроля. Корректирующее воздействие на моделях острого поражения печени, вызванного однократным введением  $CCl_4$ , проводили с использованием препаратов «Гептор», «Мексидол» и оксиметилурацила. Коррекцию проводили дважды (вывод из эксперимента через 24 ч) и четырёхкратно (вывод из эксперимента через 72 ч). Ткани печени были подвергнуты стандартной гистологической обработке с окраской гематоксилин-эозином и иммуногистохимическому исследованию на caspase-3. Количество caspase-3-позитивных клеток оценивали с помощью предварительно обученной модели глубокого обучения YOLOv5.

**Результаты.** Через 24 ч интоксикации статистически значимых различий по количеству caspase-3-положительных клеток на микрофотографии в опытных группах не обнаружено ( $p = 0,087$ ). Через 72 ч введения тетрахлорметана между группами были обнаружены статистически значимые различия ( $p = 0,02$ ). Множественное сравнение показало присутствие статистически значимых различий между группами отрицательного контроля и положительного контроля ( $p = 0,0076$ ), а также между группой положительного контроля и группой, скорректированной оксиметилурацилом ( $p = 0,0254$ ).

**Ограничения исследования.** Ограничения исследования заключаются в оценке гистологических изменений и экспрессии маркёра апоптоза caspase-3 только через 24 и 72 ч после интоксикации без проведения долгосрочных исследований, в использовании относительно небольшого количества животных (45 крыс) и применении только стандартных гистологических методов, иммуногистохимического анализа и метода глубокого обучения.

**Заключение.** Через 72 ч группы положительного и отрицательного контроля отличались между собой, что указывает на усиление процессов апоптоза после введения тетрахлорметана, а группа с коррекцией оксиметилурацилом демонстрировала меньшее количество caspase-3-позитивных клеток по сравнению с группой положительного контроля, что свидетельствует о гепатопротекторном эффекте этого препарата.

**Ключевые слова:** иммуногистохимия; токсический гепатит; антиоксиданты; компьютерное зрение; глубокое обучение; caspase-3

**Соблюдение этических стандартов.** Исследование одобрено биоэтической комиссией ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», проведено в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123), директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых для научных целей.

**Для цитирования:** Байгильдин С.С., Репина Э.Ф., Смолянкин Д.А., Кудояров Э.Р., Хуснутдинова Н.Ю., Ахмадеев А.Р., Каримов Д.О., Валова Я.В. Экспрессия маркёра апоптоза caspase-3 при токсическом гепатите, вызванном тетрахлорметаном. *Гигиена и санитария*. 2025; 104(2): 234–238. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-2-234-238> <https://elibrary.ru/kxhccd>

**Для корреспонденции:** Репина Эльвира Фаридовна, e-mail: e.f.repina@bk.ru

**Участие авторов:** Байгильдин С.С. — сбор и обработка материала, написание текста; Репина Э.Ф., Каримов Д.О. — концепция и дизайн исследования, редактирование; Смолянкин Д.А., Хуснутдинова Н.Ю., Ахмадеев А.Р. — сбор и обработка материала; Кудояров Э.Р., Валова Я.В. — сбор и обработка материала, статистическая обработка. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех её частей.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

**Финансирование.** Работа проведена за счёт средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора «Гигиеническое научное обоснование минимизации рисков здоровью населения России» на 2016–2020 годы по теме 3.5, № гос. регистрации AAAA-A16-116022610045-4. Синтез композиции 5-гидроксис-6-метилурацила выполнен в соответствии с планом научно-исследовательских работ УФИХ УФИЦ РАН (№ гос. регистрации AAAA-A19-119011790021-4).

Поступила: 13.03.2024 / Поступила после доработки: 26.04.2024 / Принята к печати: 02.10.2024 / Опубликовано: 07.03.2025

Samat S. Baygildin, Elvira F. Repina, Denis A. Smolyankin, Eldar K. Kudoyarov,  
Nadezhda Yu. Khusnutdinova, Aidar R. Akhmadeev, Denis O. Karimov, Yana V. Valova

## Expression of the apoptosis marker caspase-3 in toxic hepatitis caused by tetrachloromethane in the liver

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

### ABSTRACT

**Introduction.** Despite significant attention to the study of the mechanisms of toxic liver damage in recent years, there are still very few effective treatment methods. Liver damage caused by carbon tetrachloride results in hepatocyte death, including apoptosis.

**The purpose of the study** was to study histological changes and immunohistochemical investigation of the expression of the apoptosis marker caspase-3 in a model of toxic liver injury induced by  $CCl_4$  with hepatoprotective correction.

**Materials and methods.** The experiment involved forty five rats divided into 9 groups.  $CCl_4$  oil solution was used as the toxicant for each rat group except the negative control groups. Hepatoprotective correction was performed using “Heptor”, “Mexidol”, and Oxymethyluracil. Correction was carried out twice (sacrifice after 24 hours) and four times (sacrifice after 72 hours) following a single  $CCl_4$  injection. Liver tissues underwent standard histological processing with hematoxylin-eosin staining and immunohistochemical analysis for caspase-3. The number of caspase-3-positive cells was evaluated using a pre-trained YOLOv5 deep learning model.

**Results.** After 24 hours of intoxication, no statistically significant differences in the number of caspase-3-positive cells on microphotographs were found in the experimental groups ( $p=0.087$ ). However, after 72 hours of  $\text{CCl}_4$  administration, statistically significant differences were observed between the groups ( $p=0.020$ ). Multiple comparisons showed statistically significant differences between the negative control and positive control groups ( $p=0.0076$ ), as well as between the positive control group and the group corrected with Oxymethyluracil ( $p=0.0254$ ).

**Limitations.** The limitations of the study include the evaluation of histological changes and the expression of the apoptosis marker caspase-3 only at 24 and 72 hours after intoxication without long-term studies, the use of a relatively small number of animals (45 rats), and the reliance solely on standard histological methods, immunohistochemical analysis, and deep learning techniques.

**Conclusion:** After 72 hours, the positive and negative control groups differed from each other, indicating an exacerbation of apoptosis processes after  $\text{CCl}_4$  administration. The group corrected with Oxymethyluracil demonstrated fewer caspase-3-positive cells compared to the positive control group, suggesting the hepatoprotective effect of this drug.

**Keywords:** immunohistochemistry; toxic hepatitis; antioxidants; computer vision; deep learning; caspase-3

**Compliance with ethical standards.** The study was approved by the Bioethical Commission of the Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, conducted in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experiments or for Other Scientific Purposes (ETS N 123), Directive of the European Parliament and the Council of the European Union 2010/63/EC of 22.09.2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

**For citation:** Baygildin S.S., Repina E.F., Smolyankin D.A., Kudoyarov E.R., Khusnutdinova N.Yu., Akhmadeev A.R., Karimov D.O., Valova Ya.V. Expression of the apoptosis marker caspase-3 in toxic hepatitis caused by tetrachloromethane in the liver. *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian journal*. 2025; 104(2): 234–238. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-2-234-238> <https://elibrary.ru/kxhccd> (In Russ.)

**For correspondence:** Elvira F. Repina, e-mail: e.f.repina@bk.ru

**Contribution:** Baygildin S.S. – collection and processing of material, writing a text; Repina E.F., Karimov D.O. – the concept and design of the study, editing; Smolyankin D.A., Khusnutdinova N.Yu., Akhmadeev A.R. – collection and processing of material; Kudoyarov E.R., Valova Ya.V. – collection and processing of material, statistical processing. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

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

**Acknowledgement.** The work was carried out at the expense of subsidies for the implementation of a state task within the framework of the sectoral research program of Rospotrebnadzor “Hygienic scientific substantiation of minimizing risks to the health of the population of Russia” for 2016–2020 on topic 3.5, state no. registration AAAA-A16-116022610045-4. The synthesis of the 5-hydroxy-6-methyluracil composition was carried out in accordance with the research plan of the Ufa Institute of Chemistry of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences (State Registration No. AAAA-A19-119011790021-4).

Received: March 13, 2024 / Revised: April 26, 2024 / Accepted: October 2, 2024 / Published: March 7, 2025

## Введение

Поражения печени могут быть вызваны токсичными химическими веществами, лекарственными препаратами, токсинами, инфекционными и другими агентами [1–3]. Изучению механизмов токсического повреждения печени в последние годы уделялось большое внимание, однако всё ещё крайне мало эффективных методов его лечения [1]. Тетрахлорметан ( $\text{CCl}_4$ ) широко используется в научных исследованиях для индукции повреждения печени: при введении этого вещества происходит массивная гибель гепатоцитов через такие пути, как апоптоз и некроз, а хроническое воздействие этого токсиканта может приводить к циррозу и гепатоцеллюлярной карциноме [4–6].  $\text{CCl}_4$  вызывает нарушение проницаемости мембран клеток и органелл, преобразуется с помощью цитохрома P450 2E1 в трихлорметилный радикал, что вызывает образование провоспалительных цитокинов и генерацию активных форм кислорода с дальнейшей активацией каспазы-12, -9, -3 [4, 5, 7, 8]. Апоптоз – это процесс, относящийся к программируемой гибели клеток и поддерживающий гомеостаз в организме [9–11]. Было показано, что апоптотические клетки обладают следующими морфологическими особенностями: пикноз, образование апоптотических телец и фрагментация ДНК через эндогенную эндонуклеазу [9]. Caspase-3 представляет собой протеолитический фермент, член семейства цистеиновых протеаз, разрезающих целевые белки в остатках аспаргиновой кислоты [12]. Активация этой эндопротеазы происходит через каспазу-8 и -9, мембранные или митохондриальные пути в ответ на различные стимулы [4, 10, 11]. Caspase-3, ключевой исполнитель апоптоза, расщепляет такие субстраты, как белки цитоскелета, ядерные белки и ферменты репарации ДНК (поли(АДФ-рибоза)-полимераза) [4, 12].

Коррекцию острого отравления  $\text{CCl}_4$  часто проводят с помощью веществ, обладающих антиоксидантными свойствами: линарин как антиоксидант снижает степень биохимических, иммунологических и гистологических изменений при профилактическом введении [13], полиметоксифлавоноид [5] и 3,3'-дииндолилметан [7] при коррекции снижают экспрессию каспазы-3 при иммуногистохимическом исследовании. Препараты «Коэнзим Q10» и «Силимарин»

также заметно улучшали биохимические и гистологические показатели и как антиоксиданты снижали уровни маркёров окислительного стресса [14]. Антиоксидантные свойства веществ могут быть неосновными при коррекции гепатотоксичности, например, бициклор показал некоторое снижение  $\text{CCl}_4$ -индуцированной гепатотоксичности путём восстановления гомеостаза железа и ингибирования ферроптоза [15].

Оксиметилурацил (5-гидроксиг-6-метилурацил) и его производные показали свою эффективность как гепатопротекторы на различных экспериментальных моделях поражения печени. Оксиметилурацил активирует некоторые ферменты антиоксидантной защиты, ингибирует процессы перекисного окисления липидов, усиливает репаративные процессы, стабилизирует мембраны, модулирует иммунитет [16, 17].

**Цель исследования** – изучение гистологических изменений и иммуногистохимического исследования экспрессии маркёра пролиферации caspase-3 на модели токсического поражения, вызванного тетрачлорметаном, при коррекции оксиметилурацилом.

## Материалы и методы

Экспериментальные исследования выполнены на 45 белых аутбредных крысах-самцах массой 200–220 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария на стандартном сухом корме с неограниченным доступом к воде. Крысы были разделены на 9 групп. Масляный раствор тетрачлорметана в дозе 2 г/кг массы тела подкожно был использован для каждой группы крыс, за исключением отрицательного контроля. Растительное масло применяли в качестве вещества отрицательного контроля. Коррекцию в терапевтических дозах проводили в опытных группах с помощью препаратов «Гептор» («Верофарм», Россия) в дозе 72 мг/кг массы тела, «Мексидол» («Фармософт», Россия) в дозе 50 мг/кг массы тела и «Оксиметилурацил» (Уфимский институт химии УФИЦ РАН, Россия) в дозе 50 мг/кг массы тела.

Животные опытных групп получали корректирующие препараты после введения токсиканта дважды (через 1 и 24 ч после воздействия токсиканта) либо четырёхкратно (через 1; 24; 48 и 72 ч). Животных выводили из эксперимента через 60 мин после последнего введения гепатопротектора. Усло-

вия проведения эксперимента и вывода из него животных осуществляли с соблюдением международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным. Биоматериал забирали в виде кусочка печени с погружением ткани в фиксирующий раствор — 10%-й нейтрально забуференный формалин. Кусочки печени подвергали стандартной гистологической проводке. Гистологические срезы были окрашены гематоксилин-эозином. Для иммуногистохимического исследования брали гистологические срезы 3–4 животных из группы и проводили демаскировку в цитратном буфере (pH 6,0). Активность эндогенной пероксидазы блокировали в 3%-м растворе перекиси водорода в течение 15 мин. Срезы инкубировали в течение ночи с первичными антителами caspase-3 (ab15580, 1 : 100, Abcam, США) согласно инструкции. Затем в течение часа инкубировали со вторичными козыми антителами (ab205718, 1 : 5000, Abcam, США). Двухкомпонентной системой детекции конъюгатов с пероксидазой хрена с использованием 3,3'-диаминобензидина (DAB) и субстратного буфера выявляли печёночные клетки, маркированные вторичными антителами. Контрокрасивание было пропущено для упрощения маркировки клеток при обучении и понижении количества ложноположительных результатов. Стёкла дегидратировали в последовательности ёмкостей со спиртами и заключали в монтирующую среду Limonene (ab104141, Abcam, США).

Количество caspase-3-позитивных клеток оценивали с помощью предварительно обученной модели глубокого обучения YOLOv5 на препаратах после иммуногистохимического окрашивания при двадцатикратном увеличении микроскопом Selenia при степени уверенности результатов обнаружения объектов 0,85. Среднее количество найденных позитивных клеток одного препарата определяли как общее количество найденных позитивных клеток на всех микрофотографиях одного препарата, делённое на общее количество всех микрофотографий одного препарата. Данные были сохранены в формате \*.csv.

Таблица 1 / Table 1

**Критерий Краскела — Уоллиса для независимых выборок для экспериментальных групп через 24 и 72 ч**

**Kruskal — Wallis test for independent samples for experimental groups after 24 and 72 hours**

Срок Time	Статистика критерия Criterion statistics	Асимптотическая значимость (двусторонний критерий) Asymptotic significance (2-tailed test) <i>p</i>
24 ч / hours	8.115316901408438	0.08744416257764169
72 ч / hours	11.56578947368422	0.02088987319270021

Статистические расчёты выполняли в программе Jupyter (версия 7.0.6) на языке программирования Python с использованием библиотек scipy.stats, pandas, seaborn, statsmodels. Для обнаружения статистически значимых различий между группами использовался тест Краскела — Уоллиса и апостериорный попарный тест Тьюки. Результаты считались значимыми при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты

Апоптотические тельца, меченные антителами против caspase-3 и окрашенные хромогеном DAB, выявлялись по всей паренхиме печени крыс, однако более значительное количество таких клеток было сосредоточено вблизи центральных вен. Этот маркёр выявлялся в коричневом цвете в цитоплазме печёночных клеток, занимая всё пространство клетки (рис. 1, 2, см. на вклейке). На микрофотографиях иммуногистохимических препаратов была выполнена детекция меченых клеток с помощью обученной модели YOLOv5. Затем для данных каждого времени забора после интоксикации (24 и 72 ч) был выполнен непараметрический

Таблица 2 / Table 2

**Множественное попарное сравнение Тьюки HSD для групп через 72 ч после интоксикации**

**Tukey's multiple pairwise comparison tests for groups in 72 hours after intoxication**

Группа / Group 1	Группа / Group 2	Среднее различие Mean Difference	Скорректированное значение <i>p</i> Adjusted <i>p</i> -value	Нижний предел доверительного интервала Lower Limit of Confidence Interval	Верхний предел доверительного интервала Upper Limit of Confidence Interval
Гептор / Neptor	Мексидол / Mexidol	−0.0156	0.9433	−0.0758	0.0446
Гептор / Neptor	Оксиметилурацил Oxymethyluracil	−0.0436	0.2473	−0.1038	0.0165
Гептор / Neptor	Отрицательный контроль Negative Control	−0.0536	0.1001	−0.1137	0.0066
Гептор / Neptor	Положительный контроль Positive Control	0.0225	0.8334	−0.0397	0.0846
Мексидол / Mexidol	Оксиметилурацил Oxymethyluracil	−0.028	0.6373	−0.0862	0.0301
Мексидол / Mexidol	Отрицательный контроль Negative Control	−0.038	0.3457	−0.0961	0.0202
Мексидол / Mexidol	Положительный контроль Positive Control	0.0381	0.3766	−0.0221	0.0982
Оксиметилурацил Oxymethyluracil	Отрицательный контроль Negative Control	−0.0099	0.9875	−0.068	0.0482
Оксиметилурацил Oxymethyluracil	Положительный контроль Positive Control	0.0661	0.0254*	0.006	0.1263
Отрицательный контроль Negative Control	Положительный контроль Positive Control	0.076	0.0076*	0.0159	0.1362

Примечание. \* — различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Note: \* — differences were considered statistically significant at  $p < 0.05$ .

тест Красселла — Уоллиса. Через 24 ч после интоксикации статистически значимые различия в количестве caspase-3-позитивных клеток в экспериментальных группах на микрофотографии не обнаруживались ( $p = 0,087$ ). Через 72 ч после введения тетрахлорметана были обнаружены статистически значимые различия между группами ( $p = 0,02$ ). Далее было выполнено множественное попарное сравнение с помощью критерия Тьюки из библиотеки statsmodels (Python) (рис. 3, см. на вклейке). Результаты анализа показали, что между группами отрицательного и положительного контроля обнаруживаются статистически значимые различия ( $p = 0,0076$ ). Аналогичные различия наблюдали между группой положительного контроля и группой с коррекцией оксиметилурацилом ( $p = 0,0254$ ) (табл. 1, 2).

## Обсуждение

Иммуногистохимический метод определения апоптоза используется повсеместно, поскольку при оптимальной стоимости имеет преимущества точности, объективности исследования и визуализации морфологии по сравнению с другими методами (световая и электронная микроскопия, электрофорез и проточная цитометрия) [12]. Как и метод TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick-end labelling), определение с помощью каспазы-3 позволяет локализовать апоптотические клетки в ткани [4, 9]. Определение активной каспазы-3 является более точным и прямым методом обнаружения апоптотических клеток по сравнению с определением через вторичные механизмы — фрагментацию ДНК (в случае TUNEL) или расщепление субстрата каспазы [12].

При интоксикации тетрахлорметаном обнаруживается гибель клеток в виде баллонной дегенерации вокруг центральной вены дольки печени [18, 19]. Гепатоциты вокруг центральной вены находятся в самых уязвимых условиях, поскольку имеют пониженное обеспечение кровью (кислородом). Именно гепатоциты этих зон ответственны за метаболизм ксенобиотиков [20], в результате которого тетрахлорметан превращается в свободный радикал. Апоптоз клеток проявляется гибелью единичных клеток, при этом минимально воздействуя на окружающие ткани [21].

Данный процесс присутствует всегда в нормальных условиях: он служит для обновления пула клеток, избавления от повреждённых, старых или инфицированных клеток [19]. Возможно, поэтому в группах положительного и отрицательного контроля среднее количество caspase-3-позитивных клеток приблизительно равно через 24 ч после интоксикации. Наряду с апоптозом при тетрахлорметановой интоксикации существуют и другие пути гибели: каспаза-независимый апоптоз, некроз [8, 13], митофагия [22], ферроптоз [15] и др. Эти пути гибели могут преобладать при тетрахлорметановой интоксикации. Через 72 ч группы положительного и отрицательного контроля различались между собой, что указывает на усиление процессов апоптоза после введения тетрахлорметана, описанное и другими исследователями [18, 23]. При этом группы с коррекцией не имели статистически значимых различий с группой отрицательного контроля, но лишь группа с коррекцией оксиметилурацилом отличалась от группы положительного контроля. Меньшее количество caspase-3-позитивных клеток в группе с коррекцией оксиметилурацилом по сравнению с группой положительного контроля связано, возможно, с меньшей интенсивностью гибели в период после интоксикации из-за гепатопротекторных свойств препарата [16, 17].

## Заключение

В данном исследовании мы обнаружили в иммуногистохимических препаратах, что токсическое воздействие тетрахлорметана на печень вызывает статистически значимое увеличение количества caspase-3-позитивных клеток через 72 ч после интоксикации, указывая на активацию апоптоза в клетках печени. Тем не менее коррекция токсического поражения с применением оксиметилурацила показала потенциал в снижении уровня клеточной гибели: группа с коррекцией оксиметилурацилом демонстрировала меньшее количество caspase-3-позитивных клеток по сравнению с группой положительного контроля, что свидетельствует о гепатопротекторном эффекте этого препарата. Необходимы дальнейшие иммуногистохимические исследования коррекции токсических поражений печени с применением оксиметилурацила.

## Литература

(п.п. 1–15, 18–20, 22, 23 см. References)

16. Тимашева Г.В., Репина Э.Ф., Каримов Д.О., Смолянкин Д.А., Хуснутдинова Н.Ю., Байгильдин С.С. Экспериментальная оценка эффективности применения оксиметилурацила при остром токсическом поражении печени. *Медицина труда и экология человека*. 2020; (4): 79–86. <https://doi.org/10.24412/2411-3794-2020-10411> <https://elibrary.ru/ebqurh>
17. Репина Э.Ф., Каримов Д.О. Опыт изучения новых комплексных соединений, обладающих антигипоксическими свойствами, и их использование для коррекции токсических повреждений печени. *Медицина труда и экология человека*. 2020; (4): 71–8. <https://doi.org/10.24412/2411-3794-2020-10410> <https://elibrary.ru/ycvmyu>
21. Родина А.С., Дуданова О.П., Шубина М.Э., Курбатова И.В., Топчиева Л.В. Апоптоз печеночных клеток при алкогольной болезни печени. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2019; (8): 48–52. <https://elibrary.ru/oydoge>

## References

1. Zhao J., He B., Zhang S., Huang W., Li X. Ginsenoside Rg1 alleviates acute liver injury through the induction of autophagy and suppressing NF- $\kappa$ B/NLRP3 inflammasome signaling pathway. *Int. J. Med. Sci.* 2021; 18(6): 1382–9. <https://doi.org/10.7150/ijms.50919>
2. Mihajlovic M., Vinken M. Mitochondria as the target of hepatotoxicity and drug-induced liver injury: molecular mechanisms and detection methods. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(6): 3315. <https://doi.org/10.3390/ijms23063315>
3. Ajoalabady A., Kaplowitz N., Lebeaupin C., Kroemer G., Kaufman R.J., Malhi H., et al. Endoplasmic reticulum stress in liver diseases. *Hepatology*. 2023; 77(2): 619–39. <https://doi.org/10.1002/hep.32562>
4. Liu H., Wang Z., Nowicki M.J. Caspase-12 mediates carbon tetrachloride-induced hepatocyte apoptosis in mice. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20(48): 18189–98. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i48.18189>
5. Chang S.N., Kim S.H., Dey D.K., Park S.M., Nasif O., Bajpai V.K., et al. 5-O-demethylnobiletin alleviates CCl<sub>4</sub>-induced acute liver injury by equilibrating ROS-mediated apoptosis and autophagy induction. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(3): 1083. <https://doi.org/10.3390/ijms22031083>
6. Nazhvani F.D., Haghani I., Nazhvani S.D., Namazi F., Ghaderi A. Regenerative effect of mesenteric fat stem cells on ccl4-induced liver cirrhosis, an experimental study. *Ann. Med. Surg. (Lond.)*. 2020; 60: 135–9. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2020.10.045>
7. Munakarmi S., Chand L., Shin H.B., Jang K.Y., Jeong Y.J. Indole-3-carbinol derivative DIM mitigates carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice by inhibiting inflammatory response, apoptosis and regulating oxidative stress. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(6): 2048. <https://doi.org/10.3390/ijms21062048>
8. Hamid M., Abdulrahim Y., Abdelnasir A., Khalid M., Mohammedsalih K.M., Omer N.A., et al. Protective effect of gum Arabic on liver oxidative stress, inflammation and apoptosis induced by CCl<sub>4</sub> in vivo. *EAS J. Nurs. Midwif.* 2021; 3(1): 27–3.
9. Guo M., Lu B., Gan J., Wang S., Jiang X., Li H. Apoptosis detection: a purpose-dependent approach selection. *Cell Cycle*. 2021; 20(11): 1033–40. <https://doi.org/10.1080/15384101.2021.1919830>
10. Ouyang Z., Yang B., Yi J., Zhu S., Lu S., Liu Y., et al. Exposure to Fluoride induces apoptosis in liver of ducks by regulating Cyt-C/Caspase 3/9 signaling pathway. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2021; 224: 112662. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112662>
11. Nomier Y.A., Alshahrani S., Elsbahy M., Asaad G.F., Hassan A., El-Dakrouy W.A. Ameliorative effect of chitosan nanoparticles against carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity in Wistar rats. *Pharm. Biol.* 2022; 60(1): 2134–44. <https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2136208>
12. Khodavirdipour A., Piri M., Jabbari S., Keshavarzi S., Safaralizadeh R., Alikhani M.Y. Apoptosis detection methods in diagnosis of cancer and

- their potential role in treatment: advantages and disadvantages: a review. *J. Gastrointest. Cancer*. 2021; 52(2): 422–30. <https://doi.org/10.1007/s12029-020-00576-9>
13. Li L., Lan Y., Wang F., Gao T. Linarin protects against CCl<sub>4</sub>-induced acute liver injury via activating autophagy and inhibiting the inflammatory response: involving the TLR4/MAPK/Nrf2 pathway. *Drug Des. Devel. Ther.* 2023; 17: 3589–604. <https://doi.org/10.2147/dddt.s433591>
  14. Lamia S.S., Emran T., Rikta J.K., Chowdhury N.I., Sarker M., Jain P., et al. Coenzyme Q10 and silymarin reduce CCl<sub>4</sub>-induced oxidative stress and liver and kidney injury in ovariectomized rats-implications for protective therapy in chronic liver and kidney diseases. *Pathophysiology*. 2021; 28(1): 50–63. <https://doi.org/10.3390/pathophysiology28010005>
  15. Zhao T., Yu Z., Zhou L., Wang X., Hui Y., Mao L., et al. Regulating Nrf2-GPx4 axis by bicyclol can prevent ferroptosis in carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Cell Death Discov.* 2022; 8(1): 380. <https://doi.org/10.1038/s41420-022-01173-4>
  16. Timasheva G.V., Repina E.F., Karimov D.O., Smolyankin D.A., Khusnutdinova N.Y., Baigildin S.S. Experimental estimation of the efficiency of oxymethyluracil in acute toxic liver damage. *Meditsina truda i ekologiya cheloveka*. 2020; (4): 79–86. <https://doi.org/10.24412/2411-3794-2020-10411> <https://elibrary.ru/ebqurh> (in Russian)
  17. Repina E.F., Karimov D.O. Experience of studying new complex compounds with antihypoxic properties and their use for correcting toxic liver damage. *Meditsina truda i ekologiya cheloveka*. 2020; (4): 71–8. <https://doi.org/10.24412/2411-3794-2020-10410> <https://elibrary.ru/ycvmyu> (in Russian)
  18. Kalashnikova S.A., Goryachev A.N., Novochadov V.V., Shchyogolev A.I. Thyroid modulation of TNF-dependent apoptosis and formation of chronic liver disease in endogenous intoxication in rats. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2009; 147(2): 240–4. <https://doi.org/10.1007/s10517-009-0484-4>
  19. Li Y., Zhu J., Yu Z., Zhai F., Li H., Jin X. Regulation of apoptosis by ubiquitination in liver cancer. *Am. J. Cancer Res.* 2023; 13(10): 4832–71. <https://doi.org/10.1002/cprz1.662>
  20. Sitte Z.R., DiProspero T.J., Lockett M.R. Evaluating the impact of physiologically relevant oxygen tensions on drug metabolism in 3D hepatocyte cultures in paper scaffolds. *Curr. Protoc.* 2023; 3(2): e662. <https://doi.org/10.1002/cprz1.662>
  21. Rodina A.S., Dudanova O.P., Shubina M.E., Kurbatova I.V., Topchieva L.V. The liver cell apoptosis in alcoholic liver disease. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*. 2019; (8): 48–52. <https://elibrary.ru/oymdogc> (in Russian)
  22. Bi Y., Liu S., Qin X., Abudureyimu M., Wang L., Zou R., et al. FUNDC1 interacts with GPx4 to govern hepatic ferroptosis and fibrotic injury through a mitophagy-dependent manner. *J. Adv. Res.* 2024; 55: 45–60. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2023.02.012>
  23. Ma C., Han L., Wu J., Tang F., Deng Q., He T., et al. MSCs cell fates in murine acute liver injury and chronic liver fibrosis induced by carbon tetrachloride. *Drug Metab. Dispos.* 2022; 50(10): 1352–60. <https://doi.org/10.1124/dmd.122.000958>

## Сведения об авторах

**Баигильдин Самат Сагадатович**, канд. биол. наук, науч. сотр. отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: baigildin.samat@yandex.ru

**Репина Эльвира Фаридовна**, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: e.f.repina@bk.ru

**Смолянкин Денис Анатольевич**, мл. науч. сотр. отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: smolyankin.denis@yandex.ru

**Кудояров Эльдар Ренатович**, мл. науч. сотр. отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: e.kudoyarov@yandex.ru

**Хуснутдинова Надежда Юрьевна**, науч. сотр. отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: h-n-yu@yandex.ru

**Ахмадеев Айдар Ринатович**, мл. науч. сотр. отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: dgaar87@gmail.com

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

**Валова Яна Валерьевна**, канд. биол. наук, мл. науч. сотр. отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: q.juk@ya.ru

## Information about the authors

**Samat S. Baygildin**, PhD (Biology), researcher at the Department of toxicology and genetics with experimental clinic of laboratory animals, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-1856-3173> E-mail: baigildin.samat@yandex.ru

**Elvira F. Repina**, PhD (Medicine), senior researcher at the Department of toxicology and genetics with experimental clinic of laboratory animals, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-8798-0846> E-mail: e.f.repina@bk.ru

**Denis A. Smolyankin**, junior researcher at the Department of toxicology and genetics with experimental clinic of laboratory animals, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-7957-2399> E-mail: smolyankin.denis@yandex.ru

**Eldar R. Kudoyarov**, junior researcher at the Department of toxicology and genetics with experimental clinic of laboratory animals, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-2092-1021> E-mail: e.kudoyarov@yandex.ru

**Nadezhda Yu. Khusnutdinova**, researcher at the Department of toxicology and genetics with experimental clinic of laboratory animals, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-5596-8180> E-mail: h-n-yu@yandex.ru

**Aidar R. Akhmadeev**, junior researcher at the Department of Toxicology and Genetics with an experimental laboratory animal clinic, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-7309-4990> E-mail: dgaar87@gmail.com

**Denis O. Karimov**, PhD (Medicine), head of the Department of toxicology and genetics with experimental clinic of laboratory animals, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-0039-6757> E-mail: karimovdo@gmail.com

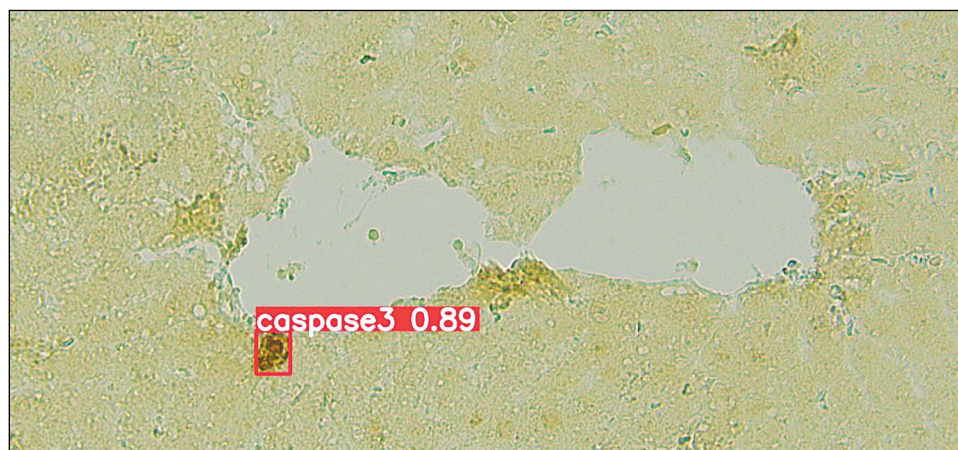
**Yana V. Valova**, PhD (Biology), junior researcher at the Department of toxicology and genetics with experimental clinic of laboratory animals, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-6605-9994> E-mail: q.juk@ya.ru



**К статье С.С. Байгильдина и соавт.**  
*To the article by Samat S. Baygildin et al.*

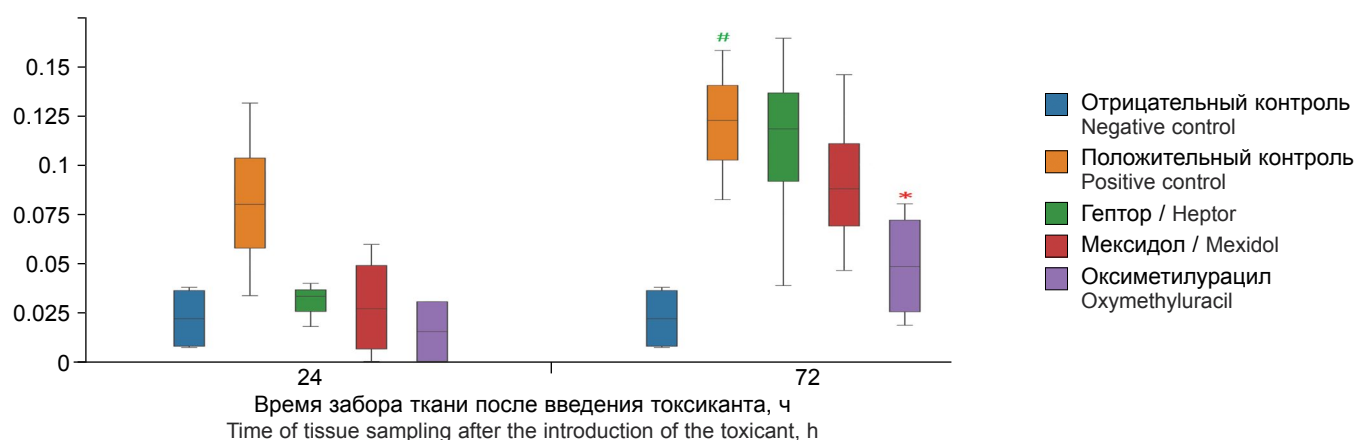
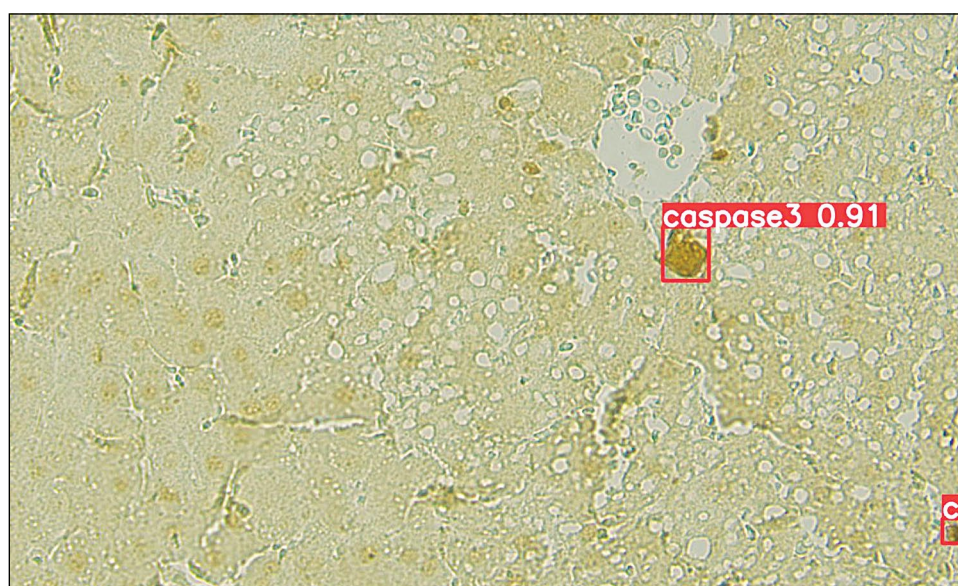
**Рис. 1.** Репрезентативная микрофотография срезов печени крыс, получивших однократную дозу  $\text{CCl}_4$  и умерщвлённых через 24 ч после введения  $\text{CCl}_4$ . Иммуногистохимическое выявление белка caspase-3. Увеличение  $\times 200$ .

**Fig. 1.** Representative microphotographs of liver sections in rats treated with a single dose of  $\text{CCl}_4$  and sacrificed 24 hours later. Immunohistochemical detection of caspase-3.  $\times 200$ .



**Рис. 2.** Репрезентативные микрофотографии срезов печени крыс, получивших однократную дозу  $\text{CCl}_4$  и умерщвлённых через 72 ч после введения  $\text{CCl}_4$ . Иммуногистохимическое выявление белка caspase-3. Увеличение  $\times 200$ .

**Fig. 2.** Representative microphotographs of liver sections in rats treated with a single dose of  $\text{CCl}_4$  and sacrificed 72 hours later. Immunohistochemical detection of caspase-3.  $\times 200$ .



**Рис. 3.** Среднее количество ( $n$ ) caspase-3-позитивных клеток на одно поле зрения через 24 и 72 ч после интоксикации тетрахлорметаном. Данные представлены в виде диаграммы размаха («ящик» содержит данные квартилей, «усики» – остальные данные без выбросов).  
 \* – статистически значимые различия с данными животных группы положительного контроля при  $p < 0,05$ ; # – статистически значимые различия с данными животных группы отрицательного контроля при  $p < 0,05$ .

**Fig. 3.** Mean count ( $n$ ) of caspase-3-positive cells per field of view at 24 and 72 hours after tetrachloromethane intoxication. The data are presented in a boxplot format (the “box” contains quartile data, “whiskers” represent other data without outliers).  
 \* –  $p < 0.05$  as compared with  $\text{CCl}_4$  negative control, # –  $p < 0.05$  as compared with vehicle-treated control.