DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-9-1011-1014
Original article

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

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

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *CASP7* И *CHEK1* ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ, ИНДУЦИРОВАННОМ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ, НА ФОНЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРОВ

Федеральное бюджетное учреждение науки «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа

Введение. *Изучено влияние гепатопротекторных средств на экспрессию генов, участвующих в регуляции апоптоза и клеточного цикла (Casp7 и Chek1) в условиях токсического действия четыреххлористого углерода (тетрахлорметан, CCl_4).*

Материал и методы. *Исследования проводили на беспородных самцах крыс (n = 70), разделённых на группы контроля, модельную с CCl_4-индуцированным токсическим гепатитом и 3 опытных, в которых осуществлялось введение препаратов (гептор, мексидол и оксиметилурацил) за 1 ч до применения CCl_4. Через 24 и 72 ч после введения CCl_4 животных декапитировали и извлекали печень. С помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени изучена экспрессия генов Casp7 и Chek1 в печени крыс.*

Результаты. *Токсическое поражение печени крыс CCl_4 через 24 ч приводило к повышению уровня экспрессии гена Chek1. Применение гепатопротекторных препаратов практически не изменяло экспрессию генов Casp7 и Chek1 относительно группы, получавшей только CCl_4. В то же время при сравнении эффекта мексидола наблюдались значимые различия в экспрессии исследуемых генов между двумя временными точками 24 и 72 ч. Воздействие гептора выявило изменения в уровне экспрессии гена Casp7 при сравнении показателей через 24 и 72 ч после введения.*

Заключение. *Введение гепатопротекторных средств животным, получавшим CCl_4, не оказывало существенного влияния на транскрипционную активность генов Casp7 и Chek1.*

Ключевые слова: *токсическое поражение печени; четырёххлористый углерод; гепатопротекторы; экспрессия генов.*

Для цитирования: Мухаммадиева Г.Ф., Кутлина Т.Г., Каримов Д.О., Валова Я.В., Репина Э.Ф., Хуснутдинова Н.Ю. Анализ изменения экспрессии генов *Casp7* и *Chek1* при токсическом поражении печени, индуцированном тетрахлорметаном, на фоне гепатопротекторов. *Гигиена и санитария.* 2019; 98(9): 1011-1014. DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-9-1011-1014

Для корреспонденции: *Мухаммадиева Гузель Фанисовна*, кандидат биол. наук, старший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа. E-mail: ufniimt@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Мухаммадиева Г.Ф., Каримов Д.О.; сбор и обработка материала – Кутлина Т.Г., Валова Я.В., Хуснутдинова Н.Ю.; статистическая обработка – Каримов Д.О., Мухаммадиева Г.Ф., Репина Э.Ф.; написание текста – Мухаммадиева Г.Ф.; редактирование – Мухаммадиева Г.Ф., Каримов Д.О., Репина Э.Ф.

Поступила 01.07.2019
Принята к печати 23.07.19
Опубликована: октябрь 2019

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

ANALYSIS OF CHANGES IN *CASP7* AND *CHEK1* GENES EXPRESSION IN LIVER TOXIC DAMAGE INDUCED BY TETRACHLORMETHANE AGAINST THE BACKGROUND OF HEPATOPROTECTORS

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

Introduction*. The effect of hepatoprotectors on the expression of genes involved in the regulation of apoptosis and the cell cycle (Casp7 and Chek1) under the toxic effects of carbon tetrachloride (carbon tetrachloride, CCl4) was studied.*

Material and methods. *Studies were performed in male albino mongrel rats (n=70), assigned to the control group, modulated with $CC1_4$-induced toxic hepatitis and three experimental ones in which the administration of drugs (Heptor, Mexidol and Methyluracil) was carried out 1 hour before CCl4 administration. After 24 and 72 h of CCl_4 administration animals were decapitated and the liver was removed. The expression of Casp7 and Chek1 genes in rat liver was studied by real-time using polymerase chain reaction with reverse transcription.*

Results. *Toxic damage to the liver of rats receiving CCl_4 after 24 h resulted an increase in the expression of the Chek1 gene. The use of hepatoprotective drugs practically did not alter the expression of the Casp7 and Chek1 genes relative to the group that received only CCl_4. At the same time, when comparing the effect of Mexidol, there were significant differences in the expression of the genes under study between two time points of 24 and 72 h. The effect of Heptor revealed changes in the expression level of the Casp7 gene when comparing the results 24 and 72 h after administration.*

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-9-1011-1014
Оригинальная статья

Conclusion. *The administration of hepatoprotectors to animals receiving CCl_4 did not significantly affect the transcriptional activity of the Casp7 and Chek1 genes.*

K e y w o r d s : *liver toxic damage; carbon tetrachloride; hepatoprotectors; gene expression.*

For citation: Mukhammadieva G.F., Kutlina T.G., Karimov D.O., Valova Ya.V., Repina E.F., Khusnutdinova N.Yu. Analysis of changes in *CASP7* AND *CHEK1* genes expression in liver toxic damage induced by tetrachloromethane against the background of hepatoprotectors. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2019; 98(9): 1011-1014. (In Russian). DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-9-1011-1014

For correspondence: *Guzel F. Mukhammadieva*, MD, Ph.D., senior researcher of the department of toxicology and genetics with an experimental clinic of laboratory animals Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation. E-mail: ufniimt@mail.ru

Information about authors:
Mukhammadieva G.F., http://orcid.org/0000-0002-7456-4787; Kutlina T.G., https://orcid.org/0000-0002-1236-8246
Karimov D.O., http://orcid.org/0000-0003-0039-6757; Valova Ya.V., http://orcid.org/0000-0001-6605-9994
Repina E.F., https://orcid.org/0000-0001-8798-0846; Khusnutdinova N.Yu., https://orcid.org/0000-0001-5596-8180

Acknowledgment. The study had no sponsorship.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Contribution: The concept and design of the study – Mukhammadieva G.F., Karimov D.O.; Collection and processing of material – Kutlina TG, Valova Ya.V., Khusnutdinova N.Yu.; Statistical processing – Karimov D.O., Muhammadieva G.F., Repin E.F.; Writing a text – Mukhammadieva G.F.; Editing – Muhammadieva G.F., Karimov D.O., Repina E.F.

Received: July 07, 2019
Accepted: July 23, 2019
Publilshed: October, 2019

Введение

Токсические поражения печени – большая группа заболеваний, характеризующихся морфологическими изменениями ткани органа и связанными с ними обменными нарушениями. По мере индустриализации растёт количество токсических поражений печени, обусловленных загрязнением окружающей среды, профессиональными и бытовыми вредностями. К веществам, способным вызывать поражения печени, относится более 40 групп химических веществ, в том числе производственные токсиканты, компоненты ракетных топлив, медикаментозные средства, природные соединения, минералы, отходы химической и фармацевтической промышленности [1, 2]. Широкое распространение получило экспериментальное моделирование острого и хронического поражения печени, индуцированного четырёххлористым углеродом (тетрахлорметан, CCl_4). Введение CCl_4 животным приводит к жировой и белковой дистрофии печёночных клеток и проявлению очагов некроза [3, 4].

В патогенезе токсического поражения печени большое значение придаётся активации перекисного окисления липидов, окислительному стрессу и поражению фосфолипидов мембран митохондрий [5]. Существенный интерес представляет поиск средств с антиоксидантными и гепатопротекторными свойствами, способных повышать устойчивость печени к воздействию токсических веществ. Антиоксиданты могут подавлять или замедлять процессы свободнорадикального окисления, восстанавливая разрушенные соединения. К лекарственным средствам, обладающим указанными свойствами, относятся гептор, мексидол и метилурацил. В ряде исследований показана их антиоксидантная эффективность при поражении печени [6–8].

Для понимания молекулярных механизмов, лежащих в основе повреждения печени и её метаболической адаптации к воздействию токсикантов, необходимо исследование генов, вовлечённых в регуляцию этих процессов. Центральную роль в реализации программы апоптотической клеточной гибели играют каспазы – семейство цистеиновых протеаз [9]. Эффекторная каспаза-7, которая кодируется геном *Casp7*, относится к участникам финальной стадии процесса апоптоза [10]. Каспаза-7 может выступать в роли ключевого регулятора регенерации ткани. Так, от сигналов, запускаемых каспазой-7, во многом зависит регенерация печени [11]. Активная каспаза-7 локализована в митохондриальной и микросомальной фракции гепатоцитов мышей [12]. Основными передатчиками точек контроля за повреждениями и репликацией ДНК считаются серин-треониновые киназы Chek1 и Chek2, активация которых зависит от активности протеинкиназ ATR и ATM [13]. Ген *Chek1* кодирует чекпойнт-киназу 1, которая принимает участие в контроле клеточного цикла, блокируя клетки в S- и G2/M-фазах в ответ на повреждения ДНК. Основным механизмом действия Chek1 на клеточный цикл является инактивация фосфатаз семейства Cdc25 [14].

Цель исследования – изучение влияния гепатопротекторных препаратов (гептор, мексидол и метилурацил) на экспрессию генов, вовлечённых в регуляции апоптоза (*Casp7*) и клеточного цикла (*Chek1*) при экспериментальном токсическом поражении печени, вызванном четырёххлористым углеродом.

Материал и методы

Исследование проводили на самцах белых беспородных крыс (n = 70) массой 170–190 г. Животные были разделены на пять групп по 7 особей в каждой. Условия содержания и кормления были одинаковы для всех групп животных. Крысам 1-й (контрольной) группы подкожно вводили 1 мл оливкового масла, крысам 2-й группы – 50% масляный раствор CCl_4 в дозе 2 г/кг, животным 3-й группы наряду с CCl_4 вводили внутрибрюшинно гептор в дозе 72 мг/кг, животным 4-й группы наряду с CCl_4 вводили подкожно мексидол в дозе 50 мг/кг, а 5-й группе наряду с CCl_4 вводили перорально оксиметилурацил (ОМУ) в дозе 50 мг/кг. Все препараты вводили крысам за 1 ч до применения CCl_4. Животных выводили из эксперимента путём декапитации под CO_2-наркозом через 24 и 72 ч после введения CCl_4 с соблюдением всех требований и биоэтических норм. Печень извлекали и помещали в жидкий азот.

Тотальную РНК выделяли из ткани печени с помощью реагента ExtractRNA («Евроген», Россия) в соответствии с инструкциями производителя. Реакцию обратной транскрипции осуществляли с использованием готового набора реактивов MMLV RT kit и праймеров олиго(dT)15 («Евроген», Россия). Уровень экспрессии генов *Casp7* и *Chek1* оценивали методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) в присутствии красителя SYBR Green («Евроген», Россия») на амплификаторе Rotor-Gene Q («Qiagen», Германия). В качестве гена сравнения использовали ген домашнего хозяйства *Gapdh*. Праймеры разрабатывали с помощью программного обеспечения Primer-BLAST и синтезировали в фирме «Евроген» (Россия).

Результаты обрабатывались с использованием программы IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM, США). Полученные данные проверяли на нормальность распределения с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Применяли дисперсионный анализ (ANOVA). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты сравнительного анализа экспрессии генов *Casp7* и *Chek1* в группах животных, получавших CCl_4 и гепатопротекторные препараты, по отношению к контролю представлены на рис. 1, 2. Полученные данные продемонстрировали повышение кратности экспрессии гена *Casp7* через 24 ч после введения CCl_4 от –0,12 в контрольной группе до 0,62 (p = 0,321) (см. рис. 1). При применении гепатопротекторов происходило умеренное

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-9-1011-1014
Original article

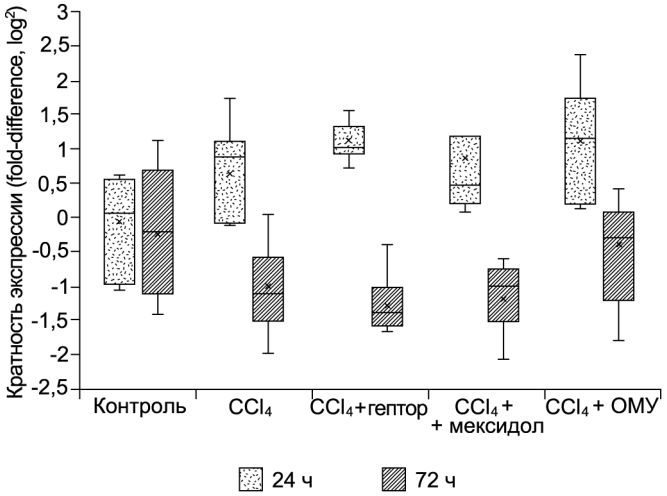

Рис. 1. Изменение экспрессии гена *Casp7* в печени крыс в условиях CCl_4-индуцированного повреждения под действием гептора, мексидола и оксиметилурацила.

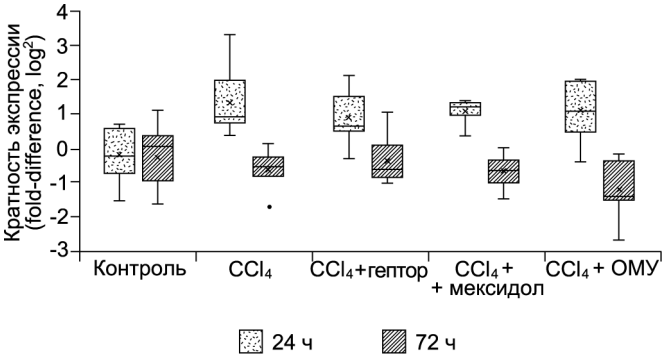

Рис. 2. Изменение экспрессии гена *Chek1* в печени крыс в условиях CCl_4-индуцированного повреждения под действием гептора, мексидола и оксиметилурацила.

усиление экспрессии относительно группы, получавшей только CCl_4 ($p > 0,05$). При этом отмечалось практически одинаковое воздействие препаратов на уровень экспрессии гена *Casp7*: кратность экспрессии у крыс, получавших гептор, мексидол и ОМУ, составила 1,09; 0,86 и 1,09 соответственно.

Через 72 ч воздействие CCl_4 сопровождалось отчётливым снижением кратности экспрессии гена *Casp7* до –1,04 по сравнению с контролем, где данный показатель составил –0,25, однако отмеченные различия не достигли статистической значимости ($p = 0,208$). Эта же тенденция наблюдалась и в отношении изменений экспрессии *Casp7* при применении гептора и мексидола, показатели составили –1,29 и –1,20 соответственно. Гептор и мексидол проявляли небольшой подавляющий эффект на экспрессию гена *Casp7* через 72 ч в отличие от слабого стимулирующего эффекта через 24 ч ($p < 0,05$). Тогда как под влиянием ОМУ уровень экспрессии повысился, практически достигнув контрольных значений (–0,42) ($p = 0,433$).

Несколько иной динамикой отличалась экспрессия гена *Chek1*. Через 24 ч после введения CCl_4 в печени крыс наблюдалось статистически значимое повышение уровня транскрипции *Chek1* по сравнению с контрольной группой (–0,18 и 1,30 соответственно; $p = 0,012$) (см. рис. 2). У животных, получавших гепатопротекторы, отмечалось небольшое снижение экспрессии гена *Chek1* по отношению к аналогичному показателю у крыс, получавших только CCl_4 ($p > 0,05$).

По сравнению с контрольной группой экспрессия гена *Chek1* через 72 ч после воздействия CCl_4 имела тенденцию к незначительному снижению в диапазоне от –0,25 до –0,58 ($p = 0,917$). Наряду с этим в ответ на введение животным препаратов транскрипционная активность гена *Chek1* в печени через 72 ч практически не изменялась относительно группы, получавшей только CCl_4 ($p > 0,05$). Причём кратность экспрессии гена *Chek1* была ниже спустя 72 ч после применения мексидола, чем через 24 ч, составив –0,63 и 1,10 соответственно ($p < 0,05$).

Обсуждение

Известно, что CCl_4 индуцирует развитие окислительного стресса и повреждает клетки печени. Нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза при токсическом поражении печени может быть причиной индукции апоптоза, для которого характерна активация каспазного каскада [15]. Можно предположить, что индуцированный CCl_4 окислительный стресс способен вызывать опосредованную каспазой апоптотическую клеточную гибель гепатоцитов. Механизмы апоптоза до конца не изучены, но многочисленные исследования указывают на каспазный каскад в качестве основного ключевого регулятора запрограммированной гибели клеток [16–18].

В нашей работе при введении CCl_4 через 24 ч зафиксировано небольшое повышение уровня экспрессии гена *Casp7* в печени крыс, которое через 72 ч сменялось незначительным снижением. Можно предположить, что 72 ч недостаточно, чтобы вызвать значимые изменения в паттернах экспрессии гена *Casp7*. В то же время показано, что применение гепатопротекторов существенно не влияет на активность гена *Casp7* в обеих временных точках. Однако слабый стимулирующий эффект гептора и мексидола на экспрессию исследуемого гена через 24 ч меняется на небольшой подавляющий через 72 ч, что указывает на низкий уровень апоптоза гепатоцитов и неблагоприятные условия для развития каспазного каскада.

Многочисленные исследования указывают на применимость ингибиторов каспаз для лечения различных заболеваний, связанных с усилением апоптоза клеток [19, 20]. Вместе с тем роль и клиническое значение апоптоза при многих заболеваниях печени всё ещё остаются противоречивыми. Тем не менее есть данные, что ингибирование каспаз предотвращает апоптоз, но при этом может модулировать некроптоз и другие каспазнезависимые пути апоптоза [21–23]. Ингибиторы каспаз, особенно при длительном применении, могут быть менее эффективными, чем предполагалось ранее на основании краткосрочных экспериментов, наряду с этим они способны вызывать выраженный воспалительный ответ при переходе в некроз [24]. Ингибирование каспаз эффективно во многих экспериментальных моделях, однако ни установление определённой патологической роли, ни использование ингибиторов каспаз в качестве лекарственных препаратов не было успешным на моделях повреждения печени человека [25, 26].

Наши результаты продемонстрировали значимое усиление экспрессии гена *Chek1* через 24 ч после введения крысам CCl_4. Вероятно, это объясняется тем, что при ДНК-повреждающих воздействиях активируется сенсорная киназа ATR, которая фосфорилирует киназу Chek1, участвующую в обеспечении реакций репарации при повреждении ДНК, а также в апоптозе клеток [13]. Применение же гепатопротекторных препаратов практически не изменяло транскрипционной активности гена *Chek1* ни через 24 ч, ни через 72 ч. Но уровень экспрессии этого гена оказался ниже через 72 ч после использования мексидола. Согласно опубликованным данным, фосфорилированная форма Chek1 инактивирует и фосфорилирует белки семейства Cdc25, что приводит к остановке прогрессии клеточного цикла в S- и G2/M-фазах [27]. Проведённые ранее исследования показали, что ингибирование Chek1 вызывает активацию Cdk1/2, при этом не происходит остановки клеточного цикла до завершения репарации клеток, в результате чего повреждённые клетки переходят из S-фазы в G2-фазу и из G2 в аберрантный митоз (например, митотическая катастрофа) [28]. Поскольку подобные события часто приводят к гибели клеток, ингибиторы Chek1 были протестированы в клинических испытаниях для оценки их терапевтического эффекта при многих заболеваниях [29, 30].

DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-9-1011-1014
Оригинальная статья

Заключение

В условиях проведённого эксперимента четырёххлористый углерод, введённый отдельно и на фоне трёх различных гепатопротекторов, практически не влиял на экспрессию генов *Casp7* и *Chek1*, участвующих в контроле апоптоза и клеточного цикла. В то же время обнаружены значимые различия при сравнении изменений экспрессии исследуемых генов через 24 и 72 ч после воздействия препаратов. Необходимы дальнейшие исследования, направленные на выявление потенциальных генов, вовлечённых в ответ на действие гепатопротекторов, что позволит обосновать отдельные механизмы реализации эффектов препаратов и более детально охарактеризовать их действие.

Литература
(пп. 3, 9–30 см. References)

1. Куценко С.А. *Основы токсикологии: научно-методическое издание*. СПб.: Фолиант; 2004. 570 с.
2. Антоненко О.М. Токсические поражения печени: пути фармакологической коррекции. *Медицинский совет*. 2013; (6): 45–51.
4. Шабанов П.Д., Султанов В.С., Лебедев В.А., Бычков Е.Р., Прошин С.Н. Эффекты полипренольного препарата Ропрен при токсическом поражении печени и головного мозга у крыс: изучение функционального состояния печени, поведения и метаболизма моноаминов в мозге. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* 2010; 8 (3): 7–30.
5. Кравченко Л.В., Трусов Н.В., Ускова М.А, Аксенов И.В., Авреньева Л.И., Гусева Г.В. и др. Характеристика острого токсического действия четырёххлористого углерода как модели окислительного стресса. *Токсикологический вестник.* 2009; (1): 12–7.
6. Катикова О.Ю., Рузов В.И., Смирнов Л.Д. Коррекция мексидолом гепатотоксичности, вызываемой у крыс введением туберкулостатиков. *Биомедицинская химия*. 2004; 50 (6): 600–4.
7. Рагулина В.А., Покровский М.В., Орлова Е.А., Конопля А.И., Авдеева Е.В. Локтионов А.Л. Антиоксидантные эффекты производных 3-гидроксипиридина в норме и при острой тетрахлорметановой гепатопатии. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2010; (7): 124–7.
8. Бакиров А.Б., Мышкин В.А., Репина Э.Ф., Каримов Д.О., Гимадиева А.Р., Тимашева Г.В. и др. Преодоление гепатотоксичности стойких органических загрязнителей: роль антиоксидантов пиримидиновой структуры. *Гигиена труда и медицинская экология*. 2016; 52 (3): 3–18.

References

1. Kutsenko S.A. *Bases of toxicology: scientific and methodical edition. [Osnovy toksikologii: nauchno-metodicheskoe izdanie]*. St. Petersburg: Foliant; 2004. 570 p. (in Russian)
2. Antonenko O.M. Hepatotoxicity: options for pharmacological correction. *Meditsinskiy sovet.* 2013; (6): 45–51. (in Russian)
3. Weber L.W., Boll M., Stampfl A. Hepatotoxity and mechanism of action of haloalcanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Ref Toxicol*. 2003; 33 (2): 105–36.
4. Shabanov P.D., Soultanov V.S., Lebedev V.A., Bychkov E.R., Proshin S.N. Effects of polyprenol drug ropren in a model of subacute hepatosis with encephalopathy in rats: study of functional state of the liver, behavior and monoamines turnover in the brain. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii.* 2010; 8 (3): 7–30. (in Russian)
5. Kravchenko L.V., Trusov N.V., Uskova M.A., Aksyonov I.B., Avrenyeva L.I., Guseva G.V. et al. Characterization of carbon tetrachloride acute toxicity as a model of oxidative stress. *Toksikologicheskiy vestnik.* 2009; (1): 12–7. (in Russian)
6. Katikova O.J., Ruzov V.I., Smirnov L.D. Correction by 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinat of the gepatotoxyc, caused at rats introduction tuberculostatics. *Biomeditsinskaya khimiya.* 2004; 50 (6): 600–4. (in Russian)
7. Ragulina V.A., Pokrovsky M.V., Orlova E.A., Konoplya A.I., Avdeeva E.V. Loktionov A.L. Antioxidatic effects of derivatives 3-gidroksipiridina in norm and at the acute tetrachlormethane hepatopathies. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik.* 2010; (7): 124–7. (in Russian)
8. Bakirov A.B., Myshkin V.A., Repina E.F., Karimov D.O., Gimadieva A.R., Timasheva G.V. et al. Overcoming the hepatotoxicity of persistent organic pollutants: the role of antioxidants of pyrimidine structure. *Gigiena truda i meditsinskaya ekologiya*. 2016; 52 (3): 3–18. (in Russian)
9. Fuchs Y., Steller H. Programmed cell death in animal development and disease. *Cell*. 2011; 147 (4): 742–58.
10. Lamkanfi M., Kanneganti T.D. Caspase-7: a protease involved in apoptosis and inflammation. *Int J Biochem Cell Biol*. 2010; 42 (1): 21–4.
11. Li F., Huang Q., Chen J., Peng Y., Roop D.R., Bedford J.S. et al. Apoptotic cells activate the «phoenix rising» pathway to promote wound healing and tissue regeneration. *Sci Signal*. 2010; 3 (110): ra13. DOI: 10.1126/scisignal.2000634.
12. Chandler J.M., Cohen G.M., MacFarlane M. Different subcellular distribution of caspase-3 and caspase-7 following Fas-induced apoptosis in mouse liver. *J Biol Chem*. 1998; 273 (18): 10815–8.
13. Smith J., Tho L.M., Xu N., Gillespie D.A. The ATM-Chk2 and ATR-Chk1 pathways in DNA damage signaling and cancer. *Adv Cancer Res*. 2010; 108: 73–112.
14. Beck H., Nähse V., Larsen M.S., Groth P., Clancy T., Lees M. et al. Regulators of cyclin-dependent kinases are crucial for maintaining genome integrity in S phase. *J Cell Biol*. 2010; 188 (5): 629–38.
15. Wang K., Lin B. Pathophysiological Significance of Hepatic Apoptosis. *ISRN Hepatol*. 2012; 2013: 740149. DOI: 10.1155/2013/740149.
16. Ogata S., Takeuchi M., Fujita H., Shibata K., Okumura K., Taguchi H. Apoptosis induced by nicotinamide-related compounds and quinolinic acid in HL-60 cells. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2000; 64 (2): 327–32.
17. Yuan J., Yankner B.A. Apoptosis in the nervous system. *Nature*. 2000; 407 (6805): 802–9.
18. Riedl S.J., Shi Y. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2004; 5 (11): 897–907.
19. Nicholson D.W. From bench to clinic with apoptosis-based therapeutic agents. *Nature*. 2000; 407 (6805): 810–6.
20. Hayakawa Y., Chandra M., Miao W., Shirani J., Brown J.H., Dorn G.W. 2nd et al. Inhibition of cardiac myocyte apoptosis improves cardiac function and abolishes mortality in the peripartum cardiomyopathy of Galpha(q) transgenic mice. *Circulation*. 2003; 108 (24): 3036–41.
21. Vandenabeele P., Galluzzi L., Vanden Berghe T., Kroemer G. Molecular mechanisms of necroptosis: an ordered cellular explosion. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2010; 11 (10): 700–14.
22. Kaiser W.J., Upton J.W., Long A.B., Livingston-Rosanoff D., Daley-Bauer L.P., Hakem R. et al. RIP3 mediates the embryonic lethality of caspase-8-deficient mice. *Nature*. 2011; 471 (7338): 368–72.
23. Liedtke C., Bangen J.M., Freimuth J., Beraza N., Lambertz D., Cubero F.J. et al. Loss of caspase-8 protects mice against inflammation-related hepatocarcinogenesis but induces non-apoptotic liver injury. *Gastroenterology*. 2011; 141 (6): 2176–87.
24. Woolbright B.L., Ding W.X., Jaeschke H. Caspase inhibitors for the treatment of liver disease: friend or foe? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017; 11 (5): 397–9.
25. Woolbright B.L., Jaeschke H. Role of the inflammasome in acetaminophen-induced liver injury and acute liver failure. *J Hepatol*. 2017; 66 (4): 836-848.
26. Szabo G., Csak T. Inflammasomes in liver diseases. *J Hepatol*. 2012; 57 (3): 642–54.
27. Reinhardt H.C., Yaffe M.B. Kinases that control the cell cycle in response to DNA damage: Chk1, Chk2, and MK2. *Curr Opin Cell Biol*. 2009; 21 (2): 245–55.
28. Sakurikar N., Eastman A. Will targeting Chk1 have a role in the future of cancer therapy? *J Clin Oncol*. 2015; 33 (9): 1075–7.
29. Calvo E., Chen V.J., Marshall M., Ohnmacht U., Hynes S.M., Kumm E. et al. Preclinical analyses and phase I evaluation of LY2603618 administered in combination with pemetrexed and cisplatin in patients with advanced cancer. *Invest New Drugs*. 2014; 32 (5): 955–68.
30. Daud A.I., Ashworth M.T., Strosberg J., Goldman J.W., Mendelson D., Springett G. et al. Phase I dose-escalation trial of checkpoint kinase 1 inhibitor MK-8776 as monotherapy and in combination with gemcitabine in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol*. 2015; 33 (9): 1060–6.