

DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-168-8-48-52

Апоптоз печеночных клеток при алкогольной болезни печени

Родина А.С.¹, Дуданова О.П.¹, Шубина М.Э.¹, Курбатова И.В.², Топчиева Л.В.²¹ ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Россия² Институт биологии — обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», Петрозаводск, Россия

The liver cell apoptosis in alcoholic liver disease

A.S. Rodina¹, O.P. Dudanova¹, M.E. Shubina¹, I.V. Kurbatova², L.V. Topchieva²¹ Federal State Budget Educational Establishment of Higher Education «Petrozavodsk State University», Petrozavodsk, Russia² Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia

Для цитирования: 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;168(8): 48–52. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-168-8-48-52

For citation: Rodina A.S., Dudanova O.P., Shubina M.E., Kurbatova I.V., Topchieva L.V. The liver cell apoptosis in alcoholic liver disease. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2019;168(8): 48–52. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-168-8-48-52

✉ Corresponding author:

Родина Алиса Сергеевна
Alisa S. Rodina
alisarodina2015@yandex.ru

Родина Алиса Сергеевна, ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней и гигиены

Дуданова Ольга Петровна, профессор, д.м.н., зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней и гигиены

Шубина Марина Эдуардовна, к.м.н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней и гигиены

Курбатова Ирина Валерьевна, к.б.н., н.с. лаборатории генетики

Топчиева Людмила Владимировна, к.б.н., вед. н. с. лаборатории генетики

Alisa S. Rodina, assistant of the Department of Propedeutics of Internal Diseases and Hygiene

Olga P. Dudanova, professor, doctor of medical sciences, head. Department of Propaedeutics of Internal Diseases and Hygiene, Scopus ID 6603343207, <https://orcid.org/0000-0003-2613-5694>

Marina E. Shubina, PhD, Associate Professor of the Department of Propedeutics of Internal Diseases and Hygiene

Irina V. Kurbatova, PhD, Research Associate of the Institute of Biology ORCID iD <https://orcid.org/0000-0001-7620-7065>

Scopus Author ID: 6603406315

Lyudmila V. Topchieva, Ph.D., Leading Research Associate of the Institute of Biology ORCID orcid.org/0000-0001-8697-2086

Scopus ID 15137309400

Резюме

Цель исследования — определить клиническую и диагностическую роль апоптоза гепатоцитов при разных формах алкогольной болезни печени (АБП).

Материалы и методы. Обследовано 98 пациентов АБП: 11 (11,2%) — стеатозом печени (СП), 17 (17,3%) — стеатогепатитом (СГ), 70 (71,4%) — циррозом печени (ЦП). Среди больных ЦП у 13 (18,6%) выявлялся класс А, у — 24 (34,3%) класс В, у 33 (47,1%) — класс С по шкале Чайлд-Пью. Диагноз АБП устанавливался на основании общепринятых критериев: анамнестических данных, клинических, лабораторных, инструментальных (абдоминальной сонографии, доплерографии печеночного кровотока, эзофагогастродуоденоскопии). Уровень фрагментов цитокератина-18 (ЦК-18) определялся методом ИФА (тест-системы «TPS ELISA», «Biotech», Швеция). Статистическая обработка данных выполнялась с использованием программного обеспечения «StatGraphics 2.1», методов Манна-Уитни и Спирмена.

Результаты. Уровень ЦК-18 при всех формах АБП превышал таковой в контрольной группе (60,1±18,2 Ед/л) и достоверно отличался между разными формами АБП: при СП — 98,2±17,8 Ед/л (p<0,05), при СГ — 335,9±38,6 (p<0,05), при ЦП — 1236,5±80,1 Ед/л (p<0,05). Традиционные маркеры печеночно-клеточной гибели — аминотрансферазы — составили: при СП — АЛАТ — 28,5±9,2 Ед/л, АСАТ — 25,2±8,7 Ед/л; при СГ — АЛАТ — 93,4±44,1 Ед/л, АСАТ — 320,9±11,2 Ед/л; при ЦП — АЛАТ — 75,5±24,5 Ед/л, АСАТ — 151,5±39,1 Ед/л. Уровень ЦК-18 при АБП негативно коррелировал с показателями синтетической функции печени: с альбумином (r=-0,42, p<0,05), с протромбином (r=-0,48, p<0,05), холестерином (r=-0,41, p<0,05) и позитивно — с уровнем билирубина (r=0,54, p<0,05). Уровень ЦК-18 возрастал по мере тяжести ЦП: при А классе ЦП — 885,2±71,6 Ед/л, при классе В — 1401,1±50,3 Ед/л (p<0,05), при классе С — 1707,5±42,6 Ед/л. Уровень ЦК-18 зависел от уровня шкалы MELD: при MELD<20 баллов он составлял 690,7±19,8 Ед/л, при MELD>20 — 1318,8±82,3 (p<0,05).

Заключение. При всех формах алкогольной болезни печени апоптоз гепатоцитов преобладал над некрозом, достигая максимального уровня при циррозе печени, коррелируя с основными функциональными печеночными тестами и тяжестью АБП.

Ключевые слова: алкогольная болезнь печени, цитокератин-18

Summary

The purpose of the study was to determine the clinical and diagnostic role of hepatocyte apoptosis in various forms of alcoholic liver disease (ALD).

Materials and methods. 98 patients with ALD were examined: 11 (11.2%) with liver steatosis (LS), 17 (17.3%) with seatohepatitis (SH), 70 (71.4%) with liver cirrhosis (LC). Among patients with LC, 13 (13.2%) had class A, 24 (24.5%) — class B, and 33 (47.1%) had class C on the Child-Pugh scale. The diagnosis of ALD was established on the basis of generally accepted criteria: anamnestic data, clinical, laboratory, instrumental (abdominal sonography, Doppler sonography of the hepatic blood flow, esophagogastroduodenoscopy). The level of fragments of cytocheratin-18 (CK-18) was determined by ELISA (test systems "TPS ELISA", "Biotech", Sweden). Statistical data processing was performed using the «StatGraphics» 2.1 software, the Mann-Whitney and Spearman methods.

Results. The level of CK-18 in all forms of ALD exceeded that in the control group (60.1 ± 18.2 U/I) and significantly differed between different forms of ALD: in SP — 98.2 ± 17.8 U/I ($p < 0.05$), in SH — 335.9 ± 38.6 U/I ($p < 0.05$), in LC — 1236.5 ± 80.1 U/I ($p < 0.05$). Traditional markers of hepatocellular death — aminotransferases — were: in LS — ALAT — 28.5 ± 9.2 U/I, ACAT — 25.2 ± 8.7 U/I; in SH — ALAT — 93.4 ± 44.1 U/I ($p < 0.05$), ACAT — 320.9 ± 11.2 U/I ($p < 0.05$); in LC — ALAT — 75.5 ± 24.6 U/I ($p > 0.05$), ACAT — 151.5 ± 39.1 U/I ($p > 0.05$). The level of CK-18 in ALD negatively correlated with indicators of synthetic liver function: with albumin ($r = -0.42$, $p < 0.05$), with prothrombin ($r = -0.48$, $p < 0.05$), cholesterol ($r = -0.41$, $p < 0.05$) and positively with the level of bilirubin ($r = 0.54$, $p < 0.05$). The level of CK-18 increased according to the degree of severity of the LC: in A class of LC — 885.2 ± 71.6 U/I, in class B — 1401.1 ± 50.3 U/I ($p < 0.05$), in class C — 1443.9 ± 73.2 U/I. The content of CK-18 depended on the level of the MELD scale: in MELD < 20 , it was 690.7 ± 19.8 U/I, in MELD > 20 — 1318.8 ± 82.3 ($p < 0.05$).

Conclusion. In all forms of alcoholic liver disease, apoptosis of hepatocytes prevailed over necrosis, reaching a maximum level in case of liver cirrhosis, correlating with the main functional liver tests and the severity of ABP.

Key words: alcoholic liver disease, cytocheratin-18

Алкогольная болезнь печени (АБП) включает в себя широкий спектр поражений печени: стеатоз печени, стеатогепатит, острый алкогольный гепатит, цирроз печени ГЦК [1, 2]. Ежегодно от АБП умирает 3,3 млн лиц, что составляет 6% от общего числа смертельных случаев в мире. У 50% пациентов причиной развития ЦП является злоупотребление алкоголем [3]. Ведущими в развитии АБП являются токсические продукты метаболизма этанола и ацетальдегида, которые вызывают окислительный стресс, митохондриальную дисфункцию, некроз гепатоцитов, воспаление и фиброз. Несмотря на достигнутые результаты в исследовании патогенеза данного заболевания, некоторые вопросы остаются до конца невыясненными. В последние годы значительное внимание исследователями уделяется роли апоптоза гепатоцитов в механизмах развития АБП и декомпенсации цирроза печени [4, 5].

Апоптоз является одной из форм клеточной гибели, который осуществляется регулируемым программированным способом с минимальным воздействием на окружающую ткань. При воздействии неблагоприятных факторов внешней или внутренней среды в клетке происходит активация ферментов каспаз, расщепляющих цитоскелет, органеллы и ядро клетки с формированием апоптозных телец, которые быстро фагоцитируются макрофагами [6]. Традиционные лабораторные тесты не верифицируют данный процесс, а применение

сывороточного маркера апоптоза цитокератина-18, который является продуктом распада промежуточных микрофиламентов гепатоцитов, позволяет оценить вклад данного вида печеночно-клеточного повреждения в развитие и прогрессирование АБП [7]. Под влиянием алкоголя создаются благоприятные условия для реализации различных путей апоптоза печеночных клеток. Этанол вызывает активный синтез клетками врожденного иммунитета TNF- α и Fas-лиганд, которые взаимодействуют с deathрецепторами гепатоцитов и запускают внешний рецептор-опосредованный путь апоптоза. Кроме того, при избыточном потреблении алкоголя происходит активация микросомального пути его окисления с генерацией большого количества кислородных радикалов, вызывающих эндоплазматический стресс, повреждение мембран митохондрий с выходом в цитоплазму цитохрома C, которые активирует каспазы, реализующие внутренний митохондриальный путь апоптоза гепатоцитов [8, 9].

Исследователями обнаружена прямая связь между экспрессией маркеров апоптоза в биоптатах печени и тяжестью АБП, выраженностью нейтрофильной инфильтрации в ткани печени при алкогольном гепатите, наличие микро-РНК, вызывающих апоптоз гепатоцитов и подавление генов, ответственных за рост печеночных клеток [10, 11]. При воздействии каспазного ингибитора

эмрикасана в эксперименте на биоптатах печени пациентов и на мышах, страдающих алкогольной болезнью печени, было продемонстрировано снижение экспрессии каспазы-8 и уменьшение стеатоза гепатоцитов и повреждения печени [12]. В то же время имеются и противоположные экспериментальные данные об отсутствии влияния апоптоза при алкогольной болезни печени на стеатоз

и воспаление [13]. Разноречивые результаты исследователей свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения и накопления информации о значении апоптоза гепатоцитов в механизмах развития АБП.

Целью исследования явилось определение клинической и диагностической роли апоптоза и его маркера цитокератина-18 при разных формах АБП.

Материалы и методы

Обследовано 98 пациентов АБП: 11 (11,2%) — стеатозом печени (СП), 17 (17,3%) — сеатогепатитом (СГ), 70 (71,4%) — циррозом печени (ЦП). Среди больных ЦП у 13 (18,6%) выявлялся класс А, у 24 (34,3%) — класс В, у 33 (47,1%) — класс С по шкале Чайлд-Пью. Среди обследованных было 53 (54,1%) мужчин и 45 (45,9%) женщин, возраст составил $41,7 \pm 8,4$ года. Диагноз АБП устанавливался на основании комплекса исследований: анамнестических, клинико-лабораторных, инструментальных данных. Пациенты заполняли опросник SAGE, учитывалось наличие алкогольных стигматов при физикальном обследовании (гипертрофия околушных желез, контрактура Дюпюитрена, полинейропатия, тремор пальцев рук, век, следы ожогов, травм и др.) и лабораторных маркеров хронической алкогольной интоксикации (преобладание АСАТ над АЛАТ, высокий уровень ГГТП, макроцитоз эритроцитов). Выполнялось ультразвуковое исследование органов брюшной полости, доплерография печеночного кровотока, фиброзофагогастродуоденоскопия. Исключался вирусный генез поражения печени на основании отрицательных результатов ИФА на HBsAg, AbHCV. Исключался аутоиммунный генез поражения печени на основании негативных

результатов антимитохондриальных и антиядерных антител. Из исследования исключались пациенты с острым алкогольным гепатитом, осложнениями ЦП в виде кровотечения из варикозных вен пищевода, асцита-перитонита, гепаторенального синдрома, а также пациенты с ожирением, острыми и хроническими бактериальными, вирусными инфекциями, тяжелыми сопутствующими заболеваниями. Выполнялась оценка тяжести течения алкогольной болезни печени с использованием прогностической шкалы MELD.

Уровень фрагментов ЦК-18 определялся методом ИФА (тест-системы «TPS ELISA», «Biotech», Швеция). В контрольную группу вошли 40 здоровых лиц: мужчин — 21 (52,5%), женщин — 19 (47,5%) в возрасте $48,5 \pm 8,3$ года, уровень цитокератина-18 у них составил $60,1 \pm 18,2$ Ед/л. Статистическая обработка данных выполнялась с использованием программного обеспечения «StatGraphics 2.1». Рассчитывались средние значения показателей (M), отклонения (m), разница в группах оценивалась непараметрическим методом Манна-Уайта. Коррелятивные связи оценивались методом Спирмена. Значения $p < 0,05$ рассматривались как статистически значимые.

Результаты

Уровень ЦК-18 при всех формах АБП превышал таковой у здоровых лиц, в 1,6 раза увеличиваясь при СП, в 5,6 р — при СГ и в 20,6 раза при ЦП (табл. 1). Другие показатели печеночно-клеточного повреждения — АЛАТ и АСАТ также изменялись по мере прогрессирования АБП, но динамика их была иной. При СП активность аминотрансфераз не отличалась от таковой у здоровых лиц контрольной группы. При СГ уровень АСАТ изменялся более значимо, чем ЦК-18, увеличивался в 12,6 раза по сравнению с таковой у здоровых лиц, а ЦК-18 — лишь в 5,6 раза, свидетельствуя о преимущественной гибели гепатоцитов путем некроза. При ЦП преимущественно увеличивалась концентрация ЦК-18, в десятки раз превышая нормальный референтный уровень, в то время как активность АСАТ повышалась лишь в 5,9 раза и АЛАТ — в 3,7 раза. То есть при ЦП доминировал апоптоз гепатоцитов над некротическим повреждением печеночных клеток.

Содержание в крови ЦК-18 прямо зависело от класса ЦП, достоверно возрастая от класса А до класса С почти в 2 раза, в то же время АСАТ увеличивалась лишь в 1,2 раза, АЛАТ — в 1,3 раза

(табл. 2). Параллельно с прогрессированием гепатоцитарного апоптоза и некроза нарастали признаки печеночно-клеточной недостаточности: снижался уровень альбумина, протромбина, холестерина (табл. 2).

При АБП отмечалась достоверная связь уровня ЦК-18 с функциональными печеночными показателями: с билирубином ($r = 0,54$, $p < 0,05$), протромбиновым индексом ($r = -0,48$, $p < 0,05$), холестерином ($r = -0,41$, $p < 0,05$) и альбумином ($r = -0,42$, $p < 0,05$).

Уровень ЦК-18 нарастал по мере прогрессирования портальной гипертензии. У пациентов ЦП без асцита он составил $445,4 \pm 39,5$ Ед/л, с умеренным асцитом — $1301,1 \pm 88,2$ Ед/л ($p < 0,05$) и при напряженном асците — $1611,8 \pm 56,2$ Ед/л ($p < 0,05$). У пациентов с наличием варикозного расширения вен нижней трети пищевода 1-й степени содержание ЦК-18 в крови составило $503,1 \pm 55,5$ Ед/л, а при 2-й степени — $1112,2 \pm 61,7$ Ед/л ($p < 0,05$).

Содержание ЦК-18 зависело от уровня прогностической шкалы MELD: при MELD < 20 баллов ЦК-18 составлял $690,7 \pm 19,8$ Ед/л, при MELD > 20 ЦК-18 достоверно возрастал до $1318,8 \pm 82,3$ ($p < 0,05$).

Обсуждение полученных данных

Среди обследованных пациентов СП не обнаружилось изменений со стороны большинства традиционных показателей структурного и функционального состояния печеночных клеток: активность аминотрансфераз, уровень билирубина, альбумина и протромбина не выходили за пределы референтных значений, лишь при УЗИ выявлялось усиление эхогенности печени, которое было обусловлено жировой дистрофией гепатоцитов. В то же время при СП отмечался достоверный рост уровня ЦК-18 по сравнению со здоровыми лицами, свидетельствующий о текущем процессе апоптотической гибели клеток. Стеатоз печени является самой начальной формой АБП, при которой сохраняется активность антиоксидантной системы, ограничивающей агрессивное действие свободных кислородных радикалов, поэтому гибель печеночных клеток происходит более безопасным регулируемым апоптотическим путем.

По мере прогрессирования стеатоза печени в стеатогепатит происходит истощение антиоксидантных систем, компенсаторные возможности контролируемой гибели клеток утрачиваются, и начинает преобладать некротический процесс, о чем свидетельствует значительный рост активности аминотрансфераз. Массивная гибель гепатоцитов сопровождается ростом билирубина, ухудшением показателей белковосинтетической функции гепатоцитов, снижением синтеза холестерина.

При ЦП отмечается двадцатикратный рост уровня ЦК-18 при снижении по сравнению со СГ активности аминотрансфераз. Традиционно снижение уровня аминотрансфераз при ЦП объясняется уменьшением числа гепатоцитов на фоне замещения паренхимы печени соединительной тканью. В то же время высокая концентрация

ЦК-18 свидетельствует о гибели большого числа печеночных клеток. Масса зрелых гепатоцитов при ЦП явно значительно меньше, чем при СП и СГ, а уровень фрагментов ЦК многократно больше, и это может свидетельствовать о текущем процессе апоптоза молодых клеток, а не только зрелых гепатоцитов. Вероятно, при ЦП апоптозу подвергаются овальные прогениторные клетки — предшественники гепатоцитов, дифференцировка которых в зрелые клетки ограничена в условиях дефицита питания и кислорода из-за нарушенной микроциркуляции, из-за дефицита факторов роста, и данные клетки погибают путем запрограммированной смерти. О необходимости благоприятных условий микроокружения для нормального созревания стволовых клеток в гепатоциты пишут многие авторы [14]. В литературе имеются данные о том, что плюрипотентные гепатоцитоподобные клетки экспрессируют гены, ответственные за синтез различных цитокератинов, в том числе ЦК-18 [15]. Это подтверждает вероятность того, что источником ЦК-18 при ЦП могут быть не только зрелые гепатоциты, но и прогениторные овальные клетки, которые уже содержат белки цитоскелета, но в них еще отсутствуют аминотрансферазы, участвующие в высокоспецифичном процессе обмена аминокислот и цикла Кребса.

Кроме того, при ЦП апоптоз может носить компенсаторный характер с целью ограничения воспаления, прогрессирования фиброза, предупреждения канцерогенеза. При ЦП в узлах-регенератах из-за гипоксии, дефицита питательных веществ и факторов роста создаются условия для ядерных мутаций, возникновения раковых клеток. Апоптоз таких гепатоцитов предотвращает формирование гепатоцеллюлярной карциномы [16].

Заключение

Уровень ЦК-18 при алкогольной болезни печени достоверно повышался уже при стеатозе печени, достигая максимальных значений при циррозе печени класса С. При стеатозе печени и циррозе печени апоптоз гепатоцитов преобладал над некрозом. Содержание ЦК-18 коррелировало с выраженностью проявлений

печеночно-клеточной недостаточности, портальной гипертензии и уровнем прогностической шкалы MELD. Взаимосвязь уровня ЦК-18 с показателями тяжести алкогольной болезни печени подтверждало роль апоптоза в механизмах формирования и прогрессирования данного заболевания.

Работа выполнена в рамках «Программы развития опорного университета ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет» на период 2017–2021 годов — проект «Высокие биомедицинские технологии здоровья и сохранения населения в арктической и субарктической зонах», проекта «Разработка метода диагностики алкогольной болезни печени с использованием биомаркеров фиброза, апоптоза и иммунного воспаления» № 12467 ГУ/2017 от 02.04.2018 и в рамках государственного задания по теме № 0218-2019-0077 на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Литература | References

- Ivashkin V. T., Mayevskaya M. V., Pavlov C. S., et al. Management of adult patients with alcoholic liver disease: clinical guidelines of the Russian Scientific Liver Society. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2017;27 (6):20–40. (In Russ.) <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2017-27-6-20-40>

2. Teschke R. Alcoholic steatohepatitis (ASH) and acute alcoholic hepatitis (AH): Cascade of events, clinical features, and pharmacotherapy options. *Exp. Opin. Pharmacother.* — 2018. — Vol. 19. — P. 779–793.
3. Singal A. K., Bataller R., Ahn J., Kamath P. S., Shah V. H. ACG Clinical Guideline: Alcoholic Liver Disease. *Am J Gastroenterol.* — 2018. — Vol. 113 (2). — P. 175–194.
4. Nagy L. E., Ding W. X., Cresci G., Saikia P., Shah V. H. Linking Pathogenic Mechanisms of Alcoholic Liver Disease With Clinical Phenotypes. *Gastroenterology.* — 2016. — Vol. 150 (8). — P. 1756–68.
5. Macdonald S., Andreola F., Amoros A., et al. Cell death markers in patients with cirrhosis and acute decompensation. *Hepatology.* — 2018 — Vol. 67 (3). — P. 989–1002.
6. Wang K. Molecular mechanisms of hepatic apoptosis. *Cell Death Dis.* — 2014. — Vol. 5 (1). — P. e996.
7. Chakraborty J. B., Oakley F., Walsh M. J. Mechanisms and biomarkers of apoptosis in liver disease and fibrosis. *Int. J. Hepatol.* — 2012. — Vol. 2012:648915.
8. Abdelmegeed M. A., Choi Y., Ha S. K., Song B. J. Cytochrome P450–2E1 promotes aging-related hepatic steatosis, apoptosis and fibrosis through increased nitroxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* — 2016. — Vol. 91. — P. 188–202.
9. Cho Y. E., Mezey E., Hardwick J. P., Salem N. Jr., Clemens D. L., Song B. J. Increased ethanol-inducible cytochrome P450–2E1 and cytochrome P450 isoforms in exosomes of alcohol-exposed rodents and patients with alcoholism through oxidative and endoplasmic reticulum stress. *Hepatol Commun.* — 2017. — Vol. 1 (7). — P. 675–690.
10. Ribeiro P. S., Cortez-Pinto H., Solá S., Castro R. E., Ramalho R. M., Baptista A. et al. Hepatocyte apoptosis, expression of death receptors, and activation of NF-kappaB in the liver of nonalcoholic and alcoholic steatohepatitis patients. *Am J Gastroenterol.* — 2004. — Vol. 99 (9). — P. 1708–17.
11. Iwagami Y., Zou J., Zhang H., Cao K., Ji C., Kim M., Huang C. K. Alcohol-mediated miR-34a modulates hepatocyte growth and apoptosis. *J. Cell. Mol. Med.* — 2018 Jun 5. [Epub ahead of print].
12. Hao F., Cubero F. J., Ramadori P., Liao L., Haas U., Lambert D. et al. Inhibition of Caspase-8 does not protect from alcohol-induced liver apoptosis but alleviates alcoholic hepatic steatosis in mice. *Cell Death Dis.* — 2017. — Vol. 8 (10). — P. e3152.
13. Roychowdhury S., Chiang D. J., Mandal P., McMullen M. R., Liu X. et al. Inhibition of apoptosis protects mice from ethanol-mediated acceleration of early markers of CCl4-induced fibrosis but not steatosis or inflammation. *Alcohol Clin Exp Res.* — 2012. — Vol. 36 (7). — P. 1139–47.
14. Chen Y. F., Tseng Ch. Y., Wang H-W., Kuo H. C., Yang V. W., Lee O. K. Rapid Generation of Mature Hepatocyte-Like Cells from Human Induced Pluripotent Stem Cells by an Efficient Three-Step Protocol. *Hepatology.* — 2012. — Vol. 55 (4). — P. 1193–1203.
15. Jeong J., Kim K. N., Chung M. S., Kim H. J. Functional comparison of human embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells as sources of hepatocyte-like cells. *Tissue Eng Regen Med.* — 2016. — Vol. 13 (6). — P. 740–749.
16. Pistritto G., Trisciuglio D., Ceci C., Garufi A., D'Orazi G. Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. *AGING.* — 2016. — Vol. 8 (4). — P. 603–619.